

Complexité diagnostique de la dentinogenèse imparfaite liée aux variants du gène *DSPP*

Gaétan Caravello^{1,2}, Alexandra Jimenez-Armijo^{1,3}, Marzena Kawczynski^{1,3}, Tristan Rey^{1,2,3}, Consortium O-Rares, Manuela Antin², Alison Roth², Jean-Baptiste Lamouche², Aurélie Gouronc², Abdelmalek Alioua⁴, Caroline Schluth Bolard^{2,5}, Agnès Bloch-Zupan^{1,3,6,7}

¹Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS), Pôle de Médecine et Chirurgie Bucco-dentaires, Hôpital Civil, Centre de référence des maladies rares orales et dentaires, O-Rares, Filière Santé Maladies rares TETECOU, European Reference Network ERN CRANIO, Strasbourg, France; ²Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Laboratoire de diagnostic génétique, Nouvel Hôpital Civil, Strasbourg, France; ³Université de Strasbourg, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire (IGBMC), INSERM U1258, CNRS-UMR7104, Illkirch, France; ⁴Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, CNRS, Université de Strasbourg, Strasbourg, France; ⁵Laboratoire de Génétique Médicale, INSERM URMS_1112, Institut de Génétique Médicale d'Alsace, Université de Strasbourg, Centre de Recherche en Biomédecine de Strasbourg, Strasbourg, France; ⁶Université de Strasbourg, Faculté de Chirurgie Dentaire, Strasbourg, France; ⁷Université de Strasbourg, Institut d'études avancées (USIAS), Strasbourg, France.

Introduction

La dentine est un tissu minéralisé produit par les odontoblastes, dont la matrice extracellulaire contient comme principale protéine non collagénique la **dentine sialoprotéine (DSP)**.

Le gène ***DSPP*** code trois protéines majeures de la matrice dentinaire (DSP, DPP et DGP) et est impliqué dans la **dentinogenèse imparfaite (DI)** et la **dysplasie dentinaire de type II (DD-II)**. Ces pathologies héréditaires se caractérisent par des anomalies dentaires variables : dents translucides brun-ambéré avec oblitération pulpaire (DI), anomalies radiologiques pulpaire isolées (DD-II).

Le gène *DSPP* :

- Est situé sur le chromosome 4, comporte un **exon 5 hautement répétitif** (>200 répétitions de 9 pb), concentrant la majorité des variants pathogènes.
- Cette région répétée rend le **séquençage par NGS short-read et Sanger peu performants**, avec un risque élevé de faux négatifs ou de résultats non interprétables.
- Les technologies de **séquençage à longues lectures**, en particulier **Oxford Nanopore Technologies (ONT)**, permettent une analyse plus fiable des régions complexes de *DSPP*.

Dans cette étude portant sur **112 individus issus de 42 familles**, l'intégration du séquençage ONT a permis d'améliorer significativement le rendement diagnostique, contribuant à l'identification fiable de variants *DSPP* dans **20 familles supplémentaires**. Ces résultats soutiennent l'utilisation du **séquençage à longues lectures comme stratégie de première ligne** dans le diagnostic moléculaire de la dentinogenèse imparfaite et de la dysplasie dentinaire (Figure 1).

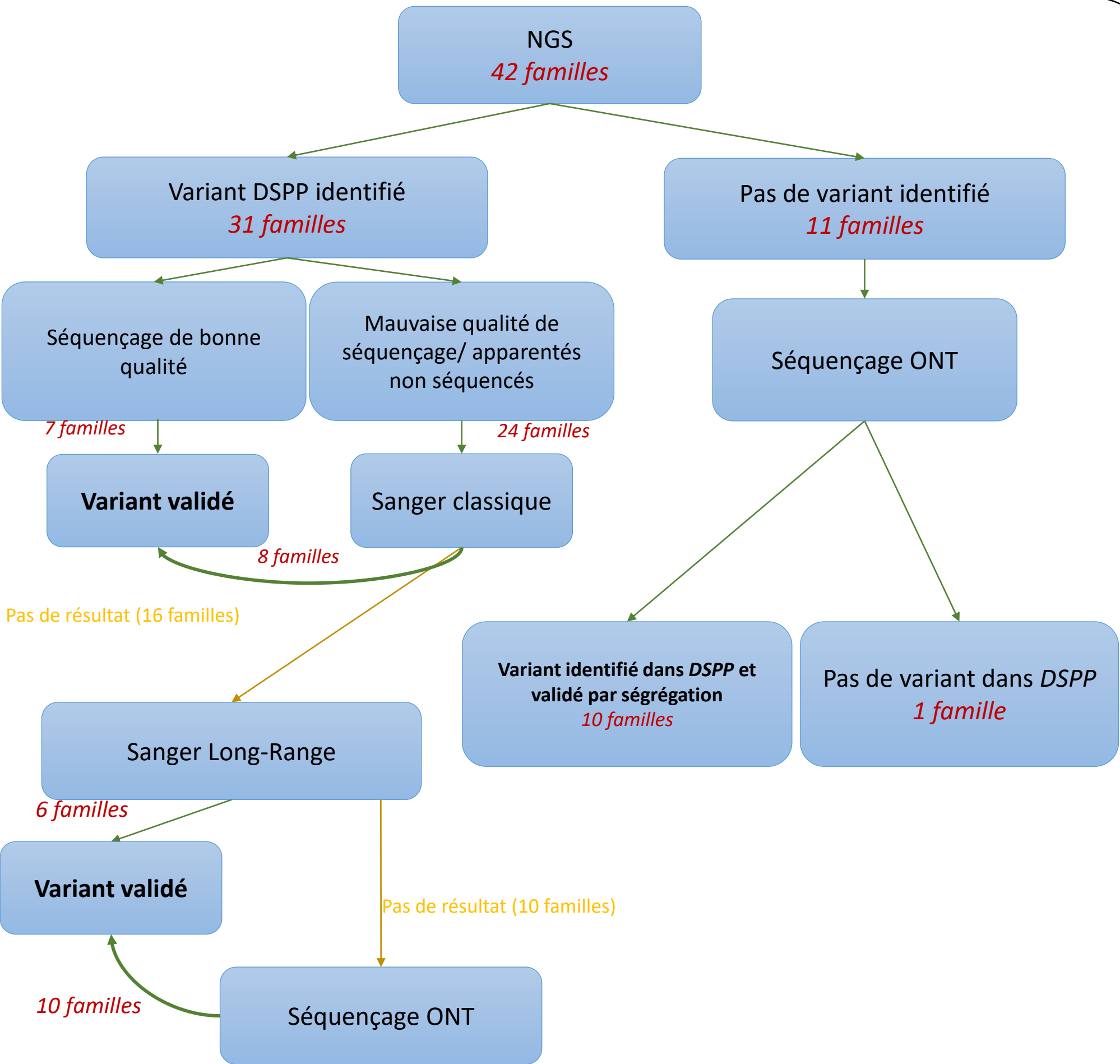


Figure 1 : Stratégie diagnostique et de validation des variants du gène *DSPP*

Résultats

1. Apport du séquençage ONT dans le diagnostic génétique de la DI/DD liée au gène *DSPP*

Le diagnostic moléculaire des DI/DD liées au gène *DSPP* est complexifié par la présence de régions hautement répétées, en particulier dans l'exon 5, limitant la performance du séquençage NGS short-read (Figure 2A). Dans notre cohorte, plusieurs variants pathogènes n'ont pu être validés par les approches conventionnelles en raison d'une faible couverture et d'un taux élevé d'erreurs de séquençage. L'utilisation du séquençage ONT, associée au génome de référence T2T, a permis de **résoudre ces régions complexes** (Figure 2B) et **d'identifier des variants pathogènes** non détectés ou mal caractérisés par le NGS, incluant **14 variants frameshift inédits** (Tableau 1). L'analyse de ségrégation familiale confirme une **transmission autosomique dominante**.

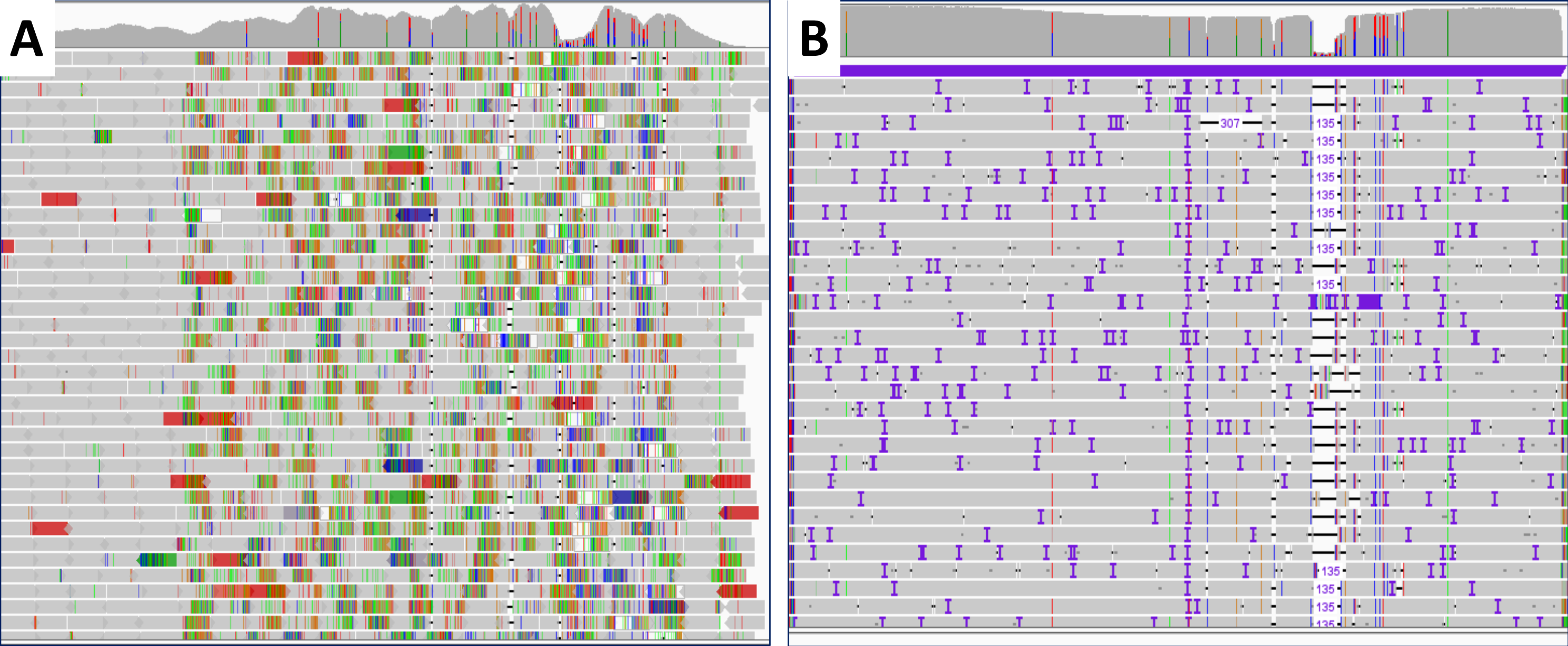


Figure 2 : Comparatif des données de séquençage obtenues en NGS short-read versus en séquençage ONT.

Le séquençage NGS short-read (A) présente une précision plus faible et un taux d'erreurs plus élevé que le séquençage ONT (B).

2. Atteintes cliniques liées à *DSPP*

La DI de type II associe une **anomalie de teinte avec une couleur ambrée** des dents, une **usure rapide de l'émail non soutenu** et de la **dentine à nue** et des anomalies radiographiques typiques (**couronnes bulbées**, **constriction cervicale**, **racines courtes** et **oblitération pulpaire**). La DD présente un phénotype similaire en denture temporaire, tandis que la denture permanente est cliniquement normale mais montre des **anomalies pulpaire** à l'imagerie.



Figure 3 : Phénotype dentaire chez des patients porteurs de variants de *DSPP*
Individu atteint de DI (gauche); individu atteint de DD (droite)

Familles/variant	Variant/localisation	Exon	Effet du variant	Critères ACMG	Méthode diagnostique
3	c.52G>T; p.(Val18Phe); (Xiao et al., 2001)	3	Faux-sens	PM5, PP3, PM2, PP1, PP5 (5)	NGS (1), NGS + Sanger Classique (2)
1	c.1688del; p.(Ser563Ilefs*751)	5	Frameshift	PVS1, PP4, PM2 (5)	NGS + Sanger Classique
3	c.1729_1924del; p.(Ser577Alafs*672)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1 (5)	NGS (exome) + Sanger Classique (1), NGS + ONT (2)
4	c.1814del; p.(Ser605Metfs*709)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1, PP4 (5)	NGS (2), NGS + Sanger Classique (2)
1	c.1874_1877del; p.(Asp625Alafs*688); (Li et al., 2017)	5	Frameshift	PS4, PP1, PP4, PVS1, PM2 (5)	NGS + Sanger Classique
1	c.1887del; p.(Glu630Argfs*684)	5	Frameshift	PP1, PP4, PVS1, PM2 (5)	ONT
1	c.1918_1921del; p.(Ser640Thrfs*673); (McKnight et al., 2008)	5	Frameshift	PVS1, PP4, PM2, PP5 (5)	NGS
1	c.1937del; p.(Asn646Thrfs*668)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP4 (5)	ONT
1	c.2100del; p.(Ser701Alafs*613)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP4, PP1 (5)	NGS + ONT
1	c.2483del; p.(Asn828Ilefs*486)	5	Frameshift	PVS1, PP4, PM2 (5)	ONT
3	c.2525del; p.(Ser842Thrfs*472); (McKnight et al., 2008)	5	Frameshift	PVS1, PP5, PM2, PS4 (5)	NGS (1), NGS + ONT (2)
8	c.2652del; p.(Asp884Glufs*430)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1, PP4 (5)	NGS (1), NGS + ONT (1), ONT (6)
1	c.2827del; p.(Asp943Thrfs*371)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP4, PP1 (5)	ONT
1	c.3006del; p.(Asn1002Lysfs*312)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP4 (5)	NGS + ONT
1	c.3050del; p.(Asn1017Ilefs*297)	5	Frameshift	PVS1, PM2 (4)	NGS
1	c.3180del; p.(Ser1060Argfs*254)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP4 (5)	NGS + ONT
2	c.3480del; p.(Ser1160Argfs*154); (Prasad et al., 2016)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1, PP4 (5)	NGS + Sanger Long-Range (1), NGS + ONT (1)
1	c.3534delinsTAA; p.(Asn1179Thrfs*136); (Prasad et al., 2016)	5	Frameshift	PVS1, PM2 (4)	NGS + Sanger Long-Range
1	c.3548del; p.(Ser1183Thrfs*131)	5	Frameshift	PVS1, PM2 (4)	NGS + Sanger Long-Range
3	c.3676del; p.(Ser1226Afs*88); (Bloch-Zupan et al., 2016)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1 (5)	NGS + Sanger Long-Range
1	c.3682_3685del; p.(Ser1228Valfs*85); (Prasad et al., 2016)	5	Frameshift	PVS1, PM2, PP1, PP4 (5)	NGS + Sanger Classique
1	c.3743del; p.(Asn1248Thrfs*66);	5	Frameshift	PVS1, PM2 (4)	NGS + ONT

Tableau 1 : Variations du gène *DSPP* (NM_014208.3) retrouvées au sein de notre cohorte
Variants en gras = variants nouvellement identifiés

Conclusion

Le séquençage ONT permet de **dépasser les limites du NGS** dans les régions répétées du gène *DSPP*, **d'augmenter significativement le rendement diagnostique des DI/DD** et **d'élargir le spectre mutationnel identifié**. Son intégration en routine diagnostique représente un atout majeur pour une caractérisation génétique fiable et une **prise en charge optimisée** des patients. Une **nouvelle stratégie diagnostique** fondée sur cette approche est proposée (Figure 4).

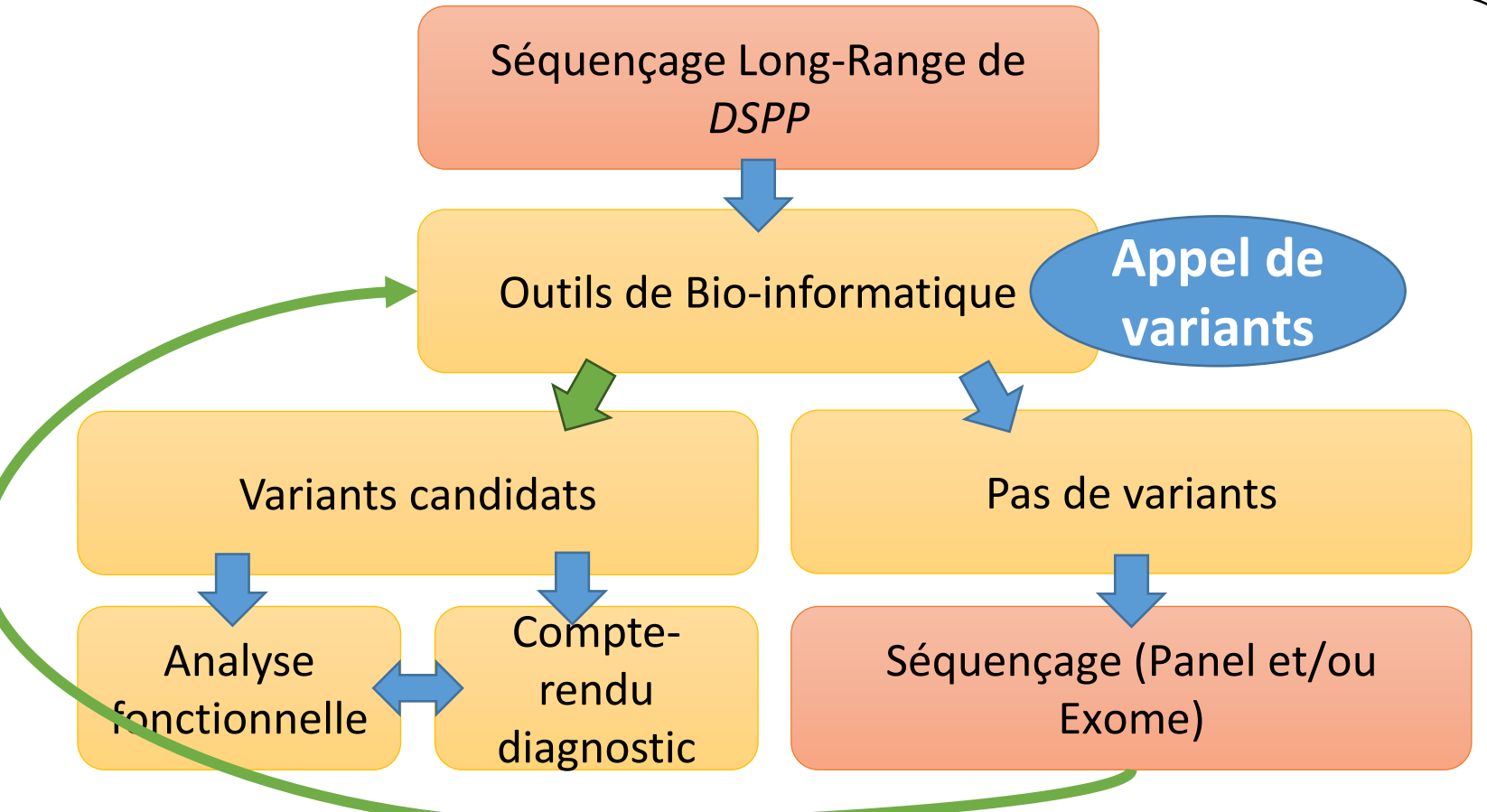


Figure 4 : Proposition de nouvelle stratégie diagnostique dans le cadre de DI/DD

Remerciements

Nous remercions chaleureusement les patients et leurs familles pour leur participation essentielle à cette étude, ainsi que l'ensemble des professionnels de santé impliqués pour leur engagement et leur prise en charge des patients. Ce travail est soutenu par les HUS; INTERREG; l'ARS; la fondation maladies rares e-santé; l'AMI; la MIG F04 maladies rares; la DGOS; le Ministère des solidarités et de la Santé; la fondation FORCE; E-GENODENT; Fonds d'Intervention Régionale de l'Agence Régionale de Santé Grand Est Innovation en santé (2019-2022); la Filière TETE COU; l'ANR.