

Paper of the month, Januar 2018

Hot-spot KIF5A mutations cause familial ALS

David Brenner, Rüstem Yilmaz, Kathrin Müller, Torsten Grehl, Susanne Petri, Thomas Meyer, Julian Grosskreutz, Patrick Weydt, Wolfgang Ruf, Christoph Neuwirth, Markus Weber, Susana Pinto, Kristl G. Claeys, Berthold Schrank, Berit Jordan, Antje Knehr, Kornelia Günther, Annemarie Hübers, Daniel Zeller, The German ALS network MND-NET, Christian Kubisch, Sibylle Jablonka, Michael Sendtner, Thomas Klopstock, Mamede de Carvalho, Anne Sperfeld, Guntram Borck, Alexander E. Volk, Johannes Dorst, Joachim Weis, Markus Otto, Joachim Schuster, Kelly del Tredici, Heiko Braak, Karim M. Danzer, Axel Freischmidt, Thomas Meitinger, Tim M. Strom, Albert C. Ludolph, Peter M. Andersen and Jochen H. Weishaupt.

Brain. 2018 Jan 12. doi: 10.1093/brain/awx370. [Epub ahead of print]

Forscher der Ulmer Universitätsmedizin und des Forschungsverbundes für Motoneuronenerkrankungen „MND-NET“ haben Mutationen im KIF5A-Gen entdeckt, welche die erbliche Variante der neurodegenerativen Erkrankung Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) auslösen können. ALS ist eine komplexe und derzeit unheilbare neurodegenerative Erkrankung, die zum Untergang der motorischen Nervenzellen und somit zu stetig fortschreitenden Lähmungen führt. Die relativ seltene Krankheit – etwa drei von 100 000 Personen sind jährlich neu betroffen – führt innerhalb von drei bis fünf Jahren nach Krankheitsbeginn zum Tod. Die Krankheitsentstehung ist noch nicht genau verstanden.

Nun haben Wissenschaftler das Erbgut von 426 Patienten mit familiärer ALS mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen (mittels sogenannter „Gesamt-Exom-Sequenzierung“). Die Forscher aus dem Forschungsverbund MND-NET konnten bei ALS-Patienten drei so genannte Spleißstellen-Mutationen in der C-terminalen Domäne des Gens KIF5A identifizieren, die zu einem Funktionsverlust des entsprechenden Gens führen. Bei drei untersuchten Familien war die Vererbung der Krankheit über mehrere Generationen hinweg an eine solche Mutation gekoppelt. Darüber hinaus fanden die Autoren bei etlichen Patienten mit familiärer ALS eine Anreicherung des *Einzelnukleotid-Polymorphismus* (Single Nucleotide Polymorphism/SNP) rs113247976, der ebenfalls das KIF5A-Gen betrifft. „Bei sechs Prozent der familiären ALS-Patienten konnten wir diesen Polymorphismus nachweisen und wiederum 50 Prozent von ihnen hatten mindestens eine Mutation in einem anderen bekannten ALS-Gen.“ Von allen genetischen Veränderungen, die seit 1993 weltweit bei ALS-Patienten gefunden wurden, sei rs113247976 der häufigste genetische Faktor, der zur Krankheitsentstehung beitrage.

Das KIF5A-Gen ist der Bauplan für ein Protein, das am Transport von Substanzen im Axon einer Nervenzelle beteiligt ist. Die Studienergebnisse unterstreichen also die Bedeutung von intrazellulären Transportprozessen bei der ALS-Krankheitsentstehung. Zudem sind weitere neurologische Erkrankungen mit unterschiedlichen Veränderungen im KIF5A-Gen assoziiert (hereditäre spastische Paraplegie, Charcot-Marie-Tooth-Krankheit Typ 2, *Neonatal intractable myoclonus*).

„Zusammenfassend fügt diese Studie *KIF5A* zu einer stetig wachsenden Liste von Genen hinzu, die ALS verursachen, und erweitert das Spektrum von Mutationen in diesem Gen“, betont Professor Albert Ludolph, Ärztlicher Direktor der Ulmer Universitätsklinik für Neurologie. Die hohe Prävalenz des SNP rs113247976 bei familiären ALS-Patienten befeuert zudem die Hypothese eines Zusammenspiels verschiedener Gendefekte in einem Patienten.

Kommentar von:

Prof. Dr. Jochen Weishaupt; jochen.weishaupt@uni-ulm.de

Paper of the month, Februar 2018

Human TGF- β 1 deficiency causes severe inflammatory bowel disease and encephalopathy

Daniel Kotlarz, Benjamin Marquardt, Tuva Barøy, Way S. Lee, Liza Konnikova, Sebastian Hollizeck, Thomas Magg, Anna S. Lehle, Christoph Walz, Ingo Borggraefe, Fabian Hauck, Philip Bufler, Raffaele Conca, Sarah M. Wall, Eva M. Schumacher, Doriana Misceo, Eirik Frengen, Beint S. Bentsen, Holm H. Uhlig, Karl-Peter Hopfner, Aleixo M. Muise, Scott B. Snapper, Petter Strømme & Christoph Klein

Nature Genetics 2018, published online 26 Februar 2018

Seit vielen Jahrzehnten ist der Botenstoff TGF- β 1 bekannt, doch seine Bedeutung wird immer noch kontrovers diskutiert. Ärzte und Wissenschaftler des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der LMU-Medizin haben im Rahmen des Verbunds Primäre Immundefizienzen (PID-Net) und eines internationalen Netzwerkes jetzt erstmals Kinder mit einem TGF- β 1-Funktionsverlust identifiziert. Damit könnten sich Möglichkeiten für die Therapie dieser seltenen Erkrankung eröffnen.

Mahmut (Name geändert) lebt mit seiner Familie in Malaysia. Bereits kurz nach seiner Geburt begann sein Leiden, er hatte eine schwere Darmentzündung, Entwicklungsverzögerungen und zentralnervöse Auffälligkeiten. Niemand in seinem Heimatland konnte ihm wirklich helfen. Sein betreuender Arzt hörte von den wissenschaftlichen Aktivitäten am Dr. von Haunerschen Kinderspital und wendete sich an Professor Christoph Klein.

Unter der Leitung von Klein kümmerte sich ein klinisches Team von Experten der pädiatrischen Gastroenterologie, pädiatrischen Immunologie und pädiatrischen Neurologie um den Patienten. Nach intensiver Arbeit identifizierten die Forscher Mutationen in Mahmuts Gen für das Zytokin TGF- β 1. Die Wissenschaftler hatten damit eine bislang unbekannte Erkrankung entdeckt, „die zwar höchst selten vorkommt, aber wichtige Einsichten vermittelt“, wie Christoph Klein betont. Obwohl dieser Botenstoff seit Jahrzehnten bekannt ist und in vielfältigen Studien untersucht wurde, ist seine Bedeutung für die Entwicklung des menschlichen Organismus und die Funktion verschiedener Organsysteme immer noch nicht gut verstanden. Das Schicksal von Mahmut und inzwischen zwei weiteren Kindern aus Norwegen zeigt nun nicht nur eine zentrale Rolle von TGF- β 1 für die immunologische Balance im Darm und die Entwicklung des zentralen Nervensystems. Sie eröffnet auch neue Horizonte für eine gezielte Therapie.

„Mahmuts Fall hat uns gezeigt, wie wichtig es ist, über die Grenzen der Fachdisziplinen hinauszudenken, um die Ursachen unerkannter Erkrankungen aufzuspüren“, sagt Daniel Kotlarz, geteilter Erstautor der Studie mit Herrn Benjamin Marquardt. Die Untersuchung von Kindern mit seltenen Erkrankungen könne einen wichtigen Beitrag dazu leisten, Funktionen von Genen und Signalwegen im menschlichen Organismus zu erklären. Das, so Kotlarz weiter, „ist wichtig für die Entwicklung neuer Therapieansätze.“

Die Aufklärung der genetischen Ursachen ist ein erster entscheidender Schritt. Für Kinder mit TGF- β 1-Defizienz eröffnen sich nun neue Chancen. Denn eine Behandlung mit einem gentechnisch produzierten Zytokin sollte, so die Ärzte, einen günstigen Einfluss auf die Erkrankung haben. Mit Hochdruck arbeitet das Team nun daran, einen solchen Wirkstoff verfügbar zu machen, um betroffenen Patienten zu helfen.

Paper of the month, March 2018

Mutations in the BAF-Complex Subunit DPF2 Are Associated with Coffin-Siris Syndrome

The American Journal of Human Genetics 2018; March 1, <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.01.014>

Georgia Vasileiou, Silvia Vergarajauregui, Sabine Endeke, Bernt Popp, Christian Büttner, Arif B. Ekici, Marion Gerard, Nuria C. Bramswig, Beate Albrecht, Jill Clayton-Smith, Jenny Morton, Susan Tomkins, Karen Low, Astrid Weber, Maren Wenzel, Janine Altmüller, Yun Li, Bernd Wollnik, George Hoganson, Maria-Renée Plona, Megan T. Cho, Deciphering Developmental Disorders Study, Christian T. Thiel, Hermann-Josef Lüdecke, Tim M. Strom, Eduardo Calpena, Andrew O.M. Wilkie, Dagmar Wiczorek, Felix B. Engel, André Reis

Das Coffin-Siris-Syndrom (CSS) ist eine psychomotorische Entwicklungsstörung. Ursache sind Neumutationen in einzelnen Mitgliedern des BAF-Chromatin-Remodeling-Komplexes. Im Forschungsnetzwerk Chromatin-Net beschäftigen wir uns mit CSS und anderen seltenen Erkrankungen, die mit einer gestörten Chromatin-Dynamik assoziiert sind. In dieser Studie berichten wir nun über Neumutationen im DPF2-Gen (*double plant homeodomain finger 2*), welches für eine BAF-Untereinheit kodiert und bisher mit keiner Erkrankung in Zusammenhang gebracht wurde. Bei insgesamt 8 Patienten mit typischen klinischen Merkmalen des CSS identifizierten wir jeweils heterozygote DPF2-Neumutationen. Die Hauptsymptome sind eine globale Entwicklungsverzögerung, variable kognitive Einschränkungen, eine ausgeprägte Sprachstörung und verschiedene körperliche Auffälligkeiten. Charakteristisch ist außerdem das Fehlen oder eine Unterentwicklung der Fingernägel und/oder Zehennägel. In umfangreichen funktionellen *in vitro* Studien konnten wir eine durch die Mutationen bedingte Beeinträchtigung der Strukturintegrität und Kohäsion der PHD-Fingerdomänen von DPF2 zeigen, die wiederum zu einer gestörten Erkennung von Histonmodifikationen führt und somit zu einer beeinträchtigten Genregulation. Auf Grund unserer Daten vermuten wir außerdem einen dominant-negativen Mutationsmechanismus. Unsere Studie unterstreicht die Rolle gestörter Chromatin Regulation in der Entstehung verschiedener psychomotorischer Entwicklungsstörungen sowie den Zusammenhang von Mutationen des BAF-Komplexes mit der Ätiologie des CSS.

Der BAF- Komplex, auch bekannt als SWI/SNF-A-Komplex, ist ein Multiproteinkomplex, der an der Aktivierung oder Repression der Gentranskription durch die Modifikation der Nucleosomenstruktur beteiligt ist. Nucleosomen sind die Bausteine des Chromatins, der funktionellen Form der DNA im Zellkern. Dabei ist die DNA um ein Histonoktamer aus je zwei Kernhistonen H2A, H2B, H3 und H4 gewunden. DPF2 enthält zwei PHD (plant homeodomain) Domänen, die spezielle Histonmodifikationen, wie Methylierung und Acetylierung erkennen. Proteine mit PHD-Fingern spielen eine wichtige Rolle in der Transkriptionsregulation. Alle identifizierten DPF2-Mutationen waren innerhalb der evolutionär hoch konservierten PHD1- und PHD2-Zinkfingerdomäne lokalisiert. Wir konnten für einzelne Mutationen eine beeinträchtigte Bindung an unmodifizierte und modifizierte H3-Histone nachweisen, während die Interaktion mit H4-Histonen unverändert blieb. Expression mutierter DPF2-Proteine führte zur Entstehung von Aggregaten des BAF-Komplexes im Zellkern verschiedener Zelllinien, entsprechend dem dominant-negativen Mutationsmechanismus. Die durch Mutationen veränderte Proteinkonformation und gestörte Chromatin-Erkennung führt zu einer beeinträchtigten Genregulation. Wie genau diese Störungen der Zellfunktion dann zu Entwicklungsstörungen führen, muss in weiteren Studien untersucht werden.

Kommentar von: Georgia Vasileiou, georgia.vasileiou@uk-erlangen.de

Paper of the month, March 2018

Mutations in the BAF-Complex Subunit DPF2 Are Associated with Coffin-Siris Syndrome

The American Journal of Human Genetics 2018; March 1, <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.01.014>

Georgia Vasileiou, Silvia Vergarajauregui, Sabine Ende, Bernt Popp, Christian Büttner, Arif B. Ekici, Marion Gerard, Nuria C. Bramswig, Beate Albrecht, Jill Clayton-Smith, Jenny Morton, Susan Tomkins, Karen Low, Astrid Weber, Maren Wenzel, Janine Altmüller, Yun Li, Bernd Wollnik, George Hoganson, Maria-Renée Plona, Megan T. Cho, Deciphering Developmental Disorders Study, Christian T. Thiel, Hermann-Josef Lüdecke, Tim M. Strom, Eduardo Calpena, Andrew O.M. Wilkie, Dagmar Wiczorek, Felix B. Engel, André Reis

Coffin-Siris syndrome (CSS) is a rare neurodevelopmental disorder caused by *de novo* mutations in subunits of the BAF chromatin-remodelling complex. This and other disorders associated with aberrant chromatin dynamics are the research topic of the network Chromatin-Net. In this study we report *de novo* mutations in DPF2 (double plant homeodomain finger 2), a gene encoding a BAF subunit not previously associated with any disease. We identified in total 8 patients with clinical manifestations significantly overlapping those observed in CSS, carrying heterozygous *de novo* mutations in DPF2. Affected individuals presented with global developmental delay, variable degree of intellectual disability, speech impairment and physical anomalies, the most prominent being absent or hypoplastic finger- and/or toenails. Extensive functional *in vitro* studies revealed that the mutations tested impair the structural integrity and cohesion of DPF2 PHD fingers, leading to an aberrant recognition of histone modifications. Our data also suggest a dominant-negative effect of the identified mutations. This study confirms the role of aberrant chromatin regulation in the development of a subset of neurodevelopmental disorders and strengthens the association of mutations affecting the function of BAF complex with the etiology of CSS.

BAF chromatin-remodeling complex, also known as the SWI/SNF-A complex, is a multiprotein machinery implicated in the activation or repression of gene transcription via modification of nucleosome structure. Nucleosomes are the building blocks of chromatin in the nucleus. They are comprised of DNA wrapped around a histone octamer consisting of two copies each of the core histones H2A, H2B, H3 and H4. DPF2 contains two PHD (plant homeodomain) zinc fingers, domains which recognize specific histone modifications such as methylation and acetylation. PHD-finger-containing proteins have been associated with transcriptional regulation. All mutations found in patients clustered within the evolutionary highly conserved PHD1 and PHD2 zinc fingers of DPF2. Experimental assays revealed that the mutations tested impair DPF2 binding to unmodified and modified H3 histones, whereas its interaction with H4 histone modifications remained intact. Furthermore, we showed that expression of DPF2 mutants in different cell lines resulted in the formation of nuclear aggregates which also included other subunits of the BAF complex. This was in line with a dominant-negative mechanism of action of the mutations identified. The resulting aberrant DPF2 protein conformation and the misreading of histone modifications lead to deregulation of gene expression. Further studies are necessary to elucidate how these cell function abnormalities finally result in neurodevelopmental delay disorders.

Comment by

Georgia Vasileiou, georgia.vasileiou@uk-erlangen.de

Paper of the month, April 2018

Autosomal recessive Noonan syndrome associated with biallelic LZTR1 variants.

Johnston JJ, van der Smagt JJ, Rosenfeld JA, Pagnamenta AT, Alswaid A, Baker EH, Blair E, Borck G, Brinkmann J, Craigen W, Dung VC, Emrick L, Everman DB, van Gassen KL, Gulsuner S, Harr MH, Jain M, Kuechler A, Leppig KA, McDonald-McGinn DM, Can NTB, Peleg A, Roeder ER, Rogers RC, Sagi-Dain L, Sapp JC, Schäffer AA, Schanze D, Stewart H, Taylor JC, Verbeek NE, Walkiewicz MA, Zackai EH, Zweier C; Members of the Undiagnosed Diseases Network, Zenker M, Lee B, Biesecker LG.

Genet Med. 2018 Feb 22. doi: 10.1038/gim.2017.249. [Epub ahead of print]

Das Noonan-Syndrom ist eine der häufigsten genetisch bedingten Erkrankungen (geschätzte Häufigkeit etwa 1:3.000) und geht mit angeborenen Herzfehlern, Wachstums- und Entwicklungsstörungen einher. Seit 2001 wurden Mutationen in über 15 Genen, deren Genprodukte an der Steuerung des sog. RAS-MAPK-Signalweg beteiligt sind, als Ursache für dieses Syndrom gefunden. LZTR1 wurde erst vor Kurzem als neues Gen für das Noonan-Syndrom publiziert (Yamamoto et al.: J Med Genet 2015). Die Vererbung des Noonan-Syndroms ist für alle bislang genetisch geklärten Formen autosomal-dominant mit einer hohen Rate an Neumutationen. Für frühere klinische Beobachtungen von Familien mit scheinbar autosomal-rezessiver Vererbung des Noonan-Syndroms fehlte bisher die molekulargenetische Bestätigung.

In der vorliegenden Arbeit beschreiben die Autoren erstmals mehrere Familien mit autosomal-rezessiver Vererbung des Noonan-Syndroms aufgrund von biallelischen LZTR1-Mutationen. Während die Eltern, die jeweils nur eine heterozygote Mutation tragen, keine klinischen Auffälligkeiten aufweisen, zeigen Kinder, die von beiden Eltern die LZTR1-Mutation erben, Zeichen des Noonan-Syndroms unterschiedlicher Ausprägung, zum Teil mit schwerwiegenden Komplikationen durch Herz-Gefäßanomalien und Leukämien. Diese Mutationen führen wahrscheinlich zum weitgehenden (aber nicht vollständigen) Verlust der Funktion von LZTR1 und unterscheiden sich von den dominant wirkenden LZTR1-Mutationen, die vorher beschrieben wurden. Die Ergebnisse dieser Arbeit belegen erstmals die Existenz eines autosomal-rezessiv vererbten Noonan-Syndroms und haben damit große Bedeutung für die Diagnostik sowie die Beratung und Risikoeinschätzung in betroffenen Familien. Andererseits wirft diese Beobachtung auch ein neues Licht auf die Bedeutung und mögliche Funktion von LZTR1 als Modulator des RAS-MAPK-Signalwegs, was Gegenstand weiterer Forschungen sein wird.

Kommentar von:

Martin Zenker, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, April 2018

Autosomal recessive Noonan syndrome associated with biallelic LZTR1 variants.

Johnston JJ, van der Smagt JJ, Rosenfeld JA, Pagnamenta AT, Alswaid A, Baker EH, Blair E, Borck G, Brinkmann J, Craigen W, Dung VC, Emrick L, Everman DB, van Gassen KL, Gulsuner S, Harr MH, Jain M, Kuechler A, Leppig KA, McDonald-McGinn DM, Can NTB, Peleg A, Roeder ER, Rogers RC, Sagi-Dain L, Sapp JC, Schäffer AA, Schanze D, Stewart H, Taylor JC, Verbeek NE, Walkiewicz MA, Zackai EH, Zweier C; Members of the Undiagnosed Diseases Network, Zenker M, Lee B, Biesecker LG.

Genet Med. 2018 Feb 22. doi: 10.1038/gim.2017.249. [Epub ahead of print]

Noonan syndrome is one of the most common genetic diseases with an estimated frequency of about 1 in 3,000. It is characterized by congenital cardiac anomalies as well as impaired growth and developmental delay. Since 2001, mutations in over 15 genes have been found to be causative for this syndrome. The products of these genes have in common that they are involved in the regulation of signalling through the RAS-MAPK pathway. LZTR1 is one of the most recently published genes for Noonan syndrome (Yamamoto et al.: J Med Genet 2015). Inheritance for all previously identified genetic defects leading to Noonan syndrome is uniformly autosomal dominant with a high proportion of *de novo* mutations. For previously observed instances of apparent autosomal recessive inheritance of Noonan syndrome, any molecular confirmation has been lacking, so far.

In the present article, the authors describe for the first time autosomal recessive inheritance of Noonan syndrome due to biallelic LZTR1 mutations in several families. While parents, who are carriers of heterozygous LZTR1 variants only, lack any phenotypic abnormalities, their children carrying mutations on both LZTR1 alleles display clinical features of Noonan syndrome with variable severity including also some lethal cases with cardiovascular disease and leukemia. The underlying LZTR1 mutations are supposed to lead to a (probably incomplete) loss of LZTR1 function and are different from previously described mutations that act in a dominant manner. These clinical and genetic data confirm the existence of a form of Noonan syndrome that is inherited in an autosomal recessive pattern. This knowledge is relevant for molecular diagnosis as well as counselling and risk estimation in affected families. Moreover, these findings shed a new light on the significance and possible function of LZTR1 as a modulator of RAS-MAPK signalling, which will have to be addressed by future studies.

Comment by

Martin Zenker, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, Mai 2018

Study of Intraventricular Cerliponase Alfa for CLN2 Disease.

Schulz A, Ajayi T, Specchio N, de Los Reyes E, Gissen P, Ballon D, Dyke JP, Cahan H, Slasor P, Jacoby D, Kohlschütter A; CLN2 Study Group.

N Engl J Med. doi: 10.1056/NEJMoa1712649. (2018)

Die CLN2-Erkrankung, eine seltene, vererbte, pädiatrische, neurodegenerative lysosomale Speicherkrankheit, die durch einen Mangel an TPP1-Enzym verursacht wird, ist durch Epilepsie, Verlust von Sprache und Motorik, Blindheit und frühen Tod gekennzeichnet. Eine Phase-1/2-Studie (NCT01907087) zeigte, dass die intracerebroventrikuläre (ICV) Infusion von 300 mg Cerliponase alfa, einem rekombinanten humanen TPP1-Enzym, jede zweite Woche über 48 Wochen das Fortschreiten der motorischen und sprachlichen Funktion verlangsamte. In einer laufenden Verlängerungsstudie (NCT02485899) wird die Langzeit-Sicherheit und Wirksamkeit von ICV-verabreichtem Cerliponase alfa bei Kindern mit CLN2-Erkrankung für bis zu 240 Wochen untersucht.

Kumulative Daten aus beiden Studien wurden verwendet, um die Sicherheit (nach Häufigkeit der Nebenwirkungen bewertet) und die Wirksamkeit (beurteilt anhand von Änderungen der klinischen CLN2-Skala für Motorik und Sprache) zu bewerten. Behandelte Patienten wurden mit Patienten aus einer unabhängigen Studie zum natürlichen Krankheitsverlauf verglichen.

24 Probanden wurden in der Phase-1/2-Studie zunächst mit Cerliponase alfa behandelt (9 männlich, 15 weiblich, mittleres Alter (SD) 4,3 Jahre (1,24)); in die Verlängerungsstudie sind noch 23 Probanden eingeschlossen (96 bis 161 Wochen Gesamtexposition, Median 116 Wochen). Sicherheitsdaten zeigten, dass alle Probanden unerwünschte Ereignisse (AE) hatten; die meisten waren Grad 1-2 und Teil der zugrundeliegenden neurodegenerativen Erkrankung. Häufige arzneimittelbedingte Nebenwirkungen waren Pyrexie, Erbrechen und Epilepsie. Zwanzig (83%) Probanden hatten mindestens eine schwere Nebenwirkung, die mit der neurodegenerativen Erkrankung vereinbar war. Die Wirksamkeitsdaten zeigten einen deutlich langsameren Abfall des Motorik- und Sprach-Scores unter der Behandlung mit Cerliponase alfa: Behandelte Patienten hatten einen Verlust von 0,27 Scoring-Punkten / 48 Wochen ($p < 0,0001$) im Vergleich zu einer Abnahme von 2,0 Punkten / 48 Wochen bei unbehandelten Patienten. Die Responderrate (< 2 Punktverlust pro 48 Wochen) nach 96 Wochen (87%, $p < 0,0002$) war im Vergleich zu der nach 48 Wochen beobachteten Rate unverändert, was auf einen anhaltenden Behandlungseffekt hindeutet.

Schlussfolgerung: Diese Daten weisen darauf hin, dass die Enzyersatztherapie mit ICV-verabreichtem Cerliponase alfa ein akzeptables Sicherheitsprofil und eine anhaltende Wirkung über die Zeit aufweist.

Kommentar von: Dr. med Angela Schulz

Paper of the month, May 2018

Study of Intraventricular Cerliponase Alfa for CLN2 Disease.

Schulz A, Ajayi T, Specchio N, de Los Reyes E, Gissen P, Ballon D, Dyke JP, Cahan H, Slasor P, Jacoby D, Kohlschütter A; CLN2 Study Group.

N Engl J Med. doi: 10.1056/NEJMoa1712649. (2018)

CLN2 disease, a rare, inherited, pediatric, neurodegenerative lysosomal storage disorder caused by TPP1 deficiency, is characterized by seizures, language and motor function loss, blindness and early death. A phase 1/2 study (NCT01907087) demonstrated that intracerebroventricular (ICV) infusion of 300 mg cerliponase alfa, a recombinant human TPP1 enzyme, every other week for 48 weeks slowed progression in motor and language function. An ongoing extension study (NCT02485899) assesses the long-term safety and efficacy of ICV-administered Cerliponase alfa in children with CLN2 disease for up to 240 weeks.

Cumulative data from both studies were used to evaluate long-term safety (assessed by adverse events (AEs) frequency) and efficacy (assessed by changes in the CLN2 clinical rating scale motor and language (ML) domains). Treated patients were compared to patients from an independent natural history study.

24 subjects were initially treated with Cerliponase alfa in the phase 1/2 study (9 male, 15 female, mean (SD) age 4.3 years (1.24)); 23 subjects are still enrolled in the extension study (96 to 161 weeks total exposure, median 116 weeks). Safety data showed, that all subjects had adverse events (AEs); most were Grade 1-2 and part of the underlying neurodegenerative disease. Common drug-related AEs included pyrexia, vomiting, and convulsion. Twenty (83%) subjects had at least one serious AE, which were mostly consistent with neurodegenerative disease in a pediatric population. Efficacy data showed a significant attenuation of the rate of decline in the motor language score under treatment with Cerliponase alfa: Treated patients had a mean rate of decline of 0.27 scoring points/48 weeks ($p < 0.0001$) compared to a rate of decline of 2.0 points/48 weeks in untreated patients. The responder (<2 point loss per 48 weeks) rate at 96 weeks (87 %, $p < 0.0002$) was unchanged compared to that observed at 48 weeks, suggesting a persistent treatment effect.

Conclusion: These data suggest that enzyme replacement therapy with ICV-administered cerliponase alfa has an acceptable safety profile and a sustained effect over time.

Comment by: Dr. med. Angela Schulz

Paper of the month, Juni 2018

Targeted deletion of the AAA-ATPase *Ruvbl1* in mice disrupts ciliary integrity and causes renal disease and hydrocephalus.

Dafinger C, Rinschen MM, Borgal L, Ehrenberg C, Basten SG, Franke M, Höhne M, Rauh M, Göbel H, Bloch W, Wunderlich FT, Peters DJM, Tasche D, Mishra T, Habbig S, Dötsch J, Müller RU, Brüning JC, Persigehl T, Giles RH, Benzing T, Schermer B, Liebau MC.
Exp Mol Med. 2018 Jun 28;50(6):75. doi: 10.1038/s12276-018-0108-z.

Zilien sind hochkonservierte sensorische Organellen, die sich auf der Zelloberfläche finden und antennenartig in das extrazelluläre Milieu vorstoßen. Dabei gibt es zwei Arten von Zilien: Während primäre Zilien als einzelständige Organellen v.a. sensorische und regulatorische Aufgaben haben, sind motile Zilien meist in Gruppen auf der Zelloberfläche zu finden, wo sie sich aktiv und koordiniert bewegen. Unter dem Begriff Ziliopathien fasst man heutzutage eine heterogene Gruppe hereditärer Erkrankungen zusammen, denen pathophysiologisch eine Störung ziliärer Funktionen oder Strukturen zugrunde liegen. Zu den Ziliopathien werden u.a. erbliche Zystennierenerkrankungen und die primäre ziliäre Dyskinesie gerechnet.

In einem aktuellen Projekt des NEOCYST-Konsortiums konnte ein Protein identifiziert werden, das für die Funktion sowohl primärer als auch motiler Zilien entscheidend ist. Die hochkonservierte AAA - ATPase *Ruvbl1*, auch bekannt als Pontin, wurde als Bestandteil wichtiger ziliärer Proteinkomplexe identifiziert. Die gezielte konstitutive oder induzierte Deletion von *Ruvbl1* im Nierentubulus der Maus zeigt, dass *Ruvbl1* essentiell für die korrekte Entwicklung und für den Erhalt des renalen Tubulusepithels ist. Der Verlust von *Ruvbl1* führt zu dilatierten Nierentubuli mit einer reduzierten Anzahl von Zilien. Die induzierte Deletion von *Ruvbl1* in multizilierten Zellen der Maus wiederum führte zu einem Hydrocephalus und zu strukturellen Veränderungen motiler Zilien mit fehlerhafter Lokalisation essentieller ziliärer Proteine.

Die Daten deuten zusammengefasst auf eine essentielle Funktion von *Ruvbl1* beim korrekten intrazellulären Aufbau ziliärer Proteinkomplexe sowohl bei primären als auch bei motilen Zilien hin. Derzeit arbeitet das Kölner Team daran, die zugrundeliegenden Mechanismen weiter zu entschlüsseln.

Kommentar von:

Max C. Liebau, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin und Zentrum für Molekulare Medizin, Uniklinik Köln
Bernhard Schermer, Klinik II für Innere Medizin und Zentrum für Molekulare Medizin, Uniklinik Köln

Paper of the month, Juni 2018

Targeted deletion of the AAA-ATPase *Ruvbl1* in mice disrupts ciliary integrity and causes renal disease and hydrocephalus.

Dafinger C, Rinschen MM, Borgal L, Ehrenberg C, Basten SG, Franke M, Höhne M, Rauh M, Göbel H, Bloch W, Wunderlich FT, Peters DJM, Tasche D, Mishra T, Habbig S, Dötsch J, Müller RU, Brüning JC, Persigehl T, Giles RH, Benzing T, Schermer B, Liebau MC.
Exp Mol Med. 2018 Jun 28;50(6):75. doi: 10.1038/s12276-018-0108-z.

Cilia are highly-conserved sensory organelles, that can be found on the cell surface and protrude into the extracellular milieu. Two main groups of cilia can be distinguished. While immotile primary cilia as isolated organelles are mainly involved in sensory and regulatory function, motile cilia can be found in groups and move actively in a coordinated way. Ciliopathies encompass a heterogeneous group of hereditary diseases that result from dysfunction of primary or motile cilia. Prominent examples include polycystic kidney disease and primary ciliary dyskinesia.

In a project of the NEOCYST consortium a crucial protein for primary and motile ciliary function could be identified. The highly conserved-AAA ATPase *Ruvbl1*, also known as Pontin, was identified as a common component of important ciliary protein complexes. Constitutive and induced targeted deletion of *Ruvbl1* in murine kidney tubules revealed that *Ruvbl1* is essential for both development and maintenance of renal tubular epithelium. Loss of *Ruvbl1* leads to dilated renal tubuli with a reduced number of ciliated cells. The induced deletion of *Ruvbl1* in murine multiciliated cells results in hydrocephalus and structural changes of motile cilia with altered localization of essential ciliary proteins.

In summary the data suggest an essential role of *Ruvbl1* in the correct intracellular preassembly of ciliary protein complexes both for primary and motile cilia. The team in Cologne is currently following up on these findings to further decipher the underlying molecular mechanism.

Comment by:

Max C. Liebau, Department of Pediatrics and Center for Molecular Medicine, University Hospital of Cologne
Bernhard Schermer, Department of Internal Medicine II and Center for Molecular Medicine, University Hospital of Cologne

Paper of the month, July 2018

Targeting myelin lipid metabolism as a potential therapeutic strategy in a model of CMT1A neuropathy

Fledrich R, Abdelaal T, Rasch L, Bansal V, Schütza V, Brügger B, Lüchtenborg C, Prukop T, Stenzel J, Rahman RU, Hermes D, Ewers D, Möbius W, Ruhwedel T, Katona I, Weis J, Klein D, Martini R, Brück W, Müller WC, Bonn S, Bechmann I, Nave KA, Stassart RM and Sereda MW

Nature Communications, doi: 10.1038/s41467-018-05420-0 (2018)

Die Charcot-Marie-Tooth Erkrankung 1A, kurz CMT1A, ist die häufigste vererbliche Erkrankung des peripheren Nervensystems, gilt aber mit einer Häufigkeit von 1:5000 als seltene Erkrankung. Aufgrund eines Gendefektes (der Verdopplung des Gens für "PMP22") entwickeln Patienten eine langsam fortschreitende Nervenschädigung, die über Gehschwierigkeiten und Sensibilitätsstörungen bis hin zur Rollstuhlgebundenheit führen kann. Die CMT1A Erkrankung ist bisher nicht heilbar, da die grundlegenden Erkrankungsmechanismen wenig verstanden sind.

Die Fortsätze von Nervenzellen im peripheren Nervensystem, die Axone, sind über ihre gesamte Länge von sogenannten Schwannzellen umgeben. Diese ummanteln die Axone mit einer isolierenden fettreichen Schicht, dem Myelin, das eine schnelle Weiterleitung elektrischer Impulse ermöglicht. Mit Hilfe von genetisch veränderten Nagetiermodellen konnte nun gezeigt werden, dass Schwannzellen in der CMT1A Erkrankung während der Entwicklung einen gestörten Fettstoffwechsel aufweisen, der zu einer beeinträchtigten Myelinisierung führt. In der aktuellen vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Netzwerkverbundes "CMT-NET" geförderten Studie wurde der Frage nachgegangen, ob eine therapeutische Verabreichung von Lecithin womöglich die beeinträchtigte Fettproduktion der Schwannzellen umgehen und somit die Myelinisierung in der CMT1A Erkrankung verbessern könnte. Lecithin ist ein aus Soja oder Eigelb gewonnener Mix aus sogenannten Phospholipiden, ein harmloses Nahrungsergänzungsmittel und zudem ein Hauptbestandteil des Myelins. Zunächst konnte in Zellkulturexperimenten sowie in einem genetisch veränderten Tiermodell der menschlichen CMT1A Erkrankung ("transgene CMT1A Ratten") beobachtet werden, dass zugesetzte Phospholipide von Schwannzellen aufgenommen und für die Myelinproduktion genutzt werden können. Durch mehrere Therapiestudien von CMT1A Ratten mit Lecithin in unterschiedlichen Dosen und Behandlungszeiträumen gelang es in der Folge nicht nur zu zeigen, dass eine Phospholipidtherapie die Myelinisierung in der CMT1A Erkrankung fördert, sondern auch maßgeblich den Krankheitsverlauf lindert, und zwar unabhängig vom Behandlungsbeginn.

Weiterführende Studien konzentrieren sich nun darauf, die neu gewonnenen Erkenntnisse für CMT1A Patienten in klinische Studien zu translätieren.

Kommentar von: Dr. Robert Fledrich

Paper of the month, July 2018

Targeting myelin lipid metabolism as a potential therapeutic strategy in a model of CMT1A neuropathy

Fledrich R, Abdelaal T, Rasch L, Bansal V, Schütza V, Brügger B, Lüchtenborg C, Prukop T, Stenzel J, Rahman RU, Hermes D, Ewers D, Möbius W, Ruhwedel T, Katona I, Weis J, Klein D, Martini R, Brück W, Müller WC, Bonn S, Bechmann I, Nave KA, Stassart RM and Sereda MW

Charcot-Marie-Tooth disease 1A (CMT1A) is the most common inherited neuropathy. With a prevalence of 1 in 5000, however, CMT1A meets the definition of a rare disease. The underlying genetic defect, a duplication of the gene encoding the peripheral myelin protein of 22kDa (*PMP22*) triggers a slowly progressive malfunction of peripheral nerves, thereby leading to walking disabilities and sensory symptoms that, in some cases, force patients to use a wheelchair. For CMT1A disease, no curative treatment is available yet, also because the underlying disease mechanisms are poorly understood.

The axons of the peripheral nervous system are enwrapped by specialized glia cells. Those so called Schwann cells provide axons with an insulating sheath, the myelin, that facilitates fast propagation of electrical impulses. By taking advantage of transgenic rodent models for CMT1A it now could be demonstrated that Schwann cells in CMT1A fail to adequately mount the lipid biosynthetic program required for myelination. As a result, many nerve fibers remain without myelin which impairs nerve function. In the present study that was supported by the German Ministry of Education and Research (BMBF) within the network CMT-NET, special focus was given to the hypothesis that supplemented lecithin may circumvent the impaired ability of diseased Schwann cells to produce myelin lipids. Lecithin comprises a mix of phospholipids that is derived from soy or egg yolk, is widely used as a food supplement and constitutes a major compound of the insulating myelin sheath. Within the present study, it could be observed in cell culture as well as in a rat model for CMT1A ("CMT rats") that supplemented phospholipids are taken up by the Schwann cells and are utilized for myelination. In a next step, several therapeutic trials in CMT rats with lecithin in different dosages and treatment windows it could be demonstrated that lecithin not only improves the impaired myelination in CMT1A, but also leads to a strong improvement of the neuropathic symptoms.

Further studies now focus on the translation of the new findings into clinical practice to treat patients with CMT1A.

Comment by Dr. Robert Fledrich

Paper of the month, September 2018

RIT1 controls actin dynamics via complex formation with RAC1/CDC42 and PAK1

Meyer zum Büschenfelde U, Brandenstein LI, von Elsner L, Flato K, Holling T, Zenker M, Rosenberger G, Kutsche K.

PLoS Genet. 2018 May 7;14(5):e1007370. doi: 10.1371/journal.pgen.1007370. eCollection 2018 May.

Mutationen im *RIT1*-Gen verursachen das Noonan Syndrom, welches zu einer Gruppe seltener genetischer Erkrankungen, den RASopathien, zählt. Diesen Erkrankungen liegen Störungen in RAS GTPase-abhängigen zellulären Signalwegen, die verschiedenste Funktionen im Organismus steuern, zugrunde. Hinsichtlich der Erforschung der RASopathie-typischen molekularen und zellulären Pathogenese lag der Fokus der internationalen Wissenschaft bislang auf dem sogenannten RAS-MAPK-Signalweg, über den in erster Linie Zellwachstum, -proliferation und -differenzierung beeinflusst werden. RAS GTPasen, zu denen auch RIT1 gehört, steuern allerdings viele verschiedene Signalwege, sodass sich die Frage stellt, ob nicht auch andere Signalrouten für die Pathogenese bei RASopathien relevant sind. Genau zu dieser Frage hat kürzlich der Forschungsverbund „German Network for RASopathy Research (GeNeRARE)“ eine wichtige Erkenntnis erarbeitet.

Die Wissenschaftler beschrieben einen neuen Signalweg, über welchen RIT1 das zelluläre Skelett (Zytoskelett) reguliert. Das Zytoskelett ist u.a. für die mechanische Stabilität und für aktive Bewegungen der Zelle verantwortlich. Es konnte nachgewiesen werden, dass RIT1 mit den Zytoskelett-Regulatorproteinen PAK1, RAC1 und CDC42 interagiert. Krankheitsverursachende RIT1-Mutationen verstärken diese Protein-Protein-Interaktionen und entkoppeln diese Komplexbildungen von normalerweise dazu nötigen extrazellulären Signalen. Des Weiteren untersuchten die Wissenschaftler die Auswirkungen von RIT1 auf das Zytoskelett und die Zellbewegung und konnten zeigen, dass RIT1 und auch mutiertes RIT1 den Abbau von Aktinfasern, wichtigen strukturellen Elementen des Zytoskeletts, induzieren sowie die Zellmotilität erhöhen.

Zusammengefasst konnte demnach eine neue Funktion für RIT1 bei der Steuerung des Zytoskeletts und der Zellbewegung aufgedeckt werden. Dies bedeutet, dass die Fehlregulation des Zytoskeletts und davon abhängiger Prozesse einen neuen Krankheitsmechanismus (Pathomechanismus) für das Noonan Syndrom darstellt. Diese Erkenntnisse haben Bedeutung für die Entwicklung neuer Therapiestrategien, da neben der RAS-MAPK Route nun ein weiterer Signalweg als therapeutischer Angriffspunkt in Frage kommt.

Kommentar von:

Georg Rosenberger, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, rosenberger@uke.de

Kerstin Kutsche, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, kkutsche@uke.de

Martin Zenker, Universitätsklinikum Magdeburg, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, September 2018

RIT1 controls actin dynamics via complex formation with RAC1/CDC42 and PAK1

Meyer zum Büschenfelde U, Brandenstein LI, von Elsner L, Flato K, Holling T, Zenker M, Rosenberger G, Kutsche K.

PLoS Genet. 2018 May 7;14(5):e1007370. doi: 10.1371/journal.pgen.1007370. eCollection 2018 May.

Mutations in the *RIT1* gene cause Noonan syndrome, which belongs to a group of rare genetic diseases called RASopathies. These diseases are based on defects in RAS GTPase-dependent cellular signaling pathways that control a wide variety of functions in the organism. With regard to the RASopathy-typical molecular and cellular pathogenesis, the focus of international research so far has been on the so-called RAS-MAPK signaling pathway, which primarily influences cell growth, proliferation and differentiation. However, RAS GTPases, which include RIT1, control many different signaling pathways, raising the question of whether other signaling pathways may also be relevant to the pathogenesis of RASopathies. The research network "German Network for RASopathy Research (GeNeRARE)" has recently come up with an important insight on this question.

The scientists described a new signaling pathway through which RIT1 regulates the cellular skeleton (cytoskeleton). Among other things the cytoskeleton is responsible for the mechanical stability and active movements of the cell. It has been shown that RIT1 interacts with the cytoskeletal regulatory proteins PAK1, RAC1 and CDC42. Disease-causing RIT1 mutations enhance these protein-protein interactions and uncouple these complexes from normally required extracellular signals. Furthermore, the scientists investigated the effects of RIT1 and its disease-associated forms on the cytoskeleton and cell movement and were able to show that RIT1 and mutant RIT1 induce the degradation of actin fibers, important structural elements of the cytoskeleton, and increase cell motility.

In summary, a new function for RIT1 in controlling the cytoskeleton and cell movement could be demonstrated. This means that the dysregulation of the cytoskeleton and its dependent processes represents a new mechanism of disease (pathomechanism) for Noonan syndrome. These findings are of importance for the development of new therapeutic strategies, since, in addition to the RAS-MAPK route, a further signaling pathway can now be considered as a therapeutic target.

Comment by

Georg Rosenberger, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, rosenberger@uke.de

Kerstin Kutsche, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, kkutsche@uke.de

Martin Zenker, University Hospital Magdeburg, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, Oktober 2018

Intestinal Inflammation and Dysregulated Immunity in Patients with Inherited Caspase-8 Deficiency

Anna S. Lehle; Henner F. Farin; Benjamin Marquardt; Birgitta E. Michels; Thomas Magg; Yue Li; Yanshan Liu; Maryam Ghalandary; Katja Lammens; Sebastian Hollizeck; Meino Rohlf; Fabian Hauck; Raffaele Conca; Christoph Walz; Batia Weiss; Atar Lev; Amos J. Simon; Olaf Groß; Daniel Kotlarz

[Gastroenterology](#). 2018 Sep 26. pii: S0016-5085(18)35036-4. doi: 10.1053/j.gastro.2018.09.041. [Epub ahead of print]

Caspase-8 ist ein Schlüsselmolekül bei der Regulation von Zelltodreaktionen und übernimmt wichtige Funktionen bei der Vermittlung von Entzündungsreaktionen sowie der zellulären und angeborenen Immunität. Die bekannten vielfältigen Funktionen von Caspase-8 haben jedoch in der Medizin und Biologie bisher große Kontroversen aufgeworfen und die Rolle dieses Gens in Bezug auf Krankheiten blieb bisher sehr vage.

In der veröffentlichten Studie ist es den Autoren gelungen, drei unabhängige Patienten mit therapierefraktären, frühkindlichen Verlaufsformen einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung und biallelischen Mutationen im Caspase-8-Gen zu beschreiben. Der Krankheitsverlauf der Patienten war durch Gedeihstörungen, Diarrhoen, perianale Erkrankungen (Abszesse, Fisteln) und Degenerationen der intestinalen Epithelbarriere gekennzeichnet. Darüber hinaus zeigten alle Patienten eine erhöhte bakterielle und virale Infektneigung.

Die Autoren konnten zeigen, dass ein Verlust von Caspase-8 mit einer eingeschränkten Differenzierung, Proliferation und Aktivierung von T- und B-Zellen einhergeht. Des Weiteren konnte ein Defekt der angeborenen Immunabwehr nachgewiesen werden, da Patienten-abgeleitete Monozyten und heterologe Caspase-8-defiziente Makrophagen-ähnliche Zelllinien eine veränderte Inflammation-Aktivierung einhergehend mit einer erhöhten Ausschüttung des pro-inflammatorischen Zytokins Interleukin-1 β als Antwort auf LPS-Stimulation aufwiesen. Neben der gestörten adaptiven und angeborenen Immunantwort konnten auch intrinsische Defekte der intestinalen Epithelzellen detektiert werden. Unter Verwendung von intestinalen 3D Organoidkulturen des Patienten und genetisch modifizierten Caspase-8-defizienten Kolonkarzinomzellen konnte ein defekter Zelltodmechanismus und eine erhöhte Nekroptoserate als Antwort auf eine Stimulation mit TRAIL nachgewiesen werden.

Die publizierte Studie über Kinder mit schweren Verlaufsformen einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung bietet erste Einblicke in die unabdingliche/essentielle Rolle von Caspase-8 in der Regulation intestinaler Entzündungsreaktionen und der Integrität der intestinalen Epithelbarriere. Das Verständnis der zugrundeliegenden Pathomechanismen stellt die Basis für die Entwicklung zukünftiger personalisierter Therapien dar.

Kommentar von: Anna Lehle, anna.lehle@med.uni-muenchen.de

Paper of the month, October 2018

Intestinal Inflammation and Dysregulated Immunity in Patients with Inherited Caspase-8 Deficiency

Anna S. Lehle; Henner F. Farin; Benjamin Marquardt; Birgitta E. Michels; Thomas Magg; Yue Li; Yanshan Liu; Maryam Ghalandary; Katja Lammens; Sebastian Hollizeck; Meino Rohlf; Fabian Hauck; Raffaele Conca; Christoph Walz; Batia Weiss; Atar Lev; Amos J. Simon; Olaf Groß; Daniel Kotlarz

[Gastroenterology](#). 2018 Sep 26. pii: S0016-5085(18)35036-4. doi: 10.1053/j.gastro.2018.09.041. [Epub ahead of print]

Caspase-8 is well known for its essential role in mediating programmed cell death but has also emerging functions in controlling inflammation and immunity. The pleiotropic functions of CASP8 in medicine and biology have evoked great controversies and its role for human disease remains elusive.

Here, the authors showed for the first time that homozygous missense mutations in Caspase-8 can cause very-early onset inflammatory disease (VEO-IBD). The patients presented with failure to thrive, diarrhea, perianal disease, and discontinuous severe structuring and fistulizing proctocolitis with deep ulcerations and epithelial degeneration. Furthermore, all patients suffered from increased susceptibility to bacterial and viral infections.

Detailed immune workup demonstrated that Caspase-8 deficiency is associated with impaired T and B cell maturation, proliferation, and/or activation. Patient's monocytes and heterologous Caspase-8-deficient macrophages showed an altered inflammasome activity with increased IL-1 β secretion upon LPS stimulation. In addition to innate and adaptive immune dysfunction, patient-derived intestinal 3D organoids and genetically engineered CASP8-deficient coloncarcinoma cell lines exhibited defective cell death responses, as indicated by abrogated TRAIL-induced apoptosis and increased necroptosis.

Taken together, the study provides first evidence for the critical role of CASP8 in controlling human intestinal inflammation and epithelial barrier integrity in children with VEO-IBD. The understanding of underlying pathomechanisms provides the basis for future developments for personalized therapies.

Comment by: Anna Lehle, anna.lehle@med.uni-muenchen.de

Paper of the month, November 2018

Assessing the gene–disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework

Grant AR, Cushman BJ, Cavé H, Dillon MW, Gelb BD, Gripp KW, Lee JA, Mason-Suares H, Rauen KA, Tartaglia M, Vincent LM, Zenker M.

Hum Mutat. 2018 Nov;39(11):1485-1493. doi: 10.1002/humu.23624.

Die RASopathien sind eine Gruppe von klinisch überlappenden Erkrankungen, die durch Mutationen in Komponenten des RAS-Signalwegs verursacht werden. Zu den RASopathien gehören das Noonan-Syndrom mit seinen Untertypen, das CFC- und das Costello-Syndrom. Diese klinischen Entitäten unterscheiden sich in ihrer Prognose und individuellen Risikoprofilen. Seit 2001 sind Mutationen in immer neuen Genen als Ursache von RASopathien beschrieben worden, zum Teil nur bei wenigen betroffenen Individuen. Manche Gene wurden mit unterschiedlichen Syndromen aus der Gruppe assoziiert, was Fragen der Genotyp-Phänotyp-Korrelation aufwirft.

Die vorliegende Arbeit ist das Ergebnis einer Kooperation mehrerer internationaler RASopathie-Spezialisten (ClinGen RASopathy Expert Panel). Mit Hilfe eines standardisierten Bewertungssystems (ClinGen Gene Curation Standard Operating Procedures) wurden für alle RASopathien publizierte Gen-Phänotyp-Assoziationen zusammen mit eigenen unpublizierten Daten der Kooperationspartner ausgewertet und ihre Evidenz klassifiziert. Die systematische Analyse zeigt auf, dass für einige wenige publizierte RASopathie-Gene (z.B. A2ML1, RASA2) bislang noch eine unzureichende Evidenz vorliegt, dass diese wirklich für ein Noonan-Syndrom oder eine verwandte Erkrankung verantwortlich sein können. Weiterhin gibt es für einige Gene Assoziationen mit mehr als einer Entität aus der Gruppe (z.B. Noonan- und CFC-Syndrom für BRAF oder Noonan- und LEOPARD-Syndrom für PTPN11). In manchen Fällen (z.B. PTPN11) gibt es klare Beziehungen bestimmter Genotypen zu spezifischen Syndromen, für andere sind die Genotyp-Phänotyp-Korrelationen weniger klar. Diese Zusammenhänge stellen eine wichtige Grundlage für eine neue Nosologie der RASopathien dar. Die standardisierte Analyse der Evidenz für Gen-Erkrankungs-Assoziationen stellt in dieser Arbeit erstmals eine objektivierbare Grundlage her, die auch für andere klinisch und genetisch heterogene Erkrankungsgruppen exemplarisch ist.

Die Ergebnisse dieser Arbeit, auch wenn sie nur eine Momentaufnahme darstellen, liefern einen wichtigen Beitrag für eine präzisere Zuordnung von Genveränderungen zu bestimmten Entitäten innerhalb der RASopathien. In einem Zeitalter, in dem immer häufiger Diagnosen durch breite genetische Screeningverfahren bei immer jüngeren Patienten gestellt werden, schafft diese Arbeit eine Anleitung zur besseren klinischen Interpretation der Ergebnisse molekulargenetischer Untersuchungen hinsichtlich RASopathien.

Kommentar von:

Martin Zenker, Magdeburg

Paper of the month, November 2018

Assessing the gene–disease association of 19 genes with the RASopathies using the ClinGen gene curation framework

Grant AR, Cushman BJ, Cavé H, Dillon MW, Gelb BD, Gripp KW, Lee JA, Mason-Suares H, Rauen KA, Tartaglia M, Vincent LM, Zenker M.

Hum Mutat. 2018 Nov;39(11):1485-1493. doi: 10.1002/humu.23624.

RASopathies constitute a group of clinically overlapping diseases having in common the causation by mutations in components of the RAS signalling pathway. Noonan syndrome with its variant types, CFC and Costello syndromes are known members of the RASopathies. These clinical entities differ in their prognosis and individual risk profiles. Since 2001, mutations in an increasing number of genes have been identified as causative for RASopathies, some of them are found to be mutated in only very few patients. Several genes have been associated with more than one syndrome of the group, thus raising questions about genotype phenotype correlations.

The present work is the result of a collaboration of international experts in the field (ClinGen RASopathy Expert Panel). Using a standardized system for evaluating gene-disease associations (ClinGen Gene Curation Standard Operating Procedures), published associations were evaluated together with unpublished data provided by the partners. The systematic analysis revealed that for some of the published RASopathy genes (e.g. A2ML1, RASA2) the current evidence for their association with Noonan syndrome or a related disease is still weak. Moreover, for a number of genes more than one associated phenotype has been reported and was evaluated (e.g. association of Noonan and CFC syndromes with BRAF or of Noonan and LEOPARD syndromes with PTPN11). For some genes (e.g. PTPN11) there are well-founded relations between distinct genotypes and specific syndromes, while for others genotype phenotype correlations these are less clear. These insights are an important basis for an updated nosology for RASopathies. The standardized analysis of the evidence level for gene-disease associations reported here provides for the first time a more objective basis for classification and may also be applied for other clinically and genetically heterogeneous disorders.

The results of this work, though being just a snapshot, represent an important contribution for a more precise assignment of genetic variations to distinct clinical entities within the group or RASopathies. In an era when diagnostic genetic testing is increasingly using broad mutation screening approaches (exome and genome sequencing) in patients that are even younger at the time of genetic testing, the present work provides guidance for better clinical interpretation of molecular test results concerning RASopathies.

Comment by

Martin Zenker, Magdeburg

Paper of the month, Dezember 2018

SACS variants are a relevant cause of autosomal recessive hereditary motor and sensory neuropathy

Vill K, Müller-Felber W, Gläser D, Kuhn M, Teusch V, Schreiber H, Weis J, Klepper J, Schirmacher A, Blaschek A, Wiessner M, Strom TM, Dräger B, Hofmeister-Kiltz K, Tacke M, Gerstl L, Young P, Horvath R, Senderek J.

Hum Genet. 2018 Dec; 137 (11-12):911-919. doi: 10.1007/s00439-018-1952-6

Die Gruppe der hereditären motorischen und sensorischen Neuropathien (HMSN) stellen ein Spektrum monogener Störungen des peripheren Nervensystems dar, klinisch typischerweise einhergehend mit distaler Atrophie und Muskelschwäche, fehlenden Muskeleigenreflexen, Fußdeformitäten, Gangstörung und zumeist milden sensorischen Defiziten. Die genetische Einordnung stellt aufgrund der klinischen und genetischen Heterogenität nach wie vor häufig eine Herausforderung dar. Es sind mittlerweile mehr als 80 Gene mit erblichen Neuropathien assoziiert, dennoch ist bislang ein relevanter Anteil der Patienten ohne klare genetische Diagnose.

In Rahmen dieser Studie identifizierten die Autoren neun Patienten aus sechs Familien mit dem Phänotyp einer HMSN, die pathogene Mutationen im SACS-Gen aufwiesen, entweder homozygot oder compound heterozygot. Mutationen im SACS-Gen wurden ursprünglich bei der seltenen autosomal rezessiven spastischen Ataxie von Charlevoix-Saguenay („ARSACS“) assoziiert, einer neurodegenerativen Erkrankung mit cerebellärer Ataxie, spastischer Bewegungsstörung und peripherer Neuropathie. Bildmorphologisch wurden neben einer ausgeprägten Kleinhirnatrophie weitere typische Auffälligkeiten im MRT postuliert. Mit neuen genetischen Hochdurchsatz-Methoden wächst das phänotypische Spektrum der ARSACS Erkrankung.

In dieser Studie zeigte keiner der Patienten eine spastische Bewegungsstörung oder andere Pyramidenbahnzeichen. Die Ataxie, die bei nur drei Patienten auffiel, war mit einer sensorischen Ataxie vereinbar. Neurographie und Nervenbiopsie zeigten ein gemischt demyelinisierendes/ axonales Muster. MRT Untersuchungen des Gehirns blieben entweder normal oder zeigten lediglich eine isolierte Atrophie des oberen Kleinhirnwurms.

Die Ergebnisse belegen das breite klinische Spektrum, das mit SACS-Mutationen verbunden ist, einschließlich der reinen peripheren Neuropathie ohne charakteristische klinische und bildgebende Manifestationen der klassischen ARSACS Erkrankung. Die Autoren gehen davon aus, dass SACS-Varianten einen relevanten Anteil an HMSN-Fällen ausmachen, zumindest in pädiatrischem Patientengut. Daher sollte das SACS-Gen in diagnostische Panels für genetisch nicht klassifizierte HMSN-Patienten einbezogen werden.

Kommentar von:

Dr. Katharina Vil, Katharina.vil@med.uni-muenchen.de

Paper of the month, December 2018

SACS variants are a relevant cause of autosomal recessive hereditary motor and sensory neuropathy

Vill K, Müller-Felber W, Gläser D, Kuhn M, Teusch V, Schreiber H, Weis J, Klepper J, Schirmacher A, Blaschek A, Wiessner M, Strom TM, Dräger B, Hofmeister-Kiltz K, Tacke M, Gerstl L, Young P, Horvath R, Senderek J.

Hum Genet. 2018 Dec; 137 (11-12):911-919. doi: 10.1007/s00439-018-1952-6

HMSN represent a spectrum of monogenic disorders affecting the peripheral nervous system, characterized by muscle weakness and atrophy of distal limbs, diminished or absent deep tendon reflexes, foot deformities, gait problems, and usually mild sensory deficits. The genetic diagnosis of inherited peripheral neuropathies is still challenging due to clinical and genetic heterogeneity. While more than 80 genes are associated with hereditary neuropathies, about half of the patients still do not have a definite genetic diagnosis. Here, the authors identified nine patients from 6 families with isolated, non-syndromic hereditary motor and sensory neuropathy (HMSN) who carried pathogenic SACS mutations, either in the homozygous or compound heterozygous state. Mutations in the SACS gene have been initially reported in a rare autosomal recessive cerebellar ataxia syndrome featuring prominent cerebellar atrophy, spasticity and peripheral neuropathy as well as retinal abnormalities in some cases (autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay, ARSACS). In the past few years, the phenotypic spectrum has broadened, mainly owing to the availability and application of high-throughput genetic testing methods.

None of their patients displayed spasticity or pyramidal signs. Ataxia, which was noted in only three patients, was consistent with a sensory ataxia. Nerve conduction and nerve biopsy studies showed mixed demyelinating and axonal neuropathy. Brain MRI scans were either normal or revealed isolated upper vermis atrophy of the cerebellum.

The results confirm the broad clinical spectrum associated with SACS mutations, including pure polyneuropathy without characteristic clinical and brain imaging manifestations of ARSACS. The authors hypothesize that SACS variants account for a relevant proportion of HMSN cases, at least in pediatric cohorts, providing a rationale for including analysis of the SACS gene into diagnostic screening strategies for genetically unclassified HMSN patients.

Comment by

Dr. Katharina Vil, Katharina.vil@med.uni-muenchen.de