

Institut für Medizinische Genetik  
Charité  
Medizinische Fakultät der Humboldt Universität zu Berlin  
(Direktor: Prof. Dr. Stefan Mundlos)

**Zur Klinik und Genetik von Skelettdysplasien  
mit Modellierungsstörungen, Hyperostose und Sklerose**

Habilitationsschrift  
zur Erlangung der Venia legendi  
für das Fach Humangenetik

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité  
der Humboldt-Universität zu Berlin

von

Dr. med. Sigrid Tinschert  
geboren am 31.01.1954 in Jena

Präsident: Prof. Dr. rer. nat. J. Mlynek

Dekan: Prof. Dr. Joachim W. Dudenhausen

eingereicht am: 30.01.2003

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. Gabriele Gillessen-Kaesbach  
2. Prof. Dr. rer. nat. Andreas Winterpacht

öffentlich-wissenschaftlicher Vortrag am: 13.11.2003

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	II
1 EINLEITUNG .....	1
1.1 Eine gestörte Homöostase ist den seltenen Skelettdysplasien wie den häufigen Erkrankungen des Knochens gemein.....	1
1.2 Nomenklatur und Klassifikation von Skelettdysplasien mit den Merkmalen Modellierungsstörung, Hyperostose und Sklerose .....	2
2 EIGENE ARBEITEN .....	3
2.1 Die Craniometaphysäre Dysplasie, autosomal dominante Form (MIM #123000).....	4
2.1.1 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie in sechs Generationen einer deutschen Familie .....	5
2.1.2 Der Gendefekt für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 lokalisiert .....	7
2.1.3 Kandidatengene: Das Gen für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie ist nicht identisch mit dem Wachstumshormon-Rezeptor-Gen .....	8
2.1.4 Eingrenzung der Kandidatenregion für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 .....	9
2.1.5 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie wird durch Mutationen im <i>ANKH</i> -Gen verursacht.....	11
2.1.6 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie und einige Formen der Chondrocalcinose sind allelisch .....	16
2.2 Die Metaphysäre Dysplasie Typ Braun-Tinschert (MIM *605946) .....	18
2.2.1 Eine neue autosomal dominante Form der Metaphysären Dysplasie in einer großen Familie.....	18
2.2.2 Der Genort der Metaphysären Dysplasie Typ Braun-Tinschert ist nicht identisch mit dem Genort der Craniometaphysären Dysplasie.....	20
2.3 Das Caffey-Syndrom (MIM *114000) .....	22
2.3.1 Autosomal dominante klassische und autosomal rezessive schwere Verlaufsformen des Caffey-Syndroms .....	22
2.3.2 Schwere und milde Verlaufsformen des Antenatalen Caffey-Syndroms.....	22
2.3.3 Vererbungsmodus des Antenatalen Caffey-Syndroms.....	24
2.4 Das McCune-Albright-Syndrom (MIM #174800) .....	25
2.4.1 Die fibröse Knochendysplasie des McCuneAlbright-Syndroms.....	25
2.4.2 Das McCune-Albright-Syndrom: klinische und molekulare Befunde bei einem ungewöhnlich großen Patienten.....	26
2.5 Die Melorheostose (MIM 155950).....	28
2.5.1 Ätiologische Konzepte: postzygotische Mutation versus Sklerotom-Theorie .....	28
2.5.2 Eigene Beobachtung: Melorheostose mit einem ipsilateralen Naevus sebaceus (Didymosis melorheosebacea).....	29
3 SCHLUSSBEMERKUNGEN UND AUSBLICK .....	31
4 THEMENRELEVANTE ORIGINALARBEITEN .....	35
5 LITERATURVERZEICHNIS .....	36
6 DANKSAGUNG .....	45
7 EIDESTATTLICHE VERSICHERUNG .....	47

---

## Zusammenfassung

Die Homöostase des Knochengewebes wird durch das Zusammenspiel von Ossifikation und Resorption gewährleistet. Eine in Relation zur Resorption zu starke Ossifikation führt zur Modellierungsstörung, Hyperostose und Sklerose. Knochenerkrankungen mit diesen Merkmalen werden als Sklerosierende Skelettdysplasien erfasst. Die Aufklärung der genetischen Grundlagen und der Pathomechanismen dieser seltenen monogen bedingten Erkrankungen trägt zum Verständnis des Knochenstoffwechsels und der Homöostase bei.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind fünf Skelettdysplasien aus dem Formenkreis der Sklerosierenden Skelettdysplasien. Diese werden auf unterschiedlichen pathogenetischen Ebenen charakterisiert, die zwischen klinischer Analyse und Aufklärung der molekulargenetischen Grundlage liegen.

Bei der autosomal dominanten Craniometaphysären Dysplasie gelang es, ausgehend von der klinischen Charakterisierung und Patientenerfassung, das verantwortliche Gen (*ANKH*) zu lokalisieren und zu identifizieren. Welche funktionelle Relevanz den nachgewiesenen Mutationen des *ANKH*-Gens zukommt, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen. Aufgrund der bekannten Transportfunktion des ANKH-Proteins für anorganisches Pyrophosphat ( $PP_i$ ) wird ein pathogenetischer Zusammenhang mit veränderten  $PP_i$ -Konzentrationen vermutet.

Die autosomal dominante Metaphysäre Dysplasie Typ Braun-Tinschert wurde anhand der Befunde einer Familie mit 18 lebenden Merkmalsträgern als Entität definiert, indem sie insbesondere gegenüber der mit Ähnlichkeiten behafteten Metaphysären Dysplasie Pyle und der Craniometaphysären Dysplasie klinisch, radiologisch und genetisch abgegrenzt wurde. Die Untersuchungen zur ätiologischen Aufklärung sind nicht abgeschlossen und werden fortgeführt.

Die antenatale Form des Caffey-Syndroms wurde im Zusammenhang mit einer eigenen Beobachtung einer kritischen Analyse unterzogen. Anhand von 44 Fallberichten ließen sich entgegen der in der Literatur vertretenen Auffassung, dass der klinische Verlauf des Antenatalen Caffey-Syndroms immer schwerwiegend ist, zwei Phänotypen unterscheiden - eine schwere Verlaufsform mit hoher Letalität und eine milde Form. Während sich anhand der Literaturdaten ein autosomal rezessiver Erbgang nicht sicher belegen lässt, kann eine autosomal dominante Vererbung in einigen Fällen mit Antenatalem Caffey-Syndrom als gesichert angesehen werden.

Das McCune-Albright-Syndrom wurde bei einem Patienten mit Hochwuchs diagnostiziert. Ähnlich wie in acht Patientenberichten aus der Literatur lagen bei ihm eine STH-Überproduktion (STH: *somatotropes Hormon*) und eine Prolaktinämie vor. Das beim McCune-Albright-Syndrom seltene Symptom Großwuchs wird durch den Mosaikcharakter der *GNAS1*-Mutationen einerseits und die Einflüsse der zahlreichen möglichen endokrinen Störungen auf das Knochenwachstum andererseits bestimmt. Durch quantitative Untersuchungen an fibrösen Nativgewebeproben wurde belegt, dass selbst homogen dysplastisch erscheinendes Gewebe aus einem Zellmosaik besteht, in dem die mutationstragenden Zellen unterrepräsentiert sind. Des Weiteren wurde demonstriert, dass Untersuchungen an Zellkulturen keine Aussagen über den Anteil mutationstragender Zellen im dysplastischen Ausgangsmaterial zulassen.

Eine Melorheostose wurde bei einem Patienten in ungewöhnlicher Kombination mit einem ipsilateralen Naevus sebaceus beobachtet. Das genetische Konzept der „twin spots“ (Zwillingsflecken) wurde vorgeschlagen, da es die Koexistenz zweier umschriebener Phänotypen, die jeweils Mosaik darstellen, schlüssig erklärt. Durch die Patientenbeobachtung wird die in der Literatur vertretene Theorie einer postzygotischen Mutation als Ursache der Melorheostose unterstützt.

Die vorliegende Arbeit gliedert sich ein in die Reihe von Bemühungen, zum molekularen Verständnis von Erkrankungen des Skelettsystems beizutragen.

## 1 EINLEITUNG

### 1.1 Eine gestörte Homöostase ist den seltenen Skelettdysplasien wie den häufigen Erkrankungen des Knochens gemein

Im wachsenden wie im ausgewachsenen Knochen erfolgt ein ständiger Umbau. Dieser gewährleistet eine funktionelle Anpassung an geänderte Verhältnisse und beruht auf einem komplexen Zusammenspiel genetischer und exogener Faktoren [Ducy et al., 2000; Mundlos und Olsen, 1997; Teitelbaum, 2000]. An dem dynamischen Prozess sind die knochenbildenden Osteoblasten und als deren Gegenspieler die knochenabbauenden Osteoklasten beteiligt. Unter physiologischen Bedingungen befinden sich Knochenaufbau und -abbau in einem Gleichgewicht (Homöostase), wodurch ein altersspezifisches Verhältnis von Volumen, Form und Struktur gewahrt wird. Ein Ungleichgewicht kann zu einem breiten Spektrum an Skeletterkrankungen führen. Eine der häufigsten Krankheiten überhaupt, die Osteoporose, ist durch eine multifaktoriell bedingte Störung der Knochenhomöostase mit einer Verschiebung des Gleichgewichtes zugunsten des Knochenabbaus charakterisiert. Ein Zusammenhang mit einem Mangel an Sexualsteroiden, einem Überschuss an Glucocorticoiden oder anderen endokrinen Imbalancen, wie Hyperparathyroidismus oder Hyperthyreose, ist gut bekannt [Rodan und Martin, 2000; Orsel und Beaudreuil, 2002]. Wie durch epidemiologische und Zwillingsuntersuchungen gezeigt werden konnte, ist die Variabilität des quantitativen Merkmales Knochendichte in der Bevölkerung zu etwa 80 % genetisch bedingt [Howard et al., 2000]. Die Identifizierung der zugrunde liegenden genetischen Faktoren steht aus und ist Gegenstand intensiver Forschungsbestrebungen [Deng et al., 2002].

Im Gegensatz zur multifaktoriell bedingten Osteoporose sind monogene Knochenerkrankungen, die mit einer gestörten Homöostase einhergehen, selten. Sie bilden eine Gruppe von etwa 50 Entitäten [Hall, 2002]. Die Aufklärung der genetischen Grundlagen und der Pathomechanismen dieser seltenen Erkrankungen können zum Verständnis des Einflusses einzelner genetischer Faktoren auf den Knochenstoffwechsel und die Homöostase beitragen [Van Hul et al., 2001; Janssens und Van Hul, 2002].

Gegenstand der hier vorgestellten Arbeiten sind Skelettdysplasien, bei denen das Gleichgewicht in Richtung einer vermehrten Ossifikation verschoben ist. Die Homöostasestörung findet dabei ihren Ausdruck in einer Hyperostose, einer Sklerose und einer gestörten Modellierung.

## **1.2 Nomenklatur und Klassifikation von Skelettdysplasien mit den Merkmalen Modellierungsstörung, Hyperostose und Sklerose**

Dem Konzept der Gruppierung von Skeletterkrankungen nach morphologischen Gesichtspunkten liegt eine mutmaßliche pathogenetische Verwandtschaft morphologisch ähnlicher Veränderungen zugrunde. Skelettdysplasien, die sich durch eine veränderte Form der Röhrenknochen (Modellierungsstörung), ein vermehrtes Knochenvolumen (Hyperostose) und eine erhöhte Knochendichte (Sklerose) auszeichnen, werden unter dem Begriff „Sklerosierende Skelettdysplasien“ zusammengefasst [Greenspan, 1991; Beighton und Hamersma, 1980; Van Hul et al., 2001], obwohl die Sklerose nicht immer das dominierende Merkmal ist.

Ja nachdem, ob die Modellierungsstörung oder die Sklerose und Hyperostose im Vordergrund stehen, hatten Gorlin und Mitarbeiter [1969] eine Einteilung in Craniotubuläre Dysplasien und Craniotubuläre Hyperostosen vorgenommen.

Folgt man der „International Nosology and Classification of Constitutional Disorders of Bone (2001)“ [Hall, 2002], so bilden etwa 35 Skeletterkrankungen mit erhöhter Knochendichte folgende Gruppen: 1. Ohne Veränderung der Knochenform, 2. Mit diaphysärer Beteiligung, 3. Mit metaphysärer Beteiligung, 4. Neonatale schwere osteosklerotische Dysplasien. Einige Erkrankungen mit den genannten Charakteristika werden als „Craniotubular digital dysplasias“ klassifiziert.

Eine Einteilung der Sklerosierenden Skelettdysplasien in Störungen der endochondralen und der intramembranösen (desmalen) Ossifikation wird von Vanhoenacker et al. [2000] in Fortführung der von Greenspan [1991] vorgenommenen Klassifikation favorisiert. Sie basiert auf den radiologisch sichtbaren Veränderungen, die aufgrund ihrer Lokalisation entweder der desmalen, direkten Knochenbildung oder der endochondralen, über eine knorpelige Vorstufe verlaufenden Ossifikation zugeordnet werden.

Eine einheitliche und allgemein akzeptierte, verbindliche Klassifikation gibt es derzeit nicht.

## 2 EIGENE ARBEITEN

In den hier vorgestellten Arbeiten werden Skeletterkrankungen mit Modellierungsstörung, Hyperostose oder Sklerose auf verschiedenen pathogenetischen Ebenen charakterisiert. Diese repräsentieren die Etappen des Weges, der mit der Analyse des Phänotyps beginnt und zu einer Aufklärung des Basisdefektes führt.

### **Folgende Skeletterkrankungen wurden untersucht:**

1. Craniometaphysäre Dysplasie, autosomal dominante Form (MIM #123000)
2. Metaphysäre Dysplasie, Typ Braun-Tinschert (MIM \*605946)
3. Caffey-Syndrom (MIM \*114000)
4. McCune-Albright-Syndrom (MIM #174800)
5. Melorheostose (MIM 155950)

**Die klinische Charakterisierung** (Phänotypanalyse) und Diagnosestellung erfolgten anhand klinisch-morphologischer Merkmale und röntgenologischer Befunde. Histologische Untersuchungen wurden beim Caffey- und beim McCune-Albright-Syndrom durchgeführt. Die DNA-Isolation geschah aus Blutproben, Fibroblastenkulturen und z. T. aus Knochengewebeproben. Letztere wurden bei der Craniometaphysären Dysplasie nach Exhumierung betroffener Familienangehöriger und beim McCune-Albright-Syndrom im Rahmen operativer Eingriffe gewonnen. Die DNA-Präparationen aus exhumiertem Knochenmaterial wurden im Institut für Rechtsmedizin der Charité, Berlin (Frau Dr. Marion Nagy), und im Institut für Anthropologie, Göttingen (Frau Dr. Susanne Hummel), vorgenommen. Chromosomenanalysen an lymphoblastoiden Zelllinien des peripheren Blutes wurden zur Ausschlussdiagnostik chromosomaler Translokationen durchgeführt.

Als **Methoden der molekulargenetischen Diagnostik** kamen folgende Standardmethoden zur Anwendung, die in den Aufsätzen beschrieben sind:

### **1. Auf Mikrosatelliten-Markern basierende Kopplungsanalyse:**

Craniometaphysäre Dysplasie (*siehe Nürnberg et al., 1997*)

Metaphysäre Dysplasie (*siehe Braun et al., 2001*)

### **2. Haplotypanalyse:**

Craniometaphysäre Dysplasie (*siehe Nürnberg et al., 1997; Chandler et al., 2001*)

Metaphysäre Dysplasie (*siehe Braun et al., 2001*)

### **3. Sequenzierung genomischer DNA nach PCR-Amplifikation:**

Craniometaphysäre Dysplasie (*siehe Nürnberg et al., 2001*)

### **4. Slot-Blot-Hybridisierung:**

McCune-Albright-Syndrom (*siehe Tinschert et al., 1999*)

## **2.1 Die Craniometaphysäre Dysplasie, autosomal dominante Form (MIM #123000)**

Die Craniometaphysäre Dysplasie (CMD) ist eine Skelettdysplasie, die durch eine Hyperostose und Sklerose im Schädelbereich und eine Modellierungsstörung der langen Röhrenknochen mit charakteristischer „Erlenmeyerkolbenform“ der distalen Femora gekennzeichnet ist. Sie wurde von Jackson und Mitarbeitern [1954] als Entität gegenüber anderen Skelettdysplasien, die mit einer Modellierungsstörung der Metaphysen einhergehen, abgegrenzt. Vorzugsweise betreffen die Veränderungen Orte der endochondralen Ossifikation, wie die Spongiosa der Röhrenknochen und Knochen der Schädelbasis. Die Beteiligung der Schädelkalotte und der metadiaphysären Übergänge der langen Röhrenknochen weisen auf eine zusätzliche Störung der intramembranösen Knochenbildung hin [Greenspan, 1991; Vanhoenacker et al., 2000].

Klinisch stehen, je nach Ausprägung der Hyperostosen, Hirnnervenausfälle im Vordergrund. Am häufigsten betroffen sind der N. facialis und N. acusticus, seltener der N. opticus [Beighton et al., 1995]. Zu einer sensorischen Schwerhörigkeit durch Stenosierung des Meatus acusticus internus kann eine Schalleitungsschwerhörigkeit durch Alterationen der Mittelohrstrukturen (Ossikulfixation und Obliteration der Fenster) hinzukommen [Millard et al., 1967; Shea et al., 1981; Franz et al., 1996; Richards, et al., 1996]. Die Vergrößerung der Mandibula kann zu Prognathie und dentaler Malokklusion führen. Abgesehen von z. T. stark ausgeprägten Genua valga bleiben die Formveränderungen der Metaphysen der langen Röhrenknochen ohne klinische Konsequenzen [Ross und Altman, 1967; Tinschert und Braun, 1998].

Eine milde autosomal dominante Form (CMDD; MIM #123000) und eine autosomal rezessive Form (CMDR; MIM \*218400) mit schwerer Ausprägung wurden von Gorlin und Mitarbeitern [1969] unterschieden. Mehr als 100 Patienten mit autosomal dominanter CMD sind beschrieben, von denen über die Hälfte zu einigen großen Familien aus den USA [Rimoin et al., 1969], Südafrika/England [Beighton et al., 1979], Mexiko [Carnevale et al., 1983], Australien [Colavita et al., 1988; Taylor und Sprague, 1989] und Deutschland [Tinschert und Braun, 1998] gehören. Dagegen sind nur 15 Patienten bekannt, bei denen wegen einer massiven Ausprägung der kraniofazialen Hyperostose eine schwere, autosomal rezessive Form der CMD postuliert wurde [Halliday, 1949; Jackson et al., 1954; Wemmer und Böttger, 1978; Boltshauser et al., 1996; Elcioglu und Hall, 1998]. Unter diesen Patienten gab es nur in einer Verwandtenbeziehung ein zweites betroffenes Kind [Millard et al., 1967; Ross und Altman, 1967]. Konsanguinität der Eltern wurde auch



bei sporadischen Patienten berichtet [Lièvre und Fischgold, 1956; Sommer, 1954]. Eine der dominanten CMD entsprechende Symptomatik bei mehreren Kindern gesunder Eltern [Komins, 1954; Feld et al., 1955; Lehmann, 1957; Penchaszadeh et al., 1980] kann auf der Basis eines Keimbahnmosaiks eines Elternteils erklärt werden. Andererseits weisen die Befunde in einer mehrfach konsanguinen Familie, in der das Auftreten der CMD mit einer autosomal rezessiven Vererbung vereinbar ist, die Symptomatik aber mild ausgeprägt ist, auf die Existenz einer rezessiven Form mit leichter Symptomatik hin [Iughetti et al., 2000].

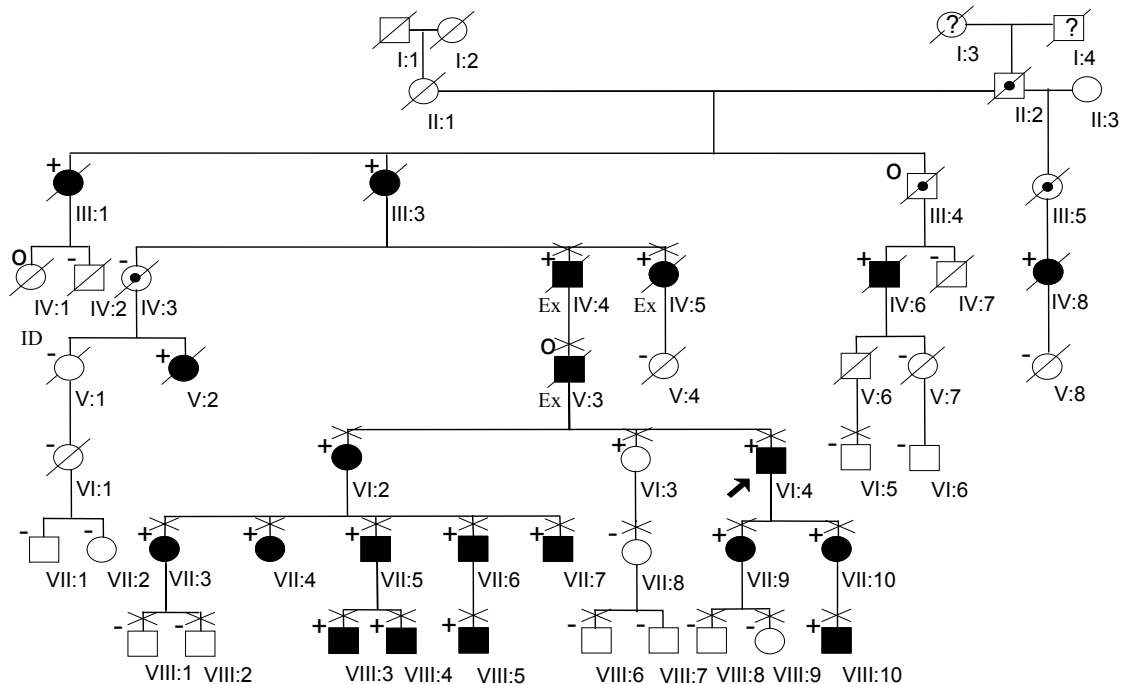
Basierend auf der klinischen Charakterisierung einer großen Familie mit autosomal dominanter CMD war es uns möglich, das für die Erkrankung verantwortliche Gen mittels genomweiter Kopplungsanalyse zu kartieren und später zu identifizieren. Diese Arbeit wird in den folgenden Abschnitten kurz vorgestellt.

### **2.1.1 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie in sechs Generationen einer deutschen Familie**

Ausgehend von der Diagnose bei einer männlichen Indexperson konnte - dank einer außerordentlichen Kooperationsbereitschaft der Familie - ein umfangreicher Stammbaum erstellt werden. Dieser umfasst acht Generationen und führt zurück zu Personen, die am Beginn des 18. Jahrhunderts in Mitteldeutschland lebten. Von insgesamt 180 Angehörigen des Stammbaums, die einen gemeinsamen Vorfahren hatten, konnte bei 46 Familienmitgliedern eine Beurteilung des Phänotyps vorgenommen werden. Dieser Teil des Stammbaums ist in Abbildung 1 (*Seite 6*) dargestellt. Es war möglich, die CMD bis zu einem im Jahr 1790 geborenen Vorfahren (II:2) zurückzuverfolgen. Die Diagnose stützt sich auf klinische Untersuchungen, Röntgenaufnahmen, Fotografien sowie genealogische Schlussfolgerungen. In drei Fällen durften, im Einvernehmen mit den Angehörigen, Exhumierungen durchgeführt werden. Es kam uns der Umstand zugute, dass die Gräber noch intakt waren, obwohl die Ablaufristen der Grabstätten bereits überschritten waren.

Insgesamt konnten einundzwanzig lebende Personen und drei Skelette klinisch/morphologisch und radiologisch untersucht werden. Von diesen wurde bei 16 Personen eine CMD diagnostiziert. Gesundheitliche Beeinträchtigungen im Zusammenhang mit der CMD traten, wie auch in anderen Familien mit zahlreichen Betroffenen beobachtet werden konnte [Beighton et al., 1979; Taylor und Sprague, 1989], nur bei einzelnen Familienmitgliedern auf. Der Indexpatient (VI:4) war schwerhörig, hatte eine einseitige Fazialisparese und zeigte eine dentale Malokklusion. Weitere

Familienmitglieder waren schwerhörig (VII:9) oder litten unter einer Fazialisparese (VII:7). Neun Personen zeigten Genua valga, die bei einer Person (VI:2) schwer ausgeprägt waren.



**Abb. 1: Stammbaum der deutschen Familie mit CMD**

■ ● = betroffen, □ ○ = nicht betroffen, ◻ ◉ = obligater Genträger,  
? = keine Information, ID *infant death* = Tod im Kindesalter, ✕ = radiologisch untersucht,  
+ = betroffen (klinisch/anhand Foto), - = nicht betroffen (klinisch/anhand Foto), 0 = Status nicht eindeutig (klinisch/anhand Foto), Ex = exhumiert

Die Hyperostose der Schädelkalotte und -basis führen zu den charakteristischen kraniofazialen Merkmalen der CMD. Die Patienten weisen eine ausgeprägte Stirn, eine breite, verdickte Nasenwurzel und paranasale Prominenzen sowie ein stark ausgeprägtes Kinn auf. So konnte auch bei verstorbenen Patienten anhand von Fotografien eine faciale Dysmorphie beurteilt und die Diagnose gestellt werden.

Im vorliegenden Stammbaum war bei drei Personen (III:4, IV:3 und V:3), die aus genealogischen Gründen sichere Anlagenträger waren und von denen Fotografien vorlagen, der typische faciale Phänotyp, zumindest im Alter, nicht ausgeprägt. Die Person V:3, deren Überreste exhumiert wurden, hatte jedoch die charakteristischen Skelettveränderungen. Das ist ein Hinweis darauf, dass eine radiologische Diagnostik zum Ausschluss der CMD unabdingbar ist.

Bei einer weiteren Person (VI:3) ließen sich ein ausgeprägtes Kinn und eine leichte Schwäche des N. facialis als mögliche Hinweise für eine CMD finden. Die Röntgenaufnahmen des Schädels ergaben jedoch keine Hyperostose und auch nicht die charakteristische frontobasale Sklerose, ebenso hatten die Femora eine völlig unauffällige Form. Wie sich später ergab, war gerade bei dieser Person eine Festlegung des Phänotyps für den Fortgang der Kartierung des CMDD-Gens wichtig. In der Literatur war zuvor einmal über eine stille Anlagenträgerschaft berichtet worden [Taylor und Sprague, 1989], weshalb eine reduzierte Penetranz in Betracht zu ziehen war. Die Entscheidung, die Person (VI:3) als nicht betroffen einzustufen, gründete sich auf den Vergleich mit den anderen Betroffenen der Familie.

Das Auftreten in aufeinanderfolgenden Generationen mit Vater-Sohn-Vererbung entspricht zweifelsfrei einem autosomal dominanten Erbgang. Eine reduzierte Penetranz konnte unter Einbeziehung der abschließenden molekulargenetischen Daten nicht festgestellt werden.

### **Originalarbeit:**

*Tinschert S, Braun HS (1998): Craniometaphyseal dysplasia (CMD) in six generations of a German kindred. Am J Med Genet 77:175-181*

### **2.1.2 Der Gendefekt für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie ist auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 lokalisiert**

Für eine genomweite Kopplungsanalyse zur Kartierung des CMDD-Gens standen insgesamt 25 Blutproben aus der deutschen Familie zur Verfügung. Darunter waren 18 Blutproben von Personen, die auf einen gemeinsamen Vorfahren zurückzuführen waren, die übrigen Proben stammten von angeheirateten Personen.

Als DNA-Marker wurden Mikrosatelliten (STRPs: *short tandem repeat polymorphisms*), die in einem Abstand von etwa 20 cM zueinander lagen, verwendet. Den höchsten LOD-Score mit  $Z_{\max} = 3,14$  und damit den statistisch signifikanten Kopplungsnachweis ergab der Marker D5S1470 bei einer Rekombinationsfrequenz  $\theta = 0,06$  unter der Annahme vollständiger Penetranz. Nachfolgend wurden weitere Marker aus der Region getestet. Der maximale Wert der Zwei-Punkt-Lod-Score-Analyse von  $Z_{\max} = 4,82$  bei  $\theta = 0$  wurde für den Marker D5S11997 ermittelt. Aus den Genotypen dieses und weiterer flankierender Marker wurden Haplotypen konstruiert. Dadurch gelang es, die Kandidatenregion für die

Lokalisation des CMDD-Gens auf ein chromosomales Segment von 19 centiMorgan (cM) auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 (5p15.2 – p14.1) einzugrenzen.

Ein Haplotyp der Person VI:3 (*Abb. 1, Seite 6*), die wir trotz dezenter fazialer Auffälligkeiten als nicht betroffen eingestuft hatten (*s.o.*), zeigte unter der Voraussetzung, dass dieser Haplotyp nicht bereits beim verstorbenen Vater (V:3) vorgelegen hatte, eine Rekombination zwischen den Marker-Loci D5S1987 und D5S416 an (*siehe Nürnberg et al., 1997*). Die telomerwärts von der möglichen Rekombination gelegenen Allele entsprachen dem „CMD-Haplotyp“. Das bedeutete, wenn der Vater (V:3) nicht homozygot für diesen Bereich war, also tatsächlich eine Rekombination vorlag, wäre auf der Basis dieses Befundes das Lokalisations-Intervall für das CMDD-Gen um den gesamten Bereich telomerwärts vom Rekombinationsbruchpunkt einengbar gewesen. Für den Fall, dass die Klassifizierung der Person VI:3 falsch vorgenommen wurde und diese doch betroffen war, hätte das CMDD-Gen in der sonst ausgeschlossenen Region gesucht werden müssen.

### **Originalarbeit:**

*Nürnberg P, Tinschert S, Mrug M, Hampe J, Müller CR, Fuhrmann E, Braun HS, Reis A (1997): The gene for autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia maps to chromosome 5p and is distinct from the growth hormone-receptor gene. Am J Hum Genet 61:918-923*

### **2.1.3 Kandidatengene: Das Gen für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie ist nicht identisch mit dem Wachstumshormon-Rezeptor-Gen**

In der durch Kopplung ermittelten 19 cM großen Kandidatengenregion 5p15.2-14.1 befanden sich zahlreiche Gene, die aufgrund ihrer Position als Kandidaten für das CMDD-Gen in Betracht kamen. Einige dieser Gene erschienen auch als funktionelle Kandidatengene geeignet. So wurde das Gen für eine Adenylatcyclase, das in die Region 5p15.3-p15.2 kartiert [Stengel et al., 1992], als Kandidatengen erwogen. Die Adenylatcyclasen katalysieren die Bildung cyclischer AMP-Moleküle (cAMP), die als intrazelluläre „zweite Boten“ für Hormonsignale wie die des Parathormons oder des Calcitonins dienen. Beide Hormone sind bekannte Regulatoren der Calciumhomöostase. Die Steroid-5-alpha-Reduktase, deren codierendes Gen der chromosomalen Region 5p15 zugeordnet ist [Jenkins et al., 1991], ließ sich im Sinne einer möglichen hormonellen Dysregulation in Analogie zur Osteoporose mit Störungen des Knochenstoffwechsels als Kandidatengen interpretieren. Das „death associated protein“-(*DAP*-)Gen, lokalisiert in

5p15.2 [Feinstein et al., 1995], war möglicherweise mit dem kontrollierten Zelltod von Chondrozyten bei der enchondralen Ossifikation in Verbindung zu bringen. Für das Zinkfingerprotein-4, dessen Gen in 5p14-p13 kartiert [Habeebu et al., 1989], wäre eine Funktion als osteoklasten- oder osteoblastenspezifischer Transkriptionsfaktor denkbar gewesen. Als ein besonders geeigneter Kandidat erschien das Wachstumshormonrezeptor-Gen (*GHR*-Gen), das in 5p14-p12 kartiert und dessen Produkt, der GHR (*GHR: growth hormone receptor*), den stimulierenden Effekt des Wachstumshormons auf Osteoblasten vermittelt [Morel et al., 1993]. Eine Kosegregation zwischen dem CMD-Phänotyp und dem *GHR*-Gen wurde jedoch, wie in der Originalarbeit [Nürnberg et al., 1997] beschrieben, durch den Nachweis von Rekombinationsereignissen ausgeschlossen.

Fazit: Es war eine weitere Eingrenzung des Positionsintervalls notwendig, um plausible Kandidaten für gezielte Mutationsanalysen auswählen zu können.

### **Originalarbeit:**

*Nürnberg P, Tinschert S, Mrug M, Hampe J, Müller CR, Fuhrmann E, Braun HS, Reis A (1997): The gene for autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia maps to chromosome 5p and is distinct from the growth hormone-receptor gene. Am J Hum Genet 61:918-923*

#### **2.1.4 Eingrenzung der Kandidatenregion für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie auf dem kurzen Arm von Chromosom 5**

Zur Eingrenzung des CMDD-Intervalls wurde zum einen versucht, weitere Angehörige der CMD-Familie (*Abb. 1, Seite 6*, im Folgenden: „deutsche CMD-Familie-1“), in die Untersuchungen einzubeziehen sowie andere Familien mit CMD zu charakterisieren.

Durch Exhumierungen der Skelette von drei Angehörigen der deutschen CMD-Familie-1 (IV:4, IV:5, V:3 *im Stammbaum, Seite 6*) war die Möglichkeit gegeben, die Untersuchungen zur Eingrenzung der Kandidatenregion in dieser Familie fortzuführen. Darüber hinaus gelang es, eine von Spranger und Mitarbeitern [1965] publizierte kleinere deutsche Familie mit CMD („deutsche CMD-Familie-2“) ausfindig zu machen, und Blutproben der zwei Merkmalsträger (Vater und Sohn) sowie der nicht betroffenen Personen (Mutter und zwei weitere Kinder) zu erhalten. Durch eine Kooperation mit dem Neuromuscular Research Institute in Perth, Australien, konnte eine von Taylor und Sprague [1989] publizierte große australische Familie in die Untersuchungen einbezogen werden.

Für die deutsche CMD-Familie-2 wie für die westaustralische Familie wurden die Markergenotypen bestimmt und Haplotypen für die CMDD-Region konstruiert. Die Segregation der Haplotypen war mit einer Kopplung zur CMDD-Region auf 5p vereinbar. Durch kombinierte Zwei-Punkt-Lod-Score-Analysen wurde die Kopplung mit  $Z_{\max} = 3,61$  bei  $\theta = 0$  für den Marker D5S1987 bestätigt.

Anhand einer DNA-Probe, die aus exhumiertem Knochenmaterial des genealogisch sicheren Merkmalsträgers V:3 der CMD-Familie-1 (*Abb. 1, Seite 6*) gewonnen werden konnte, wurden für relevante Marker der Kandidatengenregion Haplotypen konstruiert. Da sich diese als heterozygot erwiesen, konnte die fragliche Rekombination bei VI:3, der Tochter von V:3 (*siehe Abschnitt 2.1.2*), bestätigt und der Rekombinationsbruchpunkt zwischen den Marker-Loci D5S1987 und D5S2081 lokalisiert werden. Dadurch gelang eine Einengung des CMDD-Intervalls um ca. 2 cM auf der telomernahen Seite.

Die exhumierten Überreste der Person IV:5 (*Abb. 1, Seite 6*) wiesen die charakteristischen Zeichen der CMD auf. Die aus einer DNA-Probe ermittelten Haplotypen ergaben eine Rekombination zwischen den Marker-Loci D5S411 und D5S502, wodurch das CMDD-Intervall auf der zentromernahen Seite um ca. 3 cM eingeengt werden konnte.

Die Haplotypanalyse in der CMD-Familie-2 erbrachte bei einem Merkmalsträger (II:1 *in Chandler et al., 20001*) eine Rekombination zwischen den Markern D5S1991 und D5S1989, wodurch das CMDD-Intervall um ca. 12 cM auf der zentromernahen Seite reduziert werden konnte. Eine Rekombination zwischen den Markern D5S2081 und D5S1991 bei einer gesichert nicht betroffenen Person (IV:4 *in Chandler et al., 20001*) der westaustralischen Familie gestattete eine Einengung des ursprünglichen CMDD-Intervalls um insgesamt ca. 13 cM auf der zentromernahen Seite.

Im Ergebnis dieser erweiterten Kopplungsanalysen ließ sich für die Lokalisation des CMDD-Gens ein 4 cM großes Intervall auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 (5p15.1) definieren, das von den Markern D5S1987 distal und D5S1991 proximal flankiert wurde. Die Beiträge der einzelnen Familien zur Einengung des CMDD-Intervalls sind in *Abbildung 2 (Seite 11)* dargestellt.

Marker-Locus	Position (cM)	Deutsche Familie 1	Deutsche Familie 2	Australische Familie
<b>Telomer</b>				
D5S2004	20.5	D5S2004	D5S2004	D5S2004
D5S667	21.4	D5S667	D5S667	D5S667
D5S1987	21.9	D5S1987	D5S1987	D5S1987
D5S2081	22.6	D5S2081	D5S2081	D5S2081
D5S1991	25.9	D5S1991	D5S1991	D5S1991
D5S1989	27.3	D5S1989	D5S1989	D5S1989
D5S1954	27.4		D5S1954	D5S1954
D5S1963	27.9		D5S1963	D5S1963
D5S1992	27.9	D5S1992	D5S1992	
D5S416	27.9	D5S416		
D5S2114	28.7		D5S2114	D5S2114
D5S1997	29.7		D5S1997	D5S1997
D5S486	31.0		D5S486	D5S486
D5S2096	31.9	D5S2096	D5S2096	D5S2096
D5S411	35.6	D5S411	D5S411	D5S411
D5S2074	35.6		D5S2074	D5S2074
D5S502	38.9	D5S502	D5S502	D5S502
<b>Zentromer</b>				

**Abb. 2: Eingrenzung des CMDD-Intervalls (grau markiert)**

Die Positionsangaben der Marker beruhen auf der genetischen Karte von Généthon (Dib et al., 1996). Diese Karte war zum Zeitpunkt der Untersuchungen maßgeblich.

### Originalarbeit:

Chandler D, Tinschert S, Lohan K, Harrop K, Goldblatt J, Nagy M, Hummel S, Braun HS, Laing N, Nürnberg P (2001): Refinement of the chromosome 5p locus for craniometaphyseal dysplasia. *Hum Genet* 108:394-397

### 2.1.5 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie wird durch Mutationen im *ANKH*-Gen verursacht

Ein neues Kandidatengen für die autosomal dominante CMD hatten Ho und Mitarbeiter [2000] mit der Kartierung des *ANKH*-Gens, der menschlichen Entsprechung des progredienten Ankylose- (*ank*-) Gens der Maus, geliefert. Das *ANKH*-Gen war durch *Radiation Hybrid (RH)-Mapping* auf den kurzen Arm von Chromosom 5, in die Nähe von Marker D5S1954, kartiert worden [Ho et al., 2000] und befand sich damit in unmittelbarer Nähe der CMDD-Kandidatenregion. Durch einen Vergleich der Sequenz der *ANKH*-mRNA mit der des Humangenoms war es möglich, das *ANKH*-Gen in das 4 cM umfassende Intervall der CMDD [Chandler et al., 2001] zu positionieren [Nürnberg et al., 2001].

Die *ank*-Maus, eine autosomal rezessive Spontanmutante, die eine *nonsense*-Mutation im Exon 11 trägt, leidet unter zunehmenden Gelenkversteifungen als Folge von Calciumphosphat-(Hydroxylapatit-)Ablagerungen. Ihr Krankheitsbild weist Merkmale der Chondrocalcinose, Osteoarthritis und Spondylarthritis ankylopoetica auf, ohne einer dieser arthritischen Erkrankungen voll zu entsprechen. Das *Ank*-Gen codiert einen mutmaßlichen Transporter, der die intra- und extrazelluläre Konzentration für anorganisches Pyrophosphat (PP<sub>i</sub>) reguliert [Ho et al., 2000]. Vermehrtes extrazelluläres PP<sub>i</sub> hemmt die Ablagerung von Hydroxylapatit und führt andererseits, durch Präzipitation von Calcium- und PP<sub>i</sub>-Ionen, zur Entstehung von CPPD-Kristallen (CPPD: *calcium pyrophosphate dihydrate*) [Ryan, 2001, Halverson und Derfus, 2001]. Die duale Rolle von PP<sub>i</sub> betrifft nicht nur ektopre Verkalkungen, sondern auch die Knochenmineralisierung [Fleisch et al., 1969; Fleisch, 1981; Terkeltaub, 2001]. Als Regulator von PP<sub>i</sub> war *ANKH* damit nicht nur als positionelles, sondern auch als funktionelles Kandidatengen für die CMDD interessant. Deshalb wurde *ANKH* durch genomische Sequenzierung aller 12 Exons, einschließlich der flankierenden Intron-Bereiche, auf Mutationen geprüft. In diese Untersuchung konnten zum damaligen Zeitpunkt 35 Patienten aus 9 Familien einbezogen werden [Nürnberg et al., 2001].

In sechs familiären Fällen und bei zwei von drei Patienten mit sporadischer CMD konnten heterozygote Mutationen im *ANKH*-Gen nachgewiesen werden. Von den acht Mutationen waren sechs different. Zum Mutationsspektrum gehörten vier *missense*-Mutationen, drei Aminosäuredeletionen und eine Aminosäureinsertion infolge einer neuen Spleiß-Akzeptor-Stelle im Intron 9 (*Tab. 1, Seite 13*). In allen CMDD-Familien ließ sich eine perfekte Kosegregation des CMD-Phänotyps mit den Mutationen zeigen. Bei den Eltern der sporadischen Patienten, sofern verfügbar, waren keine Mutationen nachweisbar. Ebenso fand sich bei keiner von 100 Kontrollpersonen eine dieser Mutationen des *ANKH*-Gens. Um einen ursächlichen Zusammenhang zwischen *ANKH*-Mutation und CMD weiter zu erhärten, wurden Sequenzvergleiche der ANK-Proteine verschiedener Wirbeltier-Spezies vorgenommen. Die Mutationen betrafen stets hoch konservierte Aminosäurereste. Die Befunde belegen in ihrer Gesamtheit überzeugend, dass die autosomal dominante CMD durch heterozygote Mutationen im *ANKH*-Gen verursacht wird [Nürnberg et al., 2001].

*ANKH* wurde als Positionskandidatengen auch von einer anderen Arbeitsgruppe getestet. In fünf Familien mit autosomal dominanter CMD und in fünf sporadischen Patienten wurden insgesamt fünf Mutationen nachgewiesen [Reichenberger et al., 2001]. Alle Mutationen entsprachen den zuvor bereits durch uns nachgewiesenen (*Tab. 1*). In der



Zwischenzeit wurde von unserer Arbeitsgruppe bei drei weiteren sporadischen Patienten wiederum eine der bereits bekannten Mutationen gefunden (Tab. 1, aktuelle Befunde).

**Tab. 1: ANKH-Mutationen bei Patienten mit autosomal dominanter Craniometaphysärer Dysplasie (CMD)**

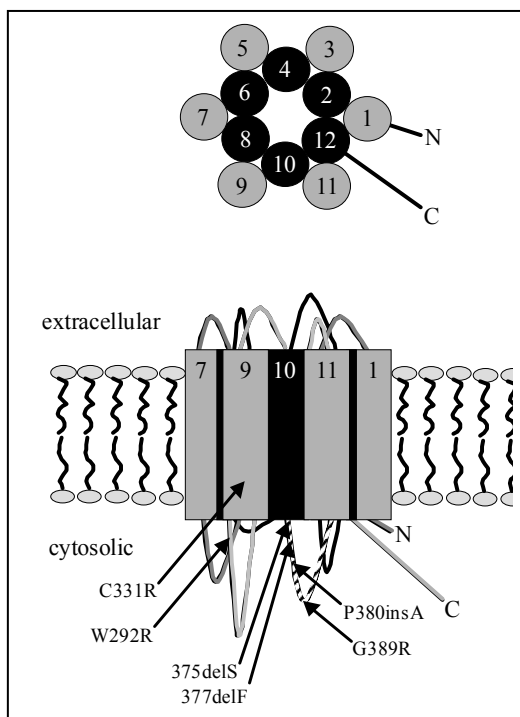
Mutationen			Anzahl familiärer/sporadischer Mutationen		
Lokalisation	DNA-Veränderung	Proteinveränderung	Nürnberg et al., 2001	Reichenberger et al., 2001	aktuelle Befunde
Exon 7	942T>C	Trp292Arg	1 sporadisch		
Exon 8	1059T>C	Cys331Arg	1 familiär		
Exon 9	1192delCCT	Ser375del	1 familiär	2 sporadisch	3 sporadisch
Exon 9	1196delCTT	Phe377del	2 familiär	2 familiär	
Intron 9	1210-4A>G	Phe380insAla	1 sporadisch	1 familiär	
Exon 10	1233G>A	Gly389Arg	2 familiär		

Wie oben angeführt, wurde ANK von Ho und Mitarbeitern [2001] als Transmembranprotein charakterisiert, das die intra- und extrazelluläre Konzentration von  $PP_i$ , eines Inhibitors der Bildung von Calciumphosphat-Kristallen, reguliert. Aufgrund einer entgegengesetzten Wirkung auf extra- und intrazelluläre  $PP_i$ -Spiegel postulierten die Autoren eine Funktion von ANK als Transportkanal für  $PP_i$ . Sie schlugen eine Transmembran-Topologie für das ANK-Protein vor, die von 10 transmembranalen Helices ausgeht.

In Kooperation mit dem Institut für Biochemie des Universitätsklinikums Charité (Professor Wolfgang Höhne) konnte unter Verwendung eines Programms zur Helix-Strukturvorhersage von Membranproteinen (TmPred: *Prediction of Transmembrane Regions and Orientation, Swiss node of the EMBI network for helix prediction*) [Hofmann und Stoffel, 1993] ein alternatives Modell entwickelt werden, das in spezieller Weise die Funktion von ANK als Transportkanal für  $PP_i$  berücksichtigt.

Dieses Modell impliziert 12 Helices mit einer alternierenden Innen-/Außenorientierung, welche die Zellemban überspannen. Eine wechselnde Hydrophobizität benachbarter Helices im Hydrophobizitäts-Plot der ANK-Sequenz lässt darauf schließen, dass nur jede zweite der 12 Helices unmittelbar zur Kanalbildung beiträgt. Diese sechs Helices bilden die innere Begrenzung des Transportkanals und werden durch die übrigen sechs Helices, die mit der doppelschichtigen Lipidmembran interagieren, von außen stabilisiert. Das

Lumen eines Kanals aus sechs Helices ist weit genug, um  $PP_i$ -Moleküle passieren zu lassen, wogegen ein Kanal aus nur fünf Helices für  $PP_i$ -Moleküle zu eng wäre. Ein Kanal aus 10 oder 12 zirkulär angeordneten Helices wäre dagegen zu weitlumig, als dass er für  $PP_i$ -Moleküle selektiv wirken könnte. Wenn die Helices des inneren Kanalringes so ausgerichtet sind, dass die stärker geladenen basischen Reste lumenwärts weisen, resultiert ein positives Potential der inneren Kanaloberfläche. Dieses wiederum lässt sich gut mit einer Transportfunktion für das negativ geladene  $PP_i$  vereinbaren (Abb. 3).



**Abb. 3: Schematische Darstellung des ANK-Kanal-Modells mit der Lokalisation bekannter Mutationen.**

Die Anordnung der 12 Helices ist in der Draufsicht (oberer Teil der Abbildung) und in der Seitenansicht (unterer Teil) dargestellt. Der Kanal wird innen nur von den sechs geradzahigen Helices begrenzt. Die Mehrzahl der *ANKH*-Mutationen befindet sich in der zytosolischen Verbindungsschleife zwischen den Helices 10 und 11. Die Lokalisation der Mutationen ist durch Pfeile gekennzeichnet [Nürnberg et al., 2001].

Alle bisher nachgewiesenen Mutationen [Nürnberg et al., 2001; Reichenberg et al., 2001], einschließlich der drei bisher nicht publizierten (Tab. 1, Seite 13), befinden sich mit einer Ausnahme - der Substitution von Cystein 331 in Helix 9 - auf der zytosolischen Seite des 12-Helix-Modells. Es ist bemerkenswert, dass bei den drei *missense*-Mutationen jeweils eine Aminosäuresubstitution durch Arginin erfolgt ist, die eine zusätzliche positive Ladung der inneren Kanaloberfläche mit sich bringen sollte, was für den Transport von  $PP_i$  bedeutungsvoll sein kann.

Ein „gain-of-function“-Modell erscheint am besten geeignet, einige bisherige Befunde zusammenzuführen [Nürnberg et al., 2001]. Dieses Modell wird durch die Beobachtung gestützt, dass Patienten mit dem Cri-du-chat-Syndrom keine Symptome der CMD zeigen, obwohl der *ANKH*-Locus häufig zum Deletionsbereich gehört [Overhauser et al., 1994]. Weiterhin kann das „gain-of-function“-Modell die deutliche Differenz zwischen dem Phänotyp der *ank*-Maus, der durch eine schwere Arthritis und progrediente Immobilität der

Gelenke charakterisiert ist, und der CMD erklären, bei der arthritische Gelenkveränderungen nicht zur Symptomatik gehören.

Die autosomal rezessive *Ank*-Mutation (Glu440stop) ist eine „loss-of-function“-Mutation, die eine Blockierung des  $PP_i$ -Transportes aus der Zelle mit der Folge einer intrazellulär erhöhten und extrazellulär stark erniedrigten  $PP_i$ -Konzentration bewirkt [Ho et al., 2000]. Auch eine andere Maus-Mutante, die *ttw*-Maus (*ttw*: *tiptoe walking*), hat ein stark erniedrigtes extrazelluläres  $PP_i$  und zeigt konsekutiv ektope Kalzifizierungen von Gelenken und Bändern [Okawa et al., 1998]. Zugrunde liegt bei ihr eine homozygote *nonsense*-Mutation (Gly568stop) im *ENPPI*-Gen, das für Ectonukleotid-Pyrophosphatase /Phosphodiesterase 1 codiert. Dieses Ektoenzym mit den synonymen Bezeichnungen PC-1 (*plasma cell membrane glycoprotein-1*) und NPPS (*nucleotide pyrophosphatase*) generiert  $PP_i$  aus Nukleotidtriphosphat (ATP). Die *ttw*-Maus gilt als Maus-Modell für eine beim Menschen vorkommende Myelopathie durch Verkalkung bzw. Verknöcherung des hinteren Längsbandes (OPLL: *ossification of the posterior longitudinal ligament*). Bei dieser multifaktoriell bedingten Erkrankung (MIM #602475) konnte eine Assoziation mit den Allelen IVS20-11delT ( $p = 0.0029$ ) [Nakamura et al., 1999] und IVS15-14C>T ( $p = 0.002$ ) [Koshizuka et al., 2002] des *NPPS*-Gens in 6q22-23 gezeigt werden.

Eine erhöhte extrazelluläre  $PP_i$ -Konzentration findet sich dagegen bei der Hypophosphatasie, einer Erkrankung, die durch eine verminderte Mineralisation des Skeletts (Osteomalazie) und der Zähne gekennzeichnet ist. Die adulte Form der Hypophosphatasie (MIM #146300) kann allerdings mit Chondrocalcinose und Arthropathie infolge von CPPD-Ablagerungen einhergehen [O'Duffy, 1970; Whyte et al., 1982; Wendling et al., 2001]. Der genetische Defekt betrifft das *TNAP*-Gen (*TNAP*: *tissue nonspecific alkaline phosphatase*), dessen Produkt, eine alkalische Phosphatase, als Ektoenzym normalerweise das extrazelluläre  $PP_i$  hydrolysiert [Mornet, 2000].

Entgegen unserer Hypothese eines Funktionszugewinns postulieren Reichenberger und Mitarbeiter [2001] auf der Basis der Befunde bei der Hypophosphatasie erniedrigte extrazelluläre  $PP_i$ -Spiegel für die CMD und einen dominant-negativen Effekt der *ANKH*-Mutationen. Derzeit ist nicht bekannt, ob die  $PP_i$ -Konzentrationen bei der CMD verändert sind. Die verschiedenen Wirkungen des  $PP_i$  auf den Knochen lassen einen weiten Spielraum für mögliche Hypothesen. Unsere Befunde führen uns zu dem Postulat, dass CMD-Patienten erhöhte extrazelluläre  $PP_i$ -Spiegel aufweisen sollten. Diese Hypothese soll überprüft werden.

Die bei der CMD neben erhöhter Mineralisierung (kraniofaziale Sklerose) bestehende Modellierungsstörung der Röhrenknochen (Erlenmeyerkolbenform) weist auf eine Funktion des ANK/ANKH hin [Nürnberg et al., 2001], die über die bisher bekannte Beteiligung an der Steuerung der Mineralisierung [Ho et al., 2000] hinausgeht.

### **Originalarbeit:**

*Nürnberg P, Thiele H, Chandler D, Höhne W, Cunningham ML, Ritter H, Leschik G, Uhlmann K, Mischung C, Harrop K, Goldblatt J, Borochowitz ZU, Kotzot D, Westermann F, Mundlos S, Braun HS, Laing N, **Tinschert S** (2001): Heterozygous mutations in ANK, the human orthologue of the mouse progressive ankylosis gene, result in craniometaphyseal dysplasia. Nat Genet 28:37-41*

### **2.1.6 Die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie und einige Formen der Chondrocalcinose sind allelisch**

Die familiäre, autosomal dominante Chondrocalcinose Typ 2 (CCAL2) (MIM #118600) beruht auf Ablagerungen von *Calcium Pyrophosphate Dihydrate* (CPPD) in den erkrankten Gelenken. Klinische Merkmale sind Episoden akuter Gelenkentzündungen, die von Schmerzen begleitet sind (Pseudogicht), in der dritten Lebensdekade auftreten und mit radiologisch sichtbaren Calciumablagerungen im Gelenkknorpel einhergehen. Im Unterschied zur Chondrocalcinose Typ 1 (CCAL1), die auf dem Chromosom 8q kartiert werden konnte [Baldwin et al., 1995] (MIM \*600668), fehlen bei der CCAL2 die Symptome einer Osteoarthritis und -arthrose.

In einigen Familien wurde das verantwortliche Gen für die CCAL2 in die chromosomale Region 5p15.2 – p15.1 kartiert [Hughes et al., 1995; Andrew et al., 1999], in der nach Ho und Mitarbeiter [2000] auch das *ANKH*-Gen lokalisiert ist. In Fibroblasten der *ank-Maus* wiesen Ho und Mitarbeiter [2000], ähnlich den Befunden bei der CCAL2 [Lust et al., 1981], gegenüber Wildtypzellen eine auf das Doppelte erhöhte intrazelluläre PPI-Konzentration nach. Aufgrund dieser Ergebnisse war *ANKH* als positionelles und funktionelles Kandidatengen für die CCAL2 interessant.

Andrew und Mitarbeiter [1999] grenzten das kritische Intervall für den CCAL2-Locus in einer argentinischen Familie auf 0,8 cM zwischen D5S416 und D5S2114 ein. Nach der Feinkartierung des Genortes für die CMDD [Chandler et al., 2001] stellten sich beide chromosomalen Kartierungsregionen als etwa 2 cM voneinander getrennte Bereiche dar. Das von den Markern D5S1987 und D5S1991 begrenzte Feinkartierungsintervall für den CMDD-Locus befand sich allerdings noch vollständig in der ursprünglichen, von den

Markern D5S810 und D5S416 begrenzten Kartierungsregion für den CCAL2-Locus in einer britischen Familie [Hughes et al., 1995]. In einer französischen CCAL2-Familie [Andrew et al., 1999] hatte eine fehlinterpretierte obligate Rekombination zunächst zum Ausschluss des *ANKH*-Gens aus dem Kartierungsbereich der CCAL2 geführt. Wir überprüften die Allelkonstellationen in der Publikation von Andrew und Mitarbeitern [1999] und stellten fest, dass der Marker D5S1991 beim Rekombinationsträger VII:19 nicht informativ ist. Diese Interpretation definiert ein erweitertes CCAL2-Intervall, innerhalb dessen der *ANKH*-Locus liegt.

In Übereinstimmung mit den Kartierungsergebnissen in den untersuchten Familien wurden in der französischen und britischen Familie heterozygote Mutationen im *ANKH*-Gen nachgewiesen, die eine komplette Kosegregation mit dem CCAL2-Phänotyp zeigten [Pendleton et al., 2002]. Es handelt sich dabei um zwei unterschiedliche *missense*-Mutationen. In der französischen Familie hat die Mutation 143T>C den Aminosäureaustausch Met48Thyr im Exon 2 zur Folge. Das ist eine hochkonservierte Transmembran-Domäne [Nürnberg et al., 2001]. In der britischen Familie generiert die Mutation -11C>T ein neues ATG-Startcodon in der 5'UTR (UTR: *untranslated region*), wodurch vier zusätzliche Aminosäuren an den hochkonservierten N-Terminus von *ANKH* angefügt werden. Darüber hinaus wiesen Pendleton und Mitarbeiter [2002] bei einem von 95 sporadischen Patienten mit CCAL2 eine 3-bp-Deletion im Exon 12 nach, die zum Verlust von Glutaminsäure in Position 490 führt, drei Aminosäuren vom C-Terminus entfernt. Die funktionelle Relevanz dieser Mutationen hinsichtlich einer erhöhten *ANKH*-Aktivität [Pendleton et al., 2002] ist bis heute nicht bestätigt. Die funktionelle Bedeutung einer in der argentinischen Familie nachgewiesenen Sequenzvariante (14C>T; Pro5Leu) [Williams et al., 2002], die nicht vollständig mit dem Phänotyp kosegregiert, bleibt unklar.

Derzeit führen wir in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Robert A. Terkeltaub, Leiter des Department Rheumatology, Veterans Affairs Medical Center and School of Medicine, University of California, San Diego, funktionelle Testungen von *ANKH*-Mutationen in zellulären Systemen durch, um Klarheit über die funktionelle Relevanz der von uns und den anderen Arbeitsgruppen ermittelten Sequenzabweichungen im *ANKH*-Gen zu erlangen.

### **Originalarbeiten:**

*Nürnberg et al., 1997 und Chandler et al., 2001*

## **2.2 Die Metaphysäre Dysplasie Typ Braun-Tinschert (MIM \*605946)**

Es wird die Abgrenzung einer bisher nicht als eigenständiges Krankheitsbild bekannten neuen Form der Metaphysären Dysplasie beschrieben. Diese ist charakterisiert durch eine Modellierungsstörung der langen Röhrenknochen mit „erlenmeyerkolbenförmigen“ Metaphysen der distalen Femora und einer Varusdeformität der Radii sowie durch flache Exostosen im Metaphysenbereich. Die Veränderungen betreffen vor allem die Spongiosa der langen Röhrenknochen und sind damit Ausdruck einer gestörten endochondralen Ossifikation. Der Schädel ist nicht betroffen.

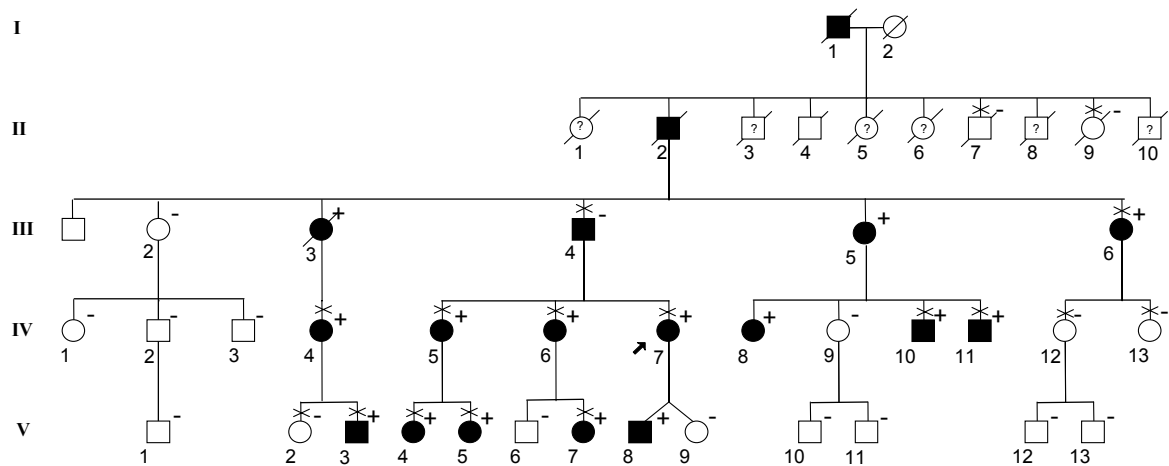
### **2.2.1 Eine neue autosomal dominante Form der Metaphysären Dysplasie in einer großen Familie**

Bei der Metaphysären Dysplasie Typ Pyle (MIM \*265900) handelt es sich um eine Modellierungsstörung der langen Röhrenknochen mit einer „Erlenmeyerkolbenform“ der Metaphysen der distalen Femora. Klinisches Hauptsymptom sind die Genua valga. Von dieser Skelettdysplasie, die Pyle 1931 beschrieben hatte, grenzten Jackson und Mitarbeiter [1954] die Craniometaphysäre Dysplasie wegen darüber hinaus bestehender Hyperostosen und Sklerosen im Schädelbereich ab. Dennoch wurden diese beiden Skelettdysplasien in der Literatur häufig nicht voneinander getrennt aufgeführt und unter „Pyle disease“ zusammengefasst. Gorlin et al. [1969] analysierten die genetischen, klinischen und radiologischen Differenzen.

„Erlenmeyerkolbenförmige“ metaphysäre Verbreiterungen finden sich auch in der Gruppe der Osteopetrosen, insbesondere bei der schweren autosomal rezessiven Form (MIM #259710) [Beighton und Hamersma, 1980; Van Hul et al., 2000], und bei der Gaucher-Erkrankung [Jackson et al., 1954]. Beide Erkrankungen sind aber aufgrund weiterer charakteristischer klinischer Symptome differentialdiagnostisch leicht zu unterscheiden.

Ausgehend von einem weiblichen Indexfall mit äußerlich sichtbaren und radiologisch ungewöhnlichen Verformungen beider Unterarme sowie „erlenmeyerkolbenförmigen“ distalen Femora konnte ein umfangreicher Stammbaum erstellt werden. Dieser umfasste 147 Personen in acht Generationen. 95 Personen stammten von zwei gemeinsamen Vorfahren ab, die am Ende des 18. Jahrhunderts in Nordböhmen lebten. Bei 35 Familienmitgliedern war eine Bewertung hinsichtlich des Phänotyps möglich. Dieser Teil des Stammbaums ist in Abbildung 4 (*Seite 19*) dargestellt. Die Skelettdysplasie ließ sich

bis zu einem im Jahr 1790 geborenen Vorfahren (I:1 in Abb. 4) sicher zurück verfolgen. Sie wurde bei 18 lebenden Personen diagnostiziert.



**Abb. 4: Stammbaum der deutschen Familie mit MD**

■ ● = betroffen, □ ○ = nicht betroffen, ? = keine Information,  
⊗ = radiologisch untersucht, + = betroffen (klinisch), - = nicht betroffen (klinisch)

Bis auf eine spezifische Formabweichung der distalen Radii entspricht die Modellierungsstörung der langen Röhrenknochen dem Bild der Craniometaphysären Dysplasie bzw. dem der Metaphysären Dysplasie Type Pyle. Das betrifft 1) die distale Femurmetaphysenform, die der beider Skelettdysplasien entspricht und 2) die S-förmigen Verbiegungen von Humeri und Unterschenkelknochen mit metaphysärer Aufweitung und Kortextverdünnung, die ebenfalls bei der Metaphysären Dysplasie Pyle vorliegen [Raad und Beighton, 1978].

Ungewöhnlich - und nicht mit der Metaphysären Dysplasie Typ Pyle zu vereinbaren - sind eine starke Verbiegung und kolbige Auftreibung des distalen Drittels des Radius und eine Minusvariante der Ulna. Die Biegung des Radius ist sowohl nach radial (varusartig) als auch volar gerichtet. Auf dem Röntgenbild, insbesondere auf anterior-posterioren Aufnahmen, erscheint der Radius sichelförmig. Im Bereich der Auftreibung des Radius ist die Spongiosa unregelmäßig und zum Teil honigwabenartig strukturiert.

Bei der Familienuntersuchung stellte sich heraus, dass die Verformung der Unterarme ausschließlich in Kombination mit der Erlenmeyerkolbenform der Femora auftrat. Auf den Röntgenaufnahmen einiger Merkmalsträger waren flache Exostosen im Metaphysenbereich der distalen Unterarmknochen und der Femora zu sehen. Diese erschienen besonders

augenfällig im Kindesalter und waren zum Teil auf späteren Röntgenaufnahmen nicht mehr zu erkennen. Bei keiner der betroffenen Personen fanden sich in Abgrenzung zur Craniometaphysären Dysplasie Hyperostosen oder Sklerosen im Schädelbereich.

Fried und Krause [1972] haben vergleichbare Befunde bei Patienten aus Nordböhmen gefunden und unter der Diagnose „Morbus Pyle“ publiziert. Es handelte sich um zwei Familien mit insgesamt fünf Merkmalsträgern, die jeweils zwei aufeinanderfolgenden Generationen angehörten, und um einen sporadischen Fall [Fried und Krause, 1972].

Das familiäre Auftreten in aufeinanderfolgenden Generationen unterscheidet diese Form der Metaphysären Dysplasie genetisch von der autosomal rezessiven Metaphysären Dysplasie Typ Pyle. Die Annahme einer dominant autosomalen versus X-chromosomalen Grundlage stützt sich auf Berichte über eine Vater-Sohn-Vererbung. Aussagen von Angehörigen der hier beschriebenen Familie zufolge waren die Personen I:1 und II:2 (*Abb. 4, Seite 19*) sicher betroffen. Auch in einer der von Fried und Krause [1972] publizierten Familien waren Vater und Sohn Merkmalsträger.

### **2.2.2 Der Genort der Metaphysären Dysplasie Typ Braun-Tinschert ist nicht identisch mit dem Genort der Craniometaphysären Dysplasie**

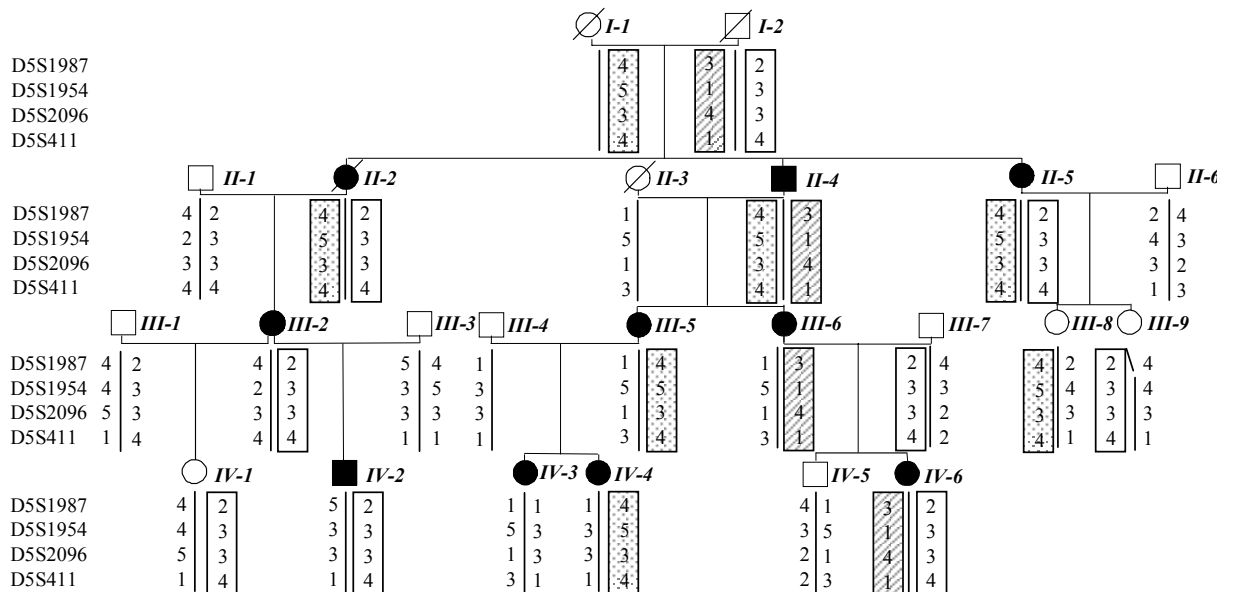
Um zu prüfen, ob es sich bei der dominanten Form der Metaphysären Dysplasie Typ Braun-Tinschert um eine allelische Variante der Craniometaphysären Dysplasie handelt, wurde eine Kopplungsanalyse durchgeführt. Es wurden acht Mikrosatellitenmarker aus dem Kartierungsintervall der Craniometaphysären Dysplasie [Nürnberg et al., 1997] in der betroffenen Familie genotypisiert und die Markergenotypen auf Kosegregation mit dem Phänotyp geprüft [Braun et al., 2001]. Durch Multipoint-Lod-Score-Analyse konnte unter Verwendung vier informativer Marker eine Kopplung mit der Kandidatenregion sicher ausgeschlossen werden ( $Z_{\max} = -2,5$ ) (*siehe Braun et al., 2001*).

Das Ergebnis der Haplotypkonstruktion aus den Genotypen der vier informativsten Marker (D5S1987, D5S1954, D5S2096, D5S411) ist in Abbildung 5 (*Seite 21*) vorgestellt. Es findet sich keine Kosegregation zwischen dem Phänotyp und einem bestimmten urgroßelterlichen Haplotyp. In Generation III, in der alle Merkmalsträger unterschiedliche urgroßelterliche Haplotypen aufweisen, sind die Widersprüche offensichtlich. Darüber hinaus findet sich der urgroßmütterliche Haplotyp 4-5-3-4 bei einer nicht betroffenen Person (III:8), obwohl dieser Haplotyp bei allen Merkmalsträgern der Generation II vorlag. In der Generation IV haben die phänotypisch diskordanten Personen IV:1 und IV:2 einen



identischen urgroßväterlichen Haplotyp, wogegen die Personen IV:3 und IV:4 bei gleichem Phänotyp keinen urgroßelterlichen Haplotyp gemeinsam haben.

Eine genomweite Kopplungsanalyse zur Kartierung des Gens für diese Form der metaphysären Dysplasie ist in Arbeit.



**Abb 5: Haplotypen der Familie mit MD** für Marker im Bereich des Kartierungsintervalls der CMD auf Chromosom 5p zeigen Kopplungsausschluss. Die Haplotypen der verstorbenen Personen sowie der Personen III-1 und III-4 mussten aus den Haplotypen der Kinder abgeleitet werden. Die dargestellte Zuordnung der Haplotypen in der urgroßelterlichen Generation ist eine von zwei gleich wahrscheinlichen Möglichkeiten, d.h., der Haplotyp 4-5-3-4 kann ebenso gut dem Urgroßvater und die beiden anderen können der Urgroßmutter zugeordnet werden (*Haplotypenberechnung mit Software SimWalk2 und Darstellung mit PedDraw 5.0B5*).

**Originalarbeit:**

Braun HS, Nürnberg P, Tinschert S (2001): *Metaphyseal dysplasia - a new autosomal dominant type in a large German kindred. Am J Med Genet 101:74-77*

### **2.3 Das Caffey-Syndrom (MIM \*114000)**

Das klassische Caffey-Syndrom (Synonym: Infantile kortikale Hyperostose) manifestiert sich mono- oder polyostotisch meist innerhalb der ersten sechs Lebensmonate [Caffey und Silverman, 1945]. Umschriebene Entzündungen, die das Periosteum infiltrieren und zu einer Resorption der angrenzenden Kompakta führen [Beluffi et al., 1984; Borochowitz et al., 1991; Lécolier et al., 1992], verursachen schmerzhafte Weichteilschwellungen über den betroffenen Knochen. So akut wie die Beschwerden auftreten, bilden sie sich innerhalb von Wochen oder Monaten ohne Residuen auch wieder zurück. Die periostale Knochenneubildung ist Ausdruck einer gestörten intramembranösen Ossifikation [Greenspan, 1991]. Aufgrund der elektronenmikroskopisch nachgewiesenen subperiostalen Hydroxylapatit-Ablagerungen zwischen einzelnen Kollagenfibrillen [Beluffi et al., 1984] lässt sich möglicherweise eine Verbindung zu den entzündlichen Knochen- und Gelenkerkrankungen herstellen, die durch Calciumkristallablagerungen induziert werden [Halverson und Derfus, 2001].

#### **2.3.1 Autosomal dominante klassische und autosomal rezessive schwere Verlaufsformen des Caffey-Syndroms**

Die Symptomatik und der Verlauf des Caffey-Syndroms sind für eine genetisch bedingte Erkrankung ungewöhnlich. Für die klassische Form des Caffey-Syndroms ist ein autosomal dominanter Erbgang mit variabler Expressivität und unvollständiger Penetranz allerdings mehrfach belegt [Gerrard et al., 1961; Newberg und Tampas, 1981; MacLachlan et al., 1984]. Für eine antenatale schwere Form der Infantilen kortikalen Hyperostose wird hingegen ein autosomal rezessiver Erbgang diskutiert [Turnpenny et al., 1993; de Jong und Muller, 1995; Drinkwater et al., 1997].

#### **2.3.2 Schwere und milde Verlaufsformen des Antenatalen Caffey-Syndroms**

Eine eigene Beobachtung einer sehr schweren Ausprägung des Caffey-Syndroms bei einem Fetus der 27. Schwangerschaftswoche (SSW) (*siehe Schweiger et al., 2003*) war Anlass einer Literaturrecherche.

Der Phänotyp der Knochenveränderungen des Antenatalen Caffey-Syndroms ist vom klassischen Caffey-Syndrom lediglich im Schweregrad der Ausprägungen zu unterscheiden. Die Prädilektionsorte der Knochenveränderungen sind die gleichen [Schweiger et al., 2003]. Auch bei der antenatalen Form bilden sich die z. T. erheblichen Knochenveränderungen vollständig zurück [Al-Tawil et al., 1998].

Im Unterschied zu der in der Literatur vertretenen Auffassung, dass der klinische Verlauf der antenatalen Form der Infantilen kortikalen Hyperostose immer schwerwiegend ist [Drinkwater et al., 1997; Dahlstrom et al., 2001], lassen sich bei kritischer Analyse von 44 einschlägigen Fallberichten zwei Phänotypen unterscheiden.

1. Schwere antenatale Verlaufsform: Dieser Gruppe waren 26 Patienten zuzuordnen (26/44; 59 %). Sie zeigten Skelettauffälligkeiten vor der 35. Schwangerschaftswoche (SSW), ein Polyhydramnion (22/26 Patienten, 85 %), einen Hydrops fetalis (9/26; 35 %), eine Frühgeburtlichkeit (25/26, 96 %; < 37 SSW), eine Hepatosplenomegalie (8/26; 31 %) und eine respiratorische Insuffizienz. Die respiratorische Insuffizienz, die zu einer hohen perinatalen Letalität (17/26; 65 %) führte, lässt sich mit der Lungenunreife Frühgeborener einerseits und einer nicht selten beobachteten Lungenhypoplasie (7 von 17 Todesfällen; 41 %) andererseits schlüssig erklären. Dagegen bleiben die Ursachen der Lungenhypoplasie selbst, des Hydrops, des Polyhydramnions und der Hepatosplenomegalie unklar. Möglicherweise findet das letztgenannte Symptom eine Erklärung in einer mangelhaften Hämatopoese aufgrund der antenatalen Knochenveränderungen. Ein solch kompensatorischer Zusammenhang konnte anhand anderer Skeletterkrankungen aufgezeigt werden [Horn et al., 2000]. Bei der Entstehung eines Polyhydramnion spielt möglicherweise eine fetale Akinesie mit Einschränkung der Schluckbewegungen [Dornan et al., 1984; Hall, 1986] als Folge der Schmerzhaftigkeit der Knochenprozesse eine Rolle.

Die pränatale Diagnostik mit bildgebenden Verfahren ist schwierig und problematisch. Intrauterin lassen sich im Ultrasonogramm die Knochenveränderungen des Caffey-Syndroms kaum von denen der „letalen Osteogenesis“ abgrenzen [Bercau et al., 1991; Schweiger et al., 2003] was zu einem Schwangerschaftsabbruch aufgrund der Fehldiagnose „letale Osteogenesis“ führen kann. Eine korrekte pränatale Diagnose hat auch potentiell therapeutisch-klinische Konsequenzen. So ließe sich möglicherweise durch eine kontrollierte Drainage der Amnionflüssigkeit der Krankheitsverlauf der schweren Verlaufsform günstig beeinflussen.

2. Milde antenatale Verlaufsform: Dieser Gruppe waren 18 Patienten zuzuordnen (18/44; 41 %). Sie wiesen erst jenseits der 35. SSW Skelettveränderungen auf und zeigten keine der oben angeführten zusätzlichen Symptome.

Männliche (m) und weibliche (w) Patienten waren sowohl in der Gruppe mit schwerer (m: 10; w: 10), als auch mit milder Verlaufsform (m: 9; w: 9) mit gleicher Häufigkeit vertreten.

### 2.3.3 Vererbungsmodus des Antenatalen Caffey-Syndroms

Zur Beurteilung des Vererbungsmodus des Antenatalen Caffey-Syndroms konnten Daten von 28 Patienten, bei denen Angaben zur Familiengeschichte vorliegen, herangezogen werden (*siehe Tab. 2*). Eine autosomal dominante Vererbung findet sich etwas häufiger in der Gruppe mit milder Manifestation. Demgegenüber wird in der Gruppe mit schwerer Verlaufsform häufiger über betroffene Geschwister, die Kinder gesunder Eltern sind, berichtet, weshalb auch ein autosomal rezessiver Erbgang möglich erscheint. Gegen die These einer autosomal rezessiven Vererbung sprechen zwei Beobachtungen. Zum einen wurde in großen Familien mit autosomal dominantem Vererbungsmodus eine Nichtpenetranz des Caffey-Syndroms gezeigt [Fried et al., 1981; Newberg und Tampas, 1981]. Zum anderen ist eine Konsanguinitätsrate von 3,6 % (1 von 28 Patienten) für einen autosomal rezessiven Erbmodus überraschend gering. Neben der gezeigten Nichtpenetranz sind auch Keimzellmosaik denkbar.

Insgesamt lässt die Datenlage keine gültige Aussage über den Erbmodus des Antenatalen Caffey-Syndroms zu.

**Tab. 2: Auftreten des Antenatalen Caffey-Syndroms in 28 Familien**

<b>Familiäres Auftreten</b>	<b>schwere Form</b>	<b>milde Form</b>	<b>Summe</b>
dominant	2	4	6
sporadisch	13*	3	16
in Geschwisterschaften** bei gesunden, nicht konsanguinen Eltern	4	2	6
<b>Summe</b>	19	9	28

\* incl. ein Kind konsanguiner Eltern [Turnpenny et al., 1993]

\*\* mit männlichen und weiblichen Betroffenen in drei Fällen [Barba und Frericks, 1953; Clemett und Williams, 1963; de Jong und Muller, 1995]

#### **Originalarbeit:**

*Schweiger S, Chaoui R, Lehmann K, Mundlos S, Tennsted C, Tinschert S (2003): Antenatal onset of infantile cortical hyperostosis: report on a fetus with the severe form and review. Am J Med Genet 120A:547-552*

## 2.4 Das McCune-Albright-Syndrom (MIM #174800)

Das McCune-Albright-Syndrom [McCune und Bruch, 1937; Albright et al., 1937] ist gekennzeichnet durch die Trias: 1) autonome endokrine Überfunktionen, 2) mono- oder polyostotische fibröse Dysplasie, 3) Pigmentflecken der Haut, die den Blaschko-Linien folgen [Happle, 1986]. Die Symptomatik ist sehr variabel und inkomplette Formen existieren. Es handelt sich um eine genetisch bedingte, ausschließlich sporadisch vorkommende Erkrankung. Über 150 Fallberichte sind publiziert [Ringel et al., 1996].

Ursächlich sind postzygotische Mutationen im *GNAS1*-Gen (*GNAS1*: *guanine nucleotide-binding protein, alpha-stimulating activity polypeptide 1*), das die alpha-Untereinheit des heterotrimeren stimulatorischen G-Proteins ( $G_s\alpha$ ) für die Adenylatcyclase kodiert [Weinstein et al., 1991; Schwindinger et al., 1992]. Es handelt sich um spezifische *missense*-Mutationen, die eine Substitution von Arginin in Position 201 der  $G_s\alpha$ -Untereinheit bewirken (Arg201His und Arg201Cys). Dadurch wird der GTPase-gesteuerte (GTPase: *guanosine-5'-triphosphatase*) Deaktivierungsmechanismus von  $G_s\alpha$  gehemmt, konsekutiv die Adenylatcyclase ligandenunabhängig aktiviert und cAMP (*cyclic adenosine monophosphate*) gebildet.

Die verwirrend vielfältigen Symptome des McCune-Albright-Syndroms leiten sich ab aus einem erhöhten intrazellulären cAMP in funktionell sehr verschiedenen Zellen des endokrinen Systems [Weinstein et al., 1991], in Melanozyten der Haut [Kim et al., 1999] sowie in osteoblastären Vorläuferzellen [Yamamoto et al., 1996]. Die Erkrankung kann mit einer Hyperthyreose, einer Überproduktion von Wachstumshormon, Prolaktin, Sexualsteroiden sowie Cortisol einhergehen [Cavanah und Dons, 1993; Ringel et al., 1999]. Diese Überfunktionszustände beeinflussen allesamt den Knochenstoffwechsel mit unterschiedlichen Folgen für das Längenwachstum. Als Albright und Mitarbeiter 1932 das Syndrom definierten, war die Pubertas praecox als einzige assoziierte Endokrinopathie bekannt. Deshalb galt ein Kleinwuchs lange Zeit als das wesentliche Merkmal des Syndroms.

### 2.4.1 Die fibröse Knochendysplasie des McCuneAlbright-Syndroms

Noch weitgehend unklar ist der Pathomechanismus der Knochenläsionen, die zu Deformierungen, Schmerzen, Frakturen und Hirnnervenkompressionen führen können. Die dysplastischen Herde ersetzen die Spongiosa und zerstören die Kompakta von der endostalen Oberfläche her. Hierbei wird den Osteoklasten eine Rolle zugeschrieben [Riminucci et al., 1997]. Auf dieser Erkenntnis beruht die therapeutische Verabreichung

osteoklasteninhibierender Bisphosphonate [Pfeilschifter und Ziegler, 1989; Weinstein, 1997; Lane et al., 2001; Orsel und Beaudreuil, 2002]. Die fibrösen Läsionen selbst sind auf eine Proliferation osteoblastärer Vorläuferzellen, die eine unreife Knochenmatrix bilden, zurückzuführen [Marie et al., 1997; Riminucci et al., 1997]. Im Bereich des Schädels können abweichend von der Manifestation am Extremitäten- und Rumpfskelett eine Hyperostose und Sklerose das Bild prägen [Fries, 1957].

Ein möglicher Signalweg führt zum CREB-Protein (CREB: *cAMP responsive element binding protein*), einer „downstream“-Komponente des cAMP-Signaltransduktionsweges. Als Transkriptionsfaktor von Genen mit dem Enhancer CRE reguliert es *c-fos* (*cellular Finkel-Biskis-Jenkins osteogenic sarcoma*), das in Zellen fibröser Herde überexprimiert ist [Candelieri, 1995]. Das fos-Protein kann als Komponente des heterodimeren Transkriptionsfaktors AP-1 (*activator protein 1*) durch Hemmung osteoblastenspezifischer Gene wie des Osteocalcins [Stein und Lian, 1993] der Osteoblastendifferenzierung entgegenwirken. Andererseits wirkt Fos über die Expression von IL-6 (*interleukin 6*) als Stimulator der Osteoklastogenese [Yamamoto et al., 1996]. Eine lokale Überproduktion von PTHrP (*PTH related protein*) in den fibrösen Herden [Fraser et al., 2000] weist auf eine pathogenetische Verbindung zu den „braunen Tumoren“ des primären Hyperparathyreoidismus hin. Die Ähnlichkeit dieser beiden Veränderungen hatten Albright und Mitarbeiter bereits 1937 hervorgehoben.

#### **2.4.2 Das McCune-Albright-Syndrom: klinische und molekulare Befunde bei einem ungewöhnlich großen Patienten**

Die Beobachtung, dass bei unterschiedlichen Krankheitsbildern identische Mutationen eines „Hauptgens“ vorliegen können, widerspricht den Vorstellungen der klassischen Genetik. Obwohl in den letzten Jahren zahlreiche Beispiele beobachtet wurden [Wolf, 1995; Wolf, 1997], sind die zugrunde liegenden Mechanismen selten bekannt. Beim McCune-Albright-Syndrom wurde mit der Aufdeckung des Mosaikcharakters der *GNAS1*-Mutationen die Variabilität der klinischen Symptomatik erklärbar.

Angeregt durch eine im Lancet geführte Diskussion um die Diagnose des „Riesen vom Tegernsee“ [Nerlich et al., 1991; Schwindinger et al., 1991; Wrong et al, 1992] habe ich mich mit dem Merkmal Großwuchs im Zusammenhang mit dem McCune-Albright-Syndrom näher beschäftigt [Tinschert et al., 1999]. Nerlich und Mitarbeiter [1991] hatten am Skelett des 1876 verstorbenen „Tegernsee-Riesen“ (Körperhöhe 235 cm) typische Zeichen der fibrösen Dysplasie nachgewiesen. Die Diagnose McCune-Albright-Syndrom hielten sie aufgrund des Großwuchses jedoch für unwahrscheinlich.

In der Originalarbeit [Tinschert et al., 1999] werden die Befunde eines Patienten mit fibröser Knochendysplasie und Großwuchs (Körperhöhe 213 cm) vorgestellt. Die klinische Diagnose McCune-Albright-Syndrom konnte durch den Nachweis der *missense*-Mutation Arg201His (CGT201CAT) bestätigt werden. Bei dem Patienten lagen eine STH-Überproduktion und eine Prolaktinämie vor. In einer Literaturrecherche bis August 1998 konnten acht weitere Berichte über Patienten mit McCune-Albright-Syndrom und Großwuchs im Erwachsenenalter gefunden werden [Tinschert et al., 1999]. Sechs dieser Patienten hatten neben einer STH-Überproduktion eine Hyperprolaktinämie. Ein Prolaktinexzess kann über die Wirkungskette Hypogonadismus und verzögerte epiphysäre Reifung indirekt zu einem anhaltenden Längenwachstum führen. Dagegen verursachen die Pubertas praecox, die Hyperthyreose und das Cushing-Syndrom einen vorzeitigen Epiphysenschluss. Damit lässt sich gut erklären, warum ein Hochwuchs ein seltenes Symptom beim McCune-Albright-Syndrom ist.

Die Erkenntnis, dass nicht alle Zellen fibröser Dysplasieherde die Arg201His-Mutation tragen, beruht auf Mutationsanalysen nach Zellkultivierung [Yamamoto, 1996; Bianco, 1998] und auf immunhistochemischen Untersuchungen [Riminucci, 1997]. Wir quantifizierten den Anteil mutationstragender Zellen im dysplastischen Nativgewebe und prüften, ob sich dieser nach Zellkultivierung anders darstellt (*siehe Tinschert et al., 1999*). Die Quantifizierung der Allele erfolgte per Slot-Blot-Oligonukleotidhybridisierung. Während in einer nativ belassenen Probe 10 % der Zellen die Mutation aufwiesen, erbrachten zwei Kulturansätze aus dieser Probe stark differierende Anteile von 0 und 84 %. Damit war zum einen gezeigt, dass aus Untersuchungen an Zellkulturen keine zuverlässigen Aussagen zum Anteil mutierter Zellen im dysplastischen Ausgangsmaterial möglich sind und zum zweiten, dass ein negativer Befund in Zellkulturen einen positiven Befund im Ausgangsmaterial nicht ausschließt. Unsere Untersuchungen an Nativgewebeproben belegen, dass selbst homogen dysplastisch erscheinendes Gewebe aus einem Zellmosaik bestehen kann, in dem die mutationstragenden Zellen unterrepräsentiert sind (nachgewiesener Anteil: 6 % bis 45 %). In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung von Bianco et al. [1998] erwähnenswert, dass Zellen mit einem mutierten Allel nur in Nachbarschaft gesunder Zellen überleben können.

### **Originalarbeit:**

*Tinschert S, Gerl H, Gewies A, Jung HP, Nürnberg P (1999): McCune-Albright syndrome: clinical and molecular evidence of mosaicism in an unusual giant patient. Am J Med Genet 83:100-108*

## 2.5 Die Melorheostose (MIM 155950)

Bei der Melorheostose handelt es sich um eine seltene, sporadisch auftretende Skelettdysplasie, die durch umschriebene Hyperostosen und Sklerosen gekennzeichnet ist. Es sind Orte der intramembranösen wie auch der endochondralen Ossifikation betroffen. Die intramembranöse Ossifikationsstörung überwiegt [Vanhoenacker et al., 2000]. Seit der ersten Beschreibung durch Léri und Joanny [1922] wurden über 250 Fallberichte publiziert [Freyschmidt, 2001]. Der Name “Melorheostose” (griech.: *melos* = Gliedmaße, *rhein* = fließen, *osteon* = Knochen) beschreibt das charakteristische radiologische Bild, die periostale kortikale Hyperostose, die “wie Kerzenwachs” am Kortex “herabfließt”. Häufig zeigt sich ein Muster feinstreifiger Sklerosebänder, eine Osteopathia striata [Freyschmidt, 2001]. Monoostotische und polyostotische Varianten kommen vor. Charakteristisch ist der einseitige Befall. Die Veränderungen sind hauptsächlich am Kortex der langen Röhrenknochen, dem Ort der intramembranösen Ossifikation lokalisiert, können sich aber bis auf die Epiphysen, den Zentren der sekundären endochondralen Ossifikation, und die kleinen Knochen von Händen und Füßen (endochondrale Ossifikation) ausdehnen. Manifestationen an der Wirbelsäule, den Rippen und am Becken (endochondrale Ossifikation) sind selten [Greenspan, 1999].

Die Hyperostosen der Extremitätenknochen treten durch Umfangszunahme, Verformungen sowie Längenveränderungen in Erscheinung. Durch Einbeziehung angrenzender Weichteilgewebe kann es bei einer Beteiligung von Gelenkstrukturen zu Bewegungseinschränkungen und Ankylosen kommen. Chronische Knochenschmerzen sind Ausdruck einer Periostreizung durch den hyperostotischen Prozess [Murray und McCredie, 1979; Greenspan, 1999; Freyschmidt, 2001].

### 2.5.1 Ätiologische Konzepte: postzygotische Mutation versus Sklerotom-Theorie

Die Ätiologie der Melorheostose ist unklar. Murray und McCredie [1979] hatten wegen einer scheinbaren Deckungsgleichheit der Veränderungen mit Sklerotomen (griech.: *Sklerotom* = einem Spinalnerven zugeordnete, sensible Innervationszone des Knochens) eine segmentale Läsion afferenter Spinalnervenfasern postuliert. Dieser wenig überzeugenden Sklerotom-Theorie wurde von Fryns [1995] und Freyschmidt [2001] das ätiologische Konzept einer postzygotischen Mutation mit somatischem Mosaizismus entgegengesetzt. Mit einer postzygotischen Mutation eines autosomalen Gens lassen sich die umschriebenen und niemals generalisierten Befunde mit ihrer besonderen



Musterbildung, das ausschließlich sporadische Vorkommen sowie das ausgewogene Geschlechterverhältnis erklären. Eine verminderte Expression mehrerer Gene, die für Zelladhäsionsproteine kodieren, wurde in Fibroblastenzellkulturen betroffener Hautareale von Patienten mit Melorheostose nachgewiesen. Dies zeigte sich vor allem für das durch *TGF- $\beta$*  (transforming growth factor  $\beta$ ) induzierbare Gen *TGFI* (*transforming growth factor, beta-induced*) [Kim et al., 2000].

### **2.5.2 Eigene Beobachtung: Melorheostose mit einem ipsilateralen Naevus sebaceus (Didymosis melorheosebacea)**

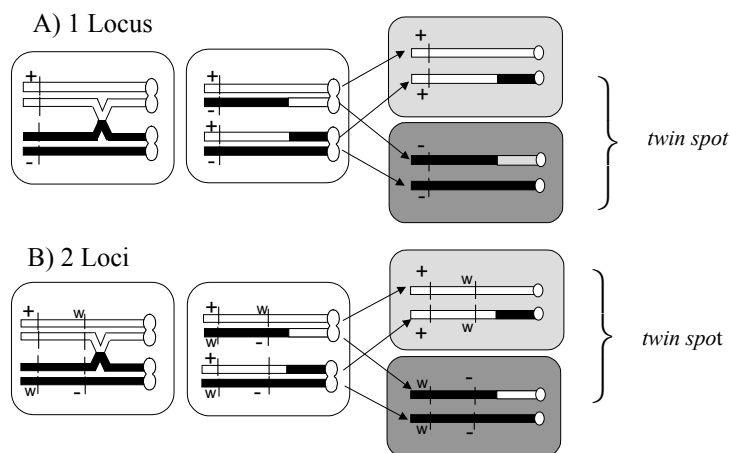
Es wird über die ungewöhnliche Kombination einer Melorheostose und einem ipsilateralen Naevus sebaceus bei einem Patienten berichtet [Tinschert et al., 2003]. Um das Nebeneinander dieser unterschiedlichen fleckförmigen Phänotypen zu erklären, wird das genetische Konzept der „twin spots“ (*Zwillingsflecken*) vorgeschlagen. Der Name „Didymosis melorheo(st)sebacea“ (griech.: *didymos* = Zwillings) beschreibt keine klinische Entität. Er benennt vielmehr das zugrunde liegende pathogenetische Konzept für die Koexistenz zweier klinischer Entitäten, die ihrerseits Mosaik darstellen. Der Terminus „Didymosis“ wurde von Happle und König [2001] im Zusammenhang mit der Beschreibung der Didymosis aplasticosebacea eingeführt. Andere „Didymosen“ sind die Phakomatosis pigmentovascularis [Happle und Steijlen, 1989], die Vaskulären Zwillingsflecken [Happle et al., 1990], die Phakomatosis pigmentokeratotica [Happle et al., 1996], die Cutis tricolor [Happle und Kennerknecht, 1997] und das Hyperplasie-/Hypoplasie-Phänomen beim Proteus-Syndrom [Happle et al., 1995].

Das Phänomen der „twin spots“ war von Patterson [1929] bei Studien an *Drosophila melanogaster* entdeckt worden. Stern [1936] schloss aus Untersuchungen an *Drosophila melanogaster*, dass „twin spots“ zwei unterscheidbare Phänotypen darstellen, deren Zellen jeweils für verschiedene Mutationen homozygot sind. Sie entstehen durch ein mitotisches Crossing-over auf der Basis einer konstitutionellen Doppelheterozygotie. Obwohl der genetische Beweis für „twin spots“ beim Menschen aussteht, ist das Konzept geeignet, das Nebeneinander verschiedener umschriebener Phänotypen mit Mosaikcharakter schlüssig zu erklären.

Durch die Befunde des in der Originalarbeit [Tinschert et al., 2003] beschriebenen Patienten wird die Theorie einer postzygotischen Mutation als Ursache der Melorheostose unterstützt. Da die Lokalisation der Melorheostose ipsilateral zum Naevus sebaceus ist, kann ein pathogenetischer Zusammenhang zwischen beiden Phänotypen vermutet werden.

Die Mosaiknatur des Naevus sebaceus ist durch das Muster auf der Haut, das den Blaschko-Linien folgt, belegt (Happle, 1995). Das Konzept der „twin spots“ gestattet die pathogenetische Verbindung von Melorheostose und Naevus sebaceus und impliziert gleichzeitig, dass es sich bei beiden Phänotypen jeweils um eine Mosaikkomponente handelt. Das den „twin spots“ zugrunde liegende Modell des mitotischen Crossing-over und seine genetischen Konsequenzen sind für konstitutionelle Compound-Heterozygotie sowie für Doppelheterozygotie in Abb. 6 dargestellt.

Gegen die Sklerotom-Theorie spricht darüber hinaus die Ausdehnung der hyperostotischen und sklerotischen Knochenveränderungen des in der Originalarbeit beschriebenen Patienten (*siehe Tinschert et al., 2003*). Die Lokalisationen entsprechen den Sklerotomen C5 bis C8, Th1 sowie Th5 bis Th8 und umspannen das Innervationsgebiet von neun Spinalnerven. Das scheint unvereinbar mit dem Gedanken der Sklerotom-Theorie, die auf einer Affektion einzelner sensibler spinaler Nerven basiert. Auch bei den von Murray und McCredie [1979] untersuchten Patienten waren nur bei 19 der 30 Patienten einzelne Sklerotome betroffen. Bei 11 Patienten dehnten sich die Veränderungen über mehrere, bis zu sechs Sklerotome aus, die z. T. nicht benachbart waren.



**Abb 6: Mitotisches Crossing-over und seine genetischen Konsequenzen**

Zwei Allele mit unterschiedlicher phänotypischer Wirkung (+/-) eines Genlocus (Compound-Heterozygotie) (A) wie auch gekoppelter (syntäner) Loci (Doppelheterozygotie) (B) können das Auftreten verschiedenartiger Homozygotie infolge mitotischer Rekombination bewirken.

### Originalarbeit:

*Tinschert S, Stein A, Göldner B, Dietel M, Happle R (2003): Melorheostosis with ipsilateral nevus sebaceus (didymosis melorheosebacea). Europ J Dermatol 13:21-24*

### 3 SCHLUSSBEMERKUNGEN UND AUSBLICK

Genetisch bedingte Skeletterkrankungen bilden eine klinisch und genetisch heterogene Krankheitsgruppe mit mehr als 200 nosologischen Entitäten [Superti-Furga, 2001]. Die aktuelle Version der „International Nosology and Classification of Constitutional Disorders of Bone (2001)“ [Hall, 2002] enthält etwa 50 Entitäten, bei denen der Knochenumbau, das dynamische Gleichgewicht zwischen Knochenbildung und -abbau, gestört ist. In etwas mehr als 2/3 der Fälle überwiegt die Ossifikation. Diese Erkrankungen mit den morphologischen Kennzeichen Modellierungsstörung, Hyperostose und Sklerose werden überwiegend als Sklerosierende Skeletterkrankungen erfasst und nach Störungen der endochondralen und der intramembranösen Ossifikation unterschieden [Greenspan, 1991; Vanhoenacker et al., 2000]. Die Art der Ossifikationsstörung ergibt sich dabei aus der Lokalisation der radiologisch sichtbaren Veränderungen. Eine diesen Prinzipien entsprechende Klassifizierung der in vorliegender Arbeit untersuchten Skeletterkrankungen ist in *Tabelle 4* zusammengefasst.

**Tab. 4:** Klassifizierung der untersuchten Skelettdysplasien nach der Art der zugrunde liegenden Ossifikationsstörung(en) mit Angabe der Hauptmanifestationsorte

Skeletterkrankung	Ossifikationsstörung	
	intramembranös	endochondral
<b>Craniometaphysäre Dysplasie</b>	Schädelkalotte, meta-diaphysäre Übergänge	Schädelbasis, Metaphysen
<b>Metaphysäre Dysplasie Typ Braun-Tinschert</b>		Metaphysen
<b>Caffey-Syndrom</b>	Kortex	
<b>McCune-Albright-Syndrom</b>	Schädelkalotte	Schädelbasis
<b>Melorheostose</b>	Kortex	Epiphysen

Im Gegensatz zu früheren Arbeiten [Beighton und Hamersma, 1980] wird das Caffey-Syndrom in neueren Zusammenstellungen der Sklerosierenden Skelettdysplasien nicht mehr aufgeführt [Greenberg et al., 1991; Vanhoenacker et al., 2000]. Das durch periostale kortikale Hyperostosen charakterisierte Caffey-Syndrom gehört jedoch ebenso zum Formenkreis der Sklerosierenden Skelettdysplasien wie das McCune-Albright-Syndrom, bei dem Hyperostosen und Sklerosen des Schädels beträchtliche Ausmaße einnehmen können [Fries, 1957; Uehlinger, 1979; Tinschert et al., 1999]. In gleicher Weise ist die Metaphysäre Dysplasie Typ Braun-Tinschert, die durch Modellierungsstörungen analog zur Craniometaphysären Dysplasie und Metaphysären Dysplasie Pyle gekennzeichnet ist

[Braun et al., 2001], nach unserer Auffassung der Gruppe der Sklerosierenden Skelettdysplasien zuzuordnen.

Einige Erkrankungen mit den Merkmalen Modellierungsstörung, Hyperostose und Sklerose gehen mit starken Beeinträchtigungen oder, wie die „neonatalen schweren osteosklerotischen Dysplasien“, mit einer hohen Letalität einher. Andere führen demgegenüber zu keinen oder nur geringen gesundheitlichen Problemen, und die Diagnose ist häufig ein Zufallsbefund. Jede einzelne der Erkrankungen kommt generell selten vor. Aus den genannten Gründen sind Diagnosestellung, Patientenrekrutierung und Kopplungsuntersuchungen zur Positionsklonierung erschwert.

Während bis einschließlich 1995 die verantwortlichen Gene lediglich dreier Erkrankungen, der autosomal rezessiven Osteopetrose mit tubulärer Azidose und zerebralen Verkalkungen [Sly et al, 1985], des McCune-Albright-Syndroms [Weinstein et al., 1991; Schwindinger et al., 1992] und der Pyknodysostose [Polymeropoulos, 1995] identifiziert waren, konnten in den letzten Jahren die molekularen Grundlagen einer beträchtlichen Zahl von Krankheiten aus dem Formenkreis Sklerosierender Skelettdysplasien aufgeklärt werden [*Übersicht bei:* Janssens und Van Hul, 2002]. Die darüber hinaus gewonnenen Erkenntnisse zur Funktionsweise der Genveränderungen dieser seltenen monogenen Erkrankungen haben wesentlich zum Verständnis des Knochenstoffwechsels beigetragen [*Übersichten bei:* Van Hul, 2001; Janssens und Van Hul, 2002].

Es gelang uns, ausgehend von einer klinischen Charakterisierung und umfassenden Stammbaumerhebung, für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie (*siehe Abschnitt 2.1*) die chromosomale Region des verantwortlichen Gens zu bestimmen und schließlich Mutationen im *ANKH*-Gen als ursächlich zu identifizieren [Nürnberg et al., 1997; Tinschert et al., 1998; Chandler et al., 2001; Nürnberg et al., 2001]. In welcher Weise die Mutationen im *ANKH*-Gen bei der Craniometaphysären Dysplasie den Knochenstoffwechsel mit dem Ergebnis der Hyperostose und Modellierungsstörung beeinflussen, ist noch unklar und wird kontrovers diskutiert [Nürnberg et al., 2001, Reichenberger et al., 2001]. Gegenwärtig führen wir in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Robert A. Terkeltaub, University of California, San Diego, funktionelle Testungen von *ANKH*-Mutationen in zellulären Systemen durch, um deren vermutete Auswirkung auf den Transmembrantransport von anorganischem Pyrophosphat (PP<sub>i</sub>) zu klären. Nachdem gezeigt werden konnte, dass Mutationen im *ANKH*-Gen ursächlich für die autosomal dominante Craniometaphysäre Dysplasie sind [Nürnberg et al., 2001; Reichenberger et al.,

2001], konnten auch bei Patienten mit Chondrocalcinose 2 Mutationen im *ANKH*-Gen detektiert werden [Pendleton et al., 2002; Williams et al., 2002].

Dass verschiedene Mutationen eines Gens zu phänotypisch sehr unterschiedlichen Störungen führen können, ist auch für das *GNASI*-Gen, der Ursache des hier behandelten McCune-Albright-Syndroms bekannt. Während aktivierende postzygotische Mutationen im *GNASI*-Gen zum McCune-Albright-Syndrom (*siehe Abschnitt 2.4*) führen [Weinstein et al., 1991; Schwindinger et al., 1992], sind inaktivierende konstitutionelle Mutationen Ursache der Osteodystrophia hereditaria Albright (OHA) [Patten et al., 1990] mit (PHPIA: *Pseudohypoparathyreodismus Typ IA*) oder ohne (PPHP: *Pseudopseudohypoparathyreodismus*) Resistenzen gegenüber PTH (*Parathormon*) und anderen Hormonen. Da aktivierende und inaktivierende Mutationen im *GNASI*-Gen den cAMP-Spiegel gegensätzlich beeinflussen, resultieren autonome Hormonüberproduktionen im ersten und Hormonresistenzen im zweiten Fall. Hinsichtlich der Osteoblastendifferenzierung wirken aktivierende Mutationen hemmend und führen zur fibrösen Dysplasie, inaktivierende Mutationen dagegen wirken stimulierend, wodurch sich die ektopen Ossifikationen erklären lassen [Weinstein et al., 2001].

Erkrankungen mit Mosaikcharakter entziehen sich aufgrund ihres sporadischen Auftretens der Analyse mittels konventioneller Kopplungsuntersuchungen. Zur Aufklärung der molekularen Ursache dieser Erkrankungen müssen funktionell plausible Gene systematisch in Mutationsanalysen überprüft werden. Dabei ist zu beachten, dass der Anteil an Zellen mit mutiertem Allel selbst im betroffenen Gewebe zu niedrig sein kann, als dass er mit herkömmlichen Methoden zur Mutationsdetektion erfasst werden kann (*siehe Abschnitt 2.4*).

Bei einer weiteren Erkrankung mit Mosaikcharakter, der Melorheostose (*siehe Abschnitt 2.5*), erhielten Kim und Mitarbeiter [2000] durch Expressionsuntersuchungen den Hinweis auf eine verminderte Expression mehrerer Gene, die für Zelladhäsionsproteine kodieren. Darunter war das durch *TGF- $\beta$*  (transforming growth factor  $\beta$ ) induzierbare Gen *TGFI* am stärksten betroffen. Über Mutationsuntersuchungen gibt es keine Berichte. Von dem in der vorliegenden Arbeit berichteten Patienten, der zusätzlich zur Melorheostose einen ipsilateralen Naevus sebaceus aufwies, wurden ein Knochenbiopat und exzidierte Naevusproben für gezielte Mutationsanalysen asserviert.

Beim Antenaten Caffey-Syndrom (*siehe Abschnitt 2.3*) führen wir derzeit eine Mutationsanalyse in einem funktionellen Kandidatengen durch.

Bei der Metaphysären Dysplasie Braun-Tinschert (*siehe Abschnitt 2.2*) ist eine genomweite Kopplungsanalyse zur Genkartierung in Arbeit.

Die Veröffentlichung der nahezu vollständigen Sequenz des menschlichen Erbgutes [Venter et al., 2001; McPherson et al., 2001] hat zu einem schnellen Voranschreiten bei der Identifizierung krankheitsverursachender Gene geführt. Die Anstrengungen des *Human Genome Project* sind jetzt vor allem auch auf das Verständnis der Funktionsweise der Gene gerichtet. Es ist zu erwarten, dass in der nächsten Zeit immer mehr Gene identifiziert werden, deren Funktionsanalyse mosaiksteinartig zum Verständnis des Knochenstoffwechsels beitragen wird. Ob, wie vielfach angenommen wird, die häufigeren Varianten von Genen, deren Mutationen zu seltenen monogenen Erkrankungen führen, wesentliche Modifikatoren der Knochendichte in der allgemeinen Bevölkerung darstellen, bleibt zu prüfen [Janssens und Van Hul, 2002].

Der zu erwartende Wissens- und Datenzuwachs verlangt eine molekulargenetisch wie pathophysiologisch schlüssige Gruppierung. Die „International Nosology and Classification of Constitutional Disorders of Bone (2001)“ [Hall, 2002], die auf klinischen (Manifestationsalter), (radio)morphologischen (Knochenform), pathogenetischen (Art der betroffenen Zellen) und molekularen Ordnungsprinzipien (Gen, Genprodukt) beruht, ist durch getrennte Klassifikationen zu ersetzen. Während Klassifikationen der Skeletterkrankungen auf der Grundlage klinischer und radiologischer Kriterien ihren praktischen Wert für die Diagnosefindung behalten werden [Savarirayan und Rimoin, 2002], dient eine molekularpathogenetische Klassifikation vor allem der weiteren wissenschaftlichen Aufklärung, *siehe* Superti-Furga und Mitarbeiter [2001]. Konzepte für eine molekularpathogenetische Klassifikation [Superti-Furga et al., 2001; Savarirayan und Rimoin, 2002] und eine Klassifikation nach klinischen und radiologischen Gesichtspunkten [Savarirayan und Rimoin, 2002] liegen vor.

#### 4 THEMENRELEVANTE ORIGINALARBEITEN

##### **Craniometaphysäre Dysplasie, autosomal dominante Form (MIM #123000)**

- 4.1.1 **Tinschert S**, Braun HS (1998): Craniometaphyseal dysplasia (CMD) in six generations of a German kindred. *Am J Med Genet* 77:175-181
- 4.1.2 Nürnberg P, **Tinschert S**, Mrug M, Hampe J, Müller CR, Fuhrmann E, Braun HS, Reis A (1997): The gene for autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia maps to chromosome 5q and is distinct from the growth hormone-receptor gene. *Am J Hum Genet* 61:918-923
- 4.1.3 Chandler D, **Tinschert S**, Lohan K, Harrop K, Goldblatt J, Nagy M, Hummel S, Braun HS, Laing N, Nürnberg P (2001): Refinement of the chromosome 5p locus for craniometaphyseal dysplasia. *Hum Genet* 108:394-397
- 4.1.4 Nürnberg P, Thiele H, Chandler D, Höhne W, Cunningham ML, Ritter H, Leschik G, Uhlmann K, Mischung C, Harrop K, Goldblatt J, Borochoowitz ZU, Kotzot D, Westermann F, Mundlos S, Braun HS, Laing N, **Tinschert S** (2001): Heterozygous mutations in ANK, the human orthologue of the mouse progressive ankylosis gene, result in craniometaphyseal dysplasia. *Nat Genet* 28 37-41

##### **Metaphysäre Dysplasie, Typ Braun-Tinschert (MIM \*605946)**

- 4.1.5 Braun HS, Nürnberg P, **Tinschert S** (2001): Metaphyseal dysplasia - a new autosomal dominant type in a large German kindred. *Am J Med Genet* 101:74-77

##### **Caffey-Syndrom (MIM \*114000)**

- 4.1.6 Schweiger S, Chaoui R, Tennstedt C, Lehmann K, Mundlos S, **Tinschert S** (2003): Antenatal onset of cortical hyperostosis (Caffey disease): case report and review of the literature. *Am J Med Genet* 120A(4):547-552

##### **McCune-Albright-Syndrom (MIM #174800)**

- 4.1.7 **Tinschert S**, Gerl H, Gewies A, Jung HP, Nürnberg P (1999): McCune-Albright syndrome: clinical and molecular evidence of mosaicism in an unusual giant patient. *Am J Med Genet* 83:100-108

##### **Melorheostose (MIM 155950)**

- 4.1.8 **Tinschert S**, Stein A, Göldner B, Dietel M, Happle R (2003): Melorheostosis with ipsilateral nevus sebaceus (didymosis melorheosebacea). *Europ J Dermatol* 13:21-24

## 5 LITERATURVERZEICHNIS

- Albright F, Butler AM, Hampton AO, Smith P (1937): Syndrome characterized by osteitis fibrosa disseminata, areas of pigmentation and endocrine dysfunction, with precocious puberty in females: report of five cases. *New Eng J Med* 216:727-746
- Al-Tawil KI, Ahmed GS, Al-Hathal MM, Al-Zuwad MA (1998): Sporadic congenital infantile cortical hyperostosis (Caffey's disease). *Am J Perinatol* 15:629-633
- Andrew LJ, Brancolini V, de la Pena LS, Devoto M, Caeiro F, Marchegiani R, Reginato A, Gaucher A, Netter P, Gillet P, Loeuille D, Prockop DJ, Carr A, Wordsworth BF, Lathrop M, Butcher S, Considine E, Everts K, Nicod A, Walsh S, Williams CJ (1999): Refinement of the chromosome 5p locus for familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease. *Am J Hum Genet* 64:136-145
- Baldwin CT, Farrer LA, Adair R, Dharmavaran R, Jimenez, S, Anderson L (1995): Linkage of early-onset osteoarthritis and chondrocalcinosis to human chromosome 8q. *Am J Hum Genet* 56:692-697
- Barba WP, Freriks DJ (1953): The familial occurrence of infantile cortical hyperostosis in utero. *J Pediat* 42:141-150
- Beighton P (1995): Craniometaphyseal dysplasia (CMD), autosomal dominant form. *J Med Genet* 32:370-374
- Beighton P, Hamersma H (1980): The orthopaedic implications of the sclerosing bone dysplasias. *S Afr Med J* 58:600-604
- Beighton P, Hamersma H, Horan F (1979): Craniometaphyseal dysplasia - variability of expression within a large family. *Clin Genet* 15:252-258
- Beluffi G, Chirico G, Colombo A, Cecilian L, dell'Orbo C, Fiori P, Pazzaglia U, Quacci D (1984): Report of a new case of neonatal cortical hyperostosis. Histological and ultrastructural study. *Ann Radiol (Paris)* 27:79-88
- Bercau G, Gonzalez M, Afriat R, Lecolier B, de Kermadec S (1991): The difficulty of diagnosing Caffey's disease in utero. Apropos of a case simulating lethal osteogenesis imperfecta. *Ann Pediat (Paris)* 38:15-18
- Bianco P, Kuznetsov SA, Riminucci M, Fisher LW, Spiegel AM, Robey PG (1998): Reproduction of human fibrous dysplasia of bone in immunocompromised mice by transplanted mosaics of normal and Gsalpha-mutated skeletal progenitor cells. *J Clin Invest* 101:1737-1744
- Boltshauser E, Schmitt B, Wichmann W, Valavanis A, Sailer H, Yonekawa Y (1996): Cerebellomedullary compression in recessive craniometaphyseal dysplasia. *Neuroradiology* 38:193-195
- Borochowitz Z, Gozal D, Misselevitch I, Aunallah J, Boss JH (1991): Familial Caffey's disease and late recurrence in a child. *Clin Genet* 40:329-335
- Braun, HS, Nürnberg P, Tinschert S (2001): Metaphyseal dysplasia - a new autosomal dominant type in a large German kindred. *Am J Med Genet* 101:74-77
- Caffey J, Silverman W (1945): Infantile cortical hyperostoses; preliminary report on a new syndrome. *Am J Roentgenol & Rad Therapy* 54:1-16



- Candeliere GA, Glorieux FH, Prud'homme J, St.-Arnaud R (1995): Increased expression of the c-fos proto-oncogene in bone from patients with fibrous dysplasia. *N Engl J Med* 332:1546-1551
- Carnevale A, Grether P, del Castillo V, Takenaga R, Orzechowski A (1983): Autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia. Clinical variability. *Clin Genet* 23:17-22
- Cavanah SF, Dons RF (1993): McCune-Albright syndrome: how many endocrinopathies can one patient have? *South Med J* 86:364-367
- Chandler D, Tinschert S, Lohan K, Harrop K, Goldblatt J, Nagy M, Hummel S, Braun HS, Laing N, Nürnberg P (2001): Refinement of the chromosome 5p locus for craniometaphyseal dysplasia. *Hum Genet* 108:394-397
- Clemett AR, Williams JH (1963): The familial occurrence of infantile cortical hyperostosis. *Radiology* 80:409-416
- Colavita N, Kozlowski K, Sprague P (1988): Cranio-metaphyseal dysplasia. (Report of 3 cases - two infants and one adult). *Australas Radiol* 32:257-262
- Dahlstrom JE, Arbuckle SM, Kozlowski K, Peek MJ, Thomson M, Reynolds GJ, Sillence DO (2001): Lethal prenatal onset infantile cortical hyperostosis (Caffey disease). *Pathology* 33:521-552
- de Jong G, Muller LMM (1995): Perinatal death in two sibs with infantile cortical hyperostosis (Caffey disease). *Am J Med Genet* 59:134-138
- Deng HW, Xu FH, Huang QY, Shen H, Deng H, Conway T, Liu YJ, Liu YZ, Li JL, Zhang HT, Davies KM, Recker RR (2002): A whole-genome linkage scan suggests several genomic regions potentially containing quantitative trait Loci for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 87:5151-5159
- Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J (1996): A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature* 380:152-154
- Dornan JC, Ritchie JW, Meban C (1984): Fetal breathing movements and lung maturation in the congenitally abnormal human fetus. *J Dev Physiol* 6:367-375
- Drinkwater BM, Crino JP, Garcia J, Ogburn J, Hecht JT (1997): Recurrent severe infantile cortical hyperostosis (Caffey disease) in siblings. *Prenat Diagn* 17:773-776
- Ducy P, Schinke T, Karsenty G (2000): The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 289:1501-1504
- Elcioglu N, Hall CM (1998): Temporal aspects in craniometaphyseal dysplasia: autosomal recessive type. *Am J Med Genet* 76:245-251
- Feld H, Switzer RA, Dexter MW, Langer EM (1955): Familial metaphyseal dysplasia. *Radiology* 65:206-212
- Feinstein E, Druck T, Kastury K, Berissi H, Goodart SA, Overhauser J, Kimchi A, Huebner K (1995): Assignment of DAP1 and DAPK--genes that positively mediate programmed cell death triggered by IFN-gamma--to chromosome regions 5p12.2 and 9q34.1, respectively. *Genomics* 29:305-307
- Fleisch H (1981): Diphosphonates: History and mechanisms of action. *Metab Bone Dis Relat Res* 3:279-288

- Fleisch H, Russell RG, Francis MD (1969): Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science* 165:1262-1264
- Franz DC, Horn KL, Aase J (1996): Craniometaphyseal dysplasia: operative findings and treatment. *Am J Otol* 17:283-287
- Fraser WD, Walsh CA, Birch MA, Durham B, Dillon JP, McGreavy D, Gallagher JA (2000): Parathyroid hormone-related protein in the aetiology of fibrous dysplasia of bone in the McCune Albright syndrome. *Clin Endocrinol (Oxford)* 53:621-628
- Freyschmidt J (2001): Melorheostosis: a review of 23 cases. *Eur Radiol* 11: 474-479
- Fried K, Krause J (1972): Die metaphysäre Dysplasie – Pyle's disease. *Fortschr Röntgenstr* 116:224-228
- Fried K, Manor A, Pajewski M, Starinsky R, Vure E (1981): Autosomal dominant inheritance with incomplete penetrance of Caffey disease (infantile cortical hyperostosis). *Clin Genet* 19:271-274
- Fries, JW (1957): The roentgen features of fibrous dysplasia of the skull and facial bones. A critical analysis of thirty nine pathologically proved cases. *Am J Roentgenol* 77:71-88
- Fryns JP (1995): Melorheostosis and somatic mosaicism. *Am J Med Genet* 28:199
- Gerrard JW, Holman GH, Gorman AA, Morrow IH (1961): Familial infantile cortical hyperostosis. *J Pediat* 59:543-548
- Gorlin RJ, Spranger J, Kozalka MF (1969): Genetic craniotubular bone dysplasias and hyperostoses: A critical analysis. *Birth Defects Orig Art Ser V* 4: 79-95
- Greenspan A (1991): Sclerosing bone dysplasias--a target-site approach. *Skeletal Radiol* 20:561-83
- Greenspan A, Azouz EM (1999): Bone dysplasia series: melorheostosis: review and update. *Can Assoc Radiol J* 50:324-330
- Habeebu SSM, Gibson JE, Affara NA, Ferguson-Smith MA (1989): Localization of two zinc finger protein genes to (a) two loci on chromosome 5 at 5p13-p14 and 5q12-q13 and to (b) the long arm of the X at Xq13-q21. *Cytogenet. Cell Genet* 51:1009
- Hakim FT, Cranley R, Brown KS, Eanes ED, Harne L, Oppenheim JJ (1984): Hereditary joint disorder in progressive ankylosis (ank/ank) mice. I. Association of calcium hydroxyapatite deposition with inflammatory arthropathy. *Arthritis Rheum* 27:1411-1420
- Hakim FT, Brown KS, Oppenheim JJ (1986): Hereditary joint disorder in progressive ankylosis (ank/ank) mice. II. Effect of high-dose hydrocortisone treatment on inflammation and intraarticular calcium hydroxyapatite deposits. *Arthritis Rheum* 29:114-123
- Hall CM (2002): International Nosology and classification of Constitutional Disorders of bone (2001). *Am J Med Genet* 113:65-77
- Hall JG (1986): Analysis of Pena Shokeir phenotype. *Am J Med Genet* 25:99-117
- Halliday J (1949): A rare case of bone dystrophy. *Brit J Surg* 37:52-63
- Halverson PB, Derfus BA (2001): Calcium crystal-induced inflammation. *Curr Opin Rheumatol* 13:221-224

- Happle R (1986): McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism. *Clin Genet* 29:321-324
- Happle R (1993): Mosaicism in human skin: understanding the patterns and mechanisms. *Arch Dermatol* 129:1460-1470
- Happle R (1995): Cutaneous manifestation of lethal genes. *Hum Genet* 72:280
- Happle R, Barbi G, Eckert D, Kennerknecht I (1997): „Cutis tricolor“ : congenital hyper- and hypopigmented macules associated with a sporadic multisystem birth defect: an unusual example of twin spotting? *J Med Genet* 34:676-678
- Happle R, Koopman R, Mier PD (1990): Hypothesis: vascular twin naevi and somatic recombination in man. *Lancet* 335:376-378
- Happle R, König A (2001): Didymosis aplasticosebacea: Coexistence of aplasia cutis congenita and nevus sebaceus may be explained as a twin spot phenomenon. *Dermatology* 202:246-248
- Happle R, Steijlen PM (1989): Phakomatosis pigmentovascularis interpreted as a phenomenon of twin spots. *Hautarzt* 40:721-724
- Happle R, Steijlen PM, Theile U, Karitzky D, Tinschert S, Albrecht-Nebe H, Küster W (1997): Patchy dermal hypoplasia as a characteristic feature of Proteus syndrome. *Arch Dermatol* 133:77-80
- Ho AM, Johnson M D, Kingsley DM (2000): Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science* 289:265-270
- Hofmann K, Stoffel W (1993): TMbase - A database of membrane spanning proteins segments. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 374:166
- Horn LC, Faber R, Meiner A, Piskazek U, Spranger J (2000): Greenberg dysplasia: first reported case with additional non-skeletal malformations and without consanguinity. *Prenat Diagn* 20:1008-1011
- Howard GM, Nguyen TV, Harris M, Kelly PJ, Eisman JA (1998): Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: a twin study. *J Bone Miner Res* 13:1318-1327
- Hughes AE, McGibbon D, Woodward E, Dixey J, Doherty M (1995): Localisation of a gene for chondrocalcinosis to chromosome 5p. *Hum Mol Genet* 4:1225-1228
- Iughetti P, Alonso LG, Wilcox W, Alonso N, Passos-Bueno MR (2000): Mapping of the autosomal recessive (AR) craniometaphyseal dysplasia locus to chromosome region 6q21-22 and confirmation of genetic heterogeneity for mild AR spondylocostal dysplasia. *Am J Med Genet* 95:482-491
- Jackson WPU, Albright F, Drewery G, Hanelin J, Rubin ML (1954): Metaphyseal dysplasia, epiphyseal dysplasia, diaphyseal dysplasia and related conditions. *Arch Intern Med* 94:871-885
- Janssens K, Van Hul W (2002): Molecular genetics of too much bone. *Hum Mol Genet* 11:2385-2393
- Jenkins EP, Hsieh CL, Milatovich A, Normington K, Berman DM, Francke U, Russell DW (1991): Characterization and chromosomal mapping of a human steroid 5 alpha-reductase gene and pseudogene and mapping of the mouse homologue. *Genomics* 11:1102-1112

- Kim IS, Kim ER, Nam HJ, Chin MO, Moon YH, Oh MR, Yeo UC, Song SM, Kim JS, Uhm MR, Beck NS, Jin DK (1999): Activating mutation of GS alpha in McCune-Albright syndrome causes skin pigmentation by tyrosinase gene activation on affected melanocytes. *Horm Res* 52:235-240
- Kim JE, Kim EH, Han EH, Park RW, Park IH, Jun SH, Kim JC, Young MF, Kim IS (2000): A TGF-beta-inducible cell adhesion molecule, betaig-h3, is downregulated in melorheostosis and involved in osteogenesis. *J Cell Biochem* 77:169-178
- Komins C (1954): Familial metaphyseal dysplasia (Pyle's disease). *Brit J Radiol* 27:670-675
- Koshizuka Y, Kawaguchi H, Ogata N, Ikeda T, Mabuchi A, Seichi A, Nakamura Y, Nakamura K, Ikegawa S (2002): Nucleotide pyrophosphatase gene polymorphism associated with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *J Bone Miner Res* 17:138-144
- Kozlowski K, Tsuruta T (1989): Dysplastic cortical hyperostosis: a new form of lethal neonatal dwarfism. *Br J Radiol* 62:376-378
- Lane JM, Khan SN, O'Connor WJ, Nydick M, Hommen JP, Schneider R, Tomin E, Brand J, Curtin J (2001): Bisphosphonate therapy in fibrous dysplasia. *Clin Orthop* 382:6-12
- Lécolier B, Bercau G, Gonzales M, Afriat R, Rambaud D, Mulliez N, de Kermadec S (1992): Radiographic, haematological, and biochemical findings in a fetus with Caffey disease. *Prenat Diagn* 12:637-641
- Lehmann ECH (1957): Familial osteodystrophy of the skull and face. *J Bone Joint Surg* 39B:313-315
- Léri A, Joanny J (1922): Une affection non décrite des os: hyperostose "en coulée" sur toute la longueur d'un membre ou "melorhéostose". *Bull Mem Soc Hop Paris* 46:1141
- Lichtenstein L, Jaffe HL (1942): Fibrous dysplasia of the bone: a condition affecting one, several or many bones, the graver cases of which may present abnormal pigmentation of skin, premature sexual development, hyperthyroidism or still other extraskeletal abnormalities. *Arch Path* 33:777-816
- Lièvre JA, Fischgold H (1956): Leontiasis ossea chez l'enfant (ostéopétrose partielle probable). *Presse Méd* 64:763-765
- Lust G, Faure G, Netter P, Seegmiller JE (1981): Increased pyrophosphate in fibroblasts and lymphoblasts from patients with hereditary diffuse articular chondrocalcinosis. *Science* 214:809-810
- Marie PJ, Lomri A, Chanson P, de Pollak C (1997): Increased proliferation of osteoblastic cells expressing the activating Gsa mutation in monostotic and polyostotic fibrous dysplasia. *Am J Pathol* 150:1059-1069
- MacLachlan AK, Gerrard JW, Houston CS, Ives EJ (1984): Familial infantile cortical hyperostosis in a large Canadian family. *Can Med Assoc J* 130:1172-1174
- McCune DJ, Bruch H (1937): Progress in pediatrics: osteodystrophia fibrosa. *Am J Dis Child* 54: 806-848
- McPherson et al., International Human Genome Mapping Consortium (2001): A physical map of the human genome. *Nature* 409:934-941
- Millard DR, Maisels DO, Batstone JHF, Yates BW (1967): Craniofacial surgery in craniometaphyseal dysplasia. *Am J Surg* 113:615-621

- Morel G, Chavassieux P, Barenton B, Dubois PM, Meunier PJ, Boivin (1993): Evidence for a direct effect of growth hormone on osteoblasts. *Cell Tissue Res* 273:279-286
- Mornet E (2000): Hypophosphatasia: the mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Hum Mutat* 15:309-315
- Mundlos S, Olsen BR (1997): Heritable diseases of the skeleton. Part II: Molecular insights into skeletal development-matrix components and their homeostasis. *FASEB* 11:227-233
- Murray RO, McCredie J (1979). Melorheostosis and the sclerotomes: a radiological correlation. *Skeletal Radiol* 4:57-71
- Nakamura I, Ikegawa S, Okawa A, Okuda S, Koshizuka Y, Kawaguchi, H Nakamura K, Koyama T, Goto, S, Toguchida J, Matsushita M, Ochi T, Takaoka K, Nakamura Y (1999): Association of the human NPPS gene with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL). *Hum Genet* 104:492-497
- Nerlich A, Peschel O, Lohrs, U, Parsche F, Betz, P (1991): Juvenile gigantism plus polyostotic fibrous dysplasia in the Tegernsee giant. (Letter) *Lancet* 338:886-887
- Newberg AH, Tampas JP (1981): Familial infantile cortical hyperostosis: an update. *Am J Roentgenol* 137:93-96
- Nürnberg P, Tinschert S, Mrug M, Hampe J, Müller CR, Fuhrmann E, Braun HS, Reis A (1997): The gene for autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia maps to chromosome 5p and is distinct from the growth hormone-receptor gene. *Am J Hum Genet* 61:918-923
- Nürnberg P, Thiele H, Chandler D, Höhne W, Cunningham ML, Ritter H, Leschik G, Uhlmann K, Mischung C, Harrop K, Goldblatt J, Borochowitz ZU, Kotzot D, Westermann F, Mundlos S, Braun HS, Laing N, Tinschert S (2001): Heterozygous mutations in ANKH, the human ortholog of the mouse progressive ankylosis gene, result in craniometaphyseal dysplasia. *Nat Genet* 28:37-41
- O'Duffy, JD (1970): Hypophosphatasia associated with calcium pyrophosphate dehydrate deposits in cartilage: report of a case. *Arthritis Rheum* 13: 381-388
- Okawa A, Nakamura I, Goto S, Moriya H, Nakamura Y, Ikegawa S (1998): Mutation in Npps in a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. *Nat Genet* 19:271-273
- Orcel P, Beaudreuil J (2002): Bisphosphonates in bone diseases other than osteoporosis. *Joint Bone Spine* 69:19-27
- Overhauser J, Huang X, Gersh M, Wilson W, McMahon J, Bengtsson U, Rojas K, Meyer M, Wasmuth JJ (1994): Molecular and phenotypic mapping of the short arm of chromosome 5: sublocalization of the critical region for the cri-du-chat syndrome. *Hum Mol Genet* 3:247-252
- Patten JL, Levine MA (1990): Immunochemical analysis of the subunit of the stimulatory G-protein of adenyl cyclase in patients with Albright's hereditary osteodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 71:1208-1214
- Patterson JT (1929): The production of mutations in somatic cells of *Drosophila melanogaster* by means of X-rays. *J Exp Zool* 53:327-372
- Penchaszadeh VB, Gutierrez ER, Figueueroa EP (1980): Autosomal recessive craniometaphyseal dysplasia. *Am J Med Genet* 5:43-55

- Pendleton A, Johnson MD, Hughes A, Gurley KA, Ho AM, Doherty M, Dixey J, Gillet P, Loeuille D, McGrath R, Reginato A, Shiang R, Wright G, Netter P, Williams C, Kingsley DM (2002): Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. *Am J Hum Genet* 71:933-940
- Pfeilschifter J, Ziegler R (1998): Effect of pamidronate on clinical symptoms and bone metabolism in fibrous dysplasia and McCune-Albright syndrome. *Med Klin* 15:352-359
- Polymeropoulos MH, Ortiz De Luna RI, Ide S E, Torres R, Rubenstein J, Francomano CA (1995): The gene for pycnodysostosis maps to human chromosome 1cen-q21. *Nature Genet* 10:238-239
- Raad MS, Beighton P (1978): Autosomal recessive inheritance of metaphyseal dysplasia (Pyle disease). *Clin Genet* 14:251-256
- Reichenberger E, Tiziani V, Watanabe S, Park L, Ueki Y, Santanna C, Baur ST, Shiang R, Grange DK, Beighton P, Gardner J, Hamersma H, Sellars S, Ramesar R, Lidral AC, Sommer A, Raposo do Amaral CM, Gorlin RJ, Mulliken JB, Olsen BR (2001): Autosomal dominant craniometaphyseal dysplasia is caused by mutations in the transmembrane protein ANK. *Am J Hum Genet* 68:1321-1326
- Richards A, Brain C, Dillon MJ, Bailey CM (1996): Craniometaphyseal and craniodiaphyseal dysplasia, head and neck manifestations and management. *J Laryngol Otol* 110:328-338
- Riminucci M, Fisher LW, Shenker A, Spiegel AM, Bianco P, Robey PG (1997): Fibrous dysplasia of bone in the McCune-Albright syndrome: abnormalities in bone formation. *Am J Pathol* 151:1587-1600
- Rimoin DL, Woodruff SL, Holman BL (1969): Craniometaphyseal dysplasia (Pyle's disease): autosomal dominant inheritance in a large kindred. *Birth Defects Orig Art Ser* 5:96-104
- Ringel MD, Schwindinger WF, Levine MA (1996): Clinical implications of genetic defects in G proteins. The molecular basis of McCune-Albright syndrome and Albright hereditary osteodystrophy. *Medicine Baltimore* 75:171-184
- Rodan GA, Martin TJ (2000): Therapeutic approaches to bone diseases. *Science* 289:1508-1514
- Ross MW, Altman DH (1967): Familial metaphyseal dysplasia. Review of the clinical and radiologic feature of Pyle's disease. *Clin Pediatr (Phila)* 6:143-149
- Ryan LM (2001): The ank gene story. *Arthritis Res* 3:77-79
- Savarirayan R, Rimoin DL (2002): The skeletal dysplasias. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 16:547-560
- Schweiger S, Chaoui R, Lehmann K, Tennstedt C, Mundlos S, Tinschert S (2003): Antenatal onset of infantile cortical hyperostosis: report on a fetus with the severe form and a review of the literature. *Am J Med Genet* 120A:547-552
- Schwindinger WF, Francomano CA, Levine MA (1992): Identification of a mutation in the gene encoding the alpha subunit of the stimulatory G protein of adenylyl cyclase in McCune-Albright syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:5152-5156
- Schwindinger WF, Francomano CA, Levine MA, McKusick VA (1991): DNA light on the Tegernsee giant. (Letter) *Lancet* 338:1454-1455

- Shea J, Gerbe R, Ayani N (1981): Craniometaphyseal dysplasia: the first successful surgical treatment for associated hearing loss. *Laryngoscope* 91:1369-1374
- Sly WS, Whyte MP, Sundaram V, Tashian RE, Hewett-Emmett D, Guibaud P, Vainsel M, Baluarte HJ, Gruskin A, Al-Mosawi M, Sakati N, Ohlsson A (1985): Carbonic anhydrase II deficiency in 12 families with the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *New Eng J Med* 313:139-145
- Sommer F (1954): Eine besondere Form einer generalisierten Hyperostose mit Leontiasis ossea faciei et cranii. *Radiol Clin (Basel)* 23:65-75
- Spranger J, Paulsen K, Lehmann W (1965): Die kranio-metaphysäre Dysplasie (Pyle). *Z Kinderheilkd* 93:64-79
- Stein GS, Lian JB (1993): Molecular mechanisms mediating proliferation/differentiation interrelationships during progressive development of the osteoblast phenotype. *Endocr Rev* 14:424-442
- Stengel D, Parma J, Gannage MH, Roeckel N, Mattei MG, Barouki R, Hanoune J (1992): Different chromosomal localization of two adenylyl cyclase genes expressed in human brain. *Hum Genet* 90:126-130
- Stern, C (1936): Somatic crossing over and segregation in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 21:625-73
- Superti-Furga A, Bonafe L, Rimoin DL (2001): Molecular-pathogenetic classification of genetic disorders of the skeleton. *Am J Med Genet* 106:282-293
- Taylor DB, Sprague P (1989): Dominant craniometaphyseal dysplasia - a family study over five generations. *Australas Radiol* 33:84-89
- Teitelbaum SL (2000): Bone resorption by osteoclasts. *Science* 289:1504-1508
- Terkeltaub RA (2001): Inorganic pyrophosphate generation and disposition in pathophysiology. *Am J Physiol Cell Physiol* 281:C1-C11
- Tinschert S, Braun HS (1998): Craniometaphyseal dysplasia in six generations of a German kindred. *Am J Med Genet* 77:175-181
- Tinschert S, Gerl H, Gewies A, Jung HP, Nürnberg P (1999): McCune-Albright syndrome: clinical and molecular evidence of mosaicism in an unusual giant patient. *Am J Med Genet* 83:100-108
- Tinschert S, Stein A, Göldner B, Dietel M, Happle R (2003): Melorheostosis with ipsilateral nevus sebaceus (didymosis melorheosebacea). *Europ J Dermatol* 13:21-24
- Turnpenny PD, Davidson R, Stockdale E, Tolmie JL, Sutton AM (1993): Severe prenatal infantile cortical hyperostosis (Caffey's disease). *Clin Dysmorphol* 2:81-86
- Uehlinger E (1979): Fibröse Dysplasie (Jaffé-Lichtenstein); Osteofibrosis deformans juvenilis (Uehlinger); Albright'sches Syndrom. In Schinz HR, Baensch WE, Frommhold W, Glauner R, Uehlinger E, Wellauer J: *Lehrbuch der Röntgendiagnostik*, 6. Aufl., Bd II/I. Thieme, Stuttgart (S. 947-982)
- Van Buskirk F, Tampas J, Peterson O (1961): Infantile cortical hyperostosis: an inquiry into its familial aspects. *Am J Roentgen* 85:613-632
- Vanhoenacker FM, De Beuckeleer LH, Van Hul W, Balemans W, Tan GJ, Hill SC, De Schepper AM (2000): Sclerosing bone dysplasias: genetic and radioclinical features. *Eur Radiol* 10:1423-433

- Van Hul W, Vanhoenacker F, Balemans W, Janssens K, De Schepper AM (2001): Molecular and radiological diagnosis of sclerosing bone dysplasias. *Eur J Radiol* 40:198-207
- Venter et al. (2001): The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-51
- Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, Merino MJ, Friedman E, Spiegel AM (1991): Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome. *N Engl J Med* 325:1688-1695
- Weinstein LS, Yu S, Warner DR, Liu J (2001): Endocrine manifestations of stimulatory G protein alpha-subunit mutations and the role of genomic imprinting. *Endocr Rev* 22:675-705
- Weinstein RS (1997): Long-term aminobisphosphonate treatment of fibrous dysplasia: spectacular increase in bone density. *J Bone Miner Res* 12:1314-1315
- Wemmer U, Böttger E (1978): Die kranio-metaphysäre Dysplasie (Jackson). *Fortschr Röntgenstr* 128:66-69
- Wendling D, Jeannin-Louys L, Kremer P, Fellmann F, Toussirot E, Mornet E (2001): Adult hypophosphatasia. Current aspects. *Joint Bone Spine* 68:120-124
- Whyte MP, Murphy WA, Fallon MD (1982): Adult hypophosphatasia with chondrocalcinosis and arthropathy: variable penetrance of hypophosphatasemia in a large Oklahoma kindred. *Am J Med* 72:631-641
- Williams CJ, Zhang Y, Timms A, Bonavita G, Caeiro F, Broxholme J, Cuthbertson J, Jones Y, Marchegiani R, Reginato A, Graham R, Russell G, Wordsworth BP, Carr AJ, MA Brown (2002): Autosomal dominant familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease is caused by mutation in the transmembrane protein ANKH. *Am J Hum Genet* 71:985-991
- Wolf U (1995): The genetic contribution to the phenotype. *Hum Genet* 95:127-148
- Wolf U (1997): Identical mutations and phenotypic variation. *Hum Genet* 100:305-321
- Wrong O (1992) Tegernsee giant. *Lancet* 339:194
- Yamamoto T, Ozono K, Kasayama S, Yoh K, Hiroshima K, Takagi M, Matsumoto S, Michigami T, Yamaoka K, Kishimoto T, Okada S (1996): Increased IL-6 production by cells isolated from the fibrous bone dysplasia tissues in patients with McCune-Albright syndrome. *J Clin Invest* 98:30-35



## 6 DANKSAGUNG

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Professor em. Dr. Regine Witkowski und Herrn Professor Dr. Stefan Mundlos, die mir die Freiheit gewährt haben, meine wissenschaftlichen Interessen eigenständig zu verfolgen, was Voraussetzung dieser Arbeit war. Frau Professor em. Dr. Regine Witkowski, Gründungsdirektorin des Institutes für Medizinische Genetik, Charité, verdanke ich meine humangenetische Ausbildung und die kontinuierliche Förderung meiner Arbeit. Herr Professor Dr. Stefan Mundlos, Direktor des Institutes für Medizinische Genetik, Charité, gab mir die Möglichkeit, die Arbeit fortzusetzen und unterstützte mich mit zahlreichen fachlichen Anregungen.

Desgleichen sage ich Herrn Professor Dr. Karl Sperling, Direktor des Institutes für Humangenetik, Charité, für die jahrelang gewährte vertrauensvolle Unterstützung meiner wissenschaftlichen Tätigkeit herzlichen Dank.

Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeiten gründet sich auf eine langjährige freundschaftliche Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Hans-Steffen Braun, Bad Bevensen. Für seine tatkräftige Unterstützung, die er mir sowohl als Facharzt für Orthopädie, aber auch als Genetiker gewährte, bin ich ihm sehr dankbar.

Ein herzlicher Dank ist an Frau Dr. Inna Nitz gerichtet, die mir über viele Jahre mit ihrer Kompetenz auf dem Gebiet der Radiologie zur Seite stand. Die Zusammenarbeit mit ihr war für mich sehr wertvoll.

Mein nachdrücklicher Dank gilt meinen Kollegen vom Institut für Medizinische Genetik, die am Zustandekommen der Arbeit unmittelbar beteiligt waren. Herzlich verbunden bin ich Herrn PD Dr. Peter Nürnberg, der mir in zahlreichen gemeinsamen Projekten stets ein anregender und freundschaftlicher Gesprächspartner war. Darüber hinaus bedanke ich mich bei Herrn Dr. Holger Thiele, insbesondere für sein Engagement bei der Durchführung der Genomanalysen.

An dieser Stelle sei allen Co-Autorinnen und Co-Autoren der Publikationen, die die Grundlage dieser Habilitationsschrift sind, herzlich gedankt. Die Bereitschaft zur Kooperation war Voraussetzung und Antrieb zum Gelingen vieler der hier vorgelegten Arbeiten.

Der Forschungskommission der Charité danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Forschungsaktivitäten. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft und die Deutsche Krebshilfe

---

haben durch die gewährte Förderung und Finanzierung die Arbeit an meinen wissenschaftlichen Projekten ermöglicht.

Zu besonderem Dank bin ich den Patienten und deren Angehörigen für ihre Kooperationsbereitschaft verpflichtet. Ihr Verständnis für die Verknüpfung zwischen ärztlicher Betreuung und medizinischer Forschung haben wesentlich dazu beigetragen, dass die hier vorgestellten Ergebnisse erzielt werden konnten.

Ein herzliches Dankeschön an alle meine lieben Freunde und Kollegen, die mich über viele Jahre unterstützt und begleitet haben.

---

## **7 EIDESTATTLICHE VERSICHERUNG**

gemäß Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, den 30.01.2003

.....  
Dr. Sigrid Tinschert