

Pseudohypoparathyreoidismus und epigenetische Veränderungen des *GNAS*-Genlocus

Albright beschrieb 1942 drei Patienten mit Kleinwuchs, runder Gesichtsform, Adipositas, subkutanen Ossifikationen und verkürzten Metakarpalia, die eine Hypokalzämie und eine Hyperphosphatämie aufwiesen. Die Nierenfunktion der Patienten war normal, und sie zeigten keine positiven Reaktionen auf die Gabe von Nebenschilddrüsenextrakten. Er vermutete daher, dass es sich um eine Parathormonresistenz handelt und bezeichnete die Erkrankung als Pseudohypoparathyreoidismus (PHP; [3]). Erst 40 Jahre später konnte eine Funktionsstörung der α -Untereinheit stimulierender G-Proteine (Gsa), verursacht durch Mutationen im *GNAS*-Genlocus, als Grundlage der Erkrankung nachgewiesen werden.

Funktion von Gsa und Aufbau des *GNAS*-Genlocus

Der *GNAS*-Locus auf Chromosom 20q13 ist einer von etwa 100 bekannten geprägten (imprinteten) Genorten. Er ist hinsichtlich der Transkription und der Regulation der Expression von außergewöhnlicher Komplexität. Vom *GNAS*-Genlocus werden mehr als 20 alternativ gespleißte Isoformen abgelesen, die teilweise dem Imprinting unterliegen. Das wichtigste kodierende Protein stellt das ubiquitär exprimierte Gsa dar. Gsa ist die α -Untereinheit stimulierender G-Proteine und ist essenziell für die Signalvermittlung membranständiger G-Protein-gekoppelter Rezeptoren in das Zellinnere. Nach Bindung eines Hormons, Neurotransmitters oder Glykoproteins an einen G-Protein-gekoppelten Rezeptor kommt es zu einem Austausch von Guanosindiphosphat (GDP)

und Guanosintriphosphat (GTP), der zu einer Aktivierung und Abspaltung von Gsa von der β - und γ -Untereinheit des G-Proteins führt. Das aktivierte Gsa aktiviert eine Adenylatzyklase, die aus Adenosintriphosphat (ATP) zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) synthetisiert, über das die Effekte in der Zielzelle hervorgerufen werden. Durch die Aktivität einer GTP-ase erfolgt die Spaltung von GTP und damit die Inaktivierung von Gsa [8]. Gsa wird in den meisten Geweben biallel exprimiert. Aufgrund eines paternalen Imprintings kommt es jedoch in einer kleinen Anzahl von Geweben, wie dem renalen Nierentubulus, der Schilddrüse, den Gonaden und der Hypophyse zu einer überwiegenden Expression des maternalen Allels [14].

Vom *GNAS*-Locus entstehen durch alternative Spleißstellen am Ende von Exon 3 und Exon 4 lange und kurze Gsa-Proteinvarianten, die alternativ die durch Exon 3 kodierenden Aminosäuren enthalten. Diese scheinen unterschiedliche physiologische Funktionen zu erfüllen [14]. Darüber hinaus werden durch den Gebrauch alternativer Promotoren und erster Exonen weitere Genprodukte kodiert, die größtenteils einem Imprinting durch Methylierung unterliegen. Die 4 bekanntesten sind XLas, Nesp55, A/B und ein Antisense-*GNAS*-Transkript (AS). XLas ist eine lange Proteinvariante von Gsa, welche sich nur im N-Terminus unterscheidet und die in neuroendokrinen Geweben und dem Nervensystem überwiegend vom paternalen Allel exprimiert wird. Das maternal exprimierte Nesp55

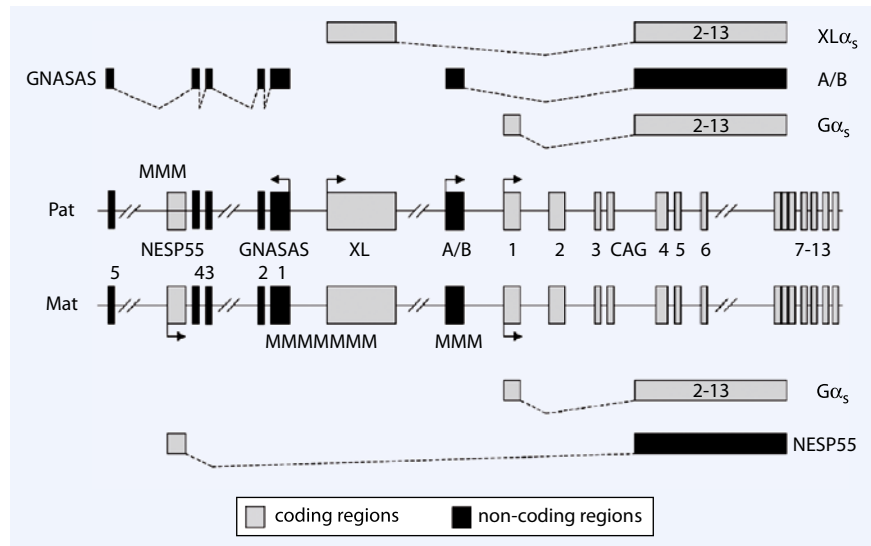


Abb. 1 ▲ Schematische Darstellung des *GNAS*-Genlocus. (Aus [17], mit freundl. Genehmigung des Verlags)

Tab. 1 Subtypen des PHPI

	PHPIa	PPHP	PHPIb	PHPIc
AHO-Zeichen	Ja	Ja	Nein	Ja
PTH-Resistenz	Ja	Nein	Ja	Ja
GNAS-Defekte	Mutationen in Exon 1–13	Mutationen in Exon 1–13	Epigenetische Veränderungen von <i>GNAS</i>	Noch nicht bekannt, selten Mutationen in Exon 13
In-vitro-Gsa-Proteinaktivität	Vermindert	Vermindert	Normal	Normal
Transmission	Maternal	Paternal	Maternal	Maternal

PHPIa Pseudohypoparathyreoidismus Typ Ia; PPHP Pseudopseudohypoparathyreoidismus; PHPIb PHP Typ Ib; PHPIc PHP Typ Ic; AHO hereditäre Albright-Osteodystrophie; PTH Parathormon; Gsa α -Untereinheit stimulierender G-Proteine.

Die Klassifikation beruht auf den klinischen Zeichen und der In-vitro-Gsa-Proteinaktivität (Referenzbereich 85–115% im Vergleich zu Normalkontrollen). Die genetischen und epigenetischen Ursachen der Erkrankung werden in der historisch gewachsenen Klassifikation nicht berücksichtigt.

Tab. 2 Untergruppen des PHPIb

Bezeichnung	Ursache	Methylierungsveränderungen
spor-PHPIb	Ungeklärt, selten durch UPD [4]	Häufig alle maternalen DMRs betroffen
AD-PHPIb	3-kb- und 4,4-kb-Deletion in <i>STX16</i> [5, 13]	Selektiv maternales Exon A/B betroffen
AD-PHPIb	Nesp55-DMR und Deletion der Exonen 3 und 4 von AS [6]	Alle maternalen DMRs betroffen
AD-PHPIb	Deletion der Exonen 3 und 4 von AS [9]	Maternale und paternale DMRs betroffen

PHPIb Pseudohypoparathyreoidismus Typ Ib; spor sporadische Mutationen; AD autosomal-dominant; UPD uniparentale Disomie; DMR differenziell methylierte Region. Die Tabelle fasst die Untergruppen des (nur maternal vererbten) PHPIb anhand der Ursachen zusammen.

kodiert für ein chromograninähnliches neuroendokrines sekretorisches Protein, das aufgrund eines Stopcodons im spezifischen ersten Exon keine Aminosäuresequenz mit Gsa gemeinsam hat. Das A/B- und das AS-Transkript sind ubiquitär vom paternalen Allel exprimierte, nicht-kodierende Transkripte. Die Funktion der alternativen *GNAS*-Genprodukte ist weitestgehend unbekannt. In Übereinstimmung mit der überwiegend maternalen bzw. paternalen Expression liegen die 35, 14, bzw. 2,5 kb stromaufwärts von Exon 1 liegenden Promotoren von XLas, Nesp55, A/B, und des Antisensetranskripts innerhalb differenziell methylierter Regionen (DMRs). Die Expression wird nur vom nichtmethylierten Promotor gestartet. Der Promotor für Gsa ist nicht methyliert und der Mechanismus der zur Stilllegung der paternalen Gsa-Expression in einigen neuroendokrinen Geweben führt ist noch unbekannt [7]. Der Aufbau des *GNAS*-Genlocus ist in **Abb. 1** dargestellt.

Subtypen des Pseudohypoparathyreoidismus

PHPIa, PPHP, PHPIc

Folgende Subtypen des Pseudohypoparathyreoidismus werden als Erstes dargestellt:

- Pseudohypoparathyreoidismus Typ Ia (PHPIa),
- Pseudopseudohypoparathyreoidismus (PPHP) und
- PHP Typ Ic (PHPIc).

Der PHP wird in Typ I (PHPI) und II (PHPII) unterteilt. Beim PHPI liegt eine Störung im cAMP-abhängigen Signalweg vor. Der Typ II ist sehr selten und seine Ursache ist noch unklar, sodass wir uns hier auf die verschiedenen Untergruppen des PHPI beschränken.

Die Klassifikation des PHPI ist historisch gewachsen und basiert auf den klinischen Zeichen und dem Ergebnis der Gsa-Proteinaktivität in einem In-vitro-Assay (**Tab. 1**)

Die am häufigsten auftretende Untergruppe stellt der PHP Typ Ia (PHPIa, MIM: 103580) dar. Neben der PTH-Resistenz weisen die meisten PHPIa-Pati-

enten eine leichtgradige Hypothyreose infolge einer TSH-Resistenz auf. Zusätzlich können ein Hypogonadismus und eine Wachstumshormondefizienz aufgrund der Resistenz gegenüber Gonadotropinen bzw. dem Wachstumshormon-Releasing-Hormon (GHRH) vorkommen. Definitionsgemäß treten zusätzlich klinische Zeichen der hereditären Albright-Osteodystrophie (AHO) auf, die eine Brachymetarkarpie und -tarsie (insbesondere des IV. und V. Strahls), subkutane Verkalkungen, Kleinwuchs, Adipositas und mentale Retardierung einschließen. Dabei werden nicht alle AHO-Zeichen bei jedem Patienten beobachtet. Einige der klinischen Zeichen zeigen sich erst im Lauf der Erkrankung [7].

Aufgrund der überwiegenden Expression von Gsa vom maternalen Allel im renalen Nierentubulus, der Schilddrüse, den Gonaden und der Hypophyse treten bei Patienten, die die Erkrankung paternal erben, zwar AHO-Zeichen, aber keine Hormonresistenzen auf. Wegen eines ähnlichen Phänotyps wie beim PHPIa, aber der fehlenden PTH-Resistenz wird dieser Subtyp als Pseudopseudohypoparathyreoidismus (PPHP, MIM: 612463) definiert [7].

Beim Pseudohypoparathyreoidismus Typ Ic (PHPIc, MIM: 612462) entwickeln die Patienten die gleichen klinischen und laborchemischen Auffälligkeiten (einschließlich AHO und Hormonresistenz) wie Patienten mit PHPIa, aber im Gegensatz zum PHPIa ist die in vitro gemessene Gsa-Aktivität normal. Es ist nicht abschließend geklärt, ob die Ursache des PHPIc in einer Funktionsstörung einer anderen Komponente des cAMP-abhängigen Signaltransduktionswegs liegt oder durch eine Funktionsstörung von Gsa hervorgerufen wird, die durch den In-vitro-Aktivitätsassay nicht erfasst wird [7].

PHPIb

Einige Patienten mit PHP weisen eine Parathormonresistenz und teilweise eine leichte TSH-Resistenz auf, jedoch ohne AHO-Zeichen. Dieser Subtyp wird als PHP Typ Ib (PHPIb, MIM: 603233) bezeichnet. Anders als beim PHPIa liegt die Ursache hierbei in sporadisch auftretenden (spor-PHPIb) oder autosomal-do-

minant, maternal vererbten (AD-PHPIb) genetischen Defekten, die durch Störungen des Imprintings von *GNAS* den Phänotyp hervorrufen [7].

Durch eine genomweite Kopplungsanalyse in 4 betroffenen Familien wurde die Krankheit 1998 erstmals mit einer Region im langen Arm des Chromosom 20 in der telomerischen Region assoziiert [11]. Kurz nach dieser Entdeckung wiesen Liu et al. bei 13 Patienten mit PHPIb einen Verlust der Methylierung der DMR des Exon A/B im *GNAS*-Genlocus nach, die zu einer biallelischen Expression von A/B führte [14].

Bastepe et al. erzielten 2003 einen entscheidenden Durchbruch in der Aufklärung der Erkrankung, indem sie bei Betroffenen und Konduktoren von 12 Familien mit AD-PHPIb eine 3-kb-Mikrodeletion etwa 220 kb stromaufwärts von Exon A/B nachwies. Diese entfernt die Exonen 4–6 des *STX16*-Gens. *STX16* kodiert für ein Mitglied der SNARE-Proteinfamilie („soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor“), die eine wichtige Rolle im Trafficking und in der Vesikelfusion spielen [5]. Eine weitere Mikrodeletion wurde 2005 in einer Familie mit AD-PHPIb nachgewiesen. Die Deletion ist 4,4 kb lang, überlappt die 3-kb-Deletion um 1,3 kb und entfernt die Exonen 2–4 von *STX16* [13]. Die Ursache der Erkrankung liegt aber vermutlich nicht in einem Verlust des *STX16*-Proteins, sondern in einer Deletion regulatorischer Elemente des *GNAS*-Genlocus. Alle bisher beschriebenen *STX16*-Deletionen sind mit einem selektiven Verlust der Methylierung von Exon A/B assoziiert. Beim Exon A/B handelt es sich um ein Imprintingkontrollelement, das die Methylierung mehrerer DMRs steuert [7]. Der Mechanismus, über den die epigenetische Veränderung zu einer gewebespezifischen Verminderung der G α -Expression führt, ist noch unklar. Studien an Mäusen mit Entfernung der Exon-1A-DMR (dem Homolog zu Exon A/B beim Menschen) haben jedoch die Wichtigkeit dieser Region für das gewebespezifische Imprinting von G α bestätigt [18].

In 2 AD-PHPIb-Familien mit ausgeprägten Methylierungsstörungen, die weitere DMRs von *GNAS* betreffen, wurden Deletionen in *GNAS* nachgewiesen, die

medgen 2010 · 22:419–423 DOI 10.1007/s11825-010-0249-5
© Springer-Verlag 2010

S. Thiele · O. Hiort

Pseudohypoparathyreoidismus und epigenetische Veränderungen des *GNAS*-Genlocus

Zusammenfassung

Die Bezeichnung Pseudohypoparathyreoidismus (PHP) beschreibt eine heterogene Gruppe von Erkrankungen, die durch eine Endorganresistenz gegenüber Parathormon (PTH) gekennzeichnet sind. Sie werden durch eine Defizienz der α -Untereinheit stimulierender G-Proteine (G α) verursacht. G α ist essenziell für die Signalvermittlung durch extrazelluläre Liganden über mehr als 1000 verschiedene G-Protein-gekoppelte Rezeptoren in das Zellinnere. Durch eine gewebespezifische Prägung verursachen maternale, autosomal-dominant vererbte Mutationen in dem für G α kodierenden *GNAS*-Genlocus PTH-Resistenz und klinische Zeichen der hereditären Albright-Osteodystrophie (AHO), einschließlich Brachymetakarpien, Kleinwuchs, subkutaner Ossifikationen und mentaler Retardierung (PHP-Typ Ia). Paternal vererbte *GNAS*-Mutationen führen zu selektiven AHO-Zeichen oh-

ne Parathormonresistenz (Pseudo-PHP). Der PHP-Typ Ib, bei dem eine isolierte PTH-Resistenz vorliegt, wird durch heterozygote, maternal vererbte Deletionen stromaufwärts vom oder innerhalb des *GNAS*-Locus hervorgerufen, die durch eine Störung des Imprintingmusters eine gewebespezifische Stilllegung der G α -Expression hervorrufen. Diese Patienten zeigen in der Regel keine Zeichen der AHO. In der vorliegenden Arbeit wird ein Überblick über die Rolle epigenetischer Faktoren bei der Ätiopathogenese verschiedener PHP-Formen gegeben.

Schlüsselwörter

Pseudohypoparathyreoidismus · Hereditäre Albright-Osteodystrophie · Humanes Protein des komplexen *GNAS*-Genlocus · Genetisches Imprinting · DNA-Methylierung

Pseudohypoparathyroidism and epigenetic alterations of the *GNAS* gene locus

Abstract

The term pseudohypoparathyroidism (PHP) describes a heterogeneous group of related disorders characterized by end-organ resistance to parathyroid hormone (PTH). PHP is caused by deficiency of the α -subunit of stimulatory G proteins (G α), which is crucial for signal transduction of more than 1000 G protein-coupled receptors into the cell. PHP type Ia is caused by heterozygous, maternally inherited inactivating mutations involving those exons of the *GNAS* locus that encode G α . In addition, PHP Ia and Ic patients present with features of Albright hereditary osteodystrophy (AHO), which includes round face, short stature, brachymetacarpia, ectopic ossification, and mental retardation. Paternally inherited *GNAS* mutations lead to pseu-

do-PHP and are characterized by only some features of AHO in the absence of hormone resistance. PHP type Ib is caused by heterozygous, maternally inherited deletions upstream of or within the *GNAS* locus that are associated with the loss of methylation at one or more maternally methylated regions within *GNAS*. Typically, these patients lack AHO features. This article provides an overview of the role of epigenetic factors for different PHP subtypes.

Keywords

Pseudohypoparathyroidism · Albright hereditary osteodystrophy · *GNAS* complex locus protein, human · Genomic imprinting · DNA methylation

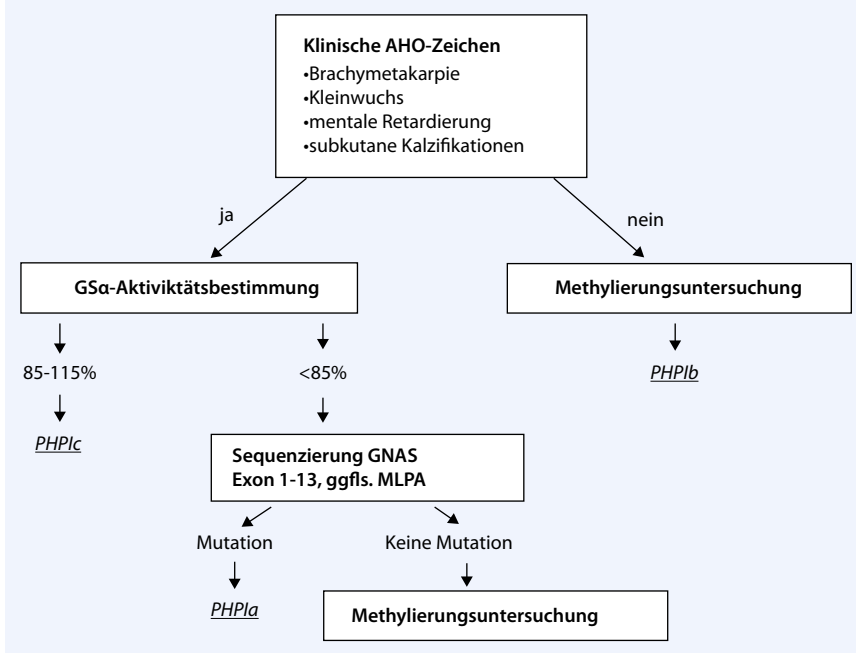


Abb. 2 ▲ Diagnostisches Vorgehen bei Pseudohypoparathyreoidismus

die Nesp55 DMR und die Exonen 3 und 4 des GNAS-Antisensetranskripts einschließen (delNesp55/delAS3-4). Bei maternalen Vererbung der Mutation sind alle maternalen Imprintingmarken verändert, und es erfolgt eine biallelische Expression von AS, XLas und A/B. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Nesp55 DMR ein weiteres cis-acting Kontrollelement enthält, was für das Imprinting des maternalen Allels notwendig ist [6]. Studien an Mäusen haben gezeigt, dass die Nesp55 DMR in der Mitte der Schwangerschaft etabliert wird und deshalb kein Keimbahnimprint darstellt. Daher könnte dieses Element eher eine Rolle in der Aufrechterhaltung des Imprintings als in der Entstehung spielen [7].

Von Chillambi et al. wurde kürzlich in einer Familie mit AD-PHPib eine weitere GNAS-Deletion beschrieben, die selektiv die Exonen 3 und 4 des Antisensetranskripts entfernt und zu ausgeprägten Methylierungsstörungen von GNAS führt. Die Deletion überlappt sich um etwa 1,5 kb mit der Deletion delNesp55/delAS3-4. Eine maternale Vererbung beeinflusst nicht nur die Methylierung der maternal methylierten DMRs (A/B, AS und XL), sondern führt auch zu einer teilweisen Hypermethylierung der Nesp55-DMR. Im Gegensatz zu der delNesp55/delAS3-4-Deletion kommt es bei paterna-

ler Vererbung zu einem teilweisen Verlust der Methylierung der Nesp55-DMR und einer Hypermethylierung der Exon-A/B-DMR. Damit wurde erstmals eine Deletion nachgewiesen, die das Imprinting von GNAS auf den Allelen beider Elternteile beeinflusst [9].

Beim größten Teil der PHPib-Patienten liegen sporadische Mutationen vor (spor-PHPib), die in der Regel durch ausgeprägte Imprintingstörungen des gesamten GNAS-Genlocus gekennzeichnet sind. STX16-Deletionen oder Nesp55-Deletionen wurden bisher noch nicht beschrieben. Daher wird vermutet, dass der spor-PHPib durch disruptive Mutationen anderer regulatorischer Elemente von GNAS verursacht wird.

Ein aufschlussreicher Fall mit spor-PHPib wurde von Bastepe publiziert, bei dem eine uniparentale Disomie des gesamten langen Arms des Chromosoms 20 vorlag. Der Patient entwickelte neben einer PTH-Resistenz im Gegensatz zu den „typischen“ PHPib-Patienten eine Entwicklungsverzögerung und eine Kraniosynostose [4].

POH und Sonderform des PHP

Die progressive ossäre Hypertropie (POH, MIM: 166350) ist durch schwere heterotop Kalzifikationen definiert. Diese be-

schränken sich nicht (wie beim PHPa) auf das subkutane Gewebe, sondern betreffen auch Muskulatur und tiefes Bindegewebe und verursachen oft schwere Malformationen benachbarter Gewebe.

Bei einigen Betroffenen wurden Mutationen in den Gsa kodierenden Exons des GNAS-Gens gefunden. Da Patienten mit POH zudem auch AHO-Zeichen und Hormonresistenzen aufweisen können, glaubt man, dass es sich bei einem Teil der POH-Patienten um extrem ausgeprägte Formen des PHPa handelt. Bei den meisten POH-Patienten zeigen sich jedoch nur Ossifikationen. Dieser Phänotyp zeigt sich jedoch nur nach paternalen Vererbung einer GNAS-Mutation. Dieses weist darauf hin, dass es einen zusätzlichen Mechanismus gibt, der Imprinting oder andere genetische Modifikationen bei der Pathogenese der Erkrankung einschließt [1].

Eine Sonderform des PHP stellen Patienten dar, die klinische PHP- und AHO-Zeichen aufweisen, welche jedoch nicht mit inaktivierenden GNAS-Mutationen, sondern mit epigenetischen Veränderungen (im Sinne des PHPib) assoziiert sind. 2007 wurden erstmals 5 PHP-Patienten mit leichten AHO-Zeichen beschrieben, die mit Methylierungsstörungen assoziiert waren [10]. 2010 konnten zahlreiche weitere Fälle publiziert werden [15]. Die Autoren schlussfolgerten, dass Methylierungsstörungen auch in Geweben, die nicht dem Imprinting unterliegen, wie Knochen und Fettgewebe, eine verminderte Gsa-Expression verursachen können. Alternativ könnte die Gsa-Expression auch in Geweben einem Imprinting unterliegen, für das man bisher eine biallelische Expression annimmt [15].

Diagnostisches Vorgehen

Da bei einer großen Anzahl PHPa-Patienten inaktivierende Mutationen in den Gsa kodierenden Exonen des GNAS-Gens vorliegen, wird bei Vorliegen von AHO-Zeichen und Parathormonresistenz zunächst meist eine molekulargenetische Untersuchung durchgeführt. Bisher wurden in Patientenproben über 100 verschiedene Mutationen in GNAS und konstitutionelle Deletionen auf dem Chromosom 20q nachgewiesen (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Diese führen zu einer inadä-

quaten G α -Expression oder G α -Funktion. Dadurch werden auch (außer bei Mutationen in dem G α -spezifischen Exon 1) alternative *GNAS*-Genprodukte betroffen, deren Auswirkungen auf den Phänotyp bisher kaum verstanden sind [17].

In Geweben, in denen G α biallel exprimiert wird, kann bei Patienten mit PHPIa eine verminderte mRNA-Menge, Proteinmenge und eine Reduktion der G α -Aktivität auf etwa 50% des Referenzwerts nachgewiesen werden. Dazu wird das G α -Protein aus Erythrozytenmembranen oder Fibroblasten des Patienten herausgelöst, und durch Zugabe von GTP γ S (Guanosin-5'-[γ -thio]triphosphat, einem nicht inaktivierbaren GTP-Analogon) wird eine definiert zugegebene Adenylatzyklase aktiviert. Das in der Folge aus zugegebenem ATP synthetisierte cAMP kann dann in einem Radioimmunoassay gemessen werden [2, 12]. Liegt bei dem Patienten eine isolierte Parathormonresistenz ohne klinische AHO-Zeichen vor, werden unter dem Verdacht auf einen PHPIb Methylierungsuntersuchungen des *GNAS*-Genlocus durchgeführt. Das mögliche diagnostische Vorgehen beim Pseudohypoparathyroidismus ist in **Abb. 2** dargestellt.

Ausblick

Die Herausforderungen der Zukunft werden sein, die Zusammenhänge zwischen Methylierung der DMRs, der Genexpression von G α und alternativen *GNAS*-Transkripten aufzudecken. Darüber hinaus wird eine neue Nomenklatur *GNAS*-assoziierter Erkrankungen entwickelt werden müssen, die neben klinischen Kriterien und der Bestimmung der G α -Aktivität auch auf molekulargenetischen und epigenetischen Veränderungen von *GNAS* aufbaut.

Fazit für die Praxis

Genomisches Imprinting stellt eine Form der epigenetischen Regulation der Gentranskription dar. Das Imprinting des *GNAS*-Genlocus hat folgende Auswirkungen auf die Ätiopathogenese *GNAS*-assoziierter Erkrankungen:

- Die überwiegend maternale Expression von G α in einigen Geweben erzeugt bei maternalen Vererbung in-

aktivierender Mutationen einen ausgeprägteren Phänotyp als bei paternalen Vererbung.

- Eine Störung des hochkomplexen Imprintingmusters des *GNAS*-Locus verursacht PTH- und TSH-Resistenz.
- Ein bisher nicht geklärter Mechanismus führt zu einer verminderten G α -Expression in Geweben, von denen man bisher annahm, dass G α biallellich exprimiert wird.

Korrespondenzadresse

Dr. S. Thiele



Hormonzentrum für Kinder und Jugendliche
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universität zu Lübeck
Ratzeburger Allee 160,
23538 Lübeck
thiele@paedia.ukl.mu-luebeck.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor weist auf folgende Beziehung(en) hin: Die Autoren haben finanzielle Unterstützung vom BMBF unter dem Kennzeichen GMG 01GM0315 sowie von der Fa. Novo Nordisk erhalten.

Literatur

1. Adegbite NS, Xu M, Kaplan FS et al (2008) Diagnostic and mutational spectrum of progressive osseous heteroplasia (POH) and other forms of *GNAS*-based heterotopic ossification. *Am J Med Genet* 146A(14):1788–1796
2. Ahrens W, Hiort O (2006) Determination of G α protein activity in Albright's hereditary osteodystrophy. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2:647–651
3. Albright F, Burnett CH, Smith PH, Parson W (1942) Pseudo-hypoparathyroidism: an example of 'Seabright-Bantam syndrome': report of three cases. *Endocrinology* 30:922–932
4. Bastepe M, Lane AH, Juppner H (2001) Parental uniparental isodisomy of chromosome 20q and the resulting changes in *GNAS1* methylation as a plausible cause of pseudohypoparathyroidism. *Am J Hum Genet* 68:1283–1289
5. Bastepe M, Frohlich LF, Hendy GN et al (2003) Autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type Ib is associated with a heterozygous microdeletion that likely disrupts a putative imprinting control element of *GNAS*. *J Clin Invest* 112:1255–1263
6. Bastepe M, Frohlich LF, Linglart A et al (2005) Deletion of the *NESP5* differentially methylated region causes loss of maternal *GNAS* imprints and pseudohypoparathyroidism type Ib. *Nat Genet* 37:25–27
7. Bastepe M (2008) The *GNAS* locus and pseudohypoparathyroidism. *Adv Exp Med Biol* 626:27–40
8. Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO et al (2003) Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev* 24(6):765–781

9. Chillambhi S, Turan S, Hwang DY et al (2010) Deletion of the Noncoding *GNAS* Antisense Transcript causes Pseudohypoparathyroidism Type Ib and biparental defects of *GNAS* methylation in cis. *J Clin Endocrinol Metab* [Epub ahead of print]
10. Nanclares GP de, Fernandez-Rebollo E, Santin I et al (2007) Epigenetic defects of *GNAS* in patients with pseudohypoparathyroidism and mild features of Albright's hereditary osteodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 92:2370–2373
11. Juppner H, Schipani E, Bastepe M et al (1998) The gene responsible for pseudohypoparathyroidism type Ib is paternally imprinted and maps in four unrelated kindreds to chromosome 20q13.3. *Proc Natl Acad Sci* 95:11798–11803
12. Levine MA, Downs RW, Singer M et al (1980) Deficient activity of guanine nucleotide regulatory protein in erythrocytes from patients with pseudohypoparathyroidism. *Biochem Biophys Res Commun* 94:1319–1324
13. Linglart A, Gensure RC, Olney RC et al (2005) A novel *STX16* deletion in autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type Ib redefines the boundaries of a cis-acting imprinting control element of *GNAS*. *Am J Hum Genet* 76:804–814
14. Liu J, Litman D, Rosenberg MJ et al (2000) A *GNAS1* imprinting defect in pseudohypoparathyroidism type Ib. *J Clin Invest* 106:1167–1174
15. Mantovani G, Sanctis L de, Barbieri AM et al (2010) Pseudohypoparathyroidism and *GNAS* epigenetic defects: clinical evaluation of Albright hereditary Osteodystrophy and molecular analysis in 40 patients. *J Clin Endocrinol Metab* 95(2):651–658
16. Thiele S, Ahrens W, Werner R et al (2007) A disruptive mutation in exon 3 of the *GNAS* gene with Albright hereditary osteodystrophy, normocalcemic pseudohypoparathyroidism, and selective long transcript variant G α -L deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 92(5):1764–1768
17. Thiele S, Werner R, Ahrens W et al (2010) Selective deficiency of G α and the possible role of alternative gene products of *GNAS* in Albright hereditary osteodystrophy and pseudohypoparathyroidism type Ia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 18(2):127–132
18. Williamson CM, Ball ST, Nottingham WT et al (2004) A cis-acting control region is required exclusively for the tissue specific imprinting of *Gnas*. *Nat Genet* 36(8):894–899