

Monogene Ionenkanalerkrankungen des Knochens

Ausgehend von knorpeligen Vorläuferstrukturen, die durch chondrogene Differenzierung von mesenchymalen Zellen gebildet werden, entstehen die meisten Elemente des Skeletts durch enchondrale Ossifikation [12]. Sobald in diese Vorläufer Gefäße eingedrungen sind, treten eingewanderte Osteoblasten und Osteoklasten in Aktion, um das Knochengewebe auf- und abzubauen. Mit der Bildung eines kompakten kortikalen Knochens geht die Entstehung der Osteozyten als zahlenmäßig größten Gruppe der Knochenzellen einher. Zusammen bestimmen diese 3 Zelltypen, Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten als „bone multicellular unit“ (BMU) zeitlebens die Knochenhomöostase. Störungen der BMU äußern sich v. a. in einer veränderten Dichte und Feinstruktur des Knochengewebes. Im Gegensatz hierzu erzeugen Störungen in den Knorpelzellen der Knochenvorläufer eher größere Deformationen und ein vermindertes Längenwachstum.

Durch Mutationen in Genen für Ionenkanäle kann jede Phase der Skelettentwicklung und jeder der genannten Zelltypen beeinträchtigt werden. Bei Durchsicht der 226 Gene beinhaltenden Nosologie für Skelettkrankheiten finden sich neben einigen Transportern die Ionenkanalgene *ANO5* (Anoctamin 5), *CLCN5* („chloride channel, voltage-sensitive 5“), *CLCN7*, *GJA1* („gap junction protein“, α -1) und *TRPV4* („transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 4“; [28]). Da aber Mutationen in *CLCN5* primär eine Nierenerkrankung, „Dent's dis-

ease“, Online-mendelian-inheritance-in-men (OMIM)-Eintrag: 300009, verursachen, wird auf dieses Gen hier nicht eingegangen [15]. Für das Gen *ANKH*, dessen Genprodukt ANK Pyrophosphat transportieren soll, ist die Art der Transportfunktion noch unklar und es findet daher ebenfalls keine Erwähnung [5]. Eine Übersicht der genannten Phänotypen und Gendefekte findet sich in **Tab. 1**.

Mit Connexin 43 assoziierte Skelettveränderungen

Funktionen von Connexin 43 in Knochenzellen

Connexin 43, das Genprodukt von *GJA1*, gehört zu der Familie der Gap-junction-Kanäle, deren Öffnungsverhalten durch verschiedene Stimuli, darunter auch das Membranpotenzial und mechanische Kraft, gesteuert wird [22]. Durch ihre Pore können nicht nur Kationen, sondern auch andere Substanzen bis zu einer Größe von 1 kDa passieren, z. B. ATP oder Eicosanoide. Es bilden 6 Connexinmonomere einen Hemikanal, der alleine ebenfalls funktionstüchtig ist und den Austausch zwischen der Zelle und ihrer Umgebung ermöglicht. Zwei Hemikanäle einander berührender Zellen können ein Connexon bilden, durch das die o. g. Substanzen zwischen den Zellen ausgetauscht werden können. Connexin 43 wird in Odontoblasten, Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten exprimiert und beeinflusst diese Zelltypen in komplexer Weise [22].

Neben der Ionenhomöostase erfolgt dies auch durch Beeinflussung der MAPK- und Smad-Signaltransduktion. Besonders wichtig scheint Connexin 43 für die Osteozyten zu sein, die über Kanalikuli wie Neuronen miteinander kommunizieren. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass Mutationen im oder das Fehlen von Connexin 43 die Sensitivität des kortikalen Knochens für mechanische Stimulation und die Überlebensrate der Osteozyten verringern [29].

GJA1-Mutationen und induzierte Erkrankungen

Okulodentodigitale Dysplasie

Die Trias aus Augen- (Mikrophthalmie oder Mikrokornea), Zahn- (Mikrodontie oder Hypodontie mit Schmelzdefekten) und Handanomalien (Klinodaktylie und Syndaktylie) ist für die autosomal-dominant vererbte okulodentodigitale Dysplasie (ODDD; OMIM-Eintrag: 164200) charakteristisch. Hinzu kommt eine schmale Nase mit hypoplastischen Alae nasi. Im Schädel skelett finden sich eine Mikrozephalie, Verdickungen der Schädelkalotte und eine prominente oder hypoplastische Mandibula. Die Röhrenknochen sind häufig untermodelliert und in manchen Fällen sklerotisch. Komplizierend können Hörstörungen, Optikusatrophie, Spastik oder Ataxie auftreten. In der Mehrheit der Fälle ist die geistige Entwicklung normal. Der Phänotyp ist äußerst variabel, als gering ausgeprägte Variante kann auch eine isolierte Syndaktylie auftreten

Tab. 1 Skeletale Ionenkanalerkrankungen									
Ionenkanalgen	Kraniofazial			Extremitäten		Sonstiges	Kanalfunktion	Physiologischer Prozess	
	Skeletterkrankung	Abkürzung	Neurokranium	Axial	Epiphyse				Metaphyse
GJA1	Okulodentodigitale Dysplasie	ODDD	Verbreiterte Calvaria	Viszerokranium Hypoplasie	Mandibuläre Hypoplasie	Verbreiterter diaphysärer Kortex	Mikrophthalmie, Mikrodontie, Syndaktylie, Klinodaktylie Dig. V	Kalziumkanal, Gap Junction	Osteoblasten- und Osteozytenfunktion, Kommunikation und Zelltod, Osteoblasten-Osteoklasten-Kommunikation, TGF-β und andere Signalwege
	Hallermand-Streiff-Syndrom	HSS	Verbreiterte Calvaria	Mandibuläre Hypoplasie	Hyperostose der Schädelsbasis, paranasale Hyperostose	Verbreiterter diaphysärer Kortex	Klinodaktylie Dig. V		
ANOS	Autosomal-rezessive kranio-metaphysäre Dysplasie	CMD	Verbreiterte Calvaria	Hyperostose der Schädelsbasis, paranasale Hyperostose	Mandibuläre Hypoplasie	Verminderte Röntgendichte, Verbreiterung	Frakturen	Vermutlich intrazellulärer Chloridkanal	Unklar
	Gnathodiaphysäre Dysplasie	GDD	Verbreiterte Calvaria	Hyperostose	Mandibuläre Hypoplasie	Grobe Trabekelstruktur	Frakturen	Vermutlich intrazellulärer Chloridkanal	Unklar
TRPV4	Autosomal-dominante Brachyolmie Typ 3	BO3	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Verbreiterte irreguläre Metaphyse	Verkürzter Oberkörper	Kalziumkanal	Volumenregulation in Chondrozyten, Chondrozytendifferenzierung, kalziumabhängige Signalwege	
	Spondylometaphysäre Dysplasie Typ Kozlowski	SMDK	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Verbreiterte irreguläre Metaphyse	Verkürzter Oberkörper			
	Spondyloepimetaphysäre Dysplasie Martoreaux	SEDM	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Hypo-plastische Epiphysen	Verbreiterte irreguläre Metaphyse	Brachydaktylie			
	Parastrematische Dysplasie	PD	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Verbiegung	Ausgeprägter Kleinwuchs, Kontrakturen				
CLCN7	Metatropische Dysplasie	MD	Platy-spondylie, Kyphoskoliose	Verbreiterte irreguläre Metaphyse	Kleinwuchs, Kontrakturen				
	Autosomal-dominante Osteopetrose Typ 2	AD0II	Sklerotische Schädelsbasis	Verengte Markkräme	Osteoarthritis, Osteomyelitis, Frakturen		Chlorid-Ionen-Austauscher	Säuresekretion durch Osteoklasten, lysosomale Funktion	
	Autosomal-rezessive Osteopetrose	ARO	Sklerotische Schädelsbasis	Verbreiterte irreguläre Markkräme	Kleinwuchs, Frakturen				

(OMIM-Eintrag: 186100). Die heterozygoten Mutationen sind über das gesamte Connexin-43-Protein verteilt [19]. Es handelt sich überwiegend um Missense-Mutationen, die zu einem Funktionsverlust führen.

Autosomal-rezessive kranio-metaphysäre Dysplasie

Die kranio-metaphysäre Dysplasie (CMD; OMIM-Eintrag: 123000) gehört zu den kranio-tubulären Skelettdysplasien und zeichnet sich v. a. durch eine erhebliche Verdickung des Schädeldachs und eine Verkleinerung oder einen Verschluss der Nebenhöhlen aus. Kennzeichnend sind auch eine Erlenmeyerdeformität des distalen Femurs, eine erhöhte metaphysäre Röntgentransparenz und eine unterschiedlich ausgeprägte Verdickung des diaphysären kortikalen Knochens. Für die häufigere dominante Variante sind Mutationen im Membranprotein ANK ursächlich. Im Gegensatz dazu wurde in mehreren Patienten mit der autosomal-rezessiven CMD-Variante (OMIM-Eintrag: 218400) eine identische homozygote Mutation im C-Terminus von *GJA1* identifiziert [8].

Hallermann-Streiff-Syndrom

Das Hallermann-Streiff-Syndrom (HSS; OMIM-Eintrag: 234100) ist eine prognoide Erkrankung, die sowohl mit Erkrankungen des Cutis-laxa-Spektrums als auch mit anderen Progeriesyndromen und dem okulodentodigitalen Syndrom überlappt. Hervorstechendes klinisches Merkmal ist eine mandibuläre Hypoplasie, die in Kombination mit einer schmalen gebogenen Nase mit hypoplastischen Nasenflügeln und einer Hypotrichose die von Hallermann in der ursprünglichen Beschreibung als Vogelgesicht bezeichnete Fazies ergibt [6]. Darüber hinaus zeigen die Betroffenen einen ausgeprägten proportionierten Kleinwuchs und verschiedene Zahnanomalien (Hypodontie, Schmelzdefekte, überzählige Zähne). Radiologisch wurde eine diaphysäre endostale Verdickung beschrieben [9]. Mikrophthalmie und angeborene Katarakt sind typische okuläre Manifestationen. Die geistige Entwicklung ist häufig unauffällig. Bei einem einzelnen HSS-Patienten mit einer geringen Ausprägung

medgen 2013 · 25:493–500 DOI 10.1007/s11825-013-0420-x
© Springer-Verlag 2013

T. Stauber · D. Horn · U. Kornak

Monogene Ionenkanalerkrankungen des Knochens

Zusammenfassung

Obwohl Ionenkanäle eher mit der Generierung von Aktionspotenzialen in Verbindung gebracht werden, können sie auch in unterschiedlichster Weise die Entwicklung und Funktion von Knochenzellen und -gewebe beeinflussen, was durch die hier vorgestellten Skeletterkrankungen verdeutlicht werden soll. Jeder der grundlegenden Zelltypen, Chondrozyten, Osteoblasten, Osteozyten, Osteoklasten, kann in die Pathogenese involviert sein und in vielen Fällen ist das Zusammenspiel der verschiedenen zellulären Defekte nicht verstanden. Connexin 43 und TRPV4, 2 der genannten Membranproteine, transportieren v. a. Kalzium und stehen jeweils mit einem Spektrum an Skeletthänotypen in

Verbindung. Hierbei scheint Connexin 43 v. a. als Regulator in Osteoblasten und Osteozyten zu fungieren, während TRPV4 eine wichtige Rolle in Chondrozyten spielt. Die anderen beiden Beispiele sind die chloridtransportierenden Proteine ANO5 und CIC-7, deren Defekt die gnathodiaphysäre Dysplasie bzw. die Osteopetrose nach sich zieht. Während die Funktion von ANO5 noch unklar ist, konnte die Funktion von CIC-7 in Osteoklasten detailliert beschrieben werden.

Schlüsselwörter

Kaliumkanäle · Chloridkanäle · Connexine · Chondrodysplasien · Osteopetrose

Monogenic ion channelopathies of the skeleton

Abstract

Although ion channels are intuitively more related to the generation of action potentials, they can influence skeletal cells, development, and homeostasis in different ways as demonstrated in this review. All major skeletal cell types, chondrocytes, osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts, can be involved in the pathogenesis and often the interaction of these different defects is incompletely understood. Connexin 43 and TRPV4, two of the mentioned membrane proteins, predominantly conduct calcium ions and are the basis of a whole spectrum of skeletal phenotypes. While connexin 43 seems to regulate

the function of osteoblasts and osteocytes, TRPV4 is crucial for chondrocytes. The other two examples are chloride-transporting membrane proteins ANO5 and CIC-7, which can cause gnathodiaphyseal dysplasia and osteopetrosis, respectively. Whereas the function of ANO5 is largely unknown, the role of CIC-7 in bone resorbing osteoclasts has been investigated in great detail.

Keywords

Calcium channels · Chloride channels · Connexins · Chondrodysplasia · Osteopetrosis

ohne okularer Beteiligung und mit Klino-daktylie des 5. Fingers wurde eine homozygote Mutation in *GJA1* detektiert, so dass in diesem Fall dieses dem HSS ähnliche Krankheitsbild als Extremvariante der ODDD gesehen werden kann.

Mit TRPV4-Mutationen assoziierte Skelettdysplasien

Verwirrende Vielfalt von Phänotypen

Das breite phänotypische Spektrum bedingt durch heterozygote Mutationen im *TRPV4*-Gen umfasst die metatropische Dysplasie (MD; OMIM-Eintrag: 156530), die spondylometaphysäre Dys-

plasie Typ Kozłowski (SMDK; OMIM-Eintrag: 184252), und die autosomal-dominante Form der Brachyolmie (Typ 3 der Brachyolmie, BO3; OMIM-Eintrag: 113500). Einige Patienten mit parastrematischer Dysplasie (PM; OMIM-Eintrag: 168400) und spondyloepiphysärer Dysplasie Typ Maroteaux (SEDM; OMIM-Eintrag: 184095) sind ebenfalls beschrieben, die ursächliche Mutationen in *TRPV4* tragen.

Die klinische Hauptsymptomatik der metatropischen Dysplasie ist durch den Wandel von einer bei Geburt sichtbaren Kurzgliedrigkeit zu einem zum späteren Zeitpunkt auffallenden im Vergleich zur Extremitätenlänge kurzen Rumpf charakterisiert (■ **Abb. 1**). Als wesentliche



Abb. 1 ◀ Radiologische Charakteristika von *TRPV4*-abhängigen Skelettdysplasien. **a, b, c** Radiologische Befunde bei einem Patient mit metatropischer Dysplasie im Alter von 6 Monaten, verursacht durch die häufige P799L-Mutation. **a** Laterale Wirbelsäule: deutlich abgeflachte Wirbelkörper, insbesondere im Bereich der Brustwirbelsäule. **b** Beckenübersicht anterior-posterior: runde verbreiterte Beckenschaukeln mit Hypoplasie der unteren Anteile des Beckens, verengte Incisura ischiadica, verbreiterte proximale Enden der Femora. **c** Knie anterior-posterior. Stark verbreiterte Metaphysen des distalen Femurs sowie der proximalen Tibia und Fibula. **d, e, f** Patient mit spondylometaphysärer Dysplasie Typ Kozlowski im Erwachsenenalter, verursacht durch die häufige R594H-Mutation. **d** Laterale Wirbelsäule: Platyspondylie, unregelmäßige Grund- und Deckplatten der Wirbelkörper. **e** Becken anterior-posterior: kurze Schenkelhalse, abgeflachte Hüftkopfepiphysen. **f** Unterschenkel: mäßig verbreiterte Metaphyse der proximalen Tibia

radiologische Auffälligkeiten stellen sich eine ausgeprägte Platyspondylie und verbreiterte Metaphysen sowie eine reduzierte Länge der langen Röhrenknochen dar. Die Schwere des klinischen Bilds der metatropischen Dysplasie variiert zwischen letalen Phänotypen und leichteren Formen.

Die klinischen Hauptmerkmale bei der spondylometaphysäre Dysplasie vom Typ Kozlowski sind ein Kleinwuchs, der durch eine Rumpfkürzung mit einer kurzen breiten Thoraxform bedingt ist, sowie häufig eine Kyphoskoliose (■ **Abb. 1**). Hervorstechende radiologische Merkmale umfassen eine Platyspondylie und eine metaphysäre Dysplasie, die sich etwa ab dem 4.–5. Lebensjahr entwickelt und besonders in den proximalen Femurmataphysen sichtbar ist.

Markante klinische Auffälligkeiten bei der autosomal-dominanten Form der Brachyolmie sind ein verkürzter Rumpf, der in einem mäßigen Kleinwuchs resultiert, und ein klinisch unauffällig erscheinendes Extremitätenskelett.

Radiologisch zeigt sich ab dem Kindesalter eine langsam zunehmende Platyspondylie. Mäßige metaphysäre Veränderungen können an den proximalen Femora auftreten.

Bei der sehr seltenen parastremmatischen Dysplasie zeigt sich eine Deformierung der unteren Extremität mit eingeschränkter Gelenkbeweglichkeit und schwerer Ausprägung von Genua valga oder Genua vara. Bisher ist bei einem Patient mit parastremmatischer Dysplasie eine *TRPV4*-Mutation in der Literatur dokumentiert.

Die klinischen Hauptmerkmale der spondylometaphysären Dysplasie Typ Maroteaux sind ein leichter Kleinwuchs, eine Rumpfkürzung und eine Brachydaktylie, die als Brachydaktylie E zu klassifizieren ist. Richtungsweisende radiologische Merkmale schließen eine moderate bis schwere Platyspondylie, eine epiphysäre Dysplasie der langen Röhrenknochen und eine Hypoplasie der Darmbeinschaukeln ein. Metaphysäre Auffälligkeiten sind nicht vorhanden oder minimal ausgeprägt. Bei der selten beschriebenen familiären digitalen Arthropathie mit Brachydaktylie (FDAB; OMIM-Eintrag: 606835), bei der ebenfalls *TRPV4*-Mutationen identifiziert wurden, sind die skeletalen Veränderungen auf die Hände und Füße beschränkt.

Mandibula, die zusammen mit wiederkehrenden Osteomyelitiden im Erwachsenenalter entstehen und zu einer zunehmenden Vergrößerung der Mandibula führen, sind das kraniofaziale Kennzeichen der autosomal-dominanten gnathodiaphysären Dysplasie (GDD; OMIM-Eintrag: 166260; [25]). Hinzu kommt eine schon im Kindesalter bestehende äußerst ungewöhnliche unregelmäßige Verbreiterung des diaphysären kortikalen Knochens und eine grobe Trabekelzeichnung des spongiosen Knochens, wobei jedoch die Mineralisierung vermindert scheint. Trotz der radiologischen Vermehrung des Knochengewebes ist dieses – ähnlich der Osteopetrose – instabil, sodass es zu pathologischen Frakturen kommt. Allelisch mit der GDD sind die autosomal-rezessiven Phänotypen Gliedergürtelmuskeldystrophie Typ 2L (OMIM-Eintrag: 611307) und die Miyoshi Muskeldystrophie Typ 3 (OMIM-Eintrag: 6133319; [3]).

Eigenschaften von Anoctamin 5 und Pathomechanismus

Mit dem ersten identifizierten Mitglied der Anoctaminfamilie (auch als TMEM16-Familie bezeichnet), ANO1 (TMEM16A), wurde das molekulare Korrelat der lange bekannten kalziuminduzierten Chloridleitfähigkeit identifiziert. Hingegen ist die Funktion der anderen 9 Mitglieder dieser Familie unklar und oft kontrovers. Nach dem momentanen Kenntnisstand handelt es sich bei ANO5 (TMEM16E) um ein intrazelluläres Protein [16]. Zwei bei der GDD gefundene Mutationen betreffen ein Zystein (Cys356) in einem Loop des Kanalproteins. Wird das entsprechende Zystein in ANO1 mutiert, ändert sich das Verhalten des Kanals. Andererseits führt das Ersetzen des vermutlich die Pore bildenden Loops zwischen S5 und S6 von ANO1 durch denjenigen von ANO5 zu einem Verlust des Chloridstroms [24]. ANO5 scheint im Skelett v. a. im Perichondrium, in prähypertrophen Knorpelzellen und in Osteoblasten exprimiert zu sein [16]. Angesichts des Phänotyps ist in erster Linie eine Dysfunktion der Osteoblasten zu vermuten, wobei dies letztlich nur durch ein entsprechendes Tiermodell (z. B. ein konditioneller

Knock-in einer GDD-Mutation) zu belegen sein wird.

Mit *CLCN7*-Mutationen assoziierte Osteopetrose

Klinisches Bild und Formen der Osteopetrose

Schon früh nach Einführung der Röntgenstrahlen in die medizinische Diagnostik fiel dem Hamburger Radiologen Albers-Schönberg bei einem Patienten mit Oberschenkelfrakturen eine erhöhte Röntgendichte der Knochen auf. Der von ihm geprägte Begriff Marmor-Knochenkrankheit, bzw. Osteopetrose, illustriert sowohl diese radiologische Veränderung (im Extremfall ein kompletter Verschluss des Markraums durch Knochengewebe) als auch die herabgesetzte Stabilität und Flexibilität des marmorartig-bröseligen Knochengewebes, das zu pathologischen Frakturen führen kann, sehr gut [2]. Heute wird die von ihm beschriebene Erkrankung als autosomal-dominante Osteopetrose Typ 2 (ADO2) bezeichnet und es liegen genaue Daten über ihre klinischen Kennzeichen, allen voran die sog. Sandwichwirbel, ihre enorme Variabilität und verminderte Penetranz, vor [27]. Im Gegensatz zur Überfunktion der Osteoblasten bei der ADO1 steht bei der ADO2 eine Funktionsverminderung der Osteoklasten im Vordergrund, die bei der rezessiven Variante (ARO) zum völligen Verlust der Knochenresorption führt. Entsprechend schwerwiegend ist der Verlauf dieser Form, die daher auch infantile maligne Osteopetrose genannt wird [26]. Neben Frakturen und einem gestörten Längenwachstum der Röhrenknochen kommt es durch die fehlenden Markräume zu Anämie, Hepatosplenomegalie und Immunschwäche. Durch Veränderungen des Schädels können Hirnnerven geschädigt werden, allen voran der N. opticus. Ohne eine rettende Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen überleben ARO-Patienten selten länger als 10 Jahre.

Funktion der Osteoklasten

Osteoklasten sind mit Makrophagen verwandte riesige multinukleäre Fresszellen,

die als einzige Zellen des Körpers in der Lage sind, Knochengewebe in nennenswertem Umfang abzubauen (Übersicht in [23]). Im Gegensatz zu anderen Geweben, deren extrazelluläre Matrix durch verschiedene andere Zelltypen abgebaut werden kann, besteht das Knochengewebe zu einem großen Teil aus basischem Hydroxyapatit. Um dieses in Lösung zu bringen sind folglich große Mengen an Säureäquivalenten erforderlich. Durch einen spezialisierten Mechanismus sind die Osteoklasten in der Lage, solche großen Mengen an Protonen in die sog. Resorptionslakune zu transportieren (■ **Abb. 2**). Hierfür fusionieren in atypischer Weise späte Endosomen, die einen niedrigen pH-Wert aufweisen, mit der der Knochenoberfläche zugewandten Seite der Plasmamembran des Osteoklasten. Durch die Akkumulation von Membranen kommt es zu einer starken Fältelung, die histologisch als Bürstensaum erkennbar ist. Der Bereich der Bürstensaummembran wird durch die „sealing zone“ begrenzt, durch die sich die Osteoklasten sehr fest an die Knochenoberfläche klammern und somit verhindern, dass die in die Resorptionslakune sezernierten Protonen in die Umgebung entweichen. Die nach Auflösung des Hydroxyapatits freigelegte organische Matrix wird durch saure Proteasen verdaut. Sowohl Ionen als auch Spaltprodukte der Matrix werden durch Transzytose aus der Resorptionslakune entfernt und in die Umgebung ausgeschüttet.

Rolle von *Clc-7* für die Funktion von Osteoklasten

Sowohl die Ansäuerung der späten Endosomen und Lysosomen, durch deren Fusion mit der Plasmamembran der Bürstensaum der Osteoklasten gebildet wird, als auch die der Resorptionslakune wird durch die vakuoläre H^+ -ATPase bewerkstelligt, die unter Energieverbrauch Protonen in die entsprechenden Kompartimente pumpt. Damit dieser elektrogene Prozess nicht aufgrund eines sich aufbauenden Spannungsgefälles vor Erreichen eines sauren Milieus zum Erliegen kommt, muss ein Ladungsausgleich durch den Transport eines Gegenions, z. B. Chlorid, stattfinden. „Chloride channel protein 7“ (Clc-7), das Genpro-

dukt von *CLCN7*, ist zusammen mit seiner β -Untereinheit „osteopetrosis associated transmembrane protein 1“ (*Ostm1*) ubiquitär exprimiert und hauptsächlich auf späten Endosomen und Lysosomen lokalisiert ([11, 13, 14]; **Abb. 2**). Zusätzlich kommen die beiden Proteine gemeinsam im Bürstensaum der Osteoklasten vor [11, 13]. Es hat sich herausgestellt, dass *CIC-7* ein Chlorid-Protonen-Austauscher ist [14]. Mit dieser Funktionsweise könnte er die Azidifizierung der Resorptionslakune durch die H^+ -ATPase ermöglichen. Tatsächlich ist diese bei Osteoklasten von gentechnologisch erzeugten *CIC-7*-defizienten (*CIC-7*-KO-)Mäusen stark beeinträchtigt [11]. Dementsprechend sind die Osteoklasten dieser osteopetrotischen Mäuse nicht zur Knochenresorption fähig. Auffällig ist, dass nicht nur die Ansäuerung, sondern schon die Formung des Bürstensaums in *CIC-7*-defizienten Osteoklasten beeinträchtigt ist. Dies ist wahrscheinlich auf einen lysosomalen Defekt zurückzuführen. Sowohl die *CIC-7*-KO-Maus, als auch die Grey-lethal-Maus, der *Ostm1* fehlt [4], entwickeln neben der Osteopetrose eine lysosomale Speicherkrankheit. Dieser liegt jedoch keine verminderte Ansäuerung der Lysosomen zugrunde, sondern vielmehr ein Defekt der pH-getriebenen luminalen Chloridanreicherung durch den Cl^-/H^+ -Austausch [10, 30]. Somit scheint *CIC-7* 2 Rollen zu spielen: zum einen die Chlorid-Protonen-Austauschaktivität in der lysosomalen Ionenhomöostase, die für die Formung des Bürstensaums durch lysosomale Exozytose erforderlich ist, zum anderen die Bereitstellung des benötigten Ladungsausgleichs für die Ansäuerung der Resorptionslakune.

Auswirkungen von *CIC-7*-Mutationen

Nach Mutationen in *TCIRG* (dem Gen, das die osteoklastenspezifische $\alpha 3$ -Untereinheit der vakuolären H^+ -ATPase kodiert), die bei etwa 50% der ARO-Fälle identifiziert werden, sind Mutationen in *CLCN7* mit etwa 15% die zweithäufigste Ursache, wobei es sich meist um Missense- und selten um Nonsense-Mutationen handelt, die über die gesamte Sequenz von *CIC-7* vorkommen (Über-

sicht in [21]). ARO-Fälle mit Mutationen in *CLCN7* können zusätzlich noch eine primäre Neurodegeneration aufweisen, die nicht durch Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen therapiert werden kann. Eine genaue Korrelation zwischen Genotyp und Phänotyp besteht nicht. Einige monoallele Mutationen in *CLCN7* führen zur wesentlich weniger ausgeprägten ADO2.

Für die wenigsten der inzwischen bei ARO und ADO2 etwa 50 identifizierten Missense-Mutationen in *CLCN7* ist der pathogene Mechanismus bekannt. Die Schwere der Erkrankung in ARO, die mit dem Phänotyp der *CIC-7*-KO-Maus vergleichbar ist, legt einen nahezu kompletten Funktionsverlust von *CIC-7* nahe. Tatsächlich war in Fibroblasten des ersten ARO-Patienten, der compound-heterozyot für eine Nonsense- und eine Missense-Mutation war, *CIC-7* auf Proteinebene nicht nachweisbar [11]. Da Haploinsuffizienz bei *CLCN7* auszuschließen ist, müssen ADO2-Mutationen einen dominant-negativen Effekt ausüben. Dies kann innerhalb eines *CIC-7*-Dimers geschehen. So kann die gesamte Aktivität auf maximal 25% reduziert werden, was die verminderte, aber vorhandene Funktionalität von ADO2-Osteoklasten und die geringe Ausprägung des Phänotyps erklären würde [7]. Überexpressionsstudien deuten darauf hin, dass die am häufigsten vorkommende ADO2-Mutation (G215R) den Export aus dem endoplasmatischen Retikulum einschränkt [20]. Interessanterweise gibt es neben Mutationen, die die Ionen transportaktivität von *CIC-7* hemmen, auch einige (sowohl ARO als auch ADO2), die das normalerweise langsame spannungsabhängige Steuerungsverhalten (Aktivierung und Deaktivierung) beschleunigen, was vermutlich einem „gain of function“ gleichkäme [14]. Da allerdings von keiner dieser Mutanten bekannt ist, dass sie in vivo normal exprimiert ist, ist fraglich, ob die Beschleunigung von *CIC-7* in diesen Fällen die Pathologie verursacht.

Fazit für die Praxis

- Ionenkanäle können in unterschiedlicher Weise die Entwicklung und Funk-

tion von Knochenzellen und -gewebe beeinflussen.

- Kalziumtransportierende Membranproteine stehen dabei mit einem Spektrum an Skelettphänotypen in Verbindung. Hierbei fungiert *Connexin 43 v. a.* als Regulator in Osteoblasten und Osteozyten, während *TRPV4* eine wichtige Rolle in Chondrozyten spielt. Auch chloridtransportierende Proteine, wie z. B. *ANO5* und *CIC-7*, sind in die Osteogenese und Homöostase involviert.
- Mutationen in den genannten Genen sind mit verschiedenen Skelettveränderungen assoziiert. Die Genotyp-Phänotyp-Beziehung kann hierbei z. T. sehr unterschiedlich sein.
- Für die Einschätzung einer Skelettauffälligkeit ist die molekulargenetische Diagnostik von zunehmender Bedeutung.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. U. Kornak

Institut für Medizinische Genetik und Humangenetik, Charité-Universitätsmedizin Berlin
Augustenburger Platz 1, 13351 Berlin
uwe.kornak@charite.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. T. Stauber, D. Horn und U. Kornak geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. Balcerzak M et al (2008) Proteome analysis of matrix vesicles isolated from femurs of chicken embryo. *Proteomics* 8(1):192–205
2. Benichou OD, Laredo JD, Vernejoul MC de (2000) Type II autosomal dominant osteopetrosis (Albers-Schonberg disease): clinical and radiological manifestations in 42 patients. *Bone* 26(1):87–93
3. Bolduc V et al (2010) Recessive mutations in the putative calcium-activated chloride channel *Anoctamin 5* cause proximal LGMD2L and distal MMD3 muscular dystrophies. *Am J Hum Genet* 86(2):213–221
4. Chalhoub N et al (2003) Grey-lethal mutation induces severe malignant autosomal recessive osteopetrosis in mouse and human. *Nat Med* 9(4):399–406
5. Gurley KA et al (2006) Mineral formation in joints caused by complete or joint-specific loss of ANK function. *J Bone Miner Res* 21(8):1238–1247
6. Hallermann W (1948) Vogelgesicht und Cataracta congenita. *Klin Mbl Augenheilkd* 113:315–318

7. Henriksen K et al (2004) Characterization of osteoclasts from patients harboring a G215R mutation in CIC-7 causing autosomal dominant osteopetrosis type II. *Am J Pathol* 164(5):1537–1545
8. Hu Y et al (2013) A novel autosomal recessive GJA1 missense mutation linked to craniometaphyseal dysplasia. *PLoS One* 8(8):e73576
9. Kaissi AA et al (2011) Mid-diaphyseal endosteal thickening with subsequent medullary narrowing in a patient with Hallermann-Streiff syndrome. *J Clin Med Res* 3(6):328–330
10. Kasper D et al (2005) Loss of the chloride channel CIC-7 leads to lysosomal storage disease and neurodegeneration. *Embo J* 24(5):1079–1091
11. Kornak U et al (2001) Loss of the CIC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell* 104(2):205–215
12. Kornak U, Mundlos S (2003) Genetic disorders of the skeleton: a developmental approach. *Am J Hum Genet* 73(3):447–474
13. Lange PF et al (2006) CIC-7 requires Ostm1 as a beta-subunit to support bone resorption and lysosomal function. *Nature* 440(7081):220–223
14. Leisle L et al (2011) CIC-7 is a slowly voltage-gated 2Cl⁻/1H⁺-exchanger and requires Ostm1 for transport activity. *Embo J* 30(11):2140–2152
15. Lloyd SE et al (1996) A common molecular basis for three inherited kidney stone diseases. *Nature* 379(6564):445–449
16. Mizuta K et al (2007) Molecular characterization of GDD1/TMEM16E, the gene product responsible for autosomal dominant gnathodiaphyseal dysplasia. *Biochem Biophys Res Commun* 357(1):126–132
17. Muramatsu S et al (2007) Functional gene screening system identified TRPV4 as a regulator of chondrogenic differentiation. *J Biol Chem* 282(44):32158–32167
18. Nilius B, Voets T (2013) The puzzle of TRPV4 channelopathies. *EMBO Rep* 14(2):152–163
19. Paznekas WA et al (2009) GJA1 mutations, variants, and connexin 43 dysfunction as it relates to the oculodentodigital dysplasia phenotype. *Hum Mutat* 30(5):724–733
20. Schulz P et al (2010) The G215R mutation in the Cl⁻/H⁺-antiporter CIC-7 found in ADO II osteopetrosis does not abolish function but causes a severe trafficking defect. *PLoS One* 5(9):e12585
21. Sobacchi C et al (2013) Osteopetrosis: genetics, treatment and new insights into osteoclast function. *Nat Rev Endocrinol* 9(9):522–536
22. Stains JP, et al (2013) Molecular mechanisms of osteoblast/osteocyte regulation by connexin43. *Calcif Tissue Int* (Epub ahead of print)
23. Teitelbaum SL, Ross FP (2003) Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 4(8):638–649
24. Tran TT et al (2014) TMEM16E (GDD1) exhibits protein instability and distinct characteristics in chloride channel/pore forming ability. *J Cell Physiol* 229(2):181–190
25. Tsutsumi S et al (2004) The novel gene encoding a putative transmembrane protein is mutated in gnathodiaphyseal dysplasia (GDD). *Am J Hum Genet* 74(6):1255–1261
26. Villa A et al (2009) Infantile malignant, autosomal recessive osteopetrosis: the rich and the poor. *Calcif Tissue Int* 84(1):1–12
27. Waguespack SG et al (2007) Autosomal dominant osteopetrosis: clinical severity and natural history of 94 subjects with a chloride channel 7 gene mutation. *J Clin Endocrinol Metab* 92(3):771–778
28. Warman ML et al (2011) Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2010 revision. *Am J Med Genet A* 155A(5):943–968
29. Watkins M et al (2011) Osteoblast connexin43 modulates skeletal architecture by regulating both arms of bone remodeling. *Mol Biol Cell* 22(8):1240–1251
30. Weinert S et al (2010) Lysosomal pathology and osteopetrosis upon loss of H⁺-driven lysosomal Cl⁻ accumulation. *Science* 328(5984):1401–1403