

Paper of the Quarter – Q1/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

A genome-wide association study in autoimmune neurological syndromes with anti-GAD65 autoantibodies.

Brain. 2023 Mar 1 (published online 2022 Mar 28). [>>PubMed-Link<<](#)

Christine Strippel, Marisol Herrera-Rivero, Mareike Wendorff, Anja K Tietz, Frauke Degenhardt, Anika Witten, Christina Schroeter, Christopher Nelke, Kristin S Golombek, Marie Madlener, Theodor Rüber, Leon Ernst, Attila Racz, Tobias Baumgartner, Guido Widman, Kathrin Doppler, Franziska Thaler, Kai Siebenbrodt, Andre Dik, Constanze Kerin, Saskia Räuber, Marco Gallus, Stjepana Kovac, Oliver M Grauer, Alexander Grimm, Harald Prüss, Jonathan Wickel, Christian Geis, Jan Lewerenz, Norbert Goebels, Marius Ringelstein, Til Menge, Björn Tackenberg, Christoph Kellinghaus, Christian G Bien, Andrea Kraft, Uwe Zettl, Fatme Seval Ismail, Ilya Ayzenberg, Christian Urbanek, Kurt-Wolfram Sühs, Simone C Tauber, Sigrid Mues, Peter Körtvélyessy, Robert Markewitz, Asterios Palianonis, Christian E Elger, Rainer Surges, Claudia Sommer, Tania Kümpfel, Catharina C Gross, Holger Lerche, Jörg Wellmer, Carlos M Quesada, Florian Then Bergh, Klaus-Peter Wandinger, Albert J Becker, Wolfram S Kunz, Gerd Meyer Zu Hörste, Michael P Malter, Felix Rosenow, Heinz Wiendl, Gregor Kuhlenbäumer, Frank Leypoldt, Wolfgang Lieb, Andre Franke, Sven G Meuth, Monika Stoll, Nico Melzer, German Network for Research on Autoimmune Encephalitis (GENERATE)

Autoimmun-neurologische Syndrome (AINS) mit Autoantikörpern gegen die 65 kDa Isoform der Glutamatdecarboxylase (GAD65) können mit limbischer Encephalitis, Temporallappenepilepsie bzw. -anfällen, cerebellärer Ataxie und Stiff-Person-Syndrom sowie Überlappungsformen symptomatisch werden. Anti-GAD65-Autoantikörper kennzeichnen außerdem den autoimmunen Diabetes mellitus. Dieser zeigt eine bekannte genetische Prädisposition, vermittelt durch Assoziationen zu verschiedenen genomischen Regionen innerhalb und außerhalb des klassischen HLA-Locus.

Wir führten eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) und eine Assoziationsanalyse der HLA-Region in einer großen deutschen Kohorte von 167 Patientinnen und Patienten mit anti-GAD65-AINS und 1047 populationsbasierten Kontrollprobanden durch. Die aus den GWAS-Daten resultierenden Vorhersagen der Veränderungen der Expressionslevel verschiedener Proteine wurden im Liquorproteom einer unabhängigen Kohorte von anti-GAD65-AINS validiert. Die Patientinnen und Patienten wurden durch das deutsche Netzwerk für Erforschung der Autoimmunenzephalitis (<https://generate-net.de/>) rekrutiert. Das Projekt wurde durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert.

In der Analyse zeigen sich 16 Genom-weit signifikant assoziierte Loci für die Suszeptibilität für anti-GAD65-AINS. Die meisten Varianten in diesen Loci (>90%) liegen in nicht-kodierenden Regionen des Genoms. Interessant ist jedoch, dass 40% dieser Varianten bekannte regulatorische Effekte auf das Proteinexpressionslevel von insgesamt 48 Genen in krankheitsrelevanten Zellen und Gewebe (Immunzellen, zerebraler Kortex) aufweisen. Eine Netzwerkanalyse implizierter protein-kodierender Gene illustrierte eine prominente Rolle der Proteinkinase C- β und identifizierte zahlreiche relevante biologische Pfade, die an Immunreaktionen und neuronalen Funktionen beteiligt sind. Die Analyse klassischer HLA-Allele und Haplo-Typen zeigte keine genomweit signifikanten Assoziationen. Die stärkste Assoziation fanden wir für den DQA1*03:01-DQB1*03:02-DRB1*04:01 HLA-Haplo-Typ und das DRB1*04:01-Allel. Die Analyse des Liquorproteoms zeigte differentielle Level von 5 Proteinen (HLA-A/B, C4A, ATG4D und NEO1), deren veränderte Expression aus dem GWAS-Daten vorhergesagt wurde.

Insgesamt ergaben sich aus der bisher größten Studie zur Genetik der anti-GAD65-AINS Hinweise auf eine deutliche genetische Prädisposition, mit direkten Implikationen für die Funktion des Immunsystems und des zentralen Nervensystems, die führend vermittelt wird durch Regionen des Genoms außerhalb der klassischen HLA-Region.

Autor*innen: Christine Strippel, Marisol Herrera-Rivero, Nico Melzer

Kontakt: Christine.Strippel@ndcn.ox.ac.uk, Marisol.Herrera@uni-muenster.de, Nico.Melzer@med.uni-duesseldorf.de

Paper of the Quarter – Q1/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

A genome-wide association study in autoimmune neurological syndromes with anti-GAD65 autoantibodies.

Brain. 2023 Mar 1 (published online 2022 Mar 28). [>>PubMed-Link<<](#)

Christine Strippel, Marisol Herrera-Rivero, Mareike Wendorff, Anja K Tietz, Frauke Degenhardt, Anika Witten, Christina Schroeter, Christopher Nelke, Kristin S Golombek, Marie Madlener, Theodor Rüber, Leon Ernst, Attila Racz, Tobias Baumgartner, Guido Widman, Kathrin Doppler, Franziska Thaler, Kai Siebenbrodt, Andre Dik, Constanze Kerin, Saskia Räuber, Marco Gallus, Stjepana Kovac, Oliver M Grauer, Alexander Grimm, Harald Prüss, Jonathan Wickel, Christian Geis, Jan Lewerenz, Norbert Goebels, Marius Ringelstein, Til Menge, Björn Tackenberg, Christoph Kellinghaus, Christian G Bien, Andrea Kraft, Uwe Zettl, Fatme Seval Ismail, Ilya Ayzenberg, Christian Urbaneck, Kurt-Wolfram Sühs, Simone C Tauber, Sigrid Mues, Peter Körtvélyessy, Robert Markewitz, Asterios Paliantonis, Christian E Elger, Rainer Surges, Claudia Sommer, Tania Kümpfel, Catharina C Gross, Holger Lerche, Jörg Wellmer, Carlos M Quesada, Florian Then Bergh, Klaus-Peter Wandinger, Albert J Becker, Wolfram S Kunz, Gerd Meyer Zu Hörste, Michael P Malter, Felix Rosenow, Heinz Wiendl, Gregor Kuhlenbäumer, Frank Leyboldt, Wolfgang Lieb, Andre Franke, Sven G Meuth, Monika Stoll, Nico Melzer, German Network for Research on Autoimmune Encephalitis (GENERATE)

Autoimmune neurological syndromes (AINS) with autoantibodies against the 65 kDa isoform of the glutamic acid decarboxylase (GAD65) present with limbic encephalitis, including temporal lobe seizures or epilepsy, cerebellar ataxia, and stiff-person-syndrome or overlap forms. The autoantibodies are a characteristic feature of autoimmune diabetes mellitus, which has a strong genetic susceptibility conferred by human leukocyte antigen (HLA) and non-HLA genomic regions.

To investigate the genetic predisposition in patients with anti-GAD65 AINS, we performed a genome-wide association study (GWAS) and an association analysis of the HLA region in a large German cohort of 167 patients with anti-GAD65 AINS, recruited through the German Network for Research on Autoimmune Encephalitis (GENERATE), and 1047 individuals as a population-based control. The resultant predictions regarding the differential protein expression were validated in the CSF proteome of a virtually independent cohort. The study was supported by the German Ministry of Education and Research (Bundesministerium für Bildung und Forschung, BMBF).

We found 16 loci with genome-wide significance for the susceptibility to anti-GAD65 AINS. Most variants in these loci (>90%) mapped to non-coding regions of the genome, however 40% of these have known regulatory functions on the expression of 48 genes in disease relevant cells and tissues (lymphocytes, cerebral cortex). A network analysis of the implicated protein-coding genes illustrated the role of protein kinase C beta (PRKCB) and identified an enrichment of numerous biological pathways linked to immunity and neural function. Analysis of the classical HLA alleles and haplotypes showed no genome-wide significant associations. The strongest associations were found for the DQA1*03:01-DQB1*03:02-DRB1*04:01 HLA haplotype and DRB1*04:01. Concordant with the GWAS prediction, the CSF proteome showed differential levels of five proteins (HLA-A/B, C4A, ATG4D and NEO1) in anti-GAD65 AINS patients.

The findings of the largest study of genetic predisposition in anti-GAD65-AINS suggest a strong genetic predisposition with direct functional implications for immunity and neural function, mainly conferred by genomic regions outside the classical HLA alleles.

Authors: Christine Strippel, Marisol Herrera-Rivero, Nico Melzer

Contact: Christine.Strippel@ndcn.ox.ac.uk, Marisol.Herrera@uni-muenster.de, Nico.Melzer@med.uni-duesseldorf.de

Paper of the Quarter – Q1/2023 – [STOP-FSGS](#)

Single-cell transcriptomics reveals a mechanosensitive injury signaling pathway in early diabetic nephropathy

Genome Med. 2023 Jan 10. [>>PubMed-Link<<](#)

Shuya Liu, Yu Zhao, Shun Lu, Tianran Zhang, Maja T Lindenmeyer, Viji Nair, Sydney E Gies, Guochao Wu, Robert G Nelson, Jan Czogalla, Hande Aypek, Stephanie Zielinski, Zhouning Liao, Melanie Schaper, Damian Fermin, Clemens D Cohen, Denis Delic, Christian F Krebs, Florian Grahmmer, Thorsten Wiech, Matthias Kretzler, Catherine Meyer-Schwesinger, Stefan Bonn, Tobias B Huber

Die diabetische Nephropathie (DN) ist die führende Ursache für eine terminale Niereninsuffizienz, und histopathologische glomeruläre Läsionen gehören zu den frühesten strukturellen Veränderungen der DN. Die Signalewege, die diese glomerulären Veränderungen initiieren, sind jedoch nur unzureichend bekannt.

Um die zellulären und molekularen Grundlagen der DN-Initiierung zu verstehen, haben wir eine Einzelzell- und bulk-RNA-Sequenzierung von Nierenzellen von Mäusen mit Typ w Diabetes (BTBR ob/ob) im Frühstadium der DN durchgeführt.

Die Analyse differenziell exprimierter Gene ergab glukoseunabhängige Reaktionen in verschiedenen glomerulären Zelltypen. Das genregulatorische Netzwerk, das den glomerulären Zellprogrammen vorgeschaltet ist, deutet auf die Aktivierung des mechanosensitiven Transkriptionswegs MRTF-SRF hin, der hauptsächlich in Mesangialzellen stattfindet. Interessanterweise wurde die Aktivierung des MRTF-SRF-Transkriptionsweges auch in DN-Glomeruli sowie in FGSG-Glomeruli in unabhängigen Datensätzen von Patientenkohorten identifiziert. Darüber hinaus deutet die ex-vivo-Nierenperfusion darauf hin, dass die Regulation von MRTF-SRF ein gemeinsamer Mechanismus als Reaktion auf eine glomeruläre Hyperfiltration ist.

Autor*innen: Maja Lindenmeyer, Tobias Huber

Kontakt: Nicola Wanner, Laborleiterin AG Huber: n.wanner@uke.de, t.huber@uke.de

Paper of the Quarter – Q1/2023 – [STOP-FSGS](#)

Single-cell transcriptomics reveals a mechanosensitive injury signaling pathway in early diabetic nephropathy

Genome Med. 2023 Jan 10. [>>PubMed-Link<<](#)

Shuya Liu, Yu Zhao, Shun Lu, Tianran Zhang, Maja T Lindenmeyer, Viji Nair, Sydney E Gies, Guochao Wu, Robert G Nelson, Jan Czogalla, Hande Aypek, Stephanie Zielinski, Zhouning Liao, Melanie Schaper, Damian Fermin, Clemens D Cohen, Denis Delic, Christian F Krebs, Florian Grahammer, Thorsten Wiech, Matthias Kretzler, Catherine Meyer-Schwesinger, Stefan Bonn, Tobias B Huber

Diabetic nephropathy (DN) is the leading cause of end-stage renal disease, and histopathologic glomerular lesions are among the earliest structural alterations of DN. However, the signaling pathways that initiate these glomerular alterations are incompletely understood.

To delineate the cellular and molecular basis for DN initiation, we performed single-cell and bulk RNA sequencing of renal cells from type 2 diabetes mice (BTBR ob/ob) at the early stage of DN.

Analysis of differentially expressed genes revealed glucose-independent responses in glomerular cell types. The gene regulatory network upstream of glomerular cell programs suggested the activation of mechanosensitive transcriptional pathway MRTF-SRF predominantly taking place in mesangial cells. Importantly, activation of MRTF-SRF transcriptional pathway was also identified in DN glomeruli as well as in FGSG glomeruli in independent patient cohort datasets. Furthermore, ex vivo kidney perfusion suggested that the regulation of MRTF-SRF is a common mechanism in response to glomerular hyperfiltration.

Overall, our study presents a comprehensive single-cell transcriptomic landscape of early DN, highlighting mechanosensitive signaling pathways as novel targets of diabetic glomerulopathy.

Author (s): Maja Lindenmeyer, Tobias Huber

Contact: Nicola Wanner, Head of Laboratory AG Huber: n.wanner@uke.de, t.huber@uke.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [mitoNET](#)

Aberrant splicing prediction across human tissues

Nat Genet. 2023 May. [->PubMed-Link<<](#)

Nils Wagner, Muhammed H Çelik, Florian R Hölzlwimmer, Christian Mertes, Holger Prokisch, Vicente A Yépez, Julien Gagneur

Genetische Varianten, d.h. Mensch-zu-Mensch-Variationen des Erbguts, können drastische Auswirkungen auf zelluläre Prozesse haben. Einige von ihnen können schädlich sein und Krebs oder seltene Krankheiten verursachen. Aber welche? Unsere Genome tragen viele Tausende von seltenen – oft einzigartigen – genetischen Varianten, die harmlos sind. Das Aufspüren von Varianten mit drastischen Auswirkungen ist ein Problem wie die Nadel im Heuhaufen zu finden. Das Problem wird zusätzlich dadurch erschwert, dass einige Varianten ihre Auswirkungen nur in bestimmten Geweben wie dem Gehirn oder dem Herzen entfalten.

Hier haben wir einen Benchmark-Datensatz erstellt, der genetische Varianten mit gewebespezifischem aberrantem Spleißen verknüpft, einem Prozess, der den Sequenzinhalt von RNAs drastisch verändert, indem ganze Segmente von vielen, oft Hunderten von Nukleotiden verloren gehen oder hinzugefügt werden. Fehlerhaftes Spleißen führt häufig zu nicht funktionierenden RNAs, was zu Krankheiten führen kann.

Anhand dieses einzigartigen Datensatzes haben wir herausgefunden, dass etablierte KI-Modelle, die das Spleißen anhand der DNA-Sequenz modellieren, bei der Vorhersage von gewebespezifischem, fehlerhaftem Spleißen bemerkenswert ungenau sind. Es ist uns gelungen, die Präzision dieser Modelle drastisch zu verbessern, indem wir kartierten, wo im Genom das Spleißen stattfindet, in welchen Geweben und mit welchen Raten, selbst bei schwachem Spleißen, das nur ~1 % der RNA-Moleküle betrifft. Durch die Integration dieser Daten in ein biophysikalisches Spleißmodell konnte die Präzision der KI-Modelle um das Dreifache gesteigert werden.

In einem zweiten Schritt haben wir gezeigt, wie man nicht nur die DNA der Patienten, sondern auch RNA aus zugänglichen Geweben, wie Blut oder Haut, nutzen kann, um fehlerhaftes Spleißen in nicht zugänglichen Geweben, wie dem Gehirn oder dem Herzen vorherzusagen. Dies ist von großer Bedeutung, da viele seltene Krankheiten Organe betreffen, bei denen eine Probenentnahme nur durch besonders invasive Eingriffe möglich ist. Das Modell setzt ein einfaches Prinzip um: Wenn wir es nicht vorhersagen können, messen wir es einfach! Das Modell nutzt direkte Messungen von fehlerhaftem Spleißen in zugänglichen Geweben für diejenigen Gene, die sich auf die gleiche Weise verhalten wie in den Geweben von Interesse, und verlässt sich ansonsten auf DNA-basierte Vorhersagen. Dies steigerte die Leistung noch einmal um das Zweifache.

Wir verwenden das von uns entwickelte Modell AbSplice jetzt, um innerhalb europäischer Konsortien die genetische Ursache von Patienten mit seltenen Krankheiten zu ermitteln. Außerdem verwenden wir es, um verbesserte genetische Risikobewertungen für häufige Krankheiten mit allen genetischen Varianten zu entwickeln, seien sie selten oder häufig, die das einzigartige genetische Make-up von jedem von uns ausmachen.

Autor*innen: Nils Wagner, Muhammed H Çelik, Florian R Hölzlwimmer, Christian Mertes, Holger Prokisch, Vicente A Yépez, Julien Gagneur

Kontakt: wagnern@in.tum.de, gagneur@in.tum.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [mitoNET](#)

Aberrant splicing prediction across human tissues

Nat Genet. 2023 May. [->PubMed-Link<<](#)

Nils Wagner, Muhammed H Çelik, Florian R Hölzlwimmer, Christian Mertes, Holger Prokisch, Vicente A Yépez, Julien Gagneur

Genetic variants, i.e. person-to-person variations in the genome, can have drastic effects on cellular processes. Some of them can be harmful, causing cancer or rare diseases. But which ones? Our genomes carry many thousands of rare – often unique – genetic variants which are harmless. Pinpointing variants with drastic effects is a needle in a haystack problem. The problem is even harder as some variants exert their effects only in specific tissues such as the brain or heart.

Here we have established a benchmark dataset linking genetic variants to tissue-specific aberrant splicing, a process that drastically alters the sequence content of RNAs by losing or adding entire segments of many, often hundreds, of nucleotides. Aberrant splicing often results in non-functional RNAs which can lead to disease.

With this unique dataset at hand, we found that established AI models, which simulate splicing from DNA sequence, are remarkably imprecise in predicting tissue-specific aberrant splicing. We managed to drastically improve the precision of these models by mapping where in the genome splicing is taking place, in which tissues, and at what rates, even for weak splicing, which only affects ~1% of RNA molecules. Integrating this data with a biophysical model of splicing, boosted up the AI model precision by 3-fold.

In a second step, we showed how to leverage not only DNA of the patients, but also RNA obtained from accessible tissues, say blood or skin, to predict aberrant splicing in non-accessible tissues such as the brain or heart. This is important, as many rare diseases affect organs from which samples can only be obtained through particularly invasive procedures. The model implements a simple principle: if we cannot predict, let's just measure it! The model leverages direct observations of aberrant splicing in accessible tissues for those genes behaving the same way than in the tissues of interest, and rely on DNA-based predictions otherwise. These boosted the performance by another 2-fold.

We are now using our model AbSplice to help pinpointing the genetic cause of rare disease patients within European consortia. Furthermore we use it to develop improved genetic risk scores for common diseases using all genetic variants, be they rare or frequent, that constitute the unique genetic make-up of every one of us.

Author(s): Nils Wagner, Muhammed H Çelik, Florian R Hölzlwimmer, Christian Mertes, Holger Prokisch, Vicente A Yépez, Julien Gagneur

Contact: wagnern@in.tum.de, gagneur@in.tum.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [STOP-FSGS](#)

Deep learning-based segmentation and quantification of podocyte foot process morphology suggests differential patterns of foot process effacement across kidney pathologies

Kidney Int. 2023 Jun. [.>>PubMed-Link<<](#)

David Unnersjö-Jess, Linus Butt, Martin Höhne, German Sergei, Arash Fatehi, Anna Witasz, Annika Wernerson, Jaakko Patrakka, Peter F Hoyer, Hans Blom, Bernhard Schermer, Katarzyna Bozek, Thomas Benzing

Künstliche Intelligenz in der Nierendiagnostik

In der Niere sorgt ein molekularer Filter dafür, dass Wasser und verschiedenste Stoffe über die Nieren ausgeschieden werden können, wohingegen Eiweiße (Proteine) im Blutkreislauf verbleiben. Den Verlust von Eiweißen über den Urin bezeichnet man als Proteinurie, ein Leitsymptom für eine Vielzahl von Erkrankungen der Niere.

Für den Nierenfilter ist ein Zelltyp von ganz entscheidender Bedeutung, die sog. Podozyten. Diese Zellen umhüllen mit Zellfortsätzen, die reißverschlussartig miteinander verbunden sind, die kleinen Blutgefäße des Nierenfilters und sorgen für die Aufrechterhaltung seiner Funktion. Kürzlich konnten Wissenschaftler:innen des Stop-FSGS Verbundes am Universitätsklinikum Köln zeigen, dass minimale Veränderungen dieser Fortsätze bereits sichtbar werden, noch bevor sich klinische Zeichen einer Proteinurie zeigen.

In der vorliegenden Publikation wird mit AMAP (= **A**utomatische **M**orphologische **A**nalyse von **P**odozyten) ein Verfahren beschrieben, das künstliche Intelligenz nutzt, um fluoreszenzmikroskopische Bilder automatisiert auszuwerten. Diese Bilder zeigen das komplexe Muster der verzahnten Fußfortsätze. AMAP dient dazu, die Bilder exakt zu vermessen, verschiedenste Parameter zu analysieren und krankheitsbedingte Veränderungen greifbar und messbar zu machen. Die Daten zeigen, dass die vollautomatisierte AMAP genauso akkurat arbeitet wie eine halb-automatisierte Auswertung. Letztere bedeutet jedoch einen enormen Zeitaufwand. AMAP führt also bei höchster Zuverlässigkeit zu einer großen Zeitersparnis. Als diagnostisches Präzisionswerkzeug ist AMAP ein Paradebeispiel dafür, wie künstliche Intelligenz und Maschinenlernen künftig in die Diagnostik eingebunden werden können.

Kontakt: thomas.benzing@uk-koeln.de; linus.butt@uk-koeln.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [STOP-FSGS](#)

Deep learning-based segmentation and quantification of podocyte foot process morphology suggests differential patterns of foot process effacement across kidney pathologies

Kidney Int. 2023 Jun. [.>>PubMed-Link<<](#)

David Unnersjö-Jess, Linus Butt, Martin Höhne, German Sergei, Arash Fatehi, Anna Witasp, Annika Wernerson, Jaakko Patrakka, Peter F Hoyer, Hans Blom, Bernhard Schermer, Katarzyna Bozek, Thomas Benzing

Artificial intelligence meets kidney diagnostics

In the kidney, a molecular filter ensures that water and many substances can be eliminated through the kidneys while proteins remain in the bloodstream. The loss of proteins through urine is called proteinuria, a key symptom of a variety of kidney diseases. A cell type called ‘podocyte’ is crucial for the kidney filter. These cells envelop the small blood vessels of the kidney filter with interlocking cellular processes, thereby forming an essential part of the filter and maintaining its function.

Recently, scientists at the University Hospital Cologne demonstrated that minimal changes in the symmetry of these processes become visible even before clinical signs of proteinuria appear. In this publication, a method called AMAP (= **A**utomatic **M**orphological **A**nalysis of **P**odocytes) is described that utilizes artificial intelligence and deep learning technologies to automatically analyze microscopic images. These images reveal the complex pattern of the interdigitating processes. AMAP precisely measures the images, analyzes various parameters, and makes disease-related changes tangible and measurable. The data shows that fully automated AMAP works just as accurately as a semi-automated evaluation. However, the latter method requires a significant amount of manual input. Therefore, AMAP leads to substantial time savings while eliminating user bias. As a diagnostic precision tool, AMAP serves as a prime example of how artificial intelligence and machine learning can be integrated into clinical practice in the future.

Contact: thomas.benzing@uk-koeln.de; linus.butt@uk-koeln.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [TreatHSP.net](https://www.treathsp.net)

Heteromeric clusters of ubiquitinated ER-shaping proteins drive ER-phagy

Nature. 2023 Jun. [>>PubMed-Link<<](#)

Hector Foronda, Yangxue Fu, Adriana Covarrubias-Pinto, Hartmut T Bocker, Alexis González, Eric Seemann, Patricia Franzka, Andrea Bock, Ramachandra M Bhaskara, Lutz Liebmann, Marina E Hoffmann, Istvan Katona, Nicole Koch, Joachim Weis, Ingo Kurth, Joseph G Gleeson, Fulvio Reggiori, Gerhard Hummer, Michael M Kessels, Britta Qualmann, Muriel Mari, Ivan Dikić, Christian A Hübner

Unsere Zellen sind durchzogen von einem zusammenhängenden System aus Membranschläuchen und Kammern, dem Endoplasmatischen Retikulum (ER). Im ER werden Proteine hergestellt und modifiziert, Fette und Hormone produziert und auch die Kalziumspiegel in der Zelle kontrolliert. Das ER wird je nach den Bedürfnissen der Zellen umgebaut. Der Abbau von ER-Bereichen erfolgt über eine besondere Form der Autophagie, der sogenannten ER-Phagie. Bei diesem Prozess werden ER-Bereiche von einer mit dem Protein LC3 bestückten Isolationsmembran umschlossen. Diese mit ER-Stücken befüllten Autophagosomen können dann mit Lysosomen fusionieren, so dass das ER abgebaut und seine Bestandteile recycelt werden können. Damit gezielt nur ER abgebaut wird, sind Proteine in der ER-Membran vorhanden, die an LC3 andocken können.

Mit FAM134B konnten Forscher aus Frankfurt und Jena den ersten ER-Phagie-Rezeptor identifizieren (Khaminets/Heinrich et al., Nature, 2015 Jun 18;522(7556):354-8). Viele Jahre vorher hatten die Forscher aus Jena bereits gezeigt, dass FAM134B-Mutationen eine sehr seltene erbliche sensorische und autonome Neuropathie (HSAN) verursachen (Kurth/Pamminger et al, Nat genet, 2009;41(11):1179-8). Bei dieser Krankheit sterben sensorische Nerven ab, so dass die betroffenen Patient:innen Schmerz und Temperatur nicht richtig wahrnehmen können. In einer Folgearbeit zeigt das Forscher-Team aus Jena und Frankfurt nun, dass mit ARL6IP1 ein weiteres Membran-krümmendes Protein für ER-Phagie erforderlich ist, welches an FAM134B andocken kann (Foronda/Fu/Covarrubias-Pinto/Bocker et al., Nature, 618(7964):402-410). Wenn ARL6IP1 defekt ist, kommt es ebenfalls zu einer seltenen neurodegenerativen Erkrankung, der Hereditären Spastischen Paraplegie SPG61, bei der motorische und sensorische Defizite gemeinsam auftreten.

Bemerkenswerterweise wird dieser Prozess durch das Protein Ubiquitin reguliert: Das Anhängen von Ubiquitin an FAM134B und ARL6IP1 verstärkt das Clustern beider Proteine, was die Abschnürung von ER-Bereichen erleichtert. Die Auswirkungen des Anhängens von Ubiquitin wurde durch Zellkulturexperimente, biochemische und molekularbiologische Untersuchungen sowie durch Computersimulationen vor allem vom Frankfurter Team unter Mitwirkung des Jenaer Teams neben vielen anderen Wissenschaftler:innen untersucht und in einem weiteren Artikel beschrieben (Gonzales/Covarrubias-Pinto et al., Nature 2023, 618(7964):394-40). Damit gelang es mit der Aufklärung der genetischen Ursache auch einen grundlegenden zellulären Mechanismus zu verstehen. Es bleibt zu hoffen, dass diese Erkenntnisse in der Zukunft auch genutzt werden können, um den betroffenen Patienten zu helfen.

Paper of the Quarter – QII/2023 – [TreatHSP.net](https://www.treathsp.net)

Heteromeric clusters of ubiquitinated ER-shaping proteins drive ER-phagy

Nature. 2023 Jun. [>>PubMed-Link<<](#)

Hector Foronda, Yangxue Fu, Adriana Covarrubias-Pinto, Hartmut T Bocker, Alexis González, Eric Seemann, Patricia Franzka, Andrea Bock, Ramachandra M Bhaskara, Lutz Liebmann, Marina E Hoffmann, Istvan Katona, Nicole Koch, Joachim Weis, Ingo Kurth, Joseph G Gleeson, Fulvio Reggiori, Gerhard Hummer, Michael M Kessels, Britta Qualmann, Muriel Mari, Ivan Dikić, Christian A Hübner

Our cells are permeated by a connected system of membrane tubules and chambers, the endoplasmic reticulum (ER). The ER manufactures and modifies proteins, produces lipids and hormones, and also controls the levels of calcium in the cell. The ER is remodeled according to the needs of the respective cell. The breakdown of parts of the ER takes place via a special form of autophagy, the so-called “ER-phagy”. In this process, ER areas are enclosed by an isolation membrane equipped with the protein LC3. These autophagosomes, which are vesicles filled with pieces of the ER, can then fuse with lysosomes, allowing the ER to be degraded and its components to be recycled. To ensure that only the ER is broken down, the ER membrane harbors proteins that can dock to LC3.

With FAM134B, researchers from Frankfurt and Jena were able to identify the first receptor of ER-phagy (Khaminets/Heinrich et al., Nature, 2015 Jun 18;522(7556):354-8). Many years earlier, the researchers from Jena had already shown that FAM134B mutations cause a very rare hereditary sensory and autonomic neuropathy (HSAN) (Kurth/Pamminger et al, Nat genet, 2009;41(11):1179-8). In this disease, sensory nerves die, so that affected patients cannot properly perceive pain and temperature.

In the current follow-up work, the research teams from Jena and Frankfurt now show that ARL6IP1 is another membrane-bending protein required for ER phagy, which can interact with FAM134B but cannot bind to LC3 on its own (Foronda/Fu/Covarrubias-Pinto/Bocker et al., Nature, 618(7964):402-410). If ARL6IP1 is defective, another rare neurodegenerative disease results, i.e. hereditary spastic paraplegia SPG61, in which motor and sensory deficits occur in combination.

Remarkably, this process is regulated by the protein ubiquitin: attaching ubiquitin to FAM134B and ARL6IP1 enhances the clustering of both proteins, which facilitates that ER regions can finally be pinched off for ER-phagy. The effects of ubiquitin were investigated using various cell culture experiments, biochemical and molecular-biological investigations and computer simulations, primarily by the Frankfurt team with the participation of the Jena team and many other scientists. This study is published back to back with the ARL6IP1 paper (Gonzales/Covarrubias-Pinto et al., Nature 2023, 618(7964):394-40). With the elucidation of the genetic causes of related rare disorders, it was possible to understand a fundamental cellular mechanism. It is to be hoped that these findings can also be used in the future to help affected patients.

Author: Dr. Christian Hübner

Contact: Christian.huebner@med.uni-jena.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [GAIN](#)

The GAIN Registry – a New Prospective Study for Patients with Multi-organ Autoimmunity and Autoinflammation

J Clin Immunol. 2023 Apr 21. [>>PubMed-Link<<](#)

Paulina Staus, Stephan Rusch, Sabine El-Helou, Gabriele Müller, Máté Krausz, Ulf Geisen, Andrés Caballero-Oteyza, Renate Krüger, Shahrzad Bakhtiar, Min Ae Lee-Kirsch, Maria Fasshauer, Ulrich Baumann, Bimba Franziska Hoyer, João Fabela Neves, Michael Borte, Maria Carrabba, Fabian Hauck, Stephan Ehl, Peter Bader, Horst von Bernuth, Faranaz Atschekzei, Mikko R J Seppänen, Klaus Warnatz, Alexandra Nieters, Gerhard Kindle, Bodo Grimbacher

Patient:innen mit angeborener Multi-Organ-Autoimmunität und Autoinflammation weisen einen vielfältigen klinischen Phänotyp auf. Dies stellt eine Herausforderung für die Diagnose und Charakterisierung dieser seltenen Patient:innengruppen dar. Das [GAIN-Konsortium](#) (German genetic multi-organ Auto-Immunity Network, <https://www.g-a-i-n.de/>) entwickelte ein Register mit einem Datensatz, der es erlaubt, detaillierte klinische Manifestationen, genetische Merkmale, Laborwerte und Behandlungen für eine prospektive Datensammlung zu erfassen, ähnlich einer digitalen Patientenakte. ICD-11-, HPO- und ATC-Codes wurden in das Register aufgenommen. Damit nutzt es eine definierte Terminologie, was zu einer besseren Nachhaltigkeit und Vergleichbarkeit führt. Das Register zielt darauf ab, Schlüsselparameter dieses seltenen Patientenkollektivs abzuschätzen, um grundlegende Fragen der Patient:innen wie "Was kann ich vom Leben in der Zukunft erwarten?" zu beantworten. Das zweite Ziel des Registers ist es, eine Plattform für kleinere Forschungsprojekte zu bilden, die nicht die Ressourcen hätten, ein eigenes Register aufzubauen.

Bislang wurden im Rahmen des Registers sieben Forschungsprojekte auf der Grundlage des erstellten Datensatzes gestartet, die sich auf bestimmte genetisch definierte Patientengruppen konzentrieren. Ein Beispiel ist das "CTLA4-Insuffizienz-Projekt". Es befasst sich mit den Fragen "Welche Erscheinungsformen treten bei Patient:innen mit CTLA4-Insuffizienz auf? Mit welchen Medikamenten werden diese erfolgreich behandelt?"

Das GAIN-Register nutzt die gut etablierte [ESID-Registerplattform](#) (European Society for Immunodeficiencies). Die vollständigen GAIN-Eingabeformulare können über die Demoversion des ESID-Registers (<https://cci-esid-reg-demo-app.uniklinik-freiburg.de/EERS/login/auth>) mit dem Benutzernamen "demouser" und dem Passwort "Demo-2019" aufgerufen werden. Von November 2019 bis Juli 2022 registrierten zwölf Zentren aus Europa 419 Patient:innen mit seltener Multi-Organ-Autoimmunität oder Autoinflammation oder genetischen Veränderungen, die bekanntermaßen diese Krankheiten verursachen. Das mediane Alter bei Auftreten der Symptome betrug 13 Jahre (IQR 3-28), die mediane Zeitspanne vom Auftreten bis zur Diagnose betrug fünf Jahre (IQR 1-14). Die Mehrzahl der Patient:innen wurde genetisch untersucht (84,5 %, n = 354), bei 59,2 % (248) wurde eine monogenetische Ursache festgestellt. Im Register war das am häufigsten dokumentierte Gen *NFKB1* (11,5 %, n = 48), gefolgt von *CTLA4* (9,5 %, n = 40). Für diese beiden Patient:innengruppen wurden im Rahmen des Registers spezifische Forschungsprojekte eingerichtet, die auch durch Laborprojekte innerhalb des GAIN-Konsortiums unterstützt werden.

Das GAIN-Register wird seit 2019 durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, 01GM1910A und 01GM2206A) gefördert. Jedes Zentrum, das eine formale Vereinbarung mit dem ESID-Register trifft, ist zur Teilnahme eingeladen. Alle teilnehmenden Zentren können beim GAIN-Konsortium Forschungsanträge für spezifische Forschungsprojekte einreichen. Das GAIN-Register erweitert das Instrumentarium der Gemeinschaft für angeborene Immunitätsstörungen, indem es eine Plattform für diagnostische und ätiologische Forschungsprojekte sowie für Beobachtungsstudien zu therapeutischen Optionen bietet.

Autor*innen: Paulina Staus, Dr. Gerhard Kindle

Kontakt: paulina.staus@uniklinik-freiburg.de, gerhard.kindle@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QII/2023 – [GAIN](#)

The GAIN Registry – a New Prospective Study for Patients with Multi-organ Autoimmunity and Autoinflammation

J Clin Immunol. 2023 Apr 21. [>>PubMed-Link<<](#)

Paulina Staus, Stephan Rusch, Sabine El-Helou, Gabriele Müller, Máté Krausz, Ulf Geisen, Andrés Caballero-Oteyza, Renate Krüger, Shahrzad Bakhtiar, Min Ae Lee-Kirsch, Maria Fasshauer, Ulrich Baumann, Bimba Franziska Hoyer, João Fabela Neves, Michael Borte, Maria Carrabba, Fabian Hauck, Stephan Ehl, Peter Bader, Horst von Bernuth, Faranaz Atschekzei, Mikko R J Seppänen, Klaus Warnatz, Alexandra Nieters, Gerhard Kindle, Bodo Grimbacher

Patients with inborn multi-organ autoimmunity and autoinflammation present with a diverse clinical phenotype. This is challenging for diagnosis and characterization of these rare patient groups. The [GAIN consortium](#) (German genetic multi-organ Auto-Immunity Network, <https://www.g-a-i-n.de/>) developed a registry with a dataset capable of capturing detailed clinical manifestations, genetic characteristics, laboratory values, and treatments for prospective data collection, similar to a digital patient record. ICD-11, HPO, and ATC codes were incorporated to document with a defined terminology, leading to enhanced sustainability and comparability. The registry aims at estimating key parameters of this rare patient collective to answer basic questions of our patients, such as “What can I expect from life in the future?” The second aim of the registry, is to form a platform for smaller research projects, which would never have the resources to build up an own registry.

Until now, seven research projects launched within the registry based on the created dataset, focusing on specific genetic patient groups. One example is the “CTLA4 insufficiency project”. It addresses the questions “Which manifestations are common in CTLA4 insufficient patients? Which drugs are used to treat these successfully?”

The GAIN registry uses the well-established ESID (European Society for Immunodeficiencies) registry platform. The full GAIN entry forms can be accessed by the demonstration version of the ESID registry with the username “demouser” and the password “Demo-2019” via the URL <https://cci-esid-reg-demo-app.uniklinik-freiburg.de/EERS/login/auth>. From November 2019 until July 2022, twelve centers from Europe registered 419 patients with rare multi-organ autoimmunity or autoinflammation, or patients carrying alterations in genes known to cause these diseases. The median age at onset of symptoms was 13 years (IQR 3–28) and the median delay from onset to diagnosis was 5 years (IQR 1–14). The majority of patients were genetically tested (84.5%, n = 354) and 59.2% (248) had a defined monogenetic cause. In the registry, the most common gene affected was *NFKB1* (11.5%, n=48) followed by *CTLA4* (9.5%, n=40). For both patient groups, specific research projects were established within the registry, also fostered by wet-lab projects within the GAIN consortium.

The GAIN registry has been funded since 2019 by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF, 01GM1910A and 01GM2206A). Every center who reaches a formal agreement with the ESID registry is welcome to participate. All participating centers can hand in research proposals to the GAIN consortium for specific research projects. The GAIN Registry expands the toolbox of the inborn error of immunity community by providing a platform for diagnostic and etiologic research projects, as well as observational studies of therapeutic options.

Author(s): Paulina Staus, Dr. Gerhard Kindle
Contact: paulina.staus@uniklinik-freiburg.de, gerhard.kindle@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

Translational imaging of TSPO reveals pronounced innate inflammation in human and murine CD8 T cell-mediated limbic encephalitis

Sci Adv. 2023 Jun 9. [>>PubMed-Link<<](#)

Marco Gallus, Wolfgang Roll, Andre Dik, Cristina Barca, Bastian Zinnhardt, Gordon Hicking, Christoph Mueller, Venu Narayanan Naik, Max Anstötz, Julia Krämer, Leoni Rolfes, Lydia Wachsmuth, Julika Pitsch, Karen M J van Loo, Saskia Räuber, Hideho Okada, Catriona Wimberley, Christine Strippel, Kristin S Golombeck, Andreas Johnen, Stjepana Kovac, Catharina C Groß, Philipp Backhaus, Robert Seifert, Jan Lewerenz, Rainer Surges, Christian E Elger, Heinz Wiendl, Tobias Ruck, Albert J Becker, Cornelius Faber, Andreas H Jacobs, Jan Bauer, Sven G Meuth, Michael Schäfers, Nico Melzer

Die autoimmune limbische Enzephalitis (ALE) führt zu neu auftretenden Anfällen im mesialen Temporallappen, fortschreitenden Gedächtnisstörungen und anderen Verhaltens- und kognitiven Veränderungen. Man geht davon aus, dass CD8-T-Zellen eine Schlüsselrolle in den Fällen spielen, in denen Autoantikörper gegen intrazelluläre Antigene gerichtet sind oder keine Antikörper gefunden wurden. Die Beurteilung solcher Patient:innen stellt eine klinische Herausforderung dar, und neuartige nichtinvasive bildgebende Biomarker zur direkten Darstellung von Immunreaktionen im Hirnparenchym werden dringend benötigt. Hier zeigen wir, dass die Visualisierung des Translokatorproteins (TSPO) mittels [18F]DPA-714-PET-MRT eine ausgeprägte Mikroglia-Aktivierung und reaktive Gliose im Hippocampus und in der Amygdala von Patient:innen mit Verdacht auf CD8-T-Zell-vermittelter ALE anzeigt, welche mit dem FLAIR-MRT Signal und EEG-Veränderungen korreliert. Die „Backtranslation“ der humanen durch für neuronale Antigene-spezifische CD8-T-Zellen vermittelten ALE in ein präklinisches Mausmodell ermöglichte es uns, unsere präliminären klinischen Ergebnisse zu bestätigen. Diese translationalen Daten unterstreichen das klinische Potenzial des [18F]DPA-714-PET-MRT als molekulare Bildgebungsmethode zur direkten Beurteilung der angeborenen Immunität im Hirnparenchym in der CD8-T-Zell-vermittelten ALE.

Autor: Dr. Marco Gallus, Department of Neurosurgery, University of California, San Francisco, San Francisco, CA, USA; PD Dr. Nico Melzer, Department of Neurology, Medical Faculty, Heinrich Heine University of Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

Kontakt: Marco.Gallus@ucsf.edu; Nico.Melzer@med.uni-duesseldorf.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

Translational imaging of TSPO reveals pronounced innate inflammation in human and murine CD8 T cell-mediated limbic encephalitis

Sci Adv. 2023 Jun 9. >>[PubMed-Link](#)<<

Marco Gallus, Wolfgang Roll, Andre Dik, Cristina Barca, Bastian Zinnhardt, Gordon Hicking, Christoph Mueller, Venu Narayanan Naik, Max Anstötz, Julia Krämer, Leoni Rolfes, Lydia Wachsmuth, Julika Pitsch, Karen M J van Loo, Saskia Räuber, Hideho Okada, Catriona Wimberley, Christine Strippel, Kristin S Golombeck, Andreas Johnen, Stjepana Kovac, Catharina C Groß, Philipp Backhaus, Robert Seifert, Jan Lewerenz, Rainer Surges, Christian E Elger, Heinz Wiendl, Tobias Ruck, Albert J Becker, Cornelius Faber, Andreas H Jacobs, Jan Bauer, Sven G Meuth, Michael Schäfers, Nico Melzer

Autoimmune limbic encephalitis (ALE) presents with new-onset mesial temporal lobe seizures, progressive memory disturbance, and other behavioral and cognitive changes. CD8 T cells are considered to play a key role in those cases where autoantibodies (ABs) target intracellular antigens or no ABs were found. Assessment of such patients presents a clinical challenge, and novel noninvasive imaging biomarkers are urgently needed. Here, we demonstrate that visualization of the translocator protein (TSPO) with [18F]DPA-714-PET-MRI reveals pronounced microglia activation and reactive gliosis in the hippocampus and amygdala of patients suspected with CD8 T cell ALE, which correlates with FLAIR-MRI and EEG alterations. Back-translation into a preclinical mouse model of neuronal antigen-specific CD8 T cell-mediated ALE allowed us to corroborate our preliminary clinical findings. These translational data underline the potential of [18F]DPA-714-PET-MRI as a clinical molecular imaging method for the direct assessment of innate immunity in CD8 T cell-mediated ALE.

Author: Dr. Marco Gallus, Department of Neurosurgery, University of California, San Francisco, San Francisco, CA, USA; PD Dr. Nico Melzer, Department of Neurology, Medical Faculty, Heinrich Heine University of Düsseldorf, Düsseldorf, Germany

Contact: Marco.Gallus@ucsf.edu; Nico.Melzer@med.uni-duesseldorf.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [GAIN](#)

Functional Relevance of CTLA4 Variants: an Upgraded Approach to Assess CTLA4-Dependent Transendocytosis by Flow Cytometry

J Clin Immunol. 2023 Sep 23. [->PubMed-Link<<](#)

Jessica Rojas-Restrepo, Elena Sindram, Simon Zenke, Hanna Haberstroh, Noriko Mitsui, Annemarie Gabrysch, Katrin Huebscher, Sara Posadas-Cantera, Máté Krausz, Robin Kobbe, Jan C Rohr, Bodo Grimbacher, Laura Gámez-Díaz

CTLA4 ist ein negativer Immunregulator, der konstitutiv in regulatorischen T-Zellen exprimiert wird. Seine extrazelluläre Funktion besteht darin, die Aktivierung von T-Zellen zu hemmen, indem es CD28 beim Binden an ihre gemeinsamen Liganden CD80 und CD86 auf antigenpräsentierenden Zellen auskonkurriert. Nach der Bindung entfernt CTLA4 seine Liganden und internalisiert sie durch einen Prozess namens Transendocytose. Varianten von unklarer Signifikanz (VUS) in CTLA4 werden häufig bei Patienten mit Antikörpermangel oder Immundysregulation, einschließlich, aber nicht beschränkt auf Patienten mit Autoimmunität und Inflammation in mehreren Organen, festgestellt. Um die Diagnose einer CTLA4-Insuffizienz zu stellen, muss die Funktionalität jeder einzelnen CTLA4-Variante bestimmt werden. Zur Beurteilung von CTLA4-VUS wurden verschiedene Methoden beschrieben, wie die Analyse der CTLA4-Expression, der Treg-Suppression und der CD80/CD86-Transendocytose. Der Transendocytose Assay, erstmals 2009 beschrieben, untersucht die Internalisierung von CD80/CD86 durch regulatorische T-Zellen unter Verwendung einer synthetischen antigenpräsentierenden Zelle. CD4+ T-Zellen von Patienten werden mit Chinese Hamster Ovary (CHO)-Zellen kultiviert, die CD80/CD86 an GFP gekoppelt exprimieren. Herausforderungen dieses Tests sind jedoch die schwache Fluoreszenzintensität des internalisierten Liganden (CD80/CD86), die unzureichende Reproduzierbarkeit und die suboptimale Funktionalität bei der Verwendung von aufgetauten Zellen. In dieser Studie verglichen wir die CD80-GFP CHO-Zelllinie mit einer neu konstruierten CD80-mScarlet-exprimierenden CHO-Zelllinie und beobachteten eine geringere Variabilität zwischen den jeweiligen Experimenten sowie die Möglichkeit den Assay unabhängig vom Ausgangsmaterial (frische oder aufgetaute periphere mononukleäre Zellen) erfolgreich durchzuführen, wenn CD80-mScarlet CHO-Zellen verwendet wurden. Zusätzlich zeigte eine Receiver-Operating-Charakteristik-Analyse eine 100%ige Spezifität, die eine klare Unterscheidung zwischen pathogenen und nicht pathogenen CTLA4-Varianten ermöglicht. Insgesamt untersuchten wir die Pathogenität von 24 CTLA4-Varianten und stellten bei 17 Varianten eine verminderte CTLA4 Funktion fest, während sieben normal getestet wurden. Hiermit bieten wir einen verbesserten Ansatz zur Bewertung der CD80-Transendocytose mittels Durchflusszytometrie zur Beurteilung der Funktionalität von CTLA4-Varianten.

Autor:in: Elena Sindram

Kontakt: elena.sindram@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [GAIN](#)

Functional Relevance of CTLA4 Variants: an Upgraded Approach to Assess CTLA4-Dependent Transendocytosis by Flow Cytometry

J Clin Immunol. 2023 Sep 23. [>>PubMed-Link<<](#)

Jessica Rojas-Restrepo, Elena Sindram, Simon Zenke, Hanna Haberstroh, Noriko Mitsuiki, Annemarie Gabrysch, Katrin Huebscher, Sara Posadas-Cantera, Máté Krausz, Robin Kobbe, Jan C Rohr, Bodo Grimbacher, Laura Gámez-Díaz

CTLA4 is a negative immune regulator constitutively expressed in regulatory T cells. Its extracellular activity consists of inhibiting T-cell activation by outcompeting CD28 for binding to their shared costimulatory ligands CD80 and CD86 expressed on antigen-presenting cells (APCs). Following binding, CTLA4 removes its ligands and internalizes them through a process called transendocytosis. Variants of uncertain significance (VUS) in *CTLA4* are frequently identified in patients with antibody deficiency or immune dysregulation syndromes including, but not limited to those with multi-organ autoimmunity and autoinflammation. To ascertain the diagnosis of CTLA4 insufficiency, the functionality of each *CTLA4* variant needs to be determined. Several methods, such as analyzing CTLA4 expression, Treg suppression and CD80/CD86 transendocytosis, have been described for assessing *CTLA4* VUS. The transendocytosis assay, first described in 2009, involves evaluating CD80/CD86 internalization by regulatory T cells using an artificial APC. Patients CD4⁺ T cells are co-cultured with Chinese hamster ovary (CHO) cells expressing CD80/CD86 coupled to GFP. However, challenges of this assay include weak fluorescence intensity of the internalized ligand, poor reproducibility and suboptimal performance with thawed cells. In this study, we compared the CD80-GFP CHO cell line with a novel CD80-mScarlet expressing CHO cell line and observed lower inter-assay variability and improved robustness of the assay, regardless of the starting material (fresh or thawed peripheral mononuclear cells), when using CD80-mScarlet CHO cells. Moreover, receiver operating characteristic analysis showed 100% specificity, allowing for a clear distinction between pathogenic and non-pathogenic *CTLA4* variants. In total, we assessed the pathogenicity of 24 *CTLA4* variants and observed reduced transendocytosis for 17 variants, while seven tested normal. Overall, we provide an upgraded approach to assess CD80 transendocytosis by flow cytometry for evaluating the functionality of *CTLA4* variants.

Author: Elena Sindram

Contact: elena.sindram@uniklinik-freiburg.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [STOP-FSGS](#)

Accumulation of α -synuclein mediates podocyte injury in Fabry nephropathy

J Clin Invest. 2023 Jun 1. [>>PubMed-Link<<](#)

Fabian Braun, Ahmed Abed, Dominik Sellung, Manuel Rogg, Mathias Woidy, Oysten Eikrem, Nicola Wanner, Jessica Gambardella, Sandra D Laufer, Fabian Haas, Milagros N Wong, Bernhard Dumoulin, Paula Rischke, Anne Mühlig, Wiebke Sachs, Katharina von Cossel, Kristina Schulz, Nicole Muschol, Sören W Gersting, Ania C Muntau, Oliver Kretz, Oliver Hahn, Markus M Rinschen, Michael Mauer, Tillmann Bork, Florian Grahammer, Wei Liang, Thorsten Eierhoff, Winfried Römer, Arne Hansen, Catherine Meyer-Schwesinger, Guido Iaccarino, Camilla Tøndel, Hans-Peter Marti, Behzad Najafian, Victor G Puellas, Christoph Schell, Tobias B Huber

Morbus Fabry ist eine lysosomale Speichererkrankung, die multiple Organsysteme befällt und vor allem durch juvenile Schlaganfälle, Kardiomyopathie und progrediente, albuminurische Niereninsuffizienz zu einer deutlichen Einschränkung der Lebenserwartung führt. Therapeutisch stehen drei Enzymersatztherapien sowie eine Chaperontherapie zur Verfügung. Diese Ansätze beruhen auf der Reduktion der intrazellulären Anhäufung des Sphingolipids Globotriaosylceramid (Gb3), wodurch zelltoxische Effekte vermindert bzw. verlangsamt werden sollen. Jedoch zeigen klinische Erfahrungen, dass sich auch bei therapierten Patient:innen ein stetiger Organfunktionsverlust nicht aufhalten lässt. In dieser Studie zeigen Wissenschaftler:innen des STOP-FSGS Verbundes des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf anhand ultrastruktureller Analysen serieller menschlicher Nierenbiopsien, dass die langfristige Anwendung von Enzymersatztherapien die Gb3-Akkumulation in den Podozyten zwar reduzierte, aber die Podozytenschädigung nicht vermindert werden konnte. In einem neu etablierten Zellkulturmodell (Generierung einer CRISPR/Cas9 vermittelten α -Galaktosidase-Knockout A Podozyten Zelllinie) konnte der Verlust der α -Galaktosidase A und ihrer Aktivität sowie Akkumulation von Gb3 bestätigt werden. Unter Enzymersatztherapie zeigte sich die Gb3-Akkumulation vollkommen reversibel jedoch ohne eine Verbesserung der lysosomalen Dysfunktion. In verschiedenen Netzwerkanalysen (Transkriptom-basiertes Connectivity Mapping und SILAC-basierte quantitative Proteomik) konnte die Akkumulation von α -Synuclein (SNCA) identifiziert werden, wodurch die Podozytenschädigung maßgeblich vermittelt wird. Die genetische und pharmakologische Hemmung von SNCA verbesserte die lysosomale Struktur und Funktion in Fabry-Podozyten insbesondere im Zusammenspiel mit Enzymersatztherapie. Zusammenfassend zeigt diese Arbeit die Fabry-assoziierte Zellschädigung über die Gb3-Akkumulation hinaus durch SNCA und identifiziert damit ein neues potentiell Target in der Behandlung von Fabry Patient:innen, insbesondere Patient:innen mit einer Fabry Nephropathie.

Autor: Fabian Braun; III. Medizinische Klinik und Poliklinik und Hamburg Center for Kidney Health, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg

Kontakt: fa.braun@uke.de

Paper of the Quarter – QIII/2023 – [STOP-FSGS](#)

Accumulation of α -synuclein mediates podocyte injury in Fabry nephropathy

J Clin Invest. 2023 Jun 1. [>>PubMed-Link<<](#)

Fabian Braun, Ahmed Abed, Dominik Sellung, Manuel Rogg, Mathias Woidy, Oysten Eikrem, Nicola Wanner, Jessica Gambardella, Sandra D Laufer, Fabian Haas, Milagros N Wong, Bernhard Dumoulin, Paula Rischke, Anne Mühlig, Wiebke Sachs, Katharina von Cossel, Kristina Schulz, Nicole Muschol, Sören W Gersting, Ania C Muntau, Oliver Kretz, Oliver Hahn, Markus M Rinschen, Michael Mauer, Tillmann Bork, Florian Grahammer, Wei Liang, Thorsten Eierhoff, Winfried Römer, Arne Hansen, Catherine Meyer-Schwesinger, Guido Iaccarino, Camilla Tøndel, Hans-Peter Marti, Behzad Najafian, Victor G Puellas, Christoph Schell, Tobias B Huber

Fabry disease is a lysosomal storage disorder that affects multiple organ systems and leads to a significant reduction in life expectancy, particularly due to juvenile strokes, cardiomyopathy and progressive albuminuric renal insufficiency. Current therapies for Fabry disease are based on reversing intracellular accumulation of globotriaosylceramide (Gb3) by enzyme replacement therapy (ERT) or chaperone-mediated stabilization of the defective enzyme, thereby alleviating lysosomal dysfunction. However, their effect in the reversal of end-organ damage, like glomerular damage and chronic kidney disease, remains unclear. In this study, scientists from the STOP-FSGS network at the University Medical Center Hamburg-Eppendorf used ultrastructural analysis of serial human kidney biopsies to show that long-term use of ERT reduced Gb3 accumulation in podocytes but did not reverse podocyte injury. In a newly established cell culture model (generation of a CRISPR/Cas9-mediated α -galactosidase A knockout podocyte cell line), the loss of α -galactosidase A and its activity as well as ERT-mediated reversal of Gb3 accumulation without resolution of lysosomal dysfunction could be confirmed. Transcriptome-based connectivity mapping and SILAC-based quantitative proteomics identified α -synuclein (SNCA) accumulation as a key event mediating podocyte injury. Genetic and pharmacological inhibition of SNCA improved lysosomal structure and function in Fabry podocytes, additionally benefiting of ERT. Together, this work reconceptualizes Fabry-associated cell injury beyond Gb3 accumulation, and introduces SNCA modulation as a potential intervention, especially for patients with Fabry nephropathy.

Author: Fabian Braun, III. Department of Medicine and Hamburg Center for Kidney Health, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

Contact: fa.braun@uke.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

Human NMDAR autoantibodies disrupt excitatory-inhibitory balance, leading to hippocampal network hypersynchrony

Cell Rep. 2023 Oct 31. [>>PubMed-Link<<](#)

Mihai Ceanga, Vahid Rahmati, Holger Haselmann, Lars Schmidl, Daniel Hunter, Anna-Katherina Brauer, Sabine Liebscher, Jakob Kreye, Harald Prüss, Laurent Groc, Stefan Hallermann, Josep Dalmau, Alessandro Ori, Manfred Heckmann, Christian Geis

Die NMDA-Rezeptor-Enzephalitis ist eine schwere Autoimmunerkrankung des Gehirns, die, unter anderem, Gedächtnis- und Verhaltensstörungen, Psychosen und Halluzinationen, Bewegungsstörungen und epileptische Anfälle verursachen kann. Die Erkrankung, die erst 2007 erkannt wurde, betrifft häufig junge Patienten, insbesondere Frauen, und ähnelt in vielerlei Hinsicht der Schizophrenie. Bei dieser Erkrankung werden vom Immunsystem krankheitsverursachende Antikörper gegen einen exzitatorischen Neurotransmitterrezeptor namens NMDA-Rezeptor (NMDAR) gebildet. NMDAR-Antikörper führen zu einer Verringerung der Anzahl von NMDAR auf neuronalen Membranen. Wie dies zu klinischen Symptomen führt, ist jedoch noch unbekannt.

In dieser Studie untersuchten wir die Auswirkungen von NMDAR-Antikörpern auf die Netzwerkfunktion des Hippocampus, einer Lern- und Gedächtniszentrale des Gehirns. Als wir die NMDAR-Antikörper von Patienten in Mäuse übertrugen, stellten wir fest, dass in den Hauptneuronen des Hippocampus ein Ungleichgewicht zwischen erregenden und hemmenden Signalen bestand. Wir stellten fest, dass auch andere erregende Rezeptoren, die so genannten AMPA-Rezeptoren, von den NMDAR-Antikörpern sekundär beeinflusst waren, ebenso wie hemmende Rezeptoren, die so genannten GABAA-Rezeptoren. Dieses gestörte Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung führte einerseits zu einer verringerten Erregbarkeit einzelner Neuronen, andererseits aber zu einer erhöhten Netzwerkaktivität bei plötzlicher Stimulation. Diese Netzwerkaktivität organisiert sich in rhythmischen Oszillationen, den so genannten Gamma-Oszillationen, die für Gedächtnis und Lernen wichtig sind. In dem Krankheitsmodell waren die Gamma-Oszillationen stark erhöht. Um die offensichtliche Diskrepanz zwischen der verringerten Aktivität auf zellulärer Ebene und der erhöhten Aktivität auf Netzwerkebene zu verstehen, haben wir in einem Netzwerkmodell die gewonnenen biologischen Daten eingeführt. Die Computermodellierung zeigte, dass das Zusammenspiel zwischen den erregenden Neuronen und verschiedenen Klassen von hemmenden Interneuronen gestört ist, was zu einer Hypersynchronie auf Netzwerkebene führt. Die Modellierung legte auch eine therapeutische Intervention zur Normalisierung der Netzwerkaktivität durch Erhöhung der Aktivität von AMPA-Rezeptoren nahe. Wir bestätigten diese Vorhersage, indem wir die exzitatorische Aktivität der AMPA-Rezeptoren chemisch erhöhten, was zu einer Normalisierung der Amplitude der Gamma-Oszillationen führte. Dies unterstützt die Idee, dass das Ungleichgewicht zwischen erregenden und hemmenden Signalen ein Schlüsselfaktor für die durch diese Antikörper verursachten Symptome ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass NMDAR-Antikörper bei NMDAR-Enzephalitis die normale Gehirnaktivität auf der Ebene einzelner Zellen und auf der Ebene des Netzwerks stören, indem sie das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung beeinträchtigen. Das Verständnis dieser Störungen hilft uns, potenzielle Ziele für künftige Behandlungen zu identifizieren.

Autor:innen: Mihai Ceanga, Vahid Rahmati, Holger Haselmann, Lars Schmidl, Daniel Hunter, Anna-Katherina Brauer, Sabine Liebscher, Jakob Kreye, Harald Prüss, Laurent Groc, Stefan Hallermann, Josep Dalmau, Alessandro Ori, Manfred Heckmann, Christian Geis

Kontakt: christian.geis@med.uni-jena.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [CONNECT-GENERATE](#)

Human NMDAR autoantibodies disrupt excitatory-inhibitory balance, leading to hippocampal network hypersynchrony

Cell Rep. 2023 Oct 31. [>>PubMed-Link<<](#)

Mihai Ceanga, Vahid Rahmati, Holger Haselmann, Lars Schmidl, Daniel Hunter, Anna-Katherina Brauer, Sabine Liebscher, Jakob Kreye, Harald Prüss, Laurent Groc, Stefan Hallermann, Josep Dalmau, Alessandro Ori, Manfred Heckmann, Christian Geis

NMDA-receptor encephalitis is a severe autoimmune disease of the brain that can cause memory and behavior problems, psychosis and hallucinations, movement disorders and seizures, among other symptoms. The disorder that has only been identified in 2007 usually affect young patients, particularly women, and resembles schizophrenia in many respects. In this disorder, disease-causing antibodies against an excitatory neurotransmitter receptor called the NMDA-receptor (NMDAR) are produced by the immune system. NMDAR-antibodies cause a reduction in the number of NMDAR on neuronal membranes, but how this translates to clinical symptoms is still unknown.

In this study, we investigated the effects of NMDAR-antibodies on the network function of the hippocampus, a learning and memory hub of the brain. When we transferred patients' NMDAR-antibodies into mice, we noticed that there was an imbalance between excitatory and inhibitory signals in the principal neurons of the hippocampus. We found that other excitatory receptors, called AMPA-receptors, were secondarily affected by NMDAR-antibodies, as were inhibitory receptors called GABAA-receptors. This disturbed balance between excitation and inhibition caused reduced excitability of single neurons on the one hand, but an increased burst of network activity upon sudden stimulation, on the other. This network activity organized into rhythmic oscillations called gamma oscillations, which are important for memory and learning. In the disease model, gamma oscillations were strongly increased. To understand the apparent disagreement between the reduced activity at the cellular level and the increased activity at the network level, we modeled the network on a computer, implementing the acquired biological data. Computer modeling showed that the interplay between excitatory neurons and different classes of inhibitory interneurons is disturbed, leading to hypersynchrony at the network level. Modeling also suggested a therapeutic intervention to normalize network activity by increasing the activity of AMPA-receptors. We confirmed this prediction by chemically increasing the response of AMPA-receptors, which resulted in a normalization of the power of gamma oscillations. This supports the idea that the imbalance between excitatory and inhibitory signals is a key factor in the symptoms caused by these antibodies.

In summary, NMDAR-antibodies in NMDAR encephalitis disrupt normal brain activity at the level of individual cells and the network level by interfering with the excitatory-inhibitory balance. Understanding these disruptions helps us identify potential targets for future treatments.

Authors: Mihai Ceanga, Vahid Rahmati, Holger Haselmann, Lars Schmidl, Daniel Hunter, Anna-Katherina Brauer, Sabine Liebscher, Jakob Kreye, Harald Prüss, Laurent Groc, Stefan Hallermann, Josep Dalmau, Alessandro Ori, Manfred Heckmann, Christian Geis

Contact: christian.geis@med.uni-jena.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [NEOCYST](#)

Kif21a deficiency leads to impaired glomerular filtration barrier function

Sci Rep. 2023 Nov 6. >>[PubMed-Link](#)<<

Hanna Riedmann, Séverine Kayser, Martin Helmstädter, Daniel Epting, Carsten Bergmann

Chronische Nierenerkrankungen (chronic kidney diseases (CKD)) betreffen mehr als 10% der Weltbevölkerung. Der Glomerulus stellt das Hauptfiltrationsorgan der Niere von Wirbeltieren dar und ist für die Urinproduktion und eine Reihe anderer Funktionen verantwortlich, wie z.B. die Beseitigung von Stoffwechselabfällen und die Regulierung des Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts. Genetische und umweltbedingte Faktoren, die die Funktion der glomerulären Filtrationsbarriere (GFB) beeinflussen, stellen die Hauptursache für eine CKD dar. Folglich führen Defekte der GFB zu Proteinurie, eingeschränkter Nierenfunktion und im schlimmsten Fall schließlich zum terminalen Nierenversagen mit Dialysepflichtigkeit. Podozyten sind hochspezialisierte Epithelzellen, die einen entscheidenden Teil des GFB bilden, indem sie ein Schlitzdiaphragma für die semipermeable Plasma-Ultrafiltration bilden. Obgleich in den letzten Jahren erhebliche Erkenntnisse gewonnen wurden, sind weiterhin viele Aspekte der Podozytenbiologie noch unverstanden. Das Kinesin-4 Familienmitglied KIF21A interagiert mit Kidney-Ankyrin-Repeat-containing Proteinen (KANKs), die ihrerseits mit dem nephrotischen Syndrom assoziiert sind. Insbesondere wurde KIF21A in umfassenden Proteomanalysen kultivierter menschlicher Podozyten und nativer Maus-Podozyten identifiziert. Die genaue Funktion von KIF21A in Podozyten wurde jedoch bisher nicht beschrieben. In unserer Arbeit berichten wir nun über eine neuartige Rolle von Kif21a im Rahmen der glomerulären Filtration. Zebrafische fungierten dabei als etablierter-Modellorganismus, um sowohl Nierenentwicklung als auch -funktion zu untersuchen und Nierenerkrankungen wie eine Proteinurie beim Menschen zu modellieren. Unsere Immun- und Elektronenmikroskopie-Analysen zeigten eine spezifische Lokalisierung von Kif21a in den Podozyten. Darüber hinaus ergaben Studien zum Funktionsverlust von Kif21a eine veränderte Podozytenmorphologie, die zum sog. „Fußfortsatzeffacements“ der Podozyten und zu einer veränderten Bildung des Schlitzdiaphragmas führte. Schließlich konnten wir erhebliche funktionelle Auswirkungen eines Kif21a Mangels wie etwa eine undichte GFB nachweisen, die zu schwerer Proteinurie führte. Zusammenfassend konnten wir mit Kif21A ein neues Target für die ordnungsgemäße Funktion der GFB im Zusammenhang mit dem nephrotischen Syndrom identifizieren und zum besseren Verständnis von Podozytenarchitektur und -regulation beitragen.

Autor: Carsten Bergmann

Kontakt: carsten.bergmann@medgen-mainz.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [NEOCYST](#)

Kif21a deficiency leads to impaired glomerular filtration barrier function

Sci Rep. 2023 Nov 6. [>>PubMed-Link<<](#)

Hanna Riedmann, Séverine Kayser, Martin Helmstädter, Daniel Epting, Carsten Bergmann

Human chronic kidney diseases (CKD) are a major health burden that affect more than 10% of the global population. The renal glomerulus represents the main filtration body of the vertebrate nephron and is responsible for urine production and a number of other functions such as metabolic waste elimination and the regulation of water, electrolyte and acid–base balance. Genetic and environmental factors which affect the function of the glomerular filtration barrier (GFB) are the leading cause of CKD. Hence, defects of the GFB lead to proteinuria and impaired kidney function often resulting in end-stage renal failure. Podocytes are highly specialized epithelial cells that form a crucial part of the GFB by establishing a slit diaphragm for semipermeable plasma ultrafiltration. Although significant knowledge has been acquired in recent years, many aspects in podocyte biology are still incompletely understood. The Kinesin-4 family member KIF21A functionally interacts with nephrotic syndrome associated Kidney Ankyrin Repeat-containing Proteins (KANKs). Notably, KIF21A protein was identified in comprehensive proteome analyses of cultured human podocytes and of native mouse podocytes. However, a specific function of KIF21A in podocytes has not been described so far. In this study, we report a novel role of Kif21a in glomerular filtration by using zebrafish as a well-established vertebrate model to study kidney development and function, and to model human kidney disease such as proteinuric disorders. Our immunostaining and electron microscopy analyses demonstrate specific Kif21a localization to podocytes. In addition, Kif21a loss-of-function studies revealed altered podocyte morphology leading to podocyte foot process effacement and altered slit diaphragm formation. Finally, we proved considerable functional consequences of Kif21a deficiency by demonstrating a leaky GFB resulting in severe proteinuria. In conclusion, our data identified Kif21A as a novel candidate for nephrotic syndrome and proper GFB function that further adds to the understanding of podocyte architecture and regulation.

Author: Carsten Bergmann

Contact: carsten.bergmann@medgen-mainz.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [STOP-FSGS](#)

A Novel High-Content Screening Assay Identified Belinostat as Protective in a FSGS-Like Zebrafish Model

J Am Soc Nephrol. 2023 Dec 1. [->PubMed-Link<<](#)

Maximilian Schindler, Florian Siegerist, Tim Lange, Stefan Simm, Sophia-Marie Bach, Marianne Klawitter, Jochen Gehrig, Sheraz Gul, Nicole Endlich

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der seltenen Nierenerkrankung Fokal Segmentale Glomerulosklerose, kurz FSGS, die durch eine Schädigung der komplexen dreidimensionalen Struktur spezialisierter Zellen, den Podozyten, gekennzeichnet ist. Diese Schäden resultieren in sklerotischen Veränderungen an einzelnen Filtrationseinheiten der Nieren, was den Verlust der Filterfunktion und schließlich die chronische Nierenerkrankung nach sich zieht. Angesichts der begrenzten Behandlungsmöglichkeiten für FSGS und dem Mangel an spezifischen Medikamenten haben Forscherinnen und Forscher sich dafür entschieden, den Einsatz von bereits durch die FDA für andere Indikationen genehmigten Medikamenten für die Behandlung von FSGS zu erforschen, um schneller Therapien anbieten zu können. In diesem Zusammenhang stellen Zebrafischlarven ein innovatives und vielversprechendes Modell für das Screening von Medikamenten gegen FSGS dar.

In der hier präsentierten Studie verwendeten die Wissenschaftler einen genetisch veränderten Zebrafisch-Stamm, um ein Hochdurchsatz-Screening (HCS) in einem in vivo System zu etablieren. Der spezielle Zebrafischstamm produziert fluoreszierende Proteine in den Podozyten und im Blut der Larven, die als Marker für den Verlust dieser Zellen und für Proteinurie dienen. Die Zebrafischlarven wurden mit Metronidazol behandelt, welches selektiv in den Podozyten in ein Toxin umgewandelt wird, um so FSGS-ähnliche Schäden hervorzurufen. Mittels spezieller Mikroskopiertechnik und Bildanalyse wurden 138 Medikamente und Verbindungen, darunter auch von der FDA zugelassene, auf ihre protektive Wirkung hin untersucht.

Sieben Substanzen zeigten eine schützende Wirkung im FSGS-Modell. Insbesondere wurde Belinostat, ein von der FDA genehmigter Inhibitor der Histondeacetylasen, als schützend gegenüber FSGS in Larven identifiziert. Weitere Inhibitoren derselben chemischen Klasse zeigten ähnliche Effekte.

Zusammenfassend hat die Forschung mit dem FSGS-ähnlichen Zebrafischmodell und dem neu entwickelten in vivo HCS-Verfahren Belinostat sowie verwandte Pan-Histon-Deacetylase-Inhibitoren als potenzielle therapeutische Ansätze gegen FSGS identifiziert. Die Medikamente wurden im Rahmen der Studie zum Patent angemeldet und sollen nun in weiteren Experimenten auf ihre Wirksamkeit in Säugetieren überprüft werden.

Autorin: Prof. Dr. rer. nat. Nicole Endlich

Kontakt: nicole.endlich@uni-greifswald.de

Paper of the Quarter – QIV/2023 – [STOP-FSGS](#)

A Novel High-Content Screening Assay Identified Belinostat as Protective in a FSGS-Like Zebrafish Model

J Am Soc Nephrol. 2023 Dec 1. [>>PubMed-Link<<](#)

Maximilian Schindler, Florian Siegerist, Tim Lange, Stefan Simm, Sophia-Marie Bach, Marianne Klawitter, Jochen Gehrig, Sheraz Gul, Nicole Endlich

This study investigated the rare kidney disease known as focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). It is characterized by damage to the complex three-dimensional structure of specialized cells, the podocytes. Such damage leads to sclerotic changes in individual filtering units of the kidneys, loss of filtration function and ultimately chronic kidney disease. Given the limited treatment options for FSGS and the lack of specific drugs, researchers have adopted the strategy of repurposing drugs approved by the FDA for other diseases for the treatment of FSGS. Zebrafish larvae offer an innovative and promising model for the study and screening of potential FSGS drugs.

In this study, the researchers used a genetically modified zebrafish strain to perform high-content screening (HCS) in an *in vivo* system. This particular zebrafish strain produces specific fluorescent proteins in podocytes and in the blood of the larvae, which serve as markers for the loss of these cells and for proteinuria. The larvae were treated with Metronidazole, which is converted into a toxin exclusively in the podocytes and causes FSGS-like damage. Using a specific microscopic technique and image analysis, 138 drugs and compounds, including FDA-approved ones, were screened for their protective effects.

Seven compounds showed a protective effect in the FSGS model. In particular, Belinostat, an FDA-approved histone deacetylase inhibitor, was identified as protective against FSGS in larvae. Other inhibitors from the same chemical class showed similar effects

In summary, using the FSGS-like zebrafish model and the newly developed *in vivo* HCS approach, this research identified Belinostat and related histone deacetylase inhibitors as potential therapeutic strategies for FSGS. These drugs are under patent request as a result of the study and will now undergo further efficacy trials in mammals.

Author: Prof. Dr. rer. nat. Nicole Endlich

Contact: nicole.endlich@uni-greifswald.de