

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Identifizierung von Genorten und Kandidatengen im Zusammenhang mit familiären Formen von Glaukomkrankheiten (Teilprojekt C2)

Beteiligte Wissenschaftlicher: B. Rautenstrauß

KENNTNISSTAND

Die Glaukome bilden eine heterogene Gruppe von chronischen Augenkrankheiten, die ohne Behandlung vom Patienten unbemerkt zu hochgradigem Visusverlust bis völliger Blindheit führen können. In der Bundesrepublik Deutschland beziehen rund 40.000 Glaukomkranke Blindengeld, nach Schätzungen der WHO rechnet man weltweit mit 5-6 Millionen Glaukomblinden. Die Klassifizierung erfolgt aufgrund pathogenetischer (primäres versus sekundäres Glaukom) und anatomischer Kriterien (Offenwinkel versus geschlossenem Kammerwinkel) unter Berücksichtigung des Manifestationssalters [Shields et al. 1996]. Charakteristisch ist eine abnormale Sehnervenpapille, ein Gesichtsfeldverlust und ein chronisches, aber schmerzfreies Fortschreiten der Erkrankung. Häufig wird ein erhöhter Augeninnendruck festgestellt.

Klinische Heterogenität

Die häufigste Glaukom-Form, das primäre, chronische Offenwinkelglaukom (COWG), beginnt selten vor dem 40. Lebensjahr. Die Aetiologie dieser Erkrankung ist ungeklärt, eine genetische Prädisposition wird angenommen. Der "Buphthalmus", die früheste kindliche Form des Glaukoms, ist schon bei der Geburt vorhanden und wird spätestens bis zu einem Alter von 3 Jahren manifest. Nach einer Studie von Barsoum-Homsy et al. (1986) machen diese primären kongenitalen Glaukome (PKG, Buphthalmus) mit einer Entwicklungsstörung des Kammerwinkels ohne weitere okuläre Mißbildung 22,2% der frühen kindlichen Glaukome aus. Das juvenile Offenwinkelglaukom (JOWG) tritt als Sonderform der primären Offenwinkelglaukome (POWG) zwischen dem 3. und 30. Lebensjahr auf und ist häufig nur dadurch von dem primären, chronischen Offenwinkelglaukom zu unterscheiden [Sarfarazi 1997].

Genetische Heterogenität

Durch genetische Kopplungsanalysen wurden mittlerweile 8 chromosomale Loci für verschiedene Glaukomtypen gefunden. Bisher konnten zwei Kandidatengene mit krankheitsverursachenden Mutationen identifiziert werden (vgl. Tab. 1).

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Tabelle 1: Bekannte Genorte der primären Glaukome

Glaukom Typ	Name	Locus	Vererbung	Gen
Primäres Offenwinkelglaukom				
Juveniles Offenwinkelglaukom	GLC1A	1q23-q25	AD	TIGR/ MYOC
Adult-chronisches Offenwinkelglaukom	GLC1B	2cen-q13	AD	unbekannt
	GLC1C	3q21-q24	AD	unbekannt
	GLC1D	8q23	AD	unbekannt
	GLC1E	10p15-p14	AD	unbekannt
	GLC1F	7q35-36	AD	unbekannt
Primäres kongenitales Glaukom (Buphtalmus)	GLC3A	2p21	AR	CYP1B1
	GLC3B	1p36	AR	unbekannt

Legende zu Tab. 1: Die Gensymbole sind übereinkunftsgemäß wie folgt zu lesen: GLC steht für Glaukom. 1 kennzeichnet Offenwinkelglaukome, 2 Winkelblockglaukome und 3 kongenitale Glaukome. Die Buchstaben A, B, C etc. bezeichnen die verschiedenen Genloci in der zeitlichen Reihenfolge ihrer Entdeckung.

Juveniles Offenwinkelglaukom (JOWG)

Der erste Genlocus der Glaukome (GLC1A) wurde 1993 für eine amerikanische JOWG Familie in der Chromosomenbande 1q21-q31 [Sheffield et al. 1993] lokalisiert. Inzwischen haben Kopplungsanalysen in europäischen und amerikanischen JOWG Familien diesen Befund bestätigt und den Bereich immer weiter eingegrenzt [Richards et al. 1994, Wiggs et al. 1994, Graff et al. 1995, Sunden et al. 1996, Michels-Rautenstrauss et al. 1998].

Die Molekulargenetik der Glaukome erhielt Anfang 1997 einen entscheidenden Impuls, als die ersten Mutationen im "trabecular meshwork inducible glucocorticoid response" (TIGR) Gen in GLC1A gekoppelten Familien identifiziert wurden, die mit dem Krankheitsphänotyp segregieren [Stone et al. 1997].

Schließlich wurde dann ein Protein namens Myocilin (MYOC) identifiziert, welches ebenfalls in 1q23-24 lokalisiert ist und aus einer menschlichen Retina cDNA Genbank isoliert, kloniert und charakterisiert wurde [Kubota et al. 1997] wurde. Es stellte sich heraus, daß das MYOC Protein mit TIGR identisch ist. Neben den von Stone et al. (1997) beschriebenen Mutationen im TIGR Gen, die zum Krankheitsbild führen, wurden mittlerweile aus verschiedenen Ländern Mutationen in Zusammenhang mit dem JOWG berichtet [Übersicht in Sarfarazi 1997, Tabelle 2].

TIGR/MYOC ist ein Olfactomedin-ähnliches Leuzin-Zipper Protein/Glycoprotein mit potentiell wichtigen Motiven für Funktionen im extrazellulären Bereich und an der Zelloberfläche, einer für sezernierte Proteine typischen Signalsequenz, einer N-terminalen hydrophoben Domäne, Motive für N- und O-Glykosylierung, GAG-Synthese und Hyalonsäure-Bindung [Sarfarazi et al. 1997]. Die meisten Mutationen des TIGR Gens wurden im Exon 3 innerhalb der Olfactomedin-ähnlichen Domäne beschrieben (vgl. Tab. 2). Eine Gln368Stop Mutation wurde überraschenderweise sowohl bei Gesunden als auch bei Glaukompatienten mit und ohne erhöhtem Augeninnendruck gefunden [Stone et al. (1997); Allingham et al. 1997, Mardin et al. 1999a, Michels-Rautenstrauss et al. 1998, 1999, s. auch eigene Vorarbeiten]. Ver-

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

mutlich wirkt hier ein kompensatorischer Mechanismus, der bei den gesunden Anlageträgern zu einer cotranslationalen, schnellen Degradation der mutierten RNA führt, wie es schon für andere erbliche Erkrankungen gezeigt werden konnte [Andreutti-Zaugg et al. (1997); Muhlrad et al. (1994)]. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, daß von Morissette et al. (1998) in einer ausgedehnten Sippe mit dominant vererbtem Glaukom für einen Lysin-Glutamat-Austausch in Codon 423 (K423E) homozygote, gesunde Anlageträger gefunden wurden, wogegen Heterozygote in aller Regel erkrankten. Diese Mutation scheint daher eher mit einem dominant-negativen Effekt als durch Haploinsuffizienz zu wirken. Dies geht möglicherweise auf eine erhöhte Instabilität des Proteins zurück.

Das TIGR Protein wurde zunächst aus Glukocorticoid-behandelten Trabekelwerkzellen isoliert, welche es hoch exprimieren [Polansky et al. 1997]. Dieses Protein wurde unabhängig davon auch aus einer menschlichen Ziliarkörper-cDNA Genbank isoliert, kloniert und charakterisiert [Ortego et al. 1997]. Die gleichen Autoren konnten eine Expression von TIGR in Muskeln von okulaem und nicht-okulaem Gewebe nachweisen. Durch Lütjen-Drecoll et al. (1998) konnte immunhistochemisch gezeigt werden, daß sowohl das TIGR Protein als auch das α -B-Crystallin bei Glaukompatienten im Trabekelwerk eine erhöhte Expression zeigen. Diese Querverbindung von TIGR und α -B-Crystallin, beides offensichtlich Streßproteine, wird hier erstmals diskutiert. Interessanterweise beobachtete diese Erlanger Gruppe eine solche Erhöhung der TIGR Expression auch bei Patienten mit Pseudoexfoliationssyndrom (PEX).

Im Genom erstreckt sich das TIGR/MYOC Gen über 20 kb und besteht aus drei kodierenden Exons, einer 5'- und einer 3'- untranslatierten Region und einer ca. 5 kb langen Promotorregion. Der kodierende Bereich des TIGR/MYOC Gens umfaßt 1512 bp und hat zwei potentielle Startcodons. Auffällig ist, daß das Startcodon noch nicht eindeutig festgelegt werden konnte [Polansky et al. 1997; Kubota et al. 1997, Sarfarazi 1997]. Interessanterweise enthält die cDNA Sequenz von Kubota et al. (1997) eine Rasterschubmutation, welche das von Polanski et al. (1997) und Adam et al. (1997) 14 Codons upstream angegebene Startcodon als funktionslos erscheinen läßt. Die Funktion(en) des TIGR Proteins und auch der Pathomechanismus der Mutationen sind noch nicht geklärt. Es könnte dennoch aufgrund seiner Struktur zur Gruppe der Adhäsionsmoleküle gerechnet werden.

Die TIGR mRNA wird in eine 504 Aminosäuren lange Polypeptidkette translatiert. Durch translationale- und post-translationale Modifikationen entstehen multiple TIGR-Formen. Hauptprodukt ist die sezernierte, glykosylierte Form, daneben findet man aber auch nicht-glykosylierte zelluläre TIGR-Formen [Nguyen et al. 1998]. Oligomerisierung, Aggregation und Bindung an menschliche Trabekelwerkzellen, sowie Bindegewebelemente stellen potentielle Mechanismen von TIGR dar, die einen Einfluß auf den Kammerwasserabfluß haben könnten [Kubota et al. 1997; Sarfarazi et al. 1997].

Das TIGR Gen und Protein von Mensch und Maus sind 83 % auf Nukleotid- und 82 % auf Aminosäure-Ebene homolog [Tomarev et al. 1998, Fingert et al. 1998]. Das Maus-TIGR Gen hat ebenfalls drei codierende Exons und hoch konservierte Exon-Intron Grenzen, daher könnten sowohl natürliche als auch konstruierte Maus-Modelle zur Aufklärung der molekularen Pathophysiologie der Glaukome einen wichtigen Beitrag leisten.

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Tabelle 2: Schematische Darstellung der 3 codierenden Exons sowie der bislang identifizierten Mutationen des TIGR/MYOC Gens. Polymorphismen sind kursiv wiedergegeben, die in der Erlanger Studie gefundenen Mutationen sind fett gedruckt.

Exon 1	<i>Phe4Ser</i> (Fingert 1999)	Val244Ala (Michels-Rautenstrauss, unveröff.)
	<i>Cys9Ser</i> (Alward 1998)	Gly246Arg (Alward 1997)
	<i>Gly12Arg</i> (Fingert 1999)	Trp286Arg (Alward 1998)
	<i>Gln19His</i> (Alward 1998)	Thr293Lys (Alward 1998)
	Arg45Stop (Fingert 1999)	<i>Val329Met</i> (Fingert 1999)
		Pro334Ser (Kee 1997)
		Gln337Arg (Stoilova 1997)
		Glu352Lys (Alward 1998; Fingert 1999)
		Thr353Ile (Fingert 1999)
		Pro361Ser (Alward 1998)
	Gly364Val (Stone 1997)	
	Gly367Arg (Michels-Rautenstrauss 1998, Suzuki 1997, Mansergh 1998)	
	Gln368Stop (Stone 1997, Mardin 1999, Michels-Rautenstrauss, unveröff., Alward 1998, Allingham 1997)	
	Pro370Leu (Michels-Rautenstrauss 1998, Adam 1997, Suzuki 1997)	
	Thr377Met (Alward 1998)	
	Asp380Gly (Alward 1998)	
	396INS397 (Alward 1998)	
	Ser393Arg (Fingert 1999)	
	<i>Lys398Arg</i> (Alward 1998)	
	<i>Val402Ile</i> (Fingert 1999)	
	Arg422Cys (Fingert 1999), Arg422His (Alward 1998)	
	Lys423Glu (Raymond 1997)	
	<i>Ser425Pro</i> (Fingert 1999)	
	Val426Phe (Mansergh 1998)	
	Gly434Ser (Michels-Rautenstrauss, unveröff.)	
	Tyr437His (Stone 1997)	
	Ala445Val (Alward 1998)	
	1 bp del codon 453 (Fingert 1999)	
	Ile465Met (Fingert 1999)	
	Arg470Cys (Alward 1998, Michels-Rautenstrauss, unveröff.)	
	<i>Tyr473Cys</i> (Fingert 1999)	
	Ile477Ser (Adam 1997)	
	Ile477Asn (Alward 1998)	
	Asn480Lys (Adam 1997)	
	Pro481Thr (Fingert 1999)	
	Pro481Leu (Fingert 1999)	
	Glu483Stop (Fingert 1999)	
	<i>Val495Ile</i> (Alward 1998)	
	Ile499Phe (Adam 1997)	
	<i>Lys500Arg</i> (Alward 1998)	
Exon 2	<i>Ser 203Phe</i> (Alward 1998)	

Adultes chronisches Offenwinkelglaukom (COWG)

Für das autosomal dominant vererbte chronische Offenwinkelglaukom (COWG) konnten in zwischen fünf Genorte in den Regionen 2cen-q13 (GLC1B [Stoilova et al. 1996]), 3q21-24 (GLC1C [Wirtz et al. 1997]), 8q23 (GLC1D [Trifan et al. 1998]), 10p15-p14 (GLC1E [Sarfarazi et al. 1998]) und 7q35-36 (GLC1F [Wirtz et al. 1998]), aber noch kein weiteres Krankheitsgen kloniert werden [Übersicht in Raymond (1997)].

Primäres kongenitales Glaukom (PKG, Buphthalmus)

In Familien mit autosomal-rezessiv vererbtem, primärem, kongenitalem Glaukom sind bisher zwei Genorte (GLC3A und GLC3B), in den Regionen 2p21 [Sarfarazi et al. 1995] und 1p36 [Akarsu et al. 1997], eingegrenzt worden.

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Im Jahre 1997 erfolgte die Identifizierung von krankheitsverursachenden Mutationen im Cytochrom P450 1B1 (CYP1B1) Gen in 5 GLC3A-gekoppelten PKG-Familien [Stoilov et al. 1997, Bejjani et al. 1997].

CYP1B1 gehört zur Superfamilie der P450 Gene mit mehr als 300 Mitgliedern. Diese Proteine sind monomere polyfunktionelle Monooxygenasen und kontrollieren die steady-state Konzentrationen von Liganden in rezeptorvermittelten Signaltransduktionsketten, die Wachstum und Differenzierung beeinflussen [Nebert 1990, 1991]. Man nimmt an, daß CYP1B1 an der normalen Entwicklung und Funktion der Augenvorderkammer beteiligt ist. Das CYP1B1 Gen wird in verschiedenen nicht-okulären Geweben, aber auch in Trabekelwerkzellen, Ziliarkörper, Iris und Retina exprimiert [Sarfarazi et al. 1997].

Das CYP1B1 Gen erstreckt sich im Genom über mehr als 12 kb und besteht aus drei Exons [Tang et al. 1996], der offene Leserahmen besteht aus 1629 bp, die von Exon 2 und 3 kodiert werden und in eine 543 Aminosäuren lange Polypeptidkette translatiert werden. Etwa 50% der bisher identifizierten Mutationen führen zu einem verkürzten Protein bzw. zur Eliminierung der Häm-Bindedomäne (kodiert von Exon 3) oder zum Ausfall hoch konservierter Aminosäuren mit wichtiger funktioneller Bedeutung [Stoilov et al. 1998]. Insgesamt sind mittlerweile über 40 verschiedene krankheitsverursachende Mutationen in der Literatur und aus Tagungsbeiträgen bekannt [Stoilov et al. 1998; Bejjani et al. 1998].

Die genetische Heterogenität der Glaukome (vgl. Tab. 1) zeigte sich auch in einem Fall mit familiärem, sekundärem Offenwinkelglaukom bei primärer Melanindispersion ohne Kopplung mit dem GLC1A Locus [Paglinauan et al. 1995].

FRAGESTELLUNGEN UND ERGEBNISSE

Untersuchungen zur Genetik der Glaukome

Hauptziel der Untersuchungen ist, unbekannte Glaukom-verursachende oder begünstigende Gene zu identifizieren sowie die Relevanz der bekannten Gene zu überprüfen. Hierfür werden überwiegend Patienten der Universitätsaugenklinik Erlangen in Anspruch genommen. Darüberhinaus wurden DNA-Proben aus der Humangenetik in Würzburg und Göttingen sowie der Universitäts-Augenklinik Regensburg erhalten. Um weitere Glaukom-Familien für eine erfolgreiche Gensuche an der Studie zu beteiligen, wurden bestehende Kooperationen mit dem Instituto Nacional de Investigaciones en Salud (INISA) in San Jose, Costa Rica, sowie mit dem Gesundheitsministerium in Oman um Glaukome erweitert.

Primäres Offenwinkelglaukom

Das Erlanger Glaukomregister (Glaukomsprechstunde) umfaßt mittlerweile über 1000 klinisch und sinnesphysiologisch bis zu 8 mal untersuchte Patienten, aus dieser Gruppe stehen bisher ca. 440 DNA-Proben zur Verfügung, die unselektierte POWG Patienten in jedwelchem Stadium, darunter auch NDG und verschiedene sek. OWG (Pigmentdispersionssyndrom, PEX), umfassen. Die Altersstruktur reicht von juvenil (3-30) über spät-juvenil (30-40) bis adult (>40).

Im Berichtszeitraum wurden insgesamt ca. 580 DNA-Proben von Glaukom-Patienten gesammelt, 540 hiervon wurden 1997 – 1999 molekulargenetisch hinsichtlich MYOC Mutationen untersucht. 395 DNA Proben hiervon stammen aus dem Erlanger Glaukomregister, 145 weitere DNA-Proben von JOWG-Familien und Patienten stammen aus anderen Quellen, die zur Aufnahme in das Erlanger Glaukomregister vorgesehen sind. Als Kontrollen stehen bislang 31 DNA-Proben von klinisch untersuchten Gesunden zur Verfügung.

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Für die Familie JOWG-ER1 mit typischem juvenilem Offenwinkelglaukom konnte zunächst die Kopplung an den GLC1A Locus unmittelbar vor Bekanntwerden des TIGR Gens gezeigt werden, im TIGR/MYOC Gen konnte dann eine stabil mit dem Phänotyp segregierende Pro370Leu Mutation gefunden werden. Mittels FISH wurde das TIGR Gen in Chr. 1q24.3-q25.2 feinlokalisiert. Für die Familie JOWG-ER2 konnte eine Gly367Arg Mutation gefunden werden [Michels-Rautenstrauss et al. 1998]. Eine Val244Ala Mutation wurde für die Familie JOWG-ER3 gefunden [Michels-Rautenstrauss et al. 1999]. Für weitere 9 JOWG Patienten konnte bislang keine Mutation im kodierenden Bereich des MYOC Gens gefunden werden. Überraschenderweise fand sich eine Gln368Stop Mutation bei einem Patienten mit Normaldruck-Glaukom [Mardin et al. 1997, 1998, 1999a]. Die Untersuchung von weiteren, gesunden Familienmitgliedern ergab 6 Mutationsträger, die teilweise über 60 Jahre alt sind [Michels-Rautenstrauss et al. 1998]. Damit kann diese weltweit am häufigsten gefundene Mutation zumindest als sehr mild eingestuft werden.

Insgesamt wurden für ca. 5% der 540 untersuchten Patienten eine TIGR/MYOC Mutation gefunden.

In der Tabelle 3 sind die vorläufigen Ergebnisse der Erlanger Studie bezogen auf die Glaukomsprechstunde wiedergegeben.

Tabelle 3: TIGR/MYOC Mutationshäufigkeiten bezogen auf 395 Patienten der Erlanger Glaukomsprechstunde, differenziert nach Glaukomtyp.

Sprechstunde	Häufigkeit	Mutation
alle (n=395)	3,3 % 1,3 %	missense/nonsense Polymorphismen
normale (n=71)	2,8 %	Gln368Stop, Arg470Cys
OHT (n=82)	1,2 % 3,7 %	Gln368Stop Thr325Thr 2xTyr347Tyr
Präperi. OWG (n=114)	3,5 % 0,9 %	Gly434Ser, Val244Ala 2x Gln368Stop Tyr347Tyr
Peri. OWG (n=52)	7,7 %	2x Gln368Stop Arg470Cys, Val244Ala
NDG (n=43)	4,7 % 2,3 %	Gln368Stop Tyr347Tyr
Sek. Peri. OWG (n=14)	7,1 %	Arg470Cys
andere (n=19)	0 %	-

Legende: OHT=okuläre Hypertension, OWG=Offenwinkelglaukom

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

NDG=Normaldruckglaukom

Kongenitales Glaukom

Für das kongenitale Glaukom (Buphthalmus) wurden 20 Patienten und nach Möglichkeit deren Eltern sowie weitere Angehörige auf Mutationen im CYP1B1 Gen geprüft. Es wurden 2 sicher pathogene Mutationen sowie 5 bekannte, exonische Polymorphismen in Verbindung mit einer möglicherweise pathogenen Mutation gefunden: Arg355Stop homozygot (PCG-ER17); 1410del13/1546dup10 in einem Patienten sowie diese Mutationen einzeln bei den gesunden Eltern (PCG-ER16); Ala443Gly in Verbindung mit bekannten Polymorphismen Arg48Gly, Arg119Ser, Val432Leu, Asp449Asp, Asn453Ser, die Eltern werden noch untersucht (PCG-ER15). In den laufenden Untersuchungen sind weitere Polymorphismen bzw. heterozygote Mutationen aufgetreten, die gegenwärtig geklärt werden. Die Stammbäume der PKG Familien sind im Anhang. Die weitere Untersuchung wird auch hier Möglichkeiten schaffen, die pathogenen Wirkungen der Genveränderungen in Verbindung mit einer exakten phänotypischen Charakterisierung zu spezifizieren [Mardin et al. 1999b].

Primäres Offenwinkelglaukom und die Prostaglandinsynthase 2 (PGSH-2)

Cyclooxygenase 2 (COX-2) oder Prostaglandinsynthase 2 (PGSH-2)[Appleby et al. 1994]: Aufgrund der Befunde in den Teilprojekten BI.1 und BI.3 zur verminderten Expression des PGSH-2 Genes in Glaukom-Spenderaugen [Mayhöfer et al. 1999] wird momentan ein Mutationscreening in >220 Patienten mit manifestem Glaukom durchgeführt. Erste Ergebnisse zeigen intronische Mutationen, die evtl. das Spleißverhalten beeinflussen können, in codierenden Bereichen wurde bislang keine Mutation gefunden [vgl. Friedmann et al. 1997]. Die intronischen Mutationen wurden teilweise in der Familie JOWG-ER1 zusammen mit einer pathogenen MYOC Mutation (Pro370Leu) gefunden. Nachdem einer der Patienten dieser Familie mit typischem JOWG zwar keine MYOC Mutation, aber ein Normaldruckglaukom und Diabetes aufweist, könnte es sich bei COX-2 um ein erstes Suszeptibilitätsgen für Glaukome handeln [Michels-Rautenstraß et al. 1999].

Expressionsanalysen

Durch PCR gerichtete in vitro Mutagenese wurden die Mutationen Gly367Arg und Gln368Stop in eine MYOC cDNA eingeführt und sollen dann sowohl in S2-Zellen (Drosophila) als auch in Trabekelwerk-Zellen der Maus (Kooperation mit Frau Prof. Lütjen-Drecoll und Herrn Prof. Tamm) in Kultur exprimiert werden [Ekici et al. 1997, 1998, Schneider et al. 1972, Rautenstraß et al. 1998].

RISH-Experimente an Embryonen der Maus mit einer in vitro transkribierten anti-sense MYOC Sonde ergaben nur schwache Signale in fortgeschrittenen Entwicklungsstadien, deren Spezifität noch geprüft wird.

Untersuchungen zur TIGR Expression an lymphoblastoiden Zellen ergaben keine Induzierbarkeit durch Dexamethason, aber eine schwache konstitutive Expression. Ähnliche Experimente zur PGSH-2 Expression nach LPS Induktion werden momentan durchgeführt.

Des Weiteren wurden >250 DNA Proben von sekundären Glaukomen und anderen okulären Erkrankungen gesammelt:

Iridokorneale Dysgenese :

Rieger-Anomalie: 9 Familien

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Axenfeld-Anomalie:	1 Familie
Sklerokornea:	5 Familien
Aniridie:	1 Familie

kongenitale Katarakte:	12 Familien
Morbus Stargardt:	2 Familien
<u>Hornhautdystrophien:</u>	<u>8 Familien</u>

Das Sammeln von Falk-Rubinstein Trios (n=200) soll es in Zukunft ermöglichen, Kandidatengene und SNP's im Transmission Disequilibrium Test (TDT) zu überprüfen. Je nach Bereitschaft der Patienten zur Mitarbeit werden auch "sib pair" Analysen angestrebt.

Durch die Präsentation der Ergebnisse der Erlanger Studie bei internationalen Fachtagungen war es möglich, mit anderen Arbeitsgruppen Kooperationen einzugehen. Hierzu gehört Prof. Lupski am Baylor College of Medicine, Houston, USA, zu Fragen der kongenitalen Glaukome. Prof. Lupski hatte die Oligonukleotide zum CYP1B1 Mutationsscreening zur Verfügung gestellt. Mit Prof. Sarfarazi, Connecticut, USA, wurde ebenfalls eine Kooperation im Sinne einer Blindstudie zur Evaluierung der PGSH-2 Mutationen an seinen DNA Proben vereinbart. Durch die vorgelegten Arbeiten war es möglich, ein Ophthalmogenetik-Satellitensymposium im Rahmen der GfH Jahrestagung 1999 in Nürnberg mit internationalen Gastrednern (Prof. Lupski, Dr. Bejjani, Prof. Sarfarazi) durchzuführen.

Zitierte Literatur:

- Adam MF, Belmouden A, Binisti P, Brezin AP, Valtot F, Bechettille A, Dascotte J-C, Copin B, Gomez L, Chaventre A, Bach J-F, Garchon H-J (1997) Recurrent mutations in a single exon encoding the evolutionary conserved olfactomedin-homology domain of TIGR in familial open-angle glaucoma. *Hum. Mol. Genet.* 6(12): 2091-2097
- Akarsu AN, Turacli ME, Aktan SG, Barsoum-Homsy M, Chevrette L, Sayli BS, Sarfarazi BM (1997) A second locus (GLC3B) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) maps to 1p26. *Hum Mol Genet* 5: 1199 -1203
- Allingham RR, Wiggs JL, Reardon M, Jones K, Herndon L, Tallett D, Broome B, Del Bono EA, Haines JL, Pericak-Vance MA (1997) TIGR (GLN380STOP) mutation in families with primary open angle glaucoma. *Am J Hum Genet Suppl.* 61(4): #1544
- Alward WLM, Fingert JH, Coote MA, Johnson AT, Lerner SF, Junqua D, Durcan FJ, McCartney PJ, Mackey DA, Sheffield VC and Stone EM (1998) Clinical Features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene (GLC1A). *New Eng J Med* 338:1022-1027
- Andreotti-Zaugg C, Scott RJ, Iggo R (1997) Inhibition of nonsense-mediated messenger RNA decay in clinical samples facilitates detection of human MSH2 mutations with an in vivo fusion protein assay and conventional techniques. *Cancer Res* 57:3288-3293
- Appleby SB, Ristimäki A, Neilson K, Narko K, Timothy HLA (1994) Structure of the human cyclo-oxygenase-2 gene *Biochem J* 302:723-727
- Barsoum-Homsy et al. (1986), incidence and prognosis of childhood glaucoma. a study of 63 cases. *Ophthalmology* 93:1323
- Bejjani BA, Lewis RA, Tomey KF, Anderson KL, Dueker DK, Jabak M, Astle WF, Otterud B, Leppert M and JR Lupski (1998) Mutations in CYP1B1, the gene for Cytochrome

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

- P4501B1, are the predominant cause of primary congenital glaucoma in Saudi Arabia. *Am J Hum Genet* 62:325-333
- Ekici AB, Park O, Fuchs C, Rautenstrauss B (1997) One tube-two stage PCR-directed *in vitro* mutagenesis using megaprimers. TIG, Technical Tips Online, <http://www.elsevier.com/locate/tto>; T01122
- Ekici AB, Fuchs C, Nelis E, Hillenbrand R, Schachner M, Van Broeckhoven C, Rautenstrauss B. An adhesion test system based on Schneider cells to determine genotype-phenotype correlations for mutated P0 proteins. *Genetic Analysis: Biomolecular Engineering* 14: 117-119; 1998
- Fingert JH, Clark, TD, Beck G, Hockey R, Alward WLM, Sheffield VC, Stone EM (1997) Characterization of the Glaucoma Phenotypes associated with two mutations in the GLC1A gene. Poster 102, suppl. *Am. J. Hum. Genet.* 61(4)
- Fingert JH, Ying L, Swiderski R, Nystuen AM, Arbour NC, Alward WLM, Sheffield VC and Stone E (1998) Characterization and Comparison of the Human and Mouse GLC1A Glaucoma Genes. *Gen Res* 8:377-384
- Fingert JH, Heon E, Liebmann JM, Yamamoto T et al. (1999) Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum. Mol. Genet.* 8(5): 899-905
- Friedman KJ, Heim RA, Knowles MR, Silverman LM (1997) Rapid characterization of the variable length polythymidine Tract in the Cystic Fibrosis (CFTR) gene: Association of the 5T Allele with selected CFTR Mutations and its incidence in atypical sinopulmonary disease. *Hum Mut* 10:108-115
- Graff C, Urback SF, Jerndal T, Wadelius C (1995) Confirmation of linkage to 1q21-31 in a Danish autosomal dominant juvenile-onset glaucoma family and evidence of genetic heterogeneity. *Hum Genet* 96: 285-289
- Hühne K, Park O, Liehr T, Rautenstrauss B, (1999) Expression Analysis of the PMP22 Gene in Glioma and Osteogenic Sarcoma Cell Lines. *J. Neurosc. Res.* 58:624-631
- Kee C and Ahn BH (1997) TIGR gene in primary open-angle glaucoma and steroid-induced glaucoma. *Korean J Ophthalmol* 11: 75-78
- Kubota R, Noda S, Wang Y, Minishima S, Asakawa S, Kudon J, Mashima Y, Oguchi Y, Shimizu N (1997) A novel myosin-like protein (myocilin) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor: molecular cloning, tissue expression, and chromosomal mapping. *Genomics* 41: 360-369
- Lütjen-Drecoll E, May CA, Polansky JR, Johnson DH, Bloemendal H, Nguyen TD (in press) Localization of the stress proteins α B-crystallin and TIGR in normal and glaucomatous trabecular meshwork. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*
- Mansergh FC, Kenna PF, Ayuso C, Kiang AS, Humphries P, Farrar GJ (1998) Novel Mutations in the TIGR gene in early and late onset open angle glaucoma. *Hum Mutation* 11:244-251
- Mardin C, Budde WM, Rautenstrauss K, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B (1997): Heterogenität in einer Familie mit autosomal dominant vererbtem Offenwinkelglaukom. *Ophtalmologe (Suppl. 1)* 92:176
- Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Budde WM, Rautenstrauss B (1998) Häufigkeit von TIGR Mutationen bei Patienten mit primären Offenwinkelglaukom und Glaukomverdacht unter Berücksichtigung der Familienanamnese. *Klin Monatsbl Augenheilkunde* 213:
- Mardin CY, Velten I, Özbey S, Rautenstrauss B, Michels-Rautenstrauss K (1999a) A GLC1A Gene Gln368Stop Mutation in a Patient with Normal-Tension Open-Angle Glaucoma. *J Glaucoma* 8:154-156

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

- Mardin CY, Zenker M, Mayer U, Naumann GOH, Rautenstrauss B, Michels-Rautenstrauss K (1999b) Mutation Screening in the CYP1B1 Gene of German Primary Congenital Glaucoma Patients. Amer. Soc. of Hum Genet. annual meeting #2719
- Mayhöfer (1999), Invest Ophthalmol Vis Sci 40: S827
- Michels-Rautenstrauss, Rautenstrauss B, Mardin CY, Budde W, Pfeiffer RA (1997) Genetische Grundlagen der Glaukome. Deutsches Ärzteblatt 45: 2996-3000
- Michels-Rautenstrauss K, CY Mardin, WM Budde, T. Liehr, J. Polansky, T Nguyen, V. Timmerman, C. Van Broeckhoven, GOH Naumann, RA Pfeiffer, B Rautenstrauss (1998) Juvenile Open Angle Glaucoma: fine mapping of the TIGR gene to 1q24.3-q25.2 and mutation analysis. Hum Genet 102:103-106.
- Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Schweitzer D, Oezbey S, Schloetzer-Schrehardt U, Naumann GOH, Rautenstrauss B (1999) GLC1A-Locus: Mutation Screening in MYOC/TIGR and COX-2 of German POAG Patients. Amer. Soc. of Hum Genet. annual meeting #2731
- Morissette J, Clepet C, Moisan S et al. (1998) Homozygotes carrying an autosomal dominant TIGR mutation do not manifest glaucoma. Nat Genet 19:319-321
- Muhlrad D, Parker R (1994) Premature translational termination triggers mRNA decapping. Nature 370: 578-581
- Nebert DW (1990) Growth signal pathways. Nature 347: 709-710
- Nebert DW (1991) Proposed role of drug-metabolizing enzymes: regulation of steady state levels of the ligands that effect growth, homeostasis, differentiation, and neuroendocrine functions. Mol Endocrinol 5:1203-1214
- Nguyen TD, Chen P, Huang WD, Chen H, Johnson D and Polansky JR (1998) Gene structure and properties of an olfactomedin-related glycoprotein, TIGR, cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells. J Biol Chem 273 (11): 6341-6350
- Ortego J, Escribano J, Coca-Prados M (1997) Cloning and characterization of subtracted cDNAs from a human ciliary body library encoding TIGR, a protein involved in juvenile open angle glaucoma with homology to myosin and olfactomedin. FEBS Letters 413: 349-353
- Paglinauan C, Haines JL, Del Bono EA, Schuman J, Stawski S, Wiggs JL (1995): Exclusion of chromosome 1q21-q31 from linkage to three pedigrees affected by the Melanin-dispersion syndrome. Am J Genet 56: 1240-3
- Polansky JR, Fauss DJ, Chen P, Chen H, Lütjen-Drecoll E, Johnson D, Kurtz RM, Ma Z-d, Bloom E, Nguyen TD (1997) Cellular pharmacology and molecular biology of the trabecular meshwork inducible glucocorticoid response gene product. Ophthalmologica 211: 126-139
- Rautenstrauss B, Fuchs C, Ekici A, Nelis E, Van Broeckhoven C, Liehr T (1998) Assay of transfection rate in insect cells on a single cell level. Genetic Analysis:Biotechnical Letters, 14: 117-119
- Raymond V (1997) Molecular genetics of the glaucomas: mapping of the first five "GLC" loci. Am J Hum Genet 60: 272-277
- Richards JE, Lichter PR, Boehnke M, Uro JL, Torrez D, Wong D, Johnson AT (1994): Mapping of a gene for autosomal dominant juvenile-onset open-angle glaucoma to chromosome 1q. Am J Hum Genet 54: 62-70
- Sarfarazi M, Akarsu AN, Hossain A, Ruracli ME, Aktan SG, Barsoum-Homsy M, Chevrette L et al (1995) Assignment of a locus (GLC3A) for primary congenital glaucoma (Buphthalmos) to 2p21 and evidence for genetic heterogeneity. Genomics 30: 171 - 177
- Sarfarazi M, Child A, Stoilova D, Brice G, Desai T, Trifan OC, Poinosawmy D, Crick RP (1998) Localization of the Fourth Locus (GLC1E) For adult-onset primary open-angle glaucoma to the 10p15-p14 region. Am J Hum Genet 62:641-652

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

- Sarfarazi M (1997) Recent advances in molecular genetics of glaucomas. *Hum. Molec. Genet.* 6(10): 1667-1677
- Schaid DJ (1998) Transmission disequilibrium, family controls and great expectations. *Am. J. Hum. Genet.*, 63: 935-941
- Schneider, I. (1972) Cell lines derived from late embryonic stages of *Drosophila melanogaster*. *J. Embr. Exp. Morph.*, 27,2, 353-365.
- Sheffield VC, Stone EM, Alward WLM, Drack AV, Johnson AT, Streb LM, Nichols BE (1993). Genetic linkage of familial open angle glaucoma to chromosome 1q21-q31. *Nat Genet*; 4: 47-50
- Shields M, Ritch R, Krupin T (1996). Classification of the glaucomas. In Rotch R, Shields BM, Krupin T (eds) *The Glaucomas*. Mosby, St. Louis, Vol 2, pp. 717-725
- Stoilov I, Akarsu AN, Sarfarazi M (1997) Identification of three different truncating mutations in cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) as the principal cause of primary congenital glaucoma (Buphthalmos) in families linked to the GLC3A on chromosome 2p21. *Human Molecular Genetics* 6(4): 641-647
- Stoilov I, Nurten A, Aloize I, Child A, Barsoum-Homsy M, Turacli ME, Or M, Lewis RA, Ozdemir N, Brice G, Aktan SG, Chevrette L, Coca-Prados M and Sarfarazi M (1998) Sequence analysis and homology modeling suggest that primary congenital glaucoma on 2p21 results from mutations disrupting either the hinge region or the conserved core structures of cytochrome P4501B1. *Am J Hum Genet* 62:573-584
- Stoilova D, Child A, Trifan OC, Crick RP, Coakes RL, Sarfarazi M (1996) Localization of a locus (GLC1B) for adult-onset primary open angle glaucoma to the 2cen-q13 region. *Genomics* 36: 142 - 150
- Stoilova D, Child A, Fleck BW, Barsoum-Homsy M, Ozdemir N, Brice G, Crick RP and Sarfarazi M (1997) Identification of a new "TIGR" mutation in a family with juvenile-onset primary open angle glaucoma. *Ophthalmic Genet* 18 (3): 109-
- Stone EM, Fingert JH, Alward WLM, Nguyen TD, Polansky JR, Sunden SLF (1997) Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science* 175: 668-670
- Sunden SLF, Alward WLM, Nichols BE, Rokhlina TR, Nystuen A, Stone EM, Sheffield VC (1996) Fine mapping of the autosomal dominant juvenile open angle glaucoma (GLC1A) region and evaluation of candidate genes. *Gen Res.* 6:862-869
- Suzuki Y, Shirato S, Taniguchi F, Ohara K, Nishimaki K and Ohta S (1997) Mutations in the TIGR gene in familial primary open-angle glaucoma in Japan. *Am J Hum Genet* 61: 1202-1204
- Tang YM, Wo P, Stewart J, Hawkins AL, Griffin CA, Sutter TR and Greenle WF (1996) Isolation and characterization of the human cytochrom P450 CYP1B1 gene. *J Biol Chem* 271:28324-28330
- Tomarev SI, Tamm ER, Chang B (1998) Characterization of the Mouse Myoc/Tigr Gene. *Biochem Biophys Res Com* 245:887-893
- Trifan OC, Traboulsi EI, Stoilova D, Alozie I, Nguyen R, Raja S, Sarfarazi M (1998) The third locus (GLC1D) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 8q23 region. *Am J Ophtalmol* 126(1): 17-28
- Wiggs JL, Haines JL, Paglinauan C, Fine A, Sporn C, Lou D (1994) : Genetic linkage of autosomal dominant juvenile glaucoma to 1q21 - q31 in three affected pedigrees. *Genomics* 21: 299-303
- Wirtz MK, Samples JR, Kramer PL, Rust K, Topinka JR, Yount J, Koler RD, Acott TS (1997) Mapping of gene for adult-onset primary open-angle glaucoma to chromosome 3q. *Am J Hum Genet* 60: 296 - 394

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

Wirtz MK, Samples JR, Kramer PL, Yount J, Rust K, Acott TS (1998) Identification of a new adult-onset primary open angle glaucoma locus – GLC1F. Invest Ophthalmol Vis Sci 19 (4): Poster 2341

Veröffentlichungen

Originalarbeiten:

Michels-Rautenstrauss K, CY Mardin, WM Budde, T. Liehr, J. Polansky, T Nguyen, V. Timmerman, C. Van Broeckhoven, GOH Naumann, RA Pfeiffer, B Rautenstrauss (1998) Juvenile Open Angle Glaucoma: fine mapping of the TIGR gene to 1q24.3-q25.2 and mutation analysis. Hum Genet 102:103-106.

Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Budde WM, Rautenstrauss B (1998) Häufigkeit von TIGR Mutationen bei Patienten mit primären Offenwinkelglaukom und Glaukomverdacht unter Berücksichtigung der Familienanamnese. Klin Monatsbl Augenheilkunde 213:

Mardin CY, Velten I, Özbey S, Rautenstrauss B, Michels-Rautenstrauss K (1999) A GLC1A Gene Gln368Stop Mutation in a Patient with Normal-Tension Open-Angle Glaucoma. J Glaucoma 8:154-156

Übersichtsarbeiten:

Michels-Rautenstrauss, Rautenstrauss B, Mardin CY, Budde W, Pfeiffer RA (1997) Genetische Grundlagen der Glaukome. Deutsches Ärzteblatt 45: 2996-3000

Michels-Rautenstrauss KG, Mardin CY, Rautenstrauss B (1998) Der aktuelle Stand der Molekulargenetik der Glaukome. Med Gen 4: 491-495

Tagungsbeiträge:

Budde WM, Mardin CY, Rautenstrauss K, Rautenstrauss B (1997) Eine deutsche Familie mit autosomal dominantem juvenilem Offenwinkelglaukom: Klinische Befunde und Segregationsanalyse auf Chromosom 1. Jahrestagung der Vereinigung der Bayerischen Augenärzte, Regensburg.

Budde WM, Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Rautenstrauss B (1998) GLC1A (TIGR) Mutations in German Glaucoma families. 2nd International Glaucoma Symposium - IGS, Tel Aviv, Israel.

Mardin C, Budde WM, Rautenstrauss K, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B (1997): Heterogenität in einer Familie mit autosomal dominant vererbtem Offenwinkelglaukom. Ophthalmologe (Suppl. 1) 92:176

Mardin CY, Michels-Rautenstrauss K, Budde WM, Rautenstrauss B (1998) Häufigkeit von TIGR-Genmutationen bei Patienten mit primärem Offenwinkelglaukom und Glaukomverdacht unter Berücksichtigung der Familienanamnese. Jahrestagung der Bayerischen Augenärzte, Monatsblatt Augenheilkunde: 213

Mardin CY, Velten I, Michels-Rautenstrauss K, Rautenstrauss B (1998) Klinisch-molekulargenetische Korrelationen bei Glaukomen. 96. Tagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft; Ophthalmologe: 95

Mardin CY, Zenker M, Mayer U, Naumann GOH, Rautenstrauss B, Michels-Rautenstrauss K (1999) Mutation Screening in the CYP1B1 Gene of German Primary Congenital Glaucoma Patients. Amer. Soc. of Hum Genet. annual meeting #2719

Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Schweitzer D, Oezbey S, Schloetzer-Schrehardt U, Naumann GOH, Rautenstrauss B (1999) GLC1A-Locus: Mutation Screening in MYOC/TIGR and COX-2 of German POAG Patients. Amer. Soc. of Hum Genet. annual meeting #2731

Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Gusek-Schneider G, Zenker M, Naumann GOH, Rautenstrauss B. (1999) Mutation analysis in German Primary Congenital Glaucoma (PCG)

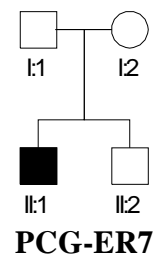
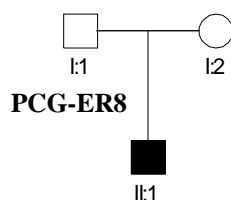
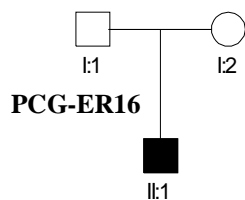
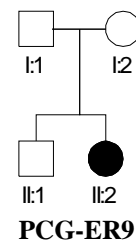
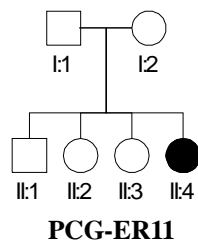
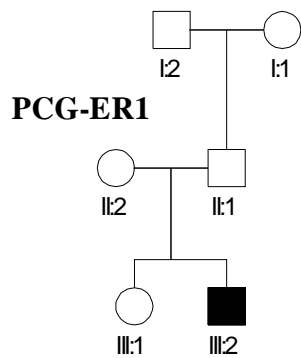
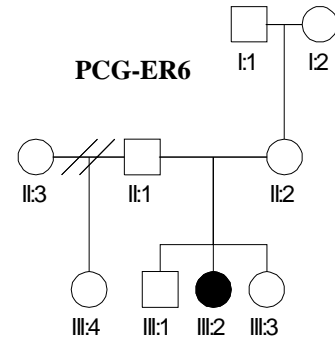
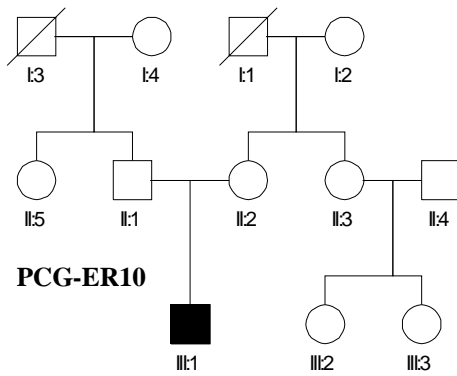
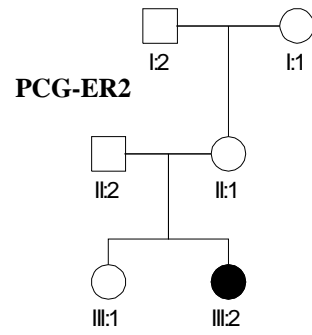
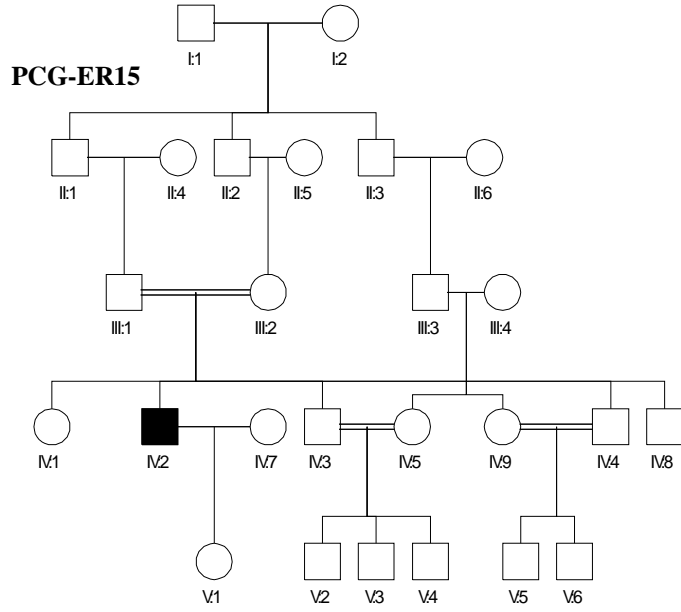
Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

- patients: Direct sequencing of the Cytochrome P4501B1 gene. GfH Jahrestagung 22.-25. März
- Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Budde WM, Özbey S, Gräßer J, Liehr T, Naumann GOH, Pfeiffer RA and Rautenstrauss B Mutation analysis in primary open-angle glaucoma patients. 10. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik gemeinsam mit der Österreichischen Gesellschaft für Humangenetik, Jena, 25.-28. März 1998. Med Gen (1998) 1: Poster 6A-36
- Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Budde WM, Özbey S, Gräßer J, Liehr T, Naumann GOH, Pfeiffer RA and Rautenstrauss B (1998) Mutation analysis in primary open-angle glaucoma patients. 30th Annual Meeting of the European Society of Human Genetics, Lisbon, Portugal, 10.-13. Mai 1998. Eur J Hum Genet 6:143
- Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Budde WM, Oezbey S, Graesser J, Schweitzer D, Naumann GOH, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B (1998) TIGR/MYOC mutation screening in German primary open angle glaucoma (POAG) patients (Poster). Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Denver, 27.-31.10.1998. Am J Hum Genet (1998) vol. 63, 4: A374, Poster 2168
- Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Özbey S, Gräßer J, Naumann GOH, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B. (1999) Gln368Stop Mutation in the GLC1A Gene of healthy carriers.11. GfH Tagung, Nürnberg, 24.-27. März, Medizinische Genetik 1
- Özbey S, Mardin CY, Naumann GOH, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B, Michels-Rautenstrauss K Mutation screening in the GLC1A gene of primary open angle glaucoma (POAG) patients (1999) 11. GfH Tagung, Nürnberg, 24.-27. März, Medizinische Genetik 1
- Oezbey S, Ekici AB, Kierysch E, Michels-Rautenstrauss K, Mardin CY, Rautenstrauss B (2000) TIGR/MYOC expression assay: analysis of the effective fluorescence for different GFP and BFP proteins in S2 cells. GfH Jahrestagung 22.-25. März
- Rautenstrauss K, Opelz C, Thoma K, Kammler K, Mardin CY, Budde WM, Timmerman V, Van Broeckhoven C, Naumann GOH, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B (1997) Segregation analysis for the autosomal dominant juvenile open angle glaucoma (GLC1A) region in a German family. Med Gen 1:92, P8-21
- Rautenstrauss, K, Mardin CY, Budde WM, Liehr T, Timmerman V, Van Broeckhoven C, Naumann GOH, Pfeiffer RA, Rautenstrauss B (1997) Autosomal dominant open angle glaucoma (GLC1A): fine mapping of the TIGR gene to 1q24.3-25.2 and identification of a novel mutation in a German family. 47th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Baltimore (USA).

Herr PD Dr. Rautenstrauss hat sich am 29.12.1998 für das Fach Molekulare Humangenetik habilitiert. Seine Schrift über

"hereditäre motorische und sensible Neuropathien: Experimentelle Beiträge zur Charakterisierung der ursächlichen Mutationen und ihrer phänotypischen Auswirkungen" wurde auf Empfehlung des wissenschaftlichen Beirates der Deutschen Gesellschaft für Muskelkranke im Jahr 1999 mit dem Sanofi-Winthrop-Myopathie Preis ausgezeichnet.

Arbeitsbericht Teilprojekt C.2



Arbeitsbericht Teilprojekt C.2

