

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Seizure susceptibility genes on chromosome 1 - from animal
model to human disease

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Falk W. Lohoff

aus Kiel

Gutachter: 1. Prof. Dr. B. Schmitz

2. Prof. Dr. K. Sperling

3. Prof. Dr. O.K. Steinlein

Datum der Promotion: 1.6.2008

Inhaltsverzeichnis

1. Introduction.....	6
2. Methods.....	8
2.1. Mouse model.....	8
2.2. Human Candidate gene analyses	10
3. Results	13
4. Discussion	16
5. Promotions-Publikationen.....	19
5.1. Publikationen.....	19
5.2. Erklärung über den Anteil an den Publikationen.....	20
6. References	21
7. Bibliography.....	24
8. Curriculum Vitae	32
9. Erklärung	33
10. Danksagungen.....	34

Abstract

Seizure susceptibility genes on chromosome 1 - from animal model to human disease

Genetic factors have been implicated to play a major role in the etiology of epilepsy. Mutations, in particular in ion channel genes, have been shown to cause rare familial epilepsies; however, for the more common forms, identification of susceptibility factors has been complicated by clinical and genetic heterogeneity, complex mode of inheritance and limitations in study designs. In our laboratory we use a polygenic mouse model to identify genes which influence seizure susceptibility. Quantitative trait loci (QTL) mapping and congenic animal studies with inbred mice have led to the identification of a critical region on distal mouse chromosome 1 (*Szs1*) which harbors a gene or genes that contribute to both generalized and focal seizure susceptibility. Fine mapping and systematic analysis of candidate genes within this region identified the inward rectifier potassium channel gene *Kcnj10* as a high ranking candidate. The two mouse strains used for mapping differ at *Kcnj10* amino acid position 262, with seizure resistant mice carrying a threonine and seizure sensitive mice carrying a serine. Gene transfer experiments, using a BAC clone that harbors the *Kcnj10* seizure resistant allele, documented a significant “phenotypic rescue” in transgenic mice. Based on this animal model, we investigated *KCNJ10* in human epilepsy. Mutation screening identified a common missense amino acid polymorphism Arg271Cys (rs1130183). Case-control association analysis revealed a significant association with disease. Independent confirmation in a second IGE sample confirmed results.

Our experiments demonstrate a successful identification of *KCNJ10* as seizure susceptibility gene for common forms of epilepsy. This translational approach to a complex disease might be used for future studies and has the potential to offer new insight into the pathogenesis of human epilepsy.

Keywords: epilepsy, Quantitative trait loci (QTL) mapping, mouse model, *KCNJ10*, association study

Zusammenfassung

Vom Mausmodell zum Menschen: Identifizierung genetischer Risikofaktoren für Krampfanfälle auf Chromosome 1

Genetische Faktoren spielen eine wesentliche Rolle in der Pathogenese von Epilepsien. Mutationen insbesondere in Ionen-Kanal-Genen verursachen seltene monogene Epilepsien. Für die häufigeren Epilepsieformen ist die Identifizierung von genetischen Faktoren erschwert durch die klinische und genetische Heterogenität, genetisch komplexe Vererbungsmuster und technische Limitierungen. In unserem Labor haben wir eine molekulargenetische Kartierung (QTL-Mapping) von Loci für epileptische Anfälle bei Mäusen durchgeführt. Diese Studie führte zur Kennzeichnung einer kritischen Region auf distalem Mausechromosom 1 (*Szs1*), die ein Gen oder Gene beherbergt, die zur Disposition von generalisierten und fokalen Anfällen beitragen. Das Gen des Kaliumkanals *Kcnj10* weist eine Missense Mutation (Thr262Ser) auf, die eine hohe und niedrige Anfallsdisposition bei verschiedenen Mäusestämmen unterscheidet. Genübertragungsexperimente (Gentransfer) mit BAC Klonen, die das protektive Allel von *Kcnj10* beherbergen, dokumentierte eine bedeutende „phänotypische Reversibilität“ in den genetisch manipulierten Mäusen. Eine Assoziationsstudie einer Arg271Cys Variation des humanen *KCNJ10* Gens bei fokalen und generalisierten Epilepsie-Syndromen belegte einen signifikanten protektiven Effekt der Cys271-Variante. In einer unabhängigen Replikationsstudie wurden diese Befunde bestätigt. Unsere Experimente identifizierten das *KCNJ10* Gen als genetische Determinante für häufige Epilepsie Formen.

8. Curriculum Vitae

November, 2007

Falk W. Lohoff, M.D.

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

9. Erklärung

„Ich, Falk W. Lohoff, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

„Seizure susceptibility genes on chromosome 1 - from animal model to human disease“

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift

10. Danksagungen

Mein Dank gilt insbesondere meinen Eltern, Thomas Sander, Bettina Schmitz, Wade Berrettini, Thomas Ferraro, Russel Buono und Wolfgang Vogel.