

Mutation de *GLI2* : Phénotype et génotype de 10 cas

SOFFOET « Best Of » 28.09.18

Natacha SLOBODA

Service de Foetopathologie, Hôpital Necker

Interne Génétique Médicale, DESC Foetopathologie

Inter-CHU Nancy

Quelques histoires...

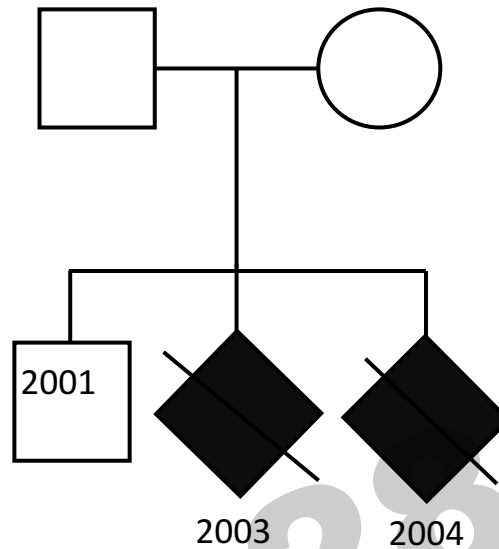
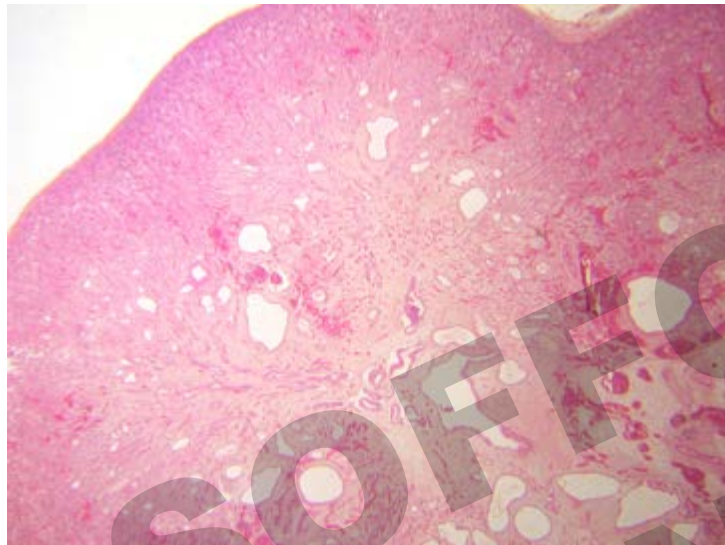
SOFFOET 28/09/2018
N. SLOBODA

2003 : IMG à 27 SA :

- Agénésie vermis
- Kystes médullaires
- Fibrose hépatique

Adénomatoses modérées

→ Sd de Joubert

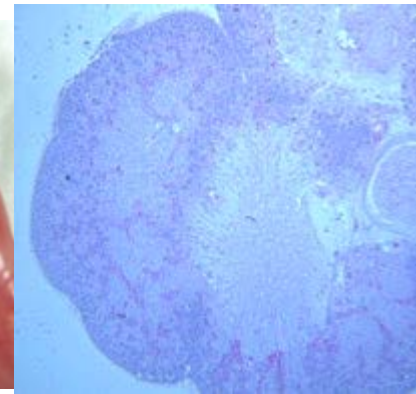


2004 : IMG à 18 SA pour Sd polymalformatif avec PD et doute sur vermis, probable récurrence

Examen FP :

- PD post-axiale 2 MS + MIG
- Reins N
- Foie N
- Vermis N

Absence mutations *CEP290*



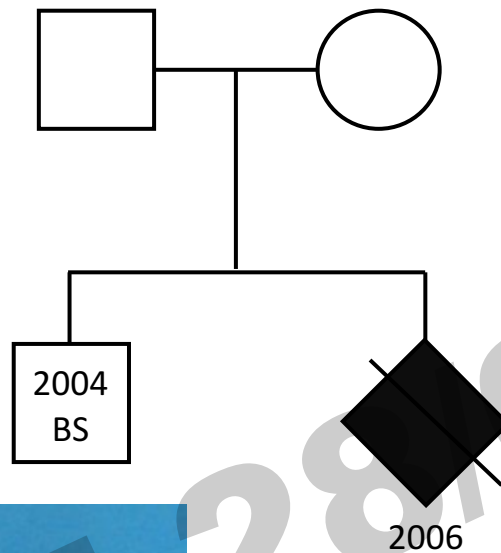
→ Ciliome : *GLI2* c.1483C>T, p.Arg495Trp *de novo*

→ PD post-axiale apparemment isolée, signe précoce à 18 SA

→ Ciliome : *CEP290* :

c.1753C>T, p.(Gln585X) maternelle

c.5649dup, p.Leu1884ThrfsX23 paternelle



IMG à 25 SA

- HPE avec micrencéphalie, narine unique, hypotélorisme
- PD post-axiale
- Cardiopathie (CAV)
- Microphthalmie + colobome rétinien bilatéral

Hypothèse diagnostiques :

- SLO ? (CAV ++)
- Pseudotrisomie 13 ? (HPE + PD)

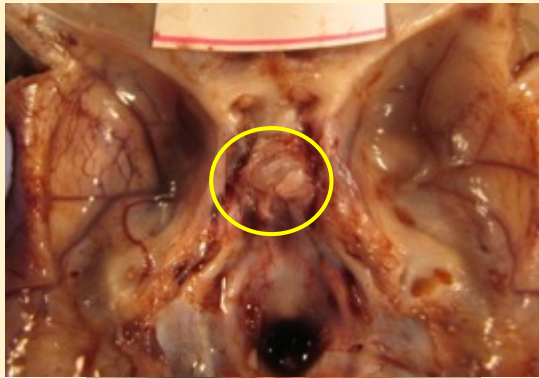
→ SLO négatif

→ Ciliome : *GLI2* c.1956+1G>A IVS11+1, *de novo*

→ ***GLI2* en diagnostic différentiel de**

- SLO
- Pseudotrisomie 13

Patients adressés pour *GLI3*, *PHS* ?

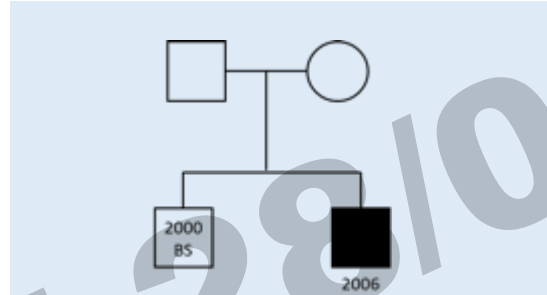
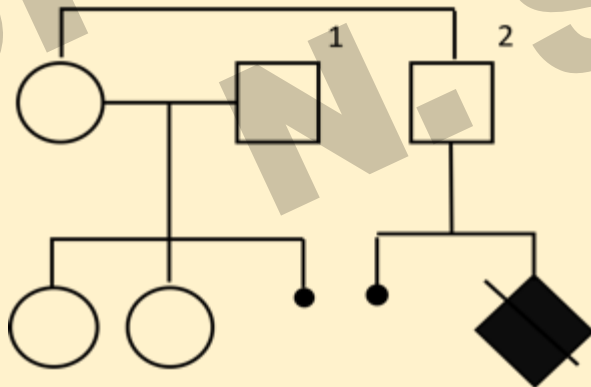


MAR



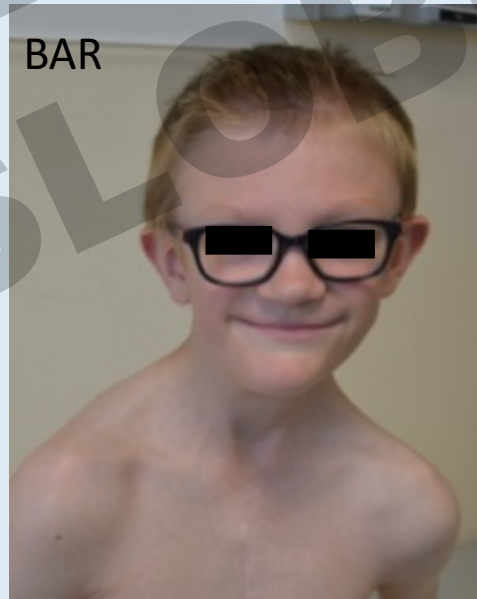
IMG 23 SA

PD, Agénésie hypophysaire, CAV, Agénésie épiglote



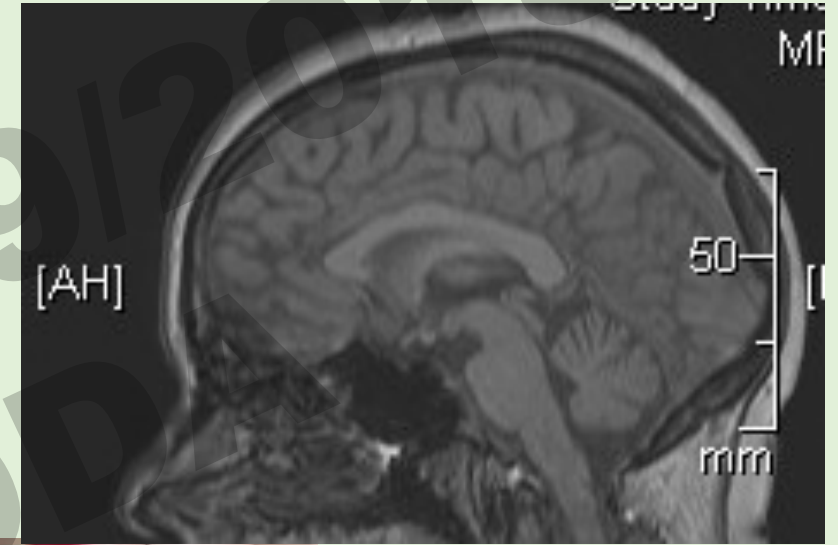
PD, déficit hypophysaire, cardiopathie, FP

BAR



E. Schaffer, Strasbourg

PD, Hypophyse ectopique, atrésie des choanes



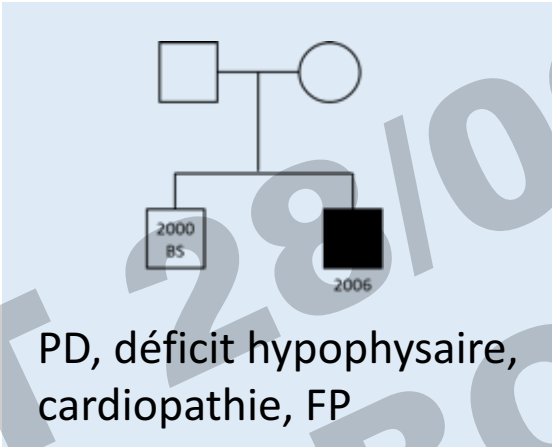
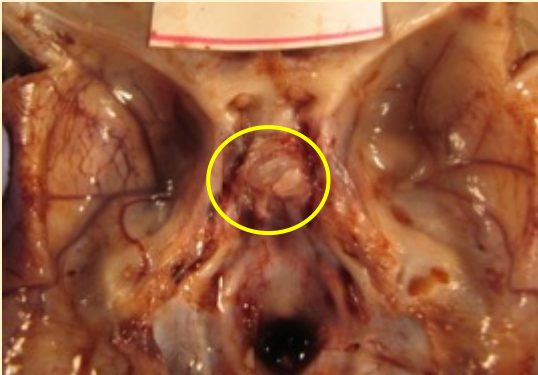
MAU



P.Sarda, D.Genevieve, Montpellier

F. Arbez-Gindre, J. Piard, Besançon

Patients adressés pour *GLI3*



PD, Hypophyse ectopique, atrésie des choanes



***GLI2* c.2294-1 G>A splice**

IMG 23 SA
PD, Agénésie hypophysaire, CAV, Agénésie épiglote

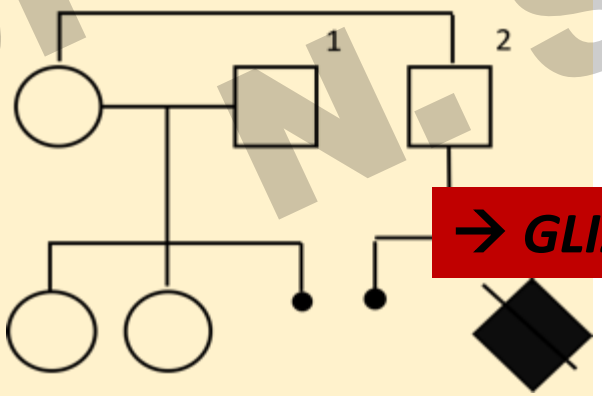
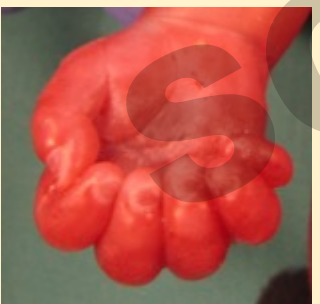
GLI2* c.2237G>A p.Trp746



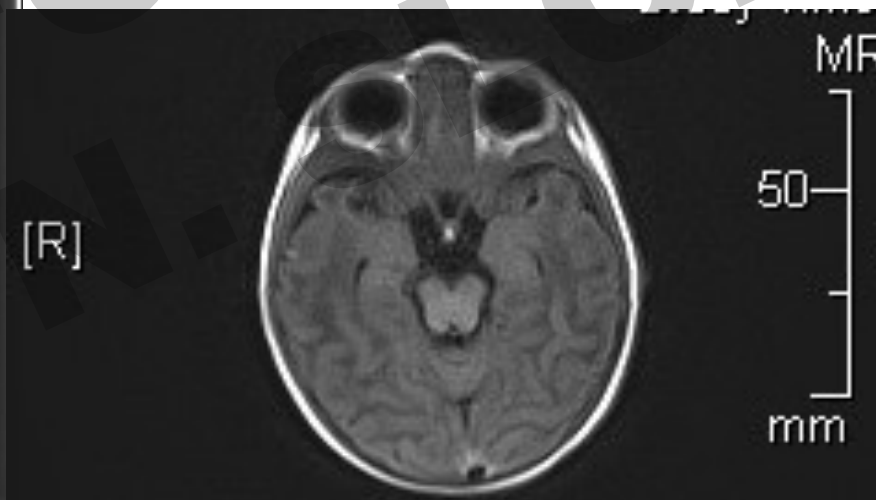
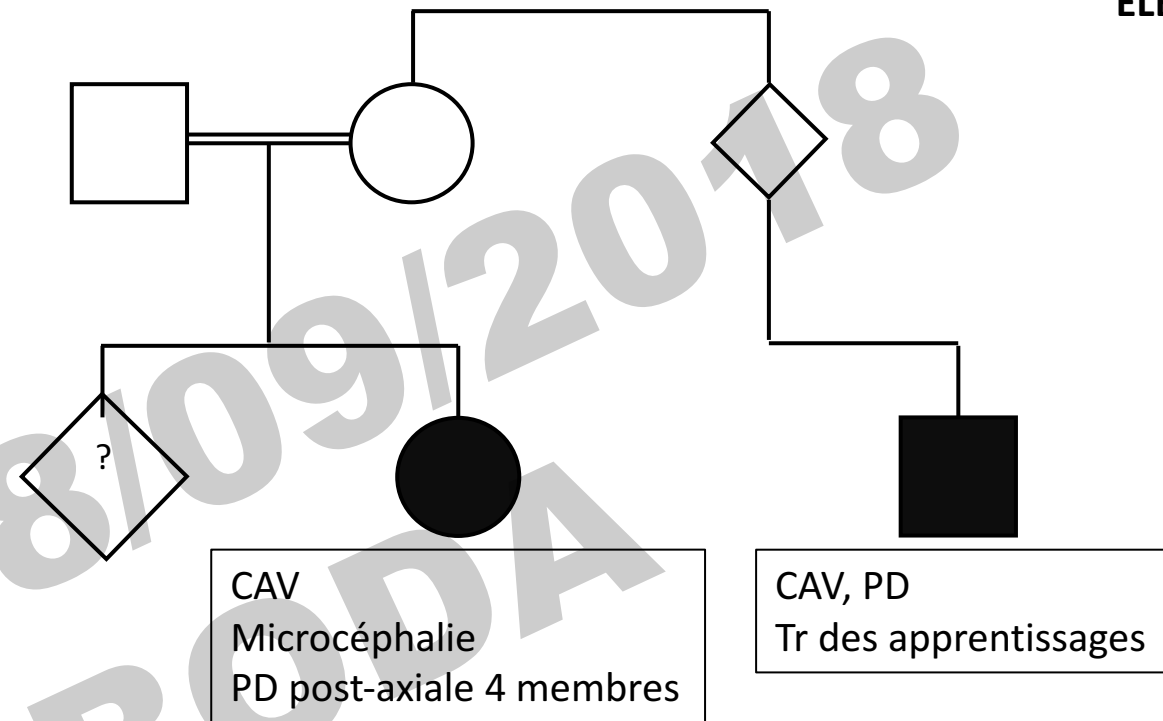
E. Schaffer, Strasbourg



P.Sarda, D.Genevieve, Montpellier



→ *GLI2* en diagnostic différentiel de PHS



→ Ciliome :

EVC : Faux sens hmz + *EVC2* : del ex 2 hmz

GLI2 : c.49del, p.Ser17ValfsX29



→ **Génotype des parents en attente**

→ **2 évt indépendants. Implication de *GLI2*?**

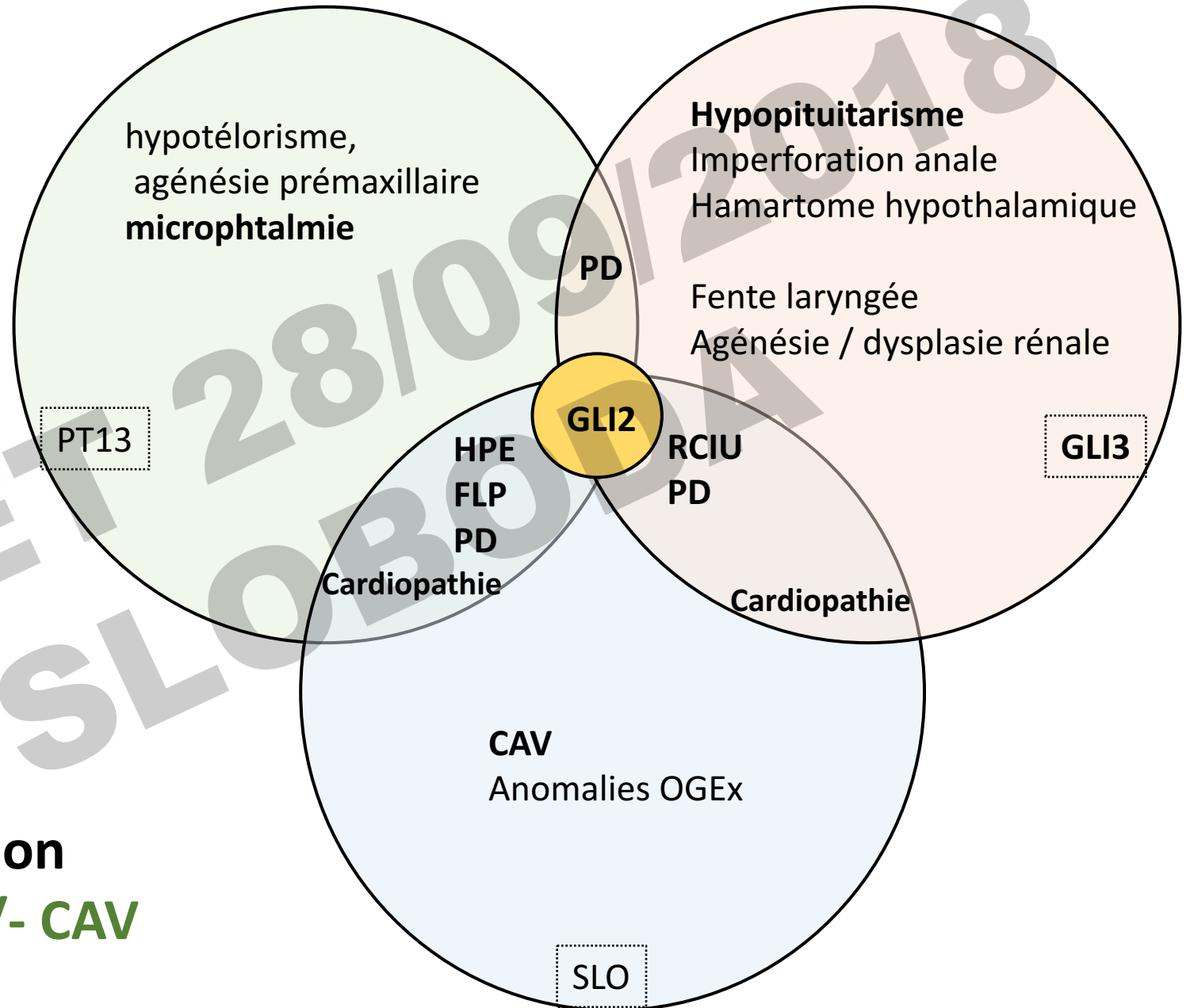
Synthèse des résultats

Phénotype	Nb patients porteurs	
Polydactylie post-axiale	9/9	
Anomalies cardiaques	6/9	Dont CAV 4/9
Anomalie de l'hypophyse	5/9	Ectopique 2/5 Interruption tige 1/5 Agénésie 2/5 + 1 déficit hormones
Anomalies cérébrales	6/9	- HPE 1/9 - Macrocranie 1/9 - Microcéphalie 1/9 - Nx quadrijéminés asymétriq 1/9 - Verticalisation tente du cervelet, CC fin partie post 1/9 - dysplasie hippocampes et atrophie cérébelleuse moyenne 1/9
Fente palatine	3/9	
Epiglotte	2/9	
Microphthalmie	2/9	

De novo : 7/9

Phénotype

- PD post-axiale apparemment isolée, signe précoce à 18 SA
- *GLI2* en diagnostic différentiel de PT13. PT13 = *GLI2* ?
- Autre variant / évènement nécessaire / expliquant variabilité phénotypique ?

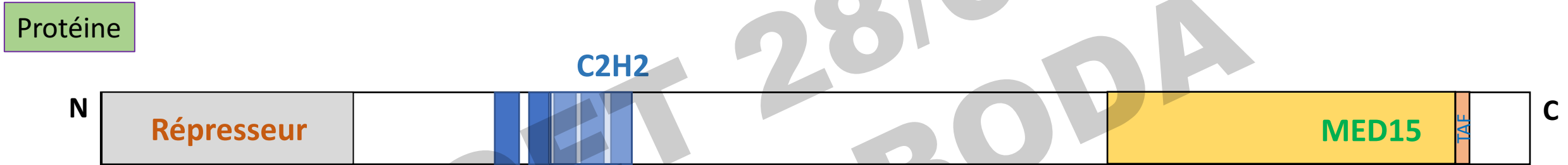


- Penser à *GLI2* à l'association polydactylie + hypophyse +/- CAV

Phénotype *GLI2*

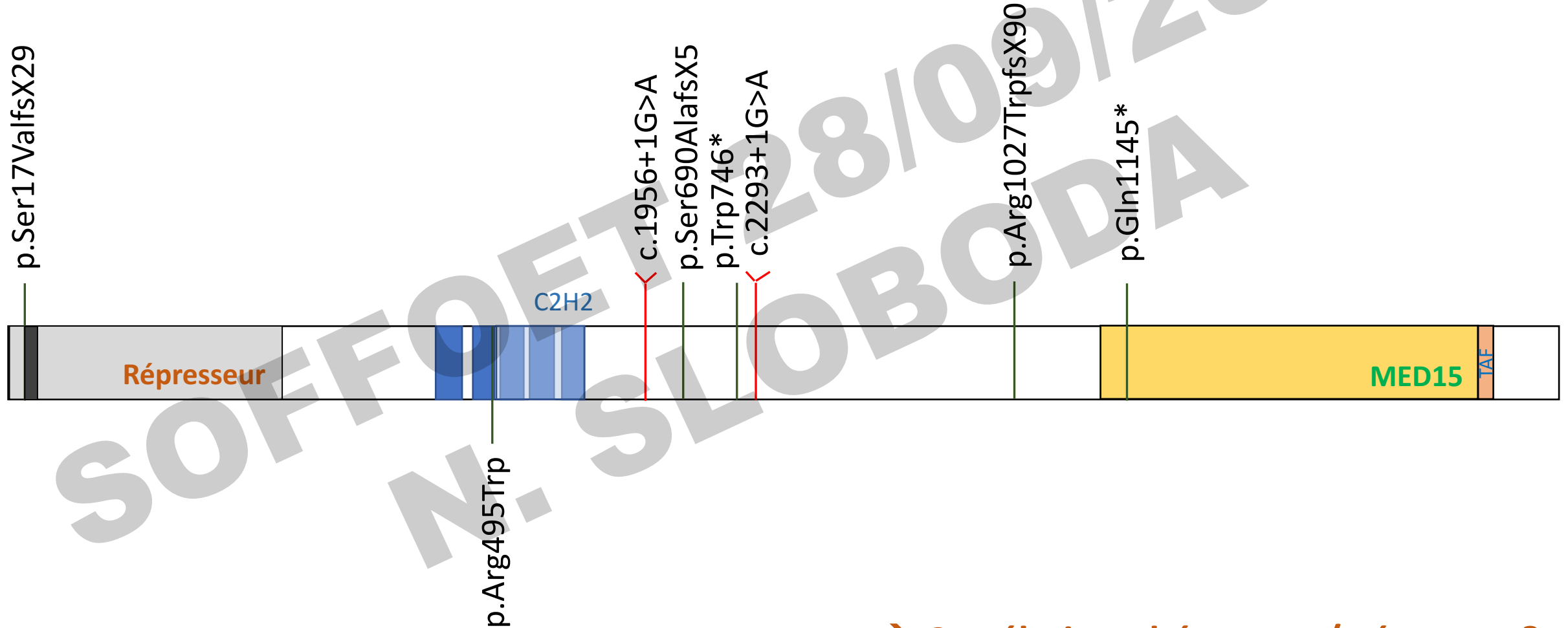
- Impliqué en pathologie humaine :
 - Holoprosencéphalie (610829)
 - Syndrome de Culler-Jones (CJS) (615849)
 - hypopituitarisme
 - déficit en hormone de croissance
 - polydactylie postaxiale
- Phénotype très variable : défauts de la ligne médiane possible ; PD / hypophyse isolés.
- Pénétrance incomplète et expressivité variable. (Franca et al, 2010)

Domaines de GLI2



**GLI2 = facteur de transcription famille des GLI (1 à 3, protéines en doigt de Zinc),
Rôle dans l'activité du cil primaire + voie SHH**

Localisation des variants - Domaines de *GLI2*



→ Corrélation phénotype / génotype ?

Corrélation phénotype / génotype

- Mutation faux sens +++ → anomalies hypophysaires +++
 - → **Aucun patient HPE, PD**
- Variants non sens / FS = hypophyse + PD +/- autre (Bear 2014, Franca 2010)

Table 2 Prevalence of pituitary anomalies and/or polydactyly associated with truncating and non-truncating variants

Type of variant	Pitu Hyp isolée		Pitu PD isolée		Pitu pol PD + Hyp		No at Aucun		Either pituitary abnormalities, polydactyly, or both			
	Tronquant	Non tronq.	Tru va	NT	Tru va	NT	Tru va	NT	Tru va	NT	Truncating variants	Non-truncating variants
Number with abnormality among individuals with available information	7/29 (24%) 7/43	36/62 (58%) 36/69	13/39 (33%) 39/43	2/64 (3%) 64/69	16/26 (62%) 16/43	1/58 (2%) 1/69	4/26 (15%) 4/43	23/58 (40%) 58/69	36/42 (86%) 36/43	39/68 (57%) 39/69		
Number for which information was available	29/43 (67%)	62/69 (90%)	39/43 (91%)	64/69 (93%)	26/43 (60%)	58/69 (84%)	26/43 (60%)	58/69 (84%)	42/43 (98%)	68/69 (99%)		

As information regarding polydactyly and pituitary abnormalities was not uniformly available for all individuals, the top row represents the prevalence of the abnormality among individuals with available information (ie, the denominator represents the number of individuals with these variants with available information). The second row demonstrates the availability of this clinical information among individuals in the cohort.

Conclusion

- Large spectre phénotypique avec un gradient de sévérité allant de la PD isolée à des syndromes polymalformatifs (HPE + cardiopathie)
- Corrélation phénotype / génotype ?
- Elargissement cohorte

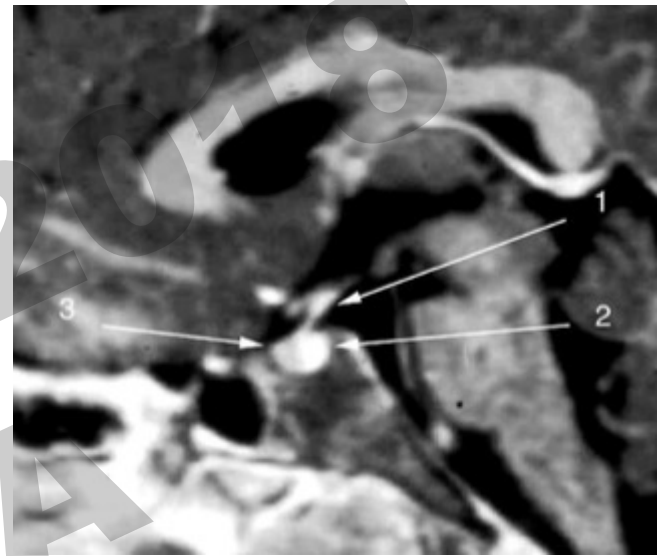
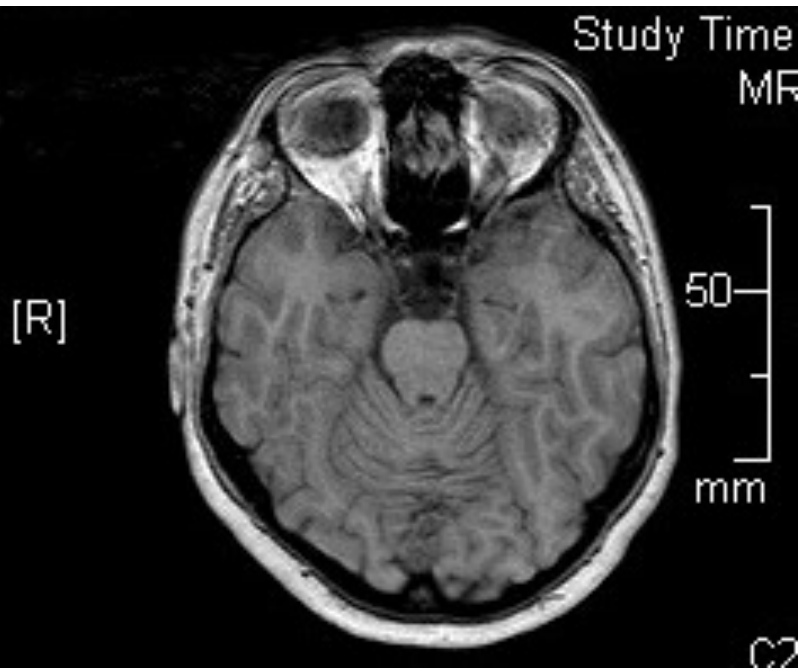
natacha.sloboda@aphp.fr

tania.attie@inserm.fr

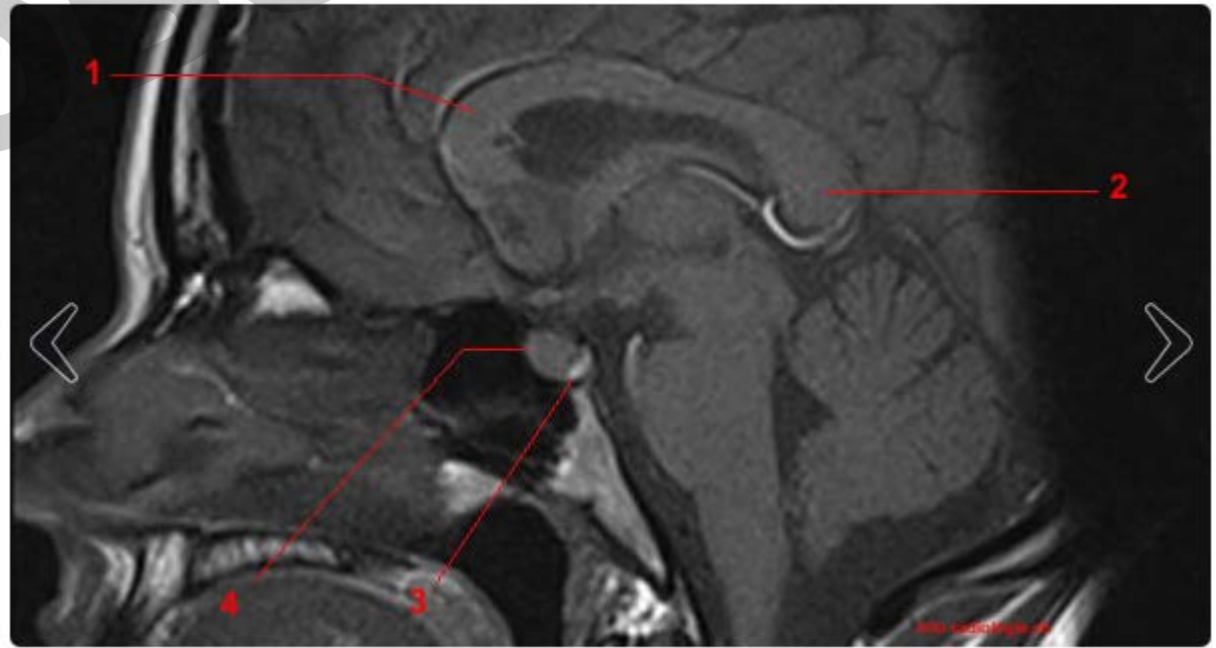
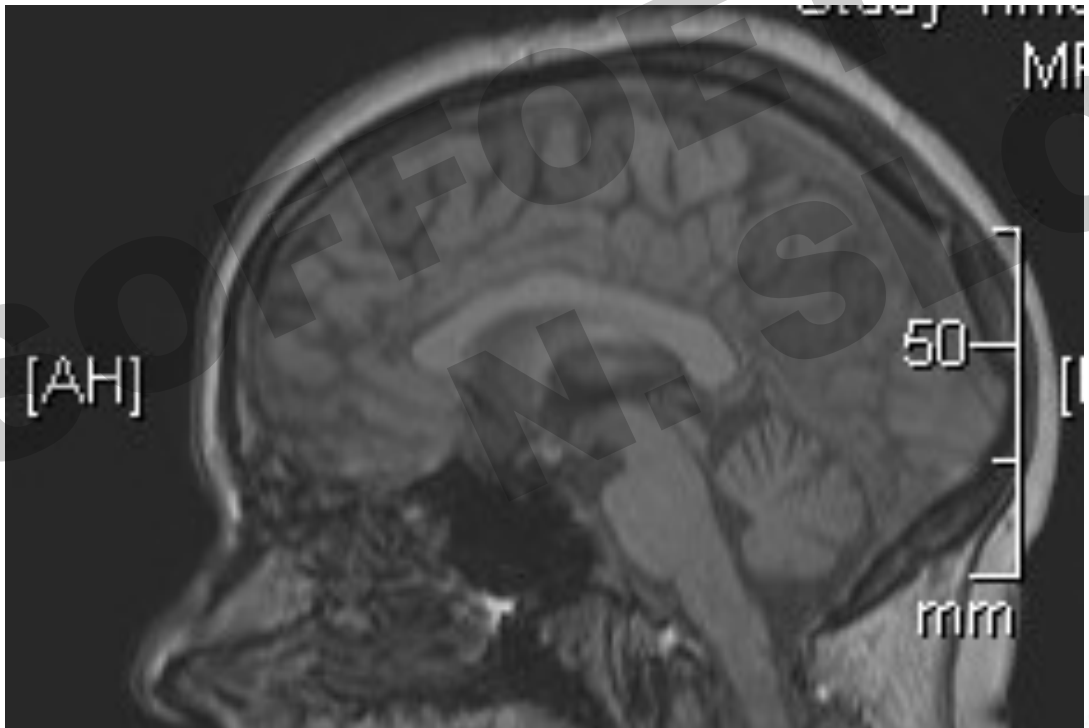
Merci pour votre attention
Merci aux collaborateurs pour l'iconographie !

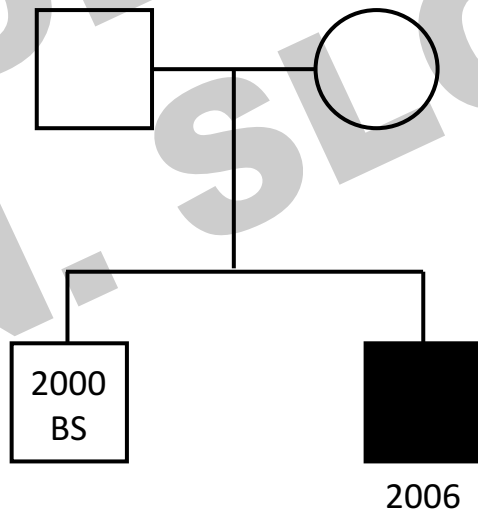
Type of variant	Pituitary abnormalities only		Polydactyly only	
	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants
Number with abnormality among individuals with available information	7/29 (24%) 7/43	36/62 (58%) 36/69	13/39 (33%) 39/43	2/64 (3%) 64/69
Number for which information was available	29/43 (67%)	62/69 (90%)	39/43 (91%)	64/69 (93%)

Pituitary abnormalities and polydactyly		No abnormalities		Either pituitary abnormalities, polydactyly, or both	
Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants
16/26 (62%) 16/43	1/58 (2%) 1/69	4/26 (15%) 4/43	23/58 (40%) 58/69	36/42 (86%) 36/43	39/68 (57%) 39/69
26/43 (60%)	58/69 (84%)	26/43 (60%)	58/69 (84%)	42/43 (98%)	68/69 (99%)



Coupe sagittale, pondération T1. Image 25. 1, Genou du corps calleux. 2, Splenium du corps calleux. 3, Neurohypophyse. 4, Antehypophyse.





E. Schaeffer, Strasbourg

Famille GLI – Phénotypes des patients *GLI3*

Greig

(GCPS céphalopolysyndactylie)

- Polydactylie**
 - post axiale des MS**
 - préaxiale des MI**
- Anomalies craniofaciales**
 - Macrocéphalie**
 - Hypertélorisme**
- Agénésie du corps calleux**
- pas de RM ou RM modéré**

- Pouces larges, syndactylies**
- Front proéminent**

Pallister-Hall

- **Polydactylie post axiale**
- **Hamartome hypothalamique**
- **Hypopituitarisme**
- **Imperforation anale**

- RCIU**
- Fente laryngée**
- Anomalies de lob. Pulmonaire**
- Agénésie / dysplasie rénale**
- Dysplasie unguéale**
- Freins buccaux**
- Cardiopathies**
- An. squelettiques**

Patients *GLI2* : caractéristiques communes avec *GLI3* ⚡

Greig (GCPS céphalopolysyndactylie)

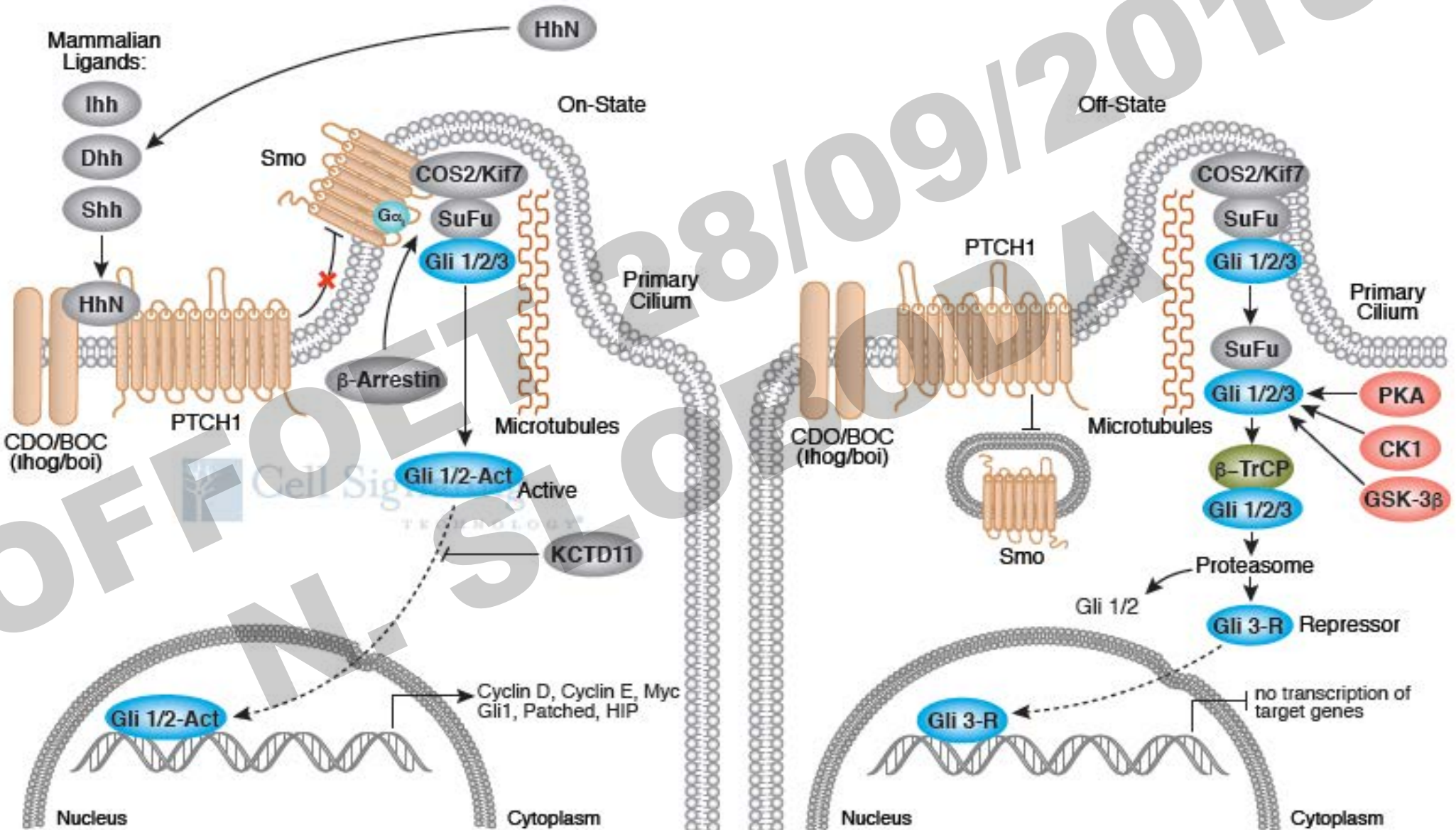
- Polydactylie ⚡
 - post axiale des MS
 - préaxiale des MI
- Anomalies craniofaciales
 - Macrocéphalie
 - Hypertélorisme ⚡
- Agénésie du corps calleux
- pas de RM ou RM modéré
- Pouces larges, syndactylies
- Front proéminent

Pallister-Hall

- Polydactylie post axiale ⚡
- Hamartome hypothalamique
- Hypopituitarisme ⚡
- Imperforation anale
- RCIU ⚡
- Fente laryngée ⚡
- Anomalies de lob. Pulmonaire
- Agénésie / dysplasie rénale
- Dysplasie unguéale
- Freins buccaux
- Cardiopathies ⚡
- An. squelettiques

- *GLI2* redondant en pathologie humaine (comme dans les modèles murins)
- Patients de notre série presque tous initialement adressés pour *GLI3*
- Principaux signes d'appel = Hypophyse + Cœur + Polydactylie

Voie de signalisation



Patients

N°	Altération cDNA	Altération protéine	7/9 Transmission	9/9 PD Post axial	4/9 CAV	6/9 Cardiopathie	6/9 Hypophyse	6/9 Cerebral abnormality	2/9 Télorisme	Fente 3/9 ; Epiglote 2/9 Rein	Autres
FOU	c.1483C>T	p.Arg495Trp	De novo	HB, FL			/	Nx quadrijéminés asymétriq		Normal	
MAR	c.2294-1 G>A	STOP/ Saut exon 13 Splice	De novo	HB	Oui	Hypoplasie arche aortique	Agénésie hypophysaire + hypoplasie gonado-surrénalienne		Hypertélorisme (+nez plat)	Néphroblastose	Agénésie épiglote avec nodule et sténose sous-glottique ; anomalies cranio-faciales
MAL	c.2293+1G>A	Splice	De novo	HB, FL	Oui	TAC	Absence hypophyse	Hydrocéphalie macrocranie (+ 2DS) microphthalmie	Hypertélorisme	/	Duplication vaginale et utérus cloisonné ; Absence surrénales Luette bifide
CHO	c.1956+1G>A	Splice	De novo	HR	Oui			Holoprosencephalie, microphthalmie bilaterale, Micrencéphalie, arhinencéphalie	Hypotélorisme, narine unique	/	Hypoplasie surrénales et grandes lèvres ; colobome rétinien bilatéral
BAR	c.2237G>A	p.Trp746*	De novo	HB		Complex cardiopathy (Oreillette unique, fuite mitrale, fente valve AV Gche	Déficit somatotrope et gonadotrope	Verticalisation tente du cervelet, CC fin partie post		/	Fente palatine, micropenis, cryptorchidie bilatérale, CE1 AVS
OUL	c.3433C>T	p.Gln1145*	De novo	HB	Non	CIV	Post-hypophyse ectopique ; interrupt° tige pituitaire sans hamartome			Reflux VU	Epiglote bifide Probable sténose anale
EL B	c.49del	p.Ser17ValfsX29	Attente parents	HB, FB	Oui			Microcéphalie		/	
MAU	c.2064delC	p.Ser690AlafsX5	De novo	HB, HF	Non		Post-hypophyse ectopique ; au pied de la tige pituitaire	Aspect dysplasique (en boule) des hippocampes ; atrophie cérébelleuse moyenne bilatérale		/	Atrésie des choanes
CHA	c.3078_3117del	p.Arg1027TrpfsX90	Absence parents	HB	Non		Interruption tige pituitaire (panhypopituitarisme)		Hypotélorisme, visage triangulaire	/	Fente labiopalatine bilatérale

Discussion

- Montré dans cette série de nouvelles mutations de *GLI2* associé à une plus grande fréquence d'anomalies cardiaques, peu décrites dans la littérature.
- Dans notre étude : **c.2237G>A / p.Trp746*** :
 - Cardiopathie (Oreillette unique, fuite mitrale, fente valve AV G)
 - Déficit somatotrope et gonadotrope
 - Verticalisation tente du cervelet, CC fin partie post
 - Fente palatine, micropénis, cryptorchidie bilatérale, CE1 AVS
- Chez Dubourg et al (2016) :
 - fœtus masculin
 - HPE lobaire, hamartome pituitaire,
 - agénésie prémaxillaire, hexadactylie, fémur court.
- Il présentait en plus une fragilité du chr 3 (3p24.1) en mosaïque. Seul patient de la série avec HPE classique.
- *GLI2* associé dans cette série de patients de 2016 avec HPE, mais plus fréquemment associé à un spectre mild, caractérisé par incisive médiane centrale et insuffisance pituitaire. (Dubourg 2016)

- Redondance qui pourrait expliquer phénotype « mild » des faux-sens du Brésil qui ont principalement hypophyse ?

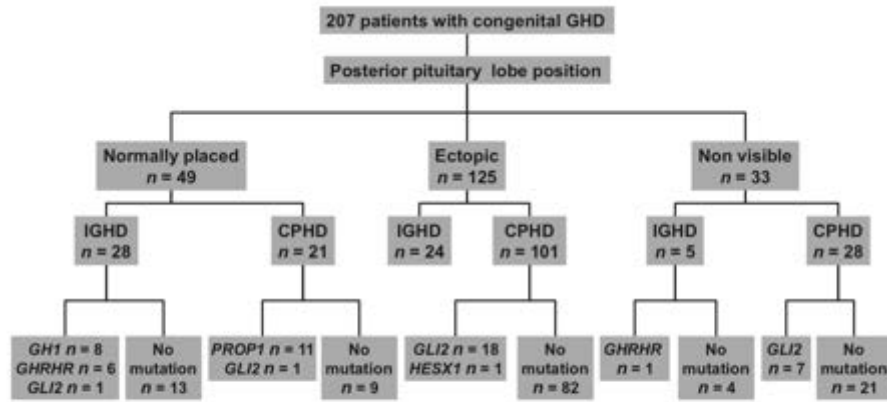


Fig. 2 Classification of our cohort of 207 patients with congenital GH deficiency according to position of the posterior pituitary lobe on MRI, isolated GH or combined pituitary hormone deficiency and gene alterations.

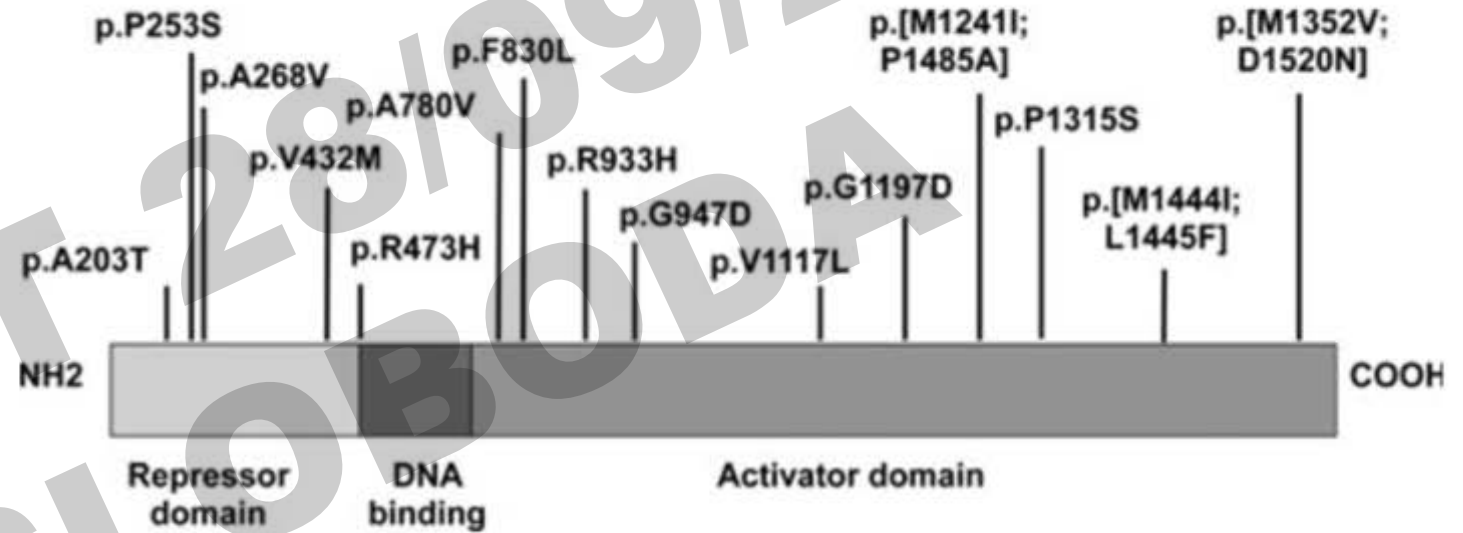


Fig. 1 Schematic representation of the GLI2 protein with arrows indicating the location of variants.

© 2012 Blackwell Publishing Ltd
Clinical Endocrinology (2013), 78, 551–557

Cohorte de 207 patients avec déficience congénitale en GH: 24 patients portant variants FAUX-SENS de GLI2. 91% ont déficience de plusieurs hormones hypophysaires avec une post-hypophyse ectopique ou non visible. 9 patients présentation en siège, 3 patients avec anoxie néonatale. **Aucun patient ne présentait d'holoprosencéphalie, d'anomalies faciales de la ligne médiane ou de polydactylie.**

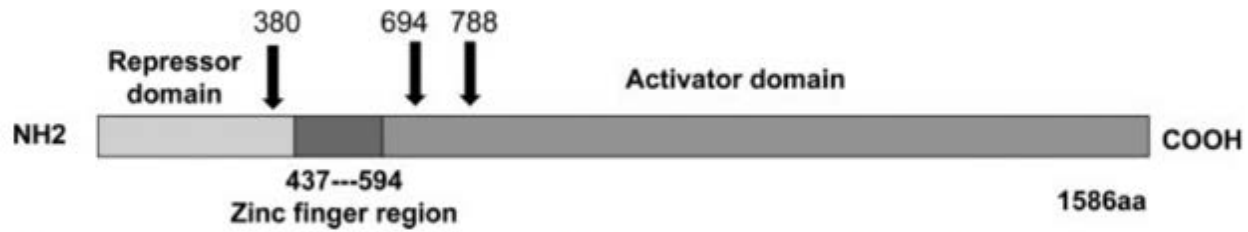


FIG. 2. Schematic representation of the GLI2 protein; arrows indicate the location of p.E380X (family 3), p.L694fsX722 (family 2), and p.L788fsX794 (family 1) mutations.

JAMAIS d'anomalies cardiaques
 Mais toutes les mutations tronquantes...
 → Variabilité phénotype. Autres facteurs ?

TABLE 1. Clinical features, hormone deficiencies, and MRI findings in the index patients of families with *GLI2* mutations

Index patient	Family 1	Family 2	Family 3
Mutation cDNA	c.2362_2368del	c. 2081_2084del	c.1138 G>T
Protein	p.L788fsX794	p.L694fsX722	p.E380X
Sex	Female	Male	Female
Age at presentation	7 yr	4.5 yr	8 months
Height (cm)	91.8 (−5.4)	83.4 (−4.5)	61 (−2.9)
Weight (kg)	12.7 (−2.5)	9.4 (−3.3)	5.9 (−2.5)
Maternal height (cm)	156 (−1.0) ^a	165 (+0.4)	159 (−0.5) ^a
Paternal height (cm)	153 (−3.2)	167 (−1.2) ^a	172 (−0.4)
Pituitary hormone deficiencies	GH, TSH, ACTH, PRL, FSH/LH	GH, pACTH	GH, TSH, ACTH, ADH
Pituitary MRI findings	APH, EPP	APH, EPP	APH
Other MRI findings	Asymmetric brain hemispheres	No	No
Midline facial defects	No	Cleft and lip palate	No
Polydactyly	Yes	No	No
HPE	No	No	No

Data in *parentheses* represent SDS. APH, Anterior pituitary hypoplasia; EPP, ectopic posterior pituitary.

^a Parent that carries mutation.

Table 2 Prevalence of pituitary anomalies and/or polydactyly associated with truncating and non-truncating variants

Type of variant	Pituitary abnormalities only		Polydactyly only		Pituitary abnormalities and polydactyly		No abnormalities		Either pituitary abnormalities, polydactyly, or both	
	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants	Truncating variants	Non-truncating variants
Number with abnormality among individuals with available information	7/29 (24%)	36/62 (58%)	13/39 (33%)	2/64 (3%)	16/26 (62%)	1/58 (2%)	4/26 (15%)	23/58 (40%)	36/42 (86%)	39/68 (57%)
Number for which information was available	29/43 (67%)	62/69 (90%)	39/43 (91%)	64/69 (93%)	26/43 (60%)	58/69 (84%)	26/43 (60%)	58/69 (84%)	42/43 (98%)	68/69 (99%)

As information regarding polydactyly and pituitary abnormalities was not uniformly available for all individuals, the top row represents the prevalence of the abnormality among individuals with available information (i.e., the denominator represents the number of individuals with these variants with available information). The second row demonstrates the availability of this clinical information among individuals in the cohort.

Il faut que les mutations soient non sens pour obtenir un phénotype plus « sévère » ou au moins l'association Hypophyse + polydactylie
 Donc si uniquement mutation faux sens, la structure de la protéine est conservée (la plupart des cas) et l'effet est moins fort.
 Donc soit il faut action commune de plusieurs variants délétères de GHI pour avoir un phénotype « sévère »

Discussion

- 3 foetus avec CAV (CAV si manque domaine C2H2)
- Implication de MEFC2 dvlpt cardiaque
- Modèle de perte de Sufu : compromet l'activation de Pdgfra, interruption du dvlpt des myofibroblasts du poumon.
- → Complexité du signaling Hh, dépendant disponibilité des GLI controlant leur expression (Lin C 2014)

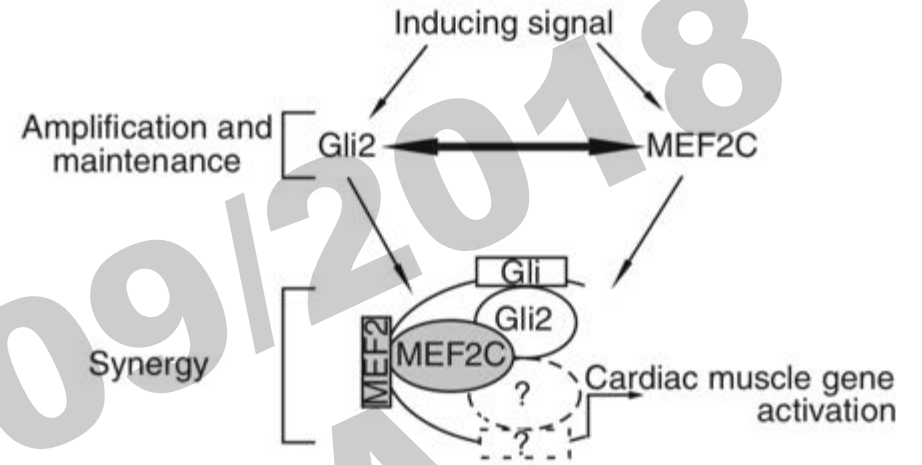


Figure 10. Gli2 and MEF2C interact during cardiomyogenesis *in vitro*. We propose a model in which Gli2 and MEF2C induce each other's expression and bind each other's gene elements (designated by thick arrow), as well as form a protein complex on gene promoters capable of synergistically activating their expression. Other protein(s) participating in the Gli2/MEF2C protein complex are designated by "?".

Gli2 et MEF2C interagissent durant la cardiomyogénèse *in vitro*. Proposition de modèle dans lequel Gli2 et MEF2C induisent chacun l'expression de l'autre, et se lient aux éléments sur l'ADN. (flèches fines), comme un complexe protéique sur les promoteurs géniques capable d'activer synergiquement leur expression. D'autres protéines non connues pourraient participer à ce complexe.

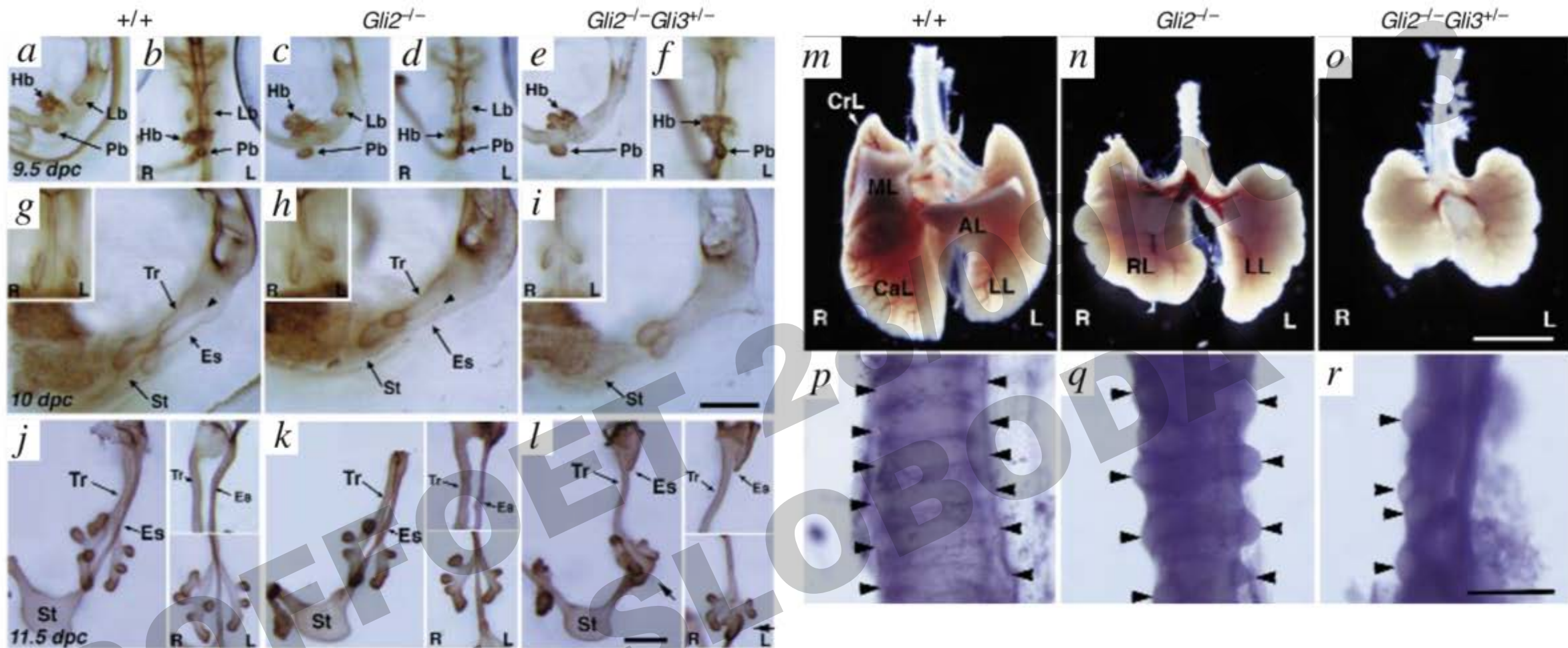
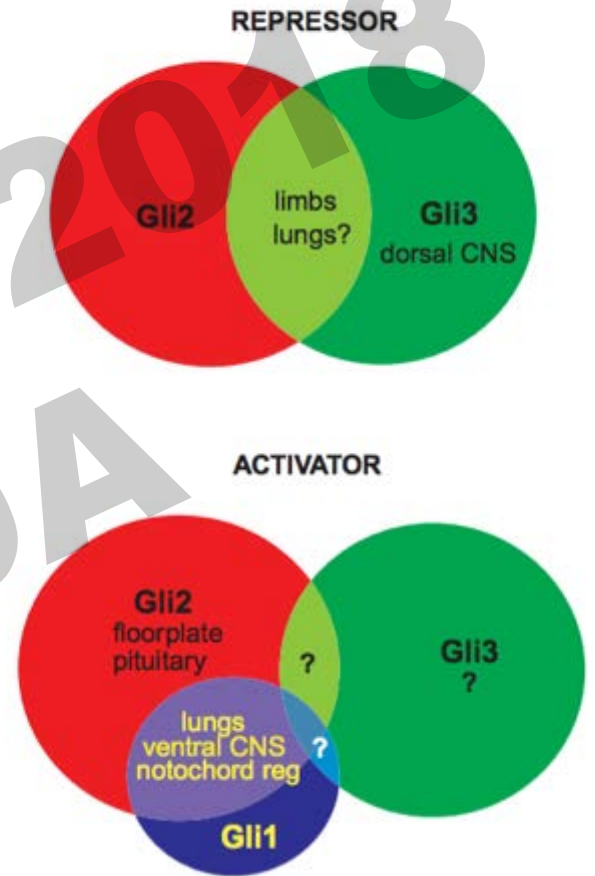


Fig. 3 Foregut malformations in *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos. Whole-mount immunostaining of wild-type (*a, b, g, j*), *Gli2*^{-/-} (*c, d, h, k*) and *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} (*e, f, i, l*) embryos at 9.5 (*a-f*), 10 (*g, h, i*) and 11.5 (*j, k, l*) dpc with anti-HNF3 β . At 10 dpc, trachea and oesophagus begin to separate in wild-type (*g*) and *Gli2*^{-/-} (*h*) embryos (*g, h*, arrowheads), whereas no separation is observed in *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos (*i*). At 11.5 dpc, *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos exhibit oesophageal atresia with tracheo-oesophageal fistula, in which the oesophagus is missing and the trachea is directly connected to the stomach (*l*). Arrows (*l*) indicate ectopic lung branching in *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos. *m-o*, Trachea and lung at 16.5 dpc. Although the left and right lobes are separated in wild-type (*m*) and *Gli2*^{-/-} (*n*) lungs, the lobes are fused in *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} lungs (*o*). *p, q, r*, The trachea is narrower and the cartilaginous rings (arrowhead) are malformed in 16.5 dpc *Gli2*^{-/-} and *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos. Note that the malformation of the trachea is more severe in *Gli2*^{-/-}*Gli3*^{+/-} embryos (*r*). Es, oesophagus; Hb, hepatic bud; Lb, lung bud; Pb, pancreatic bud; St, stomach; Tr, trachea. Scale bar: 500 μ m in (*a-l*), 2.5 mm in (*m-o*), 1 mm in (*p-r*).

Overlapping dans les modèles murins

- *GLI2* compense la perte de *GLI1* dans les souris *Gli-/-* (phénotypiquement normales). (Motoyama J 1998)
- Perte de *Gli3* mène à une structuration anormale et perte de *Gli2* le développement des cellules ventrales, + spécifiquement dans plaque ventrale. *Gli2* compense *Gli1* ventralement et *Gli3* dorsalement dans les modèles murins (Litingtung Y 2000)
- Embryons souris *Gli2-/-* développent anomalies tube neural, récupéré par overexpression *Gli1* (Jacob et Briscoe, 2003)
- Zone de chevauchement entre *Gli2* et *Gli3* indique la redondance entre l'activité du répresseur *GLI* dans les tissus tels que les membres, le SNC dorsal et éventuellement les poumons. Ce diagramme montre également les fonctions d'activateur chevauchantes de *GLI1* et *GLI2* dans les poumons, le système nerveux central ventral, la régression de la notocorde et le développement de l'hypophyse. On ne sait toujours pas s'il existe un chevauchement des propriétés de l'activateur de *GLI2* et *GLI3* et, en outre, il semble y avoir peu, voire pas du tout de chevauchement dans les fonctions *Gli1* et *Gli3*.



GLI1 plutôt répresseur, comme *GLI2*, balancé par *GLI3* plutôt activateur. Les mutations tronquantes avant le domaine activateur de *GLI2* renforcerait l'effet inhibiteur sur le signaling HH.

Overlapping dans les modèles murins

Souris $Gli2^{-/-}$ ont aussi défaut de tube digestif (sténose oesophage et trachée, hypoplasie pulmonaire avec lobation anormale). Diminution d'expression de 50% de $Gli3$ chez les $Gli2^{-/-}$ = atrésie oesophage, fistule trachéo-oesophagienne, phénotype pulmonaire sévère.

Souris $Gli2^{-/-} Gli3^{-/-}$ n'ont pas d'oesophage, de trachée ni de poumon.

→ $Gli2$ et $Gli3$ possèdent des fonctions spécifiques et redondantes dans le signaling Shh pdt $dvlp$, suggérant mutations gènes GLI dans les malformations du TD chez l'homme

→ Pourrait expliquer le phénotype épiglottique de nos patients ?

