

## Van gen naar ziekte; neurofibromatosis type I

A.DE GOEDE-BOLDER, M.H.CNOSSEN, D.DOUIJES, A.M.W.VAN DEN OUWELAND EN M.F.NIERMEIJER

### DE ZIEKTE

Neurofibromatosis type I (NF1), vroeger ook wel 'ziekte van Von Recklinghausen' genoemd, is een autosomaal dominant overervende ziekte met een prevalentie van 1:2500 tot 1:3300. De klinische expressie van de ziekte is variabel en het verloop van de ziekte is niet te voorspellen; ook binnen één familie kan de ernst van de aandoening sterk wisselen. De penetrantie is echter bijna 100% op 6-jarige leeftijd.

Kenmerkend voor de ziekte zijn de 'café au lait'-vlekken, sproeten in de huidplooiën, zoals in de oksels en liezen, dermale en plexiforme neurofibromen en Lisch-noduli (figuur 1). Hiernaast vertonen patiënten een aantal specifieke kenmerken, zoals een kleine gestalte, macrocefalie, hypertelorisme en thoraxafwijkingen, zoals een pectus excavatum dan wel carinatum, die bij aanwezigheid van één diagnostisch kenmerk op de ziekte kunnen wijzen.<sup>1</sup> Complicaties, zoals misvormingen ten gevolge van plexiforme neurofibromen, tumoren van het centrale zenuwstelsel, met als belangrijkste het chiasmaticumglioem ('optic pathway glioma'), endocrinologische stoornissen, orthopedische afwijkingen, maligniteiten en ernstige leer- en gedragsproblemen, komen voor bij ongeveer eenderde van de patiënten.

De diagnose wordt over het algemeen op grond van klinische kenmerken gesteld. Criteria zijn opgesteld door de National Institutes of Health (tabel).<sup>2</sup> Diagnose en follow-up van NF1-patiënten is van belang, aangezien het een complexe erfelijke aandoening betreft met een zeer variabel verloop. Een multidisciplinaire aanpak (op de kinderleeftijd een kinderarts, kinderneuroloog, oogarts, dermatoloog, klinisch geneticus, neuropsycholoog) wordt aanbevolen, daar complicaties zich in alle orgaan-systemen kunnen voordoen.<sup>3</sup>

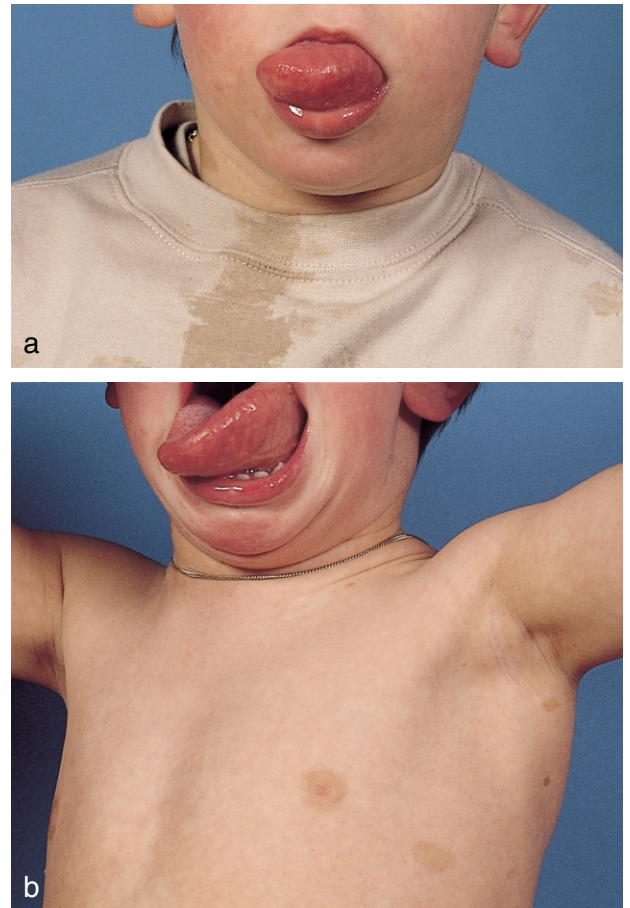
### HET GEN

Het *NF1*-gen is gelegen op chromosoom 17q11.2, strekt zich uit over meer dan 350 kb genomisch DNA en bestaat uit meer dan 60 exonen. Het 'messenger'-RNA-transcript van 11-13 kb komt tot expressie in neuronen, oligodendrocyten en een gedeelte van de Schwann-cellen. Het *NF1*-gen wordt beschouwd als een tumorsuppressor. Bij NF1-patiënten is door de genmutatie in alle cellen van het lichaam reeds één gemuteerd *NF1*-

allel aanwezig. Verlies van het gezonde *NF1*-allel ('loss of heterozygosity') kan leiden tot tumorgenese ('second hit'-theorie over tumorvorming van Knudson).<sup>4</sup> Dit fenomeen van het *NF1*-gen is vastgesteld in zowel benigne als maligne NF1-gerelateerde tumoren, maar ook in niet-geassocieerde tumoren, zoals maligne melanoom en coloncarcinoom.<sup>5</sup>

### HET EIWIT EN DE CEL

Het eiwit dat door het *NF1*-gen wordt gecodeerd heet neurofibromine. Dit bestaat uit 2818 aminozuren en heeft een voorspelde molecuulmassa van 327 kDa. Het enige gedeelte van het eiwit met een bekende functie (exon 20-27a) vertoont een sterke homologie met een



FIGUUR 1. 3-jarige jongen met neurofibromatosis type I, met een plexiform neurofibroom in de tong, waardoor deze niet meer in de mond past (a) en met op de romp 'café au lait'-vlekken (b).

Erasmus Medisch Centrum-Sophia Kinderziekenhuis, Postbus 2060, 3000 CB Rotterdam.

Afd. Kindergeneeskunde: mw.A.de Goede-Bolder, kinderarts; mw.dr. M.H.Cnossen, assistent-geneeskundige.

Afd. Klinische Genetica: dr.D.Dooijes en mw.dr.ir.A.M.W.van den Ouweland, moleculair genetici; prof.dr.M.F.Niermeijer, klinisch geneticus.

Correspondentieadres: mw.A.de Goede-Bolder (degoede@alkg.azr.nl).

### Diagnostische criteria voor neurofibromatosis type 1 (NF1)<sup>2\*</sup>

≥ 6 'café au lait'-maculae van 0,5 cm diameter indien vóór de puberteit en 1,5 cm diameter indien erna  
≥ 2 neurofibromen of ≥ 1 plexiforme neurofibromen sproeten in de lichaamspleoien (oksels en liezen)  
chiasma-opticunglioom  
≥ 2 Lisch-noduli (irishamartomen)  
een specifieke botafwijking, zoals sfoenoïdysplasie of cortex-verdunning van de lange pijpbeenderen, met of zonder pseudo-artrose  
een eerstegraadsfamilielid met NF1 volgens genoemde criteria

\*De diagnose 'NF1' kan gesteld worden wanneer ≥ 2 van de criteria aanwezig zijn.

groep eiwitten die een guanosinetriofosfaat(GTP)-ase-activerende werking vertonen. Zeer waarschijnlijk is neurofibromine betrokken bij de omzetting van het actieve *ras*-GTP in het inactieve *ras*-guanosinedifosfaat (GDP). *Ras*-proto-oncogenen zijn regulatoren van celproliferatie en -differentiatie. Inactivatie van neurofibromine zou leiden tot een verstoring in groeiregulatie en het kan de tumorsuppressorwerking van het gen verklaren. Het eiwit speelt echter ook een rol bij van *ras*-GTP onafhankelijke processen.<sup>6</sup> Neurofibromine bevindt zich in het cytoplasma en is geassocieerd met microtubuli in het cy-

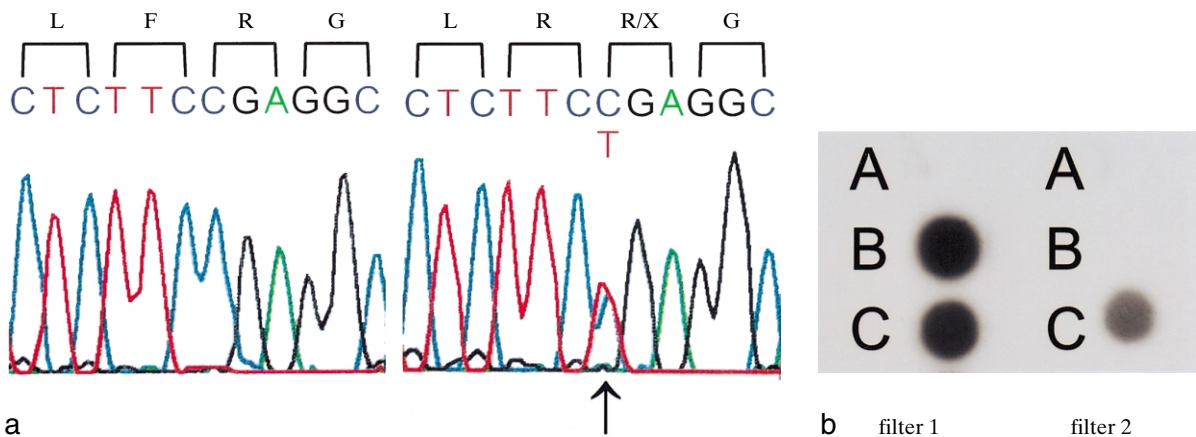
toplasma. Dit suggereert dat neurofibromine betrokken is bij door microtubuli gemedieerde intracellulaire signaaltransductie.<sup>7</sup>

### DE POPULATIE

Hoewel NF1 een autosomaal dominant overervende ziekte is, is er bij ongeveer de helft van de patiënten sprake van een 'de novo'-mutatie en is de patiënt de eerste in de familie met de aandoening. Symptomen en complicaties verschillen niet tussen familiale en sporadische patiënten. Bij sporadische patiënten dient echter rekening te worden gehouden met eventueel kiembaanmozaïcisme bij de ouders (zie verder). Bij patiënten met een segmentale neurofibromatosis (kenmerken van de ziekte beperken zich tot een duidelijk afgegrensd lichaamsdeel) kan er een 'somatisch mozaïcisme' bestaan. Over het algemeen zijn er binnen de NF1-populatie geen genotype-fenotypecorrelaties (een samenhang tussen het type mutatie en de klinische verschijnselen). Een uitzondering vormt de groep van zeer grote deleties, waarbij er vaker een ernstig fenotype bestaat met mentale retardatie en dysmorphieën en soms vroegere presentatie van dermale neurofibromen.

### DIAGNOSTIEK

Ondanks de mogelijkheid van 'linkage'- en mutatieanalyse is de diagnose 'NF1' tot op heden voornamelijk een klinische diagnose. Mutatieanalyse in het *NF1*-gen is



FIGUUR 2. Mutatiedetectie bij een patiënt met neurofibromatosis type 1: (a) sequentieanalyse. Tijdens de sequentiereactie worden de 4 verschillend fluorescent gelabelde nucleotiden ingebouwd in het DNA, waarna met behulp van gelelektroforese de producten op lengte gescheiden worden en door middel van een laser de nucleotidevolgorde bepaald wordt. Hierbij is A, adenine, weergegeven als een groene lijn; C, cytosine, is blauw; G, guanine, is zwart; en T, thymine, is rood. Boven elk triplet nucleotiden staat het aminozuur weergegeven. Op de nucleotidepositie 3826 (exon 22) van het *NF1*-gen staat bij het controle-DNA (a, links) een C, terwijl bij de patiënt (a, rechts) zowel een C als een T aanwezig is. Dit leidt bij de patiënt tot een verandering van het aminozuur arginine (R; op aminozuurpositie 1276) in een vroegtijdige terminatie van het eiwit (triplet TGA = X). L = leucine; F = fenylalanine; G = glycine en X = stop; (b) allelspecifieke oligonucleotidehybridisatie. Nadat de exacte nucleotideverandering bij de patiënt bekend is, wordt de verandering bevestigd met een onafhankelijke techniek, bijvoorbeeld de allelspecifieke oligonucleotidehybridisatie. Na de polymerasekettingreactie (PCR) van exon 22 wordt het PCR-product van de patiënt op positie C van 2 filters aangebracht. DNA van de controlepersoon wordt op beide posities B gespot, terwijl een DNA-loos monster op positie A gespot wordt. Filter 1 wordt aangekleurd met een oligonucleotide dat specifiek is voor de normale sequentie, terwijl filter 2 met een oligonucleotide specifiek voor de mutatie behandeld wordt. Het resultaat is dat het controle-DNA alleen een reactie geeft met de normale oligonucleotide en dat de NF1-patiënt naast een reactie met de normale sequentie ook positief is voor de mutatie. Deze specifieke methode bevestigt het resultaat van de sequentieanalyse en kan gebruikt worden om overige familieleden te testen.

zeer arbeidsintensief. Belangrijkste redenen hiervoor zijn: de grootte van het gen, de grote verscheidenheid aan typen mutaties (van grote deleties tot puntmutaties) en het verspreid liggen van mutaties over het gehele gen. Bovendien zijn er nauwelijks telkens voorkomende mutaties beschreven. Indien intensief met behulp van verschillende technieken op zowel DNA- als RNA-niveau naar mutaties wordt gezocht, blijkt, recentelijk nog, een mutatiedetectie mogelijk te zijn van 95% (figuur 2).<sup>8</sup> Prenatale diagnostiek door middel van linkage- en mutatieanalyse is mogelijk in NF1-families, maar wordt weinig toegepast. De grote variabiliteit van het ziektebeeld en de lage sterfte lijken hierbij een rol te spelen.

#### GENETISCHE COUNSELING

Genetische counseling is bij NF1-patiënten van groot belang om informatie te verschaffen over het verloop en de erfelijkheid van de ziekte en om de mogelijkheden en beperkingen van mutatieanalyse te bespreken.

Bij sporadische patiënten kan er 'germline'-mozaïcisme bestaan, dat wil zeggen dat er in minder dan 50% van de geslachtscellen van een van de ouders een mutatie in het *NF1*-gen aanwezig is, en daarbij is de kans op een aangedaan kind bij twee gezonde ouders groter dan de 'de novo'-kans (afhankelijk van het percentage aangedane cellen). Een aparte groep zijn de patiënten met een segmentale neurofibromatosis. Bij deze patiënten bevatten niet alle lichaamscellen de mutatie in het *NF1*-gen (somatisch mozaïcisme).<sup>9</sup> Aangezien de geslachtscellen bij deze patiënten ook aangedaan kunnen zijn, hebben deze patiënten een risico tot 50% op het krijgen van kinderen met NF1.

#### ABSTRACT

*From gene to disease: neurofibromatosis type 1.* – Neurofibromatosis type 1 (NF1) is an autosomal dominant disease characterised by café-au-lait spots, freckling in the axillary or inguinal region, dermal and plexiform neurofibromas and Lisch nodules. Complications are severe in one third of pa-

tients, and the clinical variability is pronounced, even within families. The NF1 gene has been localised to chromosome 17q11.2 and encodes the protein neurofibromin. The gene is proposed to be a tumour suppressor gene. Inactivation of neurofibromin leads to a disruption in cell growth regulation. Mutation analysis is possible but laborious, and therefore NF1 is generally a clinical diagnosis based on diagnostic criteria.

#### LITERATUUR

- Crossen MH, Moons KGM, Garssen MPJ, Pasmans NM, Goede-Bolder A de, Niermeijer MF, et al. Minor disease features in neurofibromatosis type 1 (NF1) and their possible value in diagnosis of NF1 in children < or = 6 years and clinically suspected of having NF1. Neurofibromatosis team of Sophia Children's Hospital. J Med Genet 1998;35:624-7.
- Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, Korf B, Marks J, Pyeritz RE, et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. JAMA 1997;278:51-7.
- Goede-Bolder A de, Crossen MH, Niermeijer MF. Neurofibromatosis type 1. Leidraad voor de medische begeleiding van kinderen met NF1. Compendium kindergeneeskunde. Houten: Bohn Stafleu Van Loghum; 2000.
- Knudson jr AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci USA 1971;68:820-3.
- Side L, Taylor B, Cayouette M, Conner E, Thompson P, Luce M, et al. Homozygous inactivation of the NF1 gene in bone marrow cells from children with neurofibromatosis type 1 and malignant myeloid disorders. N Engl J Med 1997;336:1713-20.
- Bollag G, Clapp DW, Shih S, Adler F, Zhang YY, Thompson P, et al. Loss of NF1 results in activation of the Ras signaling pathway and leads to aberrant growth in haematopoietic cells. Nat Genet 1996;12:144-8.
- Gregory PE, Gutmann DH, Mitchell A, Park S, Boguski M, Jacks T, et al. Neurofibromatosis type 1 gene product (neurofibromin) associates with microtubules. Somat Cell Mol Genet 1993;19:265-74.
- Messiaen LM, Callens T, Mortier G, Beysen D, Vandenbroucke I, Roy N van, et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. Hum Mutat 2000;15:541-55.
- Tinschert S, Naumann I, Stegmann E, Buske A, Kaufmann D, Thiel G, et al. Segmental neurofibromatosis is caused by somatic mutation of the neurofibromatosis type 1 (NF1) gene. Eur J Hum Genet 2000;8:455-9.

Aanvaard op 14 maart 2001

## Bladvulling

### Gekke Engelsen

Bij de volkstelling van 1891 is gebleken, dat er in Engelsch-Indië slechts 5 krankzinnigen zijn op de 10.000 inwoners, tegen 33 in Engeland. Hoewel het in een land als Indië zeer moeilijk is, alle krankzinnigen op te sporen, is het verschil te groot om het twijfelachtig te maken, dat krankzinnigen daar zeldzaam zijn. En nog zeldzamer is het, dat de hulp van den Staat voor hen noodig is. De meesten worden thuis verzorgd. Bij stoornis der openbare orde zorgt de politie voor opname; zelden geschied deze op verzoek der betrekkingen van de krankzinnigen. De meeste storende krankzinnigen lijden aan cannabisme en dit geneest spoedig. Zodoende worden in Bengalen van 71 miljoen inwoners slechts 902 in gestichten verpleegd.

(Berichten Buitenland. Ned Tijdschr Geneesk 1901;45I:559-60.)

### Spelbreker

Na afloop van het diner [ter gelegenheid van de 52ste Algemeene Vergadering der Ned. Maatschappij tot bevordering der Geneeskunst] werd de koffie in den ruimen tuin van het Hôtel gebruikt en met de muziek aan het hoofd, de tocht naar het station aanvaard, teneinde met den door de afdeling Alfen en Omstreken aangeboden extra trein naar Leiden terug te keeren. Daar aangekomen stonden er eenige extra tramwagens gereed om de vermoeiden naar *Amicitia* te vervoeren. Velen gaven er echter de voorkeur aan die reis te voet af te leggen, en wilden wederom de muziek aan het hoofd van de colonne plaatsen, een plan waartegen zich echter een ambtenaar der politie met nadruk verzette.

(Berichten Binnenland. Ned Tijdschr Geneesk 1901;45II:107.)