



Een verbeterde diagnostische opbrengst voor filaggrine

F.S. van Leersum

ACHTERGROND

Moleculaire diagnostiek voor ichthyosis vulgaris (IV) met conventionele sangersequentieanalyse wordt belemmerd door het notoir moeilijk te analyseren filaggrin (FLG)-gen. Dit ten gevolge van de homologe en polymorfe opbouw van de *repeated units*. Met het implementeren van *single molecule molecular inversion probes* (smMIPs) en *Next Generation Sequencing* (NGS) komt een alternatieve screeningsstrategie beschikbaar waarmee analyse van het volledig coderende gebied van het FLG-gen mogelijk is.

DOEL

Genetische analyse van het hele gen - in tegenstelling tot screenen op alleen populatiespecifieke mutaties - zou de diagnostische opbrengst verbeteren. Op deze manier wordt namelijk ook gescreend op zeldzame familiespecifieke mutaties of specifieke mutaties binnen etnische groepen die nog niet eerder zijn onderzocht.

METHODEN

De smMIP-NGS-strategie is eenvoudig te implementeren, betaalbaar en aangezien NGS-duplicaten verwijderd kunnen worden, kunnen mutatiepercentages gerelateerd en toegewezen worden aan de betreffende polymorfe, gedupliceerde *filaggrin-repeat units* 8 en 10.

RESULTATEN

In een cohort van 202 Nederlandse patiënten die eerder voor de populatiespecifieke mutaties gescreend zijn, werd retrospectief het gehele FLG-gen geanalyseerd. Aangezien alle reeds bekende filaggrinmutaties resulteren in vroegtijdige beëindiging van eiwitsynthese, werd de aandacht specifiek gelegd op het identificeren van nonsense mutaties en kleine inserties of deleties. In verschillende (17/202) van de gescreende patiënten werden aanvullende, nieuwe mutaties geïdentificeerd. Hiermee kon de eerder onverklaarde (meer ernstige) klinische presentatie alsnog opgehelderd worden.

CONCLUSIE

Deze studie benadrukt de noodzaak om het gehele FLG-gen te screenen op mutaties om zodoende de diagnostische opbrengst voor IV te verbeteren en verborgen varianten in de homologe *repeated units* van het gen te identificeren. Hierin blijkt de smMIP-NGS-methode een betrouwbare, eenvoudig uit te voeren strategie te zijn om de diagnostiek voor IV te verbeteren. Tevens dienen zich mogelijkheden aan om deze techniek te gebruiken bij stratificatie in grote cohortstudies.

SUMMARY

Background

Molecular diagnostics with conventional Sanger sequencing for ichthyosis vulgaris (IV) has been hampered by the notoriously difficult to analyse filaggrin (FLG) gene, caused by its homologous and polymorphic repeated units. By implementation of single molecule molecular inversion probes (smMIPs) and next generation sequencing (NGS), an alternative screening strategy for analysis of the entire coding region of the FLG gene will become available.

Objective

Genetic analysis of the whole gene instead of screening for only population specific mutations, would improve diagnostic yield. Using this technique one can screen for rare family specific mutations or specific mutations in ethnicities not previously studied.

Methods

The smMIP-NGS strategy is easy to implement, affordable and since exclusion of NGS-duplicate-reads is possible, mutation-percentages can be related and assigned to polymorphic duplicated filaggrin-repeat-unit 8 and 10.

Results

In a cohort of Dutch patients (N=202), that were only screened for only population specific mutations in the past, whole FLG gene was now analysed retrospectively. Since all known mutations result in premature protein termination, focus of attention was on identifying nonsense and small insertion or deletion mutations. In several (17/202) of the screened patients additional novel truncating mutations were identified, elucidating their previously unexplained (more severe) clinical presentations.

Conclusion

This study emphasises the need for screening the entire FLG gene for mutations, to improve the diagnostic yield in IV and identify hidden variants in the homologous repeated units of the gene. Herein, the smMIP-NGS method proves to be a reliable straightforward strategy to boost clinical diagnostics for IV and opens possibilities to facilitate patient stratification in large cohort studies.

CORRESPONDENTIEADRES

Frank van Leersum

E-mail: frank.van.leersum@mumc.nl

Dermatoloog, afdeling Dermatologie, Zuyderland Medisch Centrum, destijds aios, afdeling Dermatologie, MUMC, Maastricht