

Paper of the Quarter – QIV/2022 – [Treat-ION](#)

Loss-of-function variants in the *KCNQ5* gene are implicated in genetic generalized epilepsies

EBioMedicine. 2022 Oct. >>[PubMed-Link](#)<<

Johanna Krüger, Julian Schubert, Josua Kegele, Audrey Labalme, Miaomiao Mao, Jacqueline Heighway, Guiscard Seeböhm, Pu Yan, Mahmoud Koko, Kezban Aslan-Kara, Hande Caglayan, Bernhard J Steinhoff, Yvonne G Weber, Pascale Keo-Kosal, Samuel F Berkovic, Michael S Hildebrand, Steven Petrou, Roland Krause, Patrick May, Gaetan Lesca, Snezana Maljevic, Holger Lerche

In dieser Publikation haben wir fünf krankheitsassoziierte Varianten, die zu einem Funktionsverlust (Loss-of-Function; LOF) im *KCNQ5*-Gen bei 10 Personen aus 5 nicht verwandten Familien mit genetisch generalisierter Epilepsie (GGE) identifiziert, wodurch *KCNQ5* beim Screening von 1292 Exomen von Personen mit GGE zu einem neuen Kandidatengen für GGE entdeckt wurde. Dies erweitert das phänotypische Spektrum für dieses Gen, da vor dieser Veröffentlichung nur eine Handvoll funktionssteigernder Varianten (Gain-of-Function; GOF) und ein Fallbericht über eine intragenische Duplikation, die eine Haploinsuffizienz verursacht, veröffentlicht worden waren, was die Seltenheit pathogener Varianten in diesem Gen unterstreicht. Während Personen mit einem schweren GOF eine Entwicklungs- und epileptische Enzephalopathie (DEE) mit schweren Phänotypen wie geistiger Behinderung (ID), globaler motorischer Verzögerung und schlechter Ernährung aufweisen, zeigen mildere GOF-Varianten eine leichte bis mäßige ID und nur einige Personen haben epileptische Anfälle. Die hier identifizierten LOF-Varianten verursachen GGE, einige Patient*innen weisen eine zusätzliche leichte bis mittelschwere ID auf. Das sich abzeichnende Muster ähnelt dem bei anderen Genen, die zuvor mit GGE, DEE und ID in Verbindung gebracht wurden, wie *SCN8A* und *KCNA2*, wo GOF-Varianten schwerere Phänotypen wie DEE hervorrufen, während LOF-Varianten häufiger bei Personen mit mildereren Phänotypen wie GGE oder mildereren fokalen Epilepsien gefunden werden. Um diese potenzielle Genotyp-Phänotyp-Korrelation bei *KCNQ5* und anderen Ionenkanal-kodierenden Genen weiter zu untersuchen, ist ein weiteres Screening von Kohorten erforderlich.

In unserer Publikation haben wir Ganzzell-Patch-Clamp-Ableitungen in Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (CHOs) durchgeführt, um vier Varianten funktionell zu charakterisieren, wobei eine Spleißvariante aufgrund einer Haploinsuffizienz als LOF angenommen wurde. Alle vier Varianten zeigten einen LOF bei homomerer Expression, drei von ihnen sogar unter heteromeren Bedingungen, wobei die Variante R359C einen vollständigen dominant-negativen LOF aufwies. Da es sich bei dieser Position um eine potenzielle PIP₂-Interaktionsstelle handelt, untersuchten wir ihre Wirkung mit Hilfe von Phospholipid-Overlay-Assays, Homologiemodellierung und elektrophysiologischen Ableitungen bei PIP₂-Abnahme und -Überexpression. Wir konnten zeigen, dass die Variante die PIP₂-Bindungsaffinität verringert, die Querdistanz der Pore reduziert und kaum auf veränderte PIP₂-Spiegel reagiert, was zu der Schlussfolgerung führt, dass die R359C-Variante die PIP₂-Interaktion verringert, was zu einer Unfähigkeit des Kanals führt, sich zu öffnen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es uns gelungen ist, LOF-Varianten von *KCNQ5* mit einer mildereren Form der Epilepsie (GGE) in Verbindung zu bringen und den molekularen Mechanismus einer dieser Varianten aufzudecken. Da ein LOF in Kv7.5-Kanälen den neuronalen M-Strom reduziert, wird das neuronale Feuerverhalten wahrscheinlich zunehmen, was in Zukunft weiter untersucht werden muss. Darüber hinaus liefert diese Studie Hinweise darauf, dass pharmakoresistente Patient*innen von der Verabreichung von Kv7-Kanalöffnern wie Retigabin profitieren könnten.

Autor/-in: Prof. Dr. Holger Lerche und Johanna Krüger

Kontakt: holger.lerche@uni-tuebingen.de; johanna.krueger@uni-tuebingen.de

Paper of the Quarter – QIV/2022 – [Treat-ION](#)

Loss-of-function variants in the *KCNQ5* gene are implicated in genetic generalized epilepsies

EBioMedicine. 2022 Oct. >>[PubMed-Link](#)<<

Johanna Krüger, Julian Schubert, Josua Kegele, Audrey Labalme, Miaomiao Mao, Jacqueline Heighway, Guiscard Seeböhm, Pu Yan, Mahmoud Koko, Kezban Aslan-Kara, Hande Caglayan, Bernhard J Steinhoff, Yvonne G Weber, Pascale Keo-Kosal, Samuel F Berkovic, Michael S Hildebrand, Steven Petrou, Roland Krause, Patrick May, Gaetan Lesca, Snezana Maljevic, Holger Lerche

In this publication, we newly identified five disease-associated loss-of-function (LOF) variants in the *KCNQ5* gene in 10 individuals from 5 unrelated families with genetic generalized epilepsy (GGE), rendering *KCNQ5* a novel candidate gene for GGE while screening 1292 exomes from individuals with GGE. This extends the phenotypic spectrum for this gene, as prior to this publication only a handful gain-of-function (GOF) variants and one case report on an intragenic duplication causing a haploinsufficiency had been published highlighting the rarity of pathogenic variants within this gene. While individuals with a severe GOF present with developmental and epileptic encephalopathy (DEE) with severe phenotypes including intellectual disability (ID), global motor delay, and poor feeding, milder GOF variants show mild to moderate ID and only some individuals have seizures. The LOF variants identified here cause GGE and some patients display a mild to moderate ID. The pattern emerging is similar to that in other genes previously linked to GGE, DEE and ID such as *SCN8A* and *KCNA2*, where GOF variants induce more severe phenotypes such as DEE, whereas LOF variants are more often found in individuals with milder phenotypes, such as GGE or milder focal epilepsies. Further screening of cohorts will be needed to further investigate this potential genotype-phenotype correlation in *KCNQ5* and other ion channel encoding genes.

In our publication, we performed whole-cell patch clamp recordings in Chinese hamster ovarian cells (CHOs) to functionally characterize four variants, whereas one splice site variant was presumed a LOF due to haploinsufficiency. All four variants showed a LOF in homomeric expression, three of them even under heteromeric conditions with the R359C variant showing a complete dominant-negative LOF. As this position is a potential PIP₂ interaction site, we further investigated its effect using phospholipid overlay assays, homology modeling and electrophysiological recordings under PIP₂ depletion and overexpression. We were able to show that the variant decreases PIP₂ binding affinity, reduces the cross distance of the pore and shows little reaction to altered PIP₂ levels leading to the conclusion that the R359C variant decreases PIP₂ interaction causing an inability of the channel to open. In conclusion, we were able to link *KCNQ5* LOF variants to a milder form of epilepsy (GGE) and were able to uncover the molecular mechanism of one of these variants. As a LOF in Kv7.5 channels will reduce the neuronal M-current, neuronal firing will likely increase, which will have to be studied further in the future. Additionally, this study provides evidence that pharmacoresistant patients might be benefitting from administration of Kv7 channel openers such as retigabine.

Author: Prof. Dr. Holger Lerche and Johanna Krüger

Contact: holger.lerche@uni-tuebingen.de; johanna.krueger@uni-tuebingen.de