

Introduction

Les variants pathogènes du gène *CUL4B* ont été décrits en 2007 comme responsables du syndrome de Cabezas (MIM #300354). Ce dernier associe classiquement une déficience intellectuelle avec un retard de langage important, une petite taille, une microrchidie, et des signes neurologiques comme un tremblement, des troubles de l'équilibre ainsi qu'une épilepsie. Une dysmorphie faciale y est le plus souvent associée.

Sur le plan moléculaire, *CUL4B* (localisé en Xq24) code pour une protéine d'échafaudage soutenant l'activité Ubiquitine-ligase de nombreux acteurs du Système Ubiquitine-Protéasome (UPS). La récente description de syndromes neurodéveloppementaux associés à des dysfonctions de ce système (*PSMD12*, *OTUD6B*, *USP7*) dirige les investigations physiopathologiques vers cette voie cellulaire de dégradation protéique

Grâce à un recrutement international de patients, notre but est de décrire de manière plus exhaustive le phénotype lié aux mutations de *CUL4B*, et d'explorer la fonction protéasomale chez les patients.

Matériel et Méthodes

Nous avons identifié 17 variants dans *CUL4B*, issus de 23 individus de 22 familles différentes. Tous les sujets décrits sont de sexe masculin, et n'ont pas encore été rapportés dans la littérature.

Les caractéristiques moléculaires des variants sont décrites dans ce tableau:

Pat 1	Pat 2	Pat 3	Pat 4	Pat 5	Pat 6	Pat 7	Pat 8	Pat 9	Pat 10	Pat 11	
c.3618delinsGA, p.(V488T3Glyfs*13)	c.1450C>T, p.(Arg454*)	c.1450C>T, p.(Arg454*)	c.811_813del, p.(Gln271Aspfs*11)	c.408G>A, p.(Gln136*)	c.439_431delGCTC, p.(L43_144delEse)	c.2586_2589del, p.(Lys826)	c.3722C>T, p.(Gln908*)	c.1736_1737del, p.(Thr779Argfs*2)	c.2590_2591del, p.(Leu844Alafs*13)	c.348G>T, p.(Gln16His)	
fs*STOP	STOP	STOP	fs*STOP	STOP	inframe del	fs	STOP	fs*STOP	fs*STOP	missense	
Pat 12	Pat 13	Pat 14	Pat 15	Pat 16	Pat 17	Pat 18	Pat 19	Pat 20	Pat 21	Pat 22	Pat 23
c.1007_1011delTTATA, p.(Ile336Lysfs*2)	c.1007_1011delTTATA, p.(Ile336Lysfs*2)	c.2243_2244delTT, p.(Phe743Serfs*9)	c.2243_2244delTT, p.(Phe743Serfs*9)	c.7150>T, p.(Gln18His)	c.348G>T, p.(Gln16His)	C.1105>T, p.(Arg369*)	c.1405C>T, p.(Arg499*)	c.2722C>T, p.(Gln908*)	c.2590_2591delGCTTA, p.(Leu844Alafs*13)	c.1841 G>T, p.(Arg614Leu)	c.1303_1310>delAACCACCAATAAG
fs*STOP	fs*STOP	fs*STOP	fs*STOP	STOP	missense	STOP	STOP	STOP	fs*STOP	missense	frameshift del

Les tests fonctionnels sont réalisés sur lymphocytes T de patients, issus de PBMCs (Peripheral Blood Mononuclear Cells) après un prélèvement sanguin standard (EDTA)

Nous avons réalisés des Western Blot (WB) sur lysats protéiques de ces cellules en culture. L'étude de la fonction enzymatique du protéasome et le profil d'ubiquitination des patient a été effectué uniquement chez une partie des individus (les investigations moléculaires sont toujours en cours).

Résultats

Cliniques

	Tarpey et al. [2007]	Zou et al. [2007]	Isidor et al. [2009]	Our patients	Total
Hypotonia	NR	NR	NR	17/18	17/18
Motor delay	5/5	6/6	1/1	17/19	29/31
Speech delay	18/18	6/6	1/1	18/20	43/46
Short stature	7/11	6/6	1/1	11/22	25/40
Macrocephaly	8/11	0/6	0/1	5/21	13/39
Mental retardation	22/22	6/6	1/1	23/23	52/52
Aggressive outbursts	12/16	0/6	1/1	3/21	16/43
Tremors	11/13	1/5	1/1	6/20	19/39
Seizures	8/11	4/5	0/1	8/20	20/37
Obesity	15/19	0/6	0/1	3/22	18/47
Pes cavus	7/8	0/5	1/1	1/21	9/35
Small testes	10/15	1/5	1/1	4/22	16/43
Prominent lower lip	6/17	5/5	1/1	4/22	16/45
Gait ataxia	6/12	6/6	1/1	ND	13/19
Kyphosis	3/18	NR	1/1	3/19	7/38
Abnormal toes, wide 1-2 gap	11/13	NR	1/1	4/20	16/34
Abnormal MRI	ND	NR	0/1	12/19	12/20
TSA/autism	ND	NR	NR	7/21	7/21

Chez ces patients présentant une déficience intellectuelle liée à *CUL4B*, la majeure partie souffre d'une **déficience sévère** (61% dans notre cohorte). Un **retard de langage** important est présent chez 22/23 patients, quelque soit le degré de sévérité de l'atteinte cognitive.

Le **retard moteur est quasi-constant** avec un âge moyen de la marche à 30 mois (et 5 patients sans capacité à marcher après 24 mois).

On observe également un taux élevé d'anomalie à l'imagerie cérébrale (IRM). Une **épilepsie est présente chez 60%** des patients de notre cohorte, non corrélée à la présence d'anomalie(s) à l'imagerie.

La fréquence des **troubles du spectre autistique** est notablement plus élevée dans notre série de patient, avec 1/3 des sujets présentant ces troubles.



Figure 1- Dysmorphie Faciale chez 2 patients.
A-Patient 17, On retrouve des fentes palpébrales étroites, orientées en bas et en dehors, une racine du nez plate et large, et de petites oreilles basses implantées. La lèvre inférieure est légèrement charnue. B-Patient 7, noter les oreilles hypoplasiques en rotation postérieure, ainsi qu'une racine du nez plate et un front haut. La présence de ces signes dysmorphiques n'est pas constante, et on compte trois patients sans signes morphologiques faciaux particuliers.

Certains des signes cardinaux du syndrome sont présents chez nos patients avec une fréquence plus faible que les séries décrites auparavant (tremblement, anomalie des orverts et obésité notamment).

Explorations protéasomales

Chez le patient 15, nous avons mis en évidence de manière reproductible une élévation de l'activité chymotrypsin-like du protéasome (Fig 2C).

Sur gels natifs on constate également une augmentation des complexes protéasomiaux du patient versus contrôle (Fig 2B)

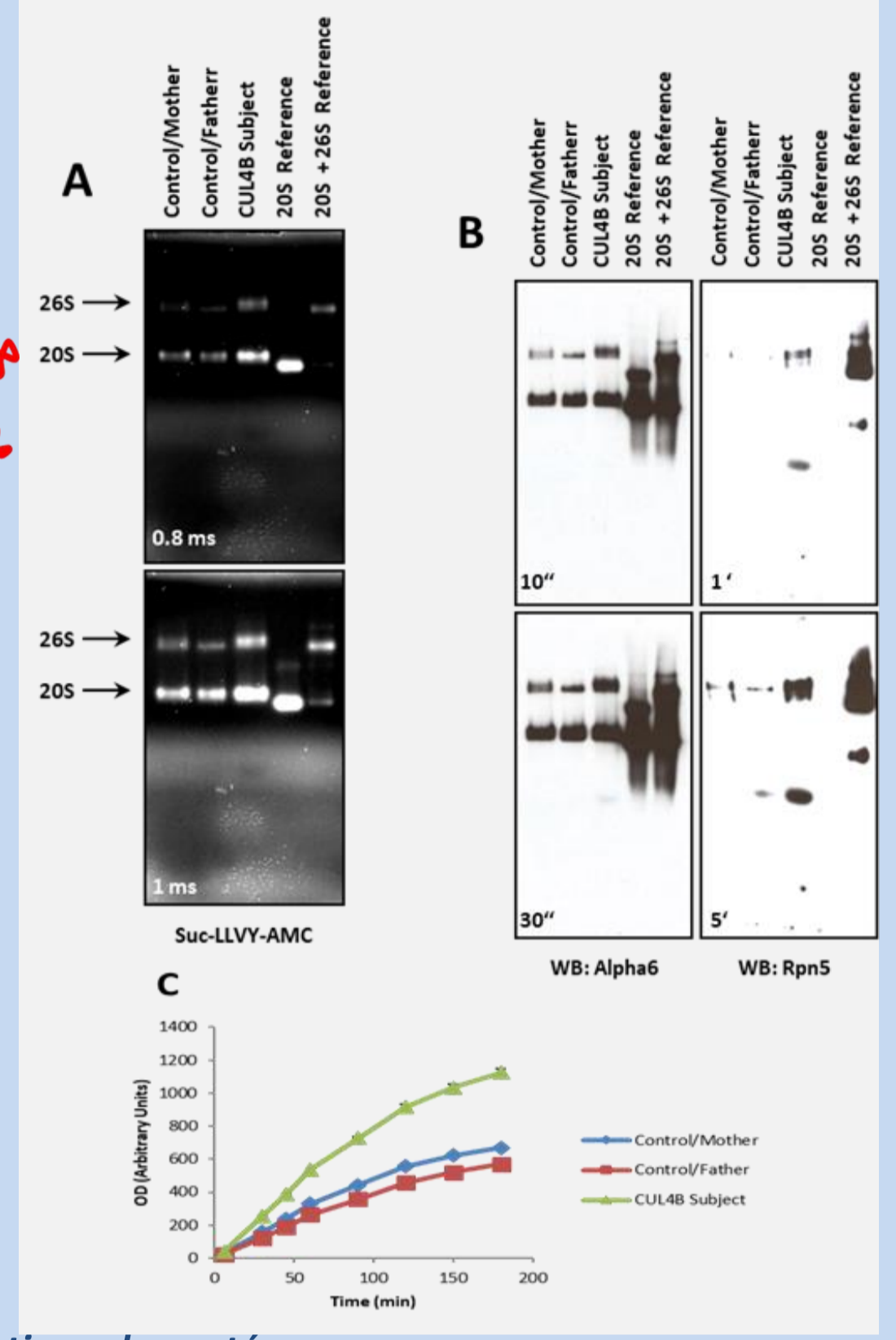
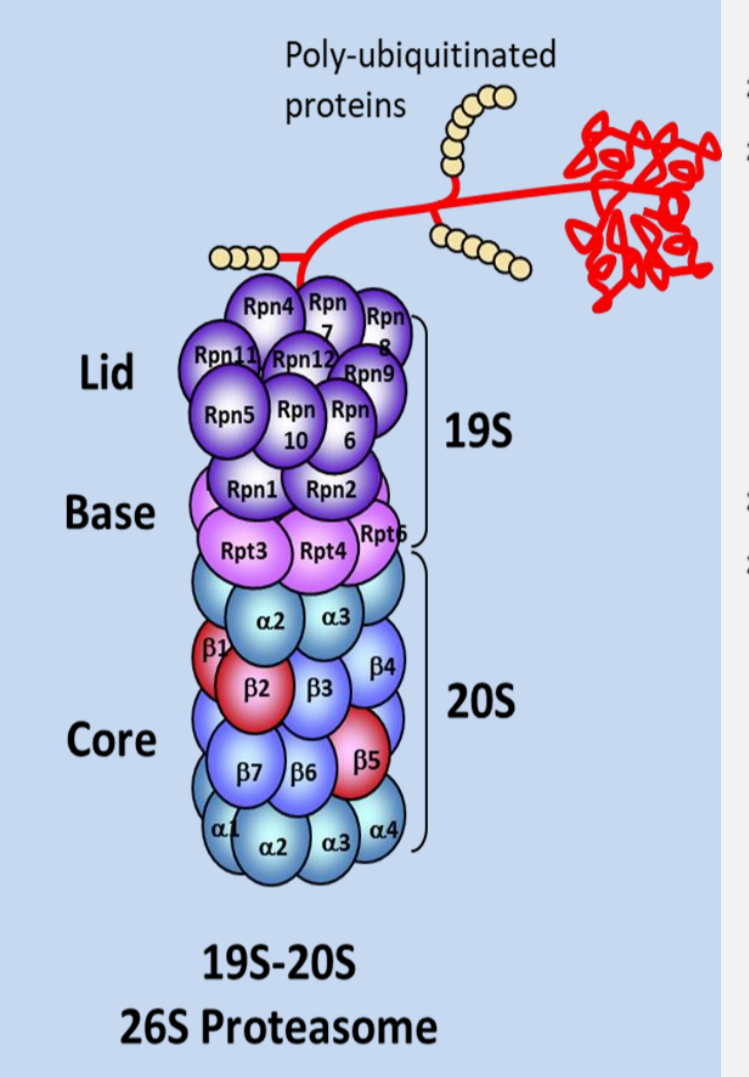


Figure 2- Chymotrypsin activity assay: quantification de l'activité enzymatique du protéasome
A-Estimation de l'activité protéolytique du protéasome après migration sur gel natif. La fluorescence émise est secondaire à la dégradation du Suc-LLVY-AMC, un substrat natif du protéasome 20S (cœur catalytique des complexes protéasomiaux). B-Gels natifs contre des sous-unités du protéasome 20S (a6) et 19S (Rpn5). Légère augmentation des complexes protéasomiaux chez le patient 15. C-Quantification de l'activité chymotrypsin-like du protéasome. Nette augmentation par rapport au contrôles (parents sain).

Discussion

Sur un plan clinique, la majorité des patients de notre cohorte ayant été diagnostiqué par séquençage non ciblé en absence d'orientation diagnostique spécifique, vient ainsi élargir le spectre de présentation de la déficience intellectuelle liée au gène *CUL4B* ne rendant pas compte du syndrome de Cabezas classiquement décrit.

CUL4B semble intervenir dans la régulation de l'activité protéasomale via les E3-Ubiquitine-ligases et sa dysfonction pourrait engendrer la perturbation de l'homéostasie cellulaire par ce biais. Nous explorons actuellement cette voie chez les patients porteurs de variants *CUL4B*, afin d'éclairer les mécanismes physiopathologiques conduisant à cette maladie neurodéveloppementale.

Remerciements

Nous remercions tout d'abord les patients et leurs familles, ainsi que tous les acteurs ayant permis la réalisation de ce travail.

Affiliations

1. CHU de Nantes, Service de Génétique Médicale, Nantes, France
2. L'institut du thorax, INSERM, CNRS, UNIV Nantes, Nantes
3. Institute of Medical Biochemistry and Molecular Biology, University of Medicine Greifswald, Germany
4. Lineagen, Salt Lake City, UT, USA
5. Inserm UMR 1231 GAD, Génétique des Anomalies du Développement, Dijon, France
6. Centre de référence «Anomalies du Développement et Syndromes Malformatifs», Centre de Génétique, Hôpital d'Enfants, CHU Dijon, Bourgogne Dijon, France
7. Neuroscience and Mental Health Institute, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.
8. Department of Medical Genetics, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.
9. Institute of Human Genetics, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany
10. Center for Applied Genomics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, Pennsylvania, USA
11. Division of Medical Genetics, Nemours/Alfred I. duPont Hospital for Children, Wilmington, DE 19803, USA
12. Children's Hospital of Pittsburgh of UPMC, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15224, USA
13. Department of Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine, Houston, TX 77021, USA
14. Université de Lille, EA7364 RADEME, Lille, France
15. Institut de génétique médicale, CHU Lille, France
16. Service de génétique clinique, CHU Lille, France
17. Kaiser Permanente, Los Angeles, USA
18. Specially For Children Genetics, Austin, Texas
19. Unité de Génétique, CHU Le Mans, France
20. GeneDX, Gaithersburg, MD 20877, USA