

Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom

Das Prader-Willi-Syndrom (PWS) und das Angelman-Syndrom (AS) sind die ersten beschriebenen Beispiele für Imprinting-erkrankungen beim Menschen. Durch zytogenetische Untersuchungen an hochauflösenden Prometaphase-Chromosomen wurden 1981 von Ledbetter et al. [1] die ersten De-novo-Deletionen in der chromosomalen Region 15q11q13 bei Patienten mit PWS nachgewiesen. Im Jahr 1987 folgte dann der zytogenetische Nachweis von De-novo-Deletionen für denselben chromosomalen Bereich bei Patienten mit AS [2]. Eine molekulargenetische Bestätigung dieser Befunde erfolgte kurze Zeit später und warf die Frage auf, warum dieselben Deletionen zu 2 klinisch völlig unterschiedlichen Erkrankungen führen können.

Mittels polymorpher Marker für das Chromosom 15 konnte dann gezeigt werden, dass die Deletionen sich beim AS immer auf dem von der Mutter geerbten Chromosom 15 befinden, während sie sich beim PWS immer auf dem vom Vater geerbten Chromosom 15 befinden. Die Identifizierung der ersten Fälle einer maternalen uniparentalen Disomie 15 bei PWS [3] und einer paternalen uniparentalen Disomie 15 bei AS [4] zeigten dann letztendlich, dass beide Erkrankungen aus einem Funktionsverlust von mindestens einem maternal bzw. paternal geprägten Gen resultieren. Mittlerweile weiß man, dass ein Funktionsverlust des *UBE3A*-Gens in den Gehirnzellen, die dieses Gen normalerweise monoallelisch vom mütterlichen Chromosom exprimieren, zu AS führt. Bei PWS scheint der Funktionsverlust der *SNORD116*-snoRNA-Gene für die Ausprägung der Hauptmerkmale verantwortlich zu sein. Das schließt aber nicht

aus, dass der Funktionsverlust weiterer paternal exprimierter Gene zu der Manifestation des vollständigen PWS-Phänotyps beiträgt.

Klinisches Bild

Prader-Willi-Syndrom

Das PWS wurde erstmals von den Züricher Kinderärzten und Internisten Prader, Labhard und Willi 1976 beschrieben und hat eine Prävalenz von 1/10.000–1/25.000. Patienten mit PWS zeigen ein geringes Geburtsgewicht, eine ausgeprägte muskuläre Hypotonie und Fütterungsprobleme im Neugeborenenalter, die fast immer eine Sondenernährung erforderlich machen. Ab dem 2. Lebensjahr entwickeln sie bei fehlendem Sättigungsgefühl eine Hyperphagie, die zur Adipositas führt. Weitere Kennzeichen sind ein Kleinwuchs, kleine Hände und Füße und ein charakteristisches Gesicht mit engem bifrontalem Durchmesser, mandelförmigen Augen, einem Strabismus und herabgezogenen Mundwinkeln. Bei beiden Geschlechtern findet man einen Hypogonadismus – mit einem Kryptorchismus bei Jungen und einer Hypoplasie der Labia minora bei Mädchen. Die Pubertätsentwicklung ist unvollständig oder fehlend, und die meisten Patienten sind infertil. Die Patienten zeigen eine unterschiedlich ausgeprägte mentale Retardierung mit einem durchschnittlichen Intelligenzquotienten (IQ) von 60–70. Verhaltensauffälligkeiten führen auch bei Patienten mit niedrig normaler Intelligenz im Schul- und Berufsalltag zu Komplikationen. Psychische Erkrankungen treten im Erwachsenenalter zunehmend in den

Vordergrund. Durch eine Behandlung mit Wachstumshormonen bereits ab dem 1. Lebensjahr werden nicht nur der Kleinwuchs, sondern auch die Muskelhypotonie und die Adipositas (anaboler Effekt) günstig beeinflusst.

Angelman-Syndrom

Das AS wurde erstmals 1965 von dem britischen Kinderneurologen Harry Angelman beschrieben und hat eine Prävalenz von 1/12.000–1/20.000. Patienten mit einem AS zeigen eine deutliche Entwicklungsverzögerung mit fast immer fehlender Sprachentwicklung und eine Gangataxie. Kraniofaziale Auffälligkeiten wie Mikrozephalie, Prognathie und ein weiter Zahnabstand entwickeln sich in den ersten Lebensjahren. Die Patienten zeigen ein freundliches Wesen, lachen häufig, haben Kommunikationsprobleme und spezifische EEG-Veränderungen. Schlafstörungen und Krampfanfälle stellen die Hauptprobleme bei der Betreuung dar. Auch ein vermehrter Speichelfluss wird bei vielen Patienten beobachtet. Die Therapie ist symptomatisch.

Geprägte Gene in 15q11q13

Die für PWS und AS verantwortlichen Gene liegen eng benachbart in der chromosomalen Region 15q11q13 (Abb. 1) und unterliegen dem genomischen Imprinting, d. h. sie werden elternspezifisch exprimiert (Übersicht s. [5]). Der Funktionsverlust paternal exprimierter Gene führt zum PWS, während der Funktionsverlust des *UBE3A*-Gens, das in einigen Bereichen des Gehirns monoallelisch vom maternalen Chromosom exprimiert

wird, zum AS führt. Die Gene *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *C15orf2*, *SNURF-SNRPN* und mehr als 70 kleine nukleäre RNAs („CD-box small nucleolar RNAs“, CD-Box-snoRNAs) werden nur vom paternalen Chromosom exprimiert und sind auf dem mütterlichen Chromosom stumm. Die allelspezifische Expression von *NDN* und *SNURF-SNRPN* wird durch eine differenzielle DNA-Methylierung der Promotorregionen dieser Gene reguliert. Während das aktive paternale Allel unmethyliert vorliegt, ist das maternale Allel durch DNA-Methylierung abgeschaltet. Diese elternspezifische Methylierung am *SNURF-SNRPN*-Locus wird zur Bestätigung der klinischen Diagnose bei Patienten mit PWS und AS genutzt, bei denen eine Deletion 15q11q13, eine uniparentale Disomie oder ein Imprintingdefekt vorliegen (s. „Molekulargenetische Diagnostik“).

Der *SNURF-SNRPN*-Locus ist der komplexeste Locus der Region. *SNURF-SNRPN* wurde ursprünglich als ein aus 10 Exons bestehendes bicistronisches Gen beschrieben. Die Exons beinhalten 2 offene Leserahmen mit der Sequenzinformation für 2 verschiedene Proteine: SNURF („SNRPN upstream reading frame“), ein Polypeptid mit unbekannter Funktion und SmN, ein Bestandteil des Spleißosomen-Komplexes, das beim Spleißen der RNA im Gehirn eine Rolle spielt.

In den letzten Jahren wurden alternative Transkripte mit weiteren 5'- und 3'-Exons für *SNURF-SNRPN* identifiziert. Sie sind nicht kodierend und kommen in vielen verschiedenen alternativen Spleißformen vor. Für die alternativen Transkripte, die weitere 5'-Exons enthalten und die auf Exon 2 von *SNURF-SNRPN* gespleißt werden, konnten bislang 3 verschiedene Startpositionen nachgewiesen werden (*u1A*, *u1B*, *PWRN1*). Diese Transkripte werden ebenfalls ausschließlich vom paternalen, unmethyliertem Allel exprimiert, und diese monoallelische Expression wird zumindest an den Startpositionen *u1A* und *u1B* über differenzielle DNA-Methylierung reguliert. In den letzten Jahren wurden ebenfalls alternativ gespleißte Transkripte identifiziert, die neue 3'-Exons enthalten. Sie starten am *SNURF-SNRPN*-Promotor und sind

medgen 2010 · 22:392–398 DOI 10.1007/s11825-010-0250-z
© Springer-Verlag 2010

B. Albrecht · K. Buiting

Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom

Zusammenfassung

Das Prader-Willi-Syndrom (PWS) und das Angelman-Syndrom (AS) sind distinkte neurogenetische Erkrankungen, die durch den Funktionsverlust geprägter Gene in der Region 15q11q13 hervorgerufen werden. Ein etwa 2 Mb großer Bereich in 15q11q13 unterliegt einer elternspezifischen Prägung („genomic imprinting“). Infolge der Prägung unterscheiden sich die väterliche und mütterliche Kopie dieses Bereichs in der DNA-Methylierung und der Genexpression. Die häufigsten Ursachen für PWS und AS sind eine 5–7 Mb große interstitielle Deletion in der chromosomalen Region 15q11q13, eine uniparentale Disomie 15, ein Imprintingdefekt oder im Fall von AS eine Mutation im *UBE3A*-Gen. Mikrodeletionen bei einer kleinen An-

zahl von Patienten mit einem Imprintingdefekt haben zur Identifizierung eines Imprinting-Centers (IC) „upstream“ vom *SNURF-SNRPN*-Gen geführt, das die Imprintumschaltung in *cis* reguliert. Das IC hat eine zweiseitige Struktur: Einen zentromerischen Teil, der bei Patienten mit AS deletiert ist und für die mütterliche Prägung notwendig ist, und einen telomerischen Teil, der bei Patienten mit PWS deletiert ist und der für die Aufrechterhaltung der väterlichen Prägung notwendig ist.

Schlüsselwörter

Genomisches Imprinting · Imprintingdefekte · Prader-Willi-Syndrom · Angelman-Syndrom · DNA-Methylierung

Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome

Abstract

Prader-Willi syndrome (PWS) and Angelman syndrome (AS) are two distinct neurogenetic disorders caused by the loss of function of imprinted genes in the chromosomal region 15q11q13. An approximately 2 Mb region inside 15q11q13 is subject to genomic imprinting. As a consequence the maternal and paternal copies in this region are different in DNA methylation and gene expression. The most frequent genetic lesions in both disorders are an interstitial de novo deletion of the chromosomal region 15q11q13, uniparental disomy 15, an imprinting defect or, in the case of AS, a mutation of the *UBE3A* gene. Microdeletions in a small number of patients with PWS and AS with an imprinting defect have led to the identification

of the chromosome 15 imprinting centre (IC) upstream of the *SNURF-SNRPN* gene, which acts in *cis* to regulate imprinting in the whole 15q imprinted domain. The IC consists of two critical elements: one in the more centromeric part which is deleted in patients with AS and which is thought to be responsible for the establishment of imprinting in the female germ line, and one in the more telomeric part which is deleted in patients with PWS and which is required to maintain the paternal imprint.

Keywords

Genomic imprinting · Imprinting defects · Prader-Willi syndrome · Angelman syndrome · DNA methylation

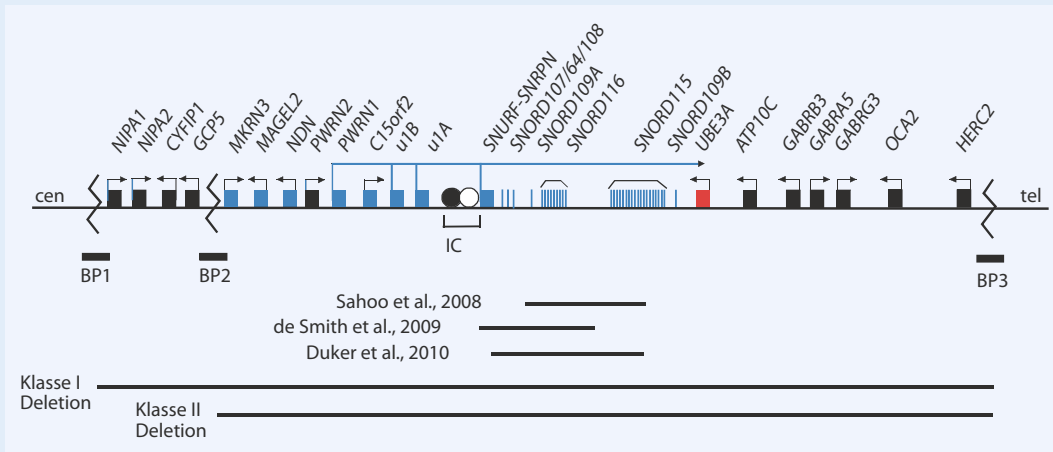


Abb. 1 ▲ Schematischer Überblick über die chromosomale Region 15q11q13. *Blaue Kästchen* paternal exprimierte Gene; *blaue Striche* snoRNA-Gene; *rote Kästchen* maternal exprimierte Gene; *schwarze Kästchen* biallelisch exprimierte Gene; *Pfeile oberhalb der Gene* Transkriptionsrichtung; *schwarzer bzw. weißer Kreis* die beiden kritischen IC-Elemente, AS-SRO und PWS-SRO; *horizontale Linien* Klasse-I- und Klasse-II-Deletionen und atypische Deletionen, die den *SNORD116*-Genlocus überspannen; *BP* Bruchpunkt-Clusterregionen; *IC* Imprinting-Center; *cen* zentromer; *tel* telomer. Darstellung nicht maßstabsgetreu

daher ebenfalls monoallelisch nur vom paternalen Allel exprimiert. Diese Transkripte überlappen in Antisense-Orientierung mit dem *UBE3A*-Gen, und es ist möglich, dass sie als *UBE3A*-Antisense-Transkript die monoallelische maternale Expression von *UBE3A* im Gehirn regulieren. Diese 3' alternativen *SNURF-SNRPN*-Transkripte dienen auch als Wirtsgen für die snoRNA-Gene, die entweder als Einzelkopie-Gene (*SNORD107*, *SNORD64*, *SNORD108*, *SNORD109A* und *SNORD109B*) oder als Multikopie-Gene (*SNORD116*, *SNORD115*) in den Introns dieser Transkripte lokalisiert sind und beim Spleißen der *SNURF-SNRPN*-Transkripte freigesetzt werden. Das bedeutet, dass die paternale Expression dieser snoRNA-Gene indirekt durch die monoallelische Expression von *SNURF-SNRPN* gesteuert wird.

Es ist bislang nicht geklärt, welche Rolle die einzelnen paternal exprimierten Gene in der Region 15q11q13 bei der Ausprägung eines PWS haben. Kürzlich konnten atypische Deletionen bei 3 Patienten mit dem klinischen Vollbild eines PWS identifiziert werden, die die Gene *MKRN3*, *MAGEL2* und *NDN* nicht überspannen. Im Gegensatz dazu waren bei einer Patientin mit einer unbalancierten Translokation 45X,der(X)t(X;15)(q28;q11), die keines der typischen Merkmale eines PWS zeigte, diese 3 Gene deletiert. Demnach spielen die 3 Gene vermutlich keine

wesentliche Rolle bei der Entstehung des PWS [6]. Kritisch für die Ausprägung der wesentlichen Merkmale eines PWS dagegen scheint ein Funktionsverlust des snoRNA-Gen-Clusters *SNORD116* zu sein. Drei bislang beschriebene Patienten mit einer atypischen De-novo-Deletion auf dem paternalen Chromosom, die den *SNORD116*-Gen-Cluster überspannt, zeigen viele Merkmale eines PWS. Ähnlich wie bei 6 bisher beschriebenen Patienten mit einem dem PWS ähnlichen Phänotyp und einer balancierten Translokation, deren Translokationsbruchpunkte in der *SNURF-SNRPN*-Transkriptionseinheit liegen, zeigen die 3 Patienten mit der *SNORD116*-Deletion keine Veränderung in der Methylierung am *SNURF-SNRPN*-Locus oder der Expression der zentromer gelegenen paternal exprimierten Gene [7, 8, 9].

Der Nachweis von Mutationen im *UBE3A*-Gen bei Patienten mit AS hat gezeigt, dass der Funktionsverlust dieses Gens ursächlich für die phänotypische Ausprägung des AS ist [10, 11]. Eine monoallelische maternale Expression von *UBE3A* ist auf einige Gehirnnareale begrenzt. In allen anderen bislang untersuchten Geweben ist dieses Gen biallelisch exprimiert. Der Promotorbereich von *UBE3A* ist nicht methyliert, sondern vollständig unmethyliert. Deshalb kann die Regulation der monoallelischen Expression nicht über die DNA-Methy-

lierung erfolgen. Derzeit ist noch nicht bekannt, wie die maternale Expression von *UBE3A* im Gehirn reguliert wird, aber es wird diskutiert, dass *SNURF-SNRPN*-Transkripte, die das *UBE3A*-Gen in Antisense-Orientierung überspannen, an der Abschaltung des paternalen Allels beteiligt sein könnten.

Genetische Ursachen

PWS und AS können durch unterschiedliche genetische Mechanismen verursacht werden (■ **Abb. 2**). Dazu gehören eine interstitielle De-novo-Deletion der chromosomalen Region 15q11q13, eine uniparentale Disomie 15 und ein Imprintingfehler. Beim AS kann auch eine Mutation im *UBE3A*-Gen krankheitsverursachend sein. Im Gegensatz zum PWS haben ~10–15% der Patienten mit der klinischen Diagnose AS einen bislang nicht bekannten genetischen Defekt.

Interstitielle De-novo-Deletionen der chromosomalen Region 15q11q13

Eine interstitielle De-novo-Deletion auf dem proximalen langen Arm des Chromosoms 15 [del(15)(q11–q13)] ist mit etwa 70% die häufigste Ursache für PWS und AS. Diese Deletion ist beim PWS immer väterlicher Herkunft, während sie beim AS immer mütterlicher Her-

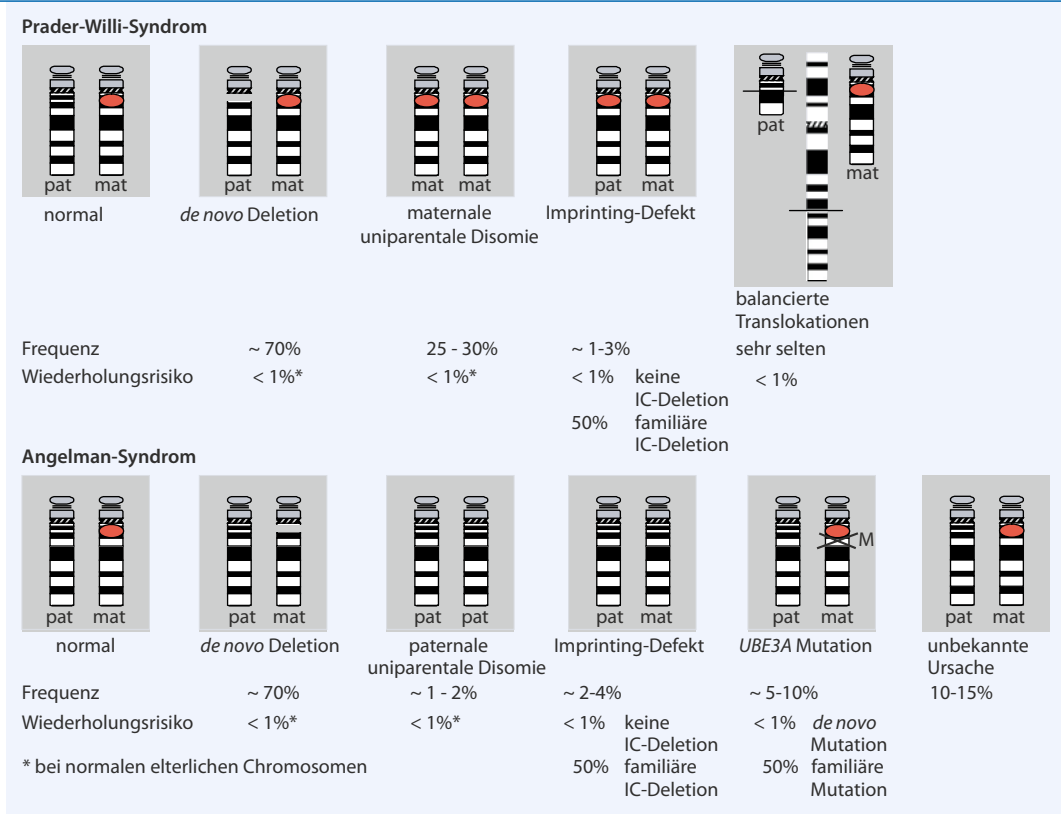


Abb. 2 ▶ Molekulargenetische Ursachen für das Prader-Willi- und Angelman-Syndrom. Angabe der Frequenz und des Wiederholungsrisikos. *Rotes Oval* Methylierungsstatus der paternal exprimierten Gene; *mat* maternal; *pat* paternal

kunft ist. Diese strikte Korrelation zwischen dem Krankheitsbild und dem elterlichen Ursprung der Deletionen lässt sich dadurch erklären, dass die Gene, die für PWS und AS verantwortlich sind, jeweils nur vom väterlichen bzw. nur vom mütterlichen Chromosom exprimiert werden. In seltenen Fällen ist eine solche Deletion durch eine unbalancierte Translokation bedingt.

Die Bruchpunkte der typischen 5–7 Mb großen De-novo-Deletionen liegen in definierten Regionen, die man als Bruchpunkt-Clusterregionen bezeichnet [12, 13]. Diese Regionen repräsentieren duplizierte Sequenzabschnitte von etwa 250–400 kb. Rekombinationsereignisse zwischen diesen Bereichen mit einer hohen Sequenzidentität von >95% führen zu den typischen Deletionen. In der Regel findet man 2 Klassen von Deletionen, eine Deletion der Klasse I oder eine Deletion der Klasse II. Bei einer Deletion der Klasse I liegen die Deletionsbruchpunkte in den Bruchpunkt-Clusterregionen BP1 und BP3, während bei einer Deletion der Klasse II die Deletionsbruchpunkte in den Bruchpunkt-Clusterregionen BP2 und BP3 liegen (■ **Abb. 1**). Bei einigen Patienten wurde gezeigt, dass die Deletio-

nen sich telomerisch über BP3 hinaus erstrecken und dass die Bruchpunkte in den Bruchpunktclustern BP4 oder BP5 liegen.

Uniparentale Disomie 15

Etwa 25–30% aller Patienten mit PWS haben eine uniparentale maternale Disomie 15 [upd(15)mat], was zu einem vollständigen Funktionsverlust der paternal exprimierten Gene führt. Die häufigste Ursache für eine solche upd(15)mat ist eine Fehlverteilung der Chromosomen 15 bzw. der Schwesterchromatiden in der mütterlichen Meiose 1 oder 2. Durch die Befruchtung einer disomen Oozyte entsteht eine trisome Zygote. Ein postzygoter Korrekturvorgang („trisomy rescue“), bei dem das väterliche Chromosom 15 verloren geht, führt dann zu einer upd(15)mat. Eine paternale uniparentale Disomie [upd(15)pat] bei etwa 2–5% der Patienten mit AS resultiert in einem vollständigen Funktionsverlust des *UBE3A*-Gens. Da es sich bei den Fällen mit einer upd(15)pat fast ausschließlich um eine Isodisomie handelt, entstehen sie vermutlich durch die Befruchtung einer nullisomen Oozyte und einen postzygoten Korrekturvorgang („monosomy re-

scue“), bei dem das väterliche Chromosom 15 dupliziert wird.

Es ist bekannt, dass das Risiko für eine Chromosomenfehlverteilung mit dem mütterlichen Alter steigt [14]. Das Risiko für eine uniparentale Disomie 15 ist auch bei einer Robertson-Translokation, an der ein Chromosom 15 beteiligt ist, signifikant erhöht, da eine solche Translokation zu einer Chromosomenfehlverteilung in der Meiose führen kann.

UBE3A-Mutationen

Bei 5–10% aller Patienten mit AS kann man eine Mutation im *UBE3A*-Gen auf dem mütterlichen Allel nachweisen. *UBE3A* kodiert für eine E6-AP-Ubiquitin-Protein-Ligase, die Proteine mit Ubiquitin markiert und somit der Degradierung durch die Ubiquitin vermittelte Proteolyse zuführt. Die Mehrzahl der Mutationen sind de novo und nur in ~20% aller Fälle haben die Mütter ebenfalls die Mutation. Bei diesen Müttern besteht ein 50%iges Risiko für ein weiteres Kind mit AS. In den sporadischen Fällen ist das Wiederholungsrisiko zwar gering, allerdings kann man ein Keimbahnmosaik, das mit einem erhöhten Wiederholungsrisiko

siko assoziiert ist, nicht ausschließen. Deletionen, die das gesamte Gen oder nur einen Teil des Gens betreffen, sind sehr selten und bisher nur für einige wenige Patienten beschrieben worden.

Imprintingdefekte

Es gibt eine kleine Gruppe von Patienten mit PWS (~1–3%) oder AS (~2–4%), bei denen die Erkrankung durch eine falsche Prägung (Imprintingdefekt) verursacht wird. Bei Patienten mit PWS und einem Imprintingdefekt trägt das paternale Chromosom einen maternalen Epigenotyp, was dazu führt, dass die paternal exprimierten Gene in der Region 15q11q13 abgeschaltet sind. Bei Patienten mit AS und einem Imprintingfehler trägt das maternale Chromosom einen paternalen Epigenotyp, was zu einem Funktionsverlust von *UBE3A* führt. Das Vorhandensein eines solchen Imprintingdefekts ist vermutlich auf einen Fehler entweder bei der Ausradierung, der Etablierung oder der Aufrechterhaltung der Imprints zurückzuführen (Übersicht s. [15]).

Imprinting-Center-Deletionen

Die Identifizierung von kleinen Deletionen „upstream“ des *SNURF-SNRPN*-Gens bei einigen dieser Patienten hat zur Identifizierung eines Imprinting-Centers (IC) geführt, das in *cis* die Imprintumschaltung und die Imprintaufrechterhaltung der gesamten geprägten Domäne auf dem Chromosom 15 reguliert [16]. Dieses IC hat eine zweiteilige Struktur. Zwei kleinste überlappende Deletionsbereiche („smallest region of deletion overlap“, SRO) definieren die beiden kritischen Elemente in der IC-Region, den AS-SRO und den PWS-SRO [16, 17].

Der PWS-SRO hat eine Größe von 4,3 kb und überlappt mit der *SNURF-SNRPN*-Exon-1/Promotor-Region. Dieser Bereich ist notwendig für die Aufrechterhaltung des paternalen Imprints während der frühen Embryonalentwicklung. Etwa 50% aller IC-Deletionen bei Patienten mit PWS sind familiäre Mutationen. Diese Deletionen führen nicht zu einem Phänotyp, wenn sie durch die weibliche Keimbahn vererbt werden, jedoch führen sie nach Transmission durch die männli-

che Keimbahn zu einem falschen maternalen Imprint auf dem paternalen Chromosom 15 und somit zu einem PWS. Das führt dazu, dass in einigen Familien nur einige wenige, manchmal relativ weit entfernt verwandte Familienmitglieder betroffen sind. Familiäre IC-Deletionen sowohl bei PWS als auch bei AS sind mit einem 50%igen Wiederholungsrisiko assoziiert. Es gibt keinen Hinweis auf ein erhöhtes Wiederholungsrisiko für De-novo-IC-Deletionen, außer wenn ein Keimbahnmosaik vorliegt.

Im Gegensatz zu den IC-Deletionen bei Patienten mit PWS überlappt keine der IC-Deletionen, die bisher bei Patienten mit AS identifiziert wurden, mit der *SNURF-SNRPN*-Exon-1/Promotor-Region. Der AS-SRO hat eine Größe von 880 bp und liegt 35 kb zentromerisch von *SNURF-SNRPN*-Exon 1. Die meisten nachgewiesenen IC-Deletionen beim AS sind familiäre Mutationen. Diese IC-Deletionen haben keine phänotypische Auswirkung, wenn sie durch die männliche Keimbahn vererbt werden, und führen nach Transmission durch die weibliche Keimbahn zu einem inkorrekten paternalen Imprint auf dem maternalen Chromosom 15 und somit zu AS. Der AS-SRO scheint eine wichtige Rolle für die Etablierung des maternalen Imprints in der weiblichen Keimbahn zu spielen, vermutlich durch die Interaktion mit dem PWS-SRO.

Sporadische Imprintingdefekte (primäre Epimutationen)

IC-Deletionen werden nur bei einer kleinen Anzahl von Patienten mit PWS und AS mit Imprintingdefekt gefunden. Bei der Mehrheit der Patienten (85% bei PWS und 92% bei AS) repräsentiert der Imprintingdefekt eine primäre Epimutation, d. h. eine Veränderung des Epigenotyps ohne DNA-Sequenzveränderungen [18].

Solche Epimutationen können während der Ausradierung der Imprints in den primordialen Keimzellen, der Etablierung der Imprints in den späteren Stadien der Keimbahnentwicklung oder der Aufrechterhaltung der Imprints nach der Fertilisation entstehen. Entstehen sie in der Keimbahn, so sind alle Zellen eines Patienten betroffen. Entsteht eine Epimu-

tation nach der Fertilisation, führt dies zu einem somatischen Mosaik, d. h. der Patient hat normale Zellen, aber auch Zellen mit einem Imprintingdefekt.

Bei Patienten mit AS und einer primären Epimutation konnte gezeigt werden, dass das maternale Chromosom 15 mit dem inkorrekten, paternalen Imprint sowohl von der Großmutter als auch vom Großvater mütterlicherseits ererbt sein kann. Das bedeutet, dass der Imprintingdefekt nach dem Ausradieren des Imprints durch einen Fehler in der Etablierung oder Aufrechterhaltung des maternalen Imprints entstanden ist. Im Gegensatz dazu haben Patienten mit PWS und einer primären Epimutation das falsch geprägte väterliche Chromosom 15 immer von der Großmutter väterlicherseits ererbt. Das lässt vermuten, dass die falsche Prägung auf einen Fehler bei der Ausradierung des maternalen Imprints in der frühen Keimbahnentwicklung zurückzuführen ist (epigenetische Vererbung) [18].

Somatische Mosaik bei Patienten mit PWS und einem Imprintingdefekt sind sehr selten. Bei Patienten mit AS hingegen führt ein postzygotischer Verlust des maternalen Imprints in mehr als 40% aller Fälle zu einem somatischen Mosaik für einen Imprintingdefekt. Diese Patienten zeigen eine Hypomethylierung des *SNURF-SNRPN*-Promotorbereiches auf dem mütterlichen Chromosom. Ein Genotyp-Phänotyp-Vergleich bei Patienten mit einem Imprintingdefekt im Mosaik zeigte zwar eine Tendenz zu einer leichtgradigeren Ausprägung der Erkrankung bei Patienten mit einem höheren Prozentsatz an normal methylierten Zellen, aber die Korrelation war statistisch nicht signifikant [19].

Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Die typischen De-novo-Deletionen bei Patienten mit PWS und AS betreffen auch Gene, die nicht dem Imprinting unterliegen und biallelisch exprimiert werden. Es ist durchaus möglich, dass diese Gene den Phänotyp von PWS und AS modifizieren und dass einige von ihnen für andere genetische Erkrankungen verantwortlich sind. Eine helle Hautpigmentierung bei Patienten mit einer Deletion ist ein häu-

figer Befund sowohl beim PWS als auch beim AS. Dieses bei beiden Erkrankungen auftretende, also nicht elternspezifische phänotypische Merkmal kann durch einen Gendosisseffekt des Gens für den okulokutanen Albinismus Typ 2 (*OCA2*) hervorgerufen werden.

Patienten mit PWS bedingt durch eine paternale De-novo-Deletion 15q11q13 zeigen eher die typischen fazialen Auffälligkeiten; sie haben tendenziell einen niedrigeren IQ und stärker ausgeprägte Verhaltensprobleme als Patienten mit einer uniparentalen maternalen Disomie 15. Die Patienten mit uniparentaler maternaler Disomie 15 entwickeln im Erwachsenenalter aber häufiger eine behandlungsbedürftige Psychose als Patienten mit einer Deletion. Geringe Unterschiede in den intellektuellen Fähigkeiten, in der Anpassungsfähigkeit und der Neigung zu Wutausbrüchen werden für die Patienten mit einer Deletion der Klasse I und Klasse II beschrieben.

Im Gegensatz zu Patienten mit AS mit einer upd(15)pat oder einem Imprintingdefekt zeigen die Patienten mit einer Deletion 15q11q13 einen schweren Phänotyp in Hinblick auf eine ausgeprägte mentale Retardierung, Ataxie und deutlich stärkere Beeinträchtigung der Sprache. Eine Haploinsuffizienz der biallelisch exprimierten GABA-Rezeptoren *GABRB3*, *GABRA5* und *GABRG3* in Verbindung mit einem *UBE3A*-Funktionsverlust wird mit einer Modifizierung des AS-Phänotyps v. a. in Hinblick auf eine höhere Frequenz an Krampfanfällen bei Patienten mit einer Deletion 15q11q13 diskutiert. Patienten, die neben der typischen Deletion 15q11q13 auch eine Deletion der Region 15q13 aufweisen, zeigen neben den genannten Symptomen eine schwer behandelbare Epilepsie und eine muskuläre Hypotonie.

Patienten mit einer Mutation des *UBE3A*-Gens haben i. d. R. Krampfanfälle, weisen aber eine bessere motorische Entwicklung auf als Patienten mit einer Deletion und entwickeln häufig eine Adipositas im Erwachsenenalter.

Bei Patienten mit AS und einem Imprintingdefekt gibt es eine Gruppe von Patienten mit eher atypischen Merkmalen für ein AS, wie z. B. eine neonatale muskuläre Hypotonie und eine früh einset-

zende Adipositas, phänotypische Merkmale, die mit einem PWS überlappen.

Differenzialdiagnosen

Ähnlich wie beim PWS zeigen auch Patienten mit einer upd(14)mat, einem Imprintingdefekt oder einer Deletion des *DLK1/MEG3*-Locus in der chromosomalen Region 14q32 eine neonatale Muskelhypotonie, eine generalisierte Adipositas und kleine Hände und Füße. Weitere Differenzialdiagnosen sind das Cohen-Syndrom, Bardet-Biedl-Syndrom und Alström-Syndrom.

Eine wichtige Differenzialdiagnose bei Mädchen mit phänotypischen Merkmalen des AS ist das Rett-Syndrom. Aber auch Mutationen im *SLC9A6*-, *ZFX1B*- (Mowat-Wilson-Syndrom) und *TCF4*-Gen (Pitt-Hopkins-Syndrom) wurden bei Patienten mit einem AS-ähnlichen Phänotyp beschrieben.

Molekulargenetische Diagnostik

Die Verdachtsdiagnose PWS oder AS wird zunächst aufgrund der typischen klinischen Befunde gestellt. Um zu prüfen, ob tatsächlich ein PWS oder AS vorliegt, wird i. d. R. eine Methylierungsanalyse für das Exon 1 bzw. den Promotorbereich des *SNURF-SNRPN*-Gens durchgeführt (Details s. [20, 21]). Diese Region ist auf dem paternalen Allel unmethyliert und auf dem maternalen Allel methyliert. Mit der Methylierungsanalyse erfasst man alle Patienten mit PWS oder AS, die eine Deletion 15q11q13, eine uniparentale Disomie oder einen Imprintingfehler haben. In diesem Fall kann man bei Patienten mit PWS nur das methylierte mütterliche Allel und bei AS nur das väterliche unmethylierte Allel nachweisen. Eine Ausnahme sind die Patienten mit AS und einem Imprintingdefekt im Mosaik. Hier kann man je nach Grad des Mosaiks eine unterschiedlich ausgeprägte Hypomethylierung beobachten.

Die derzeit gängigsten Testverfahren sind die methylierungsspezifische Polymerasekettenreaktion (MS-PCR) und die MS-MLPA (methylierungsspezifische „multiplex ligation-dependent probe amplification“). Gegenüber anderen Methoden, wie z. B. der MS-PCR, bietet die Me-

thylierungsanalyse mittels MS-MLPA den Vorteil, dass die Methylierung an mehreren Stellen untersucht wird und deshalb das Risiko für ein falsch-positives oder falsch-negatives Ergebnis reduziert wird. Ein weiterer Vorteil ist, dass man mit der MLPA parallel eine Gendosisbestimmung für die chromosomale Region 15q11q13 durchführen kann und so in der Lage ist, die typischen Deletionen, die bei 70% aller Patienten mit PWS und AS vorliegen, direkt zu detektieren. Auch IC-Deletionen, die als familiäre Mutationen mit einem 50%igen Wiederholungsrisiko verbunden sind, kann man mit der MLPA nachweisen. Deletionen, die den *SNORD116*-Gen-Cluster betreffen, können je nach Lage und Größe mit dieser Methode identifiziert werden. Eine Unterscheidung zwischen einer uniparentalen Disomie und einem Imprintingdefekt kann die MLPA nicht leisten, dazu muss als weiterführende Untersuchung eine Mikrosatellitenanalyse für das Chromosom 15 beim Patienten und den Eltern durchgeführt werden.

Mit der Methylierungsanalyse werden mehr als 99% aller Patienten mit PWS und ~80% der Patienten mit AS identifiziert. Bei einem normalen Testergebnis ist deshalb ein PWS mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen. Seltene balancierte Translokationen können molekulargenetisch nicht erfasst werden.

Da *UBE3A*-Mutationen und andere Mechanismen das Methylierungsmuster nicht verändern, wird nach einem Normalbefund des Methylierungstests bei einem weiterbestehenden klinischen Verdacht auf AS eine *UBE3A*-Mutationsanalyse empfohlen. Wird bei dem Patienten eine *UBE3A*-Mutation nachgewiesen, wird auch der Mutter und ggf. weiteren Familienangehörigen die Untersuchung angeboten, da eine familiäre *UBE3A*-Mutation mit einem 50%igen Wiederholungsrisiko assoziiert sein kann. Kleine Deletionen innerhalb des *UBE3A*-Gens können je nach Größe und Lokalisation mit einer MLPA-Analyse detektiert werden.

Generell ist das Wiederholungsrisiko für PWS und AS gering. Die 5–7 Mb große Deletion und die uniparentale Disomie treten fast immer sporadisch auf. Bestimmte Chromosomenaberrationen bei einem Elternteil (z. B. eine Translokation unter Beteiligung des Chromosoms

15) können aber das Wiederholungsrisiko für eine dieser Aberrationen erhöhen. Deshalb wird in diesen Fällen zur Abklärung einer Chromosomenaberration mit erhöhtem Wiederholungsrisiko eine zytogenetische und molekulargenetische Untersuchung des Patienten und der Eltern empfohlen.

Korrespondenzadresse

Dr. K. Buiting
 Institut für Humangenetik,
 Universitätsklinikum Essen
 Hufelandstraße 55, 45122 Essen
 karin.buiting@uni-due.de

Danksagung. Die Autoren danken dem BMBF für die Unterstützung ihrer Forschungsarbeiten im Rahmen des Imprinting-Netzwerks (01GM0882).

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- Ledbetter DH, Riccardi VM, Airhart SD et al (1981) Deletions of chromosome 15 as a cause of the Prader-Willi syndrome. *N Engl J Med* 304:325–329
- Magenis RE, Brown MG, Lacy DA et al (1987) Is Angelman syndrome an alternate result of del(15)(q11q13)? *Am J Med Genet A* 28:829–838
- Nicholls RD, Knoll JH, Butler MG et al (1989) Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 342:281–285
- Malcolm S, Clayton-Smith J, Nichols M et al (1991) Uniparental paternal disomy in Angelman's syndrome. *Lancet* 337:694–697
- Buiting K (2010) Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 154C:365–376
- Kanber D, Giltay J, Wieczorek D et al (2009) A paternal deletion of MKRN3, MAGEL2 and NDN does not result in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet* 17:582–590
- Sahoo T, Gaudio D del, German JR et al (2008) Prader-Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBI-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet* 40:719–721
- Smith AJ de, Purmann C, Walters RG et al (2009) A deletion of the HBI-85 class of small nucleolar RNAs (snoRNAs) is associated with hyperphagia, obesity and hypogonadism. *Hum Mol Genet* 18:3257–3265
- Duker AL, Ballif BC, Bawle EV et al (2010) Paternallly inherited microdeletion at 15q11.2 confirms a significant role for the SNORD116 C/D box snoRNA cluster in Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet*
- Matsuura T, Sutcliffe JS, Fang P et al (1997) De novo truncating mutations in E6-AP ubiquitin-protein ligase gene (UBE3A) in Angelman syndrome. *Nat Genet* 15:74–77
- Kishino T, Lalonde M, Wagstaff J (1997) UBE3A/E6-AP mutations cause Angelman syndrome. *Nat Genet* 15:70–73
- Amos-Landgraf JM, Ji Y, Gottlieb W et al (1999) Chromosome breakage in the Prader-Willi and Angelman syndromes involves recombination between large, transcribed repeats at proximal and distal breakpoints. *Am J Hum Genet* 65:370–386
- Christian SL, Fantes JA, Mewborn SK et al (1999) Large genomic duplicons map to sites of instability in the Prader-Willi/Angelman syndrome chromosome region (15q11–q13). *Hum Mol Genet* 8:1025–1037
- Robinson WP, Kuchinka BD, Bernasconi F et al (1998) Maternal meiosis I non-disjunction of chromosome 15: dependence of the maternal age effect on level of recombination. *Hum Mol Genet* 7:1011–1019
- Horsthemke B, Buiting K (2006) Imprinting defects on human chromosome 15. *Cytogenet Genome Res* 113:292–299
- Buiting K, Saitoh S, Gross S et al (1995) Inherited microdeletions in the Angelman and Prader-Willi syndromes define an imprinting centre on human chromosome 15. *Nat Genet* 9:395–400
- Ohta T, Gray TA, Rogan PK et al (1999) Imprinting-mutation mechanisms in Prader-Willi syndrome. *Am J Hum Genet* 64:397–413
- Buiting K, Gross S, Lich C et al (2003) Epimutations in Prader-Willi and Angelman syndromes: a molecular study of 136 patients with an imprinting defect. *Am J Hum Genet* 72:571–577
- Nazlican H, Zeschnigk M, Claussen U et al (2004) Somatic mosaicism in patients with Angelman syndrome and an imprinting defect. *Hum Mol Genet* 13:2547–2555
- Ramsden SC, Clayton-Smith J, Birch R, Buiting K (2010) Practice guidelines for the molecular analysis of Prader-Willi and Angelman syndromes. *BMC Med Genet* 11:70
- Buiting K, Gläser D, Horsthemke B (2010) Leitlinien für die molekulare und zytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom. *Med Genet* 22:282–285

Genmutation bei Leukämie im Kleinkindesalter

Zwischen dem Auftreten einer seltenen Leukämie im Kindesalter, der so genannten juvenilen myelomonozytären Leukämie (JMML), und Entwicklungsstörungen unterschiedlicher Organsysteme bei den betroffenen Patienten ist nun eine Verbindung hergestellt worden.

In aktuellen wissenschaftlichen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass 15 Prozent der an JMML erkrankten Kinder Mutationen in einem Gen namens CBL aufweisen. Diese Mutation tritt in sämtlichen Körperzellen auf. Bei der JMML spielt die normale Kindesentwicklung verrückt. Beispiele hierfür sind sprachliche Entwicklungsverzögerungen, Kleinwuchs, Hodenhochstand und Schwerhörigkeit. Die Forscher spekulieren, dass für die Entwicklung der betroffenen Organe eine normale Funktion von CBL eine wichtige Rolle spielen muss. Bemerkenswert ist, dass einige der untersuchten Patienten die Krankheit ohne Behandlung überlebten. Diese Personen entwickelten im Laufe der Jahre jedoch entzündliche Verengungen ihrer Blutgefäße mit Einschränkungen der Sehfähigkeit, Bluthochdruck und Organversagen.

Literatur: Niemeyer CM, Kang MW, Shin DH et al (2010) Germline CBL mutations cause developmental abnormalities and predispose to juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet* 42:794–800.

Quelle: Universitätsklinikum Freiburg, www.uniklinik-freiburg.de