

6 Zusammenfassung

Der GDF5/BMPRI1B-Signalweg spielt eine essentielle Rolle während der Embryonalentwicklung, insbesondere bei der Ausbildung der distalen Extremitätenabschnitte. GDF5 ist ein Mitglied der TGF β -Superfamilie und beeinflusst als sezerniertes Protein die Musterbildung der Finger und der Gelenke. Mutationen in *GDF5* und dem GDF5-responsiven Rezeptor *BMPRI1B* führen zu verschiedenen Typen von Brachydaktylien, die durch eine Verkürzung der Phalangen und eine Fehlentwicklung von Gelenken gekennzeichnet sind. Ziel dieser Doktorarbeit ist eine funktionelle *in vitro* Analyse und eine Genotyp-Phänotyp Korrelation von neu identifizierten Mutationen in *GDF5* (R438L, L441P, N445T) und *BMPRI1B* (I200K, R486W), deren molekulare Effekte unbekannt sind bzw. die zu untypischen Phänotypen bei den Patienten führen.

Die durchgeführten Analysen zeigten, dass *BMPRI1B*-Mutationen zu einer BDA2 führen können, wenn die Signalweiterleitung durch die Kinasedomäne des Rezeptors oder der Rezeptor *turnover* gestört ist. Ein ähnlicher Phänotyp resultiert bei der L441P Mutation in *GDF5*, welche die Rezeptorinteraktion negativ beeinflusst. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass sowohl der proximale Symphalangismus als auch das multiple Synostose Syndrom nicht ausschließlich durch Mutationen im *NOG*-Gen hervorgerufen werden, sondern ebenso aus einer gestörten *NOG*-GDF5 Wechselwirkung oder durch ein aktivierendes GDF5 resultieren können. Durch die Analysen der identifizierten Missense-Mutationen in *BMPRI1B* bzw. *GDF5* konnten spezifische Protein-Protein Interaktionen aufgeklärt werden, wie z.B. neue Details zur *BMPRI1B*-Aktivierung durch GDF5 oder zur Wechselwirkung von GDF5 mit dem Antagonisten *NOG*.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse eröffnen somit grundlegende Erkenntnisse über die zentrale Rolle von GDF5 und *BMPRI1B* im Regelnetzwerk der frühembryonalen Knochenentwicklung. Die hier untersuchten Mutationen erweitern das Wissen von GDF5-abhängigen Phänotypen. Mutationen in unterschiedlichen Genen des gleichen Signalweges können identische Phänotypen hervorrufen, wenn sie ähnliche Effekte auf die Protein-Protein Interaktionen haben (Abb. 28).

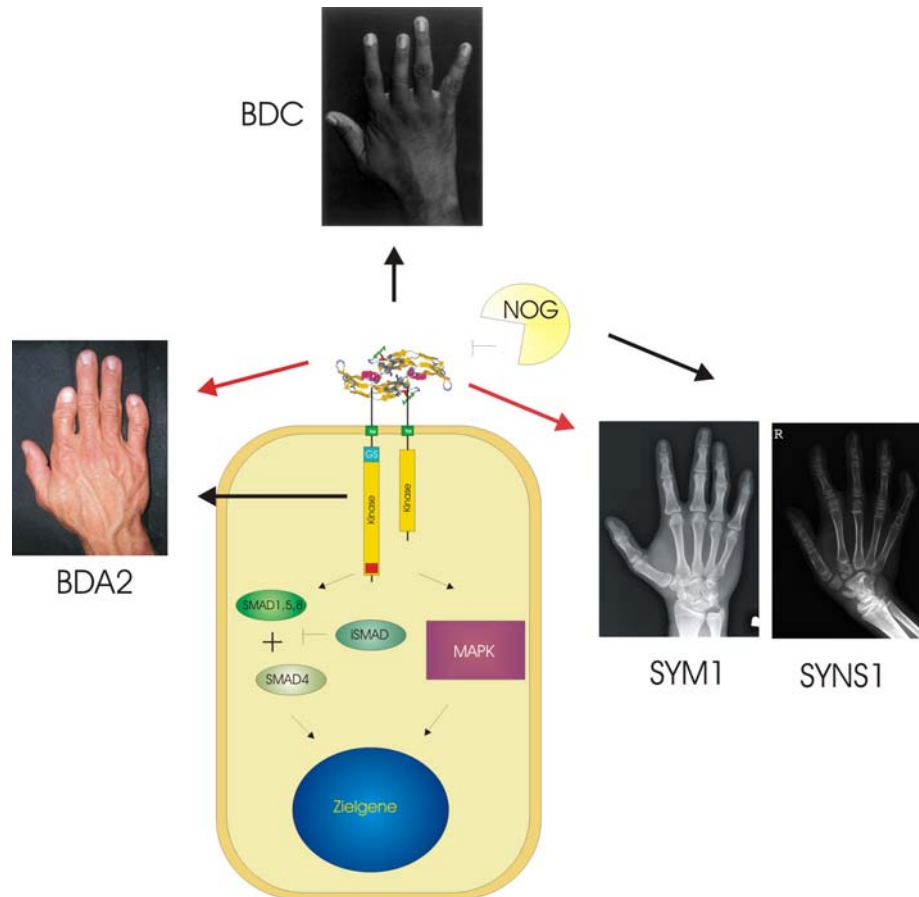


Abb. 28 Schematische Darstellung des GDF5-Signalweges mit assoziierten Krankheitsbildern

Heterozygote Mutationen im *BMPRI1B* sind ursächlich für die BDA2, während ein heterozygoter Funktionsverlust von GDF5 zur BDC führt und heterozygote Funktionsverluste von NOG mit SYM1 oder SYNS1 einhergehen. Heterozygote Punktmutationen im *GDF5*, die distinkt eine Protein-Protein Interaktion verändern, äußern sich in anderen Phänotypen. L441P verhindert die Interaktion von GDF5 mit dem BMPRI1B. Der resultierende BDA2 Phänotyp ist von L441P und den Rezeptormutationen nicht zu unterscheiden. N445T verhindert die Neutralisierung von GDF5 durch NOG und zeigt einen ähnlichen Phänotyp, wie die *NOG*-Mutationen (SYNS1). Die R438L-Mutation führt zu einem Funktionsgewinn von GDF5, welcher somit auch verstärkt über den BMPRI1A signalisieren kann. Dies führt zu einem ähnlichen Effekt, wie der Verlust der NOG-Aktivität und äußert sich somit in dem identischen Phänotyp - dem SYM1.

Fig. 28 Schematic overview of GDF5-signalling and associated diseases

BDA2 is caused by heterozygous mutations in *BMPRI1B*, whereas heterozygous *NOG* mutations lead to SYM1 or SYNS1. Heterozygous mutations in *GDF5* cause BDC, while point mutations in *GDF5* that interfere with specific protein-protein interactions lead to different phenotypes. The GDF5 mutant L441P does not interact efficiently with BMPRI1B and causes BDA2 which cannot be discriminated by phenotype from an inherited BMPRI1B mutation. An impaired interaction of GDF5 with its inhibitor NOG is observed with the N445T mutation. The phenotype closely resembles SYNS1 that is also caused by *NOG* mutations. The GDF5 mutant R438L binds additionally to BMPRI1A. This gained function causes a clinical SYM1 phenotype, very similar to the one observed in patients with *NOG* loss-of-function mutations.