

Emery-Dreifuss Muskeldystrophie – genetische Dissektion eines Phänotyps

Manfred S. Wehnert, Maria Hoeltzenbein

Institut für Humangenetik, Greifswald

Zusammenfassung

Die Emery-Dreifuss Muskeldystrophie (EMD) ist eine seltene langsam progrediente neuromuskuläre Erkrankung, die X-chromosomal oder autosomal dominant vererbt wird. Ursache der X-chromosomalen EMD sind unterschiedliche Mutationen im Emerin-Gen, die in etwa 95 % der Fälle zum völligen Mangel des Genproduktes Emerin führen. Eine eindeutige Genotyp/Phänotyp-Korrelation fehlt, obwohl bei einer Missensmutation Pro183Thr ein signifikant milderer Phänotyp auftrat. Klinisch findet man eine große intra- und interfamiliäre Variabilität. Durch Mutationsanalyse läßt sich die X-chromosomale EMD von autosomalen Formen und Phänokopien abgrenzen. Bisher konnte eine autosomal dominante Form auf Mutationen im Lamin A/C-Gen, das 1q 21.2-21.3 kartiert, zurückgeführt werden. Genetische Heterogenität bei den autosomalen EMD-Formen läßt vermuten, daß weitere dem Lamin und Emerin verwandte Gene dem EMD-Phänotyp zugeordnet werden können.

Schlüsselwörter

Emery-Dreifuss Muskeldystrophie (EMD), Genetik, Phänotyp

Summary

Emery-Dreifuss muscular dystrophy – genetic dissection of a phenotype

Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EMD) is a rare, benign neuromuscular disorder of X-linked or autosomal dominant inheritance. X-linked EMD is associated with heterogeneous mutations of the emerin gene, leading to a virtual loss of the gene product emerin in approx. 95% of the cases. There is no straight forward genotype/phenotype correlation, although significantly milder clinical expression was observed in a missense mutation Pro183Thr. Moreover, a wide range of intra- and interfamilial clinical variability can be found. X-linked EMD can be differentiated from autosomal forms and phenocopies by mutation analysis. So far one autosomal dominant form could be associated with mutations in the Lamin A/C gene that maps to 1q21.2-q21.3. Additionally, genetic heterogeneity suggests the association of further lamin or emerin related genes to the EMD phenotype.

Keywords

Emery-Dreifuss muscular dystrophy (EMD), genetics, phenotype

Gewöhnlich manifestiert sich die Emery-Dreifuss-Muskeldystrophie (EMD) (5) bereits im Kindesalter mit leicht progressiver Muskelschwäche und –atrophie der oberen und unteren Extremitäten – anfänglich mit einer humero-peronealen Verteilung. Kontrakturen der Ellenbogen- und Achillessehnen sowie der Wirbelsäule v.a. im Bereich der Nackenmuskulatur sind ebenfalls frühe, charakteristische Erkrankungsmerkmale (Abb 1), die im Gegensatz zu anderen Muskeldystrophien bereits vor der Muskelschwäche auftreten. Im Erwachsenenalter ist die Mobilität der meisten Betroffenen stark eingeschränkt (Abb 1 A,B,D). Kardiale Leitungsstörungen in Form von AV-Blockierungen oder Arrhythmien und Kardiomyopathien führen zu einem erhöhten Risiko für einen plötzlichen Herztod und erfordern eine Schrittmacherimplantation (13). In Muskelbiopsien werden gewöhnlich dystrophische Veränderungen gefunden. Die Kreatinkinase ist häufig leicht erhöht. In der Regel wird die Erkrankung X-chromosomal vererbt. Es gibt aber auch eine seltenere autosomal dominant vererbte, auch als Hauptmann-Tannhäuser- oder Rigid Spine-Syndrom beschriebene Form (12).

X-chromosomale EMD

Mutationsanalyse

Das mit der X-chromosomalen EMD assoziierte Gen wurde von Bione et al. (1) isoliert. Es besteht aus 6 Exons, die für ein Protein, genannt Emerin, bestehend aus 254 Aminosäuren kodieren. Seit der Entdeckung des Gens (1) wurden weltweit bisher 90 Muta-

Bild nur in Druckversion

Abb 1 Klinisches Bild der X-chromosomalen EMD

A Typische „Cowboy-Haltung“ des Patienten G-572 (del AT, nt908-909) im Alter von 35 Jahren mit Kontrakturen im Ellenbogen und humero-peroneal betonten Muskelatrophien.

B Kontrakturen der Wirbelsäule („rigid spine“) des Patienten G-572.

C Patient G-1677 (del 21 bp, nt -19 bis -40) im Alter von 6 Jahren, Z.n. Achillotomie bds., keine Kontrakturen im Ellenbogenbereich.

D Schweres Krankheitsbild des Patienten G-8500 (del TCTAC, nt 631-635) im Alter von 35 Jahren mit ausgeprägter Muskelschwäche, die zum frühzeitigen Verlust der Gehfähigkeit im Alter von 15 Jahren und Rollstuhlpflichtigkeit führte. Stehen ist kurzzeitig nur mit Unterstützung möglich. Zu beachten ist die maximale Flexion des Kopfes und der Wirbelsäule.

tionen identifiziert und in einer locus-spezifischen Mutationsdatenbank des EMD-Konsortiums zusammengefaßt (15). Charakteristisch für eine X-chromosomale Erkrankung, wurden 71 Mutationen bisher nur einmal nachgewiesen. Die überwiegend in Familien mit eindeutiger X-chromosomaler Vererbung oder solchen mit zwei betroffenen Brüdern gefundenen Mutationen repräsentieren meist Basensubstitutionen, kleine Deletionen oder Insertionen, die zu Nonsensmutationen, Rasterverschiebungen und fehlerhaftem Spleißen führen. Nur drei Mutationen beruhen auf größeren Deletionen. Die Mutationen sind über das ganze Emerin-Gen verteilt, scheinen aber am 5'-Ende häufiger aufzutreten. Meistens führen sie zu einem vollständigen Fehlen des Emerins (8). Missensmutationen sind sehr selten und wurden bisher nur in drei Fällen beschrieben (14). Bei nur etwa 15% der sporadischen, klinisch aber eindeutigen EMD-Patienten kann ein Emerinmangel bzw. Emeringenmutationen gefunden werden, was auf genetische Heterogenität, hervorgerufen durch Mutationen in anderen Genen bei den übrigen 85% hinweist (12).

Genotyp/Phänotyp-Korrelation

Durch die Mutationsanalyse wurde es möglich, definierte Emerin-Genmutationen mit dem klinischen Phänotyp zu vergleichen (12; 14). Nach der Untersuchung von 49 männlichen Patienten mit z.T. unterschiedlichen Null-Mutationen (14) treten erste Symptome durchschnittlich im Alter von 5,6 (4,2-6,9) Jahren auf. Im Alter von 9,1 (6,7-11,5) setzen die Achillessehnenkontrakturen ein. Ellenbogenkontrakturen treten durchschnittlich etwas später mit 18,1 Jahren (10,3-25,9) ein. Die Muskelschwäche beginnt in den unteren Extremitäten mit 10,3 (6,8-13,9) Jahren und in den oberen Extremitäten mit 13,7 (10,2-17,3) Jahren. Kontrakturen der Wirbelsäule werden mit 22,8 (17,6-28,1) Jahren beobachtet. Mit durchschnittlich 30,5 (25,9-35,2) Jahren setzen kardiale Probleme ein. Patienten mit Null-Mutationen sterben nach dieser Untersuchung im Durchschnittsalter von 53,7 (48,7-58,7) Jahren. Von den drei in dieser Studie untersuchten Missensmutationen, bei denen immunhistochemisch und durch Western Blotting Emerin nachgewiesen werden konnte, zeigten in der betroffenen Familie nur Patienten mit einer Pro183Thr Mutation einen signifikant milderen klinischen Verlauf als Patienten mit Null-Mutatio-

nen. Ein Hemizygoter aus der Familie mit Pro183Thr Mutation war sogar völlig erscheinungsfrei, so daß man bei dieser Missensmutation mit nachweisbarem Emerinprotein von einer intrafamiliär klinisch variablen Expression ausgehen muß. Daneben gibt es Berichte über eine Reihe von Patienten z.T. mit derselben Emeringenmutation mit bereits früher einsetzenden Symptomen und sehr schwerem Krankheitsverlauf bis hin zur Rollstuhlpflichtigkeit (6; 12). Insgesamt kann – abgesehen von der genannten Pro183Thr Missensmutation – bei der X-chromosomalen EMD jedoch keine klare Genotyp/Phänotyp-Korrelation festgestellt werden. Weiterhin kann man eine ausgesprochene intra- und interfamiliäre klinische Variabilität der Erkrankung beobachten. Sie reicht unabhängig von der Mutation auch intrafamiliär von nur durch kardiale Reizleitungsstörungen Betroffene, bis hin zu Patienten mit frühem Krankheitsbeginn und schweren Verlaufsformen (12).

Heterozygote für Emerin-Genmutationen haben gelegentlich Reizleitungsstörungen, entwickeln aber keine Kontrakturen und Muskelschwäche bzw. -atrophie. Sehr seltene Fälle können jedoch als Folge präferentieller X-

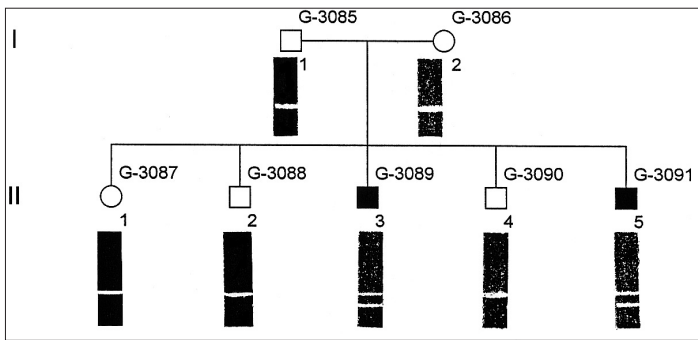


Abb 2 A
DNA und Proteindiagnostik bei X-chromosomaler EMD
Segregation einer Deletion (del TCTAC, nt 631-635)
mittels Heteroduplexanalyse in Stammbaum G-EMD-4

Die als schneller wandernde Marker-Bande im Elektropherogramm bei den erkrankten Brüdern II-3 und II-5 auftretende Heteroduplex ist nicht bei den gesunden Brüdern II-2 und II-4 nachweisbar. Die Schwester II-1 der Betroffenen weist die Marker-Bande auch nicht auf und kann als Carrier ausgeschlossen werden. Da auch die Mutter der Betroffenen die Marker-Bande nicht zeigt, ist sie als Keimzellmosaik einzuordnen.

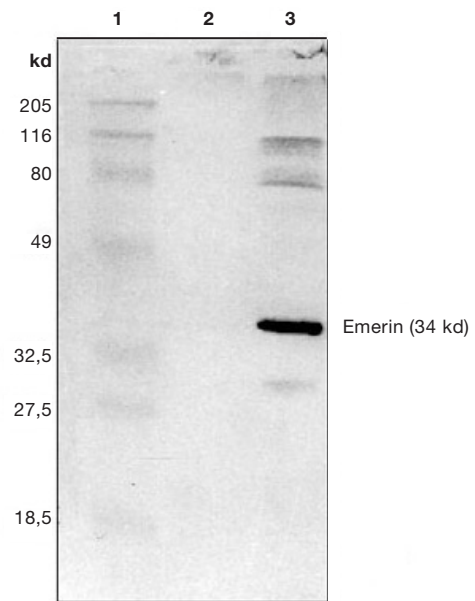


Abb 2 B
DNA und Proteindiagnostik bei X-chromosomaler EMD
 Westernblot-Analyse von Emerin
 Spur 1 - Molekulargewichtsmarker
 Spur 2 - Patient G-8500 (del TCTAC, nt 631-635)
 Spur 3 - Gesunde Kontrolle

Chromosomeninaktivierung den vollständigen klinischen Phänotyp ausprägen (12).

Diagnostik

Die X-chromosomale EMD kann differentialdiagnostisch durch den Nachweis einer Emeringenmutation von anderen phänotypisch ähnlichen Erkrankungen abgegrenzt werden. Gleichzeitig sind solche Mutationen in betroffenen Familien als direkte diagnostische Marker zur präsymptomatischen Diagnostik bzw. zum Heterozygotenausschluss geeignet (Abb 2 A). Da die übergroße Mehrheit der Emeringenmutationen in einem vollständigen Emerinmangel resultieren, kann durch den immunologischen Emerinnachweis mittels Western-Blotting (Fig. 2B) oder immunhistochemische Methoden eine Diagnose einfach und schnell in den verschiedensten Zell- bzw. Gewebetypen gestellt werden. Allerdings schließt der Nachweis von Emerin eine X-chromosomale EMD nicht vollständig aus, da man bei etwa 5% der Patienten mit einer Missensmutation rechnen muß, die normale immunologische Befunde liefern kann (14; 12), d.h., bei Patienten mit typischem klinischen Bild einer EMD und scheinbar normalem Emerin ist zur Absicherung des Befundes eine Mutationsanalyse auf DNA Ebene indiziert. Darüber hinaus läßt sich der Emerinnachweis auch nicht für Segregationsanalysen nutzen.

Proteinstudien

Emerin ist in einer Vielzahl von Geweben, unter anderem auch im Skelett- und im Herzmuskel, exprimiert (3; 9; 10). Es gehört, wie der lamin-bindende Rezeptor (LBR) und zwei Gruppen lamina-assoziierte Proteine (LAP1 und LAP2) zu einer Familie von Typ II transmembranen Proteinen, die mit einer hydrophoben Domäne in der inneren Membran von Interphasekernen verankert sind und mit einer hydrophilen Domäne in das Nukleoplasma hineinragen, (9; 10). Diese Proteine könnten zur strukturellen Integrität der inneren Kernmembran beitragen und gleichzeitig die Verbindung zwischen dem Heterochromatin und der nukleären Lamina herstellen (9). Die Lamina ist ein Netzwerk intermediärer Filamente, das der inneren Kernmembran angeschlossen ist und aus den Laminen A, B1, B2 und C besteht. Nach vorläufigen Ergebnissen von Gel-Overlay Experimenten wurde eine Gruppe von Proteinen identifiziert, die zu den Aminosäureresten 174-221 des Emerins binden (4; 12). Zu ihnen gehört auch das Actin, eine strukturelle Komponente des Zellkerns und des Zytoskeletts. Weiterhin scheint das Emerin in der mitotischen Zellteilung von Bedeutung zu sein, wie die zellzyklusabhängige Phosphorylierung des Emerins (4) und seine Assoziation zu den Mikrotubuli des mitotischen Spindelapparates zeigten (7). Dennoch kann zur präzisen Funktion des Emerins bisher keine Aussage getroffen werden.

Obwohl Emerin in vielen Zellen und

Geweben exprimiert wird (9; 10), beeinträchtigt sein Mangel in erster Linie zwei Gewebe – den Skelett- und den Herzmuskel. Cartegni et al. (3) fanden das Emerin außer in den Kernmembranen auch in den interkalierten Platten des Herzmuskels, was eine plausible Erklärung für die kardialen Reizleitungsstörungen wäre. Diese Befunde müssen nach Ergebnissen von Manilal et al. (9) jedoch bezweifelt werden. Vielmehr könnte die spezifische kardiale Beteiligung auf die Verteilung des Emerins, das nur in den Kernmembranen von Kardiomyozyten jedoch nicht in denen von „Nicht-Kardiomyozyten“ auftritt, erklärt werden. Für die Beteiligung des Skelettmuskels bei EMD gibt es bisher keine plausible molekulare pathologische Erklärung.

Autosomal dominante EMD

Die autosomal dominante Form der EMD scheint sehr selten und ähnlich wie die X-chromosomale EMD klinisch sehr variabel zu sein (12). So wiesen von 17 Betroffenen eines umfangreichen Stammbaumes nur fünf das vollständige Spektrum der klinischen Merkmale auf. Die übrigen 12 Patienten hatten ausschließlich kardiale Symptome, die zur Schrittmacherimplantation und sogar zur Herztransplantation führten (2; 12). Die Kopplungsanalyse lokalisierte die Erkrankung dieser Familie zu einem Locus im Intervall 1q11-q23 (2). Dasselbe Intervall wurde bereits früher bei der Linkage-Analyse in drei Familien mit autosomal dominanter Gliedergürtel Muskeldystrophie und kardialer Beteiligung

für den LGMD1B-Locus gefunden (11). Wenn man die klinische Variabilität beider Erkrankungsentitäten insbesondere der EMD und die Kopplungsdaten berücksichtigt, wäre denkbar, daß es sich hier um allelische Mutationen desselben Gens handeln könnte.

Auf dem Hintergrund des sich abzeichnenden, weiter oben bereits erwähnten, funktionellen lamina-assoziierten Komplexes, in den das Emerin integriert zu sein scheint, kommen als Kandidaten für die autosomal dominante EMD weitere dem Emerin verwandte, transmembrane Typ II Proteine, z.B. LBR, LAP1 und LAP2, infrage. Aber auch alle mit diesen Proteinen interagierende Partner, wie beispielsweise die Lamine und Actin sind potentielle Kandidaten. Beobachtungen, daß Lamin A eine ähnliche zelltypspezifische Verteilung wie das Emerin, d.h. im Herzen ausschließlich in Kardiomyozyten jedoch nicht in „Nichtkardiomyozyten“, besitzt (9) und Lamin A/C-Gen zu 1q21.2-q21.3 kartiert, machten es zu einem außerordentlich starken Kandidaten für die in dieses Intervall kartierende autosomale Form der EMD (2). Tatsächlich co-segregierte die autosomal dominante EMD in fünf Familien mit einer Nonsense- bzw. drei Missensmutationen im Lamin A/C-Gen. Die mutierten Lamine sind wahrscheinlich in ihrer Wechselwirkung zum Chromatin bzw. mit den integrierten Membranproteinen oder in der Filamentbildung gestört (2).

Berücksichtigt man alle bisher bekannten, am lamina-assoziierten Komplex beteiligten Proteine und deren potentielle Wirkung, kann damit gerechnet werden, daß wenn einzelne Proteinkomponenten ausfallen, EMD-ähnliche Phänotypen auftreten könnten. Tatsächlich gibt es erste Hinweise auf genetische Heterogenität bei der autosomal dominanten EMD (12). Sicherlich ist aber mit noch weiteren genetisch heterogenen Formen zu rechnen, wofür u.a. das bereits erwähnte zu seltene Auftreten von Emeringenmutationen bei sporadischen EMD-Patienten spricht. Man kann also davon ausgehen, daß solche heterogenen EMD-Formen durch genetische Dissektion in nicht zu ferner Zukunft entsprechenden Kandidatengenen zugeordnet

werden können. Damit werden sie sowohl zur Funktionsaufklärung des lamina-assoziierten Komplexes beitragen als auch helfen, die bisher noch im Dunklen liegende molekulare Pathologie dieser Gruppe von Muskeldystrophien zu verstehen, um davon effiziente Verfahren zur Diagnostik und kausalen Behandlung abzuleiten.

Literatur

1. Bione S, Maestrini E, Rivella S, Mancini M, Regis S, Romeo G, Toniolo D (1994) Identification of a novel X-linked gene responsible for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nature Genet* 8 323-327
2. Bonne G, Di Barletta MR, Varnous S, Bécan H-M, Hammouda E-H, Merlini L, Muntoni F, Greenberg CR, Gary F, Urtizberea J-A, Duboc D, Fardeau M, Toniolo D, Schwartz K (1999). Mutations in the gene encoding lamin A/C cause autosomal dominant Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nature Genet* 21 285-288
3. Cartegni L, Di Barletta MR, Barresi R, Squarzoni S, Sabatelli P, Maraldi N, Mora M, Di Blasi C, Cornelio F, Merlini F, Villa A, Cobiauchi F, Toniolo D (1997) Heart-specific localisation of emerin: new insights into Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 6 2257-2264
4. Ellis JA, Craxton M, Yates JRW, Kendrick-Jones J (1998) Aberrant intracellular targeting and cell cycle dependent phosphorylation of emerin contribute to EDMD. *J Cell Sci* 111 781-792
5. Emery AEH, Dreifuss FE (1966) Unusual type of a benign X-linked muscular dystrophy. *J Neurol Neurosurg. Psychiatry* 29 338-342
6. Hoeltzenbein M, Karow T, Zeller J.A., Warzok R, Wulff K, Zschesche M, Herrmann FH, Großheimeyer W, Wehnert, MS (1999) Severe clinical expression in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 9 166-170
7. Manilal S, Nguyen thi Man, Morris GE. Co-localization of emerin and lamins in interphase nuclei and changes during mitosis (1998a) *Biochem Biophys Res Commun* 249 643-647
8. Manilal S, Recan D, Sewry CA, Hoeltzenbein M, Llense S, Leturq F, Debrugrave N, Barbot J-C, Nguyen thi Man, Muntoni F, Wehnert M, Kaplan J-C, Morris G (1998b) Mutations in Emery-Dreifuss muscular dystrophy and their effects on emerin protein expression. *Hum Mol Genet* 7 855-864
9. Manilal S, Sewry CA, Pereboev A, Nguyen thi Man, Gobbi P, Hawkes S, Love DR, Morris GE (1999) Distribution of emerin and lamins in the heart and implications for Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Hum Mol Genet* 8 353-359
10. Nagano A, Koga R, Ogawa M, Kurano Y, Kawada J, Okada R, Hayashi YK, Tsukuhara T, Arahata K (1996) Emerin deficiency at the nuclear membrane in patients with Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Nature Genet* 12 254-259
11. Van der Kooij AJ, van Meegen M, Ledderhof TM, McNally EM, de Visser M, Bolhuis PA (1997) Genetic localization of a newly recognized auto-

somal dominant limb-girdle muscular dystrophy with cardiac involvement (LGMD1B) to chromosome 1q11-q21. *Am J Hum Genet* 60 891-895

12. Wehnert M, Muntoni F. 60th ENMC International workshop: Non-X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy (1999) *Neuromusc Disord* 9 115-121

13. Yates, JRW. Emery-Dreifuss muscular dystrophy. In Emery AEH (ed) (1997) *Diagnostic criteria for Neuromuscular disorders*. 2nd ed. London, 5-8

14. Yates JRW, Bagshaw J, Aksmanovic VMA, Coomber E, McMahon R, Wittaker JL, Morrison PJ, Kendrick-Jones J, Ellis JA (1999) Genotype-phenotype analysis in X-linked Emery-Dreifuss muscular dystrophy and identification of a missense mutation associated with a milder phenotype. *Neuromusc Disord* 9 159-165

15. Yates JRW, Wehnert M. The Emery-Dreifuss muscular dystrophy database (1999) *Neuromusc Disord* 9 199

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Manfred S. Wehnert
 Institut für Humangenetik
 Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald
 Fleischmannstr. 423/44
 D-17487 Greifswald
 Tel +49 3834 86 53 74
 Fax +49 3834 86 53 93