

Het identificeren van nieuwe genen die epidermolysis bullosa veroorzaken m.b.v. exoom sequencing

Gepubliceerd: 10-09-2014 Laatste bijgewerkt: 22-04-2024

De toegevoegde waarde bepalen van het gebruik van exoom sequencing in de diagnostische evaluatie van patiënten met epidermolysis bullosa.

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Epidermale en dermale aandoeningen
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON40473

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

NextGenvoorEB

Aandoening

- Epidermale en dermale aandoeningen

Synoniemen aandoening

aangeboren blaarziekte, vlinderkind ziekte

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Universitair Medisch Centrum Groningen

Overige ondersteuning: Vlinderkind: EB patient charity.

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: epidermolysis bullosa, exoom sequencing, genodermatose, mutaties

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

- De toegevoegde waarde bepalen van het gebruik van exoom sequencing in de diagnostische evaluatie van patiënten met epidermolysis bullosa waarin geen mutaties zijn gevonden in één van de bekende EB genen.
- Het identificeren van nieuwe genen en genotypes die EB veroorzaken.

Secundaire uitkomstmaten

- Het correleren van nieuwe geïdentificeerde genen met het bijbehorende fenotype.
- Om de Huidpanel-lijst van genen uit te breiden die EB kunnen veroorzaken

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Epidermolysis bullosa (EB) is een heterogene groep van erfelijke huidziekten die gekenmerkt wordt door trauma geïnduceerde blaarvorming en erosies van de huid en slijmvliezen vanaf de geboorte. Er zijn meer dan 25 verschillende subtypes waarbij de ernst van de ziekte varieert. Op dit moment zijn er 18 genen beschreven waarin mutaties kunnen leiden tot EB. Overgeërfde mutaties in één van de 18 genen resulteren in afwezigheid of vermindering van één van de eiwitten die belangrijk zijn voor de aanhechting van de epidermis aan de dermis. Het deficiënte eiwit, dat aangedaan is door de genetische mutatie, bepaalt op welk niveau er blaarvorming optreedt in de huid: van in de epidermis bij EB simplex tot onder de basaal membraan zone in de dermis bij dystrofische EB.

Naast de klinische beoordeling bestaat de diagnostische evaluatie van een kind geboren met EB uit moleculaire analyse van huidbiopten gebruikt voor immuno-antigen mapping en elektronenmicroscopie, gevolgd door genetische analyse. Deze methoden stellen ons in staat om het niveau van blaarvorming in

de huid te beoordelen, welk eiwit gereduceerd of abnormaal is aangemaakt, en vervolgens welk subtype van EB de patiënt hoogstwaarschijnlijk heeft. In Nederland worden bijna alle bekende EB genen diagnostisch getest. De mutatie wordt echter niet altijd gevonden. Zo werd er in 17% van de patiënten verdacht voor EB simplex geen mutatie gevonden. In de meeste gevallen worden de EB genen één voor één getest wat ertoe leidt dat het lang duurt en dat er hoge kosten mee gemoeid zijn.

Het bepalen van de (genetische) diagnose bij een kind met EB is belangrijk aangezien het waardevolle informatie oplevert t.a.v. de etiologie, prognose, mogelijk geassocieerde aandoeningen en herhalingsrisico. De identificatie van een bepaalde (genetische) diagnose is ook belangrijk voor gezinsplanning en reproductieve keuzes, en mogelijk prenatale diagnostiek of pre-implantatie genetische diagnostiek (PGD).

In Nederland worden er ongeveer 20 baby's per jaar geboren met EB. Er bestaat een behoefte aan een snelle en brede aanpak om het diagnostische proces te versnellen en te vereenvoudigen met als doel de diagnostische opbrengst te verhogen, en ook andere nog niet bekende EB genen te identificeren. Vanwege deze redenen willen we de toegevoegde waarde bepalen van exoom sequencing in de diagnostische evaluatie van patiënten met EB.

Door gebruik te maken van exoom sequencing kunnen alle exonen van alle bekende genen van een individu geanalyseerd worden met één test. Deze techniek maakt het dus mogelijk om parallel een analyse te doen van alle bekende EB genen. Dit kan bereikt worden door het oppikken van alle bekende genen die gerelateerd zijn aan EB, en vervolgens sequenzen van deze genen (= gerichte exoom sequencing). Als een alternatief kunnen alle genen worden opgepikt en gesequenced, en vervolgens kan een filter voor EB tijdens het data-analyse proces worden toegepast (= exoom sequencing met gerichte analyse). De laatste aanpak maakt het ook mogelijk om nieuwe genen die betrokken zijn bij EB te identificeren, omdat de sequence data van alle andere genen beschikbaar blijft. Bovendien kan het data-analyse proces eenvoudig worden bijgewerkt zodra nieuwe informatie over een ander gen dat betrokken is bij EB beschikbaar komt. De afdelingen Genetica & Dermatologie werken momenteel samen aan het opzetten van een huidpanel met next generation sequencing. Dit panel zal alle bekende EB genen includeren zodat elke nieuwe patiënt gescreend kan worden op mutaties in deze bekende genen. *Whole exome sequencing* zal aan dit huidpanel nieuwe genen toevoegen wanneer deze geïdentificeerd worden.

Exoom sequencing heeft een aanzienlijk hoger percentage van vals negatieve of vals positieve bevindingen in vergelijking met de klassieke Sanger sequencing. De dekking varieert tussen exonen, en het kan voorkomen dat sommige exonen in het geheel niet worden opgepikt. Dit is in het bijzonder het geval voor *whole exome sequencing*. Het grootste voordeel is echter dat exoom sequencing het mogelijk maakt om alle EB genen tegelijkertijd te analyseren met één test. Onze verwachting is daardoor dat de diagnostische opbrengt veel hoger is dan met de

tot nu toe gebruikte strategie van sequentiële en gerichte genetische analyse.

Door deze methode te gebruiken als een standaard genetische diagnostische tool voor EB verwachten we een kortere tijdsduur en reductie in de kosten. Een vergelijkbare studie met niet-gerichte exome sequencing in ons centrum liet zien dat exome sequencing pathogene mutaties kan identificeren in reeds bekende en nieuwe genen bij patiënten met microcefalie, een aandoening die bekend staat om zijn heterogeniteit. Bij een aanzienlijk aantal patiënten, van wie de meeste al meerdere jaren hadden gewacht op de diagnose, kon de genetische diagnose vastgesteld worden.

McGrath et al. heeft recent gebruik gemaakt van *genome wide whole exome sequencing* in een familie die klinisch was gediagnosticeerd als EBS. Er werd een homozygote frameshift mutatie gevonden in drie individuen met een atypisch fenotype. Hun bevinding zorgde ervoor dat gevonden werd dat het Slab2b effector eiwit belangrijk is voor de hechting van de huid. Hun resultaten konden bevestigd worden door immuno-antigen mapping en electronenmicroscopie. McGrath et al. identificeerde niet alleen een nieuw gen, exophilin 5, dat betrokken is bij EB, maar ze konden ook deze grote familie genetisch counselen. Deze studie bevestigt dat exoom sequencen een waardevol instrument is bij het vinden van nieuwe EB genen.

Een grote zorg voor zowel de dermatologie klinici en de klinische genetici is dat er een kans bestaat dat relevante mutaties worden gevonden die niet EB gerelateerd zijn gedurende exoom sequencing.

De belangrijkste focus van deze studie is om nieuwe ziektegenen te vinden en hun fenotypische betekenis te correleren (zie primaire en secundaire eindpunten). De kans dat varianten in genen die niet gerelateerd zijn aan EB worden gevonden bestaat, maar is erg klein. Veel technieken en strategieën worden uitgevoerd om de kans daarop verlagen waaronder:

- Linkage analyse voorafgaand aan of als eerste stap na het exoom sequencing in families met meerdere aangedane individuen kan al wijzen naar één of meerdere genetische regio*s van belang. De varianten in de genen in deze regio(*s) gevonden met behulp van exoom sequencing zullen worden geprioriteerd voor verdere analyse. Deze prioritering zal gemaakt worden op basis van de functie en de lokalisatie van de eiwitexpressie, en zal vervolgens bevestigd dienen te worden met Sanger sequencing.
- Trio-analyse van de exome sequencing data zal worden toegepast in gezinnen met slechts één aangedaan individu. Bij trio analyse worden de varianten die in de proband zijn gevonden gefilterd tegen de varianten in de gezonde ouders. Op die manier worden de varianten die overgeërfd zijn van de ouders in het getroffen kind eruit gefilterd. Dit resulteert in een selectie van de novo varianten in het kind. De resterende varianten, meestal 1-6 varianten met deze strategie worden verder geselecteerd op basis van hun genfunctie. Genen met betrekking tot de huid of genen die tot eiwitexpressie in de huid en

slijmvliezen resulteren worden verder onderzocht.

Zowel linkage analyse als Trio analyse richten zich op de meest waarschijnlijke ziekteverwekkende locus binnen elke onderzochte EB familie en verminderen de kans op het vinden van mutaties in niet-EB gerelateerde ziektegenen.

Doel van het onderzoek

De toegevoegde waarde bepalen van het gebruik van exoom sequencing in de diagnostische evaluatie van patiënten met epidermolysis bullosa.

Onderzoeksopzet

Observationeel onderzoek met invasieve meeting.

Inschatting van belasting en risico

De lasten en risico's verbonden aan deelname zijn te verwaarlozen. Ons onderzoek is een uitbreiding van de reguliere diagnostische zorg die patiënten hebben gekregen. Een bloedmonster zal worden genomen wanneer onvoldoende DNA is beschikbaar.

Als een pathogene mutatie wordt gevonden, worden de patiënt en de familie begeleid door de dermatoloog en een ervaren klinisch geneticus. In het onwaarschijnlijke geval, maar vooralsnog niet uitgesloten kans dat een ongevraagde bevinding zich voordoet, zal de familie worden begeleid door een klinisch geneticus met relevante ervaring en na inter-collegiale overleg. Dit inter-collegiale overleg is onderdeel van de routinematige procedures binnen de afdeling Genetica.

De identificatie van de genetische mutatie biedt de patiënt en familie vele voordelen. Wanneer een aangedaan individu geïnformeerd kan worden over zijn/haar ziekte is dit nuttig in vele opzichten:

- het zou het omgaan met deze ernstige ziekte kunnen verbeteren
- het resulteert in betere informatie over de prognose.
- het kan het aantal andere toekomstige diagnostische evaluaties verminderen
- het kan voordelen voor de familie bieden door verbeterde genetische counseling, hulp bij de besluitvorming met betrekking tot gezinsplanning, dragerschap testen in familieleden en mogelijk het aanbieden van prenatale diagnostiek.

Contactpersonen

Publiek

Universitair Medisch Centrum Groningen

Hanzeplein 1
Groningen 9700RB
NL

Wetenschappelijk

Universitair Medisch Centrum Groningen

Hanzeplein 1
Groningen 9700RB
NL

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Adolescenten (12-15 jaar)
Adolescenten (16-17 jaar)
Volwassenen (18-64 jaar)
Kinderen (2-11 jaar)
65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

- Klinische diagnose van EB of familielid van EB patiënt
- Immunofluorescentie en/of electronenmicroscopie van huidbiopt die de diagnose EB bevestigd
- Geen mutatie geïdentificeerd in één van de bekende EB genen
- Getekende toestemmingsverklaring

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Geen toestemmingsverklaring

Onderzoeksopzet

Opzet

Type: Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Blinding: Open / niet geblindeerd

Controle: Geen controle groep

Doel: Diagnostiek

Deelname

Nederland

Status: Werving gestopt

(Verwachte) startdatum: 10-09-2014

Aantal proefpersonen: 20

Type: Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO

Datum: 10-09-2014

Soort: Eerste indiening

Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Groningen (Groningen)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register	ID
CCMO	NL45728.042.13