

Samenvatting Goedgekeurd Eindverslag

Versie: april 2010

Titel: Identification and characterization of novel proteins in the kidney cilia that are associated with nephronophthisis and allied syndromes - a functional genomics approach
Projectcode: 2112
Projectleider: dr. ir. R. Roepman, prof. dr. N.V.A.M. Knoers, afdeling Anthropogenetica, UMC St. Radboud
Toegekende subsidie: € 249.235,-
Programma: Open Onderzoeksprogramma Onderzoekslijn: nierziekten, erfelijkheid Soort: dieronderzoek, onderzoek met menselijk materiaal; fundamenteel, klinisch Onderwerp: nefronoftisis, CORS (cerebello-oculo-renale syndromen), genetica: mutaties, ciliopathie
Periode: aanvraag: 25 oktober 2004 periode: 1 september 2005 – 1 september 2009 duur: 4 jaar eindverslag: 16 september 2009
Doel project: Het ontrafelen van de oorzaken van nefronoftisis en verwante aangeboren syndromen die op de nieren aangrijpen, door te zoeken naar nieuwe genmutaties en nieuwe eiwitten die van belang zijn in de ontwikkeling en werking van cilia (zweephaartjes) op cellen in de nierbuisjes. Uiteindelijk gerichte diagnose en behandeling van de syndromen.
Samenvatting voor leken: Nefronoftisis (NPHP) is een zeldzaam aangeboren syndroom dat leidt tot cystevorming in de nieren en nierfalen in kinderen en jonge volwassenen. NPHP is verwant aan een reeks aangeboren aandoeningen met variabele kenmerken, zoals de CORS (cerebello-oculo-renale syndromen). Deze syndromen kunnen leiden tot stoornissen in de werking van oa. de hersenen, de ogen en de nieren. Gelijkende syndromen zijn oa. het Senior-Løken syndroom (blindheid en nierfalen), Joubert syndroom (bewegingsstoornissen), en Bardet-Biedl syndroom (oa. blindheid, overgewicht, hartafwijkingen, vingerafwijkingen, risico op suikerziekte). NPHP tast alleen de nieren aan.. Er bestaat geen gerichte

behandeling voor deze syndromen.

De syndromen zijn erfelijk, zij ontstaan door genmutaties. Een bepaald gen is verantwoordelijk voor de vorming van een bepaald eiwit, een mutatie in een gen leidt tot een verandering in dat eiwit. Dit kan tot gevolg hebben dat de functie van het eiwit verstoord raakt, waardoor uiteindelijk afwijkingen ontstaan in het weefsel waar het eiwit thuishoort.

Er zijn vier (ten tijde van aanvraag, inmiddels elf) genen gevonden die met NPHP te maken hebben. De eiwitten die bij deze genen horen en bij de genen die met CORS hebben te maken, bepalen vorm en functie van de cilie op lichaamscellen. Cilie, "zweepbaren", zijn haarachtige uitsteeksels aan het oppervlak van lichaamscellen. Als de werking van de cilie verstoord is heeft dat negatieve gevolgen voor de ontwikkeling en werking oa. nieren, ogen en hersenen. De precieze mechanismes zijn nog niet ontrafeld.

De NPHP-genmutaties veranderen eiwitten die een functie hebben in de cilie in de nierbuisjes wat leidt tot cystevorming en nierfunctieverlies. Recent heeft de onderzoeksgroep ontdekt dat het eiwit nefroretinine, het eiwit van het NPHP4-gen, interactie aangaat met het RPGRIP1-eiwit dat in het oog voorkomt en te maken heeft met retinale dystrofie. NPHP4-mutaties kunnen tot nefronoftisis leiden, maar ook tot het Senior-Løken syndroom. De NPHP4-RPGRIP1-interactie kan dus ten grondslag liggen aan oogafwijkingen, maar waarschijnlijk niet aan nierafwijkingen. Er is echter een op RPGRIP1 gelijkend eiwit gevonden, KIAA1005, dat voorkomt in oa. de nieren en de hersenen en dat eveneens kan binden aan NPHP4.

Dit project heeft als hypothese dat NPHP4 en KIAA1005 een sleutelrol spelen in de functie van de cilie in de nieren en dat mutaties in de genen leiden tot nefronoftisis en CORS. De onderzoekers zullen de rol van KIAA1005 in NPHP-patiënten bestuderen en trachten nieuwe eiwitten te vinden die met NPHP4 en KIAA1005 samenwerken in de cilie van niercellen. Hieruit kunnen nieuwe kandidaatgenen voortkomen voor de syndromen.

Vraagstelling.

1. Het bepalen van de chromosomale veranderingen in patiënten.
2. Wat is de rol van KIAA1005/NPHP1-4 en wat zijn nieuwe kandidaatgenen in patiënten zonder bekende oorzaak?
3. Het vinden van nieuwe eiwitten die met KIAA1005/NPHP interacteren.
4. Hoe en waar komen KIAA1005/NPHP en nieuw gevonden eiwitten tot uiting in de cilie in de nier?
5. Wat is de functie van de eiwitten in de cilie in de nieren? Effecten van verstoring van de eiwitten op de niercelontwikkeling en -functie in dieren (oa. fruitvlieg, zebrafis).

Resultaten en conclusies:

Resultaten

De CORS-aandoeningen blijken deel uit te maken van de zogeheten ciliopathieën (ziektes die ontstaan door verstoorde werking van cilie). Het gen KIAA1005 kreeg de nieuwe naam RPGRIP1L (onderzoek in gen-databases toonde een grote gelijkenis met het eiwit RPGRIP1).

Er bleek een duidelijke wisselwerking te zijn tussen NPHP4 met RPGRIP1L. NPHP4-mutaties (Senior-Løken syndroom) verstoren deze interactie. RPGRIP1L komt tot uiting in het hele lichaam en mn. in de basis van de cilie (nier, retina, hersenen).

In families waarin het Joubert-syndroom voorkomt is aangetoond dat RPGRIP1L-mutaties een rol spelen. Patiënten met RPGRIP1L-mutaties hebben groter risico op NPHP (verband met cilie en cystenvorming). Een rol in andere syndromen is aangetoond in nieuwe publicaties. De cilie-syndromen vormen waarschijnlijk een spectrum van overlappende aandoeningen.

Het gen C6ORF152 (nu LCA5) werd gevonden als kandidaatgen (SNP-arrays) en bleek te maken te hebben met Leber Congenital Amaurosis (LCA, erfelijke blindheid). LCA5 blijkt ook van belang te zijn voor de cilie. Het eiwit van LCA5, leberciline, is waarschijnlijk een regulator van het transport van ciliaire eiwitten.

Soortgelijke analyse vond het gen CC2D2A, van belang bij Joubert-families. Andere publicaties en verder onderzoek laten zien dat het gen waarschijnlijk ook een ciliaire functie heeft. Het gen bleek ook een rol te spelen in de antennes van de fruitvlieg.

Conclusie

Het project had als doel onbekende genen, genmutaties en eiwitten te vinden die een rol spelen in het

ontstaan van nefronoftisis en verwante syndromen die op de nieren aangrijpen (naast allerlei andere symptomen oa. blindheid, hartafwijkingen, bewegingsstoornissen).

In families waarin zulke syndromen optreden vonden de onderzoekers dat mutaties in de genen RPGRIP1L, LCA5 en CC2D2A een rol speelden. Deze genen zijn alle van belang voor de goede werking van de cilie op cellen in de nierbuisjes (zweefhaartjes). In het onderzoek zijn nieuwe methoden toegepast en nieuwe diermodellen ontwikkeld.

Dit en ander onderzoek heeft bijgedragen tot een nieuw begrip van de aangeboren syndromen als een spectrum van overlappende ciliaire aandoeningen (ciliopathieën). De eiwitten behorend bij de genen vormen een complex netwerk dat de cilie reguleert. Voor aangedane families en patiënten betekent dit een nauwkeuriger diagnose en betere voorspelling van risico's voor nieuwe kinderen.

De WR keurde het eindverslag cum laude goed.

Implementatie en vervolg:

Verder onderzoek met nieuwe technologie naar de genen en mutaties die een rol spelen in het ontstaan van ciliopathieën.

Verdere verbetering van diagnose en voorspelling. Uiteindelijk het ontwikkelen van nieuwe vormen van gerichte behandeling.

Een Kolff Junior Postdoc Beurs is toegekend in 2009 (KJPB 09.009).

Publicaties incl. promotie en proefschrift, octrooi:

Publicaties:

- 1: Arts HH, Cremers FP, Knoers NV, Roepman R. Focus on molecules: RPGRIP1. *Exp Eye Res.* 2009 Mar;88(3):332-3. Epub 2008 Apr 8. PubMed PMID: 18538322.
- 2: Gorden NT, Arts HH, Parisi MA, Coene KL, Letteboer SJ, van Beersum SE, Mans DA, Hikida A, Eckert M, Knutzen D, Alswaid AF, Ozyurek H, Dibooglu S, Otto EA, Liu Y, Davis EE, Hutter CM, Bammler TK, Farin FM, Dorschner M, Topçu M, Zackai EH, Rosenthal P, Owens KN, Katsanis N, Vincent JB, Hildebrandt F, Rubel EW, Raible DW, Knoers NV, Chance PF, Roepman R, Moens CB, Glass IA, Doherty D. CC2D2A is mutated in Joubert syndrome and interacts with the ciliopathy-associated basal body protein CEP290. *Am J Hum Genet.* 2008 Nov;83(5):559-71. Epub 2008 Oct 23.
- 3: Arts HH, Doherty D, van Beersum SE, Parisi MA, Letteboer SJ, Gorden NT, Peters TA, Märker T, Voeselek K, Kartono A, Ozyurek H, Farin FM, Kroes HY, Wolfrum U, Brunner HG, Cremers FP, Glass IA, Knoers NV, Roepman R. Mutations in the gene encoding the basal body protein RPGRIP1L, a nephrocystin-4 interactor, cause Joubert syndrome. *Nat Genet.* 2007 Jul;39(7):882-8. Epub 2007 Jun 10.
- 4: den Hollander AI, Koenekoop RK, Mohamed MD, Arts HH, Boldt K, Towns KV, Sedmak T, Beer M, Nagel-Wolfrum K, McKibbin M, Dharmaraj S, Lopez I, Ivings L, Williams GA, Springell K, Woods CG, Jafri H, Rashid Y, Strom TM, van der Zwaag B, Gosens I, Kersten FF, van Wijk E, Veltman JA, Zonneveld MN, van Beersum SE, Maumenee IH, Wolfrum U, Cheetham ME, Ueffing M, Cremers FP, Inglehearn CF, Roepman R. Mutations in LCA5, encoding the ciliary protein lebercilin, cause Leber congenital amaurosis. *Nat Genet.* 2007 Jul;39(7):889-95. Epub 2007 Jun 3. PubMed PMID: 17546029.
- 5: Roepman R, Letteboer SJ, Arts HH, van Beersum SE, Lu X, Krieger E, Ferreira PA, Cremers FP. Interaction of nephrocystin-4 and RPGRIP1 is disrupted by nephronophthisis or Leber congenital amaurosis-associated mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Dec 20;102(51):18520-5. Epub 2005 Dec 9.

Promotie:

H.H. Arts, "Genetics and molecular biology of ciliary disorders".