

Kampomele Dysplasie

Gerd Scherer

Institut für Humangenetik
und Anthropologie, Freiburg

Zusammenfassung

Die kampomele Dysplasie (CD) ist ein semiletales Skelettmissbildungssyndrom, charakterisiert durch die Verbiegung der unteren Extremitätenknochen und andere Fehlbildungen des Skeletts. Betroffene sterben meist in der neonatalen Phase an Ateminsuffizienz; nur 5-10% werden älter als 2 Jahre. Bei zwei Drittel aller CD-Fälle mit männlichem Karyotyp kommt es zu XY-Geschlechtsumkehr. Ursächlich sind heterozygote de novo-Mutationen im und am SOX9-Gen, das für einen Transkriptionsfaktor codiert, der wesentliche Schritte bei der Chondrogenese wie bei der Testogenese reguliert, mit u.a. COL2A1 und AMH als Zielgenen. Mutationen im SOX9-Gen sind über die ganze codierende Region verteilt und führen zu einem funktionslosen Genprodukt. Bruchpunkte von CD-Translokationsfällen, die in der Regel etwas milder betroffen sind, sind bis zu 920 kb von SOX9 entfernt und unterbrechen die cis-Regulation des Gens. Bei beiden Gruppen von Mutationen sind Genotyp/Phänotyp-Korrelationen nur bedingt herzustellen. Existierende Mausmodelle eröffnen die Möglichkeit, die Pathogenesemechanismen bei der Skelettentwicklung wie bei der Entwicklung von Organsystemen wie des Testis zu studieren, an deren Ausbildung SOX9 maßgeblich beteiligt ist.

Schlüsselwörter

Kampomele Dysplasie, SOX9, Chondrogenese, XY-Geschlechtsumkehr

Summary

Campomelic dysplasia (CD) is a semilethal skeletal malformation syndrome, characterized by bending of the long bones and by other skeletal defects. Affected individuals die mostly during the neonatal period from respiratory distress; only 5-10% survive beyond 2 years of age. Two thirds of CD cases with a male karyotype show XY sex reversal. CD is caused by heterozygous de novo mutations in and around the SOX9 gene, which encodes a transcription factor that regulates essential steps during chondrogenesis and testogenesis, with COL2A1 and AMH as target genes. Mutations within the SOX9 gene are distributed over the entire coding region and lead to a nonfunctional gene product. Breakpoints of CD translocation patients, who are generally less severely affected, are located up to 920 kb from SOX9 and interrupt cis-acting regulation of the gene. In both groups of patients, genotype/phenotype correlations are not clearly apparent. Existing mouse models provide the opportunity to study the pathogenic mechanisms during skeletal development and during the development of other organ systems such as the testis, where SOX9 plays essential roles.

Keywords

campomelic dysplasia, SOX9, chondrogenesis, XY sex reversal

1. Klinik

Die kampomele Dysplasie (engl. campomelic dysplasia, CD; OMIM 114 290) ist ein semiletales Skelettmissbildungssyndrom, verursacht durch heterozygote de novo-Mutationen im und am SOX9-Gen auf 17q. Nennenswert war die Verbiegung der Gliedmaßen (Kampomelie) der unteren Extremitäten als auffälligstes Merkmal. Als weitere klinische Symptome treten auf (Mansour et al., 1995): Makrozephalie, flache Nasenwurzel, langes Philtrum, tiefsitzende Ohren, Gaumenspalte und Mikrognathie (Robin-Sequenz), angeborene Hüftgelenksluxation, prätibiale Hautgrübchen, beidseitige Klumpfüße sowie Ateminsuffizienz. Als röntgenologische Merkmale sind zu nennen: Dysplasie (Hypoplasie) der Schulterblätter, schmaler Brustkorb, 11 statt 12 Rippenpaare, mangelhafte Mineralisierung der thorakalen Neuralbogenwurzeln, Kyphose oder Skoliose, vertikal schmale Darmbeinschaukeln, abnorm geformtes Sitzbein, hypoplastisches Schambein, gebogene Femora und Tibiae sowie hypoplastische oder ganz fehlende Fibulae (Abb. 1). Gebogene Ober- und Unterarmknochen werden sehr selten beobachtet. Sehr häufig ist dagegen ein verkürztes erstes Metakarpale sowie moderat verkürzte Mittel- und Endphalangen, sodass ein für CD charakteristisches metakarpophalangeales Profil der Hand die Diagnose stützen kann.

Bei etwa 2/3 aller CD-Patienten mit männlichem Karyotyp kommt es zu XY-Geschlechtsumkehr, die zuweilen nur partiell (z.B. Hypospadie oder

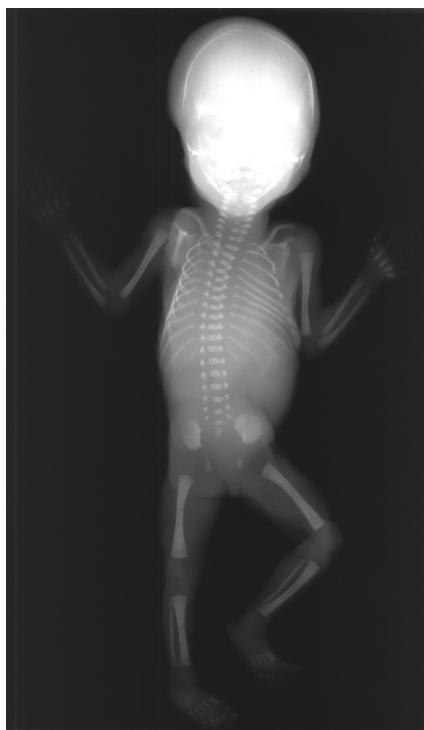
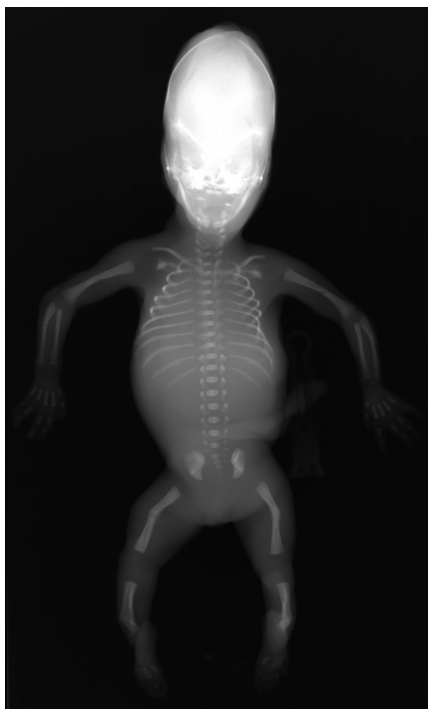


Abb 1 Röntgenologische Merkmale bei CD

(A) Fet der 21. SSW mit CD zeigt Dysplasie der Schulterblätter, mangelhafte Mineralisierung der thorakalen Neuralbogenwurzeln, Fehlen des 12. Rippenpaares, schmale Darmbeinschaukeln (wenig ausgeprägt), verzögerte Mineralisierung des Sitzbeins und Biegung der Femora, Tibiae und Fibulae.

(B) Gesunder Fet der 20. SSW

Fetogramme von Britta Fiebig und Dr. Katarina Lehmann, Charité Berlin, und Dr. Peter Meinecke, Altonaer Kinderkrankenhaus Hamburg

Mikropenis), meist jedoch komplett ist im Sinne einer XY-Gonadendysgenese mit normalen inneren und äußeren weiblichen Genitalien. Die Kombination von XY-Geschlechtsumkehr mit gebogenen unteren Extremitäten ist eine eindeutige Diagnosestellung für CD. Weitere extraskeletale Manifestationen bei CD betreffen Lunge (Tracheobronchiomalazie), Herz (Foramen ovale, Septumdefekt), Niere (Kelchdilatation, Hydronephrose, Zystenbildung), Pankreas (Reduktion der Größe Langerhansscher Inseln und der Insulin- und Glukagonsekretion) und Gehirn (fehlende Riechkolben und Riechbahnen, Dilatation der Lateralventrikel).

Es muss betont werden, dass keines der genannten Merkmale pathognomonisch für CD ist. Dies gilt auch für die namensgebende Kampomelie, die nur bei ca. 90% aller Fälle vorliegt. Es ist die Kombination der vorliegenden Merkmale, die die Diagnose erlaubt (Mansour et al., 1995). Die Fixierung auf die Kampomelie hat dazu geführt, dass man bei deren Fehlen von der „akampomelen kampomelen Dysplasie“ (kurz ACD) spricht. Diese Fixierung führt auch dazu, dass beim Fehlen der Kampomelie zuweilen nicht in Betracht gezogen wird, dass es sich um einen ACD-Fall mit Mutationen im SOX9-Gen handeln könnte.

Die Prognose bei CD ist schlecht. Dabei steht die respiratorische Problematik im Vordergrund. Trotz intensiver Unterstützung der Beatmung sterben die Betroffenen meist in den ersten Tagen oder Monaten nach der Ge-

burt. Nur etwa 5-10% der Kinder werden älter als 2 Jahre. Bei dieser letzteren Gruppe tritt neben die Atmungsproblematik eine meist ausgeprägte und progressive Kyphoskoliose; häufig sind diese Patienten auch taub und in ihrer motorischen Entwicklung retardiert. Aufgrund der Ähnlichkeiten der radiologischen Merkmale könnten schwerere Formen des Ischio-Pubic-Patella-Syndroms mit überlebenden Fällen von CD identisch sein und auf SOX9-Mutationen beruhen (Offiah et al., 2002).

2. Molekulare Genetik

CD-Fälle mit reziproken Translokationen bildeten den Ausgangspunkt für die positionelle Klonierung des SOX9-Gens (Foster et al., 1994; Wagner et al., 1994). Das 5.4 kb große Gen besteht aus 3 Exons und codiert für einen Transkriptionsfaktor von 509 Aminosäuren mit einer DNA-bindenden HMG-Domäne und einer C-terminalen transkriptionsaktivierenden Domäne. Wie bei allen SOX-Proteinen ist die Sequenz der HMG-Domäne der des testisdeterminierenden Faktors SRY ähnlich (SOX = SRY-verwandte HMG-Box). Innerhalb der HMG-Domäne befinden sich zwei Kernlokalisationssignale sowie ein Kernexportsignal. Kürzlich wurde als dritte, funktionell relevante Domäne eine DNA-Dimerisierungsdomäne identifiziert, die sich direkt vor der HMG-Domäne befindet (Sock et al., 2003; Bernard et al., 2003) (Abb. 2).

SOX9-Mutationen bei CD lassen sich in zwei Gruppen unterteilen. Bei der ersten Gruppe, die 90-95% aller CD-

Fälle umfasst, liegen Mutationen im codierenden Bereich des SOX9-Gens vor (SOX9-ORF-Mutationen). Die zweite Gruppe umfasst die restlichen Fälle mit chromosomalen Rearrangements (Translokationen, Inversionen) und Deletionen am SOX9-Locus. SOX9-Mutationen treten de novo auf und betreffen nur ein SOX9-Allel; CD ist somit eine dominante Erkrankung. Familiäre Fälle mit mehr als einem betroffenen Kind, die zur ursprünglich falschen Eingruppierung von CD als autosomal-rezessiver Erbkrankheit führten, sind auf maternales oder paternales Keimbahnmosaik zurückzuführen. Das Wiederholungsrisiko ist daher nicht zu vernachlässigen und liegt bei ca. 2-5%. In seltenen Fällen konnte das mutante Allel sogar in Leukozyten-DNA eines Elternteils nachgewiesen werden.

2.1 SOX9-ORF-Mutationen

37 Mutationen im SOX9-ORF (open reading frame) und an den Spleißstellen sind bislang publiziert, die sich über das ganze Gen verteilen (Abb. 2). Lediglich die Missense-Mutationen clustern in der HMG-Domäne, da Aminosäuresubstitutionen in diesem Bereich des Proteins zum Ausfall der DNA-Bindung und damit zum Funktionsverlust als Transkriptionsfaktor führen. Die Nonsense-, Frameshift- und Spleiß-Mutationen führen zu einem veränderten, meist verkürzten Protein, dem die C-terminale transkriptionsaktivierende Domäne ganz oder teilweise fehlt, und damit ebenfalls zum Funktionsausfall. Die einzige Missense-Mutation außerhalb der HMG-Domäne, A76E, betrifft die Dimerisie-

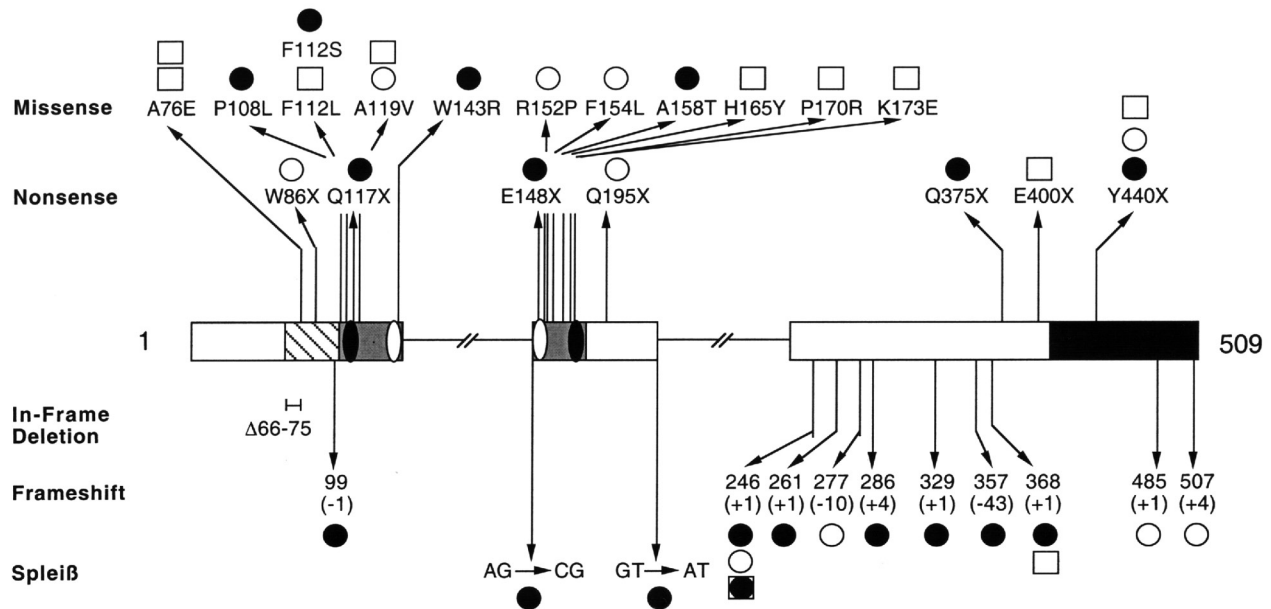


Abb 2 SOX9-ORF-Mutationen bei kampomeler Dysplasie und XY-Geschlechtsumkehr.

Die drei Exons des SOX9-Gens sind maßstäblich dargestellt, wobei nur der open reading frame (ORF) gezeigt ist, ohne 5'- und 3'-untranslatierte Sequenzen. Die Dimerisierungsdomäne (64-102) ist schraffiert, die HMG-Domäne (103-181) ist grau, die C-terminale transaktivierende Domäne (402-509) schwarz dargestellt. Die beiden Kernlokalisierungssignale innerhalb der HMG-Domäne sind durch schwarze Ovale, das durch Intron 1 unterbrochene Kernexportsignal ist durch zwei weiße Ovale gekennzeichnet. Die Zahlen geben Codons oder Aminosäurereste an, im Einbuchstaben-Code geschrieben. Die Art der Mutation ist links angegeben. Die Zahl inserierter bzw. deletierter Basen ist bei den Frameshift-Mutationen in Klammern angegeben. Bei XX- bzw. XY-Frauen gefundene Mutationen sind mit einem offenen bzw. gefüllten Kreis, Mutationen bei XY-Männern durch das offene Quadrat symbolisiert. Die familiäre Frameshift-Mutation in Codon 246 lag bei drei Geschwistern vor, darunter ein echter Hermaphrodit, durch gefüllten Kreis im Quadrat symbolisiert. Literaturzitate zu den Mutationen finden sich bei Koopman (1999) oder können vom Autor erhalten werden.

ungsdomäne und verhindert die Aktivierung von Zielgenen mit dimeren SOX9-Bindestellen (Sock et al., 2003; Bernard et al., 2003). Gleiches gilt für einen Fall mit in-frame-Deletion der Aminosäuren 66-75 (Sock et al., 2003). Einziger Hotspot ist die Y440X-Mutation, die in 3 der 35 publizierten und in 8 von 78 weiteren CD-Fällen mit SOX9-ORF-Mutationen (eigene unveröffentlichte Ergebnisse) vorliegt.

Da die SOX9-ORF-Mutationen essentielle Funktionen wie DNA-Bindung, Transaktivierung und Dimerisierung betreffen, liegt es nahe, CD als Haploinsuffizienzsyndrom einzustufen. Andererseits können mutante, verkürzte SOX9-Proteine mit partiell oder komplett fehlender Transaktivierungsdomäne, aber noch vorhandener HMG- und Dimerisierungsdomäne mit dem Wildtypprotein um die DNA-Bindung konkurrieren und somit dominant-negativ wirken. CD resultiert demnach sowohl aus Haploinsuffizienz für SOX9 wie aus dominant-negativen Effekten oder sogar aus der Überlagerung beider Effekte.

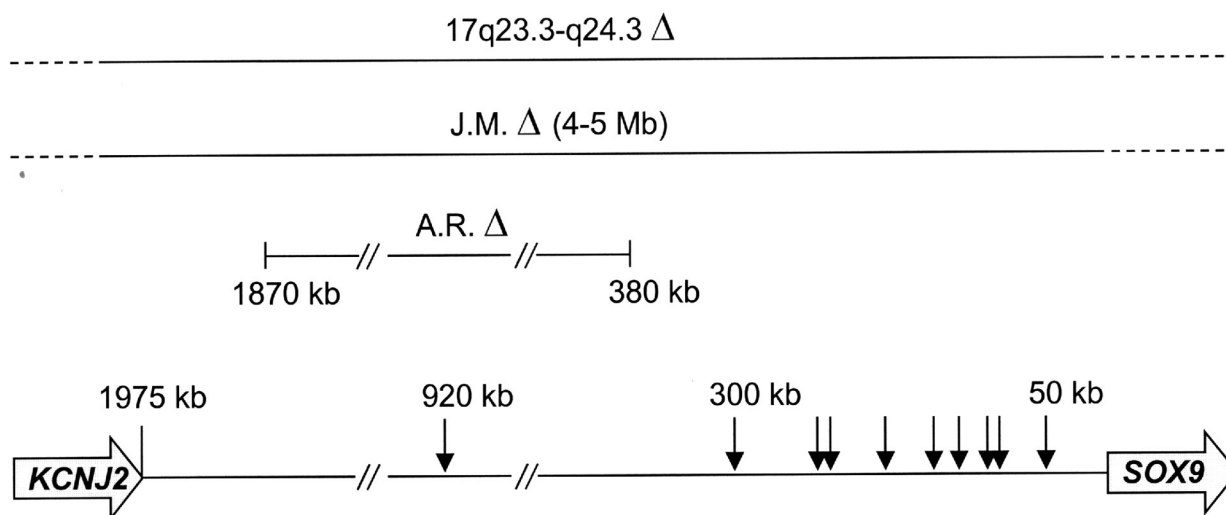
Wie bei vielen dominant-erblichen Erkrankungen sind bei der kampomelen Dysplasie infolge unvollständiger Penetranz und variabler Expressivität Genotyp/Phänotyp-Korrelationen nur schwer herzustellen. Auffallend ist jedoch, dass Patienten, die mehr als 2 Jahre alt werden, sowie Patienten mit der akampomelen Form häufig hypomorphe SOX9-ORF-Mutationen tragen mit experimentell verifizierter oder wahrscheinlicher SOX9-Restaktivität, wie einige Aminosäuresubsti-

tutionen in der HMG- oder Dimerisierungsdomäne oder wie partielle Verkürzungen der C-terminalen Domäne mit restlicher transkriptionsaktivierender Funktion (Y440X-Mutation). Bezüglich der XY-Geschlechtsumkehr zeigt sich das Fehlen einer Genotyp/Phänotyp-Korrelation am deutlichsten bei identischen Mutationen, die unabhängig aufgetreten sind (Frameshift im Codon 368; Y440X) oder familiär aufgrund eines Keimbahnmosaiks (Frameshift in Codon 246) und in einem Fall zu XY-Geschlechtsumkehr führen, im anderen Falle nicht. Es gilt jedoch zu betonen, dass die XY-Geschlechtsumkehr zwar eine unvollständige Penetranz zeigt, die Penetranz bezüglich des Auftretens von Skelettanomalien jedoch vollständig ist, da SOX9-Mutationen wohl zu CD ohne XY-Geschlechtsumkehr führen können, aber nicht zu isolierter XY-Geschlechtsumkehr ohne Skelettaffektionen.

2.2 Translokationen/ Inversionen/Deletionen

2 Inversionen und 12 Translokationen sind bei CD beschrieben. 10 der Translokationsbruchpunkte wurden feinkartiert. Sie befinden sich allesamt 5' des SOX9-Gens, in einem Abstand von 50 kb bis 300 kb; ein Bruchpunkt ist sogar 920 kb entfernt (Pfeifer et al., 1999) (Abb. 3). Ein Inversionsbruchpunkt wurde 70-350 kb von SOX9 kartiert. Eine 1,5 Mb große de novo-Deletion erstreckt sich von 380 kb bis 1870 kb oberhalb von SOX9 (Pop et al., in press; A.R.-Deletion in Abb. 3). Bei allen diesen Fällen bleibt das SOX9-Gen selbst unverändert. Es

ist auch kein weiteres Gen betroffen, da sich das 5' von SOX9 befindliche Nachbarn KCNJ2 in einem Abstand von 1975 kb befindet, 105 kb vom distalen Ende der A.R.-Deletion entfernt. Der Mutationsmechanismus dieser Deletion wie der chromosomalen Rearrangements liegt sehr wahrscheinlich in der Reduktion der SOX9-Expression durch Entfernen von cis-regulatorischen Sequenzen. Es besteht keine Korrelation zwischen dem Abstand der Bruchpunkte von SOX9 und dem Schweregrad der Skelettdysplasien, dem Überlebensalter oder dem Auftreten oder Fehlen von XY-Geschlechtsumkehr. Im Ver-



gleich zu Patienten mit SOX9-ORF-Mutationen, von denen nur 5-10% älter als 2 Jahre werden, haben Patienten mit Translokationen oder Inversionen eine höhere Lebenserwartung: 9 der 13 Patienten (1 Fall war ein Abort) waren älter als 2 Jahre, die älteste Patientin ist über 30 Jahre alt (Pfeifer et al., 1999). Auch der Anteil an ACD-Patienten ist bei der Gruppe mit chromosomalen Rearrangements mit 50% deutlich höher als bei der Gruppe mit SOX9-ORF-Mutationen, wo er bei ca. 10% liegt. Auch die Deletions-Patientin A.R. hat Akampomelie und ist momentan 6 Jahre alt. Vermutlich ist der meist mildere Verlauf bei der Gruppe der CD-Fälle, die die 5'-Kontrollregion von SOX9 betreffen, auf Restaktivität des in cis gelegenen SOX9-Allels zurückzuführen.

Bei 2 CD-Fällen ist die komplette SOX9-Region deletiert (Abb. 3). Im ersten Fall ist die Größe der Deletion nur zytogenetisch als del(17)(q23.3-q24.3) bestimmt, der Verlust von SOX9 aber mittels FISH nachgewiesen (Olney et al., 1999). Im zweiten Fall umfasst die Deletion mindestens 4 Mb, maximal 5 Mb (Pop et al., in press). Die Patienten verstarben im Alter von 4 Tagen bzw. 10 Monaten und zeigten, trotz der Größe der Deletionen, nur typische CD-Merkmale, einschließlich Kampomelie. Sie sind der klarste Beleg für SOX9-Haploinsuffizienz als ein wesentlicher Mechanismus für das Auftreten von CD.

Ein Vergleich der J.M.- mit der A.R.-Deletion illustriert deutlich die variable Expressivität der Geschlechtsum-

kehr bei CD: trotz kompletter SOX9-Deletion war J.M. ein XY-Junge mit normalen männlichen äußeren Genitalien, während A.R. mit möglicherweise nur reduzierter SOX9-Expression ein XY-Mädchen mit normalen weiblichen äußeren Genitalien ist.

3. Genfunktion

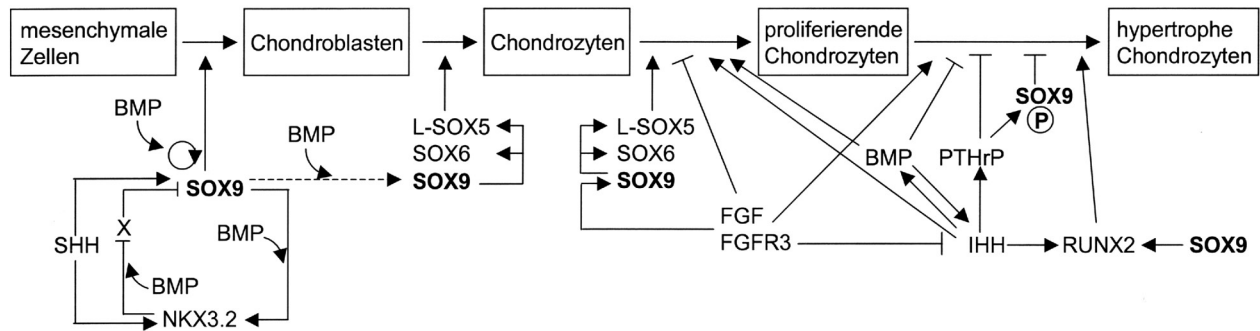
In Übereinstimmung mit dem klinischen Spektrum der CD, bei der neben der Skelett- und Gonadenentwicklung noch andere Organsysteme betroffen sind, lässt sich die Expression von SOX9 während der Entwicklung aller dieser Organsysteme nachweisen. Am besten ist die Funktion von SOX9 bei der Chondrogenese und bei der Testogenese untersucht, vorwiegend durch Studien an der Maus. So konnte durch elegante in vivo-Analysen gezeigt werden, dass das AMH-Gen ein direktes Zielgen von SOX9 ist. AMH (Anti-Müllersches Hormon) ist ein früher Marker der Sertoli-Zelldifferenzierung im embryonalen Testis und bewirkt die Regression der Müllerschen Gänge, die bei der Frau zu Eileiter, Uterus und oberer Vagina differenzieren. Zur Aktivierung des AMH-Promotors ist eine Protein-Protein-Wechselwirkung zwischen SOX9 und SF1 erforderlich, deren Bindestellen im AMH-Promotor direkt benachbart sind.

Während AMH das einzige bislang bekannte Zielgen von SOX9 bei der Testogenese ist, sind bereits mehrere Zielgene von SOX9 im Kontext der Chondrogenese identifiziert: COL2A1, COL11A2, CD-RAP, Aggrecan, L-SOX5, SOX6 und vermutlich auch

Abb 3 Translokationen und Deletionen am SOX9-Locus

Die Region 5' von SOX9 ist gezeigt, bis zum 1975 kb entfernt liegenden Nachbargen KCNJ2. Die Lage der Bruchpunkte von 10 CD-Translokationsfällen sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die Position der 1,5 Mb großen Deletion der ACD-Patientin A.R. ist angegeben. Darüber sind die beiden CD-Deletionen eingetragen, bei denen der gesamte gezeigte Abschnitt, einschließlich des SOX9-Gens, deletiert ist; nur bei der J.M.-Deletion ist die Größe der Deletion genauer bestimmt worden.

RUNX2. Die besten Daten liegen bisher für COL2A1 vor. Zum einen ist gezeigt, dass eine fast perfekte Koexpression von Sox9 und Col2a1 im Verlauf der Mausembryogenese vorliegt, nicht nur auf skelettäre Strukturen begrenzt. Zum anderen ist sowohl in vitro wie in vivo nachgewiesen, dass die Aktivierung des Col2a1-Promotors durch die Bindung von SOX9 an den im Intron 1 des Col2a1-Gens gelegenen Chondrozyten-Enhancer erfolgt, und dass SOX9 dazu synergistisch mit L-SOX5 und SOX6 an diesen Enhancer binden muss. Die essentielle Rolle, die Sox9 bei der Chondrogenese spielt, zeigte sich auch bei der Analyse von Maus-Chimären, die aus Sox9-ES-Wildtypzellen und Sox9^{-/-}-ES-Zellen hergestellt wurden. Sox9^{-/-}-Zellen sind dabei von den mesenchymalen Kondensationen der Wildtyp-Knorpel-Vorläuferzellen ausgeschlossen und können nicht in Chondrozyten differenzieren; sie exprimieren auch keine Chondrozyten-spezifischen Markergene. SOX9 ist somit notwendig für die Ausbildung chondrogener mesenchymaler Kondensationen und deren Differenzierung in



Chondroblasten. In dieser frühen Phase der Chondrogenese induziert im Sklerotom ein transientes SHH-Signal eine positive Rückkopplungsschleife zwischen SOX9 und NKX3.2 (Abb. 4).

SOX9 ist aber nicht nur ein Hauptregulator in der frühen Phase der Knorpelentwicklung, sondern wird auch während der gesamten Chondrozytendifferenzierung exprimiert, jedoch nicht in hypertropen Chondrozyten. SOX9 inhibiert sogar die Differenzierung in hypertrophe Chondrozyten, wobei es durch die IHH/PTHrP-Signaltransduktionskette in phosphorylierter Form vorliegt. RUNX2, der Hauptregulator der Osteoblastendifferenzierung, fördert dagegen die Differenzierung der proliferierenden in hypertrophe Chondrozyten und wird dabei von IHH-Signalen und vermutlich von SOX9, direkt oder indirekt, reguliert. Die Differenzierung der Chondrozyten in proliferierende und hypertrophe Chondrozyten wird ferner durch antagonistisch wirkende FGF- und BMP-Signale koordiniert (Abb. 4).

Zur Funktion von SOX9 bei der Entwicklung der bei CD zuweilen betroffenen Organe Herz, Niere, Pankreas und Gehirn ist noch wenig bekannt. Am besten ist die Rolle von SOX9 bei der Testisentwicklung verstanden. So konnte gezeigt werden, dass ektopische Expression eines Sox9-Transgens bei karyotypisch weiblichen Mäusen, also in Abwesenheit von Sry, zur Ausbildung von Hoden führt (Vidal et al., 2001). Somit „kann SOX9 alles, was SRY kann“ und ist möglicher-

weise das direkte (einzige?) Zielgen von SRY.

4. Mausmodelle

Heterozygote Sox9-KO-Mäuse rekapitulieren weitgehend die bei CD vorkommenden Skelettdefekte (Bi et al., 2001). Auch die Biegung der Extremitätenknochen tritt auf, ist jedoch gering ausgeprägt und betrifft Radius und Ulna, nicht den Femur. Während bei CD verzögerte Mineralisierung zu beobachten ist, zeigen Sox9^{+/-}-Mäuse verfrühte Ossifikation infolge beschleunigter Differenzierung von proliferierenden zu hypertropen Chondrozyten. Im Gegensatz zum Menschen führt der Verlust einer Sox9-Kopie bei der Maus nicht zu XY-Geschlechtsumkehr: männliche Sox9^{+/-}-Mäuse haben eine normale Hodenstruktur.

Das von Bi und Mitarbeitern erzeugte Mausmodell ist insofern problematisch, als es auf einem klassischen Sox9-Nullallel basiert, die heterozygoten Mäuse kurz nach Geburt an Atmungsversagen sterben und sich somit keine echte Linie halten lässt; auch lassen sich spätere, adulte Stadien nicht analysieren. Mehr Potential haben Mauslinien, die auf dem Cre/loxP-System basieren und konditionelle Inaktivierung von Sox9 ermöglichen, auch in homozygoter Form (Akiyama et al., 2002; Kist et al., 2002). So konnte durch homozygote Inaktivierung von Sox9 vor sowie nach der Ausbildung mesenchymaler Kondensationen gezeigt werden, dass Sox9, wie oben erwähnt, an sukzessiven Stufen der Chondrozytendifferenzierung eingreift und für die

Abb 4 Die Rolle von SOX9 bei der Chondrogenese

In der frühen Phase der Chondrogenese induziert SOX9 die Kondensation und Ausbildung von Knorpelvorläuferzellen (Chondroblasten). Im Sklerotom induziert dabei ein transientes SHH-Signal eine positive Rückkopplungsschleife zwischen SOX9 und NKX3.2, welches einen Repressor (X) von SOX9 inhibiert; die Rückkopplungsschleife wird durch BMP-Signale aufrechterhalten. SOX9 ist in allen Chondrozytenstadien, außer hypertropen Chondrozyten, exprimiert und wird durch FGF-Wachstumsfaktoren induziert. L-SOX5 und SOX6 besitzen eine essentielle Rolle bei der Proliferierung und Differenzierung von Chondrozyten und werden durch SOX9 reguliert. SOX9 wird schließlich durch die PTHrP-Signaltransduktion phosphoryliert (SOX9-P) und inhibiert die Differenzierung in hypertrophe Chondrozyten. Die Chondrozyten-Proliferation und hypertrophe Chondrozyten-Differenzierung werden durch antagonistisch wirkende FGF- und BMP-Signale koordiniert. IHH spielt eine zentrale Rolle bei der Koordination von Knorpel- und Knochenbildung, da es sowohl die Chondrozyten-Proliferation als auch die Expression des Hauptregulators der Osteoblastendifferenzierung, RUNX2, induziert. RUNX2 fördert ebenfalls die Differenzierung zu hypertropen Chondrozyten und wird vermutlich durch SOX9 reguliert.

(Nach de Crombrugge et al. (2001) und Akiyama et al. (2002), modifiziert).

tendifferenzierung eingreift und für die Expression von L-Sox5, Sox6 und Runx2 notwendig ist (Akiyama et al., 2002). Ferner führte Cre-vermittelte homozygote Inaktivierung von Sox9 zu Beginn der Migration der kranialen Neuralleistenzellen zu Defekten in der Ausbildung des Gesichtsskeletts. Auch konnte mit Hilfe des Cre/loxP-Systems gezeigt werden, dass für die XY-Geschlechtsumkehr bei der Maus

die homozygote Inaktivierung von Sox9 in einer sehr frühen Phase der Gonadenentwicklung erforderlich ist (eigene unpublizierte Daten). Es ist zu erwarten, dass die konditionelle, gewebespezifische Inaktivierung von Sox9 zur Aufklärung der Funktionen dieses Gens bei der Entwicklung der bei CD betroffenen Organsysteme wesentlich beitragen wird.

Literaturverzeichnis

Akiyama H, Chaboissier M-C, Martin JF, Schedl A, de Crombrughe B (2002) The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6. *Genes Dev* 16:2813-2828.

Bernard P, Tang P, Liu S, Dewing P, Harley VR, Vilain E (2003) Dimerization of SOX9 is required for chondrogenesis, but not for sex determination. *Hum Mol Genet* 12:1-11.

Bi W, Huang W, Whitworth DJ, Deng JM, Zhang Z, Behringer RB, de Crombrughe B (2001) Haploinsufficiency of Sox9 results in defective cartilage primordia and premature skeletal mineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:6698-6703.

de Crombrughe B, Lefebvre V, Nakashima K (2001) Regulatory mechanisms in the pathways of cartilage and bone formation. *Curr Opin Cell Biol* 13:721-727.

Foster JW, Dominguez-Steglich MA, Guioli S, Kwok K, Weller PA, Stevanovic M, Weissenbach J, Mansour S, Young ID, Goodfellow PN, Brook JD, Schafer A (1994) Campomelic dysplasia and autosomal sex reversal caused by mutation in an SRY-related gene. *Nature* 327:525-530.

Kist R, Schrewe H, Balling R, Scherer G (2002) Conditional inactivation of Sox9: a mouse model for campomelic dysplasia. *genesis* 32:121-123.

Koopman P (1999) Sry and Sox9: mammalian testis-determining genes. *Cell Mol Life Sci* 55:839-856.

Mansour S, Hall CM, Pembrey ME, Young ID (1995) A clinical and genetic study of campomelic dysplasia. *J Med Genet* 23:415-420.

Offiah AC, Mansour S, McDowall S, Tolmie J, Sim P, Hall CM (2002) Surviving campomelic dysplasia has the radiological features of the previously reported ischio-pubic-patella syndrome. *J Med Genet* 39:e50.

Olney PN, Kean LS, Graham D, Elsas LJ, May KM (1999) Campomelic syndrome and deletion of SOX9. *Am J Med Genet* 84:20-24.

Pfeifer D, Kist R, Dewar K, Davon K, Lander ES, Birren B, Korniszewski L, Back E, Scherer G (1999) Campomelic dysplasia breakpoints are scattered over 1 Mb proximal to SOX9: evidence for an extended control region. *Am J Hum Genet* 65:111-124.

Pop R, Conz C, Lindenberg KS, Blesson S,

Schmalenberger B, Briault S, Pfeifer D, Scherer G. Screening of the 1 Mb SOX9 5' control region by array CGH identifies a large deletion in a case of campomelic dysplasia with XY sex reversal. *J Med Genet* (in press).

Sock E, Pagon RA, Keymolen K, Lissens W, Wegner M, Scherer G (2003) Loss of DNA-dependent dimerization of the transcription factor SOX9 as a cause for campomelic dysplasia. *Hum Mol Genet* 12:1439-1447.

Vidal VPI, Chaboissier MC, de Rooij DG, Schedl A (2001) Sox9 induces testis development in XX transgenic mice. *Nature Genet* 28 :216-217.

Wagner T, Wirth J, Meyer J, Zabel B, Held M, Zimmer J, Pasantes J, Dagna Bricarelli F, Keutel J, Huster E, Wolf U, Tommerup N, Schempp W, Scherer G (1994) Autosomal sex reversal and campomelic dysplasia are caused by mutations in and around the SRY-related gene SOX9. *Cell* 79:1111-1120.

Korrespondenzadresse

PD Dr. Gerd Scherer
Institut für Humangenetik und Anthropologie
Breisacherstr. 33
79106 Freiburg
Tel. 0761-270-7030
Fax 0761-270-7041
scherer@ukl.uni-freiburg.de