

Valideren van genpanels voor moleculaire diagnostiek

Michel Put

Master IW biochemie

Inleiding

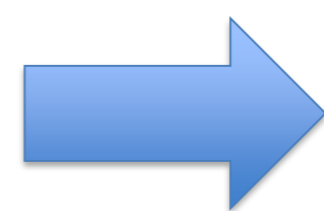
Het Centrum Menselijke Erfelijkheid (CME) van het Universitair Ziekenhuis Leuven biedt diagnostiek aan voor zeldzame erfelijke ziekten. Deze mendeliaanse genetische ziekten worden veroorzaakt door een mutatie in een gen van de patiënt. Voor heterogene aandoeningen worden echter panels van genen aangeboden via een klinische exoom analyse omdat éénzelfde aandoening veroorzaakt kan worden door mutaties in verschillende genen. Deze analyses maken gebruik van massieve parallele sequencerende (MPS) om op een relatief goedkope en snelle manier de DNA sequentie te achterhalen. Momenteel gebruikt elk diagnostisch laboratorium zijn eigen samengestelde genpanels voor verschillende aandoeningen. Er bestaan echter grote verschillen in gebruikte nomenclatuur voor deze genpanels. Daarnaast zijn er ook inhoudelijke verschillen in de samengestelde genpanels tussen de diagnostische centra in België.

Doelstellingen

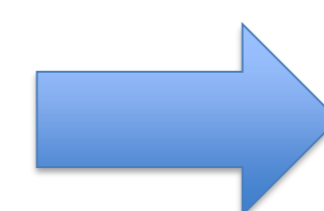
- Evaluatie van genpanels gekoppeld aan myopathie enerzijds en cardiomyopathie en hartritmestoornissen anderzijds.
- Evaluatie van 3 algoritmes om over kandidaat genen te oordelen of ze al dan niet als een kerngen bestempeld kunnen worden.
- Het aflijnen van een set van kerngenen (= minimale hoeveelheid aan genen, die sterk aan de aandoening gelinkt zijn). Deze groep van kerngenen kan vervolgens door de verschillende diagnostische centra gebruikt worden als vertrekpunt voor de samenstelling van hun diagnostische panels.

Methode

Intersectie



Vergelijking algoritmes



Analyse

In de eerste stap worden bestaande genlijsten vergeleken met elkaar vertrekkend vanaf een genlijst van het CME en wordt er een intersectie uitgevoerd om overeenkomsten en verschillen van deze genpanels in kaart te brengen. De verschillende bronnen die gebruikt worden, zijn:

- Belgische genetische centra
- internationale genetische centra
- literatuur

Vervolgens worden een aantal algoritmes aangewend, namelijk ClinGen, Panelapp en Ambry Genetics [1] [2] [3]. Om te bepalen welk algoritme kan gebruikt worden voor toekomstige analyses wordt elk algoritme voor één specifiek gen van elk genpanel afgetoetst en vergeleken aan de hand van de volgende parameters:

- de mogelijkheid om de analyse zelf uit te voeren (A)
- de gebruiksvriendelijkheid van het algoritme (B)
- de tijd die de analyse in beslag neemt (C)
- de objectiviteit van de analyse (D)

Tot slot worden de genen aan de hand van een literatuurstudie geëvalueerd op:

- Genetisch niveau:
 - aantal varianten
 - mogelijkheid tot segregatie
 - controle studies
- Experimenteel niveau:
 - genfunctie
 - functiewijziging
 - model analyses
 - herstel van het gen

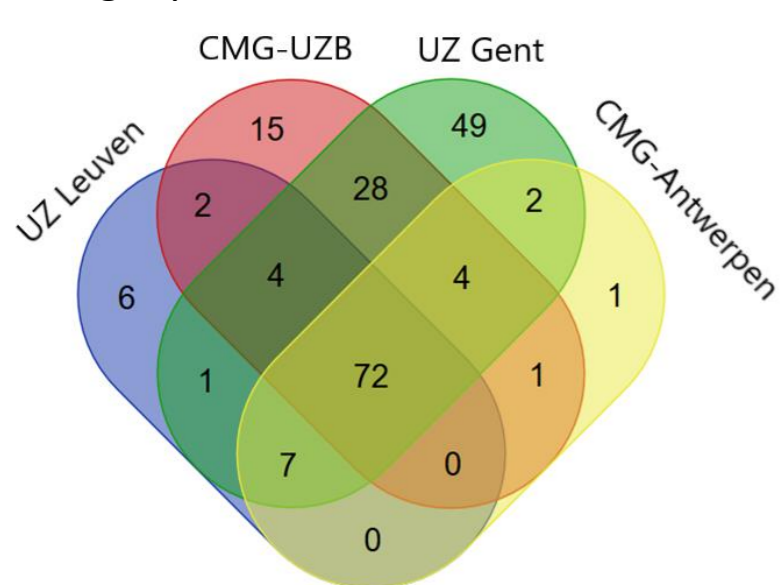
Resultaten (illustratie voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen)

Intersectie

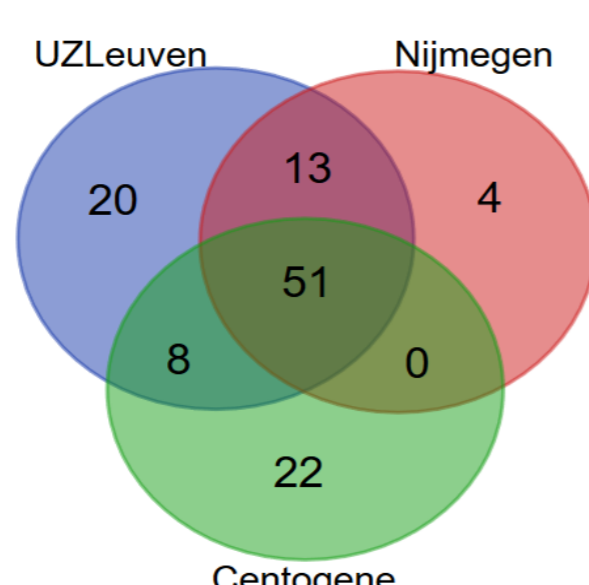
Het genpanel van UZ Leuven bevat 92 genen waarvan 72 worden teruggevonden in alle Belgische genetische centra (zie figuur 1) en 51 genen in alle internationale genetische centra (zie figuur 2). Ook is een intersectie uitgevoerd met 3 bronnen uit literatuur waarvan 70 genen worden teruggevonden in het genpanel van UZ Leuven.

Na de volledige intersectie werd besloten dat:

- Alle genen die in 8 en 9 bronnen voorkomen als kerngen bestempeld kunnen worden. Dit zijn 64 genen.
- Alle genen die in 1 tot 4 bronnen voorkomen voorlopig niet als kerngen opgenomen worden. Dit zijn 10 genen.
- Alle genen die in 5 tot 7 bronnen voorkomen geanalyseerd zullen worden met een algoritme en dit zijn 18 genen in totaal.
- Ook worden nog 2 extra genen geanalyseerd die niet in het genpanel van UZ Leuven zitten, maar wel in 7 andere bronnen.



Figuur 1: Intersectie van de genlijsten van de Belgische genetische centra voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen



Figuur 2: Intersectie van de genlijsten uit internationale genetische centra met de genlijst van het UZ Leuven voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen

Vergelijking algoritmes

Na de vergelijking wordt besloten om verder te werken met ClinGen op basis van de gegevens uit tabel 1:

Tabel 1: Resultaten van de vergelijking van de algoritmes. De parameters zijn gegeven in de methode onder vergelijking van de algoritmes

Parameters uit methode	ClinGen	Panelapp	Ambry Genetics
A	+	-	+
B	+/-	/	+
C	+/-	/	+/-
D	+	/	-

Analyse

De resultaten van de analyse met ClinGen zijn weergegeven in tabel 2 en 3. Van de 18 genen uit 5-6-7 bronnen die geanalyseerd werden met ClinGen, worden 5 genen met sterk bewijs gevonden. Voor één gen dat niet in het genpanel van UZ Leuven zit, wordt ook sterk bewijs gevonden. Deze 6 genen worden ook bestempeld als kerngen.

Tabel 2: Samenvattende tabel met de resultaten na de analyse van de genen met ClinGen voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen

Gen	Aandoening	Resultaat	Aantal bronnen
CALM2	LQT	Sterk	5
CTNNA3	ARVC	Middelmatig	7
DTNA	LVNC	Gelimiteerd	5
FHL1	HCM	Sterk	5
GJA5	AF	Sterk	5
KCNAS	AF	Sterk	6
KCNB3	BrS	Gelimiteerd	7
KCNK5	IVF	Gelimiteerd	7
KCNJ5	LQT	Gelimiteerd	7
MIB1	LVNC	Middelmatig	5
MYLK2	HCM	Gelimiteerd	6
NKX2-5	CCD/atrial septal defect	Sterk	5
NPPA	AF	Gelimiteerd	7
SCN2B	AF	Gelimiteerd	6
TGFB3	ARVC	Gelimiteerd	7
TMPO	DCM	Gelimiteerd	7
TRDN	CPVT	Middelmatig	7
TRPM4	BrS	Middelmatig	7

Tabel 3: Samenvattende tabel met de resultaten na de analyse van de genen, die niet in het genpanel van het CME voorkomen, met ClinGen voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen

Gen (niet in UZ Leuven)	Aandoening	Resultaat
EMD	DCM	Middelmatig
TTN	DCM	Sterk

Besluit

In het totaal werden voor cardiomyopathie en hartritmestoornissen 70 kerngenen gevonden. Dit nieuwe genpanel met een minimale hoeveelheid aan genen (kerngenen) kan vervolgens door de verschillende diagnostische centra gebruikt worden als vertrekpunt voor de samenstelling van hun diagnostische panels. Voor myopathie werd dezelfde methode gebruikt en werden 73 kerngenen gevonden.

[1] G. c. w. group, gene clinical validity curation process version 5, 2017.
 [2] G. Engeland, PanelApp Handbook version 5.7, 2017.
 [3] E. D. Smith, K. Radtke, M. Rossi, D. N. Shinde, S. Darabi, D. El-Khechen, Z. Powis, K. Helbig, K. Waller, D. K. Grange, S. Tang en K. D. Farwell Hagman, „Classification of Genes: Standardized Clinical Validity Assessment of Gene-Disease Associations Aids Diagnostic Exome Analysis and Reclassifications,” Human Mutation, vol. 38, nr. 9, pp. 600-608, 2017.

Promotoren / Copromotoren: Matthijs Gert, Prof. Pauls Liesbet, ing.

Corveleyn Anniek, PhD. Race Valérie, PhD.