

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [CONNECT-GENERATE](#)

Clinical manifestations and immunomodulatory treatment experiences in psychiatric patients with suspected autoimmune encephalitis: a case series of 91 patients from Germany

Molecular Psychiatry. 2022 Jan 19. >>[PubMed-Link](#)<<

Dominique Endres, Eva Längen, Alkomiet Hasan, Michael Kluge, Sabrina Fröhlich, Jan Lewerenz, Tom Bschor, Ida Sibylle Haußleiter, Georg Juckel, Florian Then Bergh, Barbara Ettrich, Lisa Kertzsch, Tatiana Oviedo-Salcedo, Robert Handreka, Martin Lauer, Klaas Winter, Norbert Zumdick, Anna Drews, Jost Obrocki, Yavor Yalachkov, Anna Bubl, Felix von Podewils, Udo Schneider, Kristina Szabo, Margarete Mattern, Alexandra Philipsen, Katharina Domschke, Klaus-Peter Wandinger, Alexandra Neyazi, Oliver Stich, Harald Prüss, Frank Leypoldt, Ludger Tebartz van Elst

Die Detektion von organischen Ursachen psychischer Störungen kann im Einzelfall neue Behandlungsmöglichkeiten eröffnen. In diesem Kontext spielen die autoimmunen Enzephalitiden (AE) mit psychiatrischer Symptomatik eine bedeutsame Rolle, da hier Immuntherapien zur Behandlung zur Verfügung stehen. Bisher sind nur Einzelfälle von Patient*innen mit rein psychiatrischer Manifestation bekannt. Die meisten bekannten Fälle zeigten auch eine neurologische Symptomatik wie z.B. epileptische Anfälle.

Im Rahmen dieser Arbeit hat die Autorengruppe 91 Fälle von AE mit prädominant psychiatrischer Symptomatik zusammengetragen. Die meisten Patient*innen litten unter einer paranoid-halluzinatorischen Symptomatik. Bei 23% lag eine wahrscheinliche Autoantikörper-bedingte psychiatrische AE vor, bei 77% lagen mögliche psychiatrische AE Formen vor. Die Liquorbefunde zeigten Veränderungen bei 77%, das MRT bei 57% und das EEG bei 40% der Patient*innen. Bei 83% der Patient*innen, die eine Immuntherapie erhielten, zeigte sich eine klinische Besserung.

Damit zeigt die Arbeit die Bedeutung der Detektion von psychiatrischen Manifestationsformen einer AE und dass hierdurch die Behandlung für kleine Patientensubgruppen in der Psychiatrie verbessert werden könnte.

Autor/-in: Prof. Dr. D. Endres

Kontakt: Prof. Dr. D. Endres (dominique.endres@uniklinik-freiburg.de), PD Dr. F. Leypoldt (Frank.Leypoldt@uksh.de), Prof. Dr. L. Tebartz van Elst (tebartzvanelst@uniklinik-freiburg.de)

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [CONNECT-GENERATE](#)

Clinical manifestations and immunomodulatory treatment experiences in psychiatric patients with suspected autoimmune encephalitis: a case series of 91 patients from Germany

Molecular Psychiatry. 2022 Jan 19. >>[PubMed-Link](#)<<

Dominique Endres, Eva Lungen, Alkomiet Hasan, Michael Kluge, Sabrina Fröhlich, Jan Lewerenz, Tom Bschor, Ida Sibylle Haußleiter, Georg Juckel, Florian Then Bergh, Barbara Ettrich, Lisa Kertzsch, Tatiana Oviedo-Salcedo, Robert Handreka, Martin Lauer, Klaas Winter, Norbert Zumdick, Anna Drews, Jost Obrocki, Yavor Yalachkov, Anna Bubl, Felix von Podewils, Udo Schneider, Kristina Szabo, Margarete Mattern, Alexandra Philipsen, Katharina Domschke, Klaus-Peter Wandinger, Alexandra Neyazi, Oliver Stich, Harald Prüss, Frank Leypoldt, Ludger Tebartz van Elst

New treatment options in individual cases may be provided by detecting the organic causes of mental disorders. In this context, autoimmune encephalitis (AE) with psychiatric symptoms is crucial, since immunotherapies are available for their treatment. Thus far, only single cases of patients with isolated psychiatric manifestations are known. Most of the described patients with AE also showed neurological symptoms such as epileptic seizures.

The authors collected 91 AE cases with predominant psychiatric symptoms in this work. Most patients suffered from paranoid-hallucinatory symptoms. Probable autoantibody-mediated psychiatric AE was present in 23% of cases, and possible psychiatric AE forms were observed in 77%. Cerebrospinal fluid findings have been shown in 77%, MRI in 57%, and EEG in 40% of patients. Clinical improvement was reported in 83% of the patients who received immunotherapy.

Thus, the importance of detecting psychiatric manifestations of AE is demonstrated by this work. Treatment for small subgroups of patients could be improved by this.

Author: Prof. Dr. D. Endres

Contact: Prof. Dr. D. Endres (dominique.endres@uniklinik-freiburg.de), PD Dr. F. Leypoldt (Frank.Leypoldt@uksh.de), Prof. Dr. L. Tebartz van Elst (tebartzvanelst@uniklinik-freiburg.de)

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [mitoNET](#)

DNAJC30 defect: a frequent cause of recessive Leber hereditary optic neuropathy and Leigh syndrome

Brain. 2022 Feb 10. >>[PubMed-Link](#)<<

Sarah L Stenton, Marketa Tesarova, Natalia L Sheremet, Claudia Catarino, Valerio Carelli, Elżbieta Ciara, Kathryn Curry, Martin Engvall, Leah R Fleming, Peter Freisinger, Katarzyna Iwanicka-Pronicka, Elżbieta Jurkiewicz, Thomas Klopstock, Mary K Koenig, Hana Kolářová, Bohdan Kousal, Tatiana Krylova, Chiara La Morgia, Lenka Nosková, Dorota Piekutowska-Abramczuk, Sam N Russo, Viktor Stránecký, Iveta Tóthová, Frank Träisk, Holger Prokisch

Diese Arbeit unter führender Beteiligung des mitoNET und des europäischen Mitochondrien-Projekts GENOMIT kippt, zusammen mit einer vorangegangenen Arbeit der Autor*innen, das Jahrzehnte alte Dogma, dass die Lebersche Hereditäre Optik-Neuropathie (LHON) eine ausschließlich auf mtDNA-Mutationen beruhende und entsprechend maternal vererbte Erkrankung ist. Stattdessen wurde zusätzlich eine neue, autosomal rezessiv vererbte Form von LHON (arLHON) identifiziert, verursacht durch biallelische *DNAJC30*-Varianten, die phänotypisch praktisch nicht von der klassischen LHON unterscheidbar ist.

In der vorliegenden Arbeit werden 24 neue LHON-Patient*innen beschrieben, die die homozygote p.Tyr51Cys-Mutation im *DNAJC30*-Gen tragen. Damit wird die Zahl berichteter Patienten fast verdoppelt. Die Patienten mit arLHON zeigen im Vergleich zur mütterlich vererbten Krankheit (mtLHON) ein etwas früheres Auftreten der Krankheit und eine höhere Rate von spontaner oder durch Idebenon-Therapie getriggelter Seherholung.

Darüber hinaus belegen zwei weitere Fälle im Kindes- und Erwachsenenalter die Verbindung von *DNAJC30*-Varianten mit dem Leigh-Syndrom. Dies erweitert das genetische Spektrum des Leigh-Syndroms, der häufigsten mitochondrialen Erkrankung im Kindesalter.

Zusammenfassend unterstreichen die Ergebnisse den diagnostischen Nutzen der Sequenzierung von *DNAJC30* in Ergänzung zur mitochondrialen DNA bei klinisch vermuteter LHON und die Bedeutung der Berücksichtigung von *DNAJC30* bei der molekularen Diagnose des Leigh-Syndroms. Die neuen Erkenntnisse sind für die familiäre und prognostische Beratung von wesentlicher Bedeutung.

Autor: Thomas Klopstock, LMU Klinikum

Kontakt: Thomas.Klopstock@med.uni-muenchen.de

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [mitoNET](#)

DNAJC30 defect: a frequent cause of recessive Leber hereditary optic neuropathy and Leigh syndrome

Brain. 2022 Feb 10. >>[PubMed-Link](#)<<

Sarah L Stenton, Marketa Tesarova, Natalia L Sheremet, Claudia Catarino, Valerio Carelli, Elżbieta Ciara, Kathryn Curry, Martin Engvall, Leah R Fleming, Peter Freisinger, Katarzyna Iwanicka-Pronicka, Elżbieta Jurkiewicz, Thomas Klopstock, Mary K Koenig, Hana Kolářová, Bohdan Kousal, Tatiana Krylova, Chiara La Morgia, Lenka Nosková, Dorota Piekutowska-Abramczuk, Sam N Russo, Viktor Stránecký, Iveta Tóthová, Frank Träisk, Holger Prokisch

This work, with leading participation from mitoNET and the European mitochondrial project GENOMIT, together with a previous paper by the authors, overturns the decades-old dogma that Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) is a disease based exclusively on mtDNA mutations and correspondingly only maternally inherited. Instead, a new, autosomal recessive form of LHON (arLHON) was additionally identified, caused by biallelic *DNAJC30* variants, which is phenotypically virtually not distinguishable from classical LHON.

The present paper describes 24 new LHON patients carrying the homozygous p.Tyr51Cys mutation in the *DNAJC30* gene. This almost doubles the number of reported patients. The patients with arLHON show a slightly earlier onset of disease and a higher rate of spontaneous or idebenone-treated visual recovery compared to maternally inherited disease (mtLHON).

In addition, two further cases in child and adult age confirm the association of *DNAJC30* variants with Leigh syndrome. This expands the genetic spectrum of Leigh syndrome, the most common mitochondrial disorder in childhood.

In conclusion, the results highlight the diagnostic utility of sequencing *DNAJC30* in addition to mitochondrial DNA in clinically suspected LHON and the importance of considering *DNAJC30* in the molecular diagnosis of Leigh syndrome. The new findings are essential for familial and prognostic counselling.

Author: Thomas Klopstock, LMU Klinikum

Contact: Thomas.Klopstock@med.uni-muenchen.de

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [MyPred](#)

Gain-of-function mutations in RPA1 cause a syndrome with short telomeres and somatic genetic rescue

Blood. 2022 Feb 17. >>[PubMed-Link](#)<<

Richa Sharma, Sushree S Sahoo, Masayoshi Honda, Sophie L Granger, Charnise Goodings, Louis Sanchez, Axel Künstner, Hauke Busch, Fabian Beier, Shondra M Pruett-Miller, Marcus B Valentine, Alfonso G Fernandez, Ti-Cheng Chang, Vincent Géli, Dmitri Churikov, Sandrine Hirschi, Victor B Pastor, Melanie Boerries, Melchior Lauten, Charikleia Kelaidi, Megan A Cooper, Sarah Nicholas, Jill A Rosenfeld, Sophia Polychronopoulou, Caroline Kannengiesser, Carole Saintomé, Charlotte M Niemeyer, Patrick Revy, Marc S Wold, Maria Spies, Miriam Erlacher, Stéphane Coulon, Marcin W Wlodarski

Als Telomere bezeichnet man die aus einzelsträngiger DNA und Proteinen bestehenden Endkappen unserer Chromosomen, die für die Stabilität und den Schutz der Chromosomen entscheidend sind. Telomeropathien sind seltene Multi-System-Erkrankungen, die durch eine mutations-bedingte frühzeitige Verkürzung von Telomeren verursacht werden und zur frühzeitigen Alterung der Zellen führen. Diese Mutationen betreffen Proteine, die wichtig für die Stabilität, die Synthese oder das Verlängern der Telomere sind. In geschätzt 30% der Fälle ist die ursächliche Mutation jedoch nicht bekannt.

In dieser Studie konnten wir in vier Individuen mit Telomeropathie-Erkrankung drei unterschiedliche missense Mutationen im Gen RPA1 identifizieren und bringen damit zum ersten Mal RPA1 mit Telomeropathien in Verbindung. Das Gen kodiert für Replikations-Protein A1 (RPA1), welches Einzelstrang DNA bindet und schützt und essentiell für die Verdoppelung und die Reparatur der DNA ist. Zwei der von uns identifizierten RPA1 Mutationen führten in Zellkultur-Experimenten zu einer stärkeren Bindung an Einzelstrang-DNA und Telomerasequenzen, sind also sogenannte „Gain-of-Function“ Mutationen, die dritte identifizierte RPA1 Mutation hatte keinen relevanten Einfluss auf die Bindungskapazität. Wir nehmen an, dass die RPA1 Mutationen möglicherweise andere Telomerehaltende Proteine daran hindern, Zugang zur DNA zu bekommen, wodurch es zu einer schnelleren Erosion der Telomere kommt.

Interessanterweise haben wir in einem Fall weitere, später erworbene genetische Veränderungen in blutbildenden Zellen entdeckt, die die RPA1 Gain-of-Function Mutation durch verschiedene Mechanismen eliminieren. Diese Art der „natürlichen“ Gentherapie konnten wir in einer früheren Studie auch bei MDS Patient*innen mit Genveränderungen in den Genen SAMD9 oder SAMD9L nachweisen. Diese „natürliche“ Gentherapie liefert entscheidende Hinweise für eine zukünftig mögliche Behandlung und Heilung mit einer kontrollierten Gentherapie.

Autor/-in: Dr. Marcin Wlodarski/ Dr. Ursula Kern

Kontakt: Marcin.Wlodarski@stjude.org

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [MyPred](#)

Gain-of-function mutations in RPA1 cause a syndrome with short telomeres and somatic genetic rescue

Blood. 2022 Feb 17. >>[PubMed-Link](#)<<

Richa Sharma, Sushree S Sahoo, Masayoshi Honda, Sophie L Granger, Charnise Goodings, Louis Sanchez, Axel Künstner, Hauke Busch, Fabian Beier, Shondra M Pruett-Miller, Marcus B Valentine, Alfonso G Fernandez, Ti-Cheng Chang, Vincent Géli, Dmitri Churikov, Sandrine Hirschi, Victor B Pastor, Melanie Boerries, Melchior Lauten, Charikleia Kelaidi, Megan A Cooper, Sarah Nicholas, Jill A Rosenfeld, Sophia Polychronopoulou, Caroline Kannengiesser, Carole Saintomé, Charlotte M Niemeyer, Patrick Revy, Marc S Wold, Maria Spies, Miriam Erlacher, Stéphane Coulon, Marcin W Wlodarski

English overview article:

[Telomere biology disorders gain a family member](#)

Editorial, Blood (2022) 139 (7): 957–959.

Author: Sharon A. Savage

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [CONNECT-GENERATE](#) – special COVID-19

SARS-CoV-2 Beta variant infection elicits potent lineage-specific and cross-reactive antibodies

Science. 2022 Feb 18;375 (6582):782-787. [>>PubMed-Link<<](#)

S Momsen Reincke, Meng Yuan, Hans-Christian Kornau, Victor M Corman, Scott van Hoof, Elisa Sánchez-Sendin, Melanie Ramberger, Wenli Yu, Yuanzi Hua, Henry Tien, Marie Luisa Schmidt, Tatjana Schwarz, Lara Maria Jeworowski, Sarah E Brandl, Helle Foverskov Rasmussen, Marie A Homeyer, Laura Stöffler, Martin Barner, Désirée Kunkel, Shufan Huo, Johannes Horler, Niels von Wardenburg, Inge Kroidl, Tabea M Eser, Andreas Wieser, Christof Geldmacher, Michael Hoelscher, Hannes Gänzer, Günter Weiss, Dietmar Schmitz, Christian Drost, Harald Prüss, Ian A Wilson, Jakob Kreye

Der Schutz gegen SARS-CoV-2 durch neutralisierende Antikörper nach Infektion oder Impfung kann durch das Aufkommen neuer Virusvarianten immer wieder abfallen. Sogenannte Variants of Concern sind dabei zum einen durch erhöhte Übertragbarkeit oder Virulenz gekennzeichnet, zum anderen können sie resistent gegenüber schützenden Antikörpern im Blut von Geimpften und Genesenen werden. Ähnlich wie die aktuell dominierende Omikron-Variante zeigt die Beta-Variante mit ihren drei Schlüsselmutationen in der Rezeptor-Bindungsdomäne (RBD) eine ausgeprägte Neutralisationsresistenz, was auf deutliche Unterschiede in der Antigenität hindeutet. Um den zugrundeliegenden Mechanismus auf der Ebene einzelner monoklonaler Antikörper zu entschlüsseln, untersuchte eine Gruppe von Wissenschaftler*innen das Blut von 40 mit dem Beta-Virus Infizierten aus Deutschland und Österreich.

Etwa die Hälfte der RBD-Antikörper dieser Patienten binden die Beta-Variante, aber nicht das Wildtypvirus. Überraschenderweise konnten genetisch und strukturell eng verwandte Beta-spezifische Antikörper aus unterschiedlichen Patienten isoliert werden. Solche Antikörper bilden somit eine eigene Antikörperklasse, die selektiv nur bestimmte Varianten-Mutationen erkennen. Andere Beta-spezifische Antikörper entstehen aus geringfügigen Anpassungen der Antikörperstruktur bereits bekannter Wildtyp-Hauptantikörperklassen. Zusätzlich zeigten wir, dass nach Beta-Infektion kreuzreaktive RBD-Antikörper entstehen, die sowohl das Wildtypvirus, als auch die Varianten Alpha, Gamma und Delta binden. Einige dieser kreuzreaktiven Antikörper ähneln genetisch bereits bekannten Wildtyp-Antikörpern und binden das Virus auf die gleiche Art, wie wir durch strukturbiologischen Untersuchungen zeigen konnten. Bemerkenswert war zudem, dass sowohl einige der Beta-spezifischen als auch der kreuzreaktiven Antikörper die neue Omikron-Variante erkennen.

Das bisherige Verständnis der Antikörperantwort auf SARS-CoV-2 basierte vor allem auf Daten von Wildtyp-Immunsierungen. Unsere Ergebnisse erweitern diese nun und liefern Erkenntnisse, die für das Design der nächsten Generation von Impfstoffen und Antikörper-basierten Therapeutika hilfreich sein können.

Autoren: Dr. med. S. Momsen Reincke, Prof. Dr. med. Harald Prüss und Dr. med. Jakob Kreye, Klinik für Neurologie und Experimentelle Neurologie der Charité, Forschungsgruppe „Autoimmune Enzephalopathien“ am Deutschen Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE)

Kontakt: Momsen Reincke (momsen.reincke@charite.de)

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [CONNECT-GENERATE](#)– special COVID-19

SARS-CoV-2 Beta variant infection elicits potent lineage-specific and cross-reactive antibodies

Science. 2022 Feb 18;375 (6582):782-787. >>[PubMed-Link](#)<<

S Momsen Reincke, Meng Yuan, Hans-Christian Kornau, Victor M Corman, Scott van Hoof, Elisa Sánchez-Sendin, Melanie Ramberger, Wenli Yu, Yuanzi Hua, Henry Tien, Marie Luisa Schmidt, Tatjana Schwarz, Lara Maria Jeworowski, Sarah E Brandl, Helle Foverskov Rasmussen, Marie A Homeyer, Laura Stöffler, Martin Barner, Désirée Kunkel, Shufan Huo, Johannes Horler, Niels von Wardenburg, Inge Kroidl, Tabea M Eser, Andreas Wieser, Christof Geldmacher, Michael Hoelscher, Hannes Gänzer, Günter Weiss, Dietmar Schmitz, Christian Drosten, Harald Prüss, Ian A Wilson, Jakob Kreye

Protection against SARS-CoV-2 by neutralizing antibodies after infection or vaccination is challenged by the emergence of new virus variants. So-called variants of concern are characterized on the one hand by increased transmissibility or virulence, and on the other hand they can become resistant to protective antibodies in the blood of vaccinated and recovered persons. Similar to the currently dominant Omicron variant, the Beta variant with its three key mutations in the receptor-binding domain (RBD) shows marked resistance to neutralization, suggesting significant differences in antigenicity. To decipher the underlying mechanism at the level of monoclonal antibodies, a group of scientists examined the blood of 40 beta virus-infected individuals from Germany and Austria.

About half of the RBD antibodies from these patients bind the Beta variant, but not the wild-type virus. Surprisingly, genetically and structurally closely related Beta-specific antibodies could be isolated from different patients. Such antibodies thus form a distinct class of antibodies that selectively recognize only specific variant mutations. Other Beta-specific antibodies arise from minor adaptations of the antibody structure of already known wild-type major antibody classes. In addition, we showed that cross-reactive RBD antibodies that bind both wild-type virus and Alpha, Gamma, and Delta variants arise after Beta infection. Some of these cross-reactive antibodies are genetically similar to already known wild-type antibodies and bind the virus in the same way. We also showed that some of the Beta-specific as well as the cross-reactive antibodies recognize the new Omicron variant.

Previous understanding of the antibody response to SARS-CoV-2 was based primarily on data from wild-type immunizations. Our results now extend this and provide insights that may be useful for designing the next generation of vaccines and antibody-based therapeutics.

Authors: Dr. med. S. Momsen Reincke, Prof. Dr. med. Harald Prüss and Dr. med. Jakob Kreye, are affiliated with the Department of Neurology and Experimental Neurology at Charité - Universitätsmedizin, Berlin; and are members of the group „Autoimmune Encephalopathies“ at German Center for Neurodegenerative Diseases (DZNE).

Contact: Momsen Reincke (momsen.reincke@charite.de)

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [STOP-FSGS](#) – special COVID-19

Complement activation induces excessive T cell cytotoxicity in severe COVID-19

Cell. 2022 Feb 3. [>>PubMed-Link<<](#)

Philipp Georg, Rosario Astaburuaga-García, Lorenzo Bonaguro, Sophia Brumhard, Laura Michalick, Lena J Lippert, Tomislav Kostevc, Christiane Gäbel, Maria Schneider, Mathias Streitz, Vadim Demichev, Ioanna Gemünd, Matthias Barone, Pinkus Tober-Lau, Elisa T Helbig, David Hillus, Lev Petrov, Julia Stein, Hannah-Philine Dey, Daniela Paclik, Christina Iwert, Michael Müllleder, Simran Kaur Aulakh, Sonja Djudjaj, Roman D Bülow, Henrik E Mei, Axel R Schulz, Andreas Thiel, Stefan Hippenstiel, Antoine-Emmanuel Saliba, Roland Eils, Irina Lehmann, Marcus A Mall, Sebastian Stricker, Jobst Röhmel, Victor M Corman, Dieter Beule, Emanuel Wyler, Markus Landthaler, Benedikt Obermayer, Saskia von Stillfried, Peter Boor, Münevver Demir, Hans Wesselmann, Norbert Suttorp, Alexander Uhrig, Holger Müller-Redetzky, Jacob Nattermann, Wolfgang M Kuebler, Christian Meisel, Markus Ralser, Joachim L Schultze, Anna C Aschenbrenner, Charlotte Thibeault, Florian Kurth, Leif E Sander, Nils Blüthgen, Birgit Sawitzki, PA-COVID-19 Study Group

Wissenschaftler*innen des Berlin Institute of Health der Charité (BIH) und Kolleg*innen der Charité - Universitätsmedizin Berlin und der Universitätskliniken Bonn und Aachen haben bei schwer erkrankten COVID-19-Patient*innen eine besonders aktive Gruppe von Immunzellen gefunden. Die CD16-positiven T-Zellen haben eine zytotoxische Wirkung auf das Endothel und sind mit einem tödlichen Verlauf von COVID-19 verbunden.

Die zentrale Rolle des Immunsystems, das bei schweren COVID-19-Verläufen sogar nach erfolgreicher Bekämpfung der Infektion körpereigene Zellen angreift und zerstört, gilt als erwiesen. Die Leiterin der Studie, Professorin Birgit Sawitzki (Leiterin der Abteilung Translationale Immunologie am BIH), interessiert sich besonders für die Erforschung der T-Zellen, die als "Dirigenten des ganzen Orchesters der Immunbotenstoffe und -zellen" verschiedene Funktionen übernehmen können. So ermöglichen T-Helferzellen eine gezielte Abwehr mit maßgeschneiderten Antikörpern, und T-Killerzellen töten gezielt infizierte Körperzellen ab. Bei einer SARS-CoV-2-Infektion vermehren sich die T-Zellen, die spezifisch das Spike-Protein erkennen und angreifen. Im Blut von Patient*innen mit schwerer COVID-19 Infektion entdeckten Forscher*innen spezielle T-Zellen, die das Molekül CD16 auf ihrer Oberfläche tragen. CD16 hilft Zellen des angeborenen Immunsystems, virusinfizierte Körperzellen zu erkennen und abzutöten. Normalerweise werden T-Zellen über ihren T-Zell-Rezeptor aktiviert, der spezifisch an präsentierte Virusbestandteile bindet und so die T-Zelle dazu anregt, die Zielzelle zu töten. Gleichzeitig stellt die Erkennung von gefährlichen Zellen durch den T-Zell-Rezeptor einen Sicherheitsmechanismus dar, da nur fremde Eiweißbestandteile erkannt werden. Die zusätzliche Aktivierung über CD16 umgeht diesen Sicherheitsmechanismus, so dass auch nicht-infizierte Gefäßzellen angegriffen werden können. Die Aachener Forscher*innen konnten CD16-positive T-Zellen auch in der Lunge verstorbener COVID-19-Patienten nachweisen und bestätigten damit die Befunde aus dem Blut von COVID-19-Patient*innen mit schwerem Krankheitsverlauf.

Ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung von CD16-positiven T-Zellen und bestimmten Komponenten des Komplementsystems, die bei Patienten mit schwerem COVID-19 vermehrt gebildet werden, könnte ein Ansatz sein, um schwere Verläufe durch Hemmung dieser Komponenten zu minimieren. Weiterhin könnten diese Erkenntnisse auch eine Rolle in Nierenerkrankungen spielen, die häufig immunbedingt sind und mit Veränderungen des Komplements einhergehen.

Autor: Peter Boor

Kontakt: pboor@ukaachen.de

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [STOP-FSGS](#) – special COVID-19

Complement activation induces excessive T cell cytotoxicity in severe COVID-19

Cell. 2022 Feb 3. [>>PubMed-Link<<](#)

Philipp Georg, Rosario Astaburuaga-García, Lorenzo Bonaguro, Sophia Brumhard, Laura Michalick, Lena J Lippert, Tomislav Kostevc, Christiane Gäbel, Maria Schneider, Mathias Streitz, Vadim Demichev, Ioanna Gemünd, Matthias Barone, Pinkus Tober-Lau, Elisa T Helbig, David Hillus, Lev Petrov, Julia Stein, Hannah-Philine Dey, Daniela Paclik, Christina Iwert, Michael Müllleder, Simran Kaur Aulakh, Sonja Djudjaj, Roman D Bülow, Henrik E Mei, Axel R Schulz, Andreas Thiel, Stefan Hippenstiel, Antoine-Emmanuel Saliba, Roland Eils, Irina Lehmann, Marcus A Mall, Sebastian Stricker, Jobst Röhmel, Victor M Corman, Dieter Beule, Emanuel Wyler, Markus Landthaler, Benedikt Obermayer, Saskia von Stillfried, Peter Boor, Münevver Demir, Hans Wesselmann, Norbert Suttorp, Alexander Uhrig, Holger Müller-Redetzky, Jacob Nattermann, Wolfgang M Kuebler, Christian Meisel, Markus Ralser, Joachim L Schultze, Anna C Aschenbrenner, Charlotte Thibeault, Florian Kurth, Leif E Sander, Nils Blüthgen, Birgit Sawitzki, PA-COVID-19 Study Group

Scientists of the Berlin Institute of Health of the Charité (BIH) and colleagues of the Charité - Universitätsmedizin Berlin and the University Hospitals of Bonn and Aachen have found a particularly active group of immune cells in severely ill COVID-19 patients. The CD16-positive T cells have a cytotoxic effect on the endothelium and are associated with a lethal course of COVID-19.

The central role of the immune system, which attacks and destroys the body's own cells in severe COVID-19 courses even after successfully fighting the infection, is considered established. The leader of the study, Professor Birgit Sawitzki (head of the Translational Immunology Department at BIH), is particularly interested in research on T cells, which as "conductors of the whole orchestra of immune messengers and cells" can assume various functions. For example, T helper cells enable targeted defense with tailored antibodies, and T killer cells specifically kill infected body cells. In the case of SARS-CoV-2 infection, T cells that specifically recognize and attack the spike protein proliferate. In the blood of patients with severe COVID-19 infection, researchers discovered special T cells that carry the molecule CD16 on their surface. CD16 helps cells of the innate immune system to recognize and kill virus-infected body cells. Normally, T cells are activated via their T cell receptor, which specifically binds to presented viral components, stimulating the T cell to kill the target cell. At the same time, the recognition of dangerous cells by the T cell receptor represents a safety mechanism, as only foreign protein components are recognized. The additional activation via CD16 bypasses this safety mechanism, so that non-infected vascular cells can also be attacked.

The Aachen researchers were also able to detect CD16-positive T cells in the lungs of deceased COVID-19 patients, thus confirming the findings from the blood of COVID-19 patients with severe disease progression.

A link between the development of CD16-positive T cells and certain components of the complement system, which are produced more frequently in patients with severe COVID-19, could be an approach to minimize severe courses by inhibiting these components. Furthermore, these findings could also play a role in kidney diseases, which are often immune-related and associated with changes in complement.

Author: Peter Boor

Contact: pboor@ukaachen.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [HiChol](#)

FOXA2 prevents hyperbilirubinaemia in acute liver failure by maintaining apical MRP2 expression

Gut. 2022 Apr 20. >>[PubMed-Link](#)<<

Sai Wang, Rilü Feng, Shan Shan Wang, Hui Liu, Chen Shao, Yujia Li, Frederik Link, Stefan Munker, Roman Liebe, Christoph Meyer, Elke Burgermeister, Matthias Ebert, Steven Dooley, Huiguo Ding, Honglei Weng

Die Erhaltung der Gallensäure-Homöostase ist eine von vielen essenzielle Leberfunktionen. Gallensäuren spielen eine zentrale Rolle bei der Entgiftung, der Stoffwechselregulation und der Zusammensetzung des Darmmikrobioms. Das Multidrug-Resistance-Protein 2 (MRP2) ist ein limitierender Faktor bei der Bilirubinausscheidung an der kanalikulären Membran der Hepatozyten. Sein Verlust reicht aus, um eine Hyperbilirubinämie auszulösen, die ein Hauptmerkmal des akuten Leberversagens (ALF) darstellt und mit erhöhter Sterblichkeit assoziiert ist. Physiologisch wird die Transkription von MRP2 durch den nukleären Rezeptor FXR/Retinoid-X-Rezeptor-Komplex reguliert. Bei Patienten mit ALF geht die hepatische FXR-Expression verloren, aber die apikale MRP2-Expression bleibt interessanterweise erhalten. Die Autoren untersuchen, wie bei solchen Patienten die MRP2-Expression und damit die Gallensäure-Homöostase aufrechterhalten wird. Sie können zeigen, dass der Pionier-Transkriptionsfaktor FOXA2 hochreguliert wird und die MRP2-Transkription in der entzündeten Leber aufrechterhält. Sie entdecken weiter, dass FOXA2 unter normalen Umständen durch Insulin aus dem Zellkern ausgeschlossen wird. Bei ALF jedoch induzieren hohe Spiegel von Glucagon und Tumornekrosefaktor alpha die Expression und den Übertritt in den Zellkern von FOXA2 in Hepatozyten. Durch diesen Mechanismus wird die Gallensäuren Homöostase auch in Abwesenheit von FXR, dem zentralen Gallensäurerezeptor, sichergestellt. Wenn jedoch bei ALF eine Sepsis auftritt, verlieren die Patienten auch die Expression von FOXA2 und damit von MRP2, und entwickeln in Folge eine schwere Hyperbilirubinämie. Die Autoren zeigen an *Fxr*^{-/-} (FXR-Knockout)-Mäusen und LPS-behandelten Mäusen, dass eine erzwungene FOXA2-Expression die MRP2-Expression wiederherstellt und die Bilirubinwerte im Serum normalisiert.

Die translationale Relevanz dieser Ergebnisse ist zweifach:

1. Erzwungene FOXA2-Expression zur Aufrechterhaltung von MRP2 stellt eine potenzielle Strategie zur Prävention von Hyperbilirubinämie bei septischem ALF dar, einer Erkrankung mit hoher Sterblichkeit. Während eine langfristige Aktivierung von FOXA2 aufgrund seiner Rolle als Pionierfaktor nachteilig sein könnte, ist eine Aktivierung der hepatozytären Bilirubin-Ausscheidung durch Glucagon-Agonisten oder andere kleine Moleküle, die FOXA2 induzieren, eine vielversprechende kurzfristige Intervention, um das Überleben des ALF Patienten zu sichern, bis ein Leberspender gefunden ist.
2. Diese Ergebnisse stellen eine potenzielle neue Strategie zur Behandlung von Kindern dar, die an der extrem seltenen Krankheit progressive familiäre intrahepatische Cholestase Typ 5 (PFIC5) leiden. PFIC5-Kinder zeigen aufgrund homozygoter inaktivierender Mutationen in FXR eine totale Abwesenheit dieses essenziellen Gallensäurenrezeptors, und leiden in Folge an den Konsequenzen dieser schweren Störung der Gallensäureregulation in Leber und Darm. Weitere Experimente, z.B. an Leberorganoiden von PFIC5-Patienten, die aus induzierten pluripotenten *FXR*^{-/-} Stammzellen (iPS-Zellen) hergestellt wurden, sind erforderlich, um die Wirksamkeit eines solchen Ansatzes zu testen.

Autor/-in: : Honglei Weng

Kontakt: Honglei.Weng@medma.uni-heidelberg.de; <https://www.hichol.hhu.de>

Paper of the Quarter – QII/2022 – [HiChol](#)

FOXA2 prevents hyperbilirubinaemia in acute liver failure by maintaining apical MRP2 expression

Gut. 2022 Apr 20. >>[PubMed-Link](#)<<

Sai Wang, Rilü Feng, Shan Shan Wang, Hui Liu, Chen Shao, Yujia Li, Frederik Link, Stefan Munker, Roman Liebe, Christoph Meyer, Elke Burgermeister, Matthias Ebert, Steven Dooley, Huiguo Ding, Honglei Weng

Maintenance of bile acid homeostasis is one of many essential liver functions, impacting detoxification, metabolic regulation, and the gut microbiome. Multidrug resistance protein 2 (MRP2) is a bottleneck in bilirubin excretion. Its loss is sufficient to induce hyperbilirubinaemia, a prevailing characteristic of acute liver failure (ALF) that is closely associated with clinical outcome. Physiologically, MRP2 transcription is regulated by the nuclear receptors' FXR/retinoid X receptor complex. Patients with ALF lose hepatic FXR expression, but still maintain apical MRP2 expression.

The authors investigate how these patients maintain MRP2 and bile acid homeostasis, and show that the pioneer transcription factor FOXA2 is upregulated and maintains MRP2 transcription in the inflamed liver. They reveal that under normal circumstances, FOXA2 is excluded from the nucleus by insulin. In ALF, however, high levels of glucagon and tumour necrosis factor alpha induce FOXA2 expression and nuclear translocation in hepatocytes. Through this mechanism, bile acid homeostasis is maintained even in the absence of FXR, the central bile acid receptor. However, when sepsis occurs in ALF, patients lose expression of FOXA2 and thus MRP2, and develop severe hyperbilirubinaemia. The authors show in *Fxr*^{-/-} (FXR knockout) mice and LPS-treated mice that ectopic FOXA2 expression rescues MRP2 expression and normalises serum bilirubin levels.

The translational significance of these findings is twofold:

1. Forced FOXA2 expression to maintain MRP2 represents a potential strategy to prevent hyperbilirubinaemia in septic ALF, a condition with high mortality. While long-term FOXA2 activation might be detrimental due to its role as a pioneering factor, activation of bilirubin clearance by glucagon agonists or other small molecules that induce FOXA2 is a promising short-term intervention to improve liver function and thus survival until a liver donor is found.
2. These findings outline a potential new strategy to treat children suffering from the extremely rare disease progressive familial intrahepatic cholestasis type 5 (PFIC5). PFIC5 children suffer from a total lack of FXR due to homozygous inactivating mutations in this essential bile acid receptor. Further experiments using PFIC5 patient-derived liver organoids made from induced pluripotent *FXR*^{-/-} stem cells (iPS cells) are required to test the feasibility of this approach.

Author: Honglei Weng

Contact: Honglei.Weng@medma.uni-heidelberg.de
<https://www.hichol.hhu.de/>

Paper of the Quarter – QII/2022 – [mitoNET](#)

Clinical implementation of RNA sequencing for Mendelian disease diagnostics

Genome Medicine. 2022 Apr 5. >>[PubMed-Link](#)<<

Vicente A Yépez, Mirjana Gusic, Robert Kopajtich, Christian Mertes, Nicholas H Smith, Charlotte L Alston, Rui Ban, Skadi Beblo, Riccardo Berutti, Holger Blessing, Elżbieta Ciara, Felix Distelmaier, Peter Freisinger, Johannes Häberle, Susan J Hayflick, Maja Hempel, Yulia S Itkis, Yoshihito Kishita, Thomas Klopstock, Tatiana D Krylova, Costanza Lamperti, Dominic Lenz, Christine Makowski, Signe Mosegaard, Michaela F Müller, Gerard Muñoz-Pujol, Agnieszka Nadel, Akira Ohtake, Yasushi Okazaki, Elena Procopio, Thomas Schwarzmayr, Joël Smet, Christian Staufner, Sarah L Stenton, Tim M Strom, Caterina Terrile, Frederic Tort, Rudy Van Coster, Arnaud Vanlander, Matias Wagner, Manting Xu, Fang Fang, Daniele Ghezzi, Johannes A Mayr, Dorota Piekutowska-Abramczuk, Antonia Ribes, Agnès Rötig, Robert W Taylor, Saskia B Wortmann, Kei Murayama, Thomas Meitinger, Julien Gagneur, Holger Prokisch

Die Einführung der Exom Sequenzierung (WES) hat die genetische Diagnostik revolutioniert, indem sowohl die diagnostische Rate erhöht als auch die Identifizierung neuer Krankheitsgene erheblich beschleunigt werden konnte. Da durch WES selten in mehr als 50% der Fälle eine Diagnosestellung gelingt, verbleiben ein Großteil der Patienten oft ohne genetische Diagnose. RNA-seq Analysen ermöglichen die genomweite Interpretation von DNA Varianten auf der RNA Ebene sowohl für kodierende als auch nicht-kodierende Bereiche.

Wir haben eine automatisierte RNA-seq pipeline implementiert und mittels dieser Transkriptom Daten aus Fibroblasten von 303 Mitochondriopathie Patienten, bei denen im Vorfeld bereits WES Diagnostik vorgenommen wurde.

Im Durchschnitt detektieren wir 12.500 Gene pro Probe einschließlich ca. 60 % aller bekannten Krankheitsgene – eine wesentlich höhere Abdeckung als in Vollblut, was einen weiteren Vorteil der verwendeten Fibroblasten hervorhebt.

Gene wurden entweder durch aberrante Expression, aberrantes Spleißen oder monoallelische Expression priorisiert. Die pipeline benötigt weniger als eine Woche von der Probenvorbereitung bis zur Mitteilung von Ergebnissen und liefert im Median acht Kandidatengene pro Patient zur weiteren Überprüfung. Eine genetische Diagnosestellung gelang in 16% der 205 ungelösten WES Fälle. Den größten Beitrag lieferten Expressions Ausreißer, darunter auch einige Fälle mit einer Reduktion von 50%, bei denen in Kombination mit monoallelischer Expression selbst die Diagnose von dominanten Erkrankungen möglich war. Aberrantes Spleißen und die Detektion von Varianten in RNA-seq Daten ermöglicht die gleichzeitige Identifikation und Validierung von Varianten, welche zu Spleißdefekten führen. Ein Großteil dieser Varianten lag außerhalb der durch WES abgedeckten Bereiche.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass durch standardisierte experimentelle- und informatische Prozesse eine Implementation von RNA-seq in die Standarddiagnostik erleichtert und beschleunigt wird und die diagnostische Rate gegenüber WES erhöht wird.

Autor/-in: Robert Kopajtich

Kontakt: robert.kopajtich@helmholtz-muenchen.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [mitoNET](#)

Clinical implementation of RNA sequencing for Mendelian disease diagnostics

Genome Medicine. 2022 Apr 5. >>[PubMed-Link](#)<<

Vicente A Yépez, Mirjana Gusic, Robert Kopajtich, Christian Mertes, Nicholas H Smith, Charlotte L Alston, Rui Ban, Skadi Beblo, Riccardo Berutti, Holger Blessing, Elżbieta Ciara, Felix Distelmaier, Peter Freisinger, Johannes Häberle, Susan J Hayflick, Maja Hempel, Yulia S Itkis, Yoshihito Kishita, Thomas Klopstock, Tatiana D Krylova, Costanza Lamperti, Dominic Lenz, Christine Makowski, Signe Mosegaard, Michaela F Müller, Gerard Muñoz-Pujol, Agnieszka Nadel, Akira Ohtake, Yasushi Okazaki, Elena Procopio, Thomas Schwarzmayr, Joél Smet, Christian Staufner, Sarah L Stenton, Tim M Strom, Caterina Terrile, Frederic Tort, Rudy Van Coster, Arnaud Vanlander, Matias Wagner, Manting Xu, Fang Fang, Daniele Ghezzi, Johannes A Mayr, Dorota Piekutowska-Abramczuk, Antonia Ribes, Agnès Rötig, Robert W Taylor, Saskia B Wortmann, Kei Murayama, Thomas Meitinger, Julien Gagneur, Holger Prokisch

The implementation of whole exome sequencing (WES), revolutionized genetic diagnostics by improving diagnostic yield and accelerating the discovery of novel disease genes. Diagnostic yield of WES analysis rarely exceeds 50% and hence leaves the majority of patients without a genetic diagnosis. RNA-seq analysis facilitates genome-wide DNA variant interpretation on the RNA level, for both coding and non-coding variants.

We implemented an automated RNA-seq protocol and a computational workflow with which we analyzed skin fibroblasts of 303 individuals with a suspected mitochondrial disease that previously underwent WES.

We detected on average 12,500 genes per sample including around 60% of all disease genes—a coverage substantially higher than with whole blood, supporting the use of skin biopsies. We prioritized genes demonstrating aberrant expression, aberrant splicing, or mono-allelic expression. The pipeline required less than 1 week from sample preparation to result reporting and provided a median of eight disease-associated genes per patient for inspection. A genetic diagnosis was established for 16% of the 205 WES-inconclusive cases. Detection of aberrant expression was a major contributor to diagnosis including instances of 50% reduction, which, together with mono-allelic expression, allowed for the diagnosis of dominant disorders caused by haploinsufficiency. Moreover, calling aberrant splicing and variants from RNA-seq data enabled detecting and validating splice-disrupting variants, of which the majority fell outside WES-covered regions.

Together, these results show that streamlined experimental and computational processes can accelerate the implementation of RNA-seq in routine diagnostics which will increase the diagnostic rate compared to WES alone.

Author: Robert Kopajtich

Contact: robert.kopajtich@helmholtz-muenchen.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [NEOCYST](#)

Progressive liver, kidney, and heart degeneration in children and adults affected by *TULP3* mutations

American Journal of Human Genetics. 2022 May 5. >>[PubMed-Link](#)<<

John Devane, Elisabeth Ott, Eric G Olinger, Daniel Epting, Eva Decker, Anja Friedrich, Nadine Bachmann, Gina Renschler, Tobias Eisenberger, Andrea Briem-Richter, Enke Freya Grabhorn, Laura Powell, Ian J Wilson, Sarah J Rice, Colin G Miles, Katrina Wood, Genomics England Research Consortium; Palak Trivedi, Gideon Hirschfield, Andrea Pietrobattista, Elizabeth Wohler, Anya Mezina, Nara Sobreira, Emanuele Agolini, Giuseppe Maggiore, Mareike Dahmer-Heath, Ali Yilmaz, Melanie Boerries, Patrick Metzger, Christoph Schell, Inga Grünewald, Martin Konrad, Jens König, Bernhard Schlevogt, John A Sayer, Carsten Bergmann

Organfibrose ist gemeinsamer Endpunkt vieler Krankheiten und ein wichtiger Faktor für etwa die Hälfte aller Todesfälle in der westlichen Welt; die zugrundeliegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht gut verstanden. Verschiedene von primären Zilien regulierte Signalwege scheinen eine zentrale Rolle zu spielen. Zilienbedingte Erkrankungen (Ziliopathien) beginnen in der Regel bereits früh im Leben und stellen in Summe eine erhebliche Krankheitslast dar. Mittels verschiedener Ansätze führten wir Next Generation Sequencing (NGS) bei mehr als 5.000 Patienten mit ungeklärtem Leber- und Nierenversagen durch und korrelierten diese Daten mit klinischen, bildgebenden und histopathologischen Analysen. Bei insgesamt 15 meist erwachsenen Patienten aus acht nicht miteinander verwandten Familien mit fortschreitender degenerativer Leberfibrose, fibrozystischer Nierenerkrankung und hypertropher Kardiomyopathie mit atypischen fibrotischen Mustern in der Histopathologie konnten wir biallelische pathogene Veränderungen in *TULP3* identifizieren, das für ein wichtiges Adaptorprotein im ziliären Trafficking kodiert. Es scheint einen Zusammenhang zwischen Erkrankungsalter und *TULP3*-Genotyp zu geben. Um unsere klinischen Ergebnisse weiter zu validieren, wählten wir aufgrund der engen Verwandtschaft zum humanen Pendant den Zebrafisch als geeignetes Wirbeltiermodell, da im Gegensatz zu vergleichbaren Mausmodellen mutierte Zebrafische bis zum Erwachsenenalter überlebten und letztlich den menschlichen Phänotyp sehr gut widerspiegeln. In verschiedenen Primärzellen unserer *TULP3*-Patienten wiesen wir signifikant gestörtes ziliäres Trafficking nach. Eine direkte Interaktion von *TULP3* mit dem DNA-damage response Protein und wichtigen Fibrosemodulator SIRT1 wurde zudem durch uns gezeigt. In Übereinstimmung mit dem klinischen Phänotyp konnten wir schließlich mittels RNAseq dysregulierte profibrotische Signalwege in Patientenzellen nachweisen.

Pathogene Varianten in *TULP3* stellen somit eine neue monogene Ursache für eine fortschreitende degenerative Erkrankung wichtiger Organe dar, bei der Betroffene von einer frühzeitigen Erkennung und verbesserten klinischen Behandlung profitieren. Unsere Studie ist ein hervorragendes Beispiel für die komplementäre Power und den Zusatznutzen einer engen Zusammenarbeit zwischen Forschung, Diagnostik und Klinik. Die Aufklärung von Mechanismen, die für die Reparatur von DNA-Schäden und den Erhalt von Gewebe entscheidend sind, wird neue therapeutische Wege für diese und ähnliche genetische und nicht-genomische Krankheiten erschließen.

NEOCYST Kontakt: Carsten Bergmann, carsten.bergmann@medgen-mainz.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [NEOCYST](#)

Progressive liver, kidney, and heart degeneration in children and adults affected by TULP3 mutations

American Journal of Human Genetics. 2022 May 5. >>[PubMed-Link](#)<<

John Devane, Elisabeth Ott, Eric G Olinger, Daniel Epting, Eva Decker, Anja Friedrich, Nadine Bachmann, Gina Renschler, Tobias Eisenberger, Andrea Briem-Richter, Enke Freya Grabhorn, Laura Powell, Ian J Wilson, Sarah J Rice, Colin G Miles, Katrina Wood, Genomics England Research Consortium; Palak Trivedi, Gideon Hirschfield, Andrea Pietrobattista, Elizabeth Wohler, Anya Mezina, Nara Sobreira, Emanuele Agolini, Giuseppe Maggiore, Mareike Dahmer-Heath, Ali Yilmaz, Melanie Boerries, Patrick Metzger, Christoph Schell, Inga Grünewald, Martin Konrad, Jens König, Bernhard Schlevogt, John A Sayer, Carsten Bergmann

Organ fibrosis is a shared endpoint of many diseases and a major contributing factor in about half of all deaths in the Western world, yet underlying mechanisms are not well understood. Several pathways governed by the primary cilium, a sensory antenna present on most vertebrate cells, have been linked with fibrosis. Cilia-related disorders (ciliopathies) usually start early in life and represent a considerable disease burden. We performed massively parallel sequencing of more than 5,000 genetically unsolved individuals with unexplained liver and kidney failure and correlated this with clinical, imaging, and histopathological analyses. We detected bi-allelic deleterious variants in *TULP3*, encoding a critical adaptor protein for ciliary trafficking, in a total of 15 mostly adult individuals, originating from eight unrelated families, with progressive degenerative liver fibrosis, fibrocystic kidney disease, and hypertrophic cardiomyopathy with atypical fibrotic patterns on histopathology. We observed an apparent association between the age of disease onset and the predicted effect of *TULP3* variants. To further validate our clinical findings mechanistic studies were conducted with a vertebrate model and primary cells. We chose the zebrafish as a suitable vertebrate model for *Tulp3* which is closely related to its human counterpart. In contrast to comparable murine models, mutant zebrafish survived to adulthood and mirrored the human phenotype. At next, we demonstrated disrupted ciliary cargo composition in different primary cells derived from *TULP3* affected individuals. *TULP3* was further shown to interact with the DNA damage response protein and key fibrosis modulator SIRT1. RNAseq performed in patient cells revealed dysregulated profibrotic signaling pathways in accordance with the clinical phenotype.

These findings identify variants in *TULP3* as a novel monogenic cause for a clinically distinct progressive degenerative disease of major organs in which affected individuals benefit from early detection and improved clinical management. Our study nicely demonstrates the complementary power and added value of close interrelationships between research, diagnostics and the clinic. Elucidation of mechanisms crucial for DNA damage repair and tissue maintenance will guide novel therapeutic avenues for this and similar genetic and non-genomic diseases.

NEOCYST-Contact: Carsten Bergmann, carsten.bergmann@medgen-mainz.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [STOP-FSGS](#) & [NEOCYST](#)

Loss of the collagen IV modifier prolyl 3-hydroxylase 2 causes thin basement membrane nephropathy

Journal of Clinical Investigation. 2022 May 2. >>[PubMed-Link](#)<<

Hande Aypek, Christoph Krisp, Shun Lu, Shuya Liu, Dominik Kyliès, Oliver Kretz, Guochao Wu, Manuela Moritz, Kerstin Amann, Kerstin Benz, Ping Tong, Zheng-Mao Hu, Sulaiman M Alsulaiman, Arif O Khan, Maik Grohmann, Timo Wagner, Janina Müller-Deile, Hartmut Schlüter, Victor G Puelles, Carsten Bergmann, Tobias B Huber, Florian Grahammer

Die Nierenfiltration ist ein stark regulierter Prozess, der zur Bildung von zellfreiem und praktisch albuminfreiem Primärharn führt. Die für diesen Prozess notwendige glomeruläre Filtrationsbarriere besteht aus mehreren Schichten: Den Endothelzellen der glomerulären Kapillaren, der darauf aufliegenden glomerulären Basalmembran (GBM), den die Basalmembran umschließenden Fussfortsatzzellen (Podozyten) und der zwischen den Podozyten ausgebildeten Schlitzmembran. Fehlfunktionen der glomerulären Filtrationsbarriere, welche zu Eiweiß im Urin (Albuminurie) und einem Übertritt von roten Blutzellen (Mikrohämaturie) führen, sind häufig auf Mutationen in Genen zurückzuführen, die stark in Podozyten exprimiert sind und deren Genprodukte Bestandteil der GBM sind. Zu diesen Genen zählt unter anderem P3H2, welches für die Prolyl 3-Hydroxylase 2 kodiert und vor allem in Podozyten vorkommt, dessen funktionelle Relevanz bisher jedoch unbekannt ist. In dieser Studie konnte nun gezeigt werden, dass P3H2 eine wichtige Rolle bei der Modifizierung der Kollagenfasern der unter den Podozyten liegenden GBM spielt. Mit hochauflösenden molekularen und proteomischen Analysen konnten wir nachweisen, dass sich sowohl die Zusammensetzung der GBM, als auch deren Aufbau ändert. So führt der podozytenspezifische Verlust von P3H2 zu einem Syndrom der dünnen Basalmembranen (Thin Basement Membrane Nephropathy), was vor allem in einer signifikanten Abnahme der Häufigkeit von Kollagen-IV-Unterketten und ihren Interaktionspartnern begründet ist. Hierdurch kommt es zu einer Beeinträchtigung der Nierenfilterfunktion, die mit Mikrohämaturie und Mikroalbuminurie und nachfolgender fokaler segmentaler Glomerulosklerose (FSGS) einhergeht. P3H2 ist damit der erste identifizierte Modulator der GBM, der als krankheitsauslösender Faktor von Schäden am Nierenfilter beschrieben ist und dessen Verlust oder Mutation zu einer deutlichen Schädigung der Nierenfunktion führt.

STOP-FSGS-Kontakt:

Tobias B. Huber, t.huber@uke.de

Florian Grahammer, f.grahammer@uke.de

Paper of the Quarter – QII/2022 – [STOP-FSGS](#) & [NEOCYST](#)

Loss of the collagen IV modifier prolyl 3-hydroxylase 2 causes thin basement membrane nephropathy

Journal of Clinical Investigation. 2022 May 2. >>[PubMed-Link](#)<<

Hande Aypek, Christoph Krisp, Shun Lu, Shuya Liu, Dominik Kyllies, Oliver Kretz, Guochao Wu, Manuela Moritz, Kerstin Amann, Kerstin Benz, Ping Tong, Zheng-Mao Hu, Sulaiman M Alsulaiman, Arif O Khan, Maik Grohmann, Timo Wagner, Janina Müller-Deile, Hartmut Schlüter, Victor G Puelles, Carsten Bergmann, Tobias B Huber, Florian Grahammer

Renal filtration is a highly regulated process leading to the formation of cell-free and basically albumin-free primary urine. The glomerular filtration barrier required for this process consists of several layers: The endothelial cells of the glomerular capillaries, the glomerular basement membrane (GBM) resting on them, the foot process cells (podocytes) surrounding the basement membrane and the slit diaphragm in between podocytes. Glomerular filtration barrier dysfunction leading to protein in urine (albuminuria) and passage of red blood cells (microhematuria) is often due to mutations in genes that are highly expressed in podocytes and which gene products are components of the GBM. Among these genes is P3H2, which encodes prolyl 3-hydroxylase 2 and is primarily found in podocytes. Its functional relevance has so far remained unknown. In this study, P3H2 has now been shown to play an important role in modifying the collagen fibers of the GBM underlying podocytes. Using high-resolution molecular and proteomic analyses, we were able to demonstrate that both the composition of the GBM and its structure are changed. Thus, podocyte-specific loss of P3H2 leads to thin basement membrane nephropathy, which is mainly due to a significant decrease in the abundance of collagen IV subchains and their interaction partners. This results in impaired renal filter function associated with microhematuria and microalbuminuria with subsequent focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). P3H2 is thus the first identified modulator of the GBM that has been described as a disease-causing factor of damage to the renal filter and whose loss or mutation leads to significant damage to renal function.

STOP-FSGS-Contact:

Tobias B. Huber, t.huber@uke.de

Florian Grahammer, f.grahammer@uke.de

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [STOP-FSGS](#) – special COVID-19

Molecular consequences of SARS-CoV-2 liver tropism

Nature Metabolism. 2022 Mar. [>>PubMed-Link<<](#)

Nicola Wanner, Geoffroy Andrieux, Pau Badia-I-Mompel, Carolin Edler, Susanne Pfefferle, Maja T Lindenmeyer, Christian Schmidt-Lauber, Jan Czogalla, Milagros N Wong, Yusuke Okabayashi, Fabian Braun, Marc Lütgehetmann, Elisabeth Meister, Shun Lu, Maria L M Noriega, Thomas Günther, Adam Grundhoff, Nicole Fischer, Hanna Bräuninger, Diana Lindner, Dirk Westermann, Fabian Haas, Kevin Roedl, Stefan Kluge, Marylyn M Addo, Samuel Huber, Ansgar W Lohse, Jochen Reiser, Benjamin Ondruschka, Jan P Spermhake, Julio Saez-Rodriguez, Melanie Boerries, Salim S Hayek, Martin Aepfelbacher, Pietro Scaturro, Victor G Puelles, Tobias B Huber

Infektionen mit SARS-CoV-2 außerhalb der Lunge und extrapulmonale Manifestationen von COVID-19 gewinnen aufgrund ihrer klinischen Ergebnisse und potentiellen Langzeitfolgen zunehmend an Bedeutung. Es ist bekannt, dass SARS-CoV-2 eine Affinität zu verschiedenen Organen hat. Hierzu zählen unter anderem Herz und Niere. Ob aber die Leber ebenfalls direkt durch COVID-19 betroffen sein kann, ist bisher unbekannt. Mithilfe klinischer, histopathologischer, molekularer sowie bioinformatischer Methoden konnten wir einen solchen Lebertropismus von SARS-CoV-2 nachweisen. In unabhängigen Patientenkohorten konnten wir feststellen, dass COVID-19 bei hospitalisierten Patienten häufig zu Leberschädigungen führt, welche sich klinisch in abnormalen Leberfunktionstest manifestieren. Die Affinität von SARS-CoV-2 zur Leber konnte außerdem durch den Nachweis von viraler RNA in Autopsieleberproben und der erfolgreichen Isolierung von infektiösen SARS-CoV-2 Erregern aus postmortalem Lebergewebe bestätigt werden. Darüber hinaus konnten Transkriptions-, Proteom- und Transkriptionsfaktor-basierte Aktivitätsprofile in Autopsieleberproben identifiziert werden, die eine große Ähnlichkeit mit Profilen aufweisen, die mit anderen viralen Infektionen der menschlichen Leber assoziiert sind. Damit bietet diese Studie eine umfassende multimodale Analyse des SARS-CoV-2-Lebertropismus, die unser Verständnis der molekularen Folgen eines schweren COVID-19-Verlaufs verbessert und somit für die Identifizierung organspezifischer pharmakologischer Ziele nützlich sein könnte.

Weiterführende Studien werden zeigen, ob molekulare und klinische Folgen einer COVID-19 Infektion auch in anderen Organsystemen, wie z.B. der Niere mit akutem Nierenschaden oder fokal segmentaler Glomerulosklerose (FSGS) als langfristige Folge, zu erwarten sind.

Autoren: Kristina Schulz, Nicola Wanner

Kontakt: n.wanner@uke.de

Paper of the Quarter – Q1/2022 – [STOP-FSGS](#) – special COVID-19

Molecular consequences of SARS-CoV-2 liver tropism

Nature Metabolism. 2022 Mar. [>>PubMed-Link<<](#)

Nicola Wanner, Geoffroy Andrieux, Pau Badia-I-Mompel, Carolin Edler, Susanne Pfefferle, Maja T Lindenmeyer, Christian Schmidt-Lauber, Jan Czogalla, Milagros N Wong, Yusuke Okabayashi, Fabian Braun, Marc Lütgehetmann, Elisabeth Meister, Shun Lu, Maria L M Noriega, Thomas Günther, Adam Grundhoff, Nicole Fischer, Hanna Bräuninger, Diana Lindner, Dirk Westermann, Fabian Haas, Kevin Roedl, Stefan Kluge, Marylyn M Addo, Samuel Huber, Ansgar W Lohse, Jochen Reiser, Benjamin Ondruschka, Jan P Spermhake, Julio Saez-Rodriguez, Melanie Boerries, Salim S Hayek, Martin Aepfelbacher, Pietro Scaturro, Victor G Puelles, Tobias B Huber

Infections with SARS-CoV-2 outside the lung and extrapulmonary manifestations of COVID-19 are becoming increasingly important because of their clinical outcomes and potential long-term consequences. SARS-CoV-2 is known to have affinity for several organs. These include the heart and kidney. However, whether the liver can also be directly affected by COVID-19 is yet unknown. Using clinical, histopathological, molecular as well as bioinformatic methods, we were able to demonstrate such a liver tropism of SARS-CoV-2. In independent patient cohorts, we found that COVID-19 frequently leads to liver injury in hospitalized patients, which is clinically manifested by abnormal liver function tests. The affinity of SARS-CoV-2 for the liver was further confirmed by the detection of viral RNA in autopsy liver samples and the successful isolation of infectious SARS-CoV-2 agents from postmortem liver tissue. In addition, transcriptional, proteomic, and transcription factor-based activity profiles were identified in autopsy liver samples that show high similarity to profiles associated with other viral infections of the human liver. Thus, this study provides a comprehensive multimodal analysis of SARS-CoV-2 liver tropism that improves our understanding of the molecular consequences of severe COVID-19 progression and thus may be useful for identifying organ-specific pharmacological targets.

Further studies will reveal whether molecular and clinical consequences of COVID-19 infections can also be expected in other organ systems, such as the kidney with acute kidney injury or focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) as a long-term consequence.

Authors: Kristina Schulz, Nicola Wanner

Contact: n.wanner@uke.de

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [ADDRESS](#) / [MyPred](#) / [mitoNET](#)

Heterozygous BRCA1/2 and Mismatch Repair Gene Pathogenic Variants in Children and Adolescents with Cancer

J Natl Cancer Inst. 2022 Aug 18. [>>PubMed-Link<<](#)

Kratz CP, Smirnov D, Autry R, Jäger N, Waszak SM, Grosshennig A, Berutti R, Wendorff M, Hainaut P, Pfister SM, Prokisch H, Ripperger T, Malkin D

Fragestellung: Die Rolle heterozygoter (wahrscheinlich) pathogener Keimbahnvarianten in adulten Krebsprädispositionsgenen wie z.B. *BRCA1*, *BRCA2*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1* und *PMS2* als Krebsrisikofaktor bei Kindern und Jugendlichen ist unklar.

Studiendesign: Wir führten eine Metaanalyse publizierter Studien durch, in denen an Krebs erkrankte Kinder und Jugendliche mit modernen DNA-Analysemethoden auf das Vorliegen von Keimbahnveränderungen untersucht wurden. Die Frequenz detektierter und in ClinVar als (wahrscheinlich) pathogen klassifizierte Varianten (PVs) in adulten Krebsprädispositionsgenen wurden mit zwei Kontrollgruppen verglichen. Die Ergebnisse wurden in einer weiteren Kohorte validiert. Der *proxy external controls* - Assoziationstest wurde durchgeführt, um einen möglichen systematischen Fehler verursacht durch unterschiedliche Analysemethoden zu berücksichtigen.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 3.975 Kinder und Jugendliche mit einer Krebserkrankung analysiert. Signifikante Assoziationen wurden für heterozygote PVs in *BRCA1/2* (26 PVs vs 63 PVs bei 27.501 Kontrollpersonen, OR 2.78, 95%-CI 1.69 - 4.45, $p < .001$) und in Mismatch Reparatur (MMR) Genen (19 PVs vs 14 PVs unter 27.501 Personen der Kontrollgruppe, OR 7.33, 95%-CI 3.64 - 14.82, $p < .001$) gefunden. Diese Anreicherungen wurden bei Patienten mit Hirn- und soliden Tumoren gefunden, jedoch nicht bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien. Vergleichbare Ergebnisse wurden in einer weiteren Kohorte ermittelt.

Schlussfolgerung: Diese Daten deuten darauf hin, dass heterozygote PVs in *BRCA1/2* und MMR Genen mit reduzierter Penetranz das Risiko für Krebserkrankungen im Kindes- und Jugendalter erhöhen. Diese Daten bedeuten nicht, dass gesunde Kinder zukünftig routinemäßig auf heterozygote PVs in *BRCA1/2* und MMR Genen getestet werden sollten bzw. eine Indikation zur Krebsfrüherkennung bei Kindern mit heterozygoten PVs in diesen Genen besteht.

Artikel zur Publikation in: MTA-Dialog, 15.08.2022

[Varianten in BRCA1/2- und MMR-Genen: Auch Kinder betroffen](#)

Autor: Christian Kratz

Kontakt: Kratz.Christian@mh-hannover.de

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [ADDRess](#) / [MyPred](#) / [mitoNET](#)

Heterozygous BRCA1/2 and Mismatch Repair Gene Pathogenic Variants in Children and Adolescents with Cancer

J Natl Cancer Inst. 2022 Aug 18. [>>PubMed-Link<<](#)

Kratz CP, Smirnov D, Autry R, Jäger N, Waszak SM, Grosshennig A, Berutti R, Wendorff M, Hainaut P, Pfister SM, Prokisch H, Ripperger T, Malkin D

Background

Genetic predisposition has been identified as a cause of cancer, yet little is known about the role of adult cancer predisposition syndromes in childhood cancer. We examined the extent to which heterozygous pathogenic germline variants in *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2*, *ATM*, *CHEK2*, *MSH2*, *MSH6*, *MLH1*, and *PMS2* contribute to cancer risk in children and adolescents.

Methods

We conducted a meta-analysis of 11 studies that incorporated comprehensive germline testing for children and adolescents with cancer. ClinVar pathogenic or likely pathogenic variants (PVs) in genes of interest were compared with 2 control groups. Results were validated in a cohort of mainly European patients and controls. We employed the Proxy External Controls Association Test to account for different pipelines.

Results

Among 3975 children and adolescents with cancer, statistically significant associations with cancer risk were observed for PVs in *BRCA1* and 2 (26 PVs vs 63 PVs among 27 501 controls, odds ratio = 2.78, 95% confidence interval = 1.69 to 4.45; $P < .001$) and mismatch repair genes (19 PVs vs 14 PVs among 27 501 controls, odds ratio = 7.33, 95% confidence interval = 3.64 to 14.82; $P < .001$). Associations were seen in brain and other solid tumors but not in hematologic neoplasms. We confirmed similar findings in 1664 pediatric cancer patients primarily of European descent.

Conclusion

These data suggest that heterozygous PVs in *BRCA1* and 2 and mismatch repair genes contribute with reduced penetrance to cancer risk in children and adolescents. No changes to predictive genetic testing and surveillance recommendations are required.

Further article in: [bionity.com](https://www.bionity.com) (Aug, 30, 2022)

[Variants in BRCA1/2 and MMR genes in children with cancer](#)

Author: Christian Kratz

Contact: Kratz.Christian@mh-hannover.de)

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [CONNECT-GENERATE](#)

Structural mechanisms of GABA_A receptor autoimmune encephalitis.

Cell 2022, Jul 7 >>[PubMed-Link](#)<<

Noviello CM, Kreye J, Teng J, Prüss H*, Hibbs RE* (*equal contribution)

Mit hochmodernen Methoden ist es Forschenden des DZNE und der University of Texas erstmals gelungen, auf atomarer Ebene die Wirkung von gegen das Gehirn gerichteten autoimmunen Antikörpern detailliert aufzuschlüsseln. Sie untersuchten dazu zwei Antikörper, die bei einer Form der autoimmunen Enzephalitis an GABA_A-Rezeptoren andocken. Ihre Erkenntnisse über die strukturellen Mechanismen sind ein wichtiger Schritt auf dem Weg zur Entwicklung von wirkungsvollen Therapien – und sie sind zugleich Wegbereiter für weitere vielversprechende Untersuchungen mit der neuen Methode.

„Wir haben erstmals den Berührungspunkt von zwei Feldern ausgenutzt, die sich in jüngster Zeit stark entwickelt haben: zum einen die Cryo-Elektronenmikroskopie, die es schafft, einzelne Atome abzubilden, und zum anderen die Forschung an klinisch relevanten Auto-Antikörpern, die wir von Patienten mit neurologischen und psychiatrischen Erkrankungen isolieren. Die Expertisen aus beiden Feldern sind hier verschmolzen“, sagt [Prof. Harald Prüss](#), Projektleiter im Verbund CONNECT-GENERATE, der am DZNE forscht und zugleich Direktor der [Abteilung Experimentelle Neurologie an der Charité – Universitätsmedizin](#) Berlin ist.

Die GABA_A-Rezeptoren zählen zu den wichtigsten inhibitorischen Rezeptoren im zentralen Nervensystem. Im Normalfall binden die GABA_A-Rezeptoren den Neurotransmitter γ -Aminobuttersäure (gamma-aminobutyric acid, GABA). Die Antikörper allerdings, die die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler untersuchten, blockieren die GABA-Rezeptoren. Bisher ging man davon aus, dass die fehlgeleiteten menschlichen Antikörper nach ihrer Bindung an den Rezeptor zusammen mit diesem internalisiert werden. Das aber ist nicht der Fall, wie sich jetzt zeigte. Diese beiden Antikörper werden nicht internalisiert, sondern unterbinden die Funktion der GABA-Rezeptoren durch verschiedene Mechanismen: Beispielsweise indem sie verhindern, dass der eigentliche Transmitter - GABA - andocken kann. Das hat eine Übererregbarkeit des Nervensystems zur Folge, die zu Zuckungen des Körpers, psychotischen Symptomen und epileptischen Anfällen führen kann.

Autoimmune Enzephalopathien sind Hirnentzündungen, die nicht durch Bakterien oder Viren hervorgerufen werden, sondern durch Antikörper aus dem Immunsystem, die irrtümlicherweise den eigenen Körper attackieren. Es gibt zahlreiche Ausprägungen dieser Enzephalopathien, die sich vor allem durch die konkreten Strukturen unterscheiden, gegen die sich die außer Kontrolle geratenen Antikörper richten. Häufig sind Rezeptoren im menschlichen Hirn betroffen, oft aber auch andere Moleküle, Ionen-Kanäle oder weitere Zielpunkte im Gehirn. „Es war bisher ein Rätsel, warum Menschen mit sehr unterschiedlich hohen Spiegeln dieser Antikörper die gleichen Symptome einer autoimmunen Enzephalitis entwickeln können. Durch die hohe Auflösung der Untersuchung haben wir nun einen weiteren Mechanismus entdeckt. Je nach Ort der Bindungsstelle am Rezeptor können die Antikörper sehr unterschiedlich wirken“, erläutert Harald Prüss.

Die GABA_A-Rezeptor-Enzephalopathie ist zwar ausgesprochen selten, ähnliche gegen das Gehirn gerichtete Antikörper spielen aber eine zunehmende Rolle bei vielen neurologischen Erkrankungen – von epileptischen Anfällen bis zur Demenz. „Der Informationsgewinn wird künftige Forschung beflügeln. Wir haben den Weg zur Aufklärung der Wirkmechanismen menschlicher Autoantikörper auf atomarer Ebene geebnet, der sich nun auch bei zahlreichen anderen Erkrankungen beschreiten lässt“, sagt Harald Prüss. Die Methodik könnte jetzt zu einem neuen Standard führen, wie tiefgreifend Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler künftig solche Funktionsweisen untersuchen und verstehen können.

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [CONNECT-GENERATE](#)

Structural mechanisms of GABA_A receptor autoimmune encephalitis.

Cell 2022, Jul 7 >>[PubMed-Link](#)<<

Noviello CM, Kreye J, Teng J, Prüss H*, Hibbs RE* (*equal contribution)

Using a state-of-the-art method, researchers at DZNE and the University of Texas have succeeded for the first time at unraveling the effects of autoimmune antibodies, that are directed against the brain, in detail at the atomic level. To this end, they studied two antibodies that dock to so-called GABA_A receptors in one variant of autoimmune encephalitis. Their findings on the structural mechanisms are an important step towards the development of effective therapies - and they also pave the way for further promising investigations using the new method.

“For the first time, we have exploited the interface between two fields that have developed strongly in recent times: on the one hand, cryo-electron microscopy, which manages to image individual atoms, and on the other hand, research on clinically relevant autoantibodies, that we isolate from patients with neurological and psychiatric diseases. The expertise from both fields has merged here,” says [Prof. Harald Prüss](#), a DZNE scientist and also director of the [Department of Experimental Neurology at Charité – Universitätsmedizin Berlin](#). The GABA_A receptors are among the most important inhibitory receptors in the central nervous system.

Normally, **GABA_A receptors** bind to the neurotransmitter γ -aminobutyric acid (GABA). However, the antibodies that the scientists studied, inhibit GABA receptors. Until now, it was assumed that the misdirected human antibodies are internalized, i.e. taken up together with the receptor, after binding to the receptor. But this is not the case, as has now been shown. These two antibodies are not internalized, but inhibit the function of GABA receptors by different mechanisms: For example, by preventing the actual transmitter - GABA - from docking. This results in hyperexcitability of the nervous system, which can lead to twitching of the body, psychotic symptoms and epileptic seizures.

Autoimmune encephalopathies are brain inflammations not caused by bacteria or viruses, but by antibodies from the immune system that mistakenly attack the patient's own body. There are numerous types of these encephalopathies that differ primarily in the specific structures which the aberrant antibodies attack. Receptors in the human brain are frequently affected, but often this involves other molecules, ion channels or other targets in the brain. “It has been a mystery why people with very different levels of these antibodies can develop the same symptoms of autoimmune encephalitis. Due to the high resolution of the investigation, we have now discovered another mechanism. Depending on the location of the binding site on the receptor, the antibodies can have very different effects,” explains Harald Prüss.

While **GABA_A receptor encephalopathy** is extremely rare, similar anti-brain antibodies play an increasing role in many neurological disorders, from epileptic seizures to dementia. “The gained information will inspire future research. We have paved the way to elucidating the mechanisms of human autoantibodies at the atomic level, which can now also be pursued in numerous other diseases,” says Harald Prüss. The methodology could now lead to a new standard for how deeply scientists can study and understand such modes of action in the future.

Author: Harald Prüss;

Contact: harald.pruess@charite.de

Original press text: www.dzne.de

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [GAIN](#)

The long term vaccine-induced anti-SARS-CoV-2 immune response is impaired in quantity and quality under TNF α blockade

J Med Virol. 2022 Aug 9 >>[PubMed-Link](#)<<

Geisen UM, Rose R, Neumann F, Ciripoi M, Vullriede L, Reid HM, Berner DK, Bertoglio F, Hoff P, Hust M, Longardt AC, Lorentz T, Martini GR, Saggau C, Schirmer JH, Schubert M, Sümbül M, Tran F, Voß M, Zeuner R, Morrison PJ, Bacher P, Fickenscher H, Gerdes S, Peipp M, Schreiber S, Krumbholz A, Hoyer BF

Für Menschen mit chronischen Erkrankungen des Immunsystems, die auf die Langzeit-Therapie mit Immunsuppressiva angewiesen sind, stellt sich die Frage, ob Impfungen gegen SARS-CoV2 einen genauso guten Schutz vor Ansteckung und schweren Verläufen bieten, wie bei anderen Menschen. Dieser Frage gingen Forscher*innen des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein am Campus Kiel während der Corona-Pandemie nach. Sie rekrutierten eine Gruppe von Patient*innen mit chronisch entzündlichen Erkrankungen, die mit mRNA Impfstoffen gegen SARS-CoV-2 geimpft wurden und verglichen die Impfantworten mit einer Kontrollgruppe. Das Team unter der Leitung von Prof. Dr. Bimba Hoyer und Dr. Ulf Geisen untersuchte zu diesem Zweck Blutproben vor, sowie in unterschiedlichen Abständen nach der ersten, der zweiten sowie der dritten Impfung. Während kurz nach der zweiten Impfung die schützenden Antikörperspiegel im Blut der Patient*innen mit denen der Kontrollen vergleichbar waren, zeichneten sich nach 6 Monaten deutliche Unterschiede ab: Die Gruppe der Patient*innen unter TNF-alpha blockierenden Therapien zeigte deutlich niedrigere Antikörperspiegel als gesunde Kontrollen und Patienten, die andere Medikamente nutzten. Außerdem konnten die Forscher feststellen, dass die Antikörper weniger neutralisierende Eigenschaften sowie eine geringere Bindungsstärke zeigten als in der Vergleichsgruppe. Diese Verringerung der Bindungsstärke (Avidität) bedeutet, dass die Antikörper weniger stark an ihr Zielantigen (das Virus) binden und in der Folge weniger effektiv in der Neutralisierung sind. Dieser Effekt zeigte sich besonders dramatisch bei der Neutralisation gegen die Omicron-Variante BA.2 des Virus, die in allen Gruppen dramatisch niedriger war als gegen den Wildtyp des Virus. Während allerdings die dritte Impfung bei den Kontrollen zu einer Verbesserung der Neutralisation gegen BA.2 führte, war dieser Effekt bei den Patienten unter TNF-alpha Blockade stark vermindert.

Zusätzlich konnten die Forscher um Erstautor Dr. Ulf Geisen feststellen, dass die Antikörper produzierenden Zellen, die sogenannten Plasmazellen verändert sind. Hier konnten die Forscher nach der Impfung mehr unspezifische und weniger SARS-CoV-2 spezifische Plasmazellen nachweisen als in den Kontrollgruppen. Dies deutet darauf hin, dass die Therapie dazu führt, dass die Bildung von protektiven Antikörpern weniger zielgerichtet abläuft.

Die Forscher um die Initiatorin der Studie, Prof. Hoyer, weisen darauf hin, dass es sinnvoll sein könnte, die Antikörperspiegel bei Patienten unter anti-TNF Behandlung engermaschiger zu kontrollieren. Boosterimpfungen mit an Omicron angepassten Impfstoffen könnten hier helfen, allerdings gibt es dazu noch keine wissenschaftlichen Daten.

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [GAIN](#)

The long term vaccine-induced anti-SARS-CoV-2 immune response is impaired in quantity and quality under TNF α blockade

J Med Virol. 2022 Aug 9 >>[PubMed-Link](#)<<

Geisen UM, Rose R, Neumann F, Ciripoi M, Vullriede L, Reid HM, Berner DK, Bertoglio F, Hoff P, Hust M, Longardt AC, Lorentz T, Martini GR, Saggau C, Schirmer JH, Schubert M, Sümbül M, Tran F, Voß M, Zeuner R, Morrison PJ, Bacher P, Fickenscher H, Gerdes S, Peipp M, Schreiber S, Krumbholz A, Hoyer BF

People suffering from chronic inflammatory diseases often must use immunosuppressive drugs, leading to the questions, if vaccinations provide the same protective effect as in healthy individuals. To answer this question, scientists of Kiel University Medical Centre recruited patients with chronic inflammatory diseases and healthy individuals who got vaccinated with mRNA vaccines against SARS-CoV-2 during the Corona pandemic. The team around Prof Dr Bimba Hoyer and Dr Ulf Geisen analysed blood samples before and after the first, second and third SARS-CoV-2 vaccination.

While the protective antibody concentrations were comparable shortly after the second vaccination, differences became visible 6 months after the second vaccination: Patients using TNF blockers showed dramatically reduced antibody concentration in the blood serum compared to other patients and healthy controls. In addition, the patients showed diminished neutralisation and binding strength of the antibodies compared to the control groups, meaning that the bond between antibody and target antigen was not very strong which leads to reduced neutralisation. This effect was especially pronounced when neutralisation against the omicron variant BA.2 was analysed which showed reduced neutralisation with all groups. However, both control groups showed elevated neutralisation against BA.2 after the third vaccination. This booster effect was barely visible in the TNF blocker group.

In addition the researchers around first author Dr Ulf Geisen could show, that the antibody producing cells, the so-called plasma cells were altered in patients using TNF blockers. The researchers could measure more unspecific and less SARS-CoV-2 specific plasma cells in patients using TNF blockers, leading to the conclusion, that the immune answer in these patient cohort is less targeted and specific.

The scientists around Prof Dr Hoyer who initiated the study, state that it might be beneficial to control the antibody concentrations of these patients more frequently. In addition, these patients could benefit from boosters with omicron adapted vaccines.

Author: Dr. Ulf Geisen

Contact: ugeisen@rheuma.uni-kiel.de

Prof. Dr. Bimba Hoyer

bfhoyer@rheuma.uni-kiel.de

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [GAIN](#)

Human T-bet governs the generation of a distinct subset of CD11c^{high}CD21^{low} B cells

Sci Immunol. 2022 Jul 22. >>[PubMed-Link](#)<<

Yang R, Avery DT, Jackson KJL, Ogishi M, Benhsaien I, Du L, Ye X, Han J, Rosain J, Peel JN, Alyanakian MA, Neven B, Winter S, Puel A, Boisson B, Payne KJ, Wong M, Russell AJ, Mizoguchi Y, Okada S, Uzel G, Goodnow CC, Latour S, El Bakkouri J, Bousfiha A, Preece K, Gray PE, Keller B, Warnatz K, Boisson-Dupuis S, Abel L, Pan-Hammarström Q, Bustamante J, Ma CS, Casanova JL, Tangye SG

T-bet wurde ursprünglich als Hauptregulator der Th1-Linie beschrieben, doch spielt dieser Transkriptionsfaktor eine pleiotrope Rolle im angeborenen und im adaptiven Immunsystem. In murinen B Zellen ist T-bet am Klassenwechsel zu IgG2a/c beteiligt. Des Weiteren ist T-bet in einer spezifischen B-Zellpopulation hoch exprimiert, die sich bei alternden Mäusen anreichert. Die homologe menschliche B-Zellsubpopulation kann bei Autoimmunerkrankungen wie dem systemischen Lupus Erythematosus und der rheumatoiden Arthritis oder dem variablen Immundefekt (CVID), aber auch bei chronischen Infektionen mit HIV, HCV oder Malaria vermehrt im peripheren Blut nachgewiesen werden. Diese Zellen werden je nach Krankheitszustand als atypische, aktivierte naive, tissue-like memory oder CD21^{low} B-Zellen bezeichnet. Neben T-bet weisen diese Zellen ein einzigartiges Expressionsprofil auf mit einer hohen Expression verschiedener Marker wie CD11c aber auch CXCR3 oder FCRL5 und einer niedrigen Expression von CD21 und anderen. In einer internationalen Zusammenarbeit unter der Leitung von Wissenschaftlern aus New York, Sydney und Paris trugen GAIN-Forscher zur Erstbeschreibung der B-Zell-Differenzierung bei einem Patienten mit einer Keimbahnmutation in *TBX21*, dem Gen das für T-bet kodiert, bei. In Abwesenheit von transkriptionell-aktivem T-bet war die humorale Immunität weitgehend erhalten, mit intakter somatischer Hypermutation und Gedächtnisbildung. Spezifische Antikörper auf verschiedene Impfungen waren nachweisbar, wenn auch mit einem Trend in Richtung IgG1, IgG4 und IgE und reduziertem IgG2. Dies bestätigt die in der Maus beschriebene Rolle von T-bet beim Klassenwechsel. Darüber hinaus spielt T-bet eine nicht-redundante Rolle bei der Differenzierung von CD11c^{high}CD21^{low} B-Zellen, wie die starke Reduktion dieser Zellen im peripheren Blut des betroffenen Patienten und die defekte In-vitro-Differenzierung dieses B-Zell-Phänotyps in T-bet-defizienten humanen B-Zellen zeigte. ATACseq-Analysen zeigten, dass T-bet die Bildung von CD11c^{high}CD21^{low} B-Zellen durch die Kontrolle der Chromatin-Zugänglichkeit verschiedener Gene steuert, die die Differenzierung dieser B-Zellpopulation begünstigen. Somit ist T-bet für die protektive humorale Immunität redundant, aber entscheidend für die Differenzierung der CD11c^{high}CD21^{low} B-Zellpopulation.

Autorin: Bärbel Keller

Kontakt: baerbel.keller@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QIII/2022 – [GAIN](#)

Human T-bet governs the generation of a distinct subset of CD11c^{high}CD21^{low} B cells

Sci Immunol. 2022 Jul 22. >>[PubMed-Link](#)<<

Yang R, Avery DT, Jackson KJL, Ogishi M, Benhsaien I, Du L, Ye X, Han J, Rosain J, Peel JN, Alyanakian MA, Neven B, Winter S, Puel A, Boisson B, Payne KJ, Wong M, Russell AJ, Mizoguchi Y, Okada S, Uzel G, Goodnow CC, Latour S, El Bakkouri J, Bousfiha A, Preece K, Gray PE, Keller B, Warnatz K, Boisson-Dupuis S, Abel L, Pan-Hammarström Q, Bustamante J, Ma CS, Casanova JL, Tangye SG

The transcription factor T-bet was initially discovered as the master regulator of the Th1 lineage. Subsequently, it has been found to play a pleiotropic role in innate and adaptive immunity. In murine B cells, T-bet is involved in class switching to IgG2a/c and is highly expressed in a B cell subset, which was first observed to accumulate in aging mice. The homologous human population can be expanded in different disease conditions as in autoimmune conditions like SLE and RA or in common variable immunodeficiency but also in chronic infection with HIV, HCV or Malaria. These cells have been referred to as atypical, activated naïve, tissue-like memory or CD21^{low} B cells depending on the disease condition. Beside T-bet, these CD21^{low} B cells share a unique expression profile with uniquely high expression of distinct markers as CD11c but also CXCR3 or FCRL5 and a low expression of CD21 and others. In an international collaborative effort, lead by scientists from New York, Sydney and Paris, GAIN researcher contributed to the first description of B cell differentiation in a patient with a germline mutation in *TBX21* encoding T-bet. In the absence of transcriptionally active T-bet humoral immunity was grossly preserved with intact somatic hypermutation and memory formation. Specific antibody responses to vaccination were present, but skewed towards IgG1, IgG4 and IgE away from IgG2, corroborating the role of murine T-bet in class switching. Moreover, the depletion of CD11c^{high}CD21^{low} B cells in the affected patient and defective in vitro differentiation of this B cell phenotype demonstrated that T-bet plays a non-redundant role in the differentiation of this phenotype. ATACseq analysis showed that T-bet governs the generation of these cells by controlling chromatin accessibility of distinct genes, poising the differentiation of this B cell subset. Thus, T-bet is redundant for protective humoral immunity but crucial for the differentiation of the CD11c^{high}CD21^{low} B cell subset.

Author: Bärbel Keller

Contact: baerbel.keller@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QIV/2022 – [TreatHSP.net](https://www.treathsp.net)

An alternative splicing modulator decreases mutant HTT and improves the molecular fingerprint in Huntington's disease patient neurons

Nat Commun. 2022 Nov 10. [>>PubMed-Link<<](#)

Florian Krach, Judith Stemick, Tom Boerstler, Alexander Weiss, Ioannis Lingos, Stephanie Reischl, Holger Meixner, Sonja Ploetz, Michaela Farrell, Ute Hehr, Zacharias Kohl, Beate Winner, Juergen Winkler

Die Huntington-Erkrankung zeichnet sich durch nicht kontrollierbare, teils „einschießende“ Bewegungen aus und endet ca. 20 Jahre nach dem Ausbruch tödlich. Ursächlich ist eine sich wiederholende Veränderung im Huntingtin (HTT) Gen, sog. *CAG-Repeats*. Diese führen zur Verklumpung des daraus gebildeten HTT Eiweiß und zum Tod von Nervenzellen. Therapieansätze, die klinisch erprobt werden, versuchen den HTT-Spiegel zu senken. Ein Ansatz ist die Senkung der HTT-Spiegel mittels einer neuen Art von Wirkstoffgruppe, den sog. *splicing* Modulatoren, in diesem Fall der Wirkstoff Branaplam. Um den Wirkmechanismus aufzudecken, untersuchte das Team der Molekularen Neurologie (Leiter: Prof. Jürgen Winkler) und der Stammzellbiologie (Leiterin: Prof. Beate Winner) des Uniklinikums Erlangen (UKEr) Branaplam behandelte Nervenzellen, die aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSZ) von Huntington Patienten generiert wurden. iPSZ werden aus Hautzellen von Menschen im Labor generiert und über ein frühes Entwicklungsstadium in Nervenzellen umgewandelt. Das Team entdeckte, dass sich bereits nach Zugabe geringer Wirkstoffmengen das schädliche HTT verringerte. Es ist bekannt, dass Branaplam an RNA bindet. Um aufzuklären, welche Effekte der Wirkstoff auf die RNA-Moleküle hat, wurde die Gesamtheit aller RNA-Moleküle mittels Sequenzierung bestimmt. Dr. Florian Krach gelang es mittels biostatistischer Verfahren, den Wirkmechanismus in der großen Datenmenge zu entschlüsseln: Branaplam hat einen Effekt auf das sog. Spleißen von RNA-Molekülen. Dabei werden unnötige Abschnitte der RNA-Moleküle entfernt. Branaplam bewirkt hierbei eine Veränderung des Spleißens beim HTT RNA-Botenmolekül. Ein nicht herausgeschnittener Teil in der HTT-RNA führt dazu, dass das Molekül instabil wird und das toxische HTT Eiweiß nicht entsteht.

Die erhobenen Daten haben das Potential, veränderte Varianten dieser neuartigen Wirkstoffgruppe auch für die Therapie anderer neurologischer Erkrankungen einzusetzen, wie z.B. bei der hereditären spastischen Paraplegie (HSP). Innerhalb des TreatHSP.net-Verbundes werden am UKEr Patient*innen mit HSP hinsichtlich des motorischen als auch des patientenspezifischen Phänotyps charakterisiert. Mit mobilen und stationären Sensorsystemen werden verschiedene klinische Subgruppen der HSP und Effekte von Therapien untersucht (PD Dr. Heiko Gaßner / Prof. Dr. Jürgen Winkler). Im patientenspezifischen Modell werden von iPSZ abgeleitete Nervenzellen hinsichtlich Transkription, zellulärer Integrität und lysosomaler Funktion analysiert (PD Dr. Martin Regensburger / Prof. Dr. Beate Winner).

Paper of the Quarter – QIV/2022 – [TreatHSP.net](https://www.treathsp.net)

An alternative splicing modulator decreases mutant HTT and improves the molecular fingerprint in Huntington's disease patient neurons

Nat Commun. 2022 Nov 10. [>>PubMed-Link<<](#)

Florian Krach, Judith Stemick, Tom Boerstler, Alexander Weiss, Ioannis Lingos, Stephanie Reischl, Holger Meixner, Sonja Ploetz, Michaela Farrell, Ute Hehr, Zacharias Kohl, Beate Winner, Juergen Winkler

Huntington's disease is characterized by uncontrollable, sometimes "shooting" movements and ends fatally within 20 years after onset. The reason for this is a specific change in the huntingtin gene in which repeated extensions of a small section in the huntingtin (HTT) gene, so-called CAG repeats, are found. These cause a clumping of huntingtin in the nerve cells, and lead to their degeneration. Therapeutic approaches currently being clinically tested attempt to lower HTT levels. One approach that is being pursued is a reduction in HTT levels using a new type of drug class called splicing modulators, in this case branaplam. To uncover the mechanism of action, the team of the Molecular Neurology (Head: Prof. Jürgen Winkler) and Stem Cell Biology (Head: Prof. Beate Winner) of the University Hospital Erlangen (UKEr) investigated Branaplam-treated neurons generated from induced pluripotent stem cells (iPSCs) of Huntington's disease patients. iPSCs are derived from skin cells of humans in the lab and transferred to an early stage of cell development in order to produce patient-specific neurons. The team discovered that the toxic HTT protein levels decreased even after small amounts of branaplam were added. It was known that branaplam binds to RNA messenger molecules. To clarify what effects the active ingredient has on the RNA messenger molecules, the totality of all RNA molecules was measured by RNA sequencing. Dr. Florian Krach from the Department of Stem Cell Biology succeeded in deciphering the mechanism of action in this enormous amount of data using biostatistical methods: Branaplam has a significant effect on the so-called splicing of RNA biomolecules. In the process, unneeded sections of the RNA messenger molecules are removed. Branaplam causes a change in splicing in the RNA messenger molecule of the huntingtin gene. A section in the HTT RNA that is not cut out by branaplam causes the RNA messenger molecule to become unstable and consequently degraded - thus preventing the toxic HTT protein from being produced in the first place.

The data collected have the potential for the use of modified variants of this novel group of drugs for the treatment of other rare neurological diseases such as hereditary spastic paraplegia (HSP). Within the TreatHSP.net network, patients with HSP are characterized with respect to both motor and patient-specific phenotypes at the UKEr. Using mobile and stationary sensor systems, different clinical HSP subgroups and effects of therapies are investigated (PD Dr. Heiko Gaßner / Prof. Dr. Jürgen Winkler). In a patient-specific model, neurons derived from iPSC are analyzed with respect to impairment of transcription, cellular integrity and lysosomal function (PD Dr. Martin Regensburger / Prof. Dr. Beate Winner).

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 milderer Phänotypen wie GGE oder milderen 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 milderen 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