

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉ DE SANTÉ

ANNÉE 2023

2023 TOU3 1903

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

MÉDECINE SPÉCIALISÉE BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement
par

Houda ATIK

Le 26 OCTOBRE 2023

**Caractéristiques et exploration par séquençage haut débit des
formes familiales syndromiques et non-syndromiques des cancers
thyroïdiens non médullaires**

Directeur de thèse : Pr Frédérique SAVAGNER

JURY

Monsieur le Professeur LEVADE Thierry
Madame le Docteur GRUNENWALD Solange
Monsieur le Docteur ZERDOUD Slimane
Madame le Professeur SAVAGNER Frédérique

Président
Assesseur
Assesseur
Suppléant



Caractéristiques et exploration par séquençage haut débit des formes familiales syndromiques et non-syndromiques des cancers thyroïdiens non médullaires

Un séquençage d'exome complet (WES) a été réalisé sur l'ADN de 11 patients atteints de carcinomes thyroïdiens et dont les antécédents familiaux suggéraient une prédisposition familiale au cancer thyroïdien non médullaire (FNMTc). Des approches bio-informatiques ont été menées pour filtrer, sélectionner et identifier les variants génétiques partagés entre ces patients. Une partie de ce travail de thèse a également été axée sur l'exploration du gène *FOXE1* dans le but de valider les preuves de la contribution de ce gène à la prédisposition au FNMTc. Nous avons également présenté trois cas familiaux de FNMTc associés à des mutations du gène *DICER1*, dans lesquels les atteintes thyroïdiennes constituent les seules manifestations cliniques.

Characterization and high-throughput sequencing-based exploration of syndromic and non-syndromic familial non-medullary thyroid carcinoma

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée biologie médicale

MOTS-CLÉS : Cancer de la thyroïde familial, FNMTc, Séquençage nouvelle génération, Séquençage de l'exome complet, gènes de prédisposition

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de Santé de Toulouse
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Pr Frédérique SAVAGNER

Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

Tableau du personnel hospitalo-universitaire de médecine

2022-2023

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GLOCK Yves
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. GRAND Alain
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ADOUE Daniel	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LANG Thierry
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAROCHE Michel
Professeur Honoraire	M. ATTAL Michel	Professeur Honoraire	M. LAUQUE Dominique
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BLANCHER Antoine	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MALECAZE François
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONNEVIALLE Paul	Professeur Honoraire	M. MARCHOU Bruno
Professeur Honoraire	M. BOSSAVY Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire Associé	M. BROS Bernard	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MONTASTRUC Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. BUJAN Louis	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CALVAS Patrick	Professeur Honoraire associé	M. NICODEME Robert
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. PARINAUD Jean
Professeur Honoraire	M. CARON Philippe	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PERRET Bertrand
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CHIRON Philippe	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. RAILHAG Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. DAHAN Marcel	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. RISCHMANN Pascal
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. RIVIERE Daniel
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SCHMITT Laurent
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SERRE Guy
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Emérites

Professeur BUJAN Louis	Professeur MAGNAVAL Jean-François	Professeur VINEL Jean-Pierre
Professeur CHAP Hugues	Professeur MARCHOU Bruno	
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur MONTASTRUC Jean-Louis	
Professeur LANG Thierry	Professeur PERRET Bertrand	
Professeur LAROCHE Michel	Professeur ROQUES LATRILLE Christian	
Professeur LAUQUE Dominique	Professeur SERRE Guy	

FACULTE DE SANTÉ

Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

P.U. - P.H.
Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ACAR Philippe	Pédiatrie	M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. ACCADBLED Franck (C.E)	Chirurgie Infantile	M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie, Santé publique	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. ARNAL Jean-François (C.E)	Physiologie	M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire	M. MALAVALD Bernard (C.E)	Urologie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E)	Hématologie, transfusion	M. MANSAT Pierre (C.E)	Chirurgie Orthopédique
M. BERRY Antoine	Parasitologie	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie maxillo-faciale
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. MARQUE Philippe (C.E)	Médecine Physique et Réadaptation
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique	M. MAURY Jean-Philippe (C.E)	Cardiologie
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	Mme MAZEREUW Juliette	Dermatologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul	M. MAZIERES Julien (C.E)	Pneumologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. MINVILLE Vincent	Anesthésiologie Réanimation
Mme BURA-RIVIERE Alessandra (C.E)	Médecine Vasculaire	M. MOLINIER Laurent (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. BUREAU Christophe	Hépatogastro-entérologie	Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-entérologie	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	M. PARIENTE Jérôme	Neurologie
Mme CHARPENTIER Sandrine (C.E)	Médecine d'urgence	M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie
M. CHAUFOUR Xavier	Chirurgie Vasculaire	M. PAYOUX Pierre (C.E)	Biophysique
M. CHAUCHEAU Dominique	Néphrologie	M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. PERON Jean-Marie (C.E)	Hépatogastro-entérologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	Mme PERROT Aurore	Physiologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
M. COURBON Frédéric (C.E)	Biophysique	Mme RAUZY Odile	Médecine Interne
Mme COURTADE SAÏDI Monique (C.E)	Histologie Embryologie	M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. DAMBRIN Camille	Chir. Thoracique et Cardiovasculaire	M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct	M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. DELORD Jean-Pierre (C.E)	Cancérologie	M. ROUX Franck-Emmanuel	Neurochirurgie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. SAILLER Laurent (C.E)	Médecine Interne
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. SANS Nicolas	Radiologie
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie	Mme SELVES Janick (C.E)	Anatomie et cytologie pathologiques
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. FOURCADE Olivier (C.E)	Anesthésiologie	M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. SIZUN Jacques (C.E)	Pédiatrie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
M. GAME Xavier (C.E)	Urologie	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie, Santé publique	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	M. SOULAT Jean-Marc (C.E)	Médecine du Travail
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel (C.E)	Anatomie Pathologique	M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. GOURDY Pierre (C.E)	Endocrinologie	M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
M. GROLLEAU RAOUX Jean Louis (C.E)	Chirurgie plastique	Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie	M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	Mme TREMOLLIERES Florence	Biologie du développement
M. HUYGHE Eric	Urologie	Mme URO-COSTE Emmanuelle (C.E)	Anatomie Pathologique
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	M. VAYSSIERE Christophe (C.E)	Gynécologie Obstétrique
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition		
Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie		

P.U. Médecine générale

Mme DUPOUY Julie
M. OUSTRIC Stéphane (C.E)
Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

FACULTE DE SANTE
Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

P.U. - P.H.
2ème classe

Professeurs Associés

M. ABBO Olivier
Mme BONGARD Varina
M. BOUNES Vincent
Mme BOURNET Barbara
Mme CASPER Charlotte
M. CAVAIGNAC Etienne
M. CHAPUT Benoit
M. COGNARD Christophe
Mme CORRE Jill
Mme DALENC Florence
M. DE BONNECAZE Guillaume
M. DECRAMER Stéphane
Mme DUPRET-BORIES Agnès
M. EDOUARD Thomas
M. FAGUER Stanislas
Mme FARUCH BILFELD Marie
M. FRANCHITTO Nicolas
M. GARRIDO-STÖWHAS Ignacio
Mme GASCOIN Géraldine
M. GUIBERT Nicolas
M. GUILLEMINAULT Laurent
M. HERIN Fabrice
M. LAIREZ Olivier
M. LEANDRI Roger
M. LOPEZ Raphael
M. MARTIN-BLONDEL Guillaume
Mme MARTINEZ Alejandra
M. MARX Mathieu
M. MEYER Nicolas
Mme MOKRANE Fatima
Mme PASQUET Marlène
M. PIAU Antoine
M. PORTIER Guillaume
M. PUGNET Grégory
M. REINA Nicolas
M. RENAUDINEAU Yves
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline
Mme SAVAGNER Frédérique
M. SAVALL Frédéric
M. SILVA SIFONTES Stein
Mme SOMMET Agnès
M. TACK Ivan
Mme VAYSSE Charlotte
Mme VEZZOSI Delphine
M. YRONDI Antoine
M. YSEBAERT Loïc

Chirurgie infantile
Epidémiologie, Santé publique
Médecine d'urgence
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Chirurgie orthopédique et traumatologie
Chirurgie plastique
Radiologie
Hématologie
Cancerologie
Anatomie
Pédiatrie
Oto-rhino-laryngologie
Pédiatrie
Néphrologie
Radiologie et imagerie médicale
Addictologie
Chirurgie Plastique
Pédiatrie
Pneumologie
Pneumologie
Médecine et santé au travail
Biophysique et médecine nucléaire
Biologie du dével. et de la reproduction
Anatomie
Maladies infectieuses, maladies tropicales
Gynécologie
Oto-rhino-laryngologie
Dermatologie
Radiologie et imagerie médicale
Pédiatrie
Médecine interne
Chirurgie Digestive
Médecine interne
Chirurgie orthopédique et traumatologique
Immunologie
Rhumatologie
Biochimie et biologie moléculaire
Médecine légale
Réanimation
Pharmacologie
Physiologie
Cancerologie
Endocrinologie
Psychiatrie
Hématologie

Professeur Associé de Médecine Générale

M. ABITTEBOUL Yves
M. BIREBENT Jordan
M. BOYER Pierre
Mme FREYENS Anne
Mme IRI-DELAHAYE Motoko
M. POUTRAIN Jean-Christophe
M. STILLMUNKES André

FACULTE DE SANTE
Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

MCU - PH

Mme ABRAVANEL Florence
M. APOIL Pol Andre
Mme ARNAUD Catherine
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie
Mme BASSET Céline
Mme BELLIERES-FABRE Julie
Mme BERTOLI Sarah
M. BIETH Eric
Mme BOUNES Fanny
Mme BREHIN Camille
M. BUSCAIL Etienne
Mme CAMARE Caroline
Mme CANTERO Anne-Valérie
Mme CARFAGNA Luana
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie
Mme CASSAGNE Myriam
Mme CASSAING Sophie
Mme CASSOL Emmanuelle
M. CHASSAING Nicolas
M. CLAVEL Cyril
Mme COLOMBAT Magali
M. COMONT Thibault
M. CONGY Nicolas
Mme COURBON Christine
M. CÜROT Jonathan
Mme DAMASE Christine
Mme DE GLISEZINSKY Isabelle
M. DEDOUIT Fabrice
M. DEGBOE Yannick
M. DELMAS Clément
M. DELPLA Pierre-André
M. DESPAS Fabien
M. DUBOIS Damien
Mme ESQUIROL Yolande
Mme FILLAUX Judith
Mme FLOCH Pauline
Mme GALINIER Anne
M. GANTET Pierre
M. GASQ David
M. GATIMEL Nicolas

Bactériologie Virologie Hygiène
Immunologie
Epidémiologie
Biochimie
Cytologie et histologie
Néphrologie
Hématologie, transfusion
Génétique
Anesthésie-Réanimation
Pneumologie
Chirurgie viscérale et digestive
Biochimie et biologie moléculaire
Biochimie
Pédiatrie
Nutrition
Ophtalmologie
Parasitologie
Biophysique
Génétique
Biologie Cellulaire
Anatomie et cytologie pathologiques
Médecine interne
Immunologie
Pharmacologie
Neurologie
Pharmacologie
Physiologie
Médecine Légale
Rhumatologie
Cardiologie
Médecine Légale
Pharmacologie
Bactériologie Virologie Hygiène
Médecine du travail
Parasitologie
Bactériologie-Virologie
Nutrition
Biophysique
Physiologie
Médecine de la reproduction

Mme GENNERO Isabelle
Mme GENOUX Annelise
Mme GRARE Marion
M. GUERBY Paul
Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline
Mme GUYONNET Sophie
M. HAMDJ Safouane
Mme HITZEL Anne
M. IRIART Xavier
Mme JONCA Nathalie
M. LAPEBIE François-Xavier
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse
M. LEPAGE Benoit
M. LHERMUSIER Thibault
M. LHOMME Sébastien
Mme MASSIP Clémence
Mme MAUPAS SCHWALM Françoise
Mme MONTASTIER Emilie
M. MONTASTRUC François
Mme MOREAU Jessika
Mme MOREAU Marion
M. MOULIS Guillaume
Mme NOGUFIRA Maria Leonor
Mme PERICART Sarah
M. PILLARD Fabien
Mme PLAISANCIE Julie
Mme PUISSANT Bénédicte
Mme QUELVEN Isabelle
Mme RAYMOND Stéphanie
M. REVET Alexis
Mme RIBES-MAUREL Agnès
Mme SABOURDY Frédérique
Mme SALLES Juliette
Mme SAUNE Karine
Mme SIEGFRIED Aurore
M. TREINER Emmanuel
Mme VALLET Marion
M. VERGEZ François
Mme VIJA Lavinia

Biochimie
Biochimie et biologie moléculaire
Bactériologie Virologie Hygiène
Gynécologie-Obstétrique
Anatomie Pathologique
Nutrition
Biochimie
Biophysique
Parasitologie et mycologie
Biologie cellulaire
Chirurgie vasculaire
Pharmacologie
physiologiques et nutritionnelles
Cardiologie
Bactériologie-virologie
Bactériologie-virologie
Biochimie
Nutrition
Pharmacologie
Biologie du dév. Et de la reproduction
Physiologie
Médecine interne
Biologie Cellulaire
Anatomie et cytologie pathologiques
Physiologie
Génétique
Immunologie
Biophysique et médecine nucléaire
Bactériologie Virologie Hygiène
Pédo-psychiatrie
Hématologie
Biochimie
Psychiatrie adultes/Addictologie
Bactériologie Virologie
Anatomie et cytologie pathologiques
Immunologie
Physiologie
Hématologie
Biophysique et médecine nucléaire

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
M. CHICOULAA Bruno
M. ESCOURROU Emilie

Maîtres de Conférence Associés

M.C.A. Médecine Générale

Mme BOURGEOIS Odile
Mme BOUSSIER Nathalie
Mme DURRIEU Florence
M. GACHIES Hervé
Mme LATROUS Leila
M. PIPONNIER David
Mme PUECH Marielle

Résumé

Le cancer de la thyroïde est la néoplasie la plus courante du système endocrinien ; représentant environ 1% de tous les cancers dans le monde. L'incidence du cancer de la thyroïde a augmenté au cours des dernières décennies, certaines études rapportant une augmentation annuelle allant de 5 à 10%. Cependant, il est important de noter que cette augmentation est largement due à la détection de petites tumeurs bénignes grâce à des techniques de diagnostic de plus en plus sensibles.

Les carcinomes thyroïdiens peuvent se présenter soit sous forme sporadique, soit sous forme familiale. Les formes familiales de carcinome thyroïdien non médullaire (FNMTC) représentent environ 5% des néoplasmes thyroïdiens non médullaire. Le carcinome thyroïdien non médullaire familial est une forme relativement rare de cancer de la thyroïde qui serait hérité principalement de manière autosomique dominante. Les mécanismes moléculaires impliqués dans le FNMTC ne sont pas entièrement compris mais il est estimé que de multiples facteurs génétiques et environnementaux pourraient contribuer au développement de cette pathologie.

Afin d'identifier de nouveaux gènes candidats susceptibles d'être impliqués dans le FNMTC, un séquençage d'exome complet (WES) a été réalisée sur l'ADN de 11 patients atteints de carcinomes thyroïdiens dont les antécédents familiaux suggéraient une prédisposition familiale au cancer thyroïdien non médullaire (FNMTC). Des approches bio-informatiques ont été menées pour filtrer, sélectionner et identifier les variants génétiques partagés entre ces patients. Une partie de ce travail de thèse a également été axée sur l'exploration du gène FOXE1 dans le but de valider les preuves de la contribution de ce gène à la prédisposition au FNMTC. Nous avons également présenté trois cas familiaux de FNMTC associés à des mutations du gène DICER1, dans lesquels les atteintes thyroïdiennes constituent les seules manifestations cliniques.

Remerciements

Chers membres du jury, chers collègues, chère famille et chers amis,

C'est avec une profonde gratitude que je tiens à exprimer mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse. Le chemin qui m'a conduit jusqu'à ce moment a été marqué par le soutien indéfectible de nombreuses personnes, et je tiens à les honorer.

Tout d'abord, je souhaite remercier ma directrice de thèse, Professeur SAVAGNER. Votre guidance éclairée, votre expertise et votre patience infinie tout au long de cette aventure académique ont été une source d'inspiration constante. Votre confiance en mes capacités a été un pilier essentiel dans mon parcours.

Au Professeur LEVADE, votre présence constante, vos enseignements inestimables, votre gentillesse, votre bienveillance, et votre pédagogie remarquable ont été d'une aide précieuse tout au long de mon voyage académique. Vous avez su non seulement partager vos vastes connaissances, mais aussi incarner l'essence de la passion pour la recherche. Vous êtes un mentor exceptionnel, et je suis honorée d'avoir eu l'opportunité d'apprendre sous votre tutelle.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers les membres du jury, Dr GRUNENWALD et Dr ZERDOUD, pour leur présence et leur évaluation attentive de mon travail.

Un grand merci à mes collègues de laboratoire et à tous ceux qui ont partagé leurs idées, leurs compétences et leur passion pour mon travail. Je souhaite plus particulièrement remercier les techniciens du laboratoire de biologie moléculaire, Nina, Valérie, Élisabeth, Vera, Mathieu, sans qui ce travail n'aurait clairement pas été possible. Votre formation, votre soutien, et votre présence ont été inestimables.

Pour ma famille, je tiens à remercier mes parents, des chercheurs passionnés qui m'ont transmis leur amour pour la recherche. Leur dévouement à l'exploration du savoir et les sacrifices qu'ils ont consentis pour nous offrir une éducation de qualité, à mon frère et à moi, sont des exemples qui m'inspirent chaque jour. Ma mère, véritable pilier de notre famille, ton inlassable détermination, ta force inébranlable, et ta présence sont inestimables. Je n'aurais jamais assez de mots pour te remercier. Mon père, qui a forgé mon amour pour la recherche dès mon plus jeune âge, je t'exprime ma gratitude. Tes précieux conseils, ton soutien constant, et ta conviction en mes capacités ont été essentiels à mon parcours. Enfin, mon frère, qui m'a toujours fait rire, qui a toujours cru en moi et en mes capacités, et qui m'inspire profondément par sa détermination et ses choix de vie exceptionnels. Je te remercie pour ta présence inestimable dans ma vie.

Pour ce qui est de mes amis, je souhaite remercier tous mes amis d'Angers, Charlotte, Claire, Thomas, Lisa, Louis, Soria Alexis, Céline, vous êtes devenus une véritable famille au fil de nos années d'amitié. Votre soutien inébranlable, votre confiance en moi, même dans les moments les plus durs sont inestimables. Je sais que vous deviendrez tous de grands médecins, car vous êtes de grandes personnes. À mes amis de Toulouse, Clément, Aglaé, Clara, Julie, Candice, Jessica, Nicolas's en seulement deux années, vous êtes devenus des personnes extrêmement importantes pour moi. Nous partageons des moments précieux, et je suis reconnaissante de vous avoir dans ma vie.

Merci du fond du cœur pour votre soutien et votre présence à mes côtés tout au long de ce voyage académique. Cette thèse est le fruit de l'effort collectif de nombreuses personnes, et je partage ce succès avec vous tous. Je suis profondément reconnaissante d'avoir eu l'opportunité de travailler sur ce projet.

Avec toute ma gratitude.

Table des matières

I. Introduction	1
1. Données épidémiologiques.....	1
2. Les mécanismes impliqués dans le développement des cancers.....	1
II. La thyroïde	3
1. Anatomie de la thyroïde	3
2. Les hormones thyroïdiennes.....	4
III. Cancer de la thyroïde	6
1. Épidémiologie du cancer thyroïdien	6
2. Facteurs de risque du cancer thyroïdien.....	7
3. Les techniques de diagnostic du cancer thyroïdien	7
4. Les formes de cancer thyroïdien	8
A. Les carcinomes médullaires de la thyroïde.....	8
B. Les carcinomes non médullaires de la thyroïde.....	8
IV. Génétique des carcinomes non médullaires de la thyroïde	9
1. Carcinomes thyroïdiens non médullaires sporadiques	9
2. Carcinomes thyroïdiens non médullaires d'origine familiale	13
A. Les formes syndromiques de FNMTC.....	14
B. Les formes non syndromiques de FNMTC	18
V. Objectifs.....	25
VI. Matériels et Méthodes.....	26
1. Sujets de l'étude	26
2. Échantillons biologiques	28
A. Extraction d'ADN.....	28
B. Recherche ciblée de variants par séquençage NGS	29
3. Procédure de séquençage NGS (next-generation sequencing) et WES (Whole exome sequencing).....	31
4. Analyse bio-informatique :	33
A. Méthode de filtrage des données brutes.....	34
B. Présentation des scores de pathogénicité	35
C. Variants identifiés dans d'autres pathologies congénitales.....	37
5. Séquençage du gène <i>FOXE1</i> par méthode Sanger	38
A. Amplification par polymérisation en chaîne (PCR)	38
B. Contrôle des PCR sur gel d'agarose	39
C. Purification des produits de PCR.....	40
D. Préparation de la réaction de séquence	40
E. Purification de la réaction de séquençage	41
F. Séquençage ABI 5000XL.....	41
VII. Résultats	42
1. Analyse en NGS ciblé	42
2. Analyse des fichiers WES	45

A.	FNMTC syndromique	45
B.	FNMTC non syndromique	47
3.	Filtrage des données de séquençage WES	51
A.	Filtrage des groupes prédisposés aux FNMTC syndromiques.....	52
B.	Filtrage des groupes prédisposés aux FNMTC non syndromiques.....	61
4.	Étude du gène FOXE1	73
VIII.	Discussion.....	75
	Bibliographies.....	87

Figures

Figure 1: Taux d'incidence et de mortalité normalisés selon le sexe dans les pays à indice de développement humain (IDH) chez (A) les hommes et (B) les femmes en 2017. _____	1
Figure 2: "Les marqueurs du cancer : de nouvelles dimensions". Graphique issu de Cancer Discovery, ³ _____	2
Figure 3: Anatomie de la glande thyroïde et structures voisines (Illustration libre de droit) ⁹ _____	3
Figure 4: Schéma de la structure thyroïdienne ¹² . _____	4
Figure 5: Axe thyroïdienne et principaux effets des hormones thyroïdiennes ¹⁶ . _____	5
Figure 6: Taux standardisés selon l'âge de l'incidence spécifique à la région par sexe pour le cancer de la thyroïde en 2020. Source : GLOBOCAN 2020 ¹⁷ _____	6
Figure 7: Voies de signalisation MAPK et PI3K. _____	10
Figure 8: La mutation ponctuelle du promoteur TERT crée un site de liaison pour EBS, régulé positivement par la voie MAPK. L'association d'une mutation BRAF et TERT entraîne une surexpression de TERT. ³⁸ _____	12
Figure 9: Représentation schématisée de la région d'intérêt de FOXE1 sur le chromosome 9 inclut les positions de cartographie des neuf variants testés dans l'artcle ⁸⁸ _____	20
Figure 10: Schéma récapitulatif des variants décrits dans les FNMTC syndromiques et non syndromiques ⁵⁶ . _____	24
Figure 11: Spectre d'extraction ADN _____	28
Figure 12: Présentation des panels NGS Thyroïde et Tumeurs neuroendocrines du laboratoire de biochimie secteur biochimie moléculaire et génétique constitutionnelles du CHU de Toulouse. _____	30
Figure 13: Création d'une librairie par capture NEXTERA FLEXTM _____	32
Figure 14: Méthode de filtrage appliquée aux formes syndromiques et non syndromiques de FNMTC. _____	35
Figure 15: Synthèse de l'ensemble des variants identifiés chez les patients par séquençage WES. _____	50
Figure 16: Méthode de filtrage appliquée aux formes syndromiques et non syndromiques de FNMTC. _____	51
Figure 17: VennDiagram du nombre de variants communs entre les patients du groupe LRG prédisposés aux FNMTC syndromiques. _____	52
Figure 18: Venndiagram comparatif du groupe LRG vs témoins, représentant 45 variants spécifiques au groupe LRG. _____	53
Figure 19: Synthèse des variants identifiés par filtrage WES dans le groupe LRG. _____	53
Figure 20 : VennDiagram du nombre de variants communs entre les deux membres de la famille L. _____	55
Figure 21: Venndiagram comparatif de la famille L1/L2 vs témoins, représentant 422 variants spécifiques à la famille L. _____	56
Figure 22: : VennDiagram du nombre de variants communs entre les patients du groupe SMJT prédisposés aux FNMTC non syndromiques. _____	61
Figure 23: Venndiagram comparatif du groupe SMJT vs témoins, représentant 36 variants spécifiques au groupe SMJT. _____	62
Figure 24: Synthèse des variants identifiés par filtrage WES dans le groupe SMJT. _____	62
Figure 25: VennDiagram du nombre de variants communs entre les deux membres de la famille B. _____	64
Figure 26: Venndiagram comparatif de la famille B1/B2 vs témoins, représentant 492 variants spécifiques à la famille B. _____	65
Figure 27: Graphique de synthèse des mutations identifiés comme potentiellement pathogènes chez les patients par méthode de filtrage WES (les variants ne présentant pas d'informations de scores ne sont pas représentés sur ce graphique ; les scores CADD ont été convertis au dixième) _____	72
Figure 28: Synthèse des SNP du gène FOXE1 identifiés chez les patients et les témoins. _____	74
Figure 29: Réseau d'interaction biologique du chromosome 2 locus 2q11. ¹³⁸ _____	78
Figure 30: Spécificité tissulaire de l'ARN ANKRD36C (Ensemble de données Consensus dataset) ¹⁴³ _____	79
Figure 31: Expression de la protéine tektin4 dans différents types de cancers ¹⁴⁷ . _____	80
Figure 32: Réseau d'interaction protéique de la tektin4 (TEKT4) ¹⁵² . _____	81
Figure 33: Modèle proposée de l'activation de la voie Wnt dans le processus tumoral, une surexpression des récepteurs FZD10 peut entraîner une suractivation de la voie Wnt ¹⁶⁸ _____	84

Tableaux

Tableau 1: Descriptif des caractéristiques cliniques et biologiques des patients incluent dans l'étude	27
Tableau 2: Scores de pathogénicité	37
Tableau 3: Régions amplifiées du gène FOXE1 dans le cadre de l'étude	38
Tableau 4: Variants faux-sens associés au développement de pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient L.	45
Tableau 5: Variant en région codante identifié chez le patient G.	46
Tableau 6: Variant associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient L1.	46
Tableau 7: Variants faux- sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient L2.	46
Tableau 8: Variant synonyme identifié chez le patient L2.	47
Tableau 9: Variant faux-sens associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient S.	47
Tableau 10: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient M.	48
Tableau 11: Variant faux-sens associé aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient J.	48
Tableau 12: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient T.	48
Tableau 13: Variant associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient B1.	49
Tableau 14: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient B2.	49
Tableau 15: Variants synonymes identifiés chez le patient B2	49
Tableau 16: Variant présentant des scores de pathogénicité délétères dans le groupe LRG.	54
Tableau 17: Variants présentant des scores SIFT <0,05 dans le groupe LRG.	54
Tableau 18: Variants ne présentant pas de scores de pathogénicité identifiés dans le groupe LRG.	54
Tableau 19: Variants identifiés avec un score CADD>30 chez les membres de la famille L.	57
Tableau 20: Variants identifiés avec un score CADD>20 et au moins 2 autres scores pathogènes chez les membres de la famille L.	58
Tableau 21: Variants présentant un score SIFT en faveur d'une pathogénicité avérée chez les membres de la famille L	59
Tableau 22: Variants ne présentant pas de score de pathogénicité avérée, mais pouvant être associés aux NMTC syndromique chez les membres de la famille L.	60
Tableau 23: Variant identifié avec un score CADD>30 chez les patients du groupe SMJT.	63
Tableau 24: Variants présentant un score CADD >20 et au moins 1 autre score pathogène chez les patients du groupe SMJT.	63
Tableau 25: Variants présentant un score CADD>20 chez les patients du groupe SMJT.	63
Tableau 26: Variants identifiés avec un score CADD>30 chez les membres de la famille B.	66
Tableau 27: Variants présentant un score CADD >20 et au moins 1 autre score pathogène chez les membres de la famille B.	67
Tableau 28: Variants présentant un score SIFT ou un score PolyPhen en faveur d'une pathogénicité chez les membres de la famille B.	69
Tableau 29 : Variants présentant des scores CADD et PolyPhen associés à des scores MetaLR ou VEST3 en faveur d'une possible pathogénicité chez les membres de la famille B.	70
Tableau 30: Résultats des SNP du gène FOXE1 identifiés chez les patients et les témoins en séquençage Sanger.	73

Index

ABCA4: ATP-Binding Cassette Sub-Family A Member 4
ACSBG1: Acyl-CoA Synthetase Bubblegum Family Member 1
A-RAF: A-Raf Proto-Oncogène, Serine/Thréonine Kinase
AKT : Protéine Kinase B
AKT1 : Protéine Kinase B 1
AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique
ANKRD36B: Ankyrin Repeat Domain 36B
ANKRD36C: Ankyrin Repeat Domain 36C
APC: Adenomatous Polyposis Coli
ATM: Ataxia-Telangiectasia Mutated
B3GAT1: Beta-1,3-Glucuronyltransferase 1
BRAF: B-Raf Proto-Oncogène, Serine/Thréonine Kinase
BRCA1: Breast Cancer 1
BTD: Biotinidase
BRK: Breast receptor kinase
CADD: Combined Annotation Dependent Depletion
CBY3: Chibby Family Member 3
CDC27: Cell Division Cycle 27
CDC42: Cell Division Cycle 42
CHEK2: Checkpoint Kinase 2
CHRNA: Cholinergic Receptor Nicotinic Delta Subunit
CILP : Cartilage Intermediate Layer Protein
CMT : Carcinome Médullaire de la thyroïde
CRKL: CRK Like Proto-Oncogène
CSMD1: CUB and Sushi Multiple Domains 1
CSMD2: CUB and Sushi Multiple Domains 2
DDIT4L: DNA Damage Inducible Transcript 4-Like
DICER1: Dicer 1, Ribonuclease III
DTX2: Deltex E3 Ubiquitin Ligase 2
EPB41L4A: Erythrocyte Membrane Protein Band 4.1 Like 4A
ERK: Extra-cellular signal-Regulated Kinase
FAM178B : Protéine codée par le gène FAM178B
FASTQ: Fast Quality
FCHSD1: FCH and Double SH3 Domains 1
FER: FER Biding Domain
FNMT1: Familial Non-Medullary Thyroid Carcinoma
FOXE1: Forkhead Box E1
FPGS: Folylpolyglutamate Synthase
FZD10: Frizzled Class Receptor 10
GAB1: Grb2-associated-binding protein 1
GAB2: Grb2-associated-binding protein 2
GAP : Protéine activateur de la GTPase Rho SLIT-ROBOT 1
GNAS: Guanine Nucleotide-Binding Protein G(s) Subunit Alpha
GPATCH1: G-patch Domain-Containing Protein 1
GRCh38 (hg38): Genome Reference Consortium human genome build 38

GSTO1: Glutathione S-Transferase Omega 1
HABP2: Hyaluronan-Binding Protein 2
HER2: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HGVSs: Human Genome Variation Society notation
HGVS_p: Human Genome Variation Society Protein notation
HMCN2: Hemicentin-2
IGSF3: Immunoglobulin Superfamily Member 3
IGRF1 : Récepteur de l'Insulin-Like Growth Factor 1
IRS4: Insulin Receptor Substrate 4
KCNJ10: Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 10
KCNJ12: Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 12
KLK5: Kallikrein-Related Peptidase 5
KLLN: Kilamin Inhibitor
KRT35: Keratin 35
KRT39: Keratin 39
LDLRAD2: Low-Density Lipoprotein Receptor Class A Domain-Containing Protein 2
LOXL4: Lysyl Oxidase-Like 4
MAML3: Mastermind Like Transcriptional Coactivator 3
MAPK : Kinase activée par les mitogènes
MAP2K5: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 5
MEK: Mitogen-activated Extracellular signal-regulated Kinase
MFSD4A: Major Facilitator Superfamily Domain-Containing Protein 4A
MST1: Macrophage Stimulating 1
MUC6: Mucin 6
MUC12: Mucin 12
miARN: MicroARN, acide ribonucléique messenger
mTOR: Mammalian Target of Rapamycin
MYH9: Myosin Heavy Chain 9
NCAPH2: Non-SMC Condensin II Complex Subunit H2
NGS : Séquençage de nouvelle génération
NIS : Co-transporteur Sodium-Iodure
NKX2-1: NK2 Homeobox 1
NOP2: Nucleolar Protein 2
NMTC: Non-Medullary Thyroid Carcinoma
OR2T2: Olfactory Receptor Family 2 Subfamily T Member 2
OR2T12: Olfactory Receptor Family 2 Subfamily T Member 12
OR11H12: Olfactory Receptor Family 11 Subfamily H Member 12
PAPC3: Poly(A) RNA Polymerase C3
PAX8 : Paired Box 8
PCR : Réaction en chaîne par polymérase
PI3K-AKT: Phosphoinoside-3-kinase – Protéine kinase B
PIP2: Phosphatidylinositol biphosphate
PIP3: Phosphatidylinositol triphosphate
PKD1L2: Polycystic Kidney Disease 1 Like 2
PLEKHG5: Pleckstrin Homology and RhoGEF Domain Containing G5
PolyPhen: Polymorphism Phenotyping
PPARGC1B: PPARG Co-activator 1 Beta

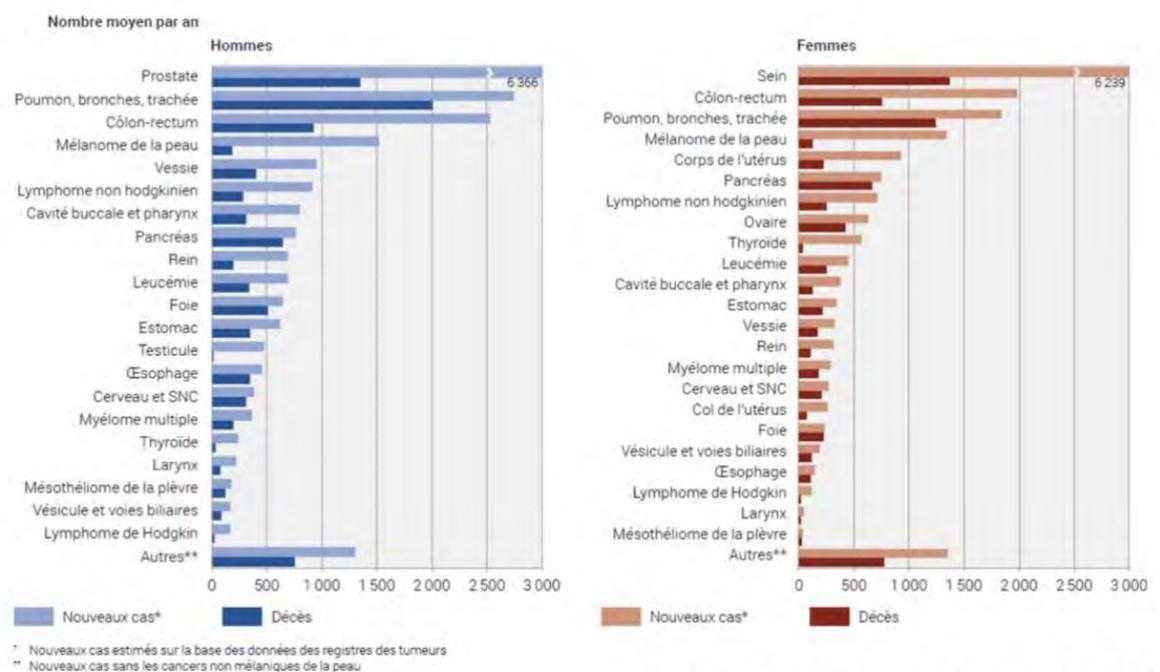
PRKAR1a : Protéine régulatrice associée à la kinase A activée par le cyclique
PTC : Carcinomes Thyroïdiens Papillaires
PRPF40B : Pre-mRNA Processing Factor 40B
PTC2 : Deuxième type de carcinomes papillaires de la thyroïde
PTCSC2: Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 2
PTCSC3: Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3
PTEN: Phosphatase and Tensin homologue
PRR29: Proline-Rich 29
RELL2: Receptor-Expressed in Lymphoid Tissues-Like 2
RET : Proto-Oncogène de Tyrosine Kinase réarrangé
ROBO4: Roundabout Homolog 4
RTC/PTC: Rearranged During Transfection/Papillary Thyroid Carcinoma
SCNN1D: Sodium Channel Non-Voltage-Gated 1 Delta Subunit
SEC23B: SEC23 homolog B, coat complex II component
SIFT: Sorting Intolerant from Tolerant
SLC6A15: Solute Carrier Family 6 Member 15
SLC26A4: Solute Carrier Family 26 Member 4
SLCT : Tumeurs de cellules de Sertoli-Leydig
SMPD1 : Sphingomyéline Phosphodiesterase 1
SNP: Single Nucleotide Polymorphism
SPINT1: Serine Peptidase Inhibitor, Kunitz Type 1
SRRM2: Serine/Arginine Repetitive Matrix 2
TCO: Thyroid Transporter
TEKT4: Tektin-4
TEKT4P2: Tektin-4 Pseudogene 2
TERT: Telomerase Reverse Transcriptase
TIAM1: T-cell lymphoma invasion and metastasis 1
TITF1: Thyroid Transcription Factor 1
TP53: Tumor Protein P53
TPO : Thyroperoxydase
TSH : Thyroestimuline Hypophysaire
TSHB : Sous-unité bêta de la thyroestimuline
TTR : Transthyréine
USF1/ USF2 : Facteurs de Stimulation 1 et 2 de la structure "leucine zipper"
USP54: Ubiquitin-Specific Peptidase 54
USP17L1: Ubiquitin Specific Peptidase 17 Like Family Member 1
USP17L22: Ubiquitin Specific Peptidase 17 Like Family Member 22
UTR : Région non transcrite du gène
VCF: Variant Call Format
VEST3_rankscore: Variant Effect Scoring Tool
WES : Séquençage Complet de l'Exome
XYLB : Xylosyltransferase II
XPC : Xeroderma Pigmentosum Groupe C

A supprimer

I. Introduction

1. Données épidémiologiques

Le cancer est l'une des principales causes de mortalité et de morbidité dans le monde. Il représente la deuxième cause de décès dans le monde avec près de 10 millions de morts par an¹. En 2023, 433 136 nouveaux cas de cancers ont été diagnostiqués en France métropolitaine (57% chez les hommes et 43% chez les femmes)². C'est une maladie complexe, dont les mécanismes physiopathologiques restent en partie incompris, se manifestant en raison de dysfonctionnements dans les processus contrôlant la croissance, la prolifération, la différenciation et la mort cellulaire³.



Sources: ONEC – Nouveaux cas; OFS – Décès

Figure 1: Taux d'incidence et de mortalité normalisés selon le sexe dans les pays à indice de développement humain (IDH) chez (A) les hommes et (B) les femmes en 2017⁴.

2. Les mécanismes impliqués dans le développement des cancers

Le cancer est une maladie complexe qui peut se présenter sous différentes formes et affecter différents organes ou tissus du corps humain. Malgré cette grande diversité, il est établi que

la plupart des cancers partagent des caractéristiques communes, connues sous le nom de « hallmarks » décrit par l'American Association for Cancer Research (AACR)⁵.

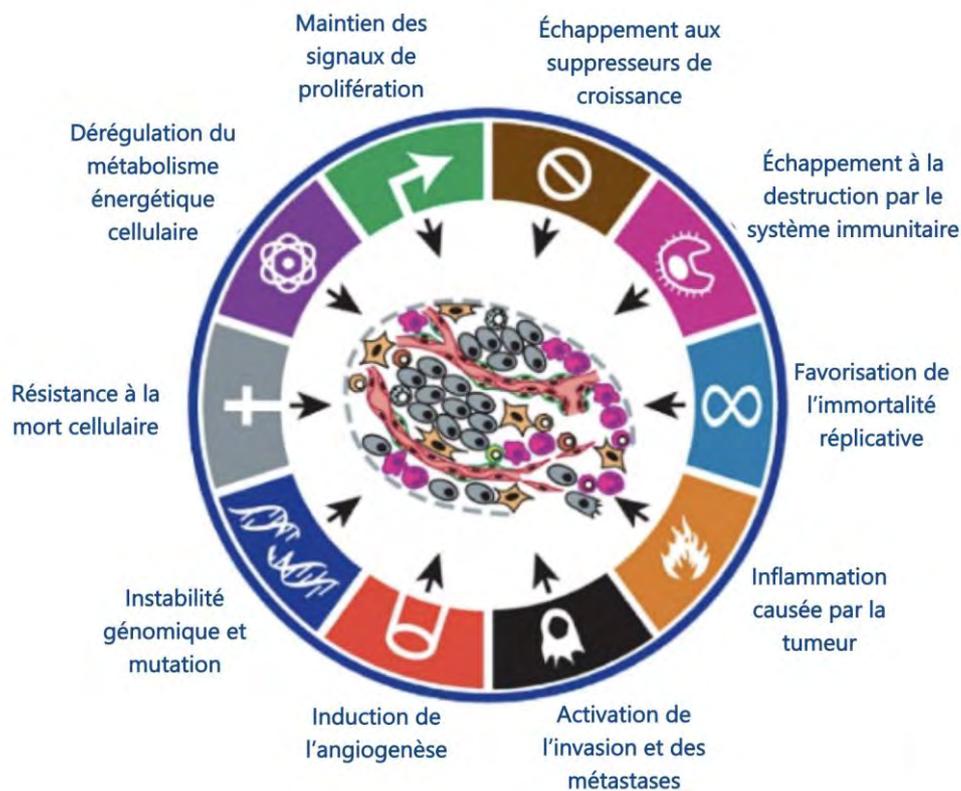


Figure 2: "Les marqueurs du cancer : de nouvelles dimensions". Graphique issu de *Cancer Discovery*,⁵

L'acquisition progressive et successive de ces caractéristiques clés permet la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses, favorisant leur survie, leur prolifération et leur dissémination métastatique⁶. Les « hallmarks » du cancer décrits dans la figure 2 incluent des phénomènes tels que la résistance à la mort cellulaire programmée (apoptose), l'angiogenèse, l'invasion des tissus environnants, la capacité à échapper au système immunitaire, l'inflammation et l'instabilité génomique.⁴

La tumorigenèse est un processus en plusieurs étapes qui résulte d'une combinaison de facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux associés à une altération des mécanismes de réparation de l'ADN⁷. Ce processus implique de nouvelles caractéristiques biologiques découlant de l'accumulation d'altérations génétiques au sein de l'ADN nucléaire.

Ces altérations telles que les mutations ponctuelles, les délétions, les amplifications, les insertions ainsi que les réarrangements chromosomiques, touchent principalement des oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeurs impliqués dans la prolifération, la différenciation ou la mort cellulaire⁶. Les proto-oncogènes conduisent à un gain de fonction et confèrent un avantage de croissance sélective à la cellule tumorale⁸. Les altérations des gènes suppresseurs de tumeurs conduisent à la perte de l'inhibition de la croissance cellulaire, ce qui favorise la prolifération des cellules tumorales⁹.

L'identification de ces classes de gènes a permis de mieux comprendre les mutations génétiques directement liées à la formation de cancers. Dans la plupart des situations, ces mutations sont somatiques, spécifiques des cellules cancéreuses et ne se transmettent pas aux enfants de patients atteints. Cependant, il est de plus en plus fréquent que des modifications génétiques soit héritées, engendrant une prédisposition familiale au cancer.

II. La thyroïde

1. Anatomie de la thyroïde

La glande thyroïde est une glande endocrine située au niveau de la partie antérieure du cou. La fonction principale de la glande thyroïde est de synthétiser et de libérer les hormones thyroïdiennes T4 (thyroxine) et T3 (triiodothyronine) ainsi que la calcitonine. Ces hormones régulent le métabolisme basal, la croissance et le développement du corps, et sont également impliquées dans la régulation de la température corporelle¹⁰.

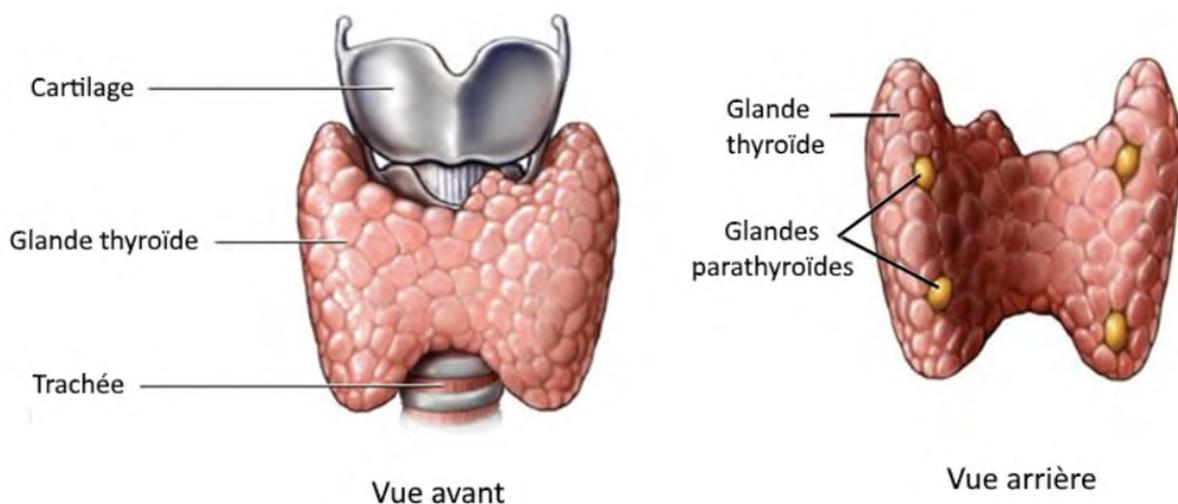


Figure 3: Anatomie de la glande thyroïde et structures voisines (Illustration libre de droit)¹¹

La glande thyroïde a une forme de papillon, avec deux lobes latéraux reliés par un isthme. Elle pèse en moyenne de 20 à 30 g et se situe en profondeur sous les muscles sternothyroïdien¹². Elle est accessible à la palpation pour l'exploration d'une glande hypertrophiée ou contenant des nodules¹³.

La glande thyroïde est recouverte d'une capsule de tissu conjonctif lâche qui envoie des septa dans le parenchyme. Microscopiquement, la glande contient des follicules thyroïdiens qui mesurent de 0,2 à 0,9 mm de diamètre remplis de colloïde riche de thyroglobuline. Les follicules sont composés de cellules folliculaires (ou thyrocytes) organisées en une seule couche de cellules épithéliales simples¹⁴.

Les cellules C, ou cellules parafolliculaires, se situent entre les follicules et produisent l'hormone calcitonine. Ces cellules sont souvent regroupées en amas isolés entre les follicules thyroïdiens. L'hormone calcitonine est impliquée dans la régulation du métabolisme du calcium et inhibe la résorption du tissu osseux¹⁴.

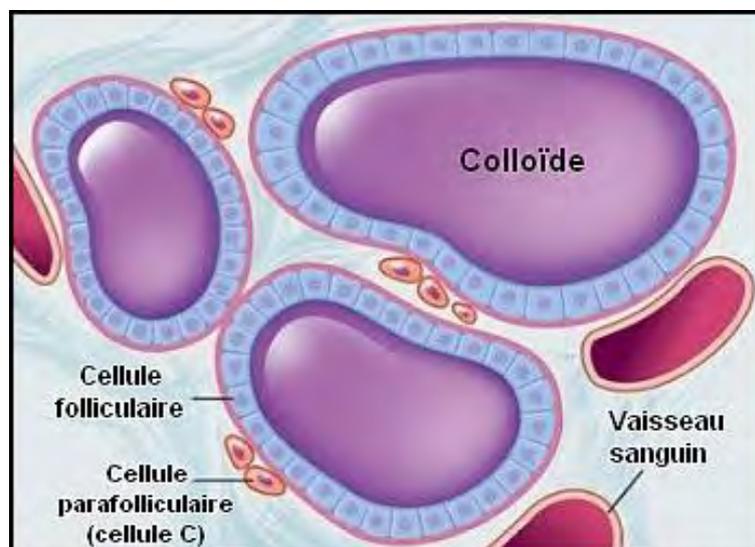


Figure 4: Schéma de la structure thyroïdienne¹⁴.

2. Les hormones thyroïdiennes

La thyroïde synthétise et sécrète les hormones thyroïdiennes T3 et T4. L'iodure est transporté activement dans les cellules folliculaires de la thyroïde grâce au co-transporteur sodium-iodure (NIS) et est ensuite libéré dans la lumière centrale, grâce à la pendrine¹⁵. Les

iodotyrosines, les résidus tyrosine de la thyroglobuline iodés grâce à la thyroperoxydase (TPO), s'associent dans le colloïde pour former la T3 et T4, qui sont ensuite libérées dans les tissus périphériques¹⁶. La production et la libération des hormones T3 et T4 sont régulées positivement par la thyroestimuline hypophysaire (TSH) et négativement par les hormones thyroïdiennes circulantes. Environ 99,8% des hormones T3 et T4 circulantes sont liées à des protéines de transport : la thyroxine-binding globulin (TBG), la transthyrétine (TTR) ou préalbumine et l'albumine, mais seule la fraction d'hormone libre peut pénétrer dans les cellules et exercer ses effets¹⁷.

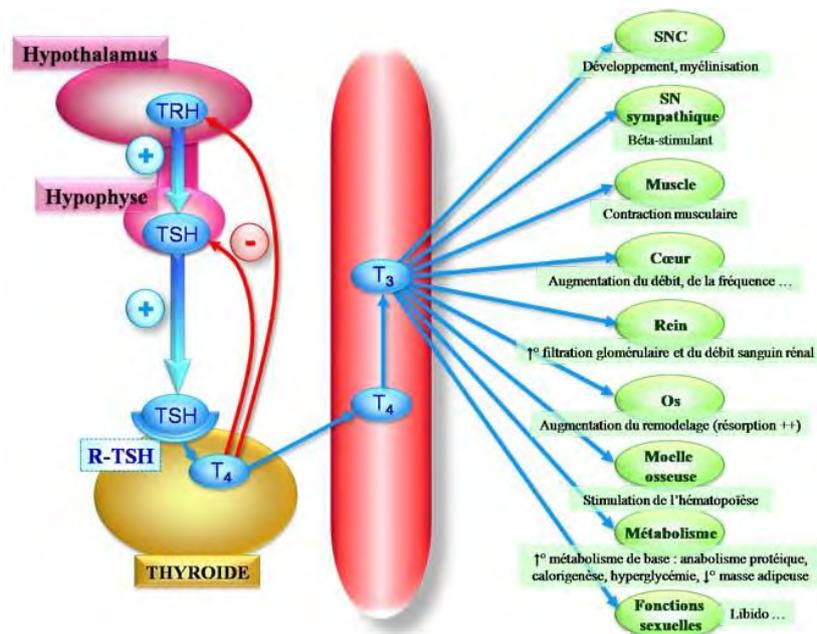


Figure 5: Axe thyroïdienne et principaux effets des hormones thyroïdiennes¹⁸.

Les effets des hormones thyroïdiennes impliquent classiquement leur liaison aux récepteurs nucléaires des hormones thyroïdiennes (TR), qui appartiennent à la superfamille des récepteurs hormonaux nucléaires. Les TR se lient à des éléments de réponse spécifiques, présents dans la séquence des promoteurs de gènes cibles dont la transcription est activée ou réprimée en réponse aux hormones. La T3 se lie à ces récepteurs nucléaires spécifiques, induisant plusieurs effets fonctionnels selon les tissus. La régulation de l'expression des gènes peut ainsi conduire, entre autres, à la stimulation de la néoglucogénèse hépatique, la lipogénèse, le remodelage osseux et à la synthèse protéique (figure 5). Elle influence

également le développement du système nerveux central chez le fœtus, ainsi que le développement squelette-pondéral après la naissance.

III. Cancer de la thyroïde

1. Épidémiologie du cancer thyroïdien

Le cancer de la thyroïde est la tumeur maligne la plus courante du système endocrinien. En 2020, l'Organisation Mondiale de la Santé estime que plus de 586 202 nouveaux cas de cancers de la thyroïde ont été diagnostiqués dans le monde, tout sexe confondu, avec 43 646 décès¹⁹. En France, pour l'année 2018, le nombre estimé de nouveaux cas de cancers de la thyroïde était de 10 665 dont 2 600 chez les hommes et 8 065 chez les femmes. Le nombre estimé de décès par cancers de la thyroïde était de 386 dont 159 chez les hommes et 227 chez les femmes pour cette même année²⁰.

L'incidence du cancer de la thyroïde varie considérablement selon le sexe, l'âge et le pays. Les femmes ont environ trois fois plus de risque de développer un cancer de la thyroïde que les hommes, et l'incidence est plus élevée chez les personnes de plus de 45 ans²¹. En outre, il existe des différences géographiques importantes : les taux les plus élevés ont été observés en Amérique du Nord, en Australie et en Nouvelle-Zélande, tandis que les taux les plus bas ont été signalés dans les pays africains (Figure6)¹⁹.

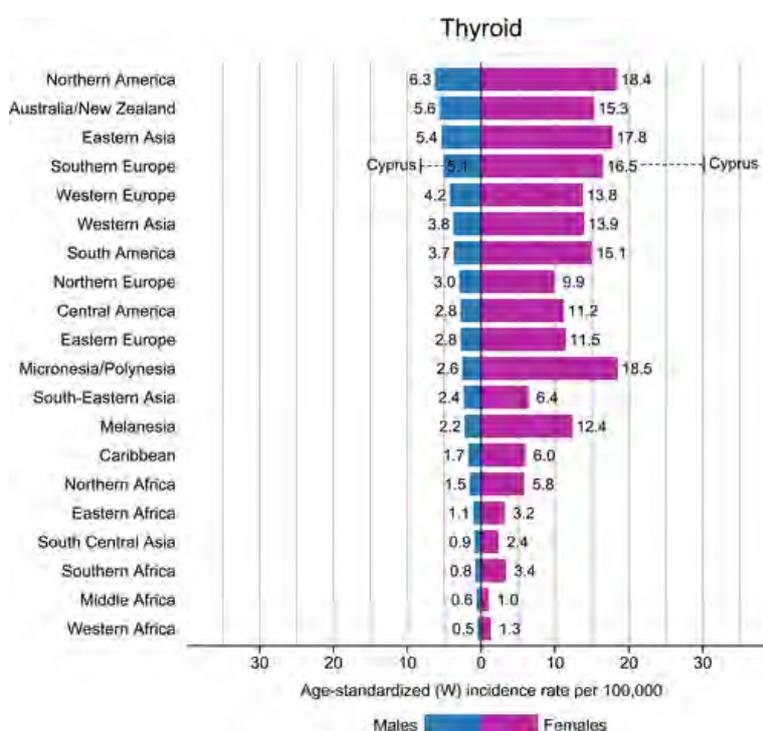


Figure 6: Taux standardisés selon l'âge de l'incidence spécifique à la région par sexe pour le cancer de la thyroïde en 2020. Source : GLOBOCAN 2020¹⁹

2. Facteurs de risque du cancer thyroïdien

Les facteurs de risque liés au développement du cancer de la thyroïde sont variés et incluent des éléments tels que le sexe et l'âge comme décrit précédemment, mais aussi les antécédents familiaux de cancer de la thyroïde, l'exposition aux produits chimiques environnementaux, l'alcool, le tabagisme et les déséquilibres hormonaux. Le cancer de la thyroïde est donc une pathologie multifactorielle. Cependant, deux facteurs de risque sont exclusivement associés aux cancers de la thyroïde : l'exposition naturelle, médicale ou accidentelle aux radiations ionisantes et les carences en iode²².

Le risque de développer un cancer de la thyroïde à la suite d'une exposition aux radiations ionisantes dépend à la fois de la dose reçue et de l'âge au moment de l'exposition. L'irradiation externe est responsable de 88 % des cas de cancers de la thyroïde qui se développent chez les individus ayant reçu une dose de 1 Gy pendant l'enfance²³. Par ailleurs, la carence en iode entraîne une diminution de la synthèse en hormone thyroïdienne, conduisant à une hyperplasie compensatoire de la thyroïde. Cette carence en iode est un facteur de risque avéré de goitre multinodulaire (GMN)²². Les antécédents personnels de GMN et de nodules thyroïdiens bénins augmentent le risque de développer un cancer de la thyroïde, soulignant ainsi l'importance de leur détection précoce.

3. Les techniques de diagnostic du cancer thyroïdien

L'augmentation de l'incidence du cancer de la thyroïde est associée à l'augmentation de la longévité de la population, mais aussi à une meilleure détection de petites tumeurs bénignes et malignes grâce aux techniques de diagnostic. Le diagnostic du cancer de la thyroïde repose sur une variété de techniques permettant de déterminer avec précision la présence de tumeurs malignes dans la glande thyroïde. L'échographie et le bilan biologique sont systématiques. L'échographie thyroïdienne permet de caractériser les nodules ou les masses suspectes dans la glande. Le bilan biologique mesure les taux de TSH (0,4-4mUI/l), de calcitonine, d'ACE, de parathormone, de phosphore et de calcium²⁴. Une fois détectés, ces nodules sont souvent soumis à une cytoponction à l'aiguille fine, une procédure de biopsie visant à évaluer leur caractère bénin ou malin par des examens complémentaires immunocytochimiques et/ou de biologie moléculaire²⁵. Les examens de scintigraphie

thyroïdienne à l'iode 123 sont également utiles pour déterminer l'activité thyroïdienne et identifier les zones anormales. Enfin, l'imagerie médicale, comme la tomodensitométrie ou l'IRM, peut être employée pour évaluer l'extension de la maladie dans les tissus environnants²⁴. De plus, il est essentiel de souligner que la prédisposition génétique joue un rôle crucial dans la susceptibilité au cancer thyroïdien, et un dépistage génétique peut être proposé pour les individus et les familles présentant un risque génétique accru.

4. Les formes de cancer thyroïdien

Les cancers de la thyroïde peuvent être classés en deux grands groupes, en fonction des cellules thyroïdiennes à partir desquelles ils se développent.

A. Les carcinomes médullaires de la thyroïde

Les carcinomes médullaires de la thyroïde (CMT), rares, représentent environ 5% des cas. Ils se développent à partir des cellules C de la thyroïde²⁶. Ils ont tendance à être plus agressifs que les autres types de cancers thyroïdiens, et ils peuvent se propager rapidement. Les CMT ont une prédisposition familiale dans 25% des cas, généralement associés à des mutations dans le proto-oncogène RET²⁷. La chirurgie est le traitement principal, mais une thérapie ciblée peut également être proposée pour traiter les formes avancées²⁸. Le taux de survie à cinq ans pour le carcinome médullaire varie selon le stade de la maladie et les autres facteurs de risques²⁹.

B. Les carcinomes non médullaires de la thyroïde

Les carcinomes non médullaires de la thyroïde, plus fréquents, sont classés en trois sous-types : le carcinome thyroïdien différencié, le carcinome peu différencié et le carcinome anaplasique indifférencié (ATC)³⁰. Les carcinomes différenciés sont les plus courants, représentant 90% des cas et regroupent les carcinomes thyroïdiens papillaires (PTC) et folliculaires (FTC)³¹. Ces tumeurs se développent à partir des cellules folliculaires de la thyroïde.

Le carcinome papillaire est le plus fréquent et le moins agressif, représentant environ 85% de tous les cas de cancers de la thyroïde³². Les sous types de PTC incluent le PTC classique, le PTC à variante folliculaire, le PTC à cellules hautes et quelques variantes rares³³. Il peut être multifocal et métastaser dans les ganglions lymphatique chez 1/3 des patients mais il est généralement associé à un excellent pronostic et les taux de survie à dix ans sont supérieurs à 90%³². Ce type de tumeurs nécessitent souvent un traitement par thyroïdectomie totale ou quasi-totale avec destruction post-opératoire du tissu thyroïdien résiduel par irathérapie et/ou curithérapie²¹.

Le carcinome folliculaire est le deuxième type le plus fréquent et représente environ 10% des cas de cancer de la thyroïde³². Il a tendance à être plus agressif et peut être plus difficile à traiter.

Le carcinome anaplasique est le type le plus rare et le plus agressif, représentant 2% à 5% de tous les cas de cancer de la thyroïde³². Le carcinome anaplasique est souvent associé à un mauvais pronostic et les taux de survie à cinq ans sont inférieurs à 10%³².

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes concentrés sur les carcinomes non médullaire de la thyroïde.

IV. Génétique des carcinomes non médullaires de la thyroïde

1. Carcinomes thyroïdiens non médullaires sporadiques

Des études ont permis de mettre en évidence que la plupart des altérations génétiques dans le cancer de la thyroïde non médullaire impliquent les effecteurs de deux voies de signalisation des récepteurs de tyrosine kinase (RTK) : la voie MAPK (Kinase activée par les mitogènes) plus fréquemment dans les carcinomes papillaires et la voie PI3K-AKT (Phosphoinoside-3-kinase – Protéine kinase B) dans les carcinomes vésiculaires^{34, 35}.

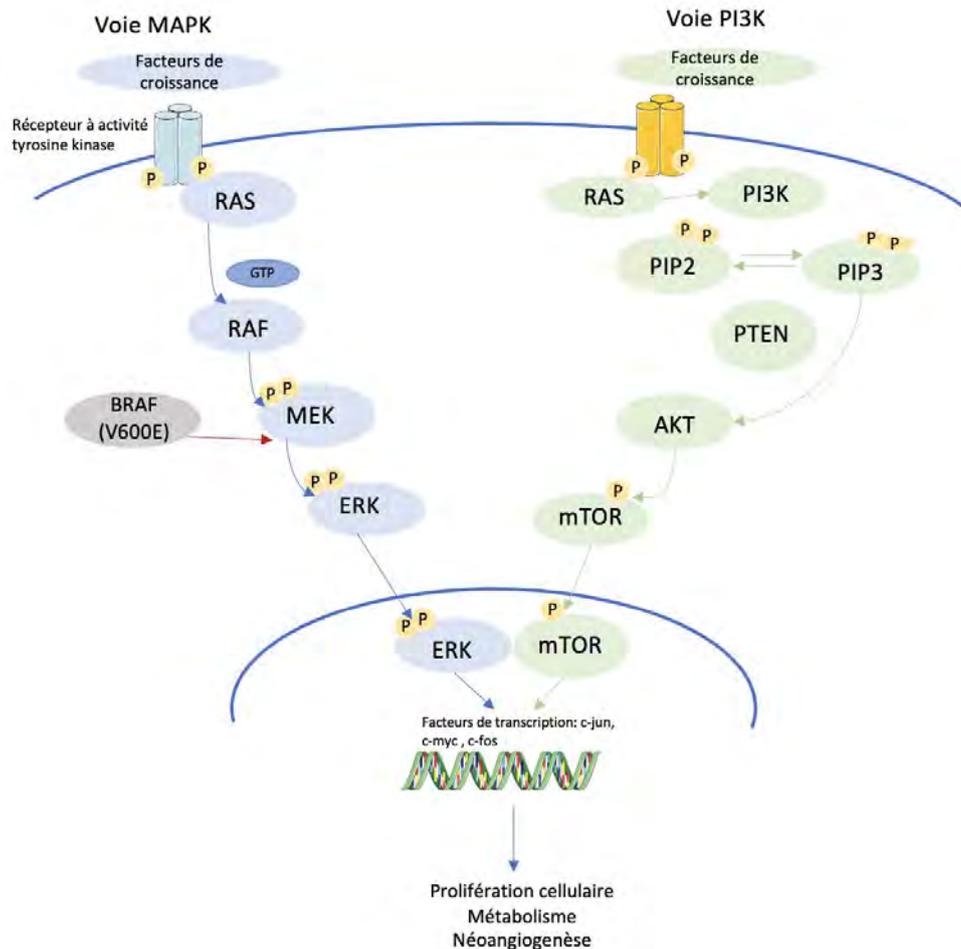


Figure 7: Voies de signalisation MAPK et PI3K.

Les voies MAPK et PI3K sont activées en réponse à une stimulation cellulaire par des facteurs de croissance. La voie des MAPK implique une séquence d'activation des protéines RAS (Rat Sarcoma), RAF (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma), MEK (Mitogen-activated Extracellular signal-regulated Kinase) et ERK (Extra-cellular signal-Regulated Kinase) par le biais d'une cascade de phosphorylation. L'activation de la PI3K par RAS conduit à la conversion du phosphatidylinositol biphosphate (PIP2) en phosphatidylinositol triphosphate (PIP3). PTEN (Phosphatase and TENSin homologue) a la capacité d'inhiber la PI3K. PIP3 recrute ensuite la sérine/thréonine kinase AKT (AKR T cell lymphoma), qui phosphoryle et active de nombreuses cibles dont mTOR (mammalian Target of Rapamycin). ERK ou mTOR activent des facteurs de transcription qui régulent l'expression de nombreux gènes, dont certains sont impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire, le métabolisme et la néoangiogenèse³⁶.

Les mutations décrites dans ces deux voies sont des réarrangements chromosomiques impliquant les récepteurs à activité tyrosine kinase, des mutations ponctuelles activatrices des trois oncogènes RAS (HRAS, NRAS, KRAS) et des mutations activatrices de l'oncogène BRAF.

La famille RAF se compose de trois kinases : A-RAF, B-RAF et C-RAF³⁷. La mutation la plus couramment décrite est la mutation ponctuelle p.V600E dans le gène *BRAF* (B-Raf Proto-Oncogène, Serine/Thréonine Kinase) qui active la protéine BRAF et qui conduit à une activation constante de la voie MAPK entraînant la prolifération cellulaire³⁴. Cette mutation est présente dans 45% des cas de cancer papillaire de la thyroïde (PTC) et est plus fréquente dans les formes les plus agressives. Elle est rarement observée dans les cas de cancer thyroïdien folliculaire ou de nodules thyroïdiens bénins³⁸. Les patients atteints de PTC présentant cette mutation ont un risque accru de récurrence de la maladie et de mortalité, en particulier après l'âge de 45 ans³².

Les mutations p.C228T et p.C250T dans la région promotrice du gène de la Télomérase Humaine (*TERT*)³⁵ ont été retrouvées en moyenne dans 10,6 % des échantillons de carcinome papillaire de la thyroïde (PTC), 15,1% dans le carcinome folliculaire (FTC)³⁹. Ces mutations créent des sites de liaison pour des facteurs de transcription de la famille EBS (Ets binding sites) régulés positivement par la voie MAPK⁴⁰. Des études ont montré une coexistence de mutations dans les gènes *TERT* et *BRAF* provoquant une surexpression de TERT. Cette association estimée à 6,9 % des cas de PTC est plus fréquente chez des patients plus âgées, avec des tumeurs de plus grande taille et à des stades plus avancés⁴¹. Bien qu'il n'y ait pas de corrélation statistiquement significative entre la présence de mutation dans ces deux gènes et l'occurrence de métastases ganglionnaires dans le PTC, la coexistence de *TERT* p.C228T et *BRAF* p.V600E est associée à une plus grande récurrence du cancer papillaire de la thyroïde⁴².

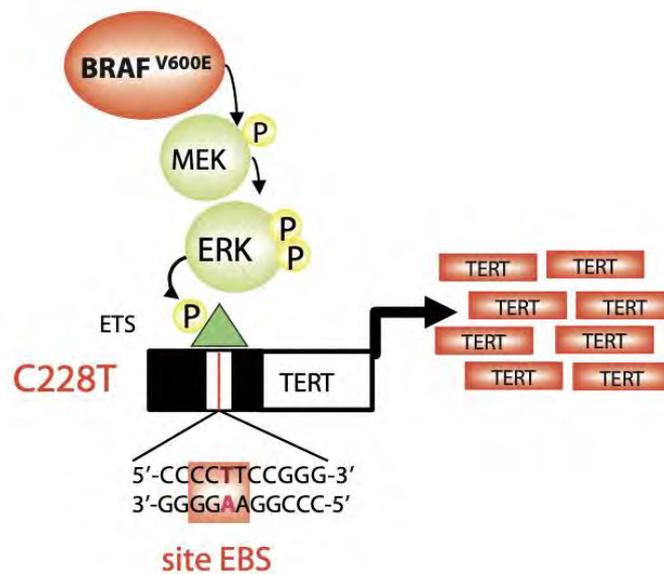


Figure 8: La mutation ponctuelle du promoteur TERT crée un site de liaison pour EBS, régulé positivement par la voie MAPK. L'association d'une mutation BRAF et TERT entraîne une surexpression de TERT.⁴⁰

Les mutations *RAS* constituent la deuxième cause la plus fréquente de carcinomes thyroïdiens⁴⁰. Les gènes *RAS* codent pour des protéines GTPase localisées à la surface interne de la membrane cellulaire et transmettent les signaux des Récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK) par plusieurs voies de signalisation, dont les voies MAPK, PI3K-AKT. Les mutations ponctuelles activatrices des gènes *RAS* sont variables, mais elles semblent être plus fréquentes dans *NRAS*⁴³ et dans les codons 12, 13 et 61 des gènes *RAS*⁴⁴. Ces mutations sont plus fréquentes dans les carcinomes folliculaires de la thyroïde où elles sont présentes chez 25% des patients, mais aussi dans les carcinomes peu différenciés de la thyroïde dans 20% à 40% des cas⁴⁵. Malgré leur association fréquente avec une histologie plus agressive, les tumeurs présentant des mutations *RAS* ont en réalité un meilleur pronostic, car elles sont rarement liées à une extension extra-thyroïdienne ou à des métastases lymphatiques régionales ou distantes⁴⁵.

De plus, les mutations affectant *TP53*, un gène suppresseur de tumeur ont également été observées chez les patients atteints de cancer de la thyroïde. Les altérations de *TP53* peuvent entraîner une prolifération cellulaire incontrôlée et une résistance à la mort cellulaire programmée, ce qui favorise la progression du cancer vers un état dédifférencié. Des

mutations du gène *TP53* sont plus fréquemment associées aux carcinomes peu différenciés de la thyroïde (20-30%)⁴⁶.

Des réarrangements chromosomiques touchant ces deux voies de signalisation sont également décrits dans le cancer de la thyroïde, notamment les réarrangements *RET/PTC*⁴⁷. Les réarrangements *RET/PTC* sont spécifiques du cancer de la thyroïde et sont plus fréquentes dans les tumeurs de la thyroïde de type papillaire⁴⁷. Les réarrangements *RET* surviennent lorsque le domaine de tyrosine kinase *RET* fusionne avec la partie N-terminal de différents gènes, créant des oncogènes chimériques appelés *RET/PTC*. Au moins 15 variants différentes de *RET/PTC* ont été recensés, impliquant des réarrangements avec 10 gènes distincts⁴⁸. Ces mutations entraînent une stimulation chronique de la signalisation *MAPK* et peuvent être activés par des cassures de l'ADN générées le plus souvent par exposition aux radiations. Leur fréquence varie aussi en fonction du sexe, de l'âge, des zones géographiques⁴⁸. Il convient également de noter que les mutations *RET/PTC* ne sont pas la seule cause de réarrangement chromosomique dans le cancer de la thyroïde. D'autres réarrangements tels que les réarrangements *RET/TFG*, *NTRK* dans les *PTC*⁴⁹ et *PAX8/PPAR γ* dans les *FTC*⁵⁰ ont également été identifiés comme jouant un rôle important dans la pathogenèse thyroïdienne.

En outre, ces mutations incluent également des modifications dans d'autres voies de signalisation associées au cancer de la thyroïde. Notamment la voie *WNT*- β -caténine, associée à la régulation de la prolifération, de la survie et de la différenciation cellulaire⁵¹. La voie de signalisation *NF- κ B* (Factor Nuclear Factor-kappa B) qui contribue à l'inflammation, à la protection contre le stress oxydatif et à la régulation de gènes anti-apoptotiques⁵². La voie *JNK*, qui active le facteur de transcription *c-Jun*³⁷. En plus de participer au processus de tumorigenèse, les éléments constitutifs de ces voies de signalisation représentent les principales cibles thérapeutiques pour le cancer de la thyroïde, d'où l'importance de comprendre en détail leur mode de fonctionnement.

2. Carcinomes thyroïdiens non médullaires d'origine familiale

La majorité des carcinomes thyroïdiens sont sporadiques, néanmoins, certains peuvent se présenter sous forme familiale, connue sous le nom de *FNMT*C (Familial Non Medullary

Thyroid Carcinoma). Les formes familiales de NMTC représentent environ 5-15% de tous les cas de NMTC⁵³. Le FNMTC est actuellement défini par le diagnostic de trois ou plusieurs apparentés au premier degré atteints d'un cancer non médullaire de la thyroïde, développé dans l'enfance ou avant l'âge de 30 ans. Parmi les FNMTC, le PTC est le sous-type histologique le plus fréquent (85% à 91%), suivi du carcinome peu différencié (2% à 15%), du FTC (6 à 9,7%), du carcinome de Hürthle (2%) et enfin de l'ATC (1,6%)⁵³.

D'après plusieurs études, le cancer de la thyroïde est considéré comme l'un des cancers les plus héréditaires, avec un risque familial 5 à 10 fois plus élevé que le cancer du sein ou du côlon⁵⁴. Une étude menée à Taiwan par Liu et al. a révélé que les membres de la famille au premier degré des patients atteints de NMTC avaient un risque 5,47 fois plus élevé de développer la maladie par rapport à la population générale⁵⁵. En Norvège, une étude a montré que le rapport de risque familial pour le cancer médullaire de la thyroïde chez les parents du premier degré était de 5,2 pour les hommes et de 4,9 pour les femmes⁵⁶. L'étude menée par Joo Park et al. rapporte que les patients atteints de forme familiale de NMTC ont un taux de récurrence plus important que celui du NMTC sporadique (35,6 % vs 19,8 %) et que la deuxième génération est diagnostiquée à un âge plus précoce (38±11 vs 57±11 ans), présente plus d'invasion extra-thyroïdienne (57,8% vs 29,4%), un taux plus élevé de métastases ganglionnaires et de thyroïdite d'Hashimoto⁵⁷. Ces résultats soulignent l'importance d'une détection précoce des patients prédisposés au FNMTC.

Les FNMTC peuvent se manifester de manière isolée ou sous forme syndromique. On peut classer les formes syndromiques de FNMTC en deux grands groupes, selon que le cancer de la thyroïde est la manifestation clinique principale ou non. Les formes syndromiques de FNMTC comprennent plusieurs maladies héréditaires bien caractérisées.

A. Les formes syndromiques de FNMTC

Le syndrome de DICER1 est une maladie génétique de transmission autosomique dominante qui augmente la prédisposition à des tumeurs bénignes et malignes affectant divers organes. Les mutations germinales dans *DICER1* (14q32.13) sont décrites dans des cas de cancers pulmonaires, de tumeurs stromales gastro-intestinales, de cancers pancréatiques, de goitres multinodulaires (GMN), de cancer de la thyroïde différencié (DTC), de cancer de la

parathyroïde, de tumeurs des cellules de Sertoli-Leydig (SLCT) et de cancers testiculaires. Le gène *DICER1* codant pour une Ribonucléase de type III est essentiel pour la maturation des micro-ARN (petites molécules d'ARN non codantes), qui peuvent réguler négativement l'expression génique au niveau post-transcriptionnel. La perte de fonction de *DICER1* perturbe la production de ces miARN nécessaires à la différenciation et au fonctionnement normal de la thyroïde⁵⁸. Le locus où le gène *DICER1* a été identifié, a été initialement cartographié dans une famille canadienne avec 18 cas de GMN, avec une association de SLCT⁵⁹. Khan et al. ont rapporté un risque 16 fois plus élevé de développer un cancer de la thyroïde chez les porteurs de mutations germinales et somatiques du gène *DICER1*⁶⁰. Néanmoins, il semble que les cancers thyroïdiens différenciés (PTC, FTC) isolés soient rarement observés chez les personnes atteintes du syndrome de DICER1. La plupart des cas de cancers de la thyroïde ont été rapportés à la suite de radiothérapie et/ou de chimiothérapie en raison d'une malignité associée⁶¹. Des mutations germinales dans ce gène ont néanmoins été rapportées dans une famille atteinte d'une mutation *DICER1* n'ayant pas d'antécédant de chimiothérapie, avec 5 cas GMN, dont 4 avaient également des DTC et 2 SLCT⁶².

La polypose adénomateuse familiale (FAP) et le syndrome de Gardner sont deux syndromes de transmission autosomique dominante associés aux mutations germinales du gène suppresseur de tumeur *APC* (locus 5q22.2)⁶³. Le gène *APC* joue un rôle de régulateur dans la voie de signalisation WNT- β -caténine, et la perte de sa fonction dans ces syndromes conduit à une activation inappropriée de cette voie⁶⁴. Ces syndromes se caractérisent par le développement précoce de multiples polypes gastro-intestinaux et par une prédisposition aux carcinomes colorectaux, aux carcinomes ampullaires, aux hépatoblastomes et aux médulloblastomes. Dans le syndrome de Gardner les manifestations extra-intestinales se caractérisent par des ostéomes du crâne et de la mâchoire, des desmoïdes de la paroi abdominale et de la poitrine, ainsi qu'une hypertrophie congénitale de l'épithélium pigmentaire de la rétine⁶⁵. La prévalence du PTC dans ces syndromes est de 2,6% avec un risque accru de développer une variante cribiforme et morulaire du PTC à un âge <30 ans, en particulier chez les femmes⁶⁶.

Le complexe de Carney est une maladie héréditaire autosomique dominante caractérisée par la présence de tumeurs malignes des glandes pituitaires et surrénales et une prédisposition

estimée à 60% de développer des FTC et PTC⁶¹. Les patients atteints de cette maladie présentent souvent des pigmentations cutanées et des myxomes cardiaques. Il est associé à une perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *PRKAR1a* (locus 17q22-24), qui entraîne une augmentation de la signalisation mTOR⁶⁷. De plus *PRKAR1a* peut fusionner avec RET par réarrangement chromosomique pour former un proto-oncogène spécifique aux tumeurs thyroïdiennes PTC2⁶⁸.

Le syndrome de Werner est une maladie héréditaire autosomique récessive caractérisée par le vieillissement prématuré et le développement précoce de pathologies liées à l'âge, telles que des cataractes et des maladies cardiovasculaires. Les patients atteints de ce syndrome ont également un risque accru de développer des sarcomes des tissus mous et des tumeurs malignes de la thyroïde de type PTC, FTC mais aussi des ATC. Il est associé aux mutations du gène *WRN* (locus 8p11-p21)⁶⁹. Ce gène code pour un membre de la sous-famille RecQ des protéines hélicases d'ADN qui joue un rôle essentiel dans le maintien de la stabilité du génome en régulant la réparation de l'ADN, la réplication, la transcription et l'entretien des télomères.⁷⁰

Le syndrome de PTEN (phosphatase and tensin homolog) est de transmission autosomique dominante. Il associe des cancers de la thyroïde type PTC ou FTC et des GMN à des cancers du sein, de l'endomètre et à de multiples atteintes intestinales, coliques et cutanées. Les patients prédisposés à ce syndrome ont un risque 51 à 72 fois plus élevé de développer un cancer de la thyroïde, avec un âge médian au diagnostic compris entre 31 et 37 ans⁷¹. Il est associé à une mutation du gène *PTEN* (10q23.31). Le gène *PTEN* exerce une régulation négative sur les niveaux de PIP3, ainsi une perte de fonction de ce gène entraîne une augmentation de la signalisation mTOR⁷².

Le syndrome de Cowden est également une maladie héréditaire autosomique dominante caractérisée par le développement de lésions bénignes de la peau et des muqueuses, telles que des kératoses et des papillomes, des hamartomes, des cancers du sein et de l'endomètre⁶¹. Les patients prédisposés à ce syndrome ont également un risque accru de développer des tumeurs malignes de type PTC et FTC dans 10% des cas et souvent autour de

l'âge de 7 ans⁶¹. Il est associé aux mutations des gènes *PTEN* (locus 10q22-23), *SDHB-D* (1p36.13), *PIK3CA* (3q26.32), *AKT1* (4q32.33), *KLLN* (10q23.31) *SEC23B* (20p11.23)⁶¹.

Dans ce groupe on retrouve aussi des syndromes plus rares qui n'ont été décrit que dans un nombre restreint de familles. Parmi cela, on retrouve le syndrome Ataxie-télangiectasie qui est une maladie héréditaire autosomique récessive caractérisée par une possible dégénérescence cérébelleuse, une télangiectasie, une immunodéficience, des infections récurrentes, des cancers lymphoïdes et un diabète résistant à l'insuline associés à un PTC. Le gène décrit dans ce syndrome est *ATM* (17q22-23) qui code pour la protéine du même nom qui joue un rôle dans les réponses cellulaires aux lésions de l'ADN et au stress oxydatif⁷³.

Le syndrome de Bannayan-Riley-Ruvalcaba est de transmission autosomique dominante. Il associe des cancers de la thyroïde type PTC, FTC à des macrocéphalies, des hamartomes, des cancers de l'endomètre et du rein. Il est également associé à des mutations du gène *PTEN* (10q23.3)⁷¹.

Le syndrome de Pendred est une maladie héréditaire autosomique récessive caractérisée par une surdité neurosensorielle ou des troubles de l'ouïe, une prédisposition au PTC, FTC et ATC. Il est associé aux mutations des gènes *SLC26A4* (7q21-34), *FOXI1* et *KCNJ10*⁷⁴.

Le syndrome de Li-Fraumani associé à des mutation du gène *TP53* (17p13.1). Il se caractérise par de multiples cancers du sein, des ostéosarcomes, des leucémies, des lymphomes et plus rarement des cancers de la thyroïde⁷⁵.

Le syndrome de McCune–Albright, est un trouble génétique causé par une mutation faux-sens post-zygotique dans le gène *GNAS* (20q13.3). La mutation *GNAS* survient à différents stades de l'embryogenèse et provoque des atteintes squelettiques et extra-squelettiques⁷⁶. Le syndrome de McCune-Albright est défini par la triade de tâches café-au-lait, d'une dysplasie fibreuse polyostotique et d'endocrinopathies hyperfonctionnelles⁷⁷. Il a été aussi associé à des tumeurs ovariennes, testiculaires, pancréatiques, mammaires et thyroïdiennes (PTC, FTC). Le syndrome de Peutz-Jeghers est une maladie autosomique dominante caractérisée par des polypes hamartomateux, une hyperpigmentation muco-cutanée et un risque accru de cancer, quatre fois supérieur à la population générale. Il est associé aux mutations du gène *STK11* (19q13.3)⁷⁸.

Dans ces syndromes, bien que le NMTC ne soit pas la lésion cancéreuse la plus fréquente dans les familles, il est important de le prendre en compte dans le cadre du suivi médical de ces patients. Les gènes impliqués et les caractéristiques cliniques de ces syndromes sont en parties bien identifiées et peuvent aider à orienter le dépistage précoce et la prise en charge des patients prédisposés aux FNMTTC syndromiques.

L'objet de ce travail de thèse est d'explorer les FNMTTC syndromiques dans lesquels les atteintes thyroïdiennes dominent la présentation clinique. Elle se penche également sur les FNMTTC non syndromiques dont les mécanismes sous-jacents demeurent partiellement incompris.

B. Les formes non syndromiques de FNMTTC

Les variants génétiques qui augmentent le risque de cancer sont soit des mutations rares avec une pénétrance modérée à élevée, soit des variants courants avec une pénétrance faible⁵⁸. Plusieurs études ont été menées chez des familles de patients prédisposés au FNMTTC afin d'identifier les altérations génétiques germinales responsables de la prédisposition au cancer de la thyroïde. Jusqu'à présent, des mutations germinales ont été identifiées dans plusieurs gènes candidats, grâce à des études d'association pangénomique (GWAS), des analyses NGS ciblé, du séquençage d'exome complet et/ou du séquençage de type Sanger.

Les gènes de susceptibilité qui ont été identifiés sont détaillés ci-dessous. Ils ont été classés en fonction de leur degré de pénétrance.

a. Mutations à pénétrance élevée à modérée

Le gène *FOXE1* (Forkhead Box E1), anciennement connu sous le nom de *TTF2* (Thyroid Transcription Factor-2) est un gène qui se trouve sur le chromosome 9q22. Ce gène code pour un facteur de transcription hautement conservé dans l'évolution. Ce facteur de transcription contient un domaine de liaison à l'ADN, ainsi qu'une extrémité polyalanine polymorphe (poly-A), qui peut varier en longueur de 11 à 22 résidus d'alanine. Les allèles *FOXE114Ala* et *FOXE116Ala* représentent plus de 98% des allèles connus⁷⁹.

FOXE1 joue un rôle essentiel dans le développement embryonnaire de la thyroïde et dans la différenciation des cellules thyroïdiennes à partir des cellules progénitrices⁸⁰. Dans la thyroïde différenciée, *FOXE1* joue un rôle d'activateur transcriptionnel des gènes de la thyroperoxydase et de la thyroglobuline⁸¹. Il est également impliqué dans la capacité des cellules thyroïdiennes à répondre à la TSH⁸¹. Les mutations dans le gène *FOXE1* peuvent donc perturber le développement normal de la thyroïde et conduire à des anomalies congénitales de la glande telles que l'agénésie ou la dysgénésie thyroïdienne⁸². Il n'est donc pas exclu qu'une altération dans ce gène puisse conduire à un processus de tumorigenèse. L'étude pionnière de Sequeira et al a décrit la présence de transcrits de *FOXE1* dans 8/18 FTC, 0/2 cancers anaplasiques et 11/17 PTC ; par rapport au tissu sain ou la présence de transcrits *FOXE1* était très faible ou absente dans tous les cas.⁸³

De plus, une étude menée par Bychkov et al en 2013 a montré en immunohistochimie une surexpression de *FOXE1* dans le cytoplasme des cellules cancéreuses de 48 patients atteints de PTC ($p < 0,001$)⁸⁴.

Il est aujourd'hui reconnu que les mutations dans le gène *FOXE1* jouent un rôle majeur dans le développement des cancers de la thyroïde d'origine folliculaire. Plusieurs variants de type single nucleotide polymorphism (SNP) de *FOXE1* ont été décrits comme pathogènes dans les FNMTCS⁵⁸ :

- *rs965513* (allèle A) : variant intronique à pénétrance élevée sous le modèle récessif. Ce variant a été significativement associé à la prédisposition au NMTC dans une étude de génotypage sur 133 familles⁸⁵. Il serait associé à une augmentation de la taille de la tumeur et à des expansions extra-thyroïdiennes chez les patients PTC⁸⁶. He et al a montré que le variant *rs965513* de *FOXE1* situé à proximité du gène *PTCSC2*, joue un rôle dans l'expression transcriptionnelle de ces gènes par le biais d'un promoteur bidirectionnel partagé. De plus, l'hypothèse d'une interaction entre la protéine MYH9 et les gènes *FOXE1* et *PTCSC2* dans la prédisposition aux cancers non médullaires de la thyroïde familiale a été évoquée par la capacité d'inhibition de MYH9 sur le promoteur commun *FOXE1/PTCSC2* en se fixant à *PTCSC2*⁸⁷.
- *rs1867277* (c.-238G>A) : 5'variant dans la région non transcrite du gène (UTR) à pénétrance élevée sous le modèle récessif. Ce variant augmente l'activité transcriptionnelle du promoteur du gène *FOXE1*, par le recrutement en amont des facteurs de stimulation 1 et 2 de la structure « leucine zipper » (*USF1/USF2*)^{88,89}.

- *rs7849497* (Allèle G): 5'variant UTR à pénétrance élevée, décrite dans des cas de FNMTc dans la population portugaise⁹⁰.
- *rs1867278* (c.-248C>A) : 5'variant UTR⁹⁰, pénétrance élevée.
- *rs1867279* (c.-156T>C): 5'variant UTR⁹⁰, pénétrance élevée.
- *rs186728* (Allèle C): 5'variant UTR⁹⁰, pénétrance élevée.
- *rs1867277* (c.-283A>G) : 5' variant UTR à pénétrance élevée, décrit dans des cas de FNMTc dans les populations espagnoles et italiennes⁸⁸
- *rs3021523* (allèle T ; p.Leu129=): variant synonyme à pénétrance modérée décrit dans des cas de FNMTc dans la population portugaise⁹⁰
- *rs10759944* : variant intronique à pénétrance modérée⁸⁵
- *rs7037324* : variante intronique à pénétrance élevée sous le modèle récessif⁹¹.
- *rs7028661* : variante intronique à pénétrance modérée⁹¹
- *rs10759944* : variante intergénique à pénétrance modérée⁸⁵.
- Extrémité polyAlanine : L'allèle > 14Ala serait associé à une plus grande prédisposition aux FNMTc. Dans une étude cas vs contrôle réalisée sur des familles portugaises atteintes de FNMTc, l'allèle > 14Ala était associé à un odd ratio (OR) = 2,56 (95%CI = 1,64–4,01, $P < 0.0001$)⁸⁹.

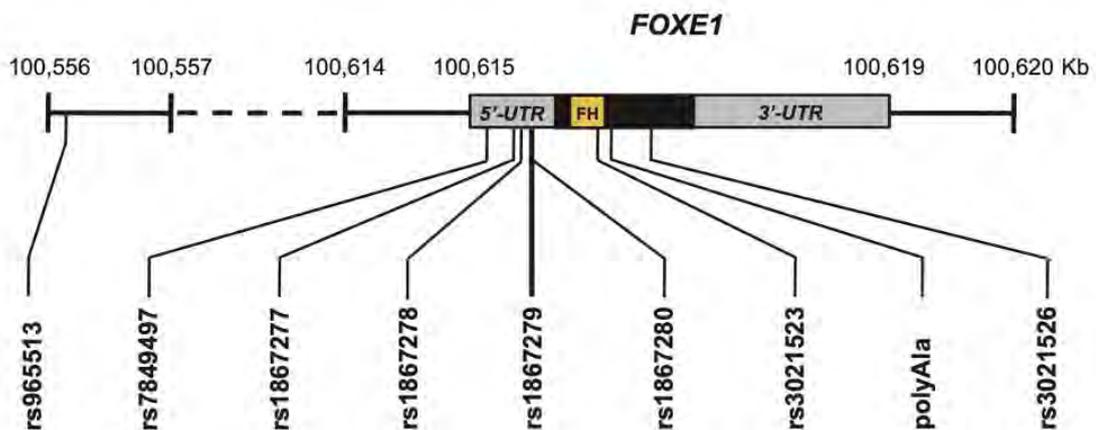


Figure 9: Représentation schématique de la région d'intérêt de FOXE1 sur le chromosome 9 inclut les positions de cartographie des neuf variants testés dans l'artcle⁹⁰

Le gène Hyaluronan-Binding Protein 2, *HABP2*, est situé sur le chromosome 10q25.3 et code pour un membre de la famille des sérine protéases de la peptidase S1⁹². Un variant de la lignée germinale p.G534E (*rs7080536*) à l'état hétérozygote a été identifié chez 7 membres d'une

famille atteints de NMTC⁸⁶. Ce variant a aussi été identifié chez 6 patients atteints de PTC issus de 4 familles différentes⁹³. Gara et al. ont retrouvé une surexpression de HABP2 dans les tissus thyroïdiens de patients porteurs de ce variant, mais pas dans le tissu sain. Ils ont associé la pathogénicité de ce variant à une perte de fonction du gène suppresseur de tumeur *HABP2*⁹⁴. Toutefois, la pathogénicité de ce variant reste à confirmer. En effet, une étude d'association menée par Sahasrabudhe et al sur 2000 cas de NMTC et plus de 5 000 contrôles a montré que la fréquence du variant *HABP2* p.G534E était de 4,2% chez les cas de NMTC et de 4,6 % chez les témoins⁹⁵.

b. Mutations à faible pénétrance

Le gène *NKX2-1* (*NK2 homeobox 1*), anciennement *TITF1* est situé dans le locus locus 14q13.3 est un gène qui code pour un facteur de transcription impliqué dans le développement et la différenciation des cellules thyroïdiennes⁹⁶. Une mutation faux-sens du gène *NKX2-1* en position c.1016C>T (p.Arg339Val) a été identifié chez deux familles chinoises atteintes de GMN associés à des PTC et à des cancers du côlon. Cette mutation n'a pas été identifiée dans la population témoin, ni chez les patients atteints de PTC sans antécédents de GMN.⁹⁷ L'allèle à risque T du SNP rs944289 du gène *NKX2-1* affecterait le site de liaison pour les protéines C/EBP α et β réduisant l'activation du promoteur de *PTCSC3* (*Papillaire Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 3*) situé 3,2 kb en aval de rs944289⁹⁸. *PTCSC3* est un long ARN non codant intergénique (lincRNA) dont l'expression aurait des propriétés suppressives de tumeurs. Le mécanisme par lequel *PTCSC3* supprimerait la croissance cellulaire tumorale reste inconnu. Par conséquent, le polymorphisme rs944289 a été identifié comme un facteur prédisposant de cancer papillaire de la thyroïde en dérégulant l'expression du promoteur suppresseur de tumeur *PTCSC3*.⁹⁹

La mutation à faible pénétrance du gène *SRGAP1* (protéine activateur de la GTPase Rho SLIT-ROBOT 1) en position 12q14.2, a été identifiée comme un facteur potentiel de risque de développement de FNMTTC. Dans une étude de liaison réalisée sur 38 familles par He et al en 2013, quatre variants faux-sens p.Q149H, p.R617C, p.A275T et p.H875R ont été identifiés comme potentiellement pathogènes dans deux familles atteintes de FNMTTC¹⁰⁰. Les altérations p.Q149H et p.A275T se trouvent dans le domaine protéique FCH (Fes/CIP4), impliqué dans les

interactions protéine-protéine et pourrait donc affecter le recrutement des cofacteurs nécessaires à la fonction SRGAP1. L'altération p.R617C se trouve directement dans le domaine protéique GAP¹⁰⁰. Il a été suggéré que ces variants empêchaient l'activation de la CDC42 (protéine de contrôle de la division cellulaire 42 homologue), une protéine importante dans la progression de la phase G1 du cycle cellulaire, la migration cellulaire et la formation de nouveaux vaisseaux sanguins¹⁰¹. Ces résultats suggèrent que la perte de fonction de *SRGAP1* pourrait contribuer au développement du cancer thyroïdien par altération de l'activité de CDC42. Cependant les variants p. R617C et p.H875R ne sont pas exclusivement associés au FNMTTC car ils ont été identifiés dans des cas de PTC sporadiques¹⁰⁰.

Le gène *NRG1* (Neuregulin 1) situé sur le locus 8p12, code pour une glycoprotéine membranaire qui participe à la signalisation intracellulaire. La dysrégulation de *NRG1* a été démontrée comme étant impliquée dans la tumorigenèse à la fois des tumeurs malignes et bénignes de la thyroïde¹⁰². Cette perturbation a un impact sur les voies de signalisation PI3K-AKT et MAPK¹⁰³. Plusieurs SNP de susceptibilité ont été décrit pour ce gène. Le SNP rs2466076 a été identifié dans 3001 cas de NMTC avec un OR de 1,32¹⁰⁴. Le SNP rs2439302 a été associé au PTC et corrélé à un risque plus important de multifocalité et de métastase ganglionnaire dans les populations chinoises¹⁰⁵, coréennes¹⁰⁶ et japonaises¹⁰⁷. Guibon et al. ont associé le rs24439304 à un risque plus élevé de carcinomes différenciés de la thyroïde chez les populations européennes, mélanésiennes et polynésiennes¹⁰⁸.

c. Autres mutations décrites dans les FNMTTC

Plusieurs autres gènes et loci chromosomiques ont été identifiés dans des familles atteintes de FNMTTC non syndromiques. Ces mutations spécifiques ne se manifestent que chez un faible nombre de familles touchées par le FNMTTC et nécessitent une confirmation par des études de validation supplémentaires.

CHEK2 est un gène suppresseur de tumeur jouant un rôle crucial dans l'initiation de l'apoptose, la réparation de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire. Un variant de ce gène p.E239K a été identifié par l'équipe de A.Srivastava et al. chez quatre membres d'une seule famille NMTC (PTC, micro-PTC, carcinome insulaire, adénomes bénins)¹⁰⁹. Cette étude révèle

également, par le biais d'une analyse en réseau, l'interaction entre trois variants de différents gènes (*EWSR1* p.A327D, *CHEK2* p.E239K et *TIAM1* p.R1053C) qui pourraient être responsable des NMTC dans cette famille par effet combiné. Néanmoins aucun de ces variants n'a été identifié chez quatre autres familles NMTC recrutées pour l'étude.¹¹⁰

SRRM2 est un gène codant pour une protéine essentielle pour la régulation fine de l'épissage alternatif des ARN messagers. Tomsic et al ont identifié une mutation hétérozygote c1037C>T p.(Ser346Phe) dans une famille de 6 personnes atteintes de carcinome papillaire de la thyroïde, dont trois étaient âgées de moins de 25 ans. Ce variant est un polymorphisme rs149019598 détecté à 0,09% dans la population euro-américaine par l'Exome Sequencing Project et prédit comme pathogène par les scores SIFT et probablement pathogène par le score PolyPhen2¹¹¹. Cette mutation a également été retrouvée dans 7/1170 cas sporadiques de cancers papillaires de thyroïde mais chez aucun témoin. Néanmoins, il s'agit probablement d'une mutation rare associée à cette famille car elle n'a pas été identifiée dans 138 autres cas familiaux de l'étude¹¹¹.

Des variants récurrents du gène *MAP2K5* (15q23) c.G961A et c.T1100C (p.A321T et p.M367T) ont été identifiés, à l'état hétérozygote, comme loci de susceptibilité chez un total de 77 patients FNMTTC de 34 familles chinoises atteintes de PTC¹¹⁰. Ces mutations peuvent entraîner une activation alternative de la voie MAP2K5-ERK5 dans la voie de signalisation MAPK.

Un site de prédisposition génétique situé au locus 2q21 du gène *NMTC1* (carcinome thyroïdien non médullaire 1) a été identifié chez 7/8 membres atteints de PTC dans une famille de Tasmanie.¹¹² Il a également été décrit qu'il existe une interaction entre le gène *NMTC1* (2q21) et le gène *TCO* (19p13.2) augmentant le risque de PTC chez les individus qui héritent des deux gènes de susceptibilité^{113,114}.

Une mutation du gène *NOP53* (Ribosome Biogenesis Factor), situé dans le locus 19q13.33, a été identifiée comme variant à faible pénétrance dans les cas de FNMTTC¹¹⁵. Ce gène code pour une protéine nucléolaire impliquée dans la biogenèse des ribosomes et la régulation de p53. La variante germinale p.Asp31His a été décrite chez 3/44 familles de FNMTTC non

syndromique¹¹⁵. Le tissu tumoral a montré une expression immunohistochimique plus élevée de la protéine NOP53 par rapport au tissu thyroïdien normal adjacent.¹¹⁵

Par conséquent, on s'attend à ce que le cancer de la thyroïde non médullaire d'origine familiale soit la conséquence d'une mutation monogénique de pénétrance élevée ou d'une association polygénique de variants de faible à moyenne pénétrance qui interagissent les uns avec les autres et avec l'environnement, modulant ainsi la susceptibilité individuelle.

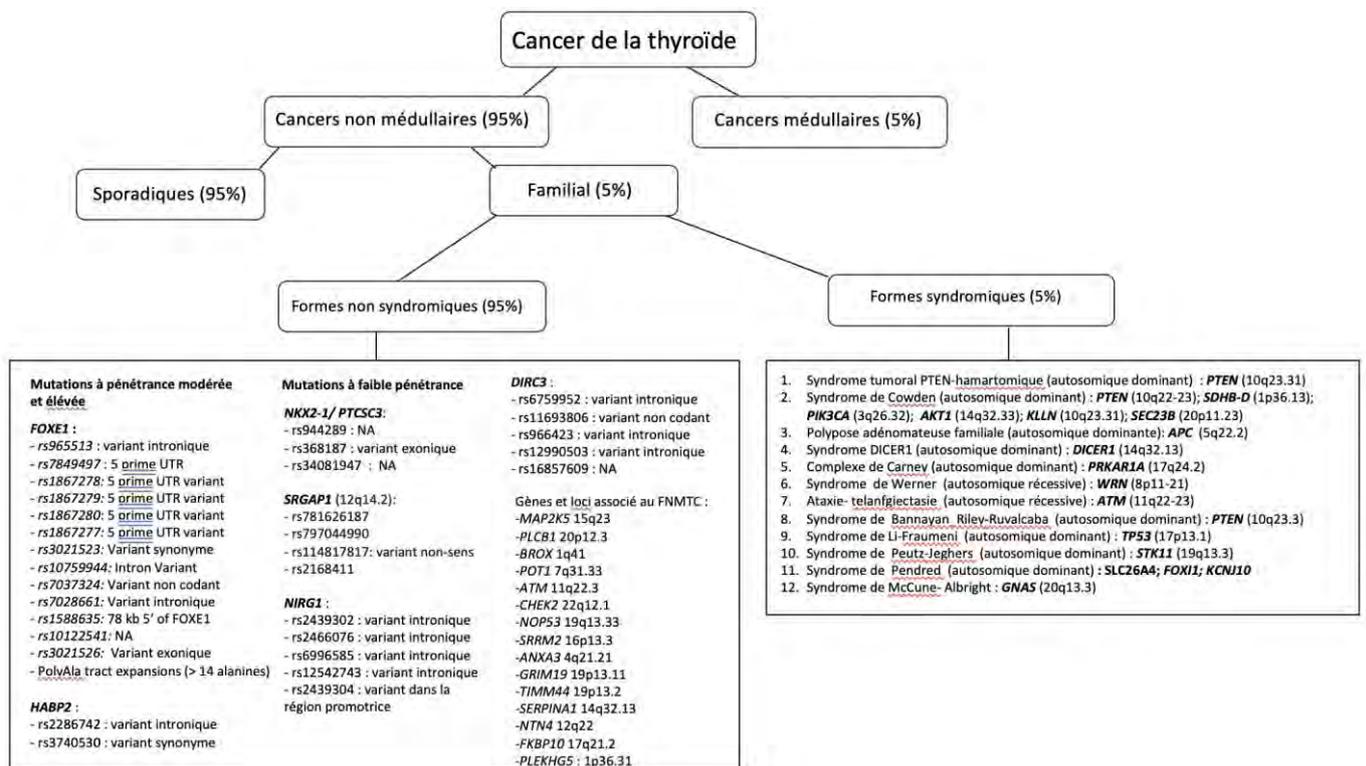


Figure 10: Schéma récapitulatif des variants décrits dans les FNMTC syndromiques et non syndromiques⁵⁸.

V. Objectifs

L'objectif principal de ce travail de thèse était d'identifier des gènes candidats prédisposant aux cancers non médullaires de la thyroïde d'origine familiale. Dans le but d'identifier des variants génétiques potentiellement pathogènes, 11 patients hautement à risque de cancers de la thyroïde d'origine familiale, dont 4 apparentés, ont été caractérisés moléculairement en utilisant plusieurs technologies de séquençage, notamment le NGS, le WES et le séquençage Sanger. En plus des analyses de séquençage, des analyses bio-informatiques et de liaison, ont été effectuées pour sélectionner les variants génétiques potentiellement pathogènes chez les patients étudiés.

La seconde partie de cette thèse a été axée sur l'exploration des variants du gène *FOXE1* répertoriés dans la littérature, tant chez les patients que chez les témoins, dans le but de valider les preuves de la contribution de ce gène à la prédisposition au FNMTC.

Pour conclure, nous avons également exploré trois cas familiaux de FNMTC dans lesquels les atteintes thyroïdiennes constituent les seules manifestations cliniques. Ces cas sont associés à des mutations du gène *DICER1*.

Ce travail vise à contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes génétiques impliqués dans l'étiologie et le développement des FNMTC, qui sont encore en partie mal compris à ce jour.

VI. Matériels et Méthodes

1. Sujets de l'étude

Pour cette étude, 11 individus français atteints d'un carcinome papillaire de la thyroïde, ont été sélectionnés, appartenant à 9 familles hautement susceptibles de présenter une prédisposition aux FNMTc. Les informations cliniques et les antécédents familiaux et personnels des patients ont été recueillis en collaboration avec les services d'Endocrinologie adulte et pédiatrique du Centre hospitalier universitaire de Toulouse et de l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse.

Le tableau 1 résume les principales caractéristiques cliniques et biologiques des patients étudiés. Les patients ont été classés en différents groupe d'étude en fonction de leurs antécédents personnels et familiaux. Les patients L/R/G présentent à la fois des antécédents personnels et familiaux qui indiquent une prédisposition en faveur d'une forme syndromique de FNMTc. Il en est de même pour la famille L dont les antécédents familiaux montrent une grande prédisposition au NMTC associée à des cancers du sein. Les patients S/M/J/T et la famille B ne présentent pas d'antécédents personnels et familiaux en dehors des carcinomes papillaires de la thyroïde et ils ont été étudiés comme des cas de prédisposition aux formes non syndromiques de FNMTc.

Pour les patients témoins, 11 patients sans antécédent de néoplasie ont été sélectionnés : Deux patients apparentés atteints de pathologies métaboliques constitutionnelles, deux patients apparentés atteints de pathologies de type paragangliome, cinq patients non apparentés atteints de tubulopathies rénales constitutionnelles et deux patients sains. Tous les participants à l'étude ont signé un formulaire de consentement éclairé avant le recueil des échantillons.

Les échantillons des patients sélectionnés ont tous été séquencés sur nos panels ciblés en méthode NGS sans qu'aucune mutation pathogène ne soit identifiée. Au vu de la prédisposition importante qu'ils présentaient pour les FNMTc, il a été décidé de les explorer par séquençage exomique (WES) afin d'identifier de potentiels variants de prédisposition aux FNMTc.

Enfin, nous avons inclus dans notre étude trois familles (F1, F2, F3) prédisposées aux FNMTc non syndromiques. En utilisant la technique de séquençage NGS, nous avons identifié des mutations sur un gène de prédisposition. Ces familles sont présentées dans la partie résultats.

Tableau 1: Descriptif des caractéristiques cliniques et biologiques des patients inclus dans l'étude

Patients	Sexe	Age au diagnostic	Type de tumeur thyroïdienne	Résultats des examens complémentaires	Bilan biologique d'entrée	Antécédents personnels et facteurs de risques	Antécédents familiaux
L	Femme	20 ans	Carcinome papillaire pT4pN1M1 - Métastase pulmonaire au diagnostic - Métastase cérébrale à distance	Immunohistochimie : Anti-ALK négative Absence de mutation BRAF V600E Absence de mutation KRAS des exons 2,3,4 Absence de mutation des exons 2,3,4 Résultat NGS sur métastase cérébrale : Réarrangement RET (31% noyaux réarrangés) Absence de réarrangement du gène NTRK2 Présence du transcrite de fusion NCO4 : RET Immunohistochimie sur métastase cérébrale: PAX8+, TTF1+, HBME1+ Absence d'anomalie sur BRAF, KRAS, NRAS, NGSTE, PTEN	TSH : 0,02 1,3 µUI/ml Thyroglobuline : 17 ng/ml T4L : 19 ng/ml Ac anti-Tg : 40 UI/ml	Médicaux : -Pneumopathie -Anémie hypochrome et microcytaire par carence martiale Chirurgicaux : - Hystérectomie totale avec ovariectomie gauche lié à une endométriose - Appendicectomie dans l'enfance - Carcinome basocellulaire sous l'œil droit	Sœur aînée :Thyroïdectomie pour nodule bénin et DMLA Mère : Cancer du sein
R	Masculin	17 ans	Carcinome papillaire du lobe supérieur droit de 23 mm pT1b(m)N1 Adénopathie jugulo-carotidienne		TSH : 1,3 µUI/ml Thyroglobuline : 55,20ng/ml Ac anti-thyroglobuline : <10UI/ml Calcitonine sérique <7,9pg/ml	Médico-chirurgicaux : Neuroblastome abdomino-pelvien stade IV ostéoméduillaire à l'âge de 7 ans	Grand père maternelle : cancer prostate
G	Féminin	23 ans	Carcinome papillaire sclérosant diffus du lobe droit pT3N1b (18N+ dont 3R+/56) Embols tumoraux, extension aux tissus adipeux ; 18N+3R+ sur 56 avec tailles des ganglions variant entre 12 et 41mm en jugulo-carotidien droit	Immunohistochimie sur ganglion cervical : TTF1 +, PAX8+, HBME1	TSH : 11 µUI/ml Thyroglobuline : <0,04 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 267UI/ml	Chirurgicaux : Exérèse de naevus bénins	Arrière grand-mère: Cancer du colon
S	Féminin	34 ans	Hypertrophie bilatérale de la thyroïde, d'échostructure hétérogène avec des formations dystrophiques toutes de – de 15mm de grand axe		TSH : 0,75 µUI/ml	Intoxication tabagique	
M	Masculin	17 ans	Carcinome papillaire du lobe droit mesurant plus de 9 cm; pT3a N1bMx Métastase ganglionnaire du lobe droit + ganglions médiastinaux		TSH: 0,09 µUI/ml T3L : 3,2 pg/ml Thyroglobuline : 0,53 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 174 UI/ml	Médicaux : Asthme traité par Ventoline	Mère : Hypothyroïdie
J	Masculin	20 ans	Carcinome papillaire pT2mN1bM0		TSH : 0,07 µUI/ml Thyroglobuline : 0,13 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 14UI/ml		Cousin maternelle : Carcinome papillaire Tante maternelle : Carcinome papillaire
T	Féminin	25 ans	Carcinome papillaire du lobe gauche de 10 mm Ganglions jugulo-carotidiens bilatéraux	Immunohistochimie : HBME-1 : 100% de cellules positives TPO : 0% de cellules positives	TSH : 2,2 µUI/ml Thyroglobuline : 3,31 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 45 UI/ml	Médicaux : Maladie de Willebrand	Arrière grand-mère paternelle: goitre
L1	Féminin	28 ans	Carcinome papillaire différenciée		TSH : 0,90 µUI/ml Thyroglobuline : <0,04 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 13UI/ml		Branche maternelle : Mère : cancer du sein à 56 ans et nodule thyroïdien Tante cancer du sein à 56 ans Grand-mère : pathologie thyroïdienne bénigne et cancer du sein à 75 ans Sœurs : suivi pour pathologie thyroïdienne bénigne chez les deux sœurs âgées de 29 ans et 33 ans Oncle: cancer du colon à 59 ans Nièce : tumeur oculaire à 11 ans Grand-père : cancer cutané à 79 ans
L2	Masculin	63 ans	Carcinome papillaire de 3 cm du lobe thyroïdien droit + métastase ganglionnaire aire IV (3N+/21N) Stade : pT3 N1a R1	Analyse NGS faite sur métastase ganglionnaire : - BRAF NM_004333 c.1799T>A p.Val600Glu sur exon 15 avec impact clinique avérée - TERT NM_198253 c.-124C>T p.(-) sur promoteur qui est une mutation activatrice de signification indéterminée Immunohistochimie : -Étude anti-NTRK négative -Absence de réarrangement NTRK1 -Absence de réarrangement NTRK2 -Absence de réarrangement RET	TSH : 0,04µUI/ml Thyroglobuline : 3,29 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : 14UI/ml	Médico-chirurgicaux : Stent cardiaque	Père de L1
B1	Féminin	29 ans	Micro-carcinome papillaire de 4,6mm , limité au lobe gauche avec absence d'invasion extra-thyroïdienne Stade : PT1a NO R0		TSH : 1,3 µUI/ml Thyroglobuline 1,22 ng/ml Ac anti-thyroglobuline : <10UI/ml Calcitonine < 7,9 pg/ml	Médicaux : Dystrophie thyroïdienne connue Kyste hypophysaire Chirurgicaux : Appendicectomie	Père : carcinome papillaire thyroïdien gauche de 2cm pT1 NO de diamètre à l'âge de 50 ans Mère : carcinome papillaire thyroïdien
B2	Féminin	15 ans	Nodule de 4,8 x 4,5 mm du pôle supérieur droit de la thyroïde		TSH : 1,6 µUI/ml T4L : 13,4 pg/ml T3L : 3,8 pg/ml Calcitonine négative	Médicaux: Prématurité pubarche	Fillle de B1

2. Échantillons biologiques

A. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN génomique consiste à obtenir de l'ADN total purifié en quantité et qualité suffisantes pour la réalisation de toute étude des empreintes génétiques d'un individu et consiste en la lyse de cellules nucléées par la protéinase K.

L'extraction a été faite à partir de sang total prélevé sur tube EDTA (200µL)

L'extraction et la purification de l'ADN génomique ont été réalisées à l'aide du kit QIAamp® DNA Blood Mini (Qiagen, Hilden, Allemagne) pour l'extraction manuelle et à l'aide du Kit magna pure compact nucleic acid isolation sur l'automate MagNaPure 24 (Roche) pour l'extraction automatisée. L'extraction sur MP24 n'a été lancée que s'il restait suffisamment de sang pour lancer une extraction manuelle en cas d'échec. Dans le cas contraire, l'extraction a été fait manuellement.

L'ADN extrait a été quantifié par spectrophotométrie UV (Spectrophotomètre Xpose / 061196 / PII 150 X12-SEC-0012). Le Xpose permet de réaliser le dosage de 1 à 16 échantillons par slide (lame) dont un témoin négatif en déposant 2µl d'échantillon par puits et permet ainsi une quantification spécifique des ADN.

Le spectre suivant est obtenu pour chaque patient :



Figure 11: Spectre d'extraction ADN

Le spectre UV-Visible (courbe blanche) est la résultante des 4 profils spécifiques :

- En bleu, la densité optique de l'ADN
- En orange, les impuretés : molécules qui absorbent à la même longueur d'onde que l'ADN (autres nucléotides, thiocyanates, EDTA, phénol, citrate, azide...).
- En gris, le bruit de fond qui peut correspondre à la turbidité de l'échantillon, à la présence de billes, des résidus d'hémoglobine.
- En jaune, les résidus qui correspondent à la partie du spectre non identifié et qui est noté en % du spectre blanc.

La courbe blanche est la somme des courbes bleue, orange et jaune ; le bruit de fond en gris est soustrait de la mesure.

Le rapport A260/A280 doit être compris entre 1,75 et 2,15 pour que la qualité de l'ADN soit optimale en utilisation PCR. Ce ratio correspond à une concentration d'ADN de $\pm 50 - 70\text{ng}/\mu\text{L}$. Un rapport A260/A280 < 1,75 indique une contamination par des protéines qui peut être due à une mauvaise purification et interférer lors du séquençage.

B. Recherche ciblée de variants par séquençage NGS

Une fois l'ADN extrait à des concentrations optimales, les patients sélectionnées ont été explorés sur les panels NGS classiques : Thyroïde et TNE (tumeurs neuroendocrines) et TNE2 (Figure 9)

Le design des panels d'oligonucléotides a été fait sur DesignStudio à partir du site Myllumina.

DUOX2	NM_014080.4	Thyroid	AKT1	NM_001014432.1	TNE	AP2S1	NM_004069.4	TNE2
DUOXA2	NM_207581.3	Thyroid	ALK	NM_004304.4	TNE	BAP1	NM_004656.3	TNE2
FOXE1	NM_004473.3	Thyroid	ATRX	NM_000489.4	TNE	CASR	NM_000388.3	TNE2
IYD	NM_001164694.1	Thyroid	BRAF	NM_004333.4	TNE	CDC73	NM_024529.4	TNE2
NKX2-1	NM_001079668.2	Thyroid	DAXX	NM_001350.4	TNE	CDKN2B	NM_004936.3	TNE2
NKX2-5	NM_004387.3	Thyroid	DICER1	NM_177438.2	TNE	CYP11B1	NM_000497.3	TNE2
PAX8	NM_003466.3	Thyroid	EGLN1	NM_022051.2	TNE	CYP11B2	NM_000498.3	TNE2
RXRG	NM_006917.4	Thyroid	EPAS1	NM_001430.4	TNE	EGLN2	NM_053046.3	TNE2
SECISBP2	NM_024077.4	Thyroid	FH	NM_000143.3	TNE	FLNC	NM_001458.4	TNE2
SLC16A2	NM_006517.4	Thyroid	IDH2	NM_002168.3	TNE	GCM2	NM_004752.3	TNE2
SLC26A4	NM_000441.1	Thyroid	KIF1B	NM_015074.3	TNE	GNA11	NM_002067.4	TNE2
SLC5A5	NM_000453.2	Thyroid	MAX	NM_002382.4	TNE	KCNJ5	NM_000890.3	TNE2
TG	NM_003235.4	Thyroid	MDH2	NM_005918.3	TNE	MITF	NM_198159.2	TNE2
THRA	NM_199334.3	Thyroid	MEN1	NM_130804.2	TNE	NF2	NM_000268.3	TNE2
THRB	NM_000461.4	Thyroid	NF1	NM_000267.3	TNE	PBRM1	NM_018313.4	TNE2
TPO	NM_000547.5	Thyroid	NRAS	NM_002524.4	TNE	PKHD1	NM_138694.3	TNE2
TSHR	NM_000369.2	Thyroid	PHLDA3	NM_012396.4	TNE	SDHAF4	NM_145267.2	TNE2
DUOX1	NM_017434.4	Thyroid	PIK3CA	NM_006218.3	TNE	SETD2	NM_014159.6	TNE2
DUOXA1	NM_144565.3	Thyroid	RET	NM_020975.4	TNE	SLC25A11	NM_003562.4	TNE2
TPST2	NM_003595.3	Thyroid	SDHA	NM_004168.3	TNE	TSC1	NM_000368.4	TNE2
TTR	NM_000371.3	Thyroid	SDHAF2	NM_017841.2	TNE	TSC2	NM_000548.4	TNE2
DIO1	NM_000792.6	Thyroid	SDHB	NM_003000.2	TNE	AIP	NM_003977.3	TNE2
DIO2	NM_000793.5	Thyroid	SDHC	NM_003001.3	TNE	CDKN1B	NM_004064.4	TNE2
CRYM	NM_001888.4	Thyroid	SDHD	NM_003002.3	TNE	MET	NM_000245.3	TNE2
CLCN5	NM_001127898.4	Thyroid	TMEM127	NM_017849.3	TNE	EPAS1	NM_001430.4	TNE2
EPHA4	NM_004438.4	Thyroid	TP53	NM_000546.5	TNE	GNAS	NM_000516.5	TNE2
			VHL	NM_000551.3	TNE			
			IDH1	NM_005896.3	TNE			
			GNAS-AS1	NM_002785.2	TNE			
			PTEN	NM_000314.7	TNE			
			MTOR	NM_004958.3	TNE			
			TERT	NM_198253.2	TNE			
			HABP2	NM_004132.4	TNE			
			CDKN1A	NM_001291549.1	TNE			
			CDKN2C	NM_001262.2	TNE			

Figure 12: Présentation des panels NGS Thyroïde et Tumeurs neuroendocrines du laboratoire de biochimie secteur biochimie moléculaire et génétique constitutionnelles du CHU de Toulouse.

Le séquençage complet de l'exome (WES) est une technologie de séquençage de nouvelle génération (NGS) qui permet de séquencer l'ensemble des exons codants de l'ADN, qui représentent 1 à 2% de l'ensemble du génome. Cette technologie utilise une méthode de capture d'ADN, qui consiste à utiliser des sondes spécifiques pour capturer uniquement les fragments d'ADN correspondant aux régions exomiques d'intérêt.

Le séquençage de l'exome entier a été effectué au CHU de Toulouse dans le secteur de Biologie Moléculaire et Génétique Constitutionnelles (SBMCG) du laboratoire de biochimie.

3. Procédure de séquençage NGS (next-generation sequencing) et WES (Whole exome sequencing)

Les processus de séquençage ciblé par NGS et de séquençage complet de l'exome commencent après extraction de l'ADN génomique sur sang périphérique et comprennent les étapes décrites ci-dessous. Le processus de séquençage a été effectué en suivant le protocole Illumina DNA Prep dans un NextSeq 550. Le séquençage de l'exome suit les mêmes étapes que le séquençage NGS, avec utilisation de sondes d'hybridation couvrant une plus grande partie du génome et des températures d'amplification spécifiques.

Pour chaque run, un témoin négatif a été inclus. Il s'agit d'une réaction contenant l'ensemble des réactifs mais pas d'ADN, afin de s'assurer de la « non-contamination » et valider ainsi l'amplification.

1. Création d'une librairie par capture Nextera Flex¹¹⁶ :
 - Fragmentation aléatoire de l'ADN génomique en fragments d'environ 100-200 paires de bases.
 - Amplification des fragments d'ADN par PCR, permettant la formation de plusieurs copies simple brin de chaque fragment.
 - Lavage de l'ADN pour éliminer les contaminants et réactifs résiduels.
 - Pool des librairies pré-enrichies
 - Hybridation et capture sélective des fragments à l'aide d'adaptateurs spécifiques (petites molécules d'ADN de séquences connues) dans les extrémités 3' et 5'. Ces adaptateurs contiennent des séquences d'identification nécessaires pour le séquençage ainsi que des amorces pour l'amplification ultérieure.
 - Amplification par PCR des librairies enrichies
 - Purification des librairies d'ADN enrichies

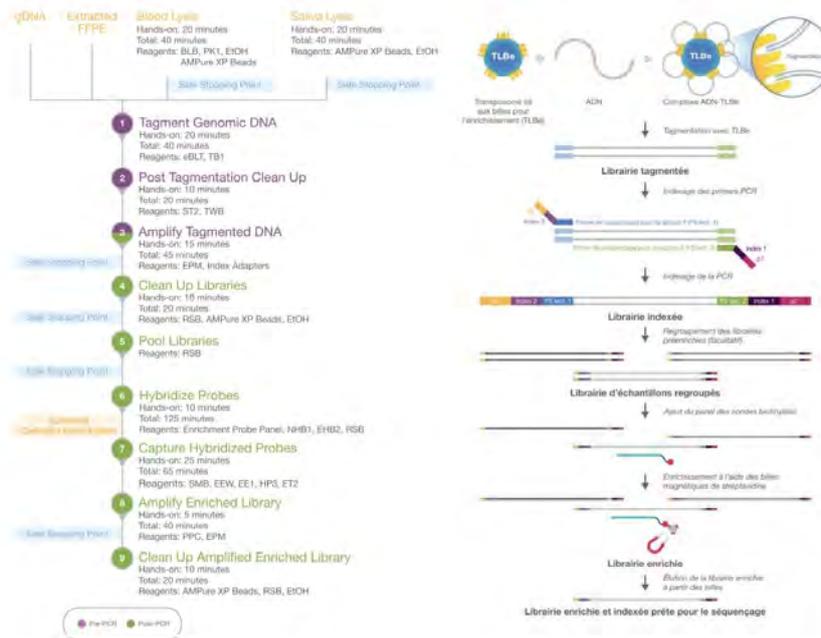


Figure 13: Création d'une librairie par capture NEXTERA FLEXTM

2. Génération de clusters sur cellules à flux (flow cell) et NextSeq :

- Les fragments d'ADN simple brin obtenues se fixent de manière spécifique à différents endroits de la cellule à flux, grâce à la complémentarité entre les adaptateurs et les oligonucléotides attachés de manière covalente à la cellule à flux.
- Un brin complémentaire au brin matrice est synthétisé par une polymérase, en utilisant différents désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP).
- Dénaturation du brin matrice d'origine et du brin complémentaire néosynthétisé
- Lavage pour élimination du brin matrice d'origine
- Fixation de l'extrémité libre du brin complémentaire à une sonde à proximité fixé à la cellule à flux (formation d'un « pont »).
- Synthèse d'un nouveau brin complémentaire suivi par une nouvelle étape de dénaturation

Ce processus d'amplification en « pont » (*bridge amplification*) se répète environ 30 fois, permettant la synthèse de clusters (groupe de fragments d'ADN identiques au brin matrice d'origine). Cette étape d'amplification est nécessaire à l'obtention d'un signal suffisant pour le séquençage¹¹⁷.

3. Séquençage sur NexSeq 550Dx

- Des amorces de séquençage « primer » s'hybrident à tous les brins de tous les clusters et servent de point de départ de la réaction de séquençage
- A chaque cycle, un désoxyribonucléotide triphosphate (dNTP) marqué par fluorescence est incorporé en complémentarité du brin matrice
- Les longueurs d'onde et l'intensité d'émission de chaque dNTP incorporé sont enregistrées, permettant son identification.
- Les lectures de séquences brutes obtenues sont ensuite générées au format de fichier *.fastq (Fast Quality) pour permettre l'analyse des données par méthode bio-informatique.

Les critères de validation technique du run de séquençage :

- Score de qualité > 70% pour un run de 2x101 / >75% pour un run de 2x150 / >80% pour un run de 2x75
- Densité de clusters entre 100K et 300K
- Pourcentage de clusters passant les filtres acceptables : nombre de clusters passant les filtres inférieur au nombre de clusters générés
- Rendement (données générées) avec des valeur HIGH-output entre 67-80 Gb et MID-output entre 21,5 et 26 Gb pour un run de 2x101
- Intensité (données par cycle de séquençage) avec une valeur attendue > 10

4. Analyse bio-informatique :

L'analyse bio-informatique des données de séquençage a été réalisée par notre ingénieur en bio-informatique au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Toulouse. Les données brutes en format *.fastq ont été alignées sur un génome de référence pour générer des fichiers *.BAM (Binary Alignment/Map). Toutes les lectures ont été alignées sur la référence du génome humain GRCh38 (hg38), et 94 à 99% des lectures ont été correctement mappés sur le génome humain. Pour le séquençage ciblé NGS les données ont été intégrées au système BD-NGS pour analyse et confirmation.

Pour le séquençage WES, après un tri et un indexage chaque donnée de patient a été exporté dans un fichier VCF (Variant Call Format), permettant de regrouper les variants de séquence correspondant aux différences des données brutes par rapport au génome de référence. Pour chaque patient et chaque témoin un fichier VCF a été généré, au total 11 fichiers VCF patients et 12 fichiers VCF témoins ont été générés. Les variants ont été annotés à l'aide d'Ensembl VEP selon la nomenclature internationale HGVSs/ HGVSs et ont été définis par leur chromosome et leur allèle de référence et leurs scores de pathogénicité.

Dans les analyses, les variants présents dans des positions de mauvaise qualité de séquençage avec une profondeur de lecture inférieure à 30 et ceux présentant une fréquence allélique supérieure à 1,0% ont été exclus. Ces variants ayant plus de probabilité d'être des artefacts techniques ne nécessitent pas d'être confirmés par séquençage Sanger.

A. Méthode de filtrage des données brutes

Notre méthode d'exploration, présentée dans la figure 11, a été inspirée par la FCVPPv2 (Familial Cancer variant prioritization Pipeline version 2) utilisé par Kumar et al¹¹⁸ pour identifier des variants pathogènes chez une famille présentant des PTC. Nos bases de données présentaient initialement un nombre de variants évalués entre 2848 et 16575. Nous avons appliqué des critères de filtrage imposant que les cas connexes devaient avoir le variant, alors que les témoins ne devaient pas l'avoir. Nous avons appliqué deux techniques de filtrages en fonction que les patients présentaient des manifestations cliniques évocatrices de formes syndromiques ou non syndromiques. Avec cette approche de filtrage, nous avons réduit la liste potentielle des variantes à 16 pour les formes syndromiques dans le groupe LRG et à 719 variants pour la forme syndromique dans la famille L. Pour les formes non syndromiques nous avons réduit la liste à 30 variants pour le groupe SMJT et à 819 variants pour la famille B. Nous avons appliqué une deuxième étape de filtrage pour les familles B et L avec deux autres témoins sains, nous avons ainsi réduit notre liste de variants potentiels à 263 variants pour la famille L et à 379 variants pour la famille B.

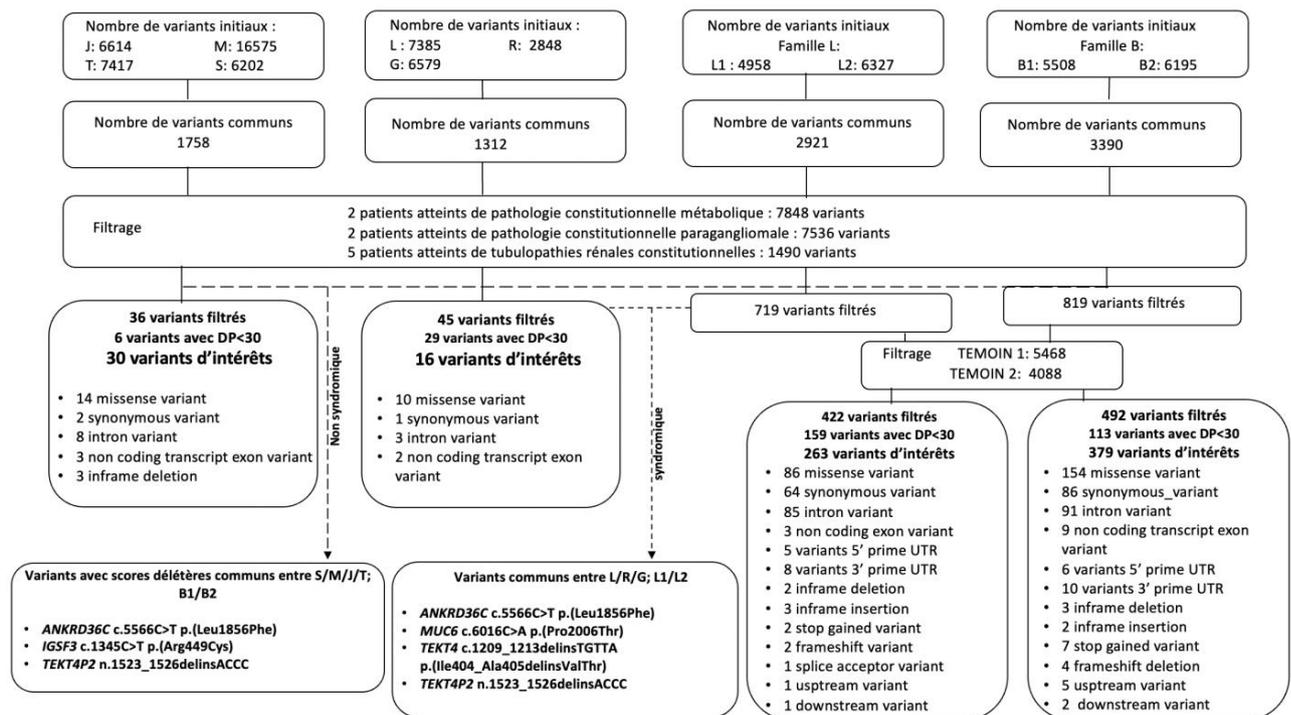


Figure 14: Méthode de filtrage appliquée aux formes syndromiques et non syndromiques de FNMTC.

Pour filtrer les données de patients, nous avons d'abord chargé les données brutes des fichiers VCF (Gène, Transcrit, variant, HGVs, HGVp) sur le site libre d'accès Jvonn¹¹⁹ pour premièrement identifier les variants communs entre chaque groupe de patients, puis dans un second temps éliminer les variants communs entre nos groupes de patients et les témoins. Les résultats du site Jvonn ont été confirmés sur un autre site Bioinformatics & Systems Biology¹²⁰ pour s'assurer de la conformité des résultats obtenus.

B. Présentation des scores de pathogénicité

Dans notre étude, nous avons utilisé les scores de prédiction CADD_PHRED, SIFT, Polyphen, MetaLR_rankscore et VEST3_rankscore, des outils bio-informatique utilisés pour prédire l'impact potentiel d'une altération d'acides aminés sur la structure et la fonction des protéines humaines.

CADD (Combined Annotation Dependent Depletion)¹²¹ est un algorithme de calcul réglementaire qui permet de prédire l'impact fonctionnel des variants génétiques en

combinant plusieurs sources d'annotations, telles que les données de conservation, les prédictions de changements d'acides aminés et de structure. Le score CADD_PHRED est calculé en convertissant le score CADD en une échelle de 0 à 99, où les scores les plus élevés indiquent une prédiction plus forte de l'impact fonctionnel.

SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant)¹²² est basé sur la conservation des acides aminés dans les séquences protéiques. En d'autres termes, si un acide aminé est conservé dans une région donnée de la protéine chez différentes espèces, cela suggère qu'il est essentiel pour la fonction de cette protéine. Si une variation d'acides aminés affecte une région hautement conservée, elle est plus susceptible d'avoir un impact fonctionnel. Si une variation d'acide aminé est prédite comme ayant un impact fonctionnel, elle est considérée comme délétère, sinon elle est considérée comme tolérée. Le score d'impact de prédiction de SIFT varie de 0 à 1, où 0 représente une variation d'acide aminé très délétère et 1 représente une variation tolérée sans impact fonctionnel significatif.

PolyPhen (Polymorphism Phenotyping)¹²³ est basé sur deux types d'informations : des informations physiques et comparatives. Les informations physiques concernent la façon dont l'altération d'acides aminés peut affecter la structure de la protéine, par exemple en introduisant des charges électriques supplémentaires ou en affectant la formation de liaisons entre les acides aminés. Les informations comparatives sont utilisées pour déterminer si la région affectée par l'altération d'acides aminés est conservée dans les protéines homologues d'autres espèces. Le score de prédiction d'impact de PolyPhen varie de 0 à 1, où 0 représente une altération d'acides aminés bénigne et 1 représente une altération probablement délétère.

MetaLR_rankscore¹²⁴ est un score calculé en utilisant un algorithme d'apprentissage automatique (machine learning) qui combine plusieurs caractéristiques biologiques et fonctionnelles des variants telles que la conservation des acides aminés, l'impact sur la structure protéique, l'effet sur les sites de liaison des ligands. Pour chaque variant génétique, un score de rang compris entre 0 et 1 est généré. Un score de rang élevé indique une probabilité plus élevée de pathogénicité.

VEST3_rankscore (Variant Effect Scoring Tool)¹²⁵ est calculé à l'aide d'un algorithme d'apprentissage automatique qui utilise plusieurs caractéristiques des variants génétiques, telles que leur localisation, leur impact sur la structure de la protéine, ainsi que leur fréquence dans la population pour prédire leur potentiel pathogène. Ce score utilise une approche de régression logistique pour calculer un score compris entre 0 et 1. Un score élevé indique une probabilité plus élevée de pathogénicité¹²⁶. Les scores VEST3 ont été classés parmi tous les scores VEST3 dans dbNSFP (base de SNP non synonymes). Le "rankscore" est le ratio du rang du score sur le nombre total de scores VEST3 dans dbNSFP. En cas de plusieurs scores pour le même variant, le score le plus élevé (le plus dommageable) est présenté.

Tableau 2: Scores de pathogénicité

Pathogénicité	CADD_score	SIFT	POLYPHEN	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore
Probablement pathogène	>30	<0,05	>0,908	>0,5	>0,5
Possiblement pathogène	>20		0,44<<0,908		
Possiblement bénin	<20	>0,05	<0,44	<0,5	<0,5
Probablement bénin	<10				

Au cours de notre étude, nous avons écarté les variants jugés « bénins » par l'ensemble des scores de pathogénicité. Seuls les variants identifiés comme « probablement pathogènes », et « pathogènes » par au moins l'un des scores de prédiction ont été conservés pour le reste de l'étude.

C. Variants identifiés dans d'autres pathologies congénitales

En utilisant la base de données MIM_Phenotypes nous avons catégorisé les variants en fonction des maladies connues auxquelles ils sont associés. MIM_Phenotypes a été créé par la Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) qui est une base de données de référence sur les gènes et les maladies congénitales. MIM_Phenotypes répertorie des phénotypes cliniques pour les variations génétiques et fournit des informations sur les gènes et les mutations associées à ces phénotypes. Dans notre analyse de filtrage du groupe FNMTTC non syndromique, nous avons utilisé cet outil pour identifier des variants déjà connus dans

d'autres pathologies congénitales, certains variants ont été exclu de l'étude et d'autre variants d'intérêts présentant des scores de pathogénicité délétères n'ont pas été exclus de l'étude, ils ont été marqués par un asterix (*) dans la section résultat.

Enfin, nous avons examiné chaque variant filtré en fonction de son emplacement dans le génome et de son impact protéique afin de déterminer son potentiel rôle prédisposant dans le cancer non médullaire de la thyroïde.

5. Séquençage du gène *FOXE1* par méthode Sanger

A. Amplification par polymérisation en chaine (PCR)

Dans notre étude, nous avons amplifier deux régions du gène *FOXE1* (*ENST00000375123.5*) qui présentaient une mauvaise couverture en séquençage NGS ciblé.

Tableau 3: Régions amplifiées du gène *FOXE1* dans le cadre de l'étude

Fragments	Région amplifiée	Position	cDNA	Amorces
Fragments 2 (F2)	698 bp	Forward	323	CAGGGATCACTTCCGGACC
		Reverse	1020	AGCAGTCGTTGAGTGTGAGG
Fragments 3 (F3)	608 bp	Forward	926	CTACAAGTTCATACCCGA
		Reverse	1533	CGTAGGCAGCCGCATAGG

Les réactions de PCR ont été préparées pour un volume final de 25µL avec comme réactifs : 1µL d'amorce forward et 1µL d'amorce reverse ; 12,5µL de polymérase Go TaqG2 HotStart Green mix (Thermo Scientific™) ; 5,5µL de bêtaïne et de 5µL d'ADN extrait pour les 11 patients et 4 patients témoins.

Les séquences d'amorces présentées dans le tableau 3 ont été désignées dans notre laboratoire à l'aide des séquences génomiques de la base de données Ensembl et des sites Primer3Plus et SNPCheck V3 (Gene Tools). Pour chaque paire d'amorces, un témoin négatif a été inclus pour le séquençage. Ce témoin était composé de tous les composants précédents,

à l'exception de l'échantillon d'ADN qui a été remplacé par de l'eau. L'objectif étant de servir de contrôle pour détecter toute contamination éventuelle par de l'ADN.

L'amplification par réaction PCR a été faite sur thermocycleur (VeritiPro Thermofischer Thermo Scientific™) selon les conditions suivantes :

Étapes	Température	Temps
<i>Dénaturation</i>	94°C	2min
<i>Hybridation :</i> 35 cycles	95°C	45sec
	56°C	45sec
	72°C	1 min
<i>Élongation</i>	72°C	3min
<i>Final</i>	4-10°C	∞

Après une série d'essais des paires d'amorces, on a constaté que l'hybridation était optimale pour une température de 56°C pour les deux couples d'amorces.

B. Contrôle des PCR sur gel d'agarose

L'électrophorèse des produits de PCR sur gel d'agarose 2% permet de séparer et de visualiser les fragments d'ADN amplifiés lors de la réaction. Cette méthode vérifie le succès de l'amplification en déterminant la taille des fragments d'ADN en appliquant un champ électrique qui sépare les molécules en fonction de leur poids moléculaire et de leur charge électrique. Une anode et une cathode sont placées aux extrémités du gel d'agarose. Lorsque le courant est appliqué, les fragments d'ADN chargés négativement migrent vers l'électrode positive.

La gel est préparé en mélangeant de l'agarose en poudre avec un tampon de migration du TAE (Tris-acétate-EDTA) et du GelRed un agent intercalant permettant la visualisation des fragments d'ADN par fluorescence. Une fois le gel déposé dans la chambre d'électrophorèse, un volume de 5µL de PCR a été déposé dans chaque puits du gel d'agarose et 3µL de marqueur de poids moléculaire Gene Ruler 50 bp DNA ladder (ThermoFischer). Un champ électrique de 100V (+/- 10V) a été appliqué pendant 15 minutes. Un transilluminateur (Biorad) couplé à une caméra vidéo et à un système informatique a été utilisé pour exposer le gel d'agarose à une radiation lumineuse UV, permettant la visualisation des bandes d'ADN.

C. Purification des produits de PCR

Le processus de purification de la PCR avec ExoFastAP (ThermoFisher) consiste à éliminer les amorces et les nucléotides non incorporés présents dans les produits de PCR. Cette étape essentielle permet d'éliminer les contaminants potentiels qui pourraient interférer avec la réaction de séquençage ultérieure et donner des résultats non spécifiques. Pour cela, nous avons utilisé une combinaison d'enzymes : Exonuclease I (Exo I) et phosphatase alcaline thermosensible (FastAP). L'Exo I est une exonucléase qui dégrade spécifiquement l'ADN monocaténaire (amorces non incorporées ou fragments d'ADN non amplifiés) en coupant les liaisons phosphodiester entre les nucléotides adjacents. FastAP est une enzyme qui catalyse la déphosphorylation des molécules d'ADN en libérant les groupes phosphate présents aux extrémités 5' et 3'. Un volume de 6µL de ce mélange réactionnel est ajouté au produit PCR et est incubé à une température de 37°C pendant 15 minutes afin d'éliminer les produits contaminants. Après l'incubation, ce mélange est chauffé à 85°C pendant 15 minutes afin d'inactiver le mélange enzymatique.

D. Préparation de la réaction de séquence

Pour la réaction de séquençage nous avons utilisé un kit spécifique qui contient les réactifs nécessaires pour fournir un environnement optimal : le BigDye™ Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Scientific™). Ce kit contient un composant important le Big Dye, un mélange de ddNTPs marqués par fluorescence qui s'ajoutent à la réaction de séquençage et permettent de stopper la synthèse de l'ADN à des positions spécifiques permettant la lecture de l'ADN par le séquenceur. Un volume de 3µL de ce réactif est ajouté à 0,33µL d'amorces forward ou reverse, spécifiques de la région d'ADN à séquencer et à 1µL de produit PCR purifié. Ce mélange réactionnel est complété par un volume d'eau distillée stérile et de tampon pour atteindre un volume final de 20µL. Les réactions de séquençage ont été effectuées dans un thermocycleur pour un temps total de 120 minutes selon le programme suivant :

<i>Dénaturation</i>	96°C	10s
<i>Hybridation : 25 cycles</i>	96°C	10s
	50°C	5s
	60°C	4min
<i>Final</i>	4°C	∞

E. Purification de la réaction de séquençage

La purification des réactions de séquençage consiste à éliminer les composés indésirables tels que les ddNTPS non incorporés afin d'obtenir des produits de séquençage de haute qualité. La méthode que nous avons utilisée est la purification sur plaques Illustra AutoScreen-96. Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation de plaques à puits contenant des résines de purification. Les contaminants tels que les résidus de réaction et les protéines présents dans les échantillons sont éliminés par lavage des plaques et centrifugation. Des volumes minimums de 15µL par échantillon purifiés ont été récoltés dans une plaque de séquençage 96 puits.

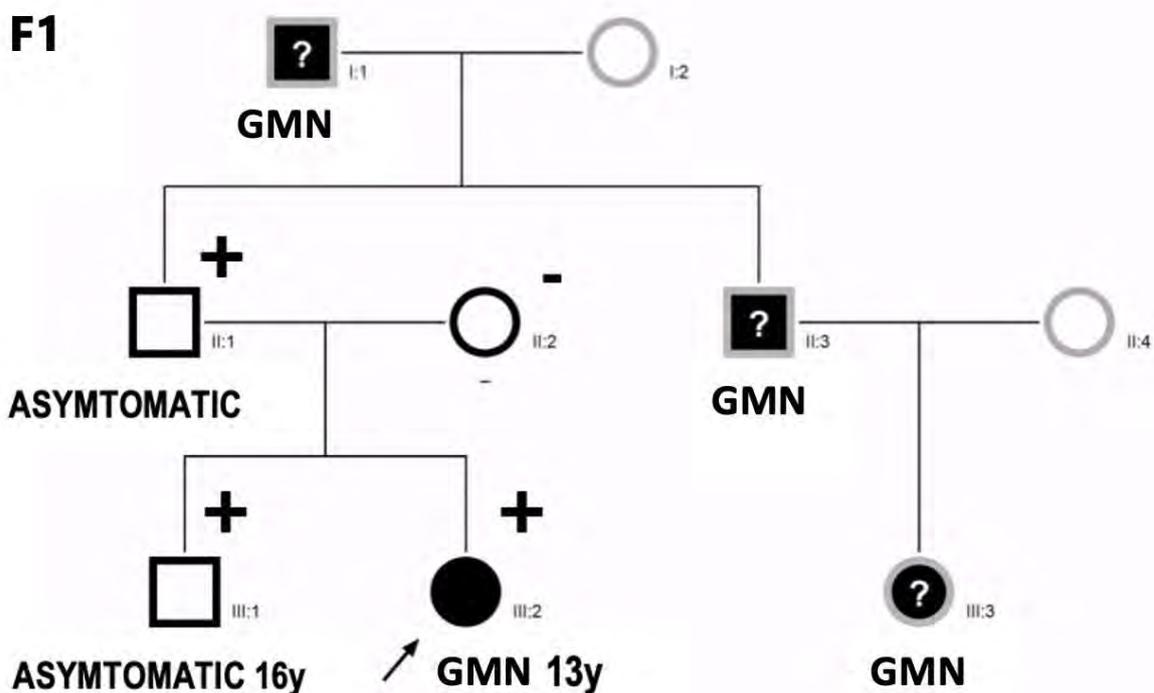
F. Séquençage ABI 5000XL

Les électrophorèses capillaires des produits de réaction de séquence purifiés sont réalisées sur le séquenceur ABI 3500XL – Life Technologies. Une tension électrique est appliquée aux capillaires. Les fragments d'ADN chargés négativement migrent vers l'anode en fonction de leur taille et de leur charge. Pendant la migration des fragments le long des capillaires, un laser est dirigé vers chaque fragment, provoquant l'émission de lumière par les marqueurs fluorescents qui y sont fixés. Les informations relatives à la longueur d'onde et à l'intensité de cette lumière émise sont ensuite capturées et enregistrées par le séquenceur. Ces données de fluorescence sont ensuite traitées pour créer un chromatogramme, une représentation graphique de la séquence d'ADN, dans lequel chaque pic correspond à une base nucléotidique spécifique. L'interprétation de l'ordre des pics permet de lire la séquence¹²⁷. L'ensemble des chromatogrammes ont été alignés sur la séquence de référence du gène *FOXE1* (*ENST00000375123.5*) par le biais du site Multalin INRA¹²⁸.

VII. Résultats

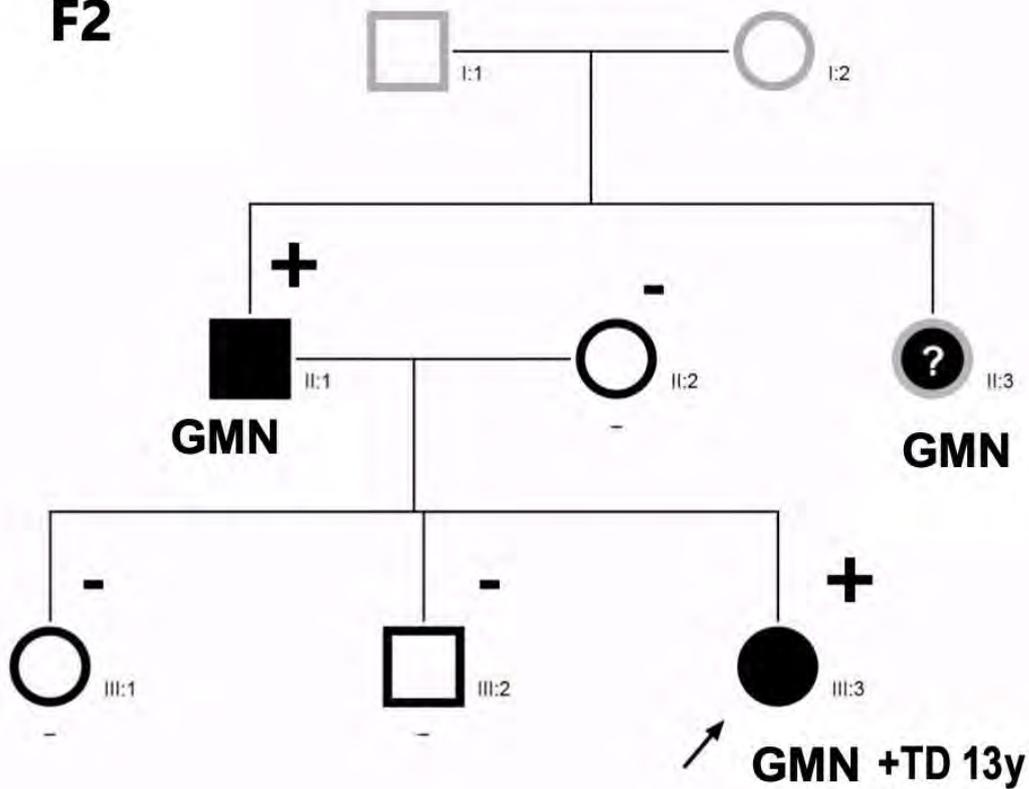
1. Analyse en NGS ciblé

Nous avons intégré à l'étude trois familles présentant des manifestations cliniques exclusivement thyroïdiennes pour lesquelles des mutations du gène *DICER1* ont été identifiées en séquençage NGS ciblé.

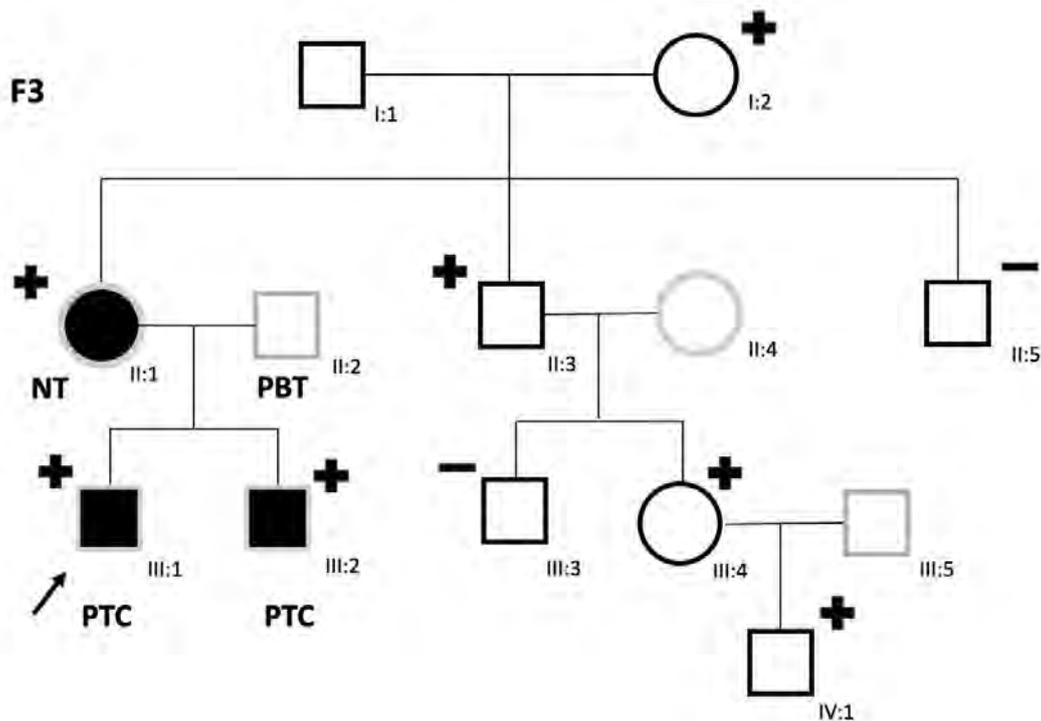


Dans la famille F1, 4 membres présentaient des goitres multinodulaires de la thyroïde. La patiente index (III.2) a présenté un GMN à l'âge de 13 ans. Elle est porteuse de la mutation du gène *DICER1* sur l'exon 24 c.5315-5316delTT p.(Phe1772Cysfs*6) à l'état hétérozygote. La même mutation a été identifiée chez le frère (III.1) et le père (II.1), tous deux asymptomatiques.

F2



Dans la famille F2, 3 membres présentait des goitres multinodulaires de la thyroïde. La patiente index (III.2) a présenté un GMN et une dystrophie nodulaire et kystique de la thyroïde à l'âge de 13 ans. Elle est porteuse de la mutation du gène *DICER1* sur l'exon 24 c.5347C>T p.(Gln1783Stop) à l'état hétérozygote. La même mutation a été identifiée chez le père (II.1) lui aussi présentant un antécédent de goitre multinodulaire de la thyroïde.



Dans la famille F3, trois membres présentaient des carcinomes papillaires de la thyroïde. Le patient index (III.1) a présenté un PTC de la thyroïde à l'âge de 24 ans. Il est porteur de la mutation du gène *DICER1* au niveau de l'exon 25 c.5504A>G p.(Tyr1835Cys) à l'état hétérozygote. La même mutation a été identifiée chez son frère (III.2) présentant également un PTC réfractaire à l'âge de 20 ans et chez sa mère (II.1) présentant des antécédents de microcarcinomes papillaires. Cette mutation a également été identifiée dans la famille chez 4 membres asymptomatiques : la grand-mère (I.2), l'oncle maternelle (II.3), sa fille (III.4) et son fils (IV.1)

L'analyse en NGS ciblé n'a pas permis d'identifier de variant pathogène pour les 11 autres patients présentés dans le tableau 1. Les résultats du séquençage en exome complet (WES) sont présentés dans le chapitre suivant. Notre étude des fichiers WES s'est déroulée en deux étapes. Une première étape d'analyse pour identifier les variants de gènes connus dans les pathologies thyroïdiennes et une deuxième étape de filtrage pour identifier de nouveaux variants de prédisposition au FNMTTC.

2. Analyse des fichiers WES

Nous avons analysé chaque fichier VCF pour identifier les gènes associés au développement de pathologies thyroïdiennes et donc potentiellement prédisposant au FNMTTC chez chaque patient. Nous avons regroupé les patients en fonction des manifestations cliniques qu'ils présentaient :

- FNMTTC syndromique : le groupe LRG, constitué des trois patient L, R, G et la famille L constituée des membres L1 et L2.
- FNMTTC non syndromique : le groupe SMJT, constitué des quatre patients S, M, J, T et la famille B constituée des membres B1 et B2.

Dans cette partie, nous présentons les variants faux- sens ou en régions codantes ainsi que les variants identifiés comme délétères ou potentiellement délétères par les scores de pathogénicité. Les variants présentant des scores en faveur d'une absence de pathogénicité sont présentés en Annexe 1.

A. FNMTTC syndromique

i. Groupe LRG

Pour le patient L, nous avons identifié 15 variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes. Deux variants sont des variants faux-sens (tableau 4). Le variant du gène *ATM* c.6067G>A p.(Gly2023Arg) présente un score SIFT en faveur d'une pathogénicité avérée. Le variant du gène *TPO* c.2515G>A p.(Val839Ile) présente des scores MetaLR et VEST3>0,5.

Tableau 4: Variants faux-sens associés au développement de pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient L.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>ATM</i>	NM_000051.3	missense_variant	c.6067G>A	p.(Gly2023Arg)	27.7	deleterious (0)	benign(0.341)	0.08916	0.87744	0,5152	68	132
<i>TPO</i>	NM_001206744.2	missense_variant	c.2515G>A	p.(Val839Ile)	3.881	tolerated (0.7)	benign(0.003)	0.87506	0.65644	0,5	77	154

1: AF : Fréquence allélique ; AD : profondeur allélique ; DP : profondeur de lecture.

Le patient R ne présentait pas de variant délétère. Nous avons identifié uniquement un variant en région intronique du gène *CHEK2* c.1591-54T>C, associé à un score CADD < 20.

Pour la patient G, nous avons identifié 17 variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes. Le variant du gène *RET* c.580C>T p.(Gln194Ter) présente un score CADD> 30 en faveur d'une pathogénicité avérée (tableau 5).

Tableau 5: Variant en région codante identifié chez le patient G.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
RET	NM_020975.6	stop_gained	c.580C>T	p.(Gln194Ter)	37	0,0215	4	186

ii. Famille L

Pour le patient L1, nous avons identifié 11 variants associés aux pathologies thyroïdiennes. Un variant synonyme du gène *IRS4* c.60_63delinsAGCA p.(AlaAla20=), présente un score CADD à 21,8 en faveur d'une potentielle pathogénicité (tableau 6).

Tableau 6: Variant associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient L1.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
IRS4	NM_003604.2	synonymous_variant	c.60_63delinsAGCA	p.(AlaAla20=)	21.8	0,475	38	80

Pour le patient L2, nous avons identifié 19 variants associés aux pathologies thyroïdiennes. Les deux variants du gène *ATM* c.5558A>T p.(Asp1853Val) et c.1229T>C p.(Val410Ala) présentent des scores de pathogénicité délétères. Le variant du gène *SRGAP1* c.2837G>A p.(Gly946Asp) présente un score VEST3 en faveur d'une pathogénicité avérée (tableau 7).

Tableau 7: Variants faux- sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient L2.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
ATM	NM_000051.3	missense_variant	c.5558A>T	p.(Asp1853Val)	24.2	deleterious(0)	possibly_damaging(0.848)	0.69822	0.92624	0,5063	40	79
ATM	NM_000051.3	missense_variant	c.1229T>C	p.(Val410Ala)	23.3	deleterious(0)	possibly_damaging(0.69)	0.04041	0.77589	0,3929	33	84
SRGAP1	NM_020762.4	missense_variant	c.2837G>A	p.(Gly946Asp)	22.9	tolerated_low_confidence(0.07)	benign(0.075)	0.17488	0.53206	0,4717	25	53

Nous avons également identifié un variant synonyme du gène *IRS4* c.60_63delinsAGCA p.(AlaAla20=), gène décrit dans les hypothyroïdies congénitales qui présente un score CADD en faveur d'une possible pathogénicité (tableau 8).

Tableau 8: Variant synonyme identifié chez le patient L2.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
<i>IRS4</i>	NM_003604.2	synonymous_variant	c.60_63delinsAGCA	p.(AlaAla20=)	21.8	0,9762	41	42

B. FNMTC non syndromique

i. Groupe SMJT

Pour le patient S, nous avons identifié 16 variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes. Le variant du gène *GLIS3* c.2060C>T p.(Ser687Phe) présente des scores de pathogénicité délétères (tableau 9).

Tableau 9: Variant faux-sens associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient S.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>GLIS3</i>	NM_001042413.2	missense_variant	c.2060C>T	p.(Ser687Phe)	26.9	deleterious (0.03)	probably_damaging (0.99)	0.59844	0.84731	0,4519	47	104

Pour le patient M, nous avons identifié 48 variants associés aux pathologies thyroïdiennes. Vingt-deux variants sont des variants faux-sens. Dix variants présentent au moins 4 scores en faveur d'une pathogénicité avérée (tableau 10). Les variants des gènes *FKBP10* c.1442A>T p.(Glu481Val), *SRGAP1* c.2777C>T p.(Ser926Phe) et *NKX2-5* c.446A>T p.(Gln149Leu) présentent 5 scores en faveur d'une pathogénicité.

Tableau 10: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient M.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
FKBP10	NM_021939.4	missense_variant	c.1442A>T	p.(Glu481Val)	32	deleterious(0)	probably_damaging(1)	0.84839	0.85341	0,0206	4	194
SRGAP1	NM_020762.4	missense_variant	c.2777C>T	p.(Ser926Phe)	31	deleterious(0.01)	probably_damaging(0.914)	0.47954	0.80242	0,0317	4	126
NKX2-5	NM_004387.4	missense_variant	c.446A>T	p.(Gln149Leu)	30	deleterious(0)	probably_damaging(0.997)	0.99287	0.96665	0,0435	5	115
NKX2-5	NM_004387.4	missense_variant	c.440A>T	p.(Gln147Leu)	29.6	deleterious(0)	probably_damaging(0.964)	0.97048	0.82245	0,0357	4	112
HABP2	NM_004132.5	missense_variant	c.1513T>A	p.(Cys505Ser)	29.2	deleterious(0)	probably_damaging(1)	0.98736	0.99053	0,0755	4	53
CASR	NM_001178065.2	missense_variant	c.2494A>T	p.(Ile832Phe)	28.0	deleterious(0)	probably_damaging(0.997)	0.94877	0.93672	0,0187	4	214
SLC5A5	NM_000453.3	missense_variant	c.127A>T	p.(Ser43Cys)	27.3	deleterious(0)	probably_damaging(0.928)	0.90680	0.38203	0,0769	4	52
PLEKHG5	NM_001265592.1	missense_variant	c.1802T>A	p.(Ile601Asn)	27.2	deleterious(0)	probably_damaging(0.999)	0.72868	0.74353	0,0191	4	209
HRAS	NM_001130442.2	missense_variant	c.171T>A	p.(Asp57Glu)	24.4	deleterious(0)	probably_damaging(0.933)	0.92543	0.94141	0,019	4	210
TPO	NM_001206744.2	missense_variant	c.2422T>A	p.(Cys808Ser)	23.7	deleterious(0)	probably_damaging(0.99)	0.99770	0.79685	0,0213	4	188

Pour le patient J, nous avons identifié 19 variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes. Le variant faux-sens du gène *SEC23B* c.470T>A p.(Leu157His) présente des scores en faveur d'une pathogénicité (tableau 11).

Tableau 11: Variant faux-sens associé aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient J.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
SEC23B	NM_001172745.3	missense_variant	c.470T>A	p.(Leu157His)	27.5	deleterious(0.02)	probably_damaging(0.942)	0.87035	0.86792	0,048	6	125

Pour le patient T, nous avons identifié 23 variants. Les trois variants faux-sens des gènes *TSHB* c.374G>A p.(Cys125Tyr), *SEC23B* c.470T>A p.(Leu157His) et *CHEK2* c.1556C>T p.(Thr519Met) présentent au moins 4 scores en faveur d'une pathogénicité (tableau 12).

Tableau 12: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient T.

Gène	Transcript	Variant	HGVc	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
TSHB	NM_000549.5	missense_variant	c.374G>A	p.Cys125Tyr	29.0	deleterious(0)	probably_damaging(1)	0.86632	0.99915	0,4474	17	38
SEC23B	NM_001172745.3	missense_variant	c.470T>A	p.Leu157His	27.5	deleterious(0.02)	probably_damaging(0.942)	0.87035	0.86792	0,0355	6	169
CHEK2	NM_001005735.2	missense_variant	c.1556C>T	p.Thr519Met	25.6	deleterious(0)	probably_damaging(0.99)	0.77697	0.82051	0,4828	HMZ	116

ii. Famille B

Pour le patient B1, nous avons identifié 8 variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes. Le variant du gène *IRS4* c.60_63delinsAGCA p.(AlaAla20=) présente un score CADD en faveur d'une potentielle pathogénicité (tableau 13).

Tableau 13: Variant associé aux pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient B1.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
IRS4	NM_003604.2	synonymous_variant	c.60_63delinsAGCA	p.(AlaAla20=)	21.8	0,5281	47	89

Pour le patient B2, nous avons identifié 17 variants associés aux pathologies thyroïdiennes. Deux variants sont des variants faux- sens (tableau 14). Le variant du gène *TSHR* c.793C>A p.(Leu265Ile) présente un score MetaLR>0,5 en faveur d'une pathogénicité et un score CADD >20 en faveur d'une potentielle pathogénicité. Le variant du gène *IRS4* c.1802A>T p.(Asp601Val) présente uniquement un score SIFT en faveur d'un pathogénicité.

Tableau 14: Variants faux-sens associés aux pathologies thyroïdiennes identifiés chez le patient B2.

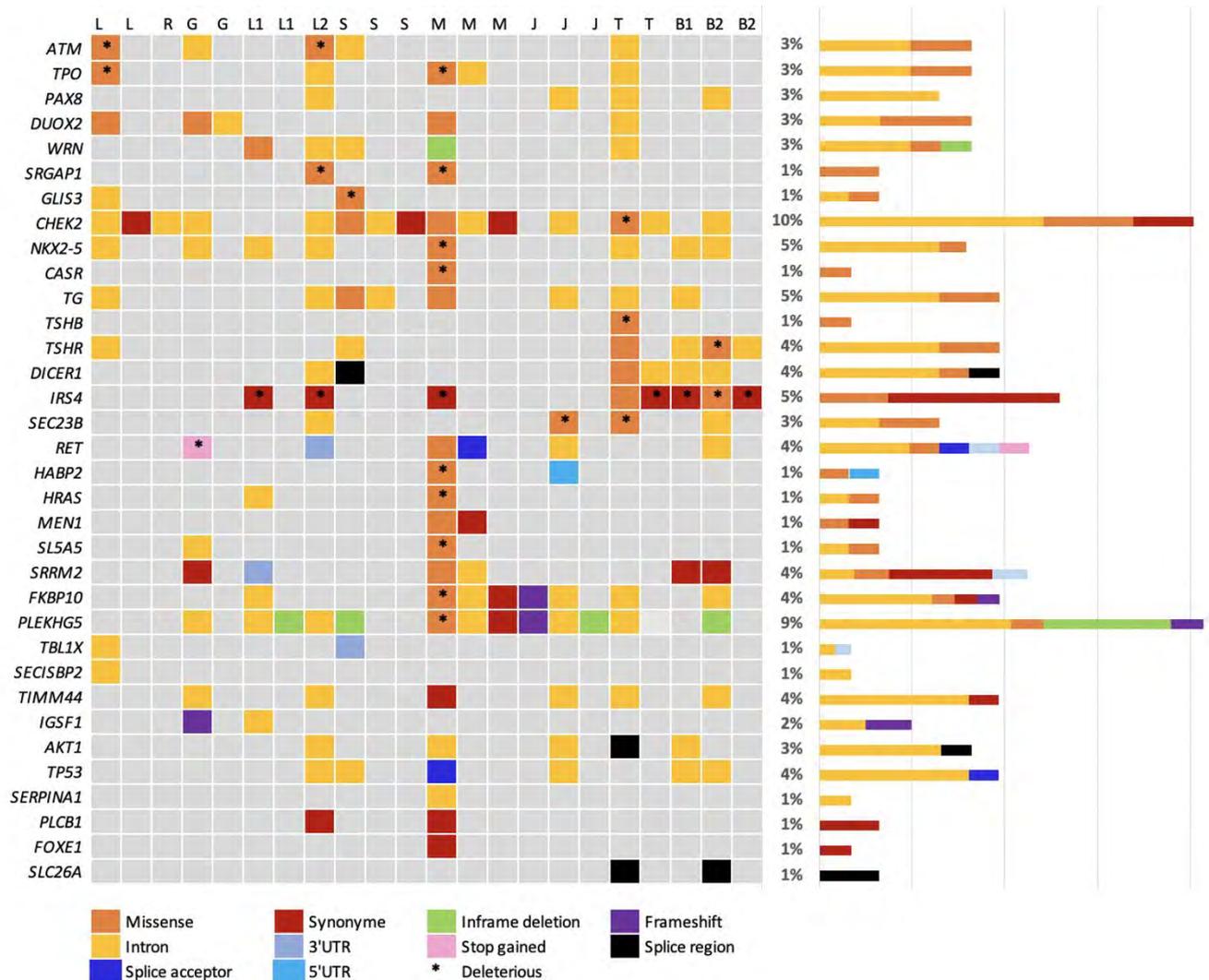
Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
TSHR	NM_000369.3	missense_variant	c.793C>A	p.(Leu265Ile)	20.4	tolerated(0.1)	benign(0.003)	0.54076	0.09211	0,0412	4	97
IRS4	NM_003604.2	missense_variant	c.1802A>T	p.(Asp601Val)	15.34	deleterious_low_confidence(0)	benign(0.157)	0.38779	0.26870	0,4333	39	90

Nous avons identifié également deux variants synonymes (tableau 15). Le variant du gène *IRS4* c.60_63delinsAGCA p.(AlaAla20=) présente un score CADD>20 en faveur d'une potentielle pathogénicité.

Tableau 15: Variants synonymes identifiés chez le patient B2

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
IRS4	NM_003604.2	synonymous_variant	c.60_63delinsAGCA	p.(AlaAla20=)	21.8	0,5281	47	89

L'analyse des fichiers WES a révélé une prévalence de mutations sur les gènes *CHEK2* (10%) et *PLEKHG5* (9%). On note également que *CHEK2* et *DUOX2* affichent tous les deux les taux les plus élevés de mutations faux-sens à 1,9%.



Les gènes *IRS4* (3,12%), *ATM* (1,2%) et *TPO* (1,2%) affichent les taux plus élevés de mutations considérés comme délétères par les scores de pathogénicité.

A noter également qu'aucune corrélation n'a été observée entre le nombre de mutations et les manifestations cliniques ou l'âge ou le sexe des patients.

3. Filtrage des données de séquençage WES

La stratégie de filtrage utilisée pour identifier de nouveaux variants de prédisposition dans les groupes FNMTTC syndromiques et non syndromiques est présentée dans la figure 16.

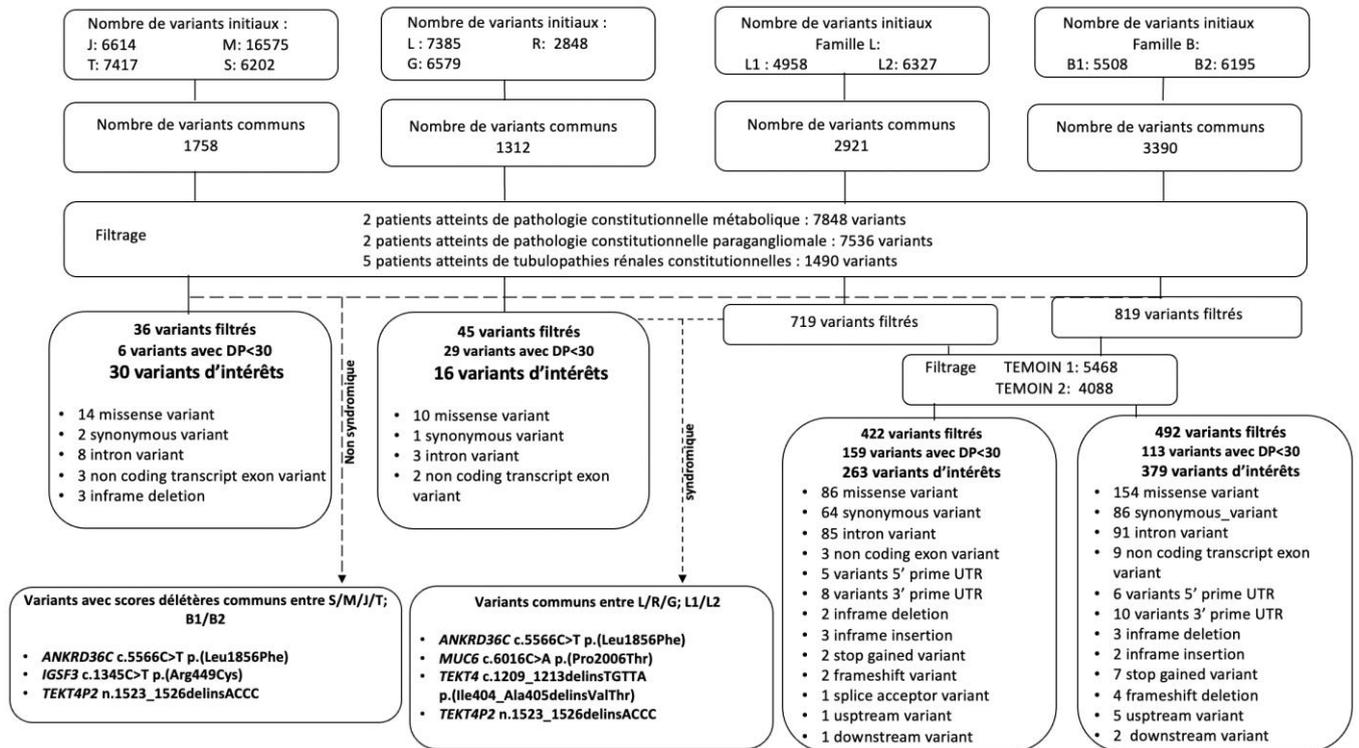


Figure 16: Méthode de filtrage appliquée aux formes syndromiques et non syndromiques de FNMTTC.

A. Filtrage des groupes prédisposés aux FNMTc syndromiques

i. Groupe LRG

Dans ce groupe nous avons d'abord identifié 1312 variants communs entre les 3 patients LRG (figure 17).

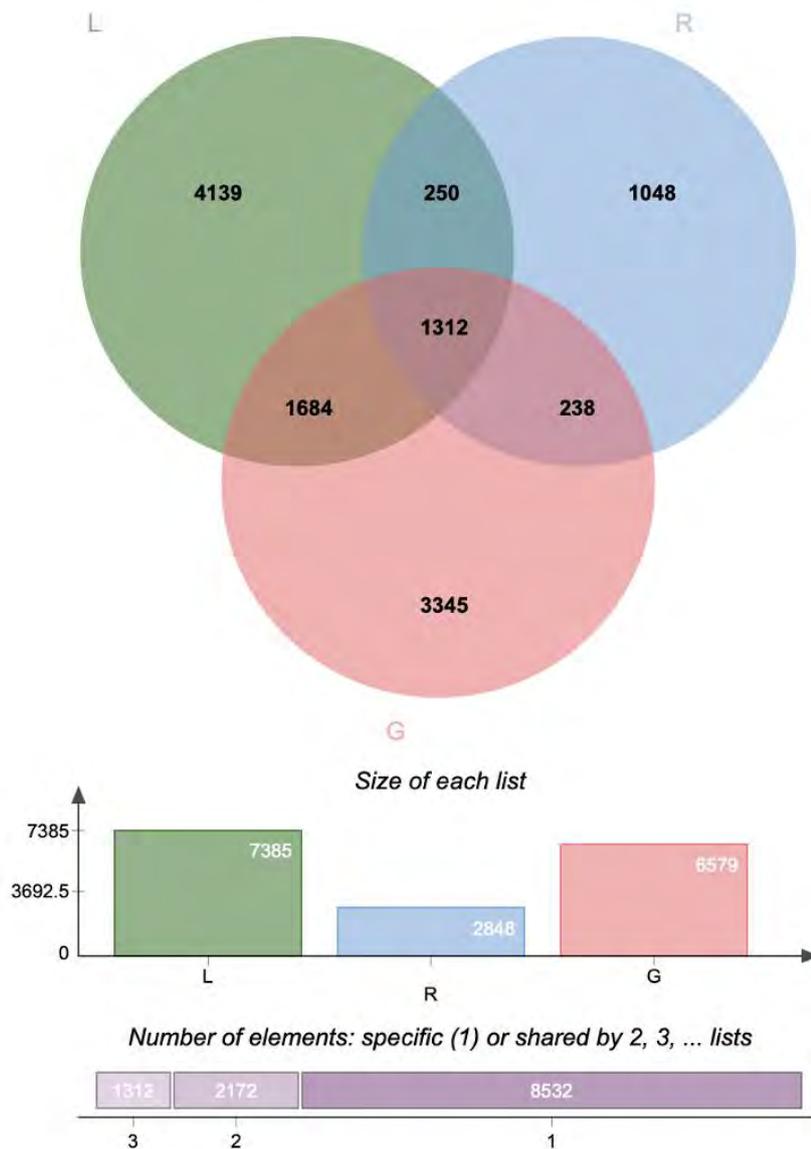


Figure 17: VennDiagram du nombre de variants communs entre les patients du groupe LRG prédisposés aux FNMTc syndromiques.

Dans un second temps, nous avons comparé les variants communs dans le groupe LRG avec les variants des patients témoins. Nous avons identifié 45 variants spécifiques aux groupes LRG (figure 18).

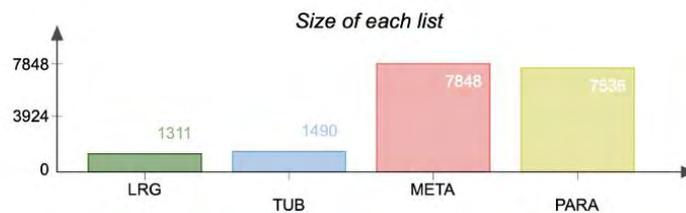
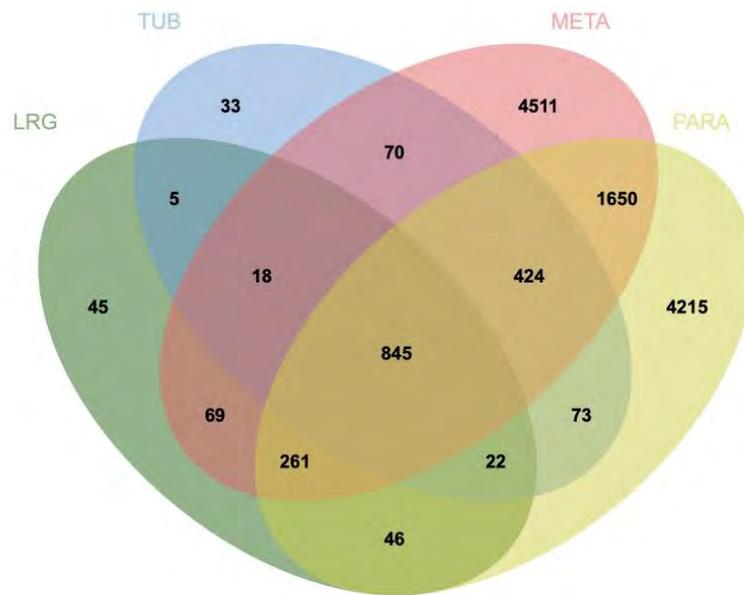


Figure 18: Venndiagram comparatif du groupe LRG vs témoins, représentant 45 variants spécifiques au groupe LRG.

Parmi les 45 variants spécifiques au groupe LRG, 29 variants avec une profondeur de lecture $DP < 30$ ont été exclus de l'étude. Nous avons donc caractérisé 16 variants d'intérêts.

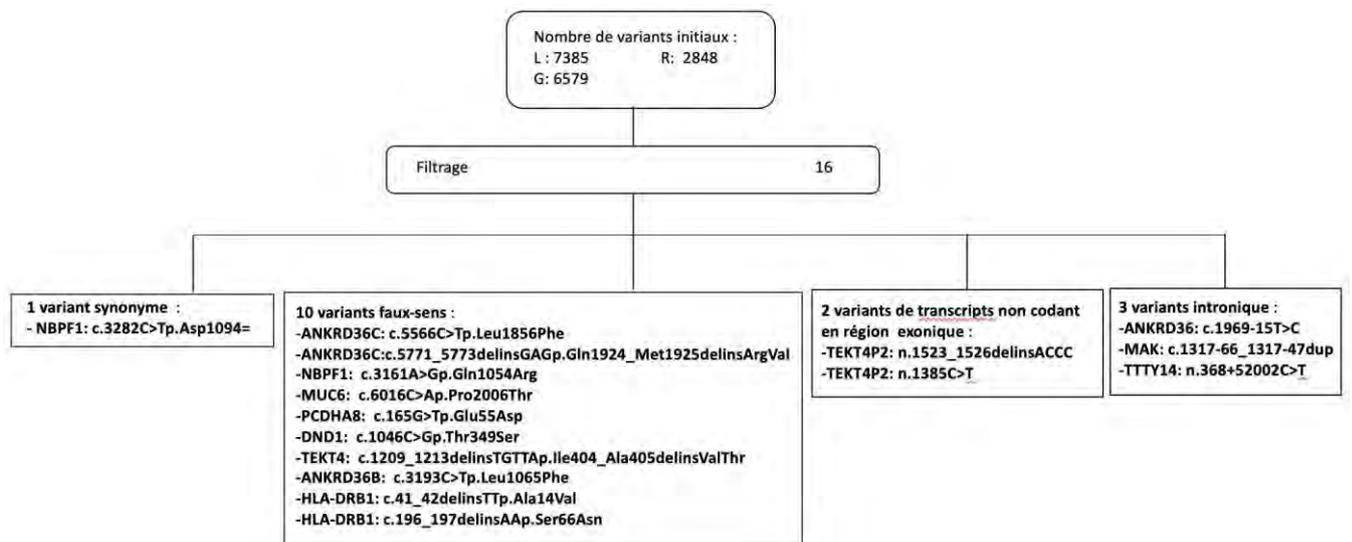


Figure 19: Synthèse des variants identifiés par filtrage WES dans le groupe LRG.

Sur l'ensemble des 16 variants restant (figure 19) :

- Le variant du gène *ANKRD36C* c.5566C>T p.(Leu1856Phe) présente des scores SIFT et PolyPhen en faveur d'une pathogénicité et un score CADD>20 en faveur d'une possible pathogénicité (tableau 16). *ANKRD36C* (ankyrin repeat domain 36C) code pour une protéine qui contient des répétitions d'ankyrine. Les protéines ankyrines sont impliquées dans l'ancrage des protéines membranaires¹²⁹.

Tableau 16: Variant présentant des scores de pathogénicité délétères dans le groupe LRG.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>ANKRD36C</i>	NM_001310154.3	missense_variant	c.5566C>T	p.(Leu1856Phe)	22.7	Deleterious (0.03)	Possibly damaging (0.773)	0.21223	0.2564	0,1182	24	203

- 2 variants présentent des scores SIFT <0,05 en faveur d'une pathogénicité. Le variant du gène *ANKRD36B* c.3193C>T p.(Leu1065Phe) et le variant du gène *MUC6* c.6016C>A p.(Pro2006Thr) (Tableau 17). *ANKRD36B* fait également partie de la famille ANKRD36. *MUC6* (*Mucin 6, Oligomeric Mucus/Gel-Forming*) code pour la protéine mucine 6, qui a la capacité de former des glycoprotéines mucineuses, jouant un rôle essentiel dans la protection des muqueuses¹³⁰.

Tableau 17: Variants présentant des scores SIFT <0,05 dans le groupe LRG.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>ANKRD36B</i>	NM_025190.3	missense_variant	c.3193C>T	p.(Leu1065Phe)	9.590	deleterious (0.03)	benign(0.3)		0.17928	0,1765	6	34
<i>MUC6</i>	NM_005961.3	missense_variant	c.6016C>A	p.(Pro2006Thr)	5.119	deleterious (0.01)	benign (0.007)	0.10057	0.0967	0,2396	23	96

- 3 variants ne présentent pas d'informations de scores associées (tableau 19). *TEKT4* Code pour la protéine téktine 4. *TEKT4* est impliqué dans la formation et la stabilisation des microtubules des cils et des flagelles, essentielles pour leur capacité à générer un mouvement¹³¹. *TEKT4P2* est un pseudogène, une séquence d'ADN non fonctionnelle.

Tableau 18: Variants ne présentant pas de scores de pathogénicité identifiés dans le groupe LRG.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	AF	AD	DP
<i>TEKT4</i>	NM_144705.4	missense_variant	c.1209_1213delinsTGTTA	p.(Ile404_Ala405delinsValThr)	0,1089	22	202
<i>TEKT4P2</i>	NR_038327.2	non_coding_transcript_exon_variant	n.1523_1526delinsACCC		0,0885	40	452
<i>TEKT4P2</i>	NR_038327.2	non_coding_transcript_exon_variant	n.1385C>T		0,0738	9	122

Les 10 autres variants présentent des scores CADD<20 en faveur d'une absence de pathogénicité (Annexe 2)

ii. Famille L

Pour les deux membres de la famille L nous avons d'abord identifié 2921 variants communs (figure 20).

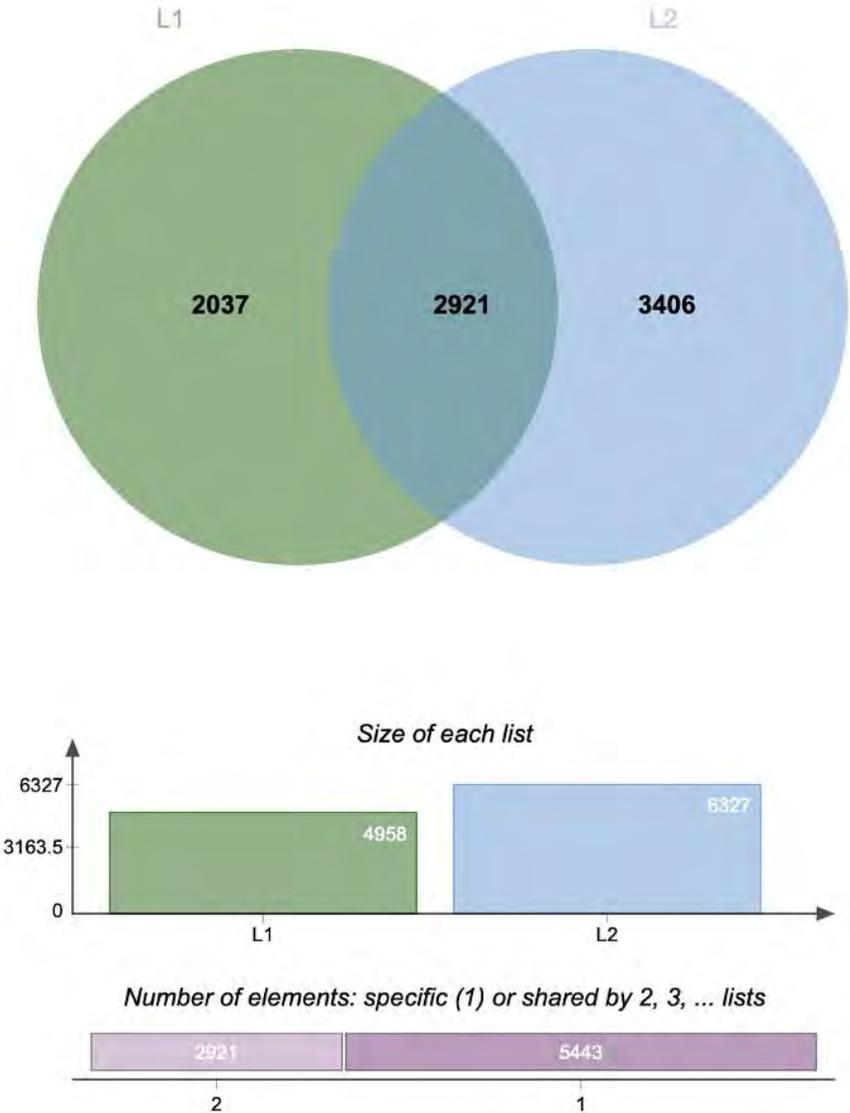


Figure 20 : VennDiagram du nombre de variants communs entre les deux membres de la famille L.

Dans un second temps, nous avons comparé les variants communs dans la famille L avec les variants témoins. Nous avons identifié 422 variants spécifiques à la famille L (figure 21).

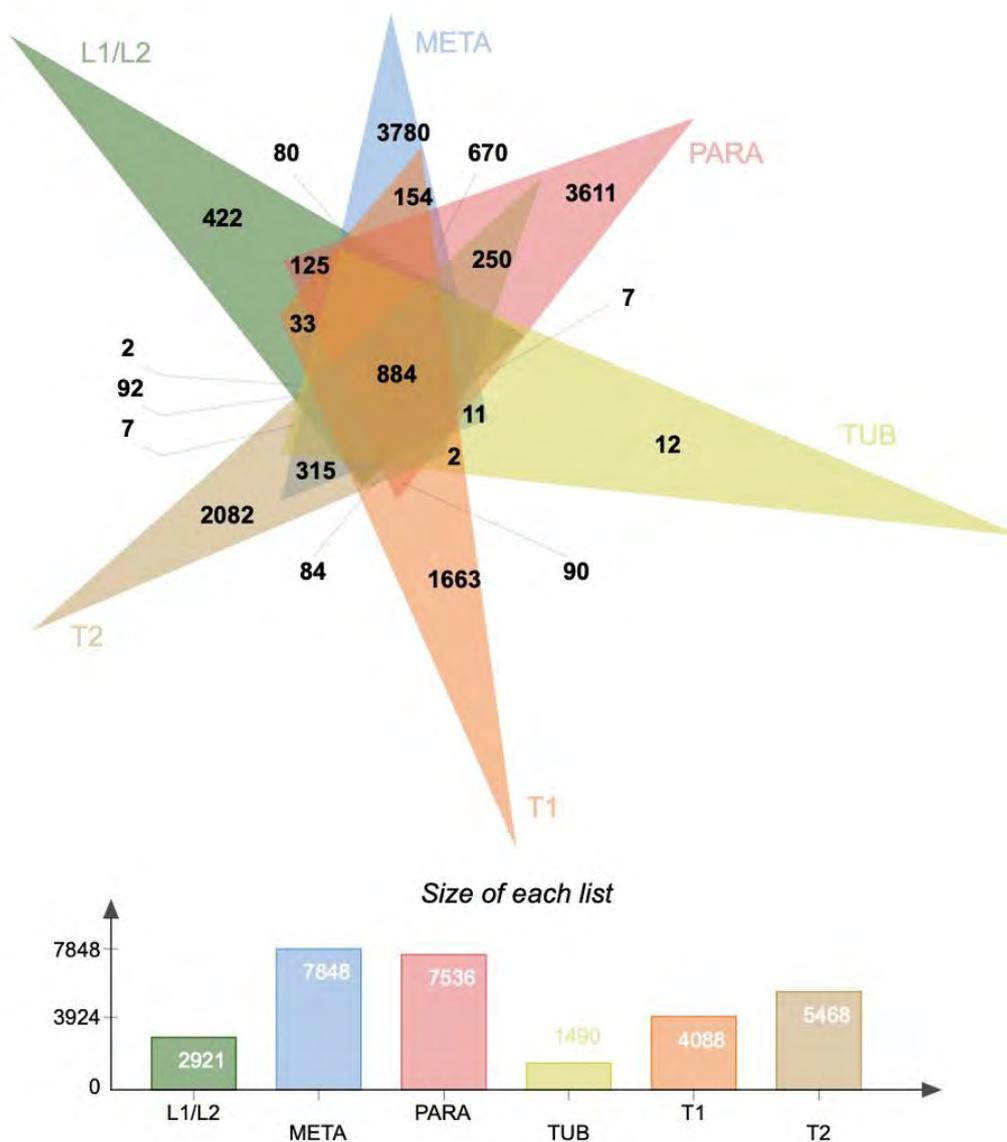


Figure 21: Venndiagram comparatif de la famille L1/L2 vs témoins, représentant 422 variants spécifiques à la famille L.

Parmi les 422 variants spécifiques à la famille L, 159 variants avec une profondeur de lecture DP < 30 ont été exclus de l'étude. Sur le total des 263 variants restants, nous avons 108 variants dans des régions codantes et 155 variants de régions non codantes.

Sur l'ensemble de ces 267 variants :

- 7 variants présentent un score CADD >30 (Tableau 19)

Tableau 19: Variants identifiés avec un score CADD >30 chez les membres de la famille L.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
CDC27	NM_001114091.4	missense_variant	c.1913C>A	p.(Pro638His)	30	deleterious (0)	possibly_damaging (0.779)	0.83489	0.72752	0,0276	14	508
GSTO1	NM_004832.3	missense_variant	c.95G>A	p.(Cys32Tyr)	33	deleterious (0)	probably_damaging (0.99)	0.70556	0.99268	0,3684	28	76
PRPF40B	NM_001031698.2	missense_variant	c.1528C>T	p.(Arg510Cys)	34	deleterious (0)	probably_damaging (0.999)	0.63558	0.88389	0,4811	51	106
BTD	NM_001281723.3	missense_variant	c.1552C>T	p.(Arg518Cys)	31	deleterious (0)	probably_damaging (1)	0.97451	0.95814	0,5938	19	32
MFSD4A	NM_181644.5	missense_variant& splice_region_variant	c.689A>G	p.(Asn230Ser)	32	deleterious (0.01)	probably_damaging (0.984)	0.66777	0.22452	0,38	19	50
ROBO4	NM_019055.6	stop_gained	c.2965A>T	p.(Arg989Ter)	39					0,5268	59	112
EPB41L4A	NM_001347887.2	frameshift_variant	c.10_11del	p.(Phe4LeufsTer16)	33					0,5172	30	58

- **CDC27 (Cell Division Cycle 27)** code pour une protéine impliquée la régulation de l'entrée en mitose. Elle fait partie du complexe APC/C (Anaphase Promoting Complex/Cyclosome), qui contrôle la progression du cycle cellulaire en marquant des protéines pour leur dégradation¹³².
- **GSTO1 (Glutathione S-Transferase Omega 1)** code pour une enzyme de la famille des glutathion S-transférases, qui joue un rôle dans la détoxification cellulaire en conjuguant le glutathion à des substances toxiques¹³³. Cette enzyme contribue à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs¹³⁴.
- **PRPF40B (Pre-mRNA Processing Factor 40B)** code pour une protéine impliquée dans le traitement pré-ARNm. Elle participe à l'épissage alternatif cruciale pour la synthèse de protéines fonctionnelles¹³⁵.
- **BTD (Biotinidase)** code pour l'enzyme biotinidase, qui joue un rôle dans le métabolisme de la biotine (vitamine B). L'enzyme BTD libère la biotine des protéines alimentaires et des protéines du corps, permettant ainsi son utilisation par l'organisme¹³⁶.
- **MFSD4A (Major Facilitator Superfamily Domain-Containing Protein 4A)** code pour une protéine impliquée dans le transport de différentes substances dont le glucose à travers les membranes cellulaires¹³⁷.
- **ROBO4 (Roundabout Guidance Receptor 4)** code pour le récepteur ROBO4, qui est impliqué dans la néo-angiogenèse¹³⁸.

- **EPB41L4A (Erythrocyte Membrane Protein Band 4.1 Like 4A)** code pour une protéine qui est impliquée dans la régulation des interactions entre le cytosquelette et la membrane plasmique des érythrocytes. Elle serait aussi impliquée dans la voie de signalisation de la β -caténine¹³⁹.
- 7 variants présentent 5 scores en faveur d'une pathogénicité : CADD> 20, SIFT<0,05, PolyPhen>0,5, MetaLR>0,5 et VEST3>0,5 (Tableau 20).

Tableau 20: Variants identifiés avec un score CADD>20 et au moins 2 autres scores pathogènes chez les membres de la famille L.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
SMPD1	NM_000543.5	missense_variant	c.1550A>T	p.(Glu517Val)	24.5	deleterious(0)	possibly_damaging (0.804)	0.61926	0.90027	0,4694	23	49
B3GAT1	NM_001367973.1	missense_variant	c.1041C>G	p.(Ile347Met)	24.5	deleterious(0)	probably_damaging (0.929)	0.70572	0.67754	0,5	56	112
MST1	NM_020998.3	missense_variant	c.2078T>G	p.(Ile693Arg)	26.5	deleterious (0.02)	possibly_damaging (0.648)	0.77848	0.93555	0,1038	11	106
KRT35	NM_002280.4	missense_variant	c.841C>T	p.(Arg281Cys)	28.1	deleterious (0.03)	probably_damaging (0.998)	0.96587	0.73171	0,5904	49	83
KRT39	NM_213656.4	missense_variant	c.286G>A	p.(Glu96Lys)	28.3	deleterious(0)	probably_damaging (0.998)	0.96944	0.64866	0,5752	65	113
CHRND	NM_000751.3	missense_variant	c.1400G>A	p.(Arg467His)	28.4	deleterious (0.01)	probably_damaging (0.946)	0.89621	0.80997	0,4522	52	115
KLK5	NM_012427.5	missense_variant	c.775G>A	p.(Val259Met)	25.3	deleterious(0)	probably_damaging (0.999)	0.98130	0.58595	0,3721	16	43

- **SMPD1 (Sphingomyelin Phosphodiesterase 1)** code pour l'enzyme sphingomyélinase, qui joue un rôle crucial dans la conversion des sphingomyélines en céramides¹⁴⁰.
- **B3GAT1 (Beta-1,3-Glucuronyltransferase 1)** code pour une enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'épitope CD57 des HNK-1 ((Human Natural killer-1) ¹⁴¹.
- **MST1 (Macrophage Stimulating 1)** code pour une protéine impliquée dans la régulation de la réponse immunitaire et de la migration des cellules immunitaires, en particulier des macrophages¹⁴².
- **KRT35 (Keratin 35)** et **KRT39 (Keratin 39)** codent pour des protéines de type kératine. Les kératines fournissent une résistance mécanique et structurelle aux tissus¹⁴³.
- **CHRND (Cholinergic Receptor Nicotinic Delta Subunit)** code pour la sous-unité delta d'un récepteur nicotinique cholinergique, impliqué dans la transmission synaptique¹⁴⁴.

- **KLK5 (Kallikrein-Related Peptidase 5)** code pour une enzyme kallikréine, qui est une protéase impliquée dans la régulation de la coagulation sanguine¹⁴⁵, de la réponse immunitaire et de la dégradation des protéines¹⁴⁶.
- 3 variants présentent des scores SIFT<0,05 en faveur d'une pathogénicité avérée et un score PolyPhen >0,44 en faveur d'une potentielle pathogénicité (Tableau 21). Les variants du gène *ANKRD36C* et *PKD1L2* présente également un score CADD>20.

Tableau 21: Variants présentant un score SIFT en faveur d'une pathogénicité avérée chez les membres de la famille L

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>PKD1L2</i>	NM_001278425.2	missense_variant	c.2282_2283de linsA	p.(Thr761Lys)	26.4	deleterious(0)	probably_damaging (0.991)			0,46	46	100
<i>ANKRD36C</i>	NM_001310154.3	missense_variant	c.5566C>T	p.(Leu1856Phe)	22.7	deleterious(0.03)	possibly_damaging (0.773)	0.21223	0.25644	0,03871	6	155
<i>CBY3</i>	NM_001164444.2	missense_variant	c.614A>G	p.(Asn205Ser)	18.09	deleterious (0.02)	possibly_damaging (0.497)	0.17063	0.01415	0,4872	38	78
<i>OR11H12</i>	NM_001013354.1	missense_variant	c.418G>A	p.(Ala140Thr)	16.70	deleterious (0.01)	possibly_damaging (0.458)	0.04699	0.36536	0,2632	10	38

- **PKD1L2 (Polycystic Kidney Disease 1 Like 2)** fait partie de la famille des gènes PKD, connu pour être impliqué dans les maladies rénales kystiques héréditaires¹⁴⁷.
- **CBY3 (Chibby Family Member 3)** code pour une protéine appelée Chibby 3. Les protéines Cby sont impliquée dans la régulation de la voie de signalisation Wnt. Elles agissent comme un modulateur négatif de la voie Wnt en se liant à la β -caténine et en empêchant son interaction avec les facteurs de transcription impliqués dans la régulation génique¹⁴⁸.
- **OR11H12 (Olfactory Receptor Family 11 Subfamily H Member 12)** code pour une protéine des récepteurs olfactifs. Ils partagent une structure de domaine à avec de nombreux récepteurs neurotransmetteurs et hormonaux et sont responsables de la reconnaissance et de la transduction médiée par la protéine G des signaux odorants¹⁴⁹.
- 5 variants ne présentent pas de score pathogène mais peuvent être prédisposant chez les membres de la famille L, pour une association entre cancers du sein et cancers de la thyroïdes non médullaires (tableau 22).

Tableau 22: Variants ne présentant pas de score de pathogénicité avérée, mais pouvant être associés aux NMTC syndromique chez les membres de la famille L.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetalR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
NCAPH2	NM_001185011.2	missense_variant	c.383G>A	p.(Arg128Gln)	12.85	tolerated(0.61)	possibly_damaging(0.744)	0.46137	0.25146	0,55	77	140
RET	NM_020975.6	3_prime_UTR_variant	c.*29C>A		13.67					0,5172	45	87
BRCA1	NM_007300.4	3_prime_UTR_variant	c.*815C>T		0.228					0,5676	21	37
XPC	NM_004628.4	3_prime_UTR_variant	c.*565T>G		6.991					0,3279	20	61
TEK5	NM_144674.2	missense_variant	c.178A>G	p.(Asn60Asp)	0.169	tolerated(0.23)	benign(0)	0.02206	0.06650	0,4474	17	38

- **NCAPH2 (Non-SMC Condensin II Complex Subunit H2)** fait partie du complexe de condensine II, impliqué dans la compaction de l'ADN pendant la division cellulaire¹⁵⁰.
- **RET (Récepteur Tyrosine Kinase)** code pour un récepteur de tyrosine kinase impliqué dans le développement dans la régulation de la croissance cellulaire.
- **BRCA1 (Breast Cancer 1)** est un gène suppresseur de tumeur, associé à un risque accru de cancer du sein et de l'ovaire en cas de mutation. Il est impliqué dans la réparation de l'ADN et la régulation de la division cellulaire¹⁵¹.
- **XPC (Xeroderma Pigmentosum Group C)** fait partie du système de réparation de l'ADN et est essentiel pour la détection et la réparation des dommages causés à l'ADN par les rayons UV et d'autres agents mutagènes¹⁵².

iii. Variants communs dans le groupe FNMTTC syndromique

Nous avons identifié 6 variants communs entre le groupe LRG et les membres de la famille L.

Cinq variants faux-sens :

- **ANKRD36C** c.5566C>T p.(Leu1856Phe)
- **TEKT4** c.1209_1213delinsTGTTA p.(Ile404_Ala405delinsValThr)
- **MUC6** c.6016C>A p.(Pro2006Thr)
- **DND1** c.1046C>G p.(Thr349Ser)
- **HLA-DRB1** c.41_42delinsTT p.(Ala14Val)

Un variant de pseudogène : **TEKT4P2** n.1523_1526delinsACCC

B. Filtrage des groupes prédisposés aux FNMTc non syndromiques

i. Groupe SMJT

Dans ce groupe nous avons d'abord identifié 1758 variants communs entre les 4 patients S, M, J, T (figure 22).

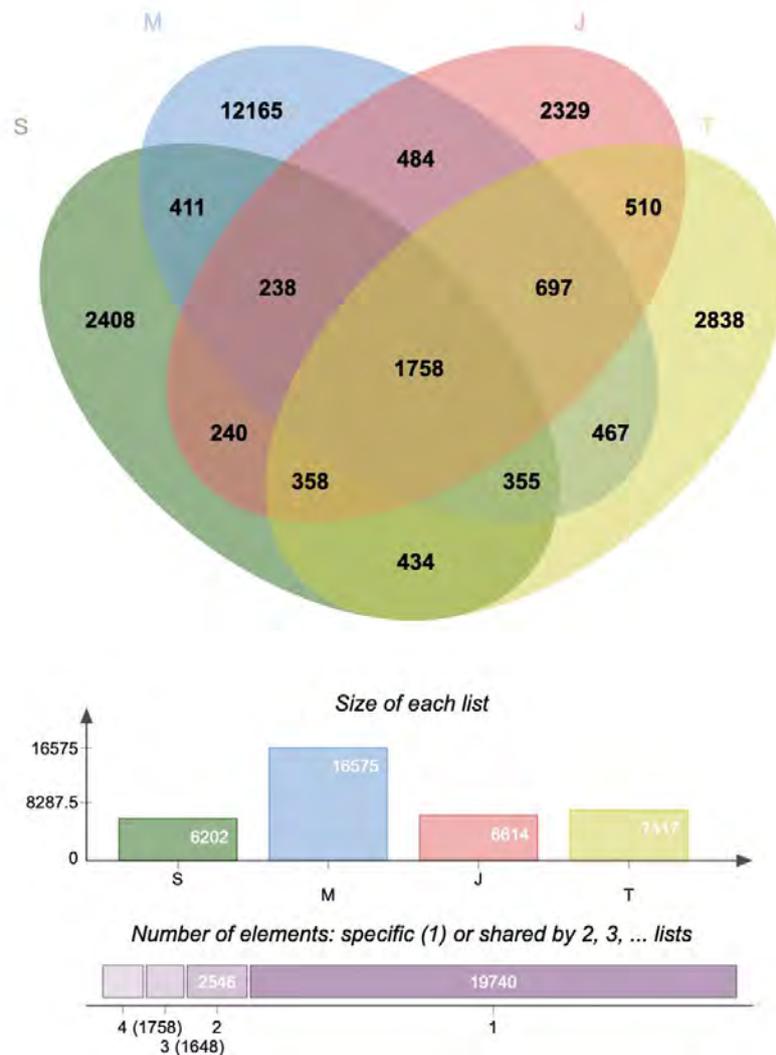


Figure 22: : VennDiagram du nombre de variants communs entre les patients du groupe SMJT prédisposés aux FNMTc non syndromiques.

Dans un second temps, nous avons comparé les variants communs dans le groupe SMJT avec les variants témoins. Nous avons 36 variants spécifiques aux groupes SMJT (figure 23).

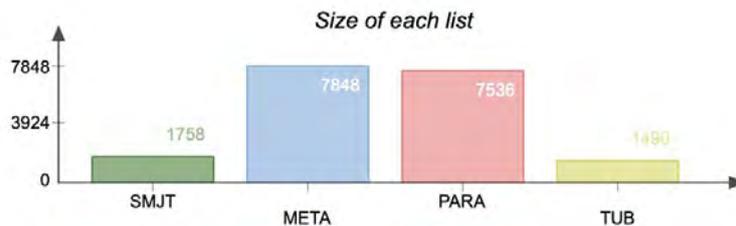
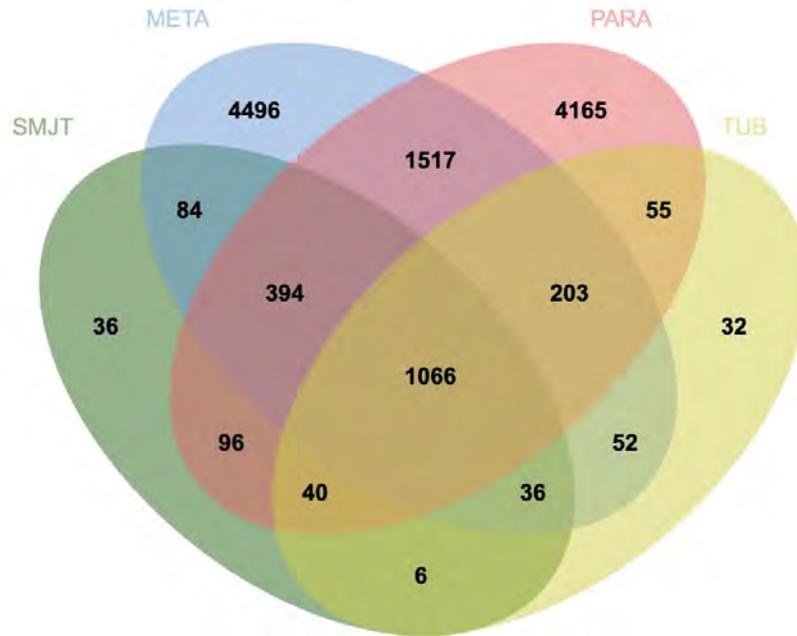


Figure 23: Venndiagram comparatif du groupe SMJT vs témoins, représentant 36 variants spécifiques au groupe SMJT.

Parmi les 36 variants spécifiques au groupe SMJT, 6 variants avec une profondeur de lecture DP < 30 ont été exclus de l'étude. Nous avons donc 30 variants d'intérêts (figure 24).

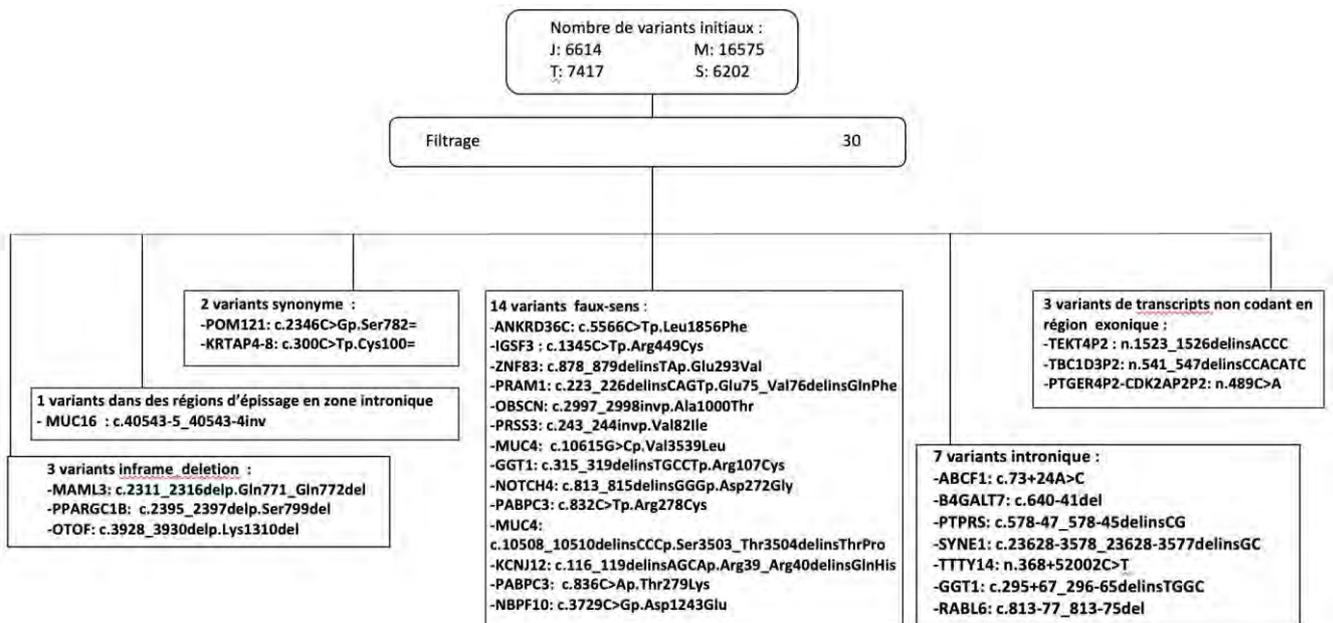


Figure 24: Synthèse des variants identifiés par filtrage WES dans le groupe SMJT.

Pour les 30 variants filtrés (figure 24) :

- 1 variants présente un score CADD>30 (Tableau 23).

Tableau 23: Variant identifié avec un score CADD>30 chez les patients du groupe SMJT.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>IGSF3*</i>	NM_001542.4	missense_variant	c.1345C>T	p.(Arg449Cys)	31	deleterious (0.03)	possibly damaging (0.606)	0.03054	0.36114	0,1684	16	95

- ***IGSF3 (Immunoglobulin Superfamily Member 3)*** code pour une protéine de la superfamille des immunoglobulines. Une mutation de ce gène a été associée à une obstruction bilatérale du canal nasolacrimal (LCDD) par nos données OMIM¹⁵³.

- 2 variants présentent un score CADD >20 et au moins 1 autre score pathogène (Tableau24).

Tableau 24: Variants présentant un score CADD >20 et au moins 1 autre score pathogène chez les patients du groupe SMJT.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
<i>ANKRD36C</i>	NM_001310154.3	missense_variant	c.5566C>T	p.(Leu1856Phe)	22.7	deleterious(0.03)	possibly damaging (0.773)	0.21223	0.25644	0,0617	10	162
<i>PABPC3</i>	NM_030979.2	missense_variant	c.832C>T	p.(Arg278Cys)	23.0	deleterious(0.04)	benign (0.082)	0.11838	0.37165	0,1169	9	77

- ***PAPC3 (Poly(A) RNA Polymerase C3)*** code pour une sous-unité de l'ARN polymérase poly(A) C, une enzyme impliquée dans la régulation de la polyadénylation des ARN messagers¹⁵⁴.

- 4 variants présentent uniquement un score CADD> 20 (Tableau 25).

Tableau 25: Variants présentant un score CADD>20 chez les patients du groupe SMJT.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
<i>KCNJ12</i>	NM_021012.5	missense_variant	c.116_119delinsAGCA	p.(Arg39_Arg40delinsGlnHis)	22.9	0,1654	65	393
<i>MAML3</i>	NM_018717.5	inframe_deletion	c.2311_2316del	p.(Gln771_Gln772del)	21.9	0,0926	5	54
<i>PPARGC1B</i>	NM_133263.4	inframe_deletion	c.2395_2397del	p.(Ser799del)	21.5	0,032	4	125

- **KCNJ12 (Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 12)** code pour une sous-unité de canal potassique. Elle est impliquée dans le transport de potassium à travers la membrane cellulaire¹⁵⁵.
- **MAML3 (Mastermind Like Transcriptional Coactivator 3)** code pour un coactivateur transcriptionnel impliqué dans la voie de signalisation Notch et la régulation de l'expression de gènes cibles par régulation positive de la transcription par l'ARN polymérase II¹⁵⁶.
- **PPARGC1B (PPARG Coactivator 1 Beta)** code pour une protéine coactivateur qui régule l'activité de plusieurs facteurs de transcription et récepteurs nucléaires¹⁵⁷.

ii. Famille B

Pour les deux membres de la famille B, nous avons d'abord identifié 3390 variants communs (figure 25).

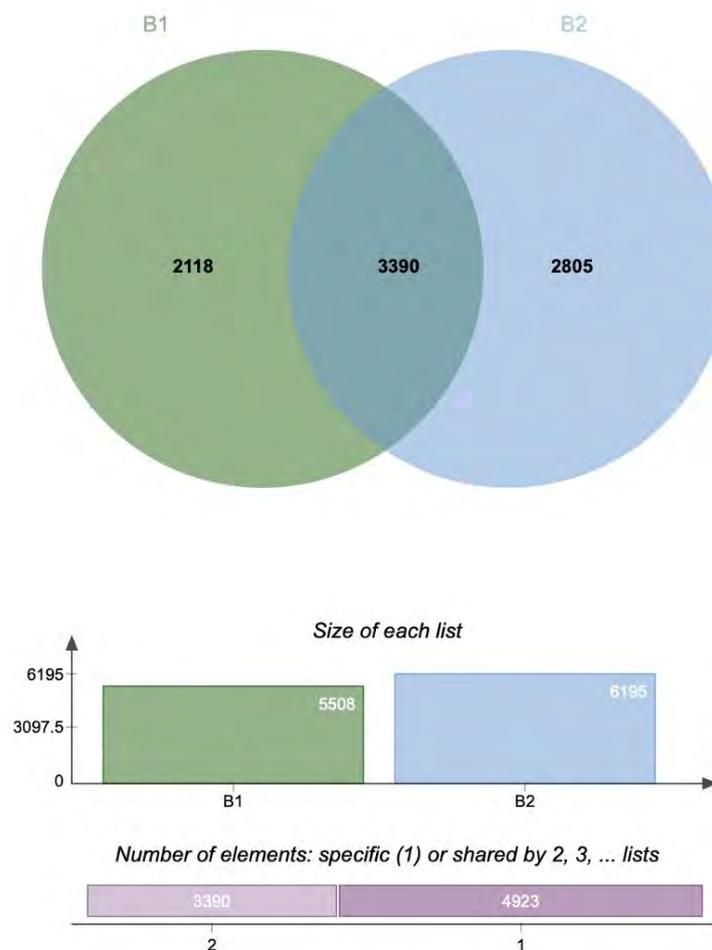


Figure 25: VennDiagram du nombre de variants communs entre les deux membres de la famille B.

Dans un second temps, nous avons comparé les variants communs dans la famille B avec les variants témoins. Nous avons identifié 492 variants spécifiques à la famille B (figure 26).

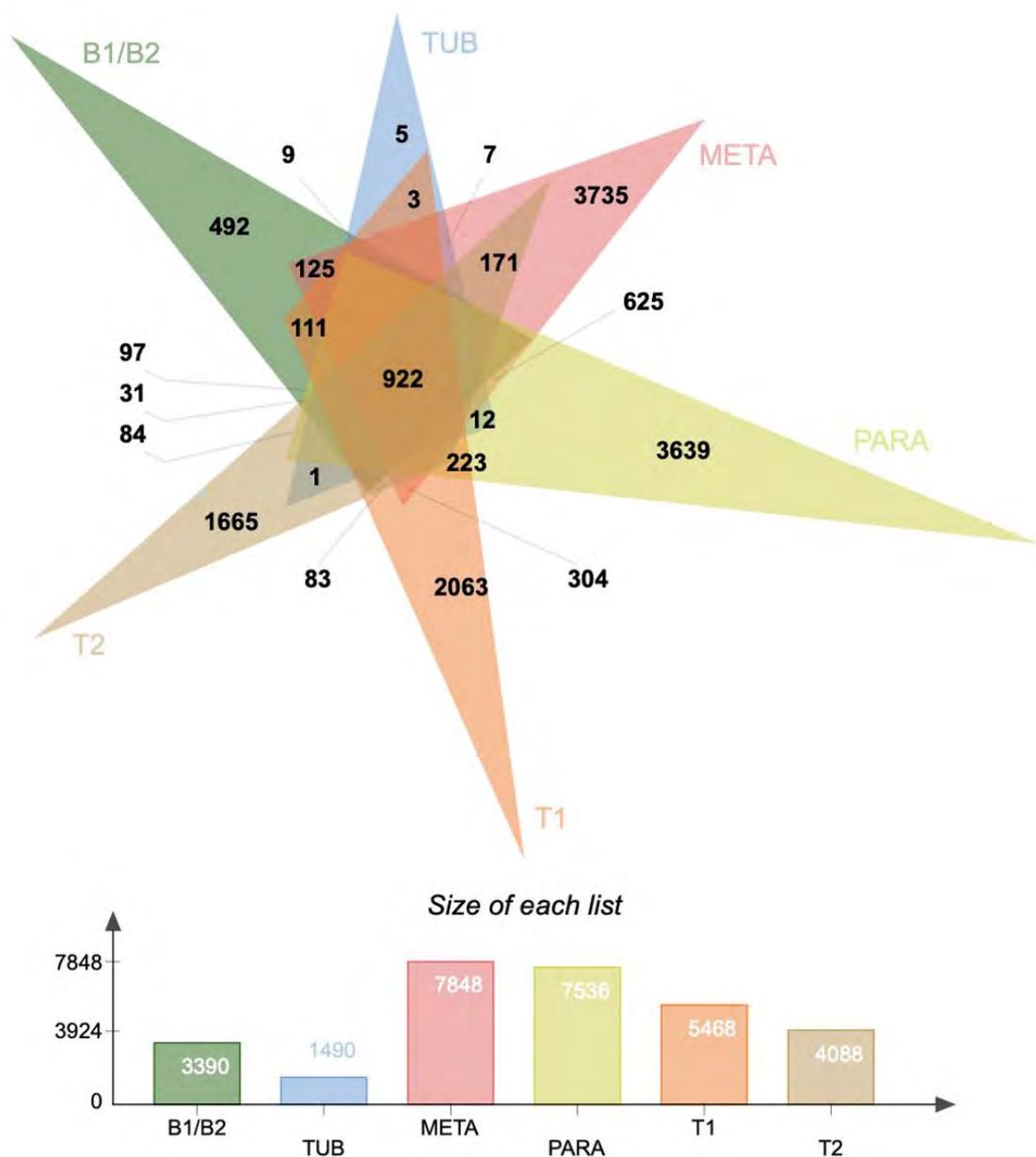


Figure 26: Venn diagram comparatif de la famille B1/B2 vs témoins, représentant 492 variants spécifiques à la famille B.

Parmi les 492 variants spécifiques à la famille L, 113 variants avec une profondeur de lecture $DP < 30$ ont été exclus de l'étude. Sur le total des 379 variants restants, nous avons 190 variants en régions codantes et 189 variants en régions non codantes.

Sur l'ensemble de ces 372 variants filtrés :

- 10 variants présentent un score CADD >30 (Tableau 26).

Tableau 26: Variants identifiés avec un score CADD >30 chez les membres de la famille B.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD - score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_ rankscore	VEST3_ rankscore	AF	AD	DP
ABCA4*	NM_000350.3	missense_variant	c.3322C>T	p.(Arg1108Cys)	33	deleterious(0)	probably_damaging (0.937)	0.97252	0.97519	0,4737	54	114
CILP*	NM_003613.4	missense_variant	c.284G>A	p.(Arg95Gln)	31	deleterious (0.01)	probably_damaging (0.998)	0.38163	0.78491	0,42	57	133
IGSF3*	NM_001542.4	missense_variant	c.1345C>T	p.Arg449Cys	31	deleterious (0.03)	possibly damaging (0.606)	0.03054	0.36114	0,34188	40	117
OR2T12	NM_001004692.1	stop_gained	c.498T>G	p.(Tyr166Ter)	35					0,1351	5	37
HMCN2	NM_001291815.2	frameshift_variant	c.11959_11960del	p.(Leu3987AspfsTer?)	33					0,375	15	40
DDIT4L	NM_145244.4	frameshift_variant	c.539_540delinsG	p.(Lys180SerfsTer5)	34					0,375	21	56
NOP2	NM_001258309.2	stop_gained	c.2338C>T	p.(Gln780Ter)	35					0,4873	96	197
ACSBG1	NM_015162.5	stop_gained	c.191C>A	p.(Ser64Ter)	33					0,53	53	100
XYLB	NM_001349178.2	stop_gained&splice _region_variant	c.1348C>T	p.(Gln450Ter)	45					0,4603	29	63
USP54	NM_152586.3	stop_gained	c.4183C>T	p.(Arg1395Ter)	39					0,6275	32	51

- **ABCA4 (ATP-Binding Cassette Sub-Family A Member 4)** code pour une protéine transporteur impliquée dans le transport de lipides dans les cellules rétinienne. Les mutations dans ce gène sont associées à la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) et à la rétinite pigmentaire¹⁵⁸.
- **CILP (Cartilage Intermediate Layer Protein)** code pour la protéine CILP, qui est principalement exprimée dans les tissus cartilagineux et est impliquée dans la régulation de la matrice extracellulaire dans le cartilage¹⁵⁹.
- **OR2T12 (Olfactory Receptor Family 2 Subfamily T Member 12)** code pour un récepteur olfactif¹⁶⁰
- **HMCN2 (Hemicentin-2)** code pour la protéine hemicentin-2, qui est constituant de la matrice extracellulaire, notamment dans les tissus conjonctifs¹⁶¹.
- **DDIT4L (DNA Damage Inducible Transcript 4-Like)** est impliqué dans la régulation de la croissance cellulaire et la réponse au stress cellulaire. Il joue également un rôle dans la régulation de la voie de signalisation mTOR¹⁶².
- **NOP2 (Nucleolar Protein 2)** code pour une protéine localisée dans le nucléole, une région subcellulaire impliquée dans la synthèse des ribosomes. La protéine NOP2 est associée à la maturation des ribosomes et à la régulation de la croissance cellulaire.¹⁶³

- **ACSBG1 (Acyl-CoA Synthetase Bubblegum Family Member 1)** code pour une enzyme qui est impliquée dans la synthèse des acides gras. Cette enzyme catalyse la formation d'acides gras à partir de la CoA (coenzyme A) et d'acides gras¹⁶⁴.
 - **XYLB (Xylokinase)** code pour une enzyme appelée xylokinase, qui est impliquée dans le métabolisme énergétique¹⁶⁵.
 - **USP54 (Ubiquitin-Specific Peptidase 54)** code pour une protéase ubiquitine-spécifique, une enzyme qui régule la dégradation des protéines en retirant les marques d'ubiquitine.
- 10 variants présentent 5 scores en faveur d'une potentielle pathogénicité : CADD> 20, SIFT<0,05, PolyPhen>0,5, MetaLR>0,5 et VEST3>0,5 (Tableau 27).

Tableau 27: Variants présentant un score CADD >20 et au moins 1 autre score pathogène chez les membres de la famille B.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
FPGS	NM_004957.6	missense_variant	c.253C>T	p.(Arg85Trp)	27.5	deleterious(0.01)	probably_damaging(0.994)	0.63079	0.82538	0,53	48	90
GPATCH1	NM_018025.3	missense_variant	c.889G>T	p.(Asp297Tyr)	29.5	deleterious(0)	probably_damaging(0.979)	0.61752	0.73004	0,47	46	97
FZD10	NM_007197.3	missense_variant	c.1187G>T	p.(Gly396Val)	28.9	deleterious(0)	probably_damaging(0.967)	0.71855	0.97884	0,38	33	86
LDLRAD2	NM_001013693.3	missense_variant	c.568G>A	p.(Val190Met)	25.1	deleterious(0)	probably_damaging(0.957)	0.96494	0.53791	0,42	42	98
LOXL4	NM_032211.7	missense_variant	c.1763T>C	p.(Ile588Thr)	27.9	deleterious(0)	probably_damaging(0.999)	0.51432	0.94141	0,48	63	131
SLC6A15	NM_182767.6	missense_variant	c.1010T>C	p.(Val337Ala)	27.5	deleterious(0)	probably_damaging(0.983)	0.90061	0.84126	0,44	26	59
CSMD2	NM_001281956.1	missense_variant&splice_region_variant	c.2694G>C	p.(Glu898Asp)	23.3	deleterious(0.01)	probably_damaging(0.987)	0.51464	0.69498	0,39	17	43
RELL2	NM_173828.5	missense_variant	c.400C>T	p.(His134Tyr)	24.7	deleterious(0.03)	probably_damaging(0.979)	0.53343	0.85546	0,35	37	103
SCNN1D	NM_001130413.4	missense_variant	c.725C>A	p.(Ser242Tyr)	23.8	deleterious(0.01)	probably_damaging(1)	0.94039	0.78130	0,51	64	125
DTX2	NM_020892.2	missense_variant	c.508C>T	p.(Arg170Cys)	25.6	deleterious(0)	probably_damaging(0.993)	0.76945	0.95211	0,03	4	125

- **FPGS (Folypolyglutamate Synthase)** code pour une enzyme qui joue un rôle dans la catalyse de l'acide folique en formes actives impliquées dans la synthèse de bases nucléiques constituant l'ADN et l'ARN¹⁶⁶.
- **GPATCH1 (G-patch Domain-Containing Protein 1)** est impliqué dans l'épissage de l'ARN messenger¹⁶⁷.
- **FZD10 (Frizzled Class Receptor 10)** code pour un récepteur de la famille Frizzled qui est une famille de récepteurs de signalisation. *FZD10* est impliqué dans les voies de

signalisation Wnt/ β -caténine, jouant ainsi un rôle important dans le développement embryonnaire et la régulation de la croissance cellulaire¹⁶⁸.

- ***LDLRAD2 (Low-Density Lipoprotein Receptor Class A Domain-Containing Protein 2)*** code pour une protéine composant certaines membranes cellulaires¹⁶⁹.
- ***LOXL4 (Lysyl Oxidase-Like 4)*** code pour une enzyme impliquée dans la formation et la régulation de la matrice extracellulaire, notamment dans la formation de liaisons croisées entre les protéines de collagène¹⁷⁰.
- ***SLC6A15 (Solute Carrier Family 6 Member 15)*** code pour un transporteur membranaire qui est impliqué dans le transport des acides aminés neutres¹⁷¹
- ***CSMD2 (CUB and Sushi Multiple Domains 2)*** code pour une protéine impliqué dans le contrôle de la cascade du complément. Ce gène peut agir comme un suppresseur de tumeur dans le cancer colorectal¹⁷².
- ***RELL2 (Receptor-Expressed in Lymphoid Tissues-Like 2)*** code pour une protéine de la matrice extracellulaire. Elle induit l'apoptose et l'activation de la cascade MAPK14/p38, lorsqu'elle est surexprimée¹⁷³.
- ***SCNN1D (Sodium Channel Non-Voltage-Gated 1 Delta Subunit)*** code pour une sous-unité du canal sodium épithélial, qui est impliqué dans la régulation du transport ionique dans les cellules épithéliales¹⁷⁴
- ***DTX2 (Deltex E3 Ubiquitin Ligase 2)*** code pour une protéine qui agit comme une ligase d'ubiquitine et qui est impliquée dans la régulation de la dégradation des protéines cibles via le système ubiquitine-protéasome¹⁷⁵.

- 7 variants présentent au moins 2 scores en faveur d'une potentielle pathogénicité : score CADD>20 et/ou score SIFT<0,05 et PolyPhen > 0,5 ou inconnue (Tableau 28).

Tableau 28: Variants présentant un score SIFT ou un score PolyPhen en faveur d'une pathogénicité chez les membres de la famille B.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
ANKRD36C	NM_001310154.3	missense_variant	c.5566C>T	p.(Leu1856Phe)	22.7	deleterious(0.03)	possibly_damaging(0.773)	0.21223	0.25644	0,1497	22	147
OR2T2	NM_001004136.1	missense_variant	c.701G>A	p.(Gly234Asp)	18.48	deleterious(0)	probably_damaging(1)	0.00833	0.41431	0,36	28	76
PRR29	NM_001191029.2	missense_variant	c.668C>T	p.(Thr223Met)	17.66	deleterious_low_confidence(0)	probably_damaging(0.915)	0.45403	0.15302	0,41	37	90
USP17L22	NM_001256863.1	missense_variant	c.860C>T	p.(Thr287Ile)	17.44	deleterious(0)	possibly_damaging(0.579)	0.35778	0.05074	0,05	34	662
MUC12	NM_001164462.1	missense_variant	c.3407C>G	p.(Pro1136Arg)	9.354	deleterious(0.01)	unknown(0)	0.07611	0.05637	0,03	5	136
SPINT1	NM_181642.3	missense_variant	c.965C>T	p.(Pro322Leu)	8.896	deleterious_low_confidence(0.03)	unknown(0)	0.16806	0.06946	0,04	4	81
USP17L1	NM_001256873.1	missense_variant	c.1319T>A	p.(Leu440Gln)	2.716	deleterious(0.02)	probably_damaging(0.943)		0.20576	0,31	61	195

- **PRR29 (Proline-Rich 29)** contient une région riche en proline qui peut être associée à des interactions protéine-protéine¹⁷⁶.
- **USP17L22 (Ubiquitin Specific Peptidase 17 Like Family Member 22)** et **USP17L1 (Ubiquitin Specific Peptidase 17 Like Family Member 1)** codent pour une enzyme de la famille des protéases d'ubiquitine, qui sont impliquées dans la régulation de la dégradation des protéines cibles via le système ubiquitine-protéasome¹⁷⁷.
- **MUC12 (Mucin 12)** code pour une protéine de type mucine qui est impliquée dans la formation de la couche de mucus protectrice¹⁷⁸.
- **SPINT1 (Serine Peptidase Inhibitor, Kunitz Type 1)** code pour une protéine inhibitrice de la sérine peptidase de type Kunitz. Elle est impliquée dans la régulation de l'activité des sérine protéases, qui jouent un rôle dans la dégradation des protéines¹⁷⁹.

- 4 variants présentent des scores MetaLR >0,5 ou VEST3 > 0,5 associés à un score PolyPhen compris entre 0,44 et 0,5 et un score CADD > 20 (tableau 29).

Tableau 29 : Variants présentant des scores CADD et PolyPhen associés à des scores MetaLR ou VEST3 en faveur d'une possible pathogénicité chez les membres de la famille B.

Gène	Transcript	Variant	HGVs	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
CDCP1	NM_022842.5	missense_variant	c.877G>A	p.(Glu293Lys)	25.3	tolerated(0.13)	possibly_damaging(0.503)	0.54548	0.96299	0,45	40	88
PPP6R1	NM_014931.4	missense_variant	c.1106A>G	p.(Asn369Ser)	21.7	tolerated(0.12)	possibly_damaging(0.574)	0.62294	0.10746	0,47	35	74
KIF13A	NM_022113.6	missense_variant	c.3569A>C	p.(Gln1190Pro)	23.4	tolerated(0.07)	possibly_damaging(0.53)	0.36744	0.65566	0,43	16	37
ATG2A	NM_015104.3	missense_variant	c.3635G>A	p.(Arg1212His)	24.4	tolerated(0.32)	possibly_damaging(0.556)	0.08452	0.63236	0,36	24	65

- **CDCP1 (CUB Domain Containing Protein 1)** est un gène impliqué dans la régulation de la croissance, la migration cellulaire et dans le processus de métastase tumoral¹⁸⁰.
- **PPP6R1 (Protein Phosphatase 6 Regulatory Subunit 1)** code pour une sous-unité régulatrice de la protéine phosphatase 6 (PP6), qui est impliquée dans la régulation de la phosphorylation des protéines¹⁸¹.
- **KIF13A (Kinesin Family Member 13A)** est un gène qui code pour une protéine de la famille des kinésines, qui sont impliquées dans le transport intracellulaire¹⁸².
- **ATG2A (Autophagy Related 2A)** est un gène impliqué dans le processus de l'autophagie, qui est le mécanisme cellulaire de recyclage des composants cellulaires dégradés ou endommagés¹⁸³.

iii. Variants communs dans le groupe FNMTC non syndromique

Nous avons identifié 10 variants communs entre le groupe SMJT et la famille B.

Quatre variants faux-sens :

- **ANKRD36C** c.5566C>T p.(Leu1856Phe)
- **IGSF3** c.1345C>T p.(Arg449Cys)
- **ZNF83** c.878_879delinsTA p.(Glu293Val)
- **PRAM1** c.223_226delinsCAGT p.(Glu75_Val76delinsGlnPhe)

Trois variants de régions introniques :

- *PTPRS* c.578-47_578-45delinsCG
- *B4GALT7* c.640-41del
- *TTY14* n.368+52002C>T

Une délétion intergénique :

- *OTOF* c.3928_3930del p.(Lys1310del)

Deux variants de pseudogènes:

- *TEKT4P2* n.1523_1526delinsACCC
- *TBC1D3P2* n.541_547delinsCCACATC

Nous avons identifié 2 variants communs à l'ensemble des patients. Le variant faux-sens ***ANKRD36C* c.5566C>T p.(Leu1856Phe)** et le variant du pseudogène ***TEKT4P2* n.1523_1526delinsACCC**. Le variant du gène *ANKRD36C* (locus 2q11.1) présente un score SIFT à 0,03 en faveur d'une pathogénicité avérée, des scores CADD à 22,7 et PolyPhen à 0,0773 en faveur d'une possible pathogénicité et des scores MetaLR et VEST3 en faveur d'une non-pathogénicité. La délétion du pseudogène *TEKT4P2* ne présente pas de score de pathogénicité connu.

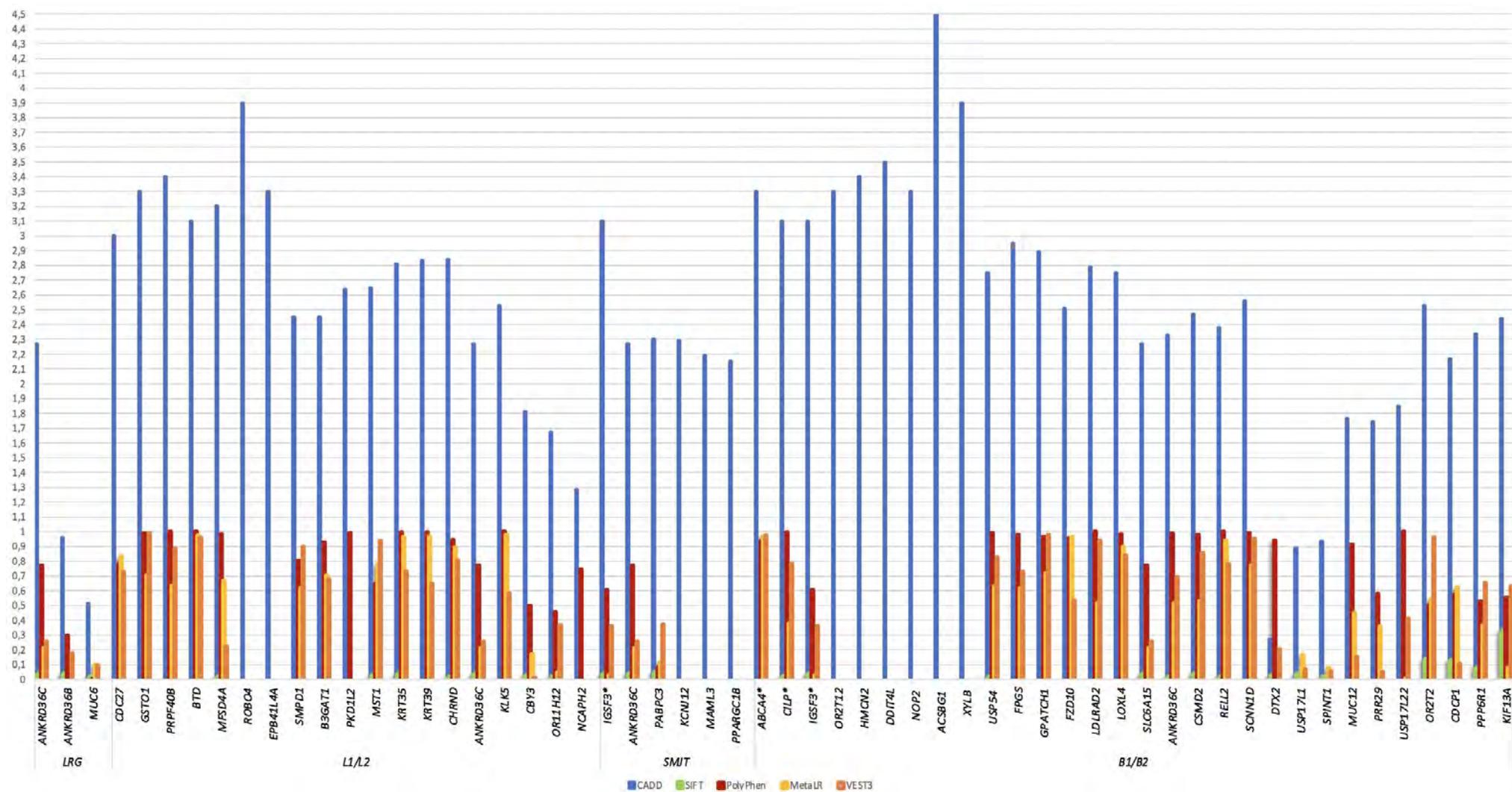


Figure 27: Graphique de synthèse des mutations identifiées comme potentiellement pathogènes chez les patients par méthode de filtrage WES (les variants ne présentant pas d'informations de scores ne sont pas représentés sur ce graphique ; les scores CADD ont été convertis au dixième)

4. Étude du gène FOXE1

Dans notre étude, nous avons séquençé par méthode Sanger deux régions du gène *FOXE1* (*ENST00000375123.5*) qui présentaient une mauvaise couverture en séquençage NGS ciblé. Les résultats obtenus pour l'ensemble des patients et des témoins sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Patient	Gène	SNP	HGVs	Variant	HGVp	CADD	MAF
L1	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (hétérozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
L1	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
L2	F2 FOXE1		Absence de variant				
L2	F3 FOXE1		Absence de variant				
B1	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (hétérozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
B1	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
B2	F2 FOXE1	rs1867279	c.-156T>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant		9,9	0,12
B2	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
S	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
S	F3 FOXE1	rs3021523 rs371516340	c.387T>C (homozygote) c.510C>A (hétérozygote)	synonymous_variant synonymous_variant	p.Leu129= p.Ala170=	12,57 5,5	0,12 0,07
M	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
M	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (homozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
T	F2 FOXE1	rs1867279	c.-156T>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant		9,9	0,12
T	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
J	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (hétérozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
J	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
L	F2 FOXE1	rs1867279	c.-156T>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant		9,9	0,12
L	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
R	F2 FOXE1	rs1867277 rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-283A>G (homozygote) c.-248C>A (homozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (homozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		9,3 10,73 9,9 8,8	0,31 0,31 0,12 0,31
R	F3 FOXE1		Non contributif				
G	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
G	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (homozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
TM (Témoins METABO)	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (hétérozygote) c.-156T>C (hétérozygote) c.-131G>C (hétérozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
TM	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (hétérozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
TP (Témoins PARA)	F2 FOXE1	rs1867279	c.-156T>C (homozygote)	5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
TP	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (homozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
TT1 (Témoins TUBO 1)	F2 FOXE1	rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-248C>A (homozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (homozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		10,73 9,9 8,8	0,31 0,12 0,31
TT1	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (homozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12
TT2 (Témoins TUBO 2)	F2 FOXE1	rs1867277 rs1867278 rs1867279 rs1867280	c.-283A>G (homozygote) c.-248C>A (homozygote) c.-156T>C (homozygote) c.-131G>C (homozygote)	5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant 5'prime_UTR_variant		9,3 10,73 9,9 8,8	0,31 0,31 0,12 0,31
TT2	F3 FOXE1	rs3021523	c.387T>C (homozygote)	synonymous_variant	p.Leu129=	12,57	0,12

Tableau 30: Résultats des SNP du gène FOXE1 identifiés chez les patients et les témoins en séquençage Sanger.

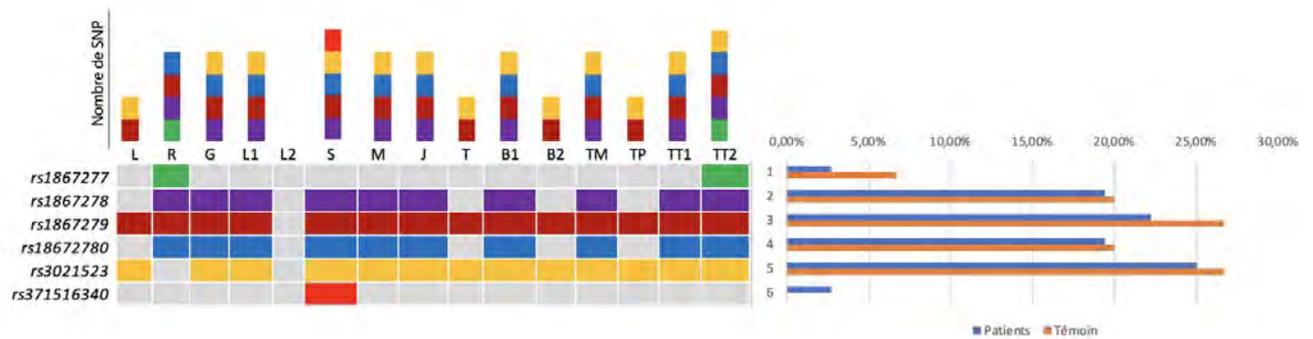


Figure 28: Synthèse des SNP du gène FOXE1 identifiés chez les patients et les témoins.

Le SNP *rs1867279* est le variant le plus fréquemment observé parmi les patients, présentant une prévalence de 25%. Toutefois, il est important de noter qu'aucune différence significative n'a été constatée par rapport à la population témoin, où ce SNP était présent à une prévalence de 26,7%. Cela s'applique également aux SNP *rs1867277*, *rs1867278*, *rs18672780* et *rs3021523* pour lesquels aucune différence significative de prévalence n'a été constatée entre les groupes patients et témoins. Le SNP *rs371516340* a été identifié chez un seul patient et il n'a pas été retrouvé au sein de la population témoin.

A noter également qu'aucune corrélation significative n'a été relevée entre le nombre de SNP présent par patient et la sévérité des manifestations cliniques.

VIII. Discussion

Les FNMTC représentent 5 à 10% des cancers thyroïdiens avec des cancers survenant à des âges de plus en plus précoces. L'objectif de ce travail de thèse était d'identifier des cibles génomiques permettant un diagnostic et un conseil génétique précoces aux familles ayant des contextes cliniques évocateurs d'une prédisposition aux cancers thyroïdiens. Dans ce but, nous avons génotypé par séquençage d'exome complet le génome de 11 patients présentant une histoire clinique et familiale hautement évocatrice d'une prédisposition au FNMTC.

Cette étude a révélé la présence de trois mutations du gène *DICER1* au niveau des exons 24 et 25 chez des familles présentant exclusivement des manifestations thyroïdiennes, ce qui diffère des descriptions faites dans la littérature où ces mutations étaient généralement associées à d'autres manifestations que des pathologies thyroïdiennes isolées. Au sein de la famille F3 comprenant trois membres diagnostiqués de PTC dont deux à un âge précoce, il n'a été relevé aucun antécédent de chimiothérapie ou de radiothérapie. Cela renforce l'argument en faveur de la contribution génétique germinale du gène *DICER1* dans le contexte de FNMTC non syndromique.

Dans cette étude, l'analyse en exome complet a permis d'identifier une prévalence de mutations sur trois gènes connus pour être associés au développement de pathologies thyroïdiennes : *IRS4*, *PLEKHG5* et *CHEK2*

IRS4 (Insulin receptor substrate 4) code pour un récepteur à l'insuline agissant comme une interface entre de multiples récepteurs de croissance comme IGF1R (insulin like growth factor 1 receptor) et FGFR1 (fibroblast growth factor receptor 1)¹⁸⁴. Des mutations dans le gène *IRS4* sont associées à une hypothyroïdie congénitale isolée chez les porteurs masculins¹⁸⁵. Nous avons identifié deux mutations du gène *IRS4* dans notre cohorte de patients *IRS4* c.1802A>T p.(Asp601Val) présentant un score SIFT en faveur d'une pathogénicité chez B2 et *IRS4* c.60_63delinsAGCA p.(AlaAla20=) présentant un score CADD>20 en faveur d'une potentielle pathogénicité chez L1, L2, M, T, B1 et B2. Nous n'avons pas observé d'association significative entre le profil clinico-biologique et le profil mutationnel de ces patients qui pour la plupart sont des femmes (4 femmes vs 2 hommes) présentant une euthyroïdie au diagnostic du

carcinome thyroïdien. Néanmoins, une étude a révélé une augmentation de l'expression *IRS4* dans les cellules cancéreuses de 26 types de tumeurs. Elle résulterait de modifications au niveau de la région régulatrice du gène, d'altérations du nombre de copies ou d'une augmentation d'anomalies chromosomiques¹⁸⁶. *IRS4* jouerait ainsi un rôle crucial en activant des oncogènes tels que BRK (breast receptor kinase) et FER (FER binding domain) qui régulent la cascade PI3K/Akt, ainsi que l'oncogène CRKL (CRK Like Proto-oncogène), une protéine adaptatrice qui régule la cascade Ras/MAPK¹⁸⁷. Bien que le rôle oncogène de *IRS4* par l'activation de ces deux voies de signalisation n'ait pas encore été formellement établi dans les FNMTTC, son implication potentielle est envisageable en raison du rôle reconnu de ces deux voies dans la carcinogenèse thyroïdienne. De plus, une interaction dysfonctionnelle entre les récepteurs à l'insuline (IR) et IGF1R a été étudiée dans les cancers de la thyroïde montrant une suractivation du système IR/IGF, favorisant la prolifération tumorale¹⁸⁸. Cette étude suggère une nouvelle possibilité pour comprendre les mécanismes de prédisposition au FNMTTC chez les patients porteurs d'une mutation germinale du gène *IRS4*.

PLEKHG5 (Pleckstrin Homology and RhoGEF Domain Containing G5) code pour une protéine activant la voie de signalisation du NF- κ B (nuclear factor κ B)¹⁸⁹. Nous avons identifié des mutations de ce gène chez 7 patients. La mutation *PLEKHG5* c.2328T>A p.(Ser776Arg) identifié comme délétère par les 5 scores de pathogénicité chez le patient M. Les mutations *PLEKHG5* c.364_366del p.Glu122del identifiées chez quatre patients (L1, S, J, B2) et *PLEKHG5* c.192del p.(Leu66SerfsTer71) chez le patient S correspondent à des délétions et sont donc potentiellement délétères. Les mutations du gène *PLEKHG5* ont été décrites dans des cas de FNMTTC non syndromiques dans trois familles brésiliennes avec PTC héréditaire¹⁹⁰. Très peu de recherches ont mis en évidence des altérations de ce gène dans le cancer de la thyroïde. Dans notre étude, des variants de ce gène ont été identifiés chez des patients présentant aussi une prédisposition pour les FNMTTC syndromiques notamment un membre de la famille L. Ceci suggère qu'une association exclusive de variants de ce gène à une forme non syndromique peut être remise en question.

CHEK2 (Checkpoint kinase 2) possédant une activité de suppresseur tumoral est situé sur le chromosome 22. Ce gène code pour une protéine kinase, CHK2, qui intervient dans la réparation de l'ADN endommagé. Nous avons identifié une prévalence de mutations de ce

gène chez l'ensemble des patients. La majorité des mutations sont dans des régions non codantes ou des mutations synonymes. Nous avons identifié 2 mutations faux-sens dont une considérée comme délétère *CHEK2* c.1556C>T p.(Thr519Met) chez le patient T prédisposé au FNMTC non syndromique. Les mutations germinales de ce gène dans les FNMTC ont été rapportées dans plusieurs études. Zhao et al. ont montré qu'une mutation hétérozygote germinale *CHEK2* p.(Tyr139Ter) entraînait une forte diminution de l'ARNm mutant chez des patients issus d'une famille atteinte de PTC, ce qui indique que la voie NMD pourrait être activée, et que certains mutants de *CHEK2* pourraient contribuer à la tumorigenèse via le mécanisme d'haploinsuffisance en raison de faibles niveaux de protéine CHK2¹⁹¹. La mutation identifiée pourrait potentiellement conduire à une réduction de l'expression de la protéine CHK2. Il est crucial d'approfondir nos recherches pour examiner de près le profil d'expression de cette mutation.

Dans cette étude, nous avons également mis en œuvre une approche par filtrage de séquençage d'exome complet pour identifier des mutations non connues pouvant prédisposer au FNMTC. Cette analyse a permis d'identifier deux variants communs chez tous les patients. L'un de ces variants, *ANKRD36C* c.5566C>T p.(Leu1856Phe) présente des scores en faveur d'une pathogénicité.

Le gène *ANKRD36C* localisé sur le chromosome 2 appartient à la famille *ANKRD36* (Ankyrin repeat domain 36), comprenant deux autres gènes paralogues *ANKRD36A* et *ANKRD36B*.¹⁹² Les protéines codées par cette famille de gènes se caractérisent par la répétition de domaines ANK (ankyrine). Chaque domaine ANK est formé de 33 acides aminés formant deux hélices α séparées par des boucles. Ils ont été découverts pour la première fois dans des protéines de signalisation de la voie Notch dans la levure Cdc10 et *Drosophila*¹⁹³. Les domaines de répétition ANK sont impliqués dans les interactions protéine-protéine. La protéine *ANKRD36* participe à diverses fonctions en tant qu'initiateur transcriptionnel, régulateur du cycle cellulaire, du cytosquelette, des transporteurs ioniques et transducteurs de signaux. Une variation naturelle de plusieurs protéines d'ankyrine affecterait la spécificité des interactions protéiques. La fonction exacte des gènes de la famille *ANKRD36* n'est pas encore complètement élucidée à ce jour, mais ils pourraient être impliqués dans des mécanismes

inflammatoires car les patients atteints de diabète de type 2 possèdent des taux d'ARN plasmatiques *ANKRD36* circulants plus élevés que la population témoin¹⁹⁴.

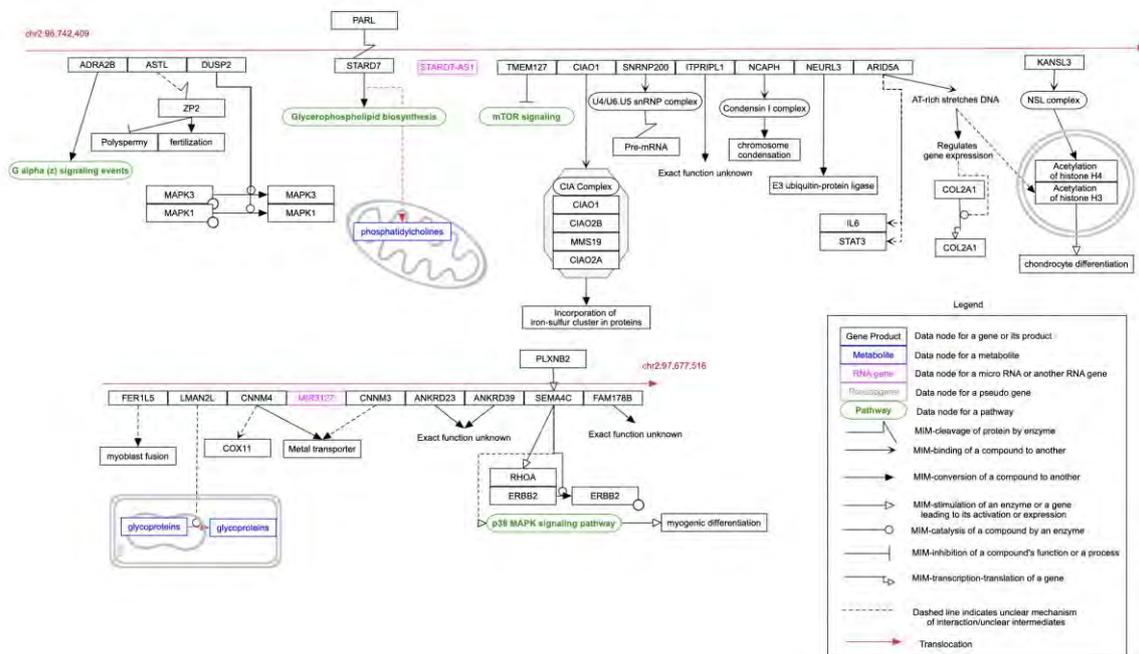


Figure 29: Réseau d'interaction biologique du chromosome 2 locus 2q11.¹⁹⁵

Il a été rapporté que *ANKRD36* est coexprimé et interagit avec d'autres gènes sur le locus 2q11, y compris *ANKRD36C*, *ITPRIPL1*, *FAHD2B*, *FAM178B* et *CNNM4*, supposant l'implication de *ANKRD36* dans certains réseaux biologiques importants. Son rôle dans la cancérogenèse a été décrit dans les Leucémies myéloïdes chronique¹⁹⁶ où des mutations *ANKRD36* c.1183_1184 delGC et c.1187_1188 dupTT ont été confirmées par séquençage Sanger chez 123 patients (87,2% des patients). Une étude analysant le rôle antitumoral du miR-144-5p dans le carcinome à cellules rénales (RCC) a montré que le gène *ANKRD36* est ciblé par miR-182, un miARN exprimé aux premiers stades de la cancérogenèse¹⁹⁷. Une étude de séquençage WES sur 13 patients chinois, a identifié une mutation faux-sens du gène *ANKRD36C* au niveau de l'exon 18 en position c.13631C>G comme marqueur de prédisposition dans les cancers de la cavité buccale¹⁹⁸. Dans une étude des profils protéomiques et phosphoprotéomiques de sous-types d'adénocarcinome de la jonction œsophago-gastrique, le gène *ANKRD36C* a montré une cooccurrence significative avec le gène *CSMD1* dans les sous-types tumoraux avec implication des voies oncogéniques RTK-RAS (29/40), TP53 (29/40), Hippo (27/40), Wnt (23/40) et Notch (22/40)¹⁹⁹.

L'expression et le rôle précis de la protéine ANKRD36C dans la thyroïde demeurent actuellement mal compris. Cependant, des données montrent que des niveaux d'ARNm dans la glande thyroïde sont mesurés à 1,4 nTPM dans 653 échantillons²⁰⁰ (figure 30). Par conséquent, il n'est pas exclu qu'une dysrégulation de ce gène puisse être un facteur prédisposant de cancer de la thyroïde. Il est essentiel de poursuivre la recherche afin d'approfondir notre compréhension de l'expression et des mécanismes protéiques de ANKRD36C dans la physiologie thyroïdienne.

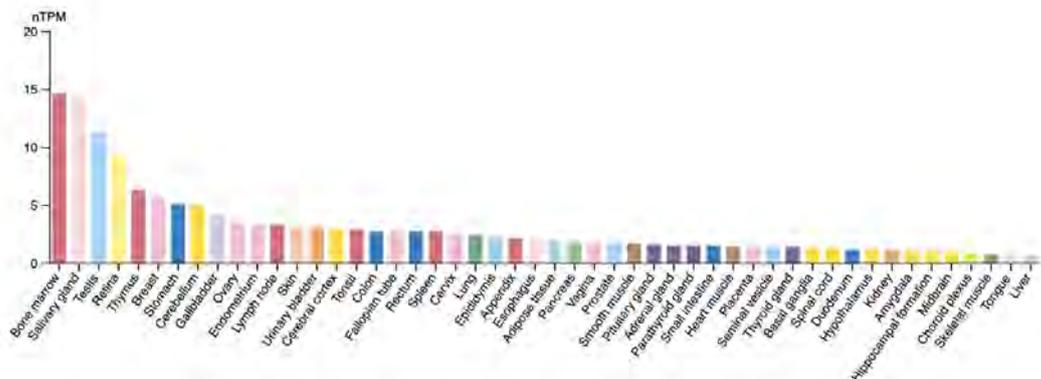


Figure 30: Spécificité tissulaire de l'ARN ANKRD36C (Ensemble de données Consensus dataset)²⁰⁰

Cette étude a également mis en évidence une délétion commune du pseudo-gène *TEKTP2 n.1523_1526delinsACCC*. Un pseudo-gène est un segment d'ADN qui a perdu sa capacité à produire une protéine ou à jouer un rôle biologique actif. Bien que les pseudo-gènes soient généralement considérés comme non fonctionnel, il est important de reconnaître que ces segments d'ADN peuvent parfois jouer un rôle délétère en interférant avec la régulation de gènes voisins ou être impliqués dans des recombinaisons génétiques indésirables. Une étude visant à examiner les caractéristiques génétiques des tumeurs du sein chez 11 patientes porteuses d'une mutation germinale du gène *ATM*, en comparaison avec les tumeurs sporadiques, a mis en évidence que certaines pertes de copies dont celle du locus 21p11.2-p11.1 (*TPTE*, *TEKT4P2*, *MIR3648-1*, *MIR3648-2*, *MIR3687-1*, *MIR3687-2*) étaient spécifiques aux tumeurs associées à l'*ATM*, ce qui suggère un lien entre ces altérations et la mutation de *ATM*²⁰¹. Notre étude s'est principalement axée sur le séquençage du génome des patients plutôt que sur l'analyse phénotypique du tissu tumoral. Cependant, il demeure une hypothèse plausible selon laquelle la délétion *TEKTP2 n.1523_1526delinsACCC* présente chez tous les patients examinés, la plupart d'entre eux présentant simultanément des mutations dans des gènes associés aux pathologies thyroïdiennes tels que *ATM* et *CHEK2*, puisse avoir un effet

délétère en synergie avec d'autres altérations génétiques. La perte de copies du pseudo-gène *TEKT4P2* pourrait potentiellement engendrer des ramifications sur les régions génomiques avoisinantes participant ainsi activement à l'évolution de la maladie. En d'autres termes, il est envisageable qu'un réseau complexe de mutations héritées puisse prédisposer au développement de carcinomes thyroïdiens.

Nous avons identifié une délétion sur le gène *TEKT4* c.1209_1213delinsTGTTA p.(Ile404_Ala405delinsValThr) localisé sur le chromosome 2, sans information de scores de pathogénicité connue pour cette mutation. *TEKT4* est un gène de la famille TEKT (tektin) codant pour les téktines, des protéines constitutives des microtubules dans les cils, les flagelles, les corps basaux et le centriole²⁰², participant au développement de la structure anatomique du cytosquelette et à la motilité cellulaire.¹³¹

Une expression intracellulaire moyenne (2/4) de la protéine tektin4 a été détectée dans les cas de cancer de la thyroïde (figure 28).

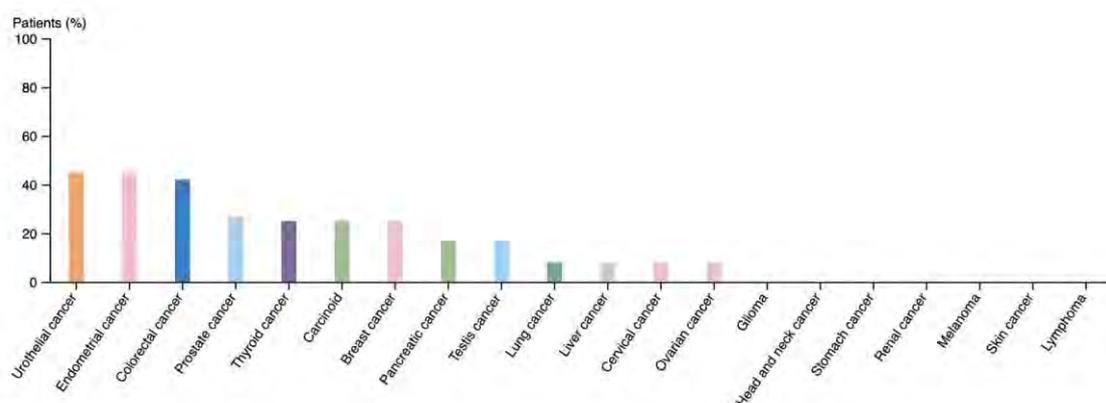


Figure 31: Expression de la protéine tektin4 dans différents types de cancers²⁰³.

La suppression de *TEKT4* réduit de manière significative la phosphorylation d'AKT dans les lignées cellulaires de PTC, ainsi sa régulation à la baisse inhibe la tumorigenèse thyroïdienne par blocage de la voie de signalisation PI3K/AKT. Ce rôle oncogène de *TEKT4* a été décrit dans trois cas de PTC où une délétion c.1276_1279delinsACCC p.(Pro426_Thr427delinsThrPro) a été observée.²⁰⁴ Des mutations germinales au niveau du *TEKT4* sont associées à une mauvaise réponse aux traitements par paclitaxel dans le cancer du sein²⁰⁵ et la perte d'expression de la tektin4 est aussi un marqueur de mauvais pronostic. En effet, la perte de tektin4 entraîne une

augmentation marquée de la migration, de l'invasion et de la métastase du cancer du sein triple négatif et une diminution de la stabilité des microtubules²⁰⁶. Cette étude souligne la fonction de suppresseur de tumeur du gène *TEKT4*. Il est clair que ce gène joue un rôle significatif dans le processus tumoral et notre étude fournit des preuves supplémentaires de l'implication de ce gène dans la tumorigenèse thyroïdienne, en particulier dans des cas de FNMTc syndromique. A noter également que *TEKT4* interagit avec diverses protéines intracellulaires et notamment *ATG5* et *KRT35*.²⁰⁷

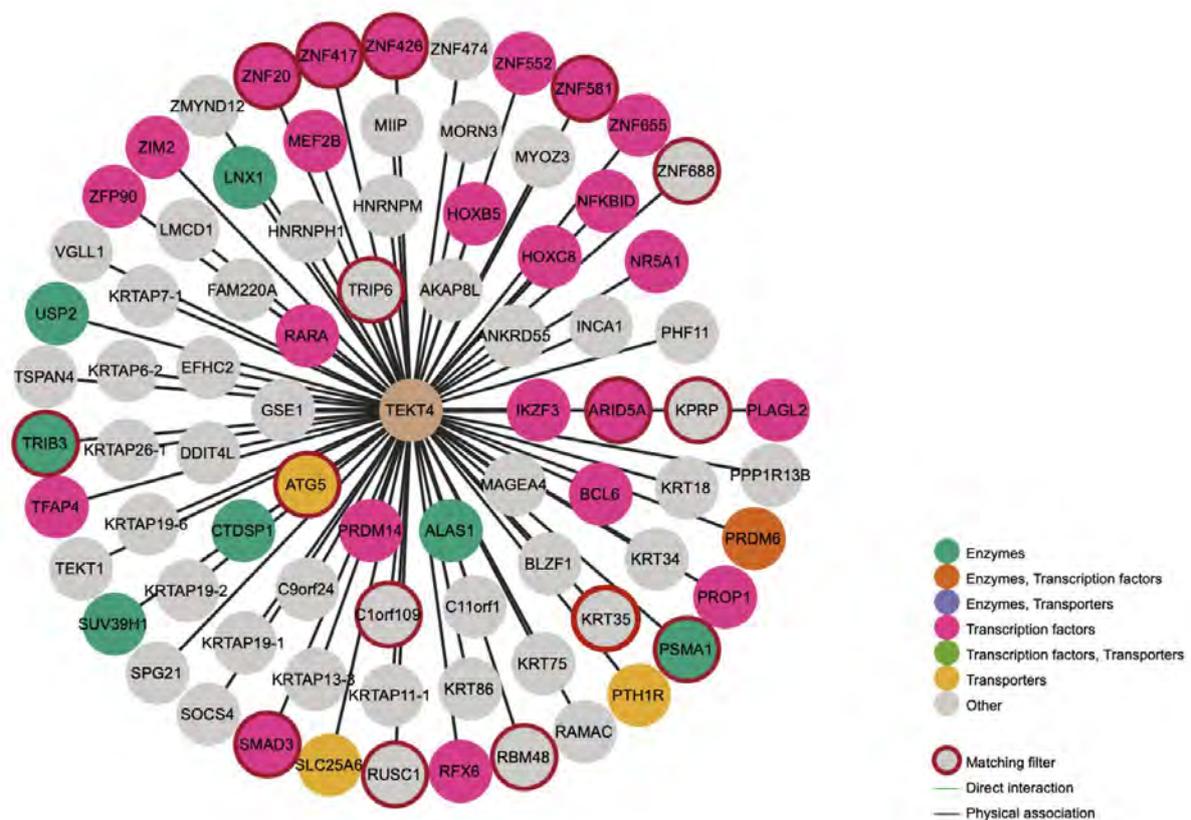


Figure 32: Réseau d'interaction protéique de la tektin4 (*TEKT4*)²⁰⁸.

Nous avons également identifié une mutation faux-sens du gène *KRT35* délétère chez les membres de la famille L et impliqué dans les processus en association avec la mutation *TEKT4* c.1209_1213delinsTGTTA. Il est envisageable qu'une combinaison de mutations faux-sens, caractérisées par des degrés de pénétrance variables, puisse perturber des voies d'interactions protéiques créant ainsi un environnement propice au développement de carcinomes thyroïdiens. Cependant, il demeure crucial de poursuivre les investigations concernant le rôle et l'expression protéique de *TEKT4* dans les FNMTc, car elle pourrait se révéler comme un marqueur pronostic de grande importance.

Nous avons également identifié une mutation faux-sens *IGSF3* c.1345C>T p.(Arg449Cys) dans le groupe de patients prédisposé au FNMTc non syndromique. Le gène *IGSF3* code pour la protéine Immunoglobulin superfamily member 3, une protéine membranaire de type immunoglobuline. Des mutations ou réarrangements chromosomiques sur le gène *IGSF3* entraînent une perte de fonction de la protéine IGSF3. Cette perte de fonction peut augmenter la susceptibilité aux lésions cellulaires par altération des voies métaboliques des sphingolipides et par altération de la fonction de barrière associée à cette protéine. Elle peut également créer un état inflammatoire en influençant la survie des lymphocytes²⁰⁹. De plus, une perte de fonction de la protéine IGSF3 entraîne une stimulation aberrante de la voie NF- κ B. La signalisation NF- κ B joue un rôle vital dans de nombreux processus biologiques, y compris la réponse immunitaire, la différenciation, la survie cellulaire, la prolifération et la migration. La voie de signalisation NF- κ B régule la transcription de gènes impliqués dans la réponse immune et l'inflammation. L'activation chronique de cette voie est fréquemment retrouvée associée à des désordres inflammatoires et des cancers. Notamment dans le carcinome basocellulaire où l'IGSF3 agit en tant que promoteur de la croissance tumorale, favorisant l'invasion des cellules cancéreuses²¹⁰.

MUC6 (mucine6) fait partie des mucines, une famille de glycoprotéines exprimées dans les cellules épithéliales. MUC6 est connue comme étant une mucine de type gastrique sécrétant des gels à la surface épithéliale et servant d'interface avec l'air, les enzymes, le pH acide, les bactéries et les virus²¹¹. Elle peut également entrer en contact avec la surface cellulaire par des interactions avec des mucines associées à la membrane ou d'autres molécules de surface cellulaire. Les altérations de l'expression des mucines participent au développement de cellules carcinomateuses et influencent la croissance, la différenciation, la transformation, l'adhésion, l'invasion et la réponse immunitaire²¹². Dans le cancer du sein, l'expression de MUC6 est associée à une agressivité carcinomateuse plus importante, une invasion lymphatique, des métastases ganglionnaires et une positivité HER2²¹³. Les cellules cancéreuses peuvent utiliser MUC6 de la même manière qu'un épithélium normal, pour se protéger et pour contrôler le microenvironnement moléculaire local pendant l'invasion et les métastases²¹¹. Dans une analyse de l'expression immunohistochimique des mucines dans les PTC, aucun cas n'a montré de présence de MUC6. Dans une autre étude, l'expression de

MUC6 a été observée dans moins de 1% des cas de carcinomes thyroïdiens, ce qui suggère que son rôle potentiel dans le processus tumoral et le développement de métastases est peu probable²¹⁴.

Il est important de souligner que nous avons également identifié un grand nombre de mutations supplémentaires considérées comme pathogènes par filtrage WES chez les membres de la famille L et B. Pour rappel, les membres de la famille L présentent une prédisposition accrue pour des cancers du sein et des cancers de la thyroïde. Chez les membres de la famille L, nous avons identifié trois mutations faux sens des gènes *CDC27* c.1913C>A p.(Pro638His), *PKD1L2* c.2282_2283delinsA p.(Thr761Lys) et *ROBO4* c.2965A>T p.(Arg989Ter) qui pourraient expliquer cette association.

CDC27 est une sous-unité du complexe APC/C impliquée dans la régulation du cycle cellulaire en contrôlant la dégradation des protéines. *CDC27* peut jouer soit comme un gène suppresseur de tumeur, soit comme un proto-oncogène et des altérations de sa transcription ont été décrites dans des tumeurs malignes solides et hématologiques²¹⁵. Il a été suggéré que certaines variations génétiques dans la lignée germinale de *CDC27* pourraient accroître la prédisposition au cancer du sein, notamment chez les individus homozygotes ou hétérozygotes pour le rs11570443, ainsi que les individus homozygotes pour rs12601027 qui présentent un risque accru de cancer²¹⁶. Des mutations de ce gène ont aussi été décrites dans des cas de FTC où il agirait comme un gène suppresseur de tumeur, interagissant fonctionnellement avec les protéines du point de contrôle de la division cellulaire²¹⁷.

PKD1L2 code un membre de la famille des protéines polycystines ou canaux cationiques. Parmi ses voies connexes figurent la voie MAPK/ERK. La désactivation du complexe de la polycystine entraîne une diminution des niveaux intracellulaires de calcium, ce qui provoque une augmentation de la signalisation AMPc, induisant la prolifération cellulaire médiée par MAPK/ERK²¹⁸. La dysrégulation de cette voie de signalisation est connue pour jouer un rôle essentiel dans la prolifération et la différenciation des cellules cancéreuses dans les PTC²¹⁹.

ROBO4 est un récepteur spécifique aux cellules endothéliales qui participe à la migration, à la prolifération des cellules endothéliales, à l'angiogenèse et au maintien de l'homéostasie vasculaire. Des contextes expérimentaux *in vitro* ont montré qu'une surexpression de *ROBO4* pouvait influencer la voie de signalisation PI3K/AKT, par liaison compétitive de Slit2¹³⁸. *ROBO4* participerait aux mécanismes d'expansion vasculaire des cellules tumorales de carcinome thyroïdien, pouvant ainsi servir de gènes cibles de l'irathérapie²²⁰.

Les membres de la famille B présentent une prédisposition pour les cancers de la thyroïde uniquement et nous avons identifié les variants *FZD10* c.1187G>T p.(Gly396Val) et *DTX2* c.508C>T p.(Arg170Cys) comme potentiellement associés à cette prédisposition.

FZD10 (frizzled10) code pour un récepteur couplé aux protéines G, impliqué dans les voies de signalisation cellulaires Wnt. L'activation de la voie Wnt par la régulation à la hausse des récepteurs frizzled est observée dans de nombreux types de cancers, contribuant ainsi à la progression et à l'agressivité tumorale²²¹. Une étude ayant pour objectifs de cibler ces récepteurs dans les sarcomes synoviaux réfractaires en utilisant des anticorps radiomarqués Anti-FZD10-DTPA-90Y a démontré des résultats prometteurs sur l'évolution de la maladie²²².

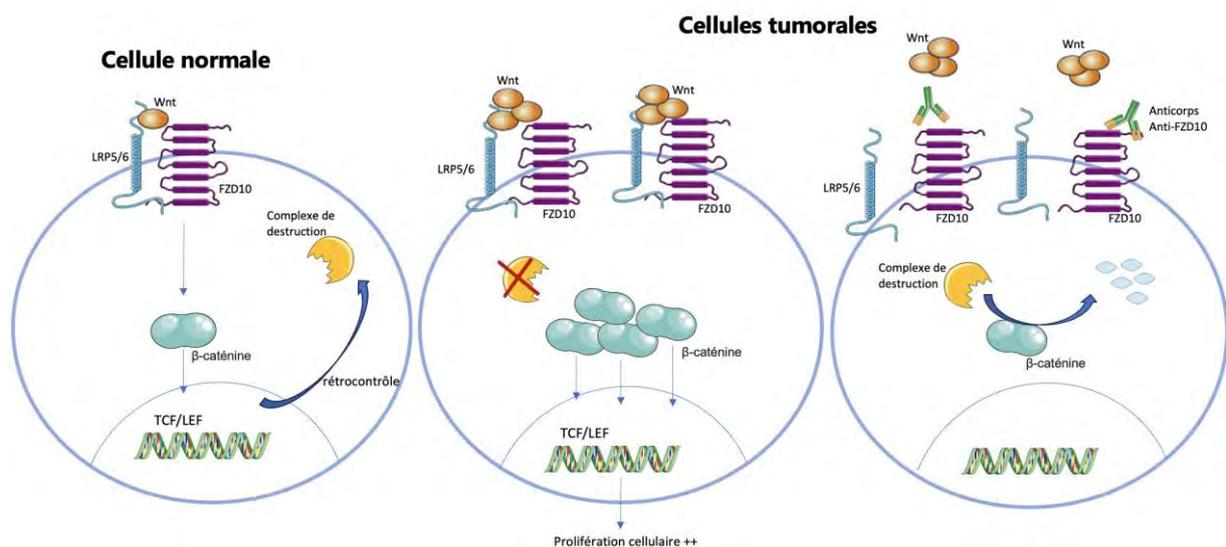


Figure 33: Modèle proposée de l'activation de la voie Wnt dans le processus tumoral, une surexpression des récepteurs *FZD10* peut entraîner une suractivation de la voie Wnt²²³

Dans la voie Wnt/ β -caténine, l'activité dépend de la quantité de β -caténine, un cofacteur de transcription. En l'absence de stimulation par Wnt, la β -caténine est constamment ciblée pour une dégradation protéasomique par un complexe de destruction. Lorsque les récepteurs FZD et les corécepteurs LRP 5/6 sont activés par des ligands Wnt, le complexe de destruction est

inhibé, permettant à la β -caténine de s'accumuler. La β -caténine migre ensuite dans le noyau, où elle active l'expression des gènes cibles via les facteurs de transcription TCF/LEF. Dans les cellules tumorales cette voie de signalisation est surexprimée provoquant une surexpression de la β -caténine et une prolifération cellulaire accrue. De plus dans les cellules tumorales le complexe de destruction de la β -caténine est réprimé favorisant l'expansion tumorale. Les anticorps Anti-FZD10 bloque la fixation de Wnt au récepteur FZD10 bloquant l'activation de la β -caténine.

DTX2 est un régulateur de la voie de la voie de signalisation NOTCH via l'activité de l'ubiquitine ligase.²²⁴ Les protéines DTX interagissent avec le récepteur Notch à travers les domaines WWE conservés et les répétitions d'ankyrine²²⁵. Une étude récente a mis en avant des preuves que NOTCH1 et DTX2 interagissent pour inhiber la signalisation Wnt par inhibition de la β -caténine cytoplasmique²²⁶. Récemment, des études ont mis en évidence le rôle de DTX2 dans le processus tumoral. Une surexpression de ce gène a été identifié dans 43 cas de formes agressives de PTC²²⁷. De plus, une autre étude menée sur des cellules cancéreuses du côlon a révélé que DTX2 favorise la migration et l'invasion, en activant NOTCH2 et AKT²²⁸. Une corrélation négative entre l'expression de DTX2 et la survie a également été observée dans le glioblastome multiforme où il a été montré que la perte d'expression de DTX2 dans les lignées cellulaires de gliome inhibait leur croissance et leur capacité de migration²²⁹.

Enfin, l'étude du gène *FOXE1* par séquençage Sanger n'a pas été conclusive. Les variants 5'UTR à pénétrance élevées *rs1867277*, *rs1867278*, *rs1867279* ont été identifiés à la fois chez les témoins et les patients sans différence significative. De même pour le variant synonyme *rs3021523*. Nous avons toutefois, identifié un SNP supplémentaire actuellement non décrit dans la littérature. D'après notre analyse, nous ne pouvons pas confirmer avec certitude que les SNP du gène *FOXE1* joue un rôle prédisposant dans les FNMTC.

Cette étude a permis d'identifier des gènes cibles impliquant un grand nombre de voies de signalisation et pouvant jouer un rôle dans la prédisposition aux carcinomes non médullaires de la thyroïde d'origine familiale. Cependant, il est évident que la prédisposition au FNMTC est complexe et ne résulte probablement pas d'une seule mutation pathogène, mais plutôt de l'implication d'un grand nombre de variants génétiques agissant au sein d'un réseau. L'étude

présente néanmoins quelques limites. Tout d'abord, la majorité des patients qui ont été génotypés par séquençage WES sont des cas index. Il aurait été plus intéressant de faire une étude de coségrégation avec l'exploration de familles élargies pour apporter plus de poids à l'étude. Cependant, il est essentiel de noter que cette limitation découle également des défis de l'étude génétique, notamment la collecte du consentement et la justification d'une étude génétique auprès de patients le plus souvent asymptomatiques. Une deuxième limite concerne la sensibilité du séquençage de l'exome par rapport au NGS ciblé. Le fait de séquencer une grande partie de l'ADN peut entraîner une perte de sensibilité. Nous avons fixé un seuil de 30 pour la profondeur de lecture en extrapolant à partir de la technique de séquençage ciblé par NGS, mais il est envisageable que dans le contexte du séquençage WES, un seuil plus élevé soit nécessaire. De plus la majorité des variants que nous avons identifiés présentent des profondeurs alléliques parfois faibles ne permettant de savoir avec exactitude s'ils correspondent à des variants homozygotes ou hétérozygotes ce qui est crucial pour poser un diagnostic de certitude quant à la pathogénicité du variant dans le contexte de FNMTC. Il est donc impératif de valider l'ensemble de ces variants par séquençage ciblé et de mener des tests fonctionnels approfondis afin de confirmer leur pathogénicité dans le cadre du FNMTC.

Pour conclure, ce travail de thèse a permis d'identifier des cibles génomiques de prédisposition au cancer thyroïdien non syndromique et syndromique d'origine familiale par des techniques de séquençage haut débit. Le séquençage ciblé en NGS a permis d'identifier de nouveaux variants du gène *DICER1* au niveau des exons 24 et 25 prédisposant à des formes non syndromiques de FNMTC. Le séquençage WES a permis d'une part de confirmer l'association du FNMTC à des gènes décrits dans la littérature comme les gènes *CHEK2* et *PLEKHG5*, et d'autre part d'associer le risque de FNMTC à des gènes de prédisposition identifiés au sein de notre cohorte de patients tels que les gènes *IRS4*, *ANKRD36C*, *TEKT4*, *IGSF3*, *CDC27*, *ROBO4*, *FZD10* et *DTX2*.

le 09/10/2023
Vu et permis d'imprimer
Le Président de l'Université Toulouse III – Paul Sabatier
Faculté de Santé
Par délégation,
La Doyenne-Directrice
Du Département de Médecine, Maïeutique, Paramédical
Professeure Odile RAUZY

Toulouse, le 4 octobre 2023

Service de Biochimie - Pr T. LEVADE
Institut Fédératif de Biologie
330 av. de Grande-Bretagne - TSA 40031
31059 TOULOUSE cedex 9

Bibliographies

1. Le cancer en chiffres (France et monde) | Fondation ARC pour la recherche sur le cancer.
2. Données globales d'épidémiologie des cancers - Épidémiologie des cancers.
3. Gomes, I. F. Molecular characterization of new candidates genes for familial thyroid cancer (2016)
4. Chevillot, A Une femme sur trois et un homme sur deux touchés par le cancer au cours de leur vie - Heidi News. (2021)
5. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646–674 (2011).
6. Lemaire, J., Larrue, R., Perrais, M., Cauffiez, C. & Pottier, N. Aspects fondamentaux du développement tumoral. *Bull. Cancer (Paris)* **107**, 1148–1160 (2020).
7. Alaoui-Jamali, M. & Sankar Mitra, S. Les mécanismes de réparation de l'ADN : des cibles potentielles en pharmacologie du cancer. *médecine/sciences* **12**, 766 (1996).
8. Monier, R. Aspects fondamentaux : mécanismes de cancérogenèse et relation dose–effet. *Comptes Rendus Académie Sci. - Ser. III - Sci. Vie* **323**, 603–610 (2000).
9. Ibarrondo, F et Camus, G. Cancers et gènes suppresseurs de tumeur. *Planet-Vie* (2008)
10. Présentation de la thyroïde - Troubles hormonaux et métaboliques. *Manuels MSD pour le grand public*
11. Thyroïde. *v.l.c. research - OPHYS* (2023).
12. Cours - GLANDE-THYROÏDE.pdf.
13. InfoCancer - ARCAGY - GINECO - Localisations - Autres cancers - Cancer de la thyroïde - Maladie - La thyroïde.
14. Larcher C. Exploration de la fonction thyroïdienne.pdf.
15. Lacotte, P. Synthèse et évaluation d'inhibiteurs du transport de l'iode dans la thyroïde.
16. Cancer de la thyroïde -Chapitre_45. INSERM.
17. Dosages thyroïdiens pour le Clinicien et le Biologiste Santor.pdf.
18. Yumpu.com. Pathologies thyroïdiennes - E-monsite. *yumpu.com*
19. Thyroid. Source Globocan 2020 International Agency for Research of Cancer.
20. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Thyroïde. *Santé Publique France*
21. Cancer de la thyroïde | La Ligue Nationale Contre le Cancer.
22. Cancer de la thyroïde et facteurs de risque • Cancer Environnement. *Cancer Environnement*
23. Masson, E. Cancer de la thyroïde après exposition aux rayonnements ionisants. *EM-Consulte*.
24. Cancers de la thyroïde : comment est établi le diagnostic ? - Cancer de la thyroïde. *Institut National du Cancer*
25. LE RÔLE DE LA CYTOLOGIE DANS LA PRISE EN CHARGE DES NODULES THYROÏDIENS | Louvain Médical.
26. Gustave Roussy Livret cancer médullaire thyroïde. Cancer Campus Grand Paris (2020)
27. Commission de la transparence RETSEVMO HAS (2021)
28. Lee, S. Traitements du cancer médullaire de la thyroïde. *Société canadienne du cancer*
29. Lee, S. Statistiques de survie pour le cancer de la thyroïde. *Société canadienne du cancer*

30. Chevalier, N. Item 241 - Cancers thyroïdiens. *Société Française d'Endocrinologie*
31. Cancers de la thyroïde : les points clés - Cancer de la thyroïde. Institut National du Cancer
32. Krahenbuhl, T., Anchisi, S. & Portmann, L. Cancers différenciés de la thyroïde : prise en charge et place des nouvelles thérapies ciblées. *Rev Med Suisse* **342**, 1112–1117 (2012).
33. Schlumberger, M. Cancer papillaire et folliculaire de la thyroïde. *Ann. Endocrinol.* **68**, 120–128 (2007).
34. Nikiforov, Y. E. & Nikiforova, M. N. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat. Rev. Endocrinol.* **7**, 569–580 (2011).
35. Buffet et Groussin - 2015 - Les grands acteurs de la tumorigenèse thyroïdienne.pdf.
36. Buffet Camille. Anomalies moléculaires de la voie MAPK et cancer papillaire de la thyroïde. Université Paris Descartes. (2014).
37. Thérapies ciblées - Les voies de transduction - InfoCancer (2023)
38. Xing, M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr. Relat. Cancer* **12**, 245–262 (2005).
39. Yang, J. *et al.* Association between TERT promoter mutations and clinical behaviors in differentiated thyroid carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine* **67**, 44–57 (2020).
40. Buffet, C. & Groussin, L. Les grands acteurs de la tumorigenèse thyroïdienne et leurs conséquences en pratique. **74**, (2015).
41. Xing, M. *et al.* BRAF V600E and TERT Promoter Mutations Cooperatively Identify the Most Aggressive Papillary Thyroid Cancer With Highest Recurrence. *J. Clin. Oncol.* **32**, 2718–2726 (2014).
42. Liu, R., Zhang, T., Zhu, G. & Xing, M. Regulation of mutant TERT by BRAF V600E/MAP kinase pathway through FOS/GABP in human cancer. *Nat. Commun.* **9**, 579 (2018).
43. Gilani, S. M. *et al.* RAS mutation and associated risk of malignancy in the thyroid gland: An FNA study with cytology-histology correlation. *Cancer Cytopathol.* **130**, 284–293 (2022).
44. Buffet Camille. Anomalies moléculaires de la voie MAPK et cancer papillaire de la thyroïde. Université Paris Descartes. (2014).
45. de la Fouchardière, C. *et al.* Génotypage moléculaire dans les cancers réfractaires de la thyroïde en 2021 : quand, comment, et pourquoi ? Un travail du réseau TUTHYREF. *Bull. Cancer (Paris)* **108**, 1044–1056 (2021).
46. de la Fouchardière, C. *et al.* Génotypage moléculaire dans les cancers réfractaires de la thyroïde en 2021 : quand, comment, et pourquoi ? Un travail du réseau TUTHYREF. *Bull. Cancer (Paris)* **108**, 1044–1056 (2021).
47. Fischer, A. H., Bond, J. A., Taysavang, P., Battles, O. E. & Wynford-Thomas, D. Papillary Thyroid Carcinoma Oncogene (RET/PTC) Alters the Nuclear Envelope and Chromatin Structure. *Am. J. Pathol.* **153**, 1443–1450 (1998).
48. Maenhaut, C. *et al.* Gene Expression Profiles for Radiation-induced Thyroid Cancer. *Clin. Oncol.* **23**, 282–288 (2011).
49. Pekova, B. *et al.* NTRK Fusion Genes in Thyroid Carcinomas: Clinicopathological Characteristics and Their Impacts on Prognosis. *Cancers* **13**, 1932 (2021).
50. Eberhardt, N. L., Grebe, S. K. G., McIver, B. & Reddi, H. V. The Role of the PAX8/PPAR γ Fusion Oncogene in the Pathogenesis of Follicular Thyroid Cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.* **321**, 50–56 (2010).
51. Sastre-Perona, A. & Santisteban, P. Role of the Wnt Pathway in Thyroid Cancer. *Front. Endocrinol.* **3**, 31 (2012).
52. Giuliani, C., Bucci, I. & Napolitano, G. The Role of the Transcription Factor Nuclear

- Factor-kappa B in Thyroid Autoimmunity and Cancer. *Front. Endocrinol.* **9**, 471 (2018).
53. Diquigiovanni, C. & Bonora, E. Genetics of Familial Non-Medullary Thyroid Carcinoma (FNMTC). *Cancers* **13**, 2178 (2021).
 54. Murff, H. J., Spigel, D. R. & Syngal, S. Does this patient have a family history of cancer? An evidence-based analysis of the accuracy of family cancer history. *JAMA* **292**, 1480–1489 (2004).
 55. Lin, H.-T. *et al.* Familial Aggregation and Heritability of Nonmedullary Thyroid Cancer in an Asian Population: A Nationwide Cohort Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **105**, dgaa191 (2020).
 56. Frich, L., Glatre, E. & Akslen, L. A. Familial occurrence of nonmedullary thyroid cancer: a population-based study of 5673 first-degree relatives of thyroid cancer patients from Norway. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* **10**, 113–117 (2001).
 57. Park, Y. J. *et al.* The Long-Term Outcomes of the Second Generation of Familial Nonmedullary Thyroid Carcinoma Are More Aggressive than Sporadic Cases. *Thyroid* **22**, 356–362 (2012).
 58. Kamani, T., Charkhchi, P., Zahedi, A. & Akbari, M. R. Genetic susceptibility to hereditary non-medullary thyroid cancer. *Hered. Cancer Clin. Pract.* **20**, 9 (2022).
 59. Frio, T. R. *et al.* DICER1 mutations in Familial Multi-Nodular Goiter with and without Ovarian Sertoli-Leydig Cell Tumors. *Jama* **305**, 68–77 (2011).
 60. Khan, N. E. *et al.* Quantification of Thyroid Cancer and Multinodular Goiter Risk in the DICER1 Syndrome: A Family-Based Cohort Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **102**, 1614–1622 (2017).
 61. Peiling Yang, S. & Ngeow, J. Familial non-medullary thyroid cancer: unraveling the genetic maze. *Endocr. Relat. Cancer* **23**, R577–R595 (2016).
 62. Rutter, M. M. *et al.* DICER1 Mutations and Differentiated Thyroid Carcinoma: Evidence of a Direct Association. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **101**, 1–5 (2016).
 63. Falkson, C. I., Falkson, G., Falkson, H. C., Uys, A. & Keren-Rosenberg, S. FIVB plus GM-CSF in metastatic colorectal cancer. *Invest. New Drugs* **12**, 49–52 (1994).
 64. Cetta, F. *et al.* Germline mutations of the APC gene in patients with familial adenomatous polyposis-associated thyroid carcinoma: results from a European cooperative study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **85**, 286–292 (2000).
 65. Syndrome de Gardner - Traitement à l'étranger. Gruppo San Donato
 66. Soravia, C. *et al.* Familial adenomatous polyposis-associated thyroid cancer: a clinical, pathological, and molecular genetics study. *Am. J. Pathol.* **154**, 127–135 (1999).
 67. Kirschner, L. S. *et al.* Genetic heterogeneity and spectrum of mutations of the PRKAR1A gene in patients with the carney complex. *Hum. Mol. Genet.* **9**, 3037–3046 (2000).
 68. Kari, S., Vasko, V. V., Priya, S. & Kirschner, L. S. PKA Activates AMPK Through LKB1 Signaling in Follicular Thyroid Cancer. *Front. Endocrinol.* **10**, 769 (2019).
 69. Ishikawa, Y. *et al.* Unusual features of thyroid carcinomas in Japanese patients with Werner syndrome and possible genotype-phenotype relations to cell type and race. *Cancer* **85**, 1345–1352 (1999).
 70. Lauper, J. M., Krause, A., Vaughan, T. L. & Monnat, R. J. Spectrum and risk of neoplasia in Werner syndrome: a systematic review. *PloS One* **8**, e59709 (2013).
 71. Hendricks, L. A. J., Hoogerbrugge, N., Schuurs-Hoeijmakers, J. H. M. & Vos, J. R. A review on age-related cancer risks in PTEN hamartoma tumor syndrome. *Clin. Genet.* **99**, 219–225 (2021).
 72. Ngeow, J. & Eng, C. PTEN in Hereditary and Sporadic Cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **10**, a036087 (2020).
 73. Rothblum-Oviatt, C. *et al.* Ataxia telangiectasia: a review. *Orphanet J. Rare Dis.* **11**,

159 (2016).

74. Richards, M. L. Familial syndromes associated with thyroid cancer in the era of personalized medicine. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* **20**, 707–713 (2010).
75. Schneider, K., Zelle, K., Nichols, K. E. & Garber, J. Li-Fraumeni Syndrome. in *GeneReviews®* (eds. Adam, M. P. et al.) (University of Washington, Seattle, 1993).
76. Hagelstein-Rotman, M. *et al.* Increased Prevalence of Malignancies in Fibrous Dysplasia/McCune-Albright Syndrome (FD/MAS): Data from a National Referral Center and the Dutch National Pathology Registry (PALGA). *Calcif. Tissue Int.* **108**, 346–353 (2021).
77. Collins, M. T. *et al.* Thyroid Carcinoma in the McCune-Albright Syndrome: Contributory Role of Activating Gsa Mutations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **88**, 4413–4417 (2003).
78. Kopacova, M *et al* Peutz-Jeghers syndrome: diagnostic and therapeutic approach - World J Gastroenterol (2009)
79. Morillo-Bernal, J. FOXE1 regulates migration and invasion in thyroid cancer cells and targets ZEB1 -Endoc Relat Cancer (2020)
80. Carré, A. Analyse moléculaire du développement de la glande thyroïde. (Paris 5, 2009).
81. Cuesta, I., Zaret, K. S. & Santisteban, P. The Forkhead Factor FoxE1 Binds to the Thyroperoxidase Promoter during Thyroid Cell Differentiation and Modifies Compacted Chromatin Structure. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 7302–7314 (2007).
82. De Felice, M. & Di Lauro, R. Thyroid Gland Development, Molecular Biology. in *Encyclopedia of Endocrine Diseases* (ed. Martini, L.) 456–461 (Elsevier, 2004).
83. Sequeira, M. J. *et al.* Thyroid Transcription Factor-2 Gene Expression in Benign and Malignant Thyroid Lesions. (2004) doi:10.1089/105072501753271662.
84. Bychkov, A. *et al.* Patterns of FOXE1 Expression in Papillary Thyroid Carcinoma by Immunohistochemistry. *Thyroid* **23**, 817–828 (2013).
85. Bonora, E. *et al.* The FOXE1 locus is a major genetic determinant for familial nonmedullary thyroid carcinoma. *Int. J. Cancer* **134**, 2098–2107 (2014).
86. Pereira, J. S. *et al.* Identification of a novel germline FOXE1 variant in patients with familial non-medullary thyroid carcinoma (FNMTC). *Endocrine* **49**, 204–214 (2015).
87. Wang, Y. *et al.* MYH9 binds to lncRNA gene PTCSC2 and regulates FOXE1 in the 9q22 thyroid cancer risk locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **114**, 474–479 (2017).
88. Landa, I. *et al.* The Variant rs1867277 in FOXE1 Gene Confers Thyroid Cancer Susceptibility through the Recruitment of USF1/USF2 Transcription Factors. *PLOS Genet.* **5**, e1000637 (2009).
89. Tomaz RA, Sousa I, Silva JG, Santos C, Teixeira MR, Leite V, et al. FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility. *Clin Endocrinol.* 2012;77(6):926–33
90. Tomaz RA, Sousa I, Silva JG, Santos C, Teixeira MR, Leite V, et al. FOXE1 polymorphisms are associated with familial and sporadic nonmedullary thyroid cancer susceptibility. *Clin Endocrinol.* 2012;77(6):926–33.
91. Mancikova, V. *et al.* Thyroid cancer GWAS identifies 10q26.12 and 6q14.1 as novel susceptibility loci and reveals genetic heterogeneity among populations. *Int. J. Cancer* **137**, 1870–1878 (2015).
92. Gara, S. K. *et al.* Germline HABP2 Mutation Causing Familial Nonmedullary Thyroid Cancer. *N. Engl. J. Med.* **373**, 448–455 (2015).
93. Zhang, T. & Xing, M. HABP2 G534E Mutation in Familial Nonmedullary Thyroid Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **108**, djv415 (2016).
94. Gara, S. K. *et al.* Germline HABP2 Mutation Causing Familial Nonmedullary Thyroid Cancer. *N. Engl. J. Med.* **373**, 448–455 (2015).

95. Sahasrabudhe, R. *et al.* The HABP2 G534E variant is an unlikely cause of familial non-medullary thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **10**, 1098–1103 (2016).
96. Gueliatcha, C. I. T. Etude des facteurs de risque génétiques et des interactions gène-environnement dans les cancers différenciés de la thyroïde.
97. Ngan, E. S. W. *et al.* A Germline Mutation (A339V) in Thyroid Transcription Factor-1 (TITF-1/NKX2.1) in Patients With Multinodular Goiter and Papillary Thyroid Carcinoma. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **101**, 162–175 (2009).
98. Jendrzewski, J. *et al.* The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 8646–8651 (2012).
99. Jendrzewski, J. *et al.* The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 8646–8651 (2012).
100. He, H. *et al.* SRGAP1 Is a Candidate Gene for Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, E973–E980 (2013).
101. Etienne-Manneville, S. Cdc42 - the centre of polarity. *J. Cell Sci.* **117**, 1291–1300 (2004).
102. Liyanarachchi, S. *et al.* Cumulative Risk Impact of Five Genetic Variants Associated with Papillary Thyroid Carcinoma. *Thyroid* **23**, 1532–1540 (2013).
103. Talmage, D. A. Mechanisms of neuregulin action. *Novartis Found. Symp.* **289**, 74–84; discussion 84-93 (2008).
104. Vega, F. M. & Ridley, A. J. Rho GTPases in cancer cell biology. *FEBS Lett.* **582**, 2093–2101 (2008).
105. Wang, Y.-L. *et al.* Confirmation of papillary thyroid cancer susceptibility loci identified by genome-wide association studies of chromosomes 14q13, 9q22, 2q35 and 8p12 in a Chinese population. *J. Med. Genet.* **50**, 689–695 (2013).
106. Gudmundsson, J. *et al.* A genome-wide association study yields five novel thyroid cancer risk loci. *Nat. Commun.* **8**, 14517 (2017).
107. Rogounovitch, T. I. *et al.* The common genetic variant rs944289 on chromosome 14q13.3 associates with risk of both malignant and benign thyroid tumors in the Japanese population. *Thyroid Off. J. Am. Thyroid Assoc.* **25**, 333–340 (2015).
108. Guibon, J. *et al.* Fine-mapping of two differentiated thyroid carcinoma susceptibility loci at 2q35 and 8p12 in Europeans, Melanesians and Polynesians. *Oncotarget* **12**, 493–506 (2021).
109. Srivastava, A. *et al.* Whole Genome Sequencing Prioritizes CHEK2, EWSR1, and TIAM1 as Possible Predisposition Genes for Familial Non-Medullary Thyroid Cancer. *Front. Endocrinol.* **12**, 600682 (2021).
110. Ye, F. *et al.* Whole exome and target sequencing identifies MAP2K5 as novel susceptibility gene for familial non-medullary thyroid carcinoma. *Int. J. Cancer* **144**, 1321–1330 (2019).
111. Tomsic, J. *et al.* A germline mutation in SRRM2, a splicing factor gene, is implicated in papillary thyroid carcinoma predisposition. *Sci. Rep.* **5**, 10566 (2015).
112. McKay, J. D. *et al.* Localization of a Susceptibility Gene for Familial Nonmedullary Thyroid Carcinoma to Chromosome 2q21. *Am. J. Hum. Genet.* **69**, 440–446 (2001).
113. Prazeres, H. J. *et al.* Loss of heterozygosity at 19p13.2 and 2q21 in tumours from familial clusters of non-medullary thyroid carcinoma. *Fam. Cancer* **7**, 141–149 (2008).
114. Boston, C. ProPAC. *J. Nurs. Adm.* **22**, 9–10 (1992).
115. Orois, A. *et al.* NOP53 as A Candidate Modifier Locus for Familial Non-Medullary Thyroid Cancer. *Genes* **10**, 899 (2019).
116. Trousse de préparation de bibliothèques d'ADN NexteraMC Flex. *Illumina* (2017)

117. Falque, M. Évolution des méthodes de génotypages. *Le Sélectionneur Français*.(2011)
118. Kumar, A. *et al.* Familial Cancer Variant Prioritization Pipeline version 2 (FCVPPv2) applied to a papillary thyroid cancer family. *Sci. Rep.* **8**, 11635 (2018).
119. Bardou, P., Mariette, J., Escudié, F., Djemiel, C. & Klopp, C. jvenn: an interactive Venn diagram viewer. *BMC Bioinformatics* **15**, 293 (2014).
120. Bioinformatics and Systems Biology. <http://bioinformatics.psb.ugent.be/>.
121. Rentzsch, P., Witten, D., Cooper, G. M., Shendure, J. & Kircher, M. CADD: predicting the deleteriousness of variants throughout the human genome. *Nucleic Acids Res.* **47**, D886–D894 (2019).
122. Ng, P. C. & Henikoff, S. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res.* **31**, 3812–3814 (2003).
123. Adzhubei, I., Jordan, D. M. & Sunyaev, S. R. Predicting Functional Effect of Human Missense Mutations Using PolyPhen-2. *Curr. Protoc. Hum. Genet. Editor. Board Jonathan Haines Al* **07**, Unit7.20 (2013).
124. Prediction tools and score range | Franklin Help Center.
125. Carter, H., Douville, C., Stenson, P. D., Cooper, D. N. & Karchin, R. Identifying Mendelian disease genes with the variant effect scoring tool. *BMC Genomics* **14 Suppl 3**, S3 (2013).
126. Douville, C. *et al.* Assessing the Pathogenicity of Insertion and Deletion Variants with the Variant Effect Scoring Tool (VEST-Indel). *Hum. Mutat.* **37**, 28–35 (2016).
127. Séquençage de Sanger | Parlons sciences. <https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/documents-dinformation/sequencage-de-sanger> (2020).
128. Florence Corpet. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Corpet F. *Nucleic Acids Res.* 1988 Nov 25;16(22):10881-90.
129. ANKRD36C ankyrin repeat domain 36C [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
130. MUC6 - Mucin-6 - Homo sapiens (human) | UniProtKB | UniProt.
131. Tekt4 - Tektin-4 - Rattus norvegicus (Rat) | UniProtKB | UniProt.
132. CDC27 - Cell division cycle protein 27 homolog - Homo sapiens (Human) |
133. Dasari, S., Ganjari, M. S., Yellanurkonda, P., Basha, S. & Meriga, B. Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. *Chem. Biol. Interact.* **294**, 81–90 (2018).
134. Kim, Y., Cha, S. J., Choi, H.-J. & Kim, K. Omega Class Glutathione S-Transferase: Antioxidant Enzyme in Pathogenesis of Neurodegenerative Diseases. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2017**, 5049532 (2017).
135. Lorenzini, P. A. *et al.* Human PRPF40B regulates hundreds of alternative splicing targets and represses a hypoxia expression signature. *RNA* **25**, 905–920 (2019).
136. BTD gene: MedlinePlus Genetics.
137. MFSD4A major facilitator superfamily domain containing 4A [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
138. Dai, C., Gong, Q., Cheng, Y. & Su, G. Regulatory mechanisms of Robo4 and their effects on angiogenesis. *Biosci. Rep.* **39**, BSR20190513 (2019).
139. EPB41L4A bande de protéines de membrane érythrocytaire 4.1 comme 4A [Homo sapiens (humain)] - Gène - NCBI.
140. SMPD1 gene: MedlinePlus Genetics. <https://medlineplus.gov/genetics/gene/smpd1/>.
141. PubChem. B3GAT1 - beta-1,3-glucuronyltransferase 1 (human).
142. PubChem. MST1 - macrophage stimulating 1 (human).
143. KRT35 keratin 35 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
144. PubChem. CHRND - cholinergic receptor nicotinic delta subunit (human).
145. PubChem. KLK5 - kallikrein related peptidase 5 (human).
146. Jackman, J. K. *et al.* Genome-wide association study identifies kallikrein 5 in type 2

- inflammation-low asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **150**, 972-978.e7 (2022).
147. PKD1L2 Gene - GeneCards | PK1L2 Protein | PK1L2 Antibody.
 148. Love, D. *et al.* Altered Lung Morphogenesis, Epithelial Cell Differentiation and Mechanics in Mice Deficient in the Wnt/ β -Catenin Antagonist Chibby. *PLoS ONE* **5**, e13600 (2010).
 149. OR11H12 olfactory receptor family 11 subfamily H member 12 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 150. NCAPH2 - Condensin-2 complex subunit H2 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt.
 151. InfoCancer - ARCAGY-GINECO - Cancer de l'ovaire - Formes de la maladie - Avec mutation BRCA1 ou BRCA2.
 152. XPC gene: MedlinePlus Genetics.
 153. IGSF3 immunoglobulin superfamily member 3 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 154. PABPC3 - Polyadenylate-binding protein 3 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt.
 155. KCNJ12 potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 12 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 156. PubChem. MAML3 - mastermind like transcriptional coactivator 3 (human).
 157. PubChem. PPARGC1B - PPARG coactivator 1 beta (human).
 158. PubChem. ABCA4 - ATP binding cassette subfamily A member 4 (human).
 159. CILP - Cartilage intermediate layer protein - Sus scrofa (Pig) | UniProtKB | UniProt.
 160. OR2T12 Gene - GeneCards | O2T12 Protein | O2T12 Antibody.
 161. HMCN2 hémicentine 2 [Homo sapiens (humain)] - Gène - NCBI.
 162. Tirado-Hurtado, I., Fajardo, W. & Pinto, J. A. DNA Damage Inducible Transcript 4 Gene: The Switch of the Metabolism as Potential Target in Cancer. *Front. Oncol.* **8**, (2018).
 163. PubChem. NOP2 - NOP2 nucleolar protein (human).
 164. PubChem. ACSBG1 - acyl-CoA synthetase bubblegum family member 1 (human).
 165. PubChem. XYLB - xylulokinase (human).
 166. FPGS - Folylpolyglutamate synthase, mitochondrial - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt.
 167. GPATCH1 G-patch domain containing 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 168. PubChem. FZD10 - frizzled class receptor 10 (human).
 169. LDLRAD2 low density lipoprotein receptor class A domain containing 2 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 170. PubChem. LOXL4 - lysyl oxidase like 4 (human).
 171. PubChem. SLC6A15 - solute carrier family 6 member 15 (human).
 172. CSMD2 CUB et Sushi domaines multiples 2 [Homo sapiens (humain)] - Gène - NCBI.
 173. Cusick, J. K., Mustian, A., Goldberg, K. & Reyland, M. E. RELT induces cellular death in HEK 293 epithelial cells. *Cell. Immunol.* **261**, 1–8 (2010).
 174. PubChem. SCNN1D - sodium channel epithelial 1 subunit delta (human).
 175. PubChem. DTX2 - deltex E3 ubiquitin ligase 2 (human).
 176. PRR29 proline rich 29 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 177. USP17L1 ubiquitin specific peptidase 17 like family member 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 178. MUC12 mucin 12, cell surface associated [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 179. PubChem. SPINT1 - serine peptidase inhibitor, Kunitz type 1 (human).
 180. CDCP1 CUB domain containing protein 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
 181. PPP6R1 protein phosphatase 6 regulatory subunit 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.

182. KIF13A kinesin family member 13A [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
183. PubChem. ATG2A - autophagy related 2A (human).
184. IRS4 - Insulin receptor substrate 4 - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt.
185. Heinen, C. A. *et al.* Mutations in IRS4 are associated with central hypothyroidism. *J. Med. Genet.* **55**, 693–700 (2018).
186. Weischenfeldt, J. *et al.* Pan-cancer analysis of somatic copy number alterations implicates IRS4 and IGF2 in enhancer hijacking. *Nat. Genet.* **49**, 65–74 (2017).
187. Guijarro, L. G. *et al.* Is Insulin Receptor Substrate4 (IRS4) a Platform Involved in the Activation of Several Oncogenes? *Cancers* **15**, 4651 (2023).
188. Vella, V. *et al.* The IGF system in thyroid cancer: new concepts. *Mol. Pathol.* **54**, 121–124 (2001).
189. PLEKHG5 pleckstrin homology and RhoGEF domain containing G5 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.
190. Sánchez-Ares, M. *et al.* Susceptibility Genes and Chromosomal Regions Associated With Non-Syndromic Familial Non-Medullary Thyroid Carcinoma: Some Pathogenetic and Diagnostic Keys. *Front. Endocrinol.* **13**, 829103 (2022).
191. Zhao, Y. *et al.* A Germline CHEK2 Mutation in a Family with Papillary Thyroid Cancer. *Thyroid*® **30**, 924–930 (2020).
192. Basu, M. K. *et al.* Exome Sequencing Identifies Abnormalities in Glycosylation and ANKRD36C in Patients with Immune-Mediated Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Thromb. Haemost.* **121**, 506–517 (2021).
193. Ankyrine : définition et explications. *AquaPortail*
194. Fang, Y. *et al.* Screening of circular RNAs and validation of circANKRD36 associated with inflammation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Int. J. Mol. Med.* **42**, 1865–1874 (2018).
195. Shumkova, D. & Ehrhart, F. 2q11.2 copy number variation syndrome. (2023).
196. Iqbal, Z. *et al.* Integrated Genomic Analysis Identifies ANKRD36 Gene as a Novel and Common Biomarker of Disease Progression in Chronic Myeloid Leukemia. *Biology* **10**, 1182 (2021).
197. Yamada, Y. *et al.* Regulation of antitumor miR-144-5p targets oncogenes: Direct regulation of syndecan-3 and its clinical significance. *Cancer Sci.* **109**, 2919–2936 (2018).
198. Liu, G.-M., Lu, T.-C., Liu, Y. & Luo, Y.-G. Gene expression analysis of primary gingival cancer by whole exome sequencing in thirteen Chinese patients. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **13**, 1909 (2020).
199. Li, S. *et al.* Integrative proteomic characterization of adenocarcinoma of esophagogastric junction. *Nat. Commun.* **14**, 778 (2023).
200. Tissue expression of ANKRD36C - Staining in thyroid gland - The Human Protein Atlas.
201. Renault, A.-L. *et al.* Morphology and genomic hallmarks of breast tumours developed by ATM deleterious variant carriers. *Breast Cancer Res.* **20**, 28 (2018).
202. Amos, L. A. The tektin family of microtubule-stabilizing proteins. *Genome Biol.* **9**, 229 (2008).
203. Expression de TEKT4 dans le cancer - Résumé - L'Atlas des protéines humaines.
204. Zheng, Z. *et al.* TEKT4 Promotes Papillary Thyroid Cancer Cell Proliferation, Colony Formation, and Metastasis through Activating PI3K/Akt Pathway. *Endocr. Pathol.* **29**, 310–316 (2018).
205. Jiang, Y.-Z. *et al.* Enriched variations in TEKT4 and breast cancer resistance to paclitaxel. *Nat. Commun.* **5**, 3802 (2014).
206. Ge, L.-P. *et al.* Tektin4 loss promotes triple-negative breast cancer metastasis through HDAC6-mediated tubulin deacetylation and increases sensitivity to HDAC6 inhibitor.

- Oncogene* **40**, 2323–2334 (2021).
207. Protein interactions for TEK4 - The Human Protein Atlas.
208. Protein interactions for TEK4 - The Human Protein Atlas.
209. Schweitzer, K. S. *et al.* IGSF3 mutation identified in patient with severe COPD alters cell function and motility. *JCI Insight* **5**, e138101.
210. Sheng, P. *et al.* The immunoglobulin superfamily member 3 (IGSF3) promotes hepatocellular carcinoma progression through activation of the NF- κ B pathway. *Ann. Transl. Med.* **8**, 378 (2020).
211. Hollingsworth, M. A. & Swanson, B. J. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat. Rev. Cancer* **4**, 45–60 (2004).
212. Do, S.-I. *et al.* Associations between the Expression of Mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) and Clinicopathologic Parameters of Human Breast Ductal Carcinomas. *J. Breast Cancer* **16**, 152–158 (2013).
213. Do, S.-I. *et al.* Associations between the Expression of Mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) and Clinicopathologic Parameters of Human Breast Ductal Carcinomas. *J. Breast Cancer* **16**, 152–158 (2013).
214. Dwertmann Rico, S. *et al.* Pattern of MUC6 expression across 119 different tumor types: A tissue microarray study on 15 412 tumors. *Pathol. Int.* **73**, 281–296 (2023).
215. Kazemi-Sefat, G. E. *et al.* The importance of CDC27 in cancer: molecular pathology and clinical aspects. *Cancer Cell Int.* **21**, 160 (2021).
216. Guo, H. *et al.* Association between polymorphisms in *cdc27* and breast cancer in a Chinese population. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* **36**, 5299–5304 (2015).
217. Erinjeri, N. J., Nicolson, N. G., Deyholos, C., Korah, R. & Carling, T. Whole-Exome Sequencing Identifies Two Discrete Druggable Signaling Pathways in Follicular Thyroid Cancer. *J. Am. Coll. Surg.* **226**, 950 (2018).
218. view.pdf.
219. Schubert, L., Mariko, M. L., Clerc, J., Huillard, O. & Groussin, L. MAPK Pathway Inhibitors in Thyroid Cancer: Preclinical and Clinical Data. *Cancers* **15**, 710 (2023).
220. Shuwen, H. *et al.* Nine Genes Mediate the Therapeutic Effects of Iodine-131 Radiotherapy in Thyroid Carcinoma Patients. *Dis. Markers* **2020**, e9369341 (2020).
221. Ueno, K., Hirata, H., Hinoda, Y. & Dahiya, R. Frizzled homolog proteins, microRNAs and Wnt Signaling in Cancer. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* **132**, 1731–1740 (2013).
222. Badel, J. *et al.* A first-in-man phase I trial of a new monoclonal antibody labelled with yttrium 90 for radioimmunotherapy of relapsed or refractory non resectable synovial-sarcomas. *Phys. Med.* **29**, e26–e27 (2013).
223. Koch, S. Regulation of Wnt Signaling by FOX Transcription Factors in Cancer. *Cancers* **13**, 3446 (2021).
224. Song, M., Kuerban, M., Zhao, L., Peng, X. & Xu, Y. Inhibition of RFX6 Suppresses the Invasive Ability of Tumor Cells Through the Notch Pathway and Affects Tumor Immunity in Hepatocellular Carcinoma. *Front. Oncol.* **11**, (2021).
225. Revici, R., Hosseini-Alghaderi, S., Haslam, F., Whiteford, R. & Baron, M. E3 Ubiquitin Ligase Regulators of Notch Receptor Endocytosis: From Flies to Humans. *Biomolecules* **12**, 224 (2022).
226. Inhibition of Wnt signalling by Notch via two distinct mechanisms | Scientific Reports. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-88618-5>.
227. Metovic, J. *et al.* Clinical and Pathological Features and Gene Expression Profiles of Clinically Aggressive Papillary Thyroid Carcinomas. *Endocr. Pathol.* **34**, 298–310 (2023).
228. Ma, Z., Zhao, X., Zhang, X., Xu, G. & Liu, F. [DTX2 overexpression promotes migration and invasion of colorectal cancer cells through the Notch2/Akt axis]. *Nan Fang Yi*

Ke Da Xue Xue Bao **43**, 340–348 (2023).

229. Wu, S. *et al.* Bromodomain containing 4 transcriptionally activated Deltex E3 ubiquitin ligase 2 contributes to glioma progression and predicts an unfavorable prognosis. *Ann. Transl. Med.* **10**, 313 (2022).

Annexe 1 : Variants associés au développement de pathologies thyroïdiennes identifiés chez les patients présentant des scores CADD<20

Variant associé au développement de pathologies thyroïdiennes identifié chez le patient L.

Gène	Transcript	Variant	HGVc	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
DUOX2	NM_001363711.2	missense_variant	c.1921G>A	p.Glu641Lys	13.42	tolerated (0.14)	benign(0.012)	0.19071	0.26626	0,4932	73	148
Gène	Transcript	Variant	HGVc	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP				
CHEK2	NM_001005735.2	synonymous_variant	c.1626G>C	p.Leu542=	2.399	0,0247	4	162				
Gène	Transcript	Variant	HGVc	CADD_score	AF	AD	DP					
TSHR	NM_000369.3	intron_variant	c.615-33_615-32delinsTC	12.96	0,2564	10	39					
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.721+39dup	15.35	0,0455	5	110					
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A	4.313	0,2	14	70					
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-54T>C	6.924	0,0853	11	129					
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-66G>C	1.770	0,0806	10	124					
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG	0.490	0,0962	5	52					
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del	5.132	0,1636	9	55					
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG	2.138	0,3883	40	103					
GLIS3	NM_001042413.2	intron_variant	c.1711-67del	1.125	0,0714	5	70					
TBL1X	NM_005647.4	intron_variant	c.749+15_749+16delinsATG	0.086	0,9697	32	33					
SECISBP2	NM_024077.5	intron_variant	c.1302+71_1302+72dup		0,4198	34	81					

Variante associée au développement de pathologies thyroïdiennes identifiée chez le patient R.

Gène	Transcript	Variante	HGVc	CADD_score	AF	AD	DP
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-54T>C	6.924	0,1	4	40

Variante associée au développement de pathologies thyroïdiennes identifiée chez le patient G.

Gène	Transcript	Variante	HGVc	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
DUOX2	NM_001363711.2	missense_variant	c.1066G>A	p.Val356Ile	12.71	tolerated (0.36)	benign(0.011)	0.27368	0.08905	0,022	4	182
IGSF1	NM_001170961.1	frameshift_variant	c.2422del	p.His808ThrfsTer4						0,0533	4	75

Gène	Transcript	Variante	HGVc	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
SRRM2	NM_016333.4	synonymous_variant	c.3018G>A	p.Gly1006=	5.021	0,032	4	125

Gène	Transcript	Variante	HGVc	CADD_score	AF	AD	DP
ATM	NM_000051.3	intron_variant	c.1065+53del	5.099	0,2121	7	33
ATM	NM_000051.3	intron_variant	c.2922-10_2922-8del	1.544	0,0606	4	66
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A	4.313	0,14	7	50
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-54T>C	6.924	0,0427	5	117
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-66G>C	1.770	0,0404	4	99
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG	0.490	0,125	9	72
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.721+39dup		0,045	5	111
TIMM44	NM_006351.4	intron_variant	c.863-26del		0,0204	4	196
PLEKHG5	NM_001265592.1	intron_variant	c.281-31del		0,0211	4	190
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del	5.132	0,0673	7	104
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-298_335-297del	8.500	0,0481	5	104
DUOX2	NM_001363711.2	intron_variant	c.4525-16_4525-15del	4.048	0,0368	5	136
SLC5A5	NM_000453.3	intron_variant	c.1329+24C>G	0.187	0,1111	4	36

Variants en régions non codantes identifiés chez le patient L1.

Gène	Transcript	Variant	HGVc	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
WRN	NM_000553.6	missense_variant	c.747C>A	p.Asp249Glu	0.006	tolerated(0.63)	benign(0.006)	0.20356	0.00130	0,4865	18	37
Gène	Transcript	Variant	HGVc	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP				
PLEKHG5	NM_001265592.1	inframe_deletion	c.364_366del	p.Glu122del	14.42	0,0345	6	174				
HRAS	NM_001130442.2	intron_variant	c.450+49G>C		15.24	0,0727	8	110				
HRAS	NM_001130442.2	intron_variant	c.450+54A>C		14.41	0,0345	4	116				
RET	NM_020975.6	3_prime_UTR_variant	c.*29C>A		13.67	0,5172	45	87				
FKBP10	NM_021939.4	intron_variant	c.246-3del		8.430	0,0274	4	146				
IGSF1	NM_001170961.1	upstream_gene_variant			7.945	0,4	12	30				
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del		5.132	0,1111	8	72				
SRRM2	NM_016333.4	3_prime_UTR_variant	c.*430T>A		4.898	0,0952	4	42				
NDUFA13	NM_015965.7	intron_variant	c.245+9G>A		1.808	0,0291	5	172				

Variants en régions introniques identifiés chez le patient L2.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	CADD_score	AF	AD	DP
RET	NM_020975.6	3_prime_UTR_variant	c.*29C>A	13.67	0,4878	60	123
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.721+39dup	0.490	0,0625	7	112
TIMM44	NM_006351.4	intron_variant	c.1038+34_1038+35del	2.328	0,0556	5	90
PLEKHG5	NM_001265592.1	intron_variant	c.540-65C>G	0.781	0,0417	4	96
WRN	NM_000553.6	intron_variant	c.1899-27del	0.523	0,1395	6	43
AKT1	NM_005163.2	intron_variant	c.46+42_46+43inv	3.698	1	88	88
SEC23B	NM_001172745.3	intron_variant	c.834+40_834+41inv	4.321	0,5281	47	89
DICER1	NM_030621.4	intron_variant	c.2436+66del	0.046	0,2121	7	33
TP53	NM_000546.5	intron_variant	c.74+44A>C	0.298	0,0649	5	77
TPO	NM_001206744.2	intron_variant	c.613-15T>C	3.417	0,0317	4	126
PAX8	NM_003466.4	intron_variant	c.1277-12del	9.988	0,069	4	58
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del	5.132	0,1707	7	41
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG	2.138	0,9798	97	99
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.7572+6181G>A	12.26	0,4286	36	84

Variants en identifiés chez le patient M.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
CHEK2	NM_001005735.2	missense_variant	c.107A>T	p.Gln36Leu	22.1	tolerated_low_confidence(0.52)	benign(0.221)	0.89492	0.50403	0,0571	4	70
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A		4.313					0,2432	9	37
CHEK2	NM_001005735.2	synonymous_variant	c.1626G>C		2.399					0,0667	8	120
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG							0,1892	14	74
TPO	NM_001206744.2	intron_variant	c.482+2493_482+2494inv							0,0364	4	110
TPO	NM_001206744.2	missense_variant	c.1541T>A	p.Leu514Gln	19.28	deleterious(0.03)	probably_damaging(0.933)	0.64652	0.48489	0,0267	5	187
TG	NM_003235.5	missense_variant	c.3105_3106inv	p.Ser1036Cys						0,0258	4	155
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG		2.138					0,4918	30	61
SECISBP2	NM_024077.5	downstream_gene_variant			25.7					0,0223	5	224
FOXE1	NM_004473.4	synonymous_variant	c.285A>G	p.Lys95=	15.17					0,4688	75	160
RET	NM_020975.6	splice_acceptor_variant	c.1760-2A>T		32					0,0385	4	104
RET	NM_020975.6	missense_variant	c.2026T>A	p.Phe676Ile	22.4	deleterious(0.05)	benign(0.237)	0.73523	0.67832	0,0245	6	245
HABP2	NM_004132.5	missense_variant	c.1513T>A	p.Cys505Ser	29.2	deleterious(0)	probably_damaging(1)	0.98736	0.99053	0,0755	4	53
MEN1	NM_001370251.1	synonymous_variant	c.1458A>T	p.Leu486=	15.45					0,021	5	238
MEN1	NM_001370251.1	missense_variant	c.803A>T	p.Tyr268Phe	25.2			0.98430	0.51003	0,0178	5	281
DUOX2	NM_207581.4	missense_variant	c.524T>A	p.Leu175Gln	19.78	tolerated(0.07)	benign(0.266)	0.49491	0.43365	0,0195	4	205
SLC5A5	NM_000453.3	missense_variant	c.127A>T	p.Ser43Cys	27.3	deleterious(0)	probably_damaging(0.928)	0.90680	0.38203	0,0769	4	52

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
SRRM2	NM_016333.4	missense_variant	c.3341T>A	p.Ile1114Lys	1.054	tolerated_low_confidence(0.06)	benign(0)	0.79085	0.19337	0,0315	4	127
SRRM2	NM_016333.4	synonymous_variant	c.5058T>A	p.Pro1686=	16.67					0,0231	4	173
SRRM2	NM_016333.4	missense_variant	c.5309T>A	p.Leu1770His	23.6	deleterious_low_confidence(0)	possibly_damaging(0.769)	0.35240	0.66735	0,0301	5	166
SRRM2	NM_016333.4	missense_variant	c.7508A>T	p.His2503Leu	14.46	tolerated_low_confidence(0.07)	benign(0.027)	0.55171	0.50318	0,0238	4	168
SRRM2	NM_016333.4	intron_variant	c.7734-342T>A		12.62					0,0214	4	187
SRRM2	NM_016333.4	intron_variant	c.7734-337T>A		14.50					0,0214	4	187
SRRM2	NM_016333.4	intron_variant	c.8022-505T>A		19.20					0,0526	5	95
SRRM2	NM_016333.4	intron_variant	c.8022-500_8022-495delinsAGAGCA							0,0519	4	77
TIMM44	NM_006351.4	synonymous_variant	c.255T>A	p.Arg85=	7.362					0,0203	4	197
SERPINA1	NM_001127701.2	intron_variant	c.1065+62T>A		0.071					0,0444	4	90
FKBP10	NM_021939.4	synonymous_variant	c.63A>T	p.Leu21=	20.5					0,0323	4	124
FKBP10	NM_021939.4	missense_variant	c.473T>A	p.Val158Glu	23.5	deleterious(0)	benign(0.197)	0.47013	0.46253	0,0198	4	202
FKBP10	NM_021939.4	intron_variant	c.1063+44T>A		3.456					0,029	4	138
FKBP10	NM_021939.4	missense_variant	c.1285A>T	p.Thr429Ser	23.6	tolerated(0.07)	possibly_damaging(0.719)	0.84905	0.38820	0,0245	4	163

Variants présentant un score CADD<20 chez le patient S.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
CHEK2	NM_001005735.2	missense_variant	c.1245_1246inv	p.Lys416Glu		0,0946	7	74
PLEKHG5	NM_001265592.1	inframe_deletion	c.364_366del		14.42	0,0541	10	185
DICER1	NM_030621.4	splice_region_variant&intron_variant	c.5527+4T>C		6.387	0,4062	39	96
TBL1X	NM_005647.4	3_prime_UTR_variant	c.*19A>G		5.491	0,4632	44	95
TG	NM_003235.5	frameshift_variant&splice_region_variant	c.3853del	p.Gln1285SerfsTer41		0,0364	4	110
DUOX2	NM_001363711.2	synonymous_variant	c.567C>T	p.His189=	13.27	0,0417	4	96
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A		6.924	0,0693	7	101
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-54T>C		4.313	0,2041	10	49
TSHR	NM_000369.3	intron_variant	c.692+48_692+49delinsAC		3.817	0,0926	5	54
CHEK2	NM_001005735.2	synonymous_variant	c.1626G>C	p.Leu542=	2.399	0,0476	7	147
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG		2.138	0,4407	26	59
ATM	NM_000051.3	intron_variant	c.4437-14dup		1.489	0,1154	6	52
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.721+39dup		0.490	0,0522	6	115
TP53	NM_000546.5	intron_variant	c.74+44A>C		0.298	0,0714	5	70
WRN	NM_000553.6	intron_variant	c.1899-27del		0.523	0,2245	11	49

Variants présentant un score CADD<20 chez le patient B1.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
SRRM2	NM_016333.4	synonymous_variant	c.7881T>C	p.Ser2627=	9.532	0,52	35	67
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del		5.132	0,0548	4	73
TSHR	NM_000369.3	intron_variant	c.692+48_692+49delinsAC		3.817	0,1765	6	34
AKT1	NM_005163.2	intron_variant	c.46+42_46+43inv		3.698	0,4512	37	82
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG		2.138	0,3548	22	62
TP53	NM_000546.5	intron_variant	c.673-72_673-71del		2.081	0,1176	4	34
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.479-16del		1.091	0,0658	5	76
DICER1	NM_030621.4	intron_variant	c.2436+66dup		0.229	0,117647	4	34

Variants présentant un score CADD<20 chez le patient J.

Gène	Transcript	Variant	HGvc		CADD_score	AF	AD	DP
TP53	NM_000546.5	intron_variant	c.673-71del		1.948	0,1373	7	51
AKT1	NM_005163.2	intron_variant	c.46+42_46+43inv		3.698	0,4615	60	130
PLEKHG5	NM_001265592.1	intron_variant	c.540-65C>G		0.781	0,0662	9	136
PLEKHG5	NM_001265592.1	inframe_deletion	c.364_366del	p.Glu122del	14.42	0,0176	5	284
PLEKHG5	NM_001265592.1	frameshift_variant	c.192del	p.Leu66SerfsTer71		0,0222	5	225
FKBP10	NM_021939.4	intron_variant	c.246-3dup		10.57	0,0246	5	203
FKBP10	NM_021939.4	frameshift_variant	c.831del	p.Gly278AlafsTer20	5.146	0,025	4	160
TIMM44	NM_006351.4	intron_variant	c.1038+34_1038+35del		2.328	0,0252	4	159
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A		4.313	0,1818	6	33
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-54T>C		6.924	0,0746	5	67
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1591-66G>C		1.770	0,0806	5	62
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.975+1089A>G		0.454	0,1379	4	29
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG			0,1642	11	67
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.721+39dup		0.490	0,0482	4	83
PAX8	NM_003466.4	intron_variant	c.1277-12del		9.988	0,0667	4	60
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.479-16dup		1.229	0,0446	5	112
RET	NM_020975.6	intron_variant	c.1649-28G>T		12.23	0,0185	4	216
HABP2	NM_004132.5	5_prime_UTR_variant	c.-3A>G		6.666	0,5098	26	51

Variants présentant un score CADD<20 chez le patient T.

Gène	Transcript	Variant	HGVc	CADD_score	AF	AD	DP
WRN	NM_000553.6	intron_variant	c.840-3dup	2.368	0,1562	5	32
SLC26A4	NM_000441.2	splice_region_variant &intron_variant	c.415+8T>A	11.58	0,0342	4	117
DICER1	NM_030621.4	intron_variant	c.2436+66dup	0.229	0,1026	4	39
AKT1	NM_005163.2	splice_region_variant &intron_variant	c.567+8C>G	0.557	0,1042	10	96
PLEKHG5	NM_001265592.1	intron_variant	c.540-65C>G	0.781	0,1308	17	130
FKBP10	NM_021939.4	intron_variant	c.246-3dup	10.57	0,0239	5	209
TIMM44	NM_006351.4	intron_variant	c.1038+34_1038+35del	2.328	0,0266	5	188
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.1671+63G>A	4.313	0,0962	5	52
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG		0,1184	9	76
ATM	NM_000051.3	intron_variant	c.1065+53del	5.099	0,0816	4	49
TPO	NM_001206744.2	intron_variant	c.613-43_613-42inv	0.426	0,5268	59	112
PAX8	NM_003466.4	intron_variant	c.1277-12del	9.988	0,0532	5	94
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-297del	5.132	0,1233	9	73
TG	NM_003235.5	intron_variant	c.6398-64_6398-62delinsTGG	2.138	0,4796	47	98
DUOX2	NM_001363711.2	intron_variant	c.325+56G>A	10.05	0,5743	58	101
TBL1X	NM_005647.4	intron_variant	c.749+15_749+16delinsATG	0.086	0,5435	25	46

Variants présentant un score CADD<20 chez le patient B2.

Gène	Transcript	Variante	HGVc	HGVp	CADD_score	AF	AD	DP
PLEKHG5	NM_001265592.1	inframe_deletion	c.364_366del	p.Glu122del	14.42	0,0191	5	262
SLC26A4	NM_000441.2	splice_region_variant &intron_variant	c.415+8T>A		11.58	0,0519	4	77
PAX8	NM_003466.4	intron_variant	c.1277-12del		9.988	0,0769	4	52
NKX2-5	NM_004387.4	intron_variant	c.335-298_335-297del		8.500	0,0952	4	42
FKBP10	NM_021939.4	intron_variant	c.246-3del		8.430	0,0208	4	192
SEC23B	NM_001172745.3	intron_variant	c.604-5_604-4del		5.808	0,0769	4	52
SEC23B	NM_001172745.3	intron_variant	c.834+40_834+41inv		4.321	0,5417	39	72
TSHR	NM_000369.3	intron_variant	c.692+48_692+49delinsAC		3.817	0,1778	8	45
TIMM44	NM_006351.4	intron_variant	c.1038+34_1038+35del		2.328	0,0396	4	101
TP53	NM_000546.5	intron_variant	c.673-71del		1.948	0,1351	5	37
RET	NM_020975.6	intron_variant	c.1760-54C>T		0.480	0,5833	28	48
DICER1	NM_030621.4	intron_variant	c.2436+66dup		0.229	0,1613	5	31
CHEK2	NM_001005735.2	intron_variant	c.722-2080_722-2077delinsCCTG			0,0833	4	48

Annexe 2 : Variants identifiés par filtrage WES.

Variants présentant des scores CADD<20 dans le groupe LRG.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
PCDH8	NM_018911.3	missense_variant	c.165G>T	p.Glu55Asp	16.57	Tolerated low_confidence(0.08)	Benign(0.009)	0.17743	0.04126	0,2174	10	46
NBPF1	NM_017940.6	missense_variant	c.3161A>G	p.Gln1054Arg	13.60					0,0227	10	441
ANKRD36C	NM_001310154.3	missense_variant	c.5771_5773delinsGAG	p.Gln1924_Met1925delinsArgVal	11.14					0,3695	109	295
DND1	NM_194249.3	missense_variant	c.1046C>G	p.Thr349Ser	8.236	tolerated(0.14)	benign(0)	0.17362	0.02995	0,04	4	100
TTY14	NR_158641.1	intron_variant&non_coding_transcript_variant	n.368+52002C>T		9.958					0,9901	100	101
HLA-DRB1	NM_002124.3	missense_variant	c.41_42delinsTT	p.Ala14Val	6.648	tolerated(0.11)	benign(0)			0,1282	5	39
ANKRD36	NM_001354587.1	intron_variant	c.1969-15T>C		2.723					0,1387	19	137
MAK	NM_001242957.2	intron_variant	c.1317-66_1317-47dup		1.873					0,1087	15	138
NBPF1	NM_017940.6	synonymous_variant	c.3282C>T	p.Asp1094=	0.288					0,0446	28	628
HLA-DRB1	NM_002124.3	missense_variant	c.196_197delinsAA	p.Ser66Asn	0.042	tolerated(0.14)	benign(0)			0,5143	18	35

Variants présentant des scores CADD<20 dans le groupe SMJT.

Gène	Transcript	Variant	HGVC	HGVp	CADD_score	SIFT	PolyPhen	MetaLR_rankscore	VEST3_rankscore	AF	AD	DP
NBPF10	NM_001039703.6	missense_variant	c.3729C>G	p.Asp1243Glu	9.836	tolerated(0.08)		0.02019	0.05213	0,0455	42	923
OBSCN	NM_001271223.2	missense_variant	c.2997_2998inv	p.Ala1000Thr	15.80					1	74	74
MUC4	NM_018406.7	missense_variant	c.10615G>C	p.Val3539Leu	4.133	tolerated_low_confidence(0.19)	benign(0.101)	0.18410	0.01791	0,0667	6	90
MUC4	NM_018406.7	missense_variant	c.10508_10510delinsCCC	p.Ser3503_Thr3504delinsThrPro						0,0635	8	126
B4GALT7	NM_007255.3	intron_variant	c.640-41del		5.251					0,0556	4	72
ABCF1	NM_001025091.2	intron_variant	c.73+24A>C		6.447					0,0522	6	115
NOTCH4	NM_004557.4	missense_variant	c.813_815delinsGGG	p.Asp272Gly	15.46					0,3596	32	89
SYNE1	NM_182961.4	intron_variant	c.23628-3578_23628-3577delinsGC		4.086					0,4769	31	65
POM121C	NM_001099415.3	synonymous_variant	c.2346C>G	p.Ser782=	0.074					0,0282	4	142
PRSS3	NM_007343.3	missense_variant	c.243_244inv	p.Val82Ile						0,0758	5	66
PTGER4P2-CDK2AP2P2	NR_024496.1	non_coding_transcript_exon_variant	n.489C>A		5.753					0,0847	16	189
RABL6	NM_001173988.2	intron_variant	c.813-77_813-75del		3.319					0,0278	5	180
PABPC3	NM_030979.2	missense_variant	c.836C>A	p.Thr279Lys	11.32	tolerated(1)	benign(0)	0.02283	0.29834	0,0476	6	126
KRTAP4-8	NM_031960.3	synonymous_variant	c.300C>T	p.Cys100=	7.714					0,0673	7	104
TBC1D3P2	NR_027486.1	non_coding_transcript_exon_variant	n.541_547delinsCCACATC							0,0526	4	76
PTPRS	NM_002850.4	intron_variant	c.578-47_578-45delinsCG		8.647					0,3977	35	88
PRAM1	NM_032152.5	missense_variant	c.223_226delinsCAGT	p.Glu75_Val76delinsGlnPhe						0,2381	15	63
MUC16	NM_024690.2	splice_region_variant&intron_variant	c.40543-5_40543-4inv							0,1111	4	36
ZNF83	NM_001348017.1	missense_variant	c.878_879delinsTA	p.Glu293Val		tolerated(0.13)	benign(0.013)			0,2069	12	58
TEKT4P2	NR_038327.2	non_coding_transcript_exon_variant	n.1523_1526delinsACCC							0,0678	33	487
GGT1	NM_001288833.2	intron_variant	c.295+67_296-65delinsTGGC							0,1282	15	117
GGT1	NM_001288833.2	missense_variant	c.315_319delinsTGCCT	p.Arg107Cys						0,0285	8	281
TTY14	NR_158641.1	intron_variant&non_coding_transcript_variant	n.368+52002C>T		9.958					0,5607	60	107

Caractéristiques et exploration par séquençage haut débit des formes familiales syndromiques et non-syndromiques des cancers thyroïdiens non médullaires

Un séquençage d'exome complet (WES) a été réalisé sur l'ADN de 11 patients atteints de carcinomes thyroïdiens et dont les antécédents familiaux suggéraient une prédisposition familiale au cancer thyroïdien non médullaire (FNMTC). Des approches bio-informatiques ont été menées pour filtrer, sélectionner et identifier les variants génétiques partagés entre ces patients. Une partie de ce travail de thèse a également été axée sur l'exploration du gène *FOXE1* dans le but de valider les preuves de la contribution de ce gène à la prédisposition au FNMTC. Nous avons également présenté trois cas familiaux de FNMTC associés à des mutations du gène *DICER1*, dans lesquels les atteintes thyroïdiennes constituent les seules manifestations cliniques.

Characterization and high-throughput sequencing-based exploration of syndromic and non-syndromic familial non-medullary thyroid carcinoma

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée biologie médicale

MOTS-CL S : Cancer de la thyroïde familial - FNMTC - Séquençage nouvelle génération - Séquençage de l'exome complet - Gènes de prédisposition

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de Santé de Toulouse
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Pr Frédérique SAVAGNER