

Aus dem Institut für Humangenetik
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Beschreibung der ersten deutschen Familie mit Chondrokalzinose (CCAL1) mit
molekulargenetisch nachgewiesener *TNFRSF11B*-Genmutation

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Anna-Christina Pansa
aus Kirchen/Sieg

Mainz, 2025

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter: Prof. Dr. Stefan Patrick Oliver Bartsch

2. Gutachter: Prof. Dr. Heidi Rossmann

Tag der Promotion: 22. Dezember 2025

Nachnutzungslizenz: CC-BY-4.0

Diese Arbeit widme ich meinem Vater,

Dr.med. Karlheinz Blumberg,

der nicht nur ein herausragender Mediziner war, sondern auch ein Vorbild an Menschlichkeit und Hingabe.

Sein unermüdlicher Einsatz für seine Patienten und seine Liebe zur Medizin haben mich geprägt und meinen Weg in dieses Fach maßgeblich mit beeinflusst.

Obwohl er diesen Moment nicht mehr miterleben kann, begleiten mich seine Werte, seine Stimme und sein Geist täglich.

In tiefer Dankbarkeit und liebevoller Erinnerung.

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	12
1.1 Definition der Chondrokalzinose	12
1.2 Formen und klinische Manifestation	12
1.2.1 Asymptomatische Chondrokalzinose	13
1.2.2 Akute CPP-Kristallarthritis (früher „Pseudogicht“)	13
1.2.3 Chronische CPP-Arthrose (früher „Pseudo-RA“)	13
1.2.4 Osteoarthritis mit CPPD (früher „Pseudoarthrose“)	14
1.3 Historischer Hintergrund	14
1.4 Pathophysiologie	14
1.5 Genetik der Chondrokalzinose mit Fokus auf <i>TNFRSF11B</i>	17
1.6 Aufbau und Funktion des <i>TNFRSF11 B</i> Gen	19
1.6.1 Rolle von OPG im Knochen- und Knorpelstoffwechsel	20
1.6.2. Pathogenetische Bedeutung der Mutation	20
1.7 Aktuelle Relevanz und Forschungsstand	20
1.8 Diagnostik und Therapie	21
1.9 Differentialdiagnosen und weitere Erkrankungen mit Assoziation zum <i>TNFRSF11B</i> - Gen	23
2 Ziel der Arbeit	24
3 Literaturdiskussion	25
4 Methoden und Material	29
4.1 Ethik und Einwilligung	29
4.2 Literaturrecherche	29
4.3 Erstellen von Abbildungen und Stammbäumen	30
4.4 Wissenschaftliches Schreiben	30
4.5 Beschreibung des Patientenkollektiv und Identifikation des Falles	30
4.5.1 Klinische Diagnostik	31
4.5.2 Labordiagnostik	32
4.5.3 Konventionelle Röntgendiagnostik	32
4.5.4 Arthrosonographie	27
4.5.5 Genetische Labordiagnostik	35
4.6 Datenauswertung	37
5 Ergebnisse	38
6 Diskussion	53
7 Zusammenfassung	56
8 Literaturverzeichnis	58
9 Artikel in “American Journal of Medicine Genetics, Part A”	65
10 Danksagung	75
11 Tabellarischer Lebenslauf	76

Abkürzungsverzeichnis

AJMG	American Journal of Medical Genetics
ANKH	Ankylosis Human
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPK	AMP-abhängige Kinase
ANA	Antinukleäre Antikörper
ATP	Adenosintriphosphat
BCP	Basisches Calciumphosphat
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BWS	Brustwirbelsäule
CCAL1	Chondrocalcinosis-Arthropathy Locus 1
CCAL2	Chondrocalcinosis-Arthropathy Locus 2
CPPD	Calciumpyrophosphat-Dihydrat-Arthropathie
CPPDD	Calcium Pyrophosphate Deposition Disease (Calciumpyrophosphat-Dihydrat-Kristallablagerungskrankheit)
CRP	C-reaktives Protein
DAMP	Damage-Associated Molecular Pattern („Schaden-assoziiertes molekulares Muster“)
DAS44	Disease Activity Score, measured on 44 joints
DDH	Death Domain Homologue
DECT	Dual-Energy-CT
DIP	Distal Interphalangeal
DIO2	Deiodinase Typ 2
DMARDs	Disease modifying antirheumatic drugs
EULAR	European Alliance of Associations for Rheumatology
ESHG	European Society of Human Genetics
FDA	Food and Drug Administration
HC-OA	Humane Chondrozyten-Osteoarthritis-Zellen
HCQ	Hydroxychloroquin
HWS	Halswirbelsäule
IL-1 β	Interleukin-1 β
ISG	Iliosakralgelenk
LWS	Lendenwirbelsäule
MCP	Metacarpophalangeal
MRT	Magnetresonanztomographie/ Kernspintomographie
MTP	Metatarsophalangeal

MTX	Methotrexat
NLRP3	Nacht domain-, Leucine-rich Repeat-, and PYD-containing Protein 3
NOD	Nukleotidbindungs- und Oligomerisierungsrezeptor-Proteine
NPP1	Nukleotid-Pyrophosphatase/Phosphodiesterase
NSAR	Nicht-steroidale Antirheumatika
NTPPPH	Nukleosidtriphosphatase-Pyrophosphohydrolase
OA	Osteoarthritis
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
OPG	Osteoprotegerin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDB5	Paget Disease of Bone-5
PAMP	Pathogen Associated Molecular Patterns
PIP	Proximales Interphalangealgelenk
Pi	Anorganisches Phosphat
PPi	Anorganisches Pyrophosphat
PubMed	Public Medline
PYD	Pyrin-Domäne
RA	Rheumatoide Arthritis
RANKL	Receptor Activator of NF- κ B Ligand
RANK	Receptor Activator of NF- κ B
RF	Rheumafaktor
RSO	Radiosynoviothese
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid-Polymorphismus)
SP	Signalpeptid
TNAP	Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase (gewebunspezifische alkalische Phosphatase)
TNFRSF	Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1** Schematische Darstellung der Pathophysiologie der CPPD mit Fokus auf NLRP3-Inflammasom-Aktivierung und proinflammatorische Signalwege.
- Abbildung 2** Überblick des zellulären Pyrophosphat- und Calciumstoffwechsels in den Chondrozyten mit Darstellung der *ANKH*-Mutation und deren Beitrag zur Kristallbildung.
- Abbildung 3** Schematische Darstellung der Chromosomenregionen 8q24 mit dem *TNFRSF11B*-Gen (CCAL1) sowie 5p15 mit dem *ANKH*-Gen (CCAL2). Eigene Abbildung, basierend auf den publizierten Genlokalisationen (Pendleton et al. 2000, Palsson et al. 2008).
- Abbildung 4** Struktur-Funktions-Beziehung von OPG.
- Abbildung 5** Röntgenbilder mit den typischen schweren Arthrosemerkmalen von III.1 und III.5.
- Abbildung 6** Elektropherogramm: (oben) die heterozygote *TNFRSF11B* c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19) Variante bei Patient III.2 (Basensubstitution durch roten Pfeil gekennzeichnet) und (unten) die Wildtyp-Variante.
- Abbildung 7** SNP-Analysen von vier polymorphen Varianten innerhalb des *TNFRSF11B*-Gens in der US-amerikanischen Familie aus Long Island, der israelischen Familie [Williams et al., 2018] und der vorliegenden Familie.
- Abbildung 8** Stammbaum der Familie: Schwarze Symbole (n = 8) stehen für Personen mit einer klinischen und molekularen Diagnose von CCAL1 (Genotyp: *TNFRSF11B* c.1205A>T, Wildtyp/Mutation) und graue Symbole (n = 4) für Personen, bei denen nur die klinische Diagnose CCAL1 gestellt wurde. Darüber hinaus sind im Stammbaum elf Familienmitglieder dargestellt, die für die Studie nicht zur Verfügung standen (leere Kreise und Quadrate). Von diesen Personen wurden keine Daten erhoben.
- Abbildung 9** Photographie von links nach rechts: Probanden III.1, III.2, III.5 und III.4, auffällig die etwas kleine Körpergröße, Ausnahme III.4.

- Abbildung 10** Röntgenbild linkes Kniegelenk a.p. von Proband III.1: vollkommener medialer Gelenkspaltaufbrauch, typische Chondrokalzinose am lateralen Meniskus.
- Abbildung 11** Dorsalansicht der Beine von III.1: Genu varum und die massive Instabilität des linken Sprunggelenks.
- Abbildung 12** Fotografie der beiden Hände von Probandin III.2: Teigige Schwellung der MCP-Gelenke II und III sowie der Finger 2–5, Arthrose der DIP-Gelenke und einen Zickzack-Daumen. Hinzu kommen eine Hyperextension und Schwellung im Daumengrundgelenk, was ein klinischer Hinweis auf eine Rhizarthrose ist.
- Abbildung 13** Beckenübersicht von Probandin IV.1: Grad IV Koxarthrose der linken Hüfte.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Genetische Unterschiede zwischen CCAL1 und CCAL2.

Tabelle 2: Klinische Merkmale der Probanden.

1 Einleitung

1.1 Definition der Chondrokalzinose

Die Chondrokalzinose, auch als Calciumpyrophosphat-Kristallablagerungskrankheit (CPPD) bekannt, ist eine häufige Gelenkerkrankung, bei der es zur Ablagerung von Calciumpyrophosphat-Dihydrat Kristallen im hyalinen Gelenkknorpel und Gelenkflüssigkeit kommt (Rosenthal et al. 2016, Zhang et al. 2011).

Klinisch präsentiert die Erkrankung ein breites Spektrum. Von einer asymptomatischen Form bis hin zu akuten gichtähnlichen Schüben oder chronischen verlaufenden destrukturierenden Gelenkarthropathien. Die CPPD wird klassisch in drei Formen unterteilt:

- Die idiopathische Form tritt gehäuft in der älteren Bevölkerung auf ohne erkennbare Ursache.
- Die sekundäre CPPD ist mit Grunderkrankungen wie Hämochromatose, Hyperparathyreoidismus, Hypomagnesiämie oder Hypothyreose assoziiert.
- Die erbliche Form zeigt sich gehäuft in jüngeren Jahren, ist autosomal-dominant vererbt und zeigt eine familiäre Häufung.

Gerade die hereditäre Form ist klinisch relevant, da sie im frühen Lebensalter beginnt, ausgeprägte Symptome aufweist und mit einer hohen Krankheitslast einhergeht.

Genetisch konnte in vielen Fällen eine Mutation im *ANKH*-Gen nachgewiesen werden, das für einen Pyrophosphat-Transporter verantwortlich ist und dadurch in den Pyrophosphatstoffwechsel eingreift (Pendleton et al. 2002).

Vor nicht allzu langer Zeit ist neben *ANKH*-Mutationen eine Mutation im *TNFRSF11B*-Gen in den Fokus der Forschung gerückt. Dieses Gen kodiert für Osteoprotegerin (OPG), ein lösliches Glykoprotein, das als Inhibitor des RANK/RANKL-Systems fungiert und eine zentrale Rolle im Knochenstoffwechsel einnimmt, vor allem durch die Regulation der Osteoklastenaktivität (Ramos et al. 2015, Ralston et al. 2010). Eine gestörte OPG-Funktion kann zu einer veränderten Mineralisierung des Knorpel- und Knochengewebes führen und somit die Ablagerung der CPP-Kristalle begünstigen.

Die genaue pathogenetische Rolle der Mutation der hereditären CPPD ist bis dato nicht vollständig geklärt, stellt jedoch einen Ansatz für die weitere Forschung dar (Ramos et al. 2015).

1.2 Formen und klinische Manifestation

Das Krankheitsbild ist vielfältig. Sowohl die Extremitäten als auch das Achsenskelett können betroffen sein. Am häufigsten sind die Knie-, Hand-, Schulter-, Hüft- und Sprunggelenke betroffen. Begleitend können Schleimbeutelentzündungen (Bursitis) und Sehnenscheidenentzündungen (Tenosynovitis) auftreten. Die Entzündung kann einmalig,

wiederkehrend oder in Schüben auftreten. Mögliche Auslöser sind Traumata, Infektionen und schwere Erkrankungen (Abhishek et al. 2016).

Im Jahr 1985 wurde aufgrund klinischer Beobachtungen fünf verschiedene Phänotypen für die Einteilung der CPPD vorgeschlagen (Ryan et al. 1985). Die Phänotypen erhielten das Präfix „Pseudo“, da sie anderen arthritischen Erkrankungen ähnelten.

In den letzten Jahren hat eine Arbeitsgruppe der EULAR (European League Against Rheumatism) erkannt, dass die Klassifizierung der CPPD anhand der Phänotypen schwierig ist, und eine neue Terminologie vorgeschlagen. Diese basiert jedoch nur auf einem Expertenkonsens (Zhang et al. 2011). Die im Jahr 1985 ursprünglich eingeführten Krankheitsbilder, die als „Pseudosyndrome“ bezeichnet wurden, wurden abgeschafft und durch vier Hauptgruppen ersetzt.

1.2.1 Asymptomatische Chondrokalzinose

Hier finden sich radiologische Verkalkungen ohne klinische Symptome. Diese Form ist häufig ein Zufallsbefund.

1.2.2 Akute CPP-Kristallarthritis (früher „Pseudogicht“)

Die Abgrenzung zur echten Gicht ist oft schwierig, da sich beide Formen in Genese und klinischem Erscheinungsbild sehr ähneln und zu Fehldiagnosen führen können. Aus diesem Grund wurde der Begriff „Pseudogicht“ eingeführt. Obwohl die Schübe wie bei der Gicht durch ein Trauma, eine Operation, eine Infektion oder eine akute Erkrankung ausgelöst werden können, können sie auch sporadisch auftreten (McCarty et al. 2008, Rosenthal et al. 2005). Die akute Verlaufsform tritt bei mehr als 25% der Patienten mit CPDD auf und betrifft vor allem die großen Gelenke wie Knie- oder Handgelenk mono- oder oligoartikulär und/oder die periartikulären Weichteile (Dieppe et al. 1982). Die Klinik äußert sich durch ein plötzliches Auftreten der Symptome mit starken Schmerzen, Schwellung und Rötung (Richette et al. 2009). Weitere Allgemeinsymptome wie Fieber und Schüttelfrost treten bei der akuten CPP-Arthritis häufiger auf.

1.2.3 Chronische CPP-Arthrose (früher „Pseudo-rheumatoide Arthritis“)

Die chronische CPP-Arthrose- auch als chronische Calcium-Pyrophosphat-Kristall-Arthritis bezeichnet- war früher unter dem Begriff der „Pseudo-rheumatoiden Arthritis“ bekannt. Sie zeigt sich häufig als symmetrische, deformierende Polyarthrit, vor allem der Handgelenke und Metakarpophalangealgelenke (MCP-Gelenke) und verläuft mit Phasen abnehmender und zunehmender Entzündung über Monate (Zamora & Naik, 2023, Walker et al. 2021).

Anders als bei der rheumatoiden Arthritis (RA) sind erosive Gelenkveränderungen in diesem Krankheitsbild eher selten, und etwa ein Viertel aller Patienten mit CPPD erkrankt in dieser Form (Walker et al. 2021, Rosenthal & Ryan, 2016).

1.2.4 Osteoarthritis mit CPPD (früher „Pseudoarthrose“)

Bei einigen Patienten, die klinisch oder radiologisch Kristallablagerungen aufweisen, kommt es zu rasch fortschreitenden degenerativen Gelenkveränderungen mit osteophytären Anbauten und Geröllzysten an mehreren Gelenken, die sich atypisch verteilen. Außerdem treten Kontrakturen und Valguskniedeformitäten auf. Zudem klagen sie vermehrt über Entzündungszeichen wie Schmerzen, Schwellungen, Ergüsse und Instabilität, was jedoch für eine Diagnose nicht ausreicht. Am häufigsten betroffen sind die Kniegelenke, insbesondere das Femoropatellargelenk, die Handgelenke, die MCP-Gelenke II und III, die Hüften, die Schultern, die Wirbelsäule, die Ellenbogen und die Sprunggelenke.

1.3 Historischer Hintergrund

Der erste Nachweis kristalliner Ablagerungen bei dieser Erkrankung geht auf McCarty und Kollegen im Jahr 1962 zurück, die nicht Urat-artige Kristalle im Gelenk, damals vielfach als „Pseudogicht“ bezeichnet, beschrieben (McCarty et al. 1962) Seitdem hat sich das Verständnis des zugrundeliegenden Pathomechanismus ständig erweitert, was die Bedeutung dieser Erkrankung im Spektrum der Kristallarthropathien unterstreicht. In den folgenden Jahrzehnten verlagerte sich der Fokus zunehmend auf genetische Ursachen: Baldwin et al. 1995 verknüpften den familiären CPPD-Phänotyp mit Chromosom 8, dem sogenannten CCAL1-Lokus. Ramos et al. 2015 identifizierten eine funktionelle Mutation im *TNFRSF11B*-Gen (Osteoprotegerin), als ursächlich für CCAL1, was Williams et al. 2018 bestätigten.

Parallel dazu postulierten Williams et al. 2002 einen weiteren genetischen Lokus- CCAL2- auf Chromosom 5p, und zeigten, dass Mutationen im *ANKH*-Gen diesen Lokus erklären können, da sie den Extrazellulär-Pyrophosphatspiegel erhöhen und so zur Kristallbildung beitragen.

1.4 Pathophysiologie

Der Prozess der Bildung von CPP-Kristallen im Gelenk ist noch nicht vollständig geklärt. Es scheint jedoch, dass die Kristalle im Knorpel entzündliche Prozesse auslösen und zu einer direkten Schädigung des Gelenkknorpels führen. Die CPP-Kristalle lagern sich in der perizellulären Matrix des Knorpels in Form von perizellulären Matrixvesikeln ab, die von

Chondrozyten und Osteoblasten gebildet werden. Diese Vesikel konzentrieren Calcium und Phosphat in ihrem Lumen, was zur Kristallbildung führt (Rosenthal et al. 2016, Stücker et al. 2021).

Die Kristallablagerung wird durch das Gleichgewicht von Phosphat (Pi) zu anorganischem Pyrophosphat (PPi) reguliert. Eine angemessene Konzentration von PPi verhindert die Bildung von basischem Calciumphosphat (BCP). Eine pathologisch erhöhte PPi-Konzentration fördert hingegen die Bildung Calcium-Pyrophosphat-(CPP)-Kristallen (Ryan et al. 2003).

Die Nukleotidpyrophosphatase-Phosphodiesterase (NPP1) ist ein Enzym, das an der Knochenmineralisierung, der Insulinrezeptor-Signalgebung, Malignität und Immunprozessen beteiligt ist (Lee et al. 2017). Es hydrolysiert Adenosintriphosphat (ATP) zu Adenosinmonophosphat (AMP) und anorganischem Pyrophosphat (PPi). Obwohl der Regulierungsmechanismus dieses Enzyms bekannt ist, wurde ein Mangel an NPP1 mit arterieller Verkalkung im Kindesalter beim Menschen und Calciumphosphatablagerungen in den Gelenken und der Wirbelsäule von Mausmodellen in Verbindung gebracht (Abbildung 2, s. S. 17). NPP1 wurde als potenzielles therapeutisches Ziel für CPPD, Diabetes und Krebs erforscht. Die Anwendung der NPP1-Hemmung zur Behandlung von CPPD wird jedoch noch weiter untersucht, da sie mit möglichen unerwünschten Nebenwirkungen wie Hypomineralisierung der langen Knochen und Verkalkung der Weichteile verbunden ist (Lee et al. 2017, Ryan et al. 2003).

Die gewebeunspezifische alkalische Phosphatase (TNAP) ist ein weiteres Enzym, das für die Mineralisierung des Knochens bekannt ist, es hydrolysiert PPi zu Pi. Der Mechanismus, wie die beiden Enzyme TNAP und NPP1 bei der Knochenmineralisierung zusammenwirken, ist unklar. Studien haben jedoch gezeigt, dass eine verminderte TNAP-Aktivität, wie sie bei kongenitaler Hypophosphatasie beobachtet wird, mit der Ablagerung von CPP-Kristallen im Gelenkknorpel verbunden sein kann (Williams et al. 2021, Millan et al. 2012).

Das im Jahr 2000 entdeckte *ANKH*-Gen kodiert ein Multipass-Transmembranprotein (ANKH-Protein), das den Transport von PPi über die Zellmembran vermittelt. (Williams et al. 2021, Mitton-Fitzgerald et al. 2016, Couto et al. 2007, Ryan et al. 2003, Ho, Johnson & Kingsley, 2000). Die Hochregulierung des *ANKH*-Gens wurde mit CPPD in Verbindung gebracht und stellt ein potenzielles therapeutisches Ziel dar. Probenecid, das 1979 von der Food and Drug Administration (FDA) zur Behandlung von Gicht zugelassen wurde, hemmt nachweislich auch den *ANKH*-vermittelten PPi-Transport (Mitton-Fitzgerald et al. 2016, 2013).

Der Nukleotidbindungs- und Oligomerisierungsrezeptor (NOD), der zur Familie der NLR-Rezeptoren gehört und eine Pyrin-Domäne (PYD) enthält (NLRP), auch bekannt als NACHT-, LRR- und PYD-Domänen-enthaltendes Protein (NLRP3), wurde Anfang der 2000er Jahre entdeckt und hat aufgrund seiner Assoziation mit einem breiten Spektrum von Erkrankungen

an Aufmerksamkeit gewonnen, wie CPPD, Gicht, systemische juvenile idiopathische Arthritis, Lungenfibrose, familiäres Mittelmeerfieber, Muckle-Wells-Syndrom, Alzheimer-Syndrom, Typ-2-Diabetes und Pyoderma gangrenosum (Mitroulis et al. 2010). Es wurde festgestellt, dass eine Dysregulation der NLRP3-Aktivität die IL-1 β -Aktivität erhöht. Grob gesagt, NLRP3 erkennt pathogen-assoziierte molekulare Muster (PAMPs) oder schadensassoziierte molekulare Muster (DAMPs), was zur Bildung von Inflammasomen führt, die anschließend Caspase-1 aktivieren. Caspase-1 erhöht die Sekretion von IL-1 β (Abbildung 1, s. S. 16). Daher wurde eine Hemmung eines beliebigen Teils dieses zellulären Signalwegs als neues therapeutisches Ziel für CPP-Arthritis vorgeschlagen und erforscht. IL-1-Inhibitoren wie Anakinra, Rilonacept und Canakinumab wurden bereits entwickelt. Inflammasom-Inhibitoren, wie Dapansutril, und Caspase-1-Inhibitoren werden derzeit untersucht (Mitroulis et al. 2010).

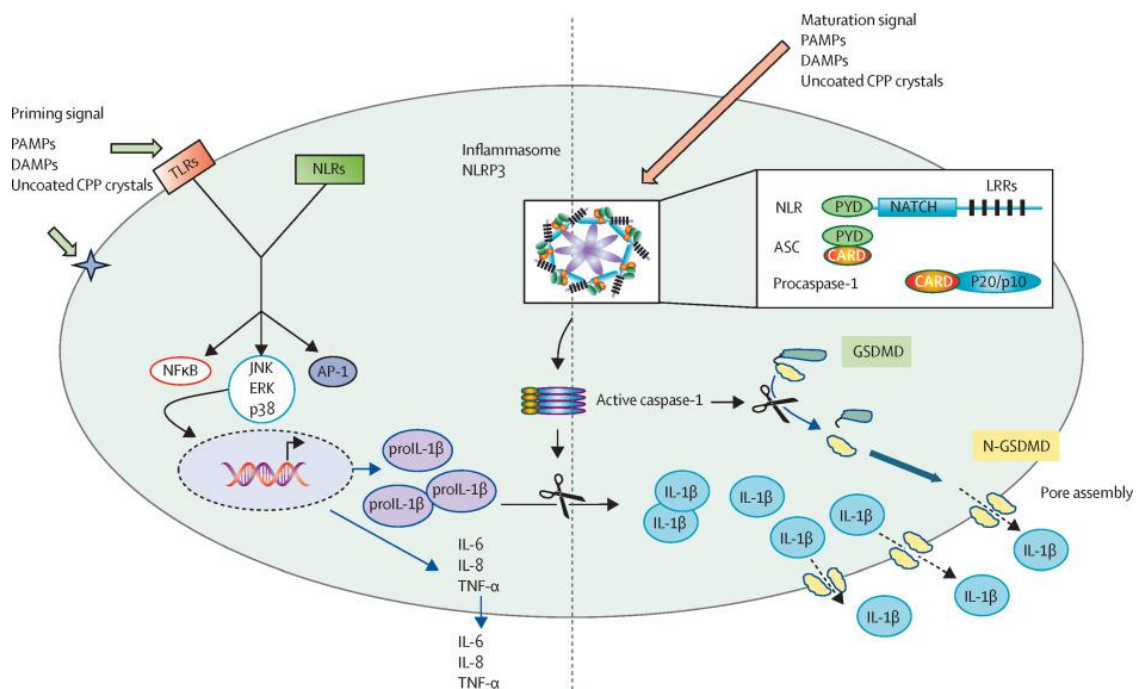


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Pathophysiologie der CPPD mit Fokus auf NLRP3-Inflammasom-Aktivierung und proinflammatorische Signalwege (Tristan et al. 2024).

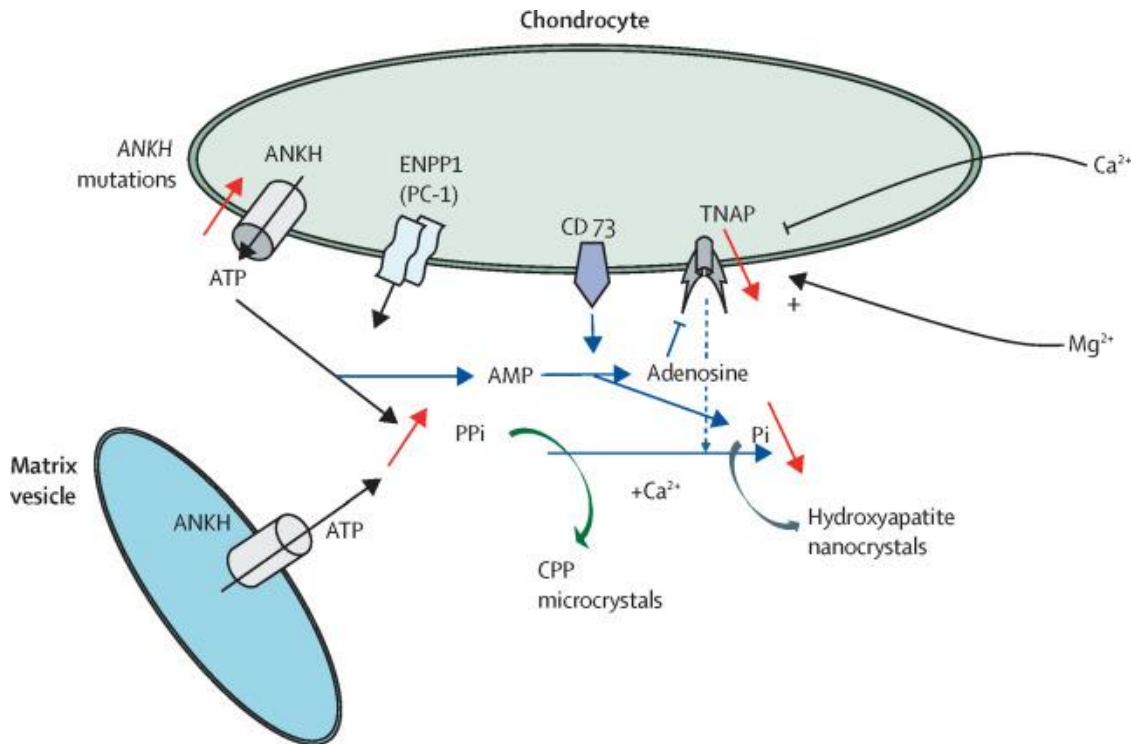


Abbildung 2: Überblick des zellulären Pyrophosphat- und Calciumstoffwechsels in den Chondrozyten mit Darstellung der *ANKH*-Mutation und deren Beitrag zur Kristallbildung (Derfus et al. 1998).

1.5 Genetik der Chondrokalzinose mit Fokus auf *TNFRSF11B*

Familiäre Formen der Chondrokalzinose sind selten, folgen jedoch einem autosomal-dominanten Erbgang. Zwei Haupt-Loci sind bis dato beschrieben:

- **CCAL1** (Chondrocalcinosis-Arthropathy Locus 1): Dieser Locus ist auf Chromosom 8q24 lokalisiert und mit Mutationen im *TNFRSF11B*-Gen (*OPG*) assoziiert. Solche Mutationen führen zu einer früh einsetzenden familiären CPPD mit ausgeprägten Kalzifikationen.

- **CCAL2** (Chondrocalcinosis-Arthropathy Locus 2): CCAL2 ist mit Mutationen im *ANKH*-Gen auf Chromosom 5p15 verknüpft. *ANKH* kodiert für ein Pyrophosphat-Transportprotein, das die Kristallbildung im Gelenkknorpel reguliert.

Genetischer Typ	Locus	Gen	Chromosom	Merkmale
CCAL1	Chondrocalcinosis Locus 1	<i>TNFRSF11B</i>	8q24	Verkalkungen meist meniskal/periartikulär, Beginn oft < 30 Jahren
CCAL2	Chondrocalcinosis Locus 2	<i>ANKH</i>	5p15	Kalkablagerungen oft bereits im Jugendalter, oft ausgeprägter als bei CCAL1

Tabelle 1: Genetische Unterschiede zwischen CCAL1 und CCAL2.

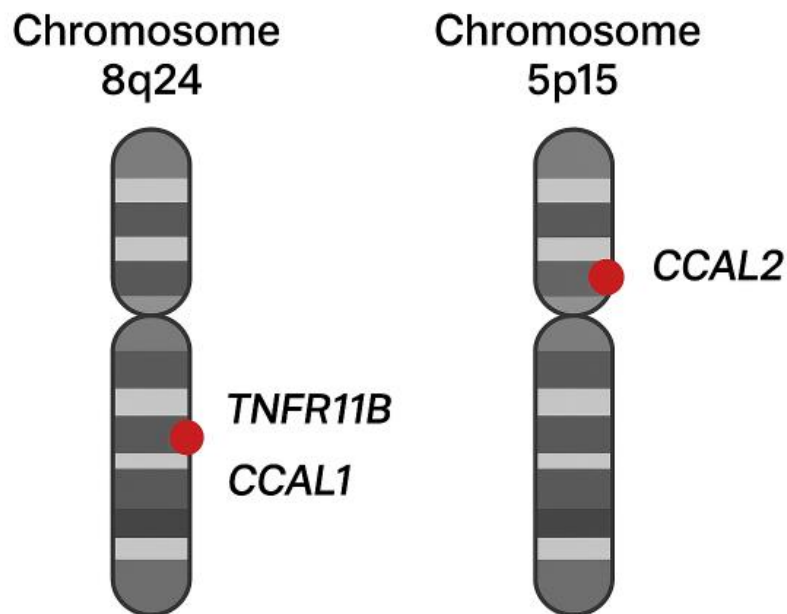


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Chromosomenregionen 8q24 mit dem *TNFRSF11B*-Gen (CCAL1) sowie 5p15 mit dem *ANKH*-Gen (CCAL2). Eigene Abbildung, basierend auf den publizierten Genlokalisierungen (Pendleton et al. 2000, Ramos et al. 2015).

1.6 Aufbau und Funktion des *TNFRSF11B*- Gens

Das *TNFRSF11B*-Gen (Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 11B) wurde 1997 identifiziert und kloniert. Es enthält 5 Exons, die sich über 29 Kilobasen (kb) des Chromosoms 8q23-24 erstrecken (Simonet et al. 1997). Die humane OPG-mRNA liegt hauptsächlich in einer 2,9 kb langen Form vor, daneben gibt es zwei geringer exprimierte Formen mit 4,2 kb und 6,5 kb, die aus einer partiellen oder vollständigen Duplikation von Intron 2 resultieren (Morinaga et al., 1998; Yasuda et al., 1998). Das OPG-Protein ist ein sezerniertes, basisches Glykoprotein aus 401 Aminosäuren, das entweder als monomere (60 kDa) oder - nach Ausbildung einer Disulfidbrücke - als homodimere (120 kDa) Form mit ähnlicher biologischer Aktivität vorliegen kann (Yamaguchi et al. 1998, Yasuda et al. 1998). OPG besteht aus einem 21 Aminosäuren langen Signalpeptid und 7 strukturellen Domänen, denen spezifische Funktionen zugeordnet werden können. Die N-terminalen Domänen eins bis vier sind, wie für TNFR-Mitglieder charakteristisch, cysteinreich (Baker et al. 1998). Ihnen kann die Hemmung verschiedener osteoklastischer Funktionen zugeschrieben werden (Simonet et al. 1997, Yamaguchi et al. 1998, Yasuda et al. 1998). Die Domänen fünf und sechs besitzen "Death domain homologous" (DDH)-Regionen, Proteinsequenzen mit Apoptose-vermittelnder, die auch bei anderen Mitgliedern der TNFR-Familie beschrieben wurden (Simonet et al. 1997, Yamaguchi et al. 1998). Die C-terminale Domäne 7 enthält sowohl eine Heparin-bindende Domäne als auch eine Cysteinbindung an Position 400, die eine Dimerisierung durch Ausbildung einer Disulfidbrücke ermöglicht (Abbildung 4), (Simonet et al. 1997, Yamaguchi et al. 1998). OPG wirkt als Decoy-Rezeptor für den Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa -B Ligand (RANKL) und verhindert dessen Bindung an den RANK-Rezeptor auf Osteoklastenvorläuferzellen. Durch die Hemmung wird die Differenzierung und die Aktivität von Osteoklasten gehemmt, wodurch der Knochenabbau reguliert, wird (Ralston et al. 2010).

Des Weiteren spielt *TNFRSF11B* eine wichtige Rolle bei der Regulation der Immunantwort (Bengtsson et al. 2002). Krankheiten, die mit *TNFRSF11B* assoziiert sind, sind neben der Chondrokalzinose auch das Paget-Syndrom, juveniler Beginn Typ 5 (PDB5) (OMIM #239000).

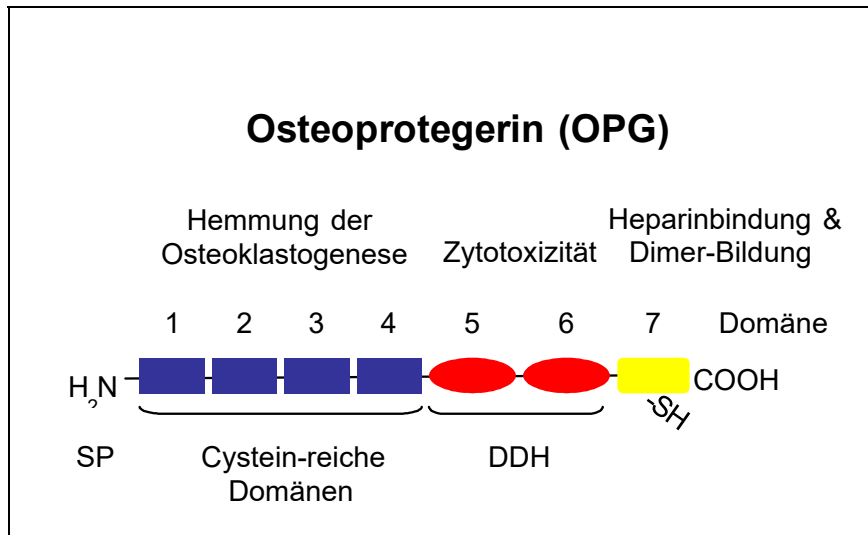


Abbildung 4: Struktur-Funktions-Beziehung von OPG (Simonet et al. 1997; Tomoyasu et al. 1998; Yamaguchi et al. 1998).

1.6.1 Rolle von OPG im Knochen- und Knorpelstoffwechsel

Neben der Hemmung der Knochenresorption ist es OPG möglich, auch die Mineralisation von Knorpel und anderen Weichgeweben zu beeinflussen kann. Veränderungen in der OPG-Produktion oder auch Funktion führen somit zu pathologischen Kalzifikationen wie sie bei der CPPD beobachtet werden. Studien zeigen, dass eine Dysregulation der OPG-Expression zu einer gestörten extrazellulären Pyrophosphat-Homöostase führen kann, was die Ablagerung von den CPP-Kristallen begünstigt (Williams et al. 2018, Ramos et al. 2015).

1.6.2. Pathogenetische Bedeutung der Mutation

TNFRSF11B-Mutationen (NM_002546.5:c.1205A>T;p.(Ter402Leuext*19)) sind selten, wurden bis dato erst in vier Familien mit früheinsetzender, schwerer CPPD beschrieben. Die Mutation führt zu einer funktionellen Veränderung des OPG-Proteins, wodurch die Regulation des Knochen- und Knorpelstoffwechsels beeinträchtigt wird. Der genaue pathologische Mechanismus ist bis heute noch nicht vollständig geklärt, jedoch wird angenommen, dass sowohl die gestörte Hemmung des RANK/RANKL-Systems sowie eine veränderte Pyrophosphat-Homöostase zentrale Faktoren darstellen (Ramos et al. 2015).

1.7 Aktuelle Relevanz und Forschungsstand

Die CPPD ist trotz ihres häufigen Vorkommens vor allem bei der älteren Bevölkerung oft unterdiagnostiziert (Zhang et al. 2011). Fortschritte in der molekularbiologischen Forschung

haben neue Ansätze geliefert, werden aber in vielen Aspekten noch nicht vollständig verstanden. Ein vertieftes Verständnis der Krankheitsmechanismen ist essenziell, um in der Zukunft gezielte Therapien entwickeln zu können (Ralston et al. 2010).

Ein bisher wenig dokumentierter genetischer Aspekt betrifft die Mutation im *TNFRSF11B*-Gen, welches für Osteoprotegerin kodiert. Diese Mutation wurde bis dato nur in drei Familien weltweit beschrieben (Williams et al. 2018, Ramos et al. 2015, Eshel et al. 1990). Hier wird die vierte Familie mit einer *TNFRSF11B* Mutation beschrieben, um einen Beitrag zum besseren Verständnis dieser seltenen Erkrankung zu leisten (Pansa et al. 2025).

1.8 Diagnostik und Therapie

Ein wichtiger Bestandteil der Diagnostik ist eine ausführliche Anamnese mit der typischen klinischen Symptomatik, wie zum Beispiel eine akute, selbstlimitierende Arthritis oder eine schnell fortschreitende degenerative Gelenkdestruktion.

Als Goldstandard gilt der Kristallnachweis in der frischen Synovialflüssigkeit (Zhang et al. 2011, Pascual et al. 2005,). Der Nachweis von CPP-Kristallen erfolgt im Polarisationsmikroskop. Dies erweist sich als überaus schwierig, da die positiv doppelbrechenden, rhomboid- oder stäbchenförmigen Kristalle klein sind, oft nur vereinzelt vorkommen und nur schwach doppelbrechend sind.

Die konventionelle Röntgendiagnostik ist neben der Analyse der Synovialflüssigkeit die wichtigste Methode zur Diagnosesicherung der CPPD-Arthropathie, obwohl ihre Sensitivität eine Chondrokalzinose zu entdecken zwischen 29 und 93% schwankt (Zhang et al. 2011). Die Sonographie ist eine sensitive Methode, um Gewebeverkalkungen darzustellen und eine essenzielle Untersuchung, um die Chondrokalzinose zu diagnostizieren. Ergebnisse von mehreren Ultraschalluntersuchungen bei CPPD-Patienten führten zur Entwicklung von Kriterien, um eine CPP-Arthritis aufzudecken (Frediani et al. 2005). Obwohl einige Studien die Sensitivität zum konventionellen Röntgenbild als höher ansehen, kann es in der Praxis schwierig sein, sonographisch zwischen einer Gicht und einer CPPD-Erkrankung zu unterscheiden (Löffler et al. 2015).

Weitere bildgebenden Verfahren wie das CT oder Dual-Energy-CT (DECT) können zur Diagnostik herangezogen werden. Sie haben eine hohe Spezifität und Sensitivität zum Nachweis von Kalkablagerungen im Knorpel und Weichteilgewebe, vor allem im axialen Bereich.

Obwohl die MRT-Untersuchung das bevorzugte Verfahren zur Beurteilung von Gelenken ist, insbesondere bei traumatischen oder degenerativen Läsionen, ist sie unempfindlich gegenüber den Gelenkverkalkungen und wird für die Diagnostik der Chondrokalzinose oder anderen kristallinduzierten Arthritiden nicht häufig eingesetzt.

Die Behandlung der CPPD und der damit verbundenen klinischen Symptome beruht immer noch weitgehend auf der Konsensmeinung von Experten (Zhang et al. 2011). Die European League Against Rheumatism (EULAR) veröffentlichte 2011 Behandlungsempfehlungen, allerdings mit gering verfügbarer Evidenz (Zhang et al. 2011). Die Therapie wird individuell je nach Patienten, Risikofaktoren und Komorbiditäten angepasst. Derzeit gibt es leider keine kausale Therapie, die die Kristallbildung verhindert. Theoretisch wäre es möglich, die Kristallbildung oder -akkumulation oder aber die entzündlichen und destruktiven Prozesse zu reduzieren oder zu hemmen. Allerdings gibt es noch kein Medikament, das die destruktive Degeneration aufhalten kann. Deshalb richtet sich die Behandlung rein auf die Symptomlinderung (Announ et al. 2007).

Ein essenzieller Bestandteil der Therapie ist die Behandlung von Komorbiditäten (z.B. primärem Hyperparathyreoidismus, Hämochromatose, Hypomagnesiämie, Hypophosphatasie). Bei Patienten mit solchen Erkrankungen ist die Behandlung der jeweiligen Grunderkrankung erforderlich. Es ist aber unklar, ob die Behandlung der obengenannten Begleiterkrankungen das Ergebnis der CPP-Arthritis beeinflusst. Für einige dieser Komorbiditäten wurden Behandlungsleitlinien veröffentlicht (Zhang et al. 2006, Tavitil 2001, Geelhoed et al. 1989) und die Behandlung sollte sich an den Leitlinien für diese Erkrankungen orientieren.

Zur Symptomlinderung und zum möglichst langen Erhalt der Gelenkbeweglichkeit und der Stabilisation ist deshalb eine Kräftigung der Muskulatur durch gezieltes Training und durch Nutzen von Orthesen empfohlen, um den endoprothetischen Gelenkersatz möglichst lange hinauszuzögern. Es existieren keine randomisierten, kontrollierten Studien, die den Nutzen nicht-medikamentöser Therapien beweisen. Experten befürworten allerdings die Schonung und Kühlung des akut betroffenen Gelenkes (Landewe et al. 2010, Schlesinger et al. 2006, Zhang et al. 2006, Schlesinger et al. 2002).

Grundsätzlich orientiert sich die Behandlung der CPPD an denen der Gichttherapie. Nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR) stellen die erste Wahl dar, gefolgt von Colchicin als Alternative oder prophylaktisch nach rezidivierenden akuten Schüben der CPP-Arthritis. Intraartikuläre Kortikosteroid-Injektionen werden bei einer Monoarthritis oder bei eingeschränkter Therapieoption empfohlen.

Bei der chronischen CPPD-Arthritis orientiert sich die Behandlung an der Symptomkontrolle und einer Verhinderung der Progression. Auch hier findet niedrig dosiertes Colchicin zur Prophylaxe-Anwendung. In Einzelfällen wurde Methotrexat (MTX) oder Hydroxychloroquin eingesetzt (Chollet-Janin et al. 2007, Rothschild et al. 1997).

Der größte Behandlungsfortschritt der CPP-Arthritis in den letzten 10 Jahren ist der Einsatz von Biologika. Diese zielgerichteten Therapien beruhen auf einer IL-1b-Blockade. Bislang gibt es 3 IL-1b-Inhibitoren, die von der FDA für den Menschen zugelassen sind: Ein

monoklonaler Antikörper gegen IL-1 β (Canakinumab), ein rekombinanter IL-1-Rezeptor-Antagonist (Anakinra) und ein dimeres Fusionsprotein aus IL-1-Rezeptor und IL-1-Rezeptor-Accessory-Protein (Rilonacept).

1.9 Differentialdiagnosen und weitere Erkrankungen mit Assoziation zum *TNFRSF11B*-Gen

Der Symptomenkomplex der Chondrokalzinose weist einige Überschneidungen mit den Merkmalen der Gicht, der septischen Arthritis und der rheumatoiden Arthritis auf. Die rein klinische Unterscheidung ist manchmal schwierig und erfordert weitere diagnostische Untersuchungen. Es kann ein mono- oder polyartikulärer Gelenkbefall vorliegen, so dass eine Abgrenzung zu den anderen Erkrankungen allein aufgrund des Befalls und der Demographie nicht eindeutig möglich ist.

Die wichtigste Differentialdiagnose ist die septische Arthritis. Bei einer perakuten Mono- oder Oligoarthritis mit Schwellung, Rötung und ggf. begleitenden Allgemeinsymptomen wie Fieber und Leukozyten-reichem Gelenkpunktat sollte an diese Diagnose gedacht werden. Eine septische Arthritis ist immer ein Notfall, da das Gelenk innerhalb kürzester Zeit zerstört werden kann. Bei Verdacht sollte die Diagnose sofort durch mikrobiologische Untersuchung des Gelenkpunktates und Kulturen von Blut und Synovialflüssigkeit ausgeschlossen werden (Mazzoni, Xiao, Loch-Wilkinson & Stephens, 2021).

Bei chronischen polyartikulären oder oligoartikulären Verläufen, die in 10% der Fälle auftreten, erinnern die Manifestationen der Chondrokalzinose an eine rheumatoide Arthritis. Ein Großteil der älteren Patienten kann einen positiven Rheumafaktor (RF) aufweisen, was zu Fehldiagnosen führen kann. CPPD kann zu einem diagnostischen Problem werden, wenn die Gelenkentzündung symmetrisch ist und der RF positiv ist. Bei hohen RF und Anti-CCP-Antikörpern mit zusätzlicher Synovitis an Händen und Füßen mit den typischen radiologischen Erosionen sollte eher an eine RA als an eine CPPD gedacht werden (Rosenthal et al. 2016).

Auch andere genetische Erkrankungen mit sekundärer Chondrokalzinose wie Hypomagnesiämie, Gitelman-Syndrom, hereditäre Hämochromatose und Hypophosphatasie müssen ausgeschlossen werden.

Pathogene Mutationen oder funktionell relevante Polymorphismen im *TNFRSF11B*-Gen sind mit einer Reihe unterschiedlicher, teils seltener monogener, teils multifaktoriell bedingter Erkrankungen assoziiert.

Die juvenile Paget-Erkrankung Typ 5 (PDB5) stellt die klassische autosomal-rezessive Erkrankung dar, die durch einen vollständigen Funktionsverlust im OPG verursacht wird. Mutationen, die zu einem Funktionsverlust führen, führen zu unkontrollierter

Osteoklastenaktivität und dadurch zu einem pathologisch stark erhöhten Knochenumsatz mit klinischen Symptomen wie Skelettdeformitäten, Frakturen, Schwerhörigkeit und Hyperphosphatämie (Cundy et al. 2002).

Es konnte auch ein Zusammenhang zwischen bestimmten *TNFRSF11B*-Polymorphismen (z.B rs2073618) und der Anfälligkeit für postmenopausale Osteoporose sowie das Frakturrisiko beschrieben werden (Al-Anazi et al. 2020). Die Bedeutung von OPG als Biomarker für vaskuläre Verkalkung und kardiovaskuläre Mortalität wird ebenfalls diskutiert, wobei hier überwiegend Beobachtungsdaten und Tiermodelle vorliegen (Bucay et al. 1998).

2 Ziel der Arbeit

Wir berichten über klinische und molekulare Befunde in einer Vier-Generationen-Familie aus Rheinland-Pfalz, Deutschland, mit früh einsetzender CPPD und der heterozygoten NM_002546.5:c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19)-Variante. Die Ergebnisse unterstützen drei frühere Berichte (Williams et al. 2018, Ramos et al. 2015, Eshel et al. 1990), dass CCAL1 typischerweise durch diese einzigartige StopLoss-Variante verursacht wird, und ergänzen die klinischen Befunde bei CCAL1.

Bei dieser Form der Chondrokalzinose ist nur eine einzige Mutation im *TNFRSF11B*-Gen bekannt, die bereits in der Literatur beschrieben wurde (Ramos et al. 2015, Williams et al. 2018), während bei der *ANKH*-Mutation (CCAL2) mehrere verschiedene Mutationen nachgewiesen wurden.

Eine *TNFRSF11B*-Mutation ist unter anderem mit der Paget-Krankheit mit juvenilem Beginn (PDB5) assoziiert. Sucht man jedoch in einigen medizinischen Datenbanken wie zum Beispiel in OMIM nach diesem Gen, findet man nur den Verweis auf PDB5, aber keinen Eintrag zu CCAL1, obwohl über CCAL1 inzwischen mehrfach berichtet wurde. Eine Überarbeitung dieser Datenbank wäre daher sinnvoll, da nicht nur PDB5 mit der *TNFRSF11B*-Mutation assoziiert ist.

Wesentliches Ziel war es, nach Identifizierung der ursächlichen molekularen Veränderungen bei den betroffenen Familienmitgliedern, die Fälle für eine Publikation aufzubereiten.

Ein Teil der Familie wurde bereits in den 90er Jahren bis heute klinisch in der orthopädischen Praxis (Dr. Markus Wingendorf in Kirchen/Sieg) von mir und Dr. Wingendorf untersucht, aber erst im Jahre 2014 erfolgte die initiale humangenetische Vorstellung bei Frau Dr. Isabel Spier im medizinischem Versorgungszentrum Venusberg, Zentrum medizinische Genetik in Bonn, zum Ausschluss einer primären hereditären Chondrokalzinose. Die durchgeführte molekulargenetische Untersuchung des *ANKH*-Gens zeigte keine pathogene Mutation, die abgenommenen Laborparameter (Ferritin, Calcium, Phosphat, Albumin, alkalische Phosphatase, Magnesium und TSH) bezüglich einer

sekundären Chondrokalzinose waren unauffällig. Daraufhin erfolgte 2015 die Kontaktaufnahme und Blutprobenübersendung von fünf Probanden (III.1, III.2, III.5, IV.2, IV.3, Abbildung 8, s. S. 32) zur Exom-Sequenzierung im Rahmen eines wissenschaftlichen Projektes mit Professor Matthew Brown, Universität Queensland, Australien. Hier konnte die Stop402Leu-Veränderung im *TNFRSF11B*-Gen nachgewiesen werden.

Im Jahre 2017 wurde in der Humangenetik der Uniklinik Köln mittels Sanger-Sequenzierung die Mutation validiert und damit die familiäre Chondrokalzinose gesichert.

Vier Jahre später wurden Blutproben von den Probanden III.1, III.2, III.4-6 und IV.1-3 (Abbildung 8, s. S. 32) zur molekulargenetischen Diagnostik zu Diplombiologin Frau Mareike Selig an das Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz geschickt. Die Sequenzanalyse bestätigte den heterozygoten Basenaustausch im kodierenden Exon 5. Weiterhin wurden bereits bekannte Fälle aus der Literatur aufgearbeitet, mit der vorliegenden Familie verglichen und Gemeinsamkeiten sowie Unterschiede herausgearbeitet und in dieser Arbeit diskutiert.

Leider wird der Chondrokalzinose im Gegensatz zur Gicht weniger Aufmerksamkeit geschenkt und sie ist weit weniger erforscht. Bis heute gibt es keine Möglichkeit, die Kristallbildung und -akkumulation zu verhindern oder zu verlangsamen, so dass die therapeutische Option lediglich in der Linderung der entzündlichen Symptome besteht. Das Ausmaß des destruktiven Gelenkprozesses hat enorme Auswirkungen auf das tägliche Leben der betroffenen Familienmitglieder, so dass einige bereits im Alter von 50 Jahren ihre berufliche Tätigkeit nicht mehr ausüben konnten.

Mit dieser Arbeit möchte ich das Interesse an dieser Erkrankung wecken, damit in naher Zukunft mehr adäquate Therapieoptionen zur Verfügung stehen und das soziale, berufliche und alltägliche Leben der Betroffenen weniger eingeschränkt wird.

3 Literaturdiskussion

Die Chondrokalzinose gehört zu den Erkrankungen, bei denen familiäre Formen sehr selten sind. Die genaue Prävalenz ist nicht bekannt. Bis heute wurden schätzungsweise weltweit etwa 100 Familien beschrieben, die an einer erblichen Form zu leiden scheinen. An der Prävalenz scheinen die beiden familiären Formen CCAL1 und CCAL2 beteiligt zu sein, wobei die durch eine Mutation im *TNFRSF11B*-Gen verursachte Form wesentlich seltener zum Nachweis kam als die der CCAL2 entsprechende *ANKH*-Mutation. Die hereditäre Chondrokalzinose unterscheidet sich von den anderen Formen durch den Krankheitsbeginn zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr und durch die Schwere der klinischen Manifestation. Bei der CCAL1 treten Chondrokalzinose und schwere Osteoarthrose gleichzeitig auf, bei der CCAL2 steht zu Beginn die Gelenkverkalkung im Vordergrund, die Arthrose tritt erst später auf. Signifikante Unterschiede zu der hier beschriebenen ersten deutschen Familie sind vor

allem der Befall der Schulter- und Hüftgelenke. Nur in zwei Einzelfällen wurde in unserer Familie eine schwere Koxarthrose mit Gelenkersatz beschrieben.

Die erste Beschreibung von Gelenk-Kalzifikationen stammt aus dem Jahr 1928 (Werwath, 1928). Damals stellte sich ein 45-jähriger Mann vor, der seit sechs Jahren an einer Schwellung des linken Kniegelenks und Schmerzen litt. Nach einem Kniegelenkstrauma nahmen die Schmerzen und die Schwellung zu. Die klinische Untersuchung ergab eine Schonhaltung des betroffenen Gelenkes, Druckschmerzhaftigkeit und eine Einschränkung der Beweglichkeit. Die Röntgenaufnahmen zeigten Verkalkungen der Menisken und des Knorpelüberzuges der Gelenkflächen von Femur und Tibia. Man vermutete schon damals eine Störung des Kalkstoffwechsels und eine Verminderung der Knorpelzellen. Man vermutete, dass dieser Knorpelzelluntergang zur Arthrose des Gelenkes führt und ging, am ehesten von einer primären Stoffwechselerkrankung mit sekundärer Gelenkverkalkung aus. Diese Hypothese konnte jedoch nicht bewiesen werden.

In den folgenden Jahren wurde weltweit (Kanada, Chile, Tschechoslowakei, Frankreich, Holland, Spanien, Schweden, USA, Deutschland, Tunesien) über Familien berichtet, die unter einer Chondrokalzinose litten (Gaudreau et al. 1981, Reginato, Valenzuela, Maartinéz, Passano & Daza, 1970, Zitnan & Sitaj, 1963, Gaucher et al. 1977, Van der Korst, Geerards & Driessens, 1974, Rodriguez-Valverde et al. 1980, Bjelle, Nordström & Hagstam, 1982, Moskowitz & Katz, 1964, Asshoff, Böhm, Schoen & Schörholz, 1966, Hamza, Meddeb & Bardin, 1992). Die Berichte zeigen einige bemerkenswerte Unterschiede in der Art und Schwere der klinischen Manifestationen, dem Beginn der Symptomatik und auch in der Art der genetischen Vererbung.

In dieser Arbeit möchte ich jedoch nur auf die Familien näher eingehen, die nachweislich an der gleichen Variante im *TNFRSF11B*-Gen leiden, wie die von mir untersuchte deutsche Familie.

Ein früher Fallbericht aus dem Jahre 1990 beschrieb bereits eine familiäre Häufung bei einer aschkenasisch-jüdischen Familie mit 34 Mitgliedern aus fünf Generationen. Sie litten an einer Chondrokalzinose mit einem frühzeitigen Krankheitsbeginn, allerdings bis dato ohne genetische Charakterisierung (Eshel et al. 1990). In dieser Familie traten radiologische Kalzifikationen der Menisken, der Wirbelsäule und der großen Gelenke auf. Beginn der Symptome war zwischen dem dritten und vierten Lebensjahrzehnt mit rezidivierenden schubförmigen Gelenkbeschwerden.

Die Laboruntersuchungen waren unauffällig, so dass metabolische und endokrine Störungen ausgeschlossen werden konnten. Folgende Parameter wurden untersucht: Glukose, Calcium, Phosphat, Caeruloplasmin, Kreatinin, Kreatinin-Clearance, alkalische Phosphatase, Schilddrüsenwerte, Parathormon, Eisen, Rheumafaktor und antinukleäre Antikörper (ANA).

Die ersten Beschwerden des männlichen Patienten traten im Alter von 23 Jahren auf. Zunächst war das Kniegelenk betroffen, zeitweise mit lokaler Schwellung. Im Alter von 28 Jahren wurde eine Arthroskopie des rechten Kniegelenks durchgeführt und eine Osteochondrosis diagnostiziert. In den folgenden 12 Jahren traten Beschwerden am Ellenbogen, am DIP- und PIP-Gelenk und an der Halswirbelsäule auf. Die Röntgenaufnahmen zeigten eine fortschreitende OA im medialen, lateralen und patellofemorale Kompartiment beider Kniegelenke mit Chondrokalzinose beider Menisci und hyalinem Gelenkknorpel. Die Beweglichkeit der Kniegelenke war eingeschränkt, es bestand eine 10° Beugekontraktur und Instabilität. Gelenkergüsse waren an verschiedenen Stellen zu beobachten. Die HWS zeigte eine OA mit multiplen Subluxationen und einer verdächtigen Fusion C3/4. In der Synovialflüssigkeit des Kniegelenks fanden sich doppelbrechende CPPD-Kristalle. Zum Zeitpunkt der Untersuchung klagte er über starke, anhaltende Schmerzen in beiden Kniegelenken. Zur familiären Vorgeschichte ist zu erwähnen, dass sein Vater an ähnlichen Symptomen litt, die damals als „Gicht“ diagnostiziert wurden. Therapeutisch wurden Acetylsalicylsäure (Aspirin®) und Piroxicam zur Schmerzreduktion eingesetzt. Zusätzlich wurden die wiederkehrenden akuten Entzündungsschübe mit Colchicin dreimal täglich reduziert. Aus ärztlichen Berichten und Erklärungen von Angehörigen geht hervor, dass zwei Schwestern der II. Generation ebenfalls massive Beschwerden in den Kniegelenken und anderen Gelenken hatten. Die Symptome begannen im Alter von 30 Jahren (Eshel et al. 1990).

Im Jahre 1995 wurde erstmals das betroffene Chromosom 8q als Quelle der Erkrankung lokalisiert (Baldwin et al. 1995). Diese Erkenntnis stellte einen wichtigen Schritt dar, um die genetische Basis der Chondrokalzinose weiter aufzuklären und bereitete den Weg für die spätere Identifizierung des *TNFRSF11B*-Gens als ursächliches Gen für die CCAL1.

In der im Jahr 1995 beschriebenen Familie aus Neuengland (Maine) waren 11 Mitglieder in sechs aufeinanderfolgenden Generationen betroffen. Das Erkrankungsalter lag zwischen dem 25. und 40. Lebensjahr, Männer und Frauen waren gleichermaßen betroffen. Die häufigsten betroffenen Gelenke waren die Hand-, Knie- und Sprunggelenke.

Mit dem Fortschritt der molekulargenetischen Diagnostik wurde im Jahr 2015 die read-through-Mutation, gain-of-function, (c.1205A>T;p.Leu402*ext*19) im *TNFRSF11B*-Gen nachgewiesen und als Ursache für CCAL1 identifiziert (Ramos et al. 2015). Diese Studie etablierte *TNFRSF11B* als zentrales Gen für die genetische Form der CPPD und machte erstmals den Zusammenhang mit OPG und der Regulation des Knochenstoffwechsels deutlich.

In jener Arbeit (Ramos et al. 2015) wurde eine niederländische Familie über fünf aufeinanderfolgende Generationen mit 11 Betroffenen beschrieben. Röntgenuntersuchungen zeigten die klassischen Verkalkungen im Hyalin- und Faserknorpel. Das Erkrankungsalter

lag zwischen dem 30. und 50. Lebensjahr und die Symptomatik reichte von leichten bis schweren Gelenkbeschwerden. Viele Gelenke waren von der Chondrokalzinose betroffen, am häufigsten jedoch Knie-, Handgelenke, Hüften und die Halswirbelsäule.

Wenige Jahre später wurden die bis dato bekannten Erkenntnisse erweitert, indem eine weitere Familie, aus New York, USA, mit einer pathogenen *TNFRSF11B*-Mutation beschrieben wurde und zudem die funktionellen Auswirkungen dieser Genvariante auf die RANK/RANKL/OPG-Achse detailliert dargestellt wurde (Williams et al. 2018). Bei der Familie aus Long Island NY waren sechs Mitglieder in drei aufeinander folgenden Generationen von der CPPD betroffen. Es handelt sich hier um die zweite Familie, bei der die Mutation im *TNFRSF11B*-Gen durch Exon-Sequenzierung nachgewiesen wurde. Die Familie zeigte die gleiche read-through-Mutation des Terminator-Codons wie die beschriebene niederländische Familie (c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19). Das Erkrankungsalter lag zwischen 25 und 40 Jahren, Männer und Frauen waren gleichermaßen betroffen.

Das klinische Bild unserer Familie ähnelt dem zuvor beschriebener Familien, insbesondere was das Manifestationsalter (ca. 30–40 Jahre), die Gelenkbeteiligung und die radiologisch nachgewiesene Chondrokalzinose betrifft. Systemische Kalzifikationen sind jedoch nicht vorhanden. In der von uns beschriebenen Familie sind zwei Besonderheiten hervorzuheben. Zum einen sind die Hüftgelenke nur bei zwei der untersuchten Probanden von der schweren Arthrose betroffen, was zu einem frühzeitigen Gelenkersatz führt. Auffällig bei der körperlichen Untersuchung ist außerdem, dass alle Probanden bis auf eine Ausnahme von relativ kleiner Körpergröße sind. Interessanterweise waren mit Ausnahme von III.4 alle Probanden mit aufgezeichneten Größendaten (Generationen II–IV) immer relativ kleinwüchsig (unter dem 50. Perzentil für das jeweilige Alter) gewesen, die mittlere Größe in der Familie lag im Alter von 20 Jahren im 10. Perzentil. Neun von elf Personen hatten im Alter von 20 Jahren eine Körpergröße zwischen der ersten und 21. Perzentile und III.3 und III.4 hatten eine Körpergröße an der 43. bzw. 69. Perzentile. Die über 50-jährigen Probanden waren etwa 6 bis 7 cm kleiner als in jungen Jahren, was einen deutlichen Rückgang der Körpergröße zeigt.

Neben den für die *TNFRSF11B*-assoziierte Chondrokalzinose typischen klinischen Merkmale fiel in unserer Familie auf, dass die Betroffenen eine relativ kleine Körpergröße aufwiesen. In den bisher veröffentlichten Berichten (Williams et al. 2018, Ramos et al. 2015, Baldwin et al. 1995, Eshel et al. 1990) wurde nichts über eine verminderte Körpergröße berichtet. Ob es sich hierbei um eine zufällige Beobachtung, eine familiäre Disposition oder eine bislang nicht erkannte klinische Facette der Erkrankung handelt, kann auf Grundlage der aktuellen Daten nicht beurteilt werden.

Die molekulare Mechanik hinter der *TNFRSF11B*-Mutation und den daraus resultierenden Kalkablagerungen ist bis heute nicht vollständig geklärt.

Es wird angenommen, dass der Verlust oder die Funktionsminderung von OPG das Gleichgewicht zwischen Pyrophosphat und Calciumphosphat in Knorpelgewebe stört und die Kristallablagerungen begünstigt. Das Fehlen oder die herabgesetzte Funktion von OPG führt außerdem zu einer gesteigerten Osteoklastenaktivität und dadurch zu einer veränderten Knochen- und Knorpelmatrix.

Für die Zukunft erscheint es daher wesentlich, weitere Familien mit der *TNFRSF11B*-Mutation zu erfassen, um den Krankheitsverlauf, die klinische Variabilität und Abgrenzung zu anderen Subtypen der Chondrokalzinose zu gewinnen.

4 Methoden und Material

4.1 Ethik und Einwilligung

Die Untersuchung erfolgte in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki. Sämtliche teilnehmenden Familienmitglieder gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme sowie zur genetischen Diagnostik.

4.2 Literaturrecherche

Die Tatsache, dass es sich in dieser Arbeit um eine klinische Fallvorstellung handelt, erforderte eine ausführliche Literaturrecherche. Ziel war es, vorausgegangene Beschreibungen familiärer Fälle, sowie wegweisende Artikel in der Forschung zum Thema der Chondrokalzinose in der wissenschaftlichen Literatur der letzten Jahre zu finden. Über die Datenbanken „PubMed“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) und „OMIM“ (Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.omim.org/>) wurde eine ausführliche Recherche zu den bisher publizierten Arbeiten oder veröffentlichte Artikel über *TNFRSF11B*-Mutationen in Zusammenhang mit der familiär bedingte Chondrokalzinose durchgeführt. Ein Schwerpunkt in der Auswahl der gewonnenen Falldarstellungen wurde auf Daten der pathogenen Mutation, sowie eine genaue Beschreibung der klinischen Manifestation gelegt. Von den bisher erschienen Fallberichten über die familiäre Chondrokalzinose, CCAL1, waren vor allem die Veröffentlichungen von 1990 (Eshel et al. 1990), 1995 (Baldwin et al. 1995), 2015 (Ramos et al. 2015) und 2018 (Williams et al. 2018) von Interesse, da in diesen die Lokalisation und die Ursache für die Erkrankung nachgewiesen werden konnte.

4.3 Erstellen von Abbildungen und Stammbäumen

Für diese Arbeit wurden geeignete Abbildungen der einzelnen Familienmitglieder erstellt, indem geeignete Fotografien der Probanden ausgewählt und bearbeitet wurden.

Mithilfe des Programms Windows Office PowerPoint wurde zudem der Stammbaum der vorzustellenden Familie sowie der drei familiären Fälle mit der *TNFRSF11B*-Mutation aus der Literatur erstellt. Diese Darstellung bietet einen allgemeinen Überblick und verdeutlicht die familiären Verbindungen in den einzelnen Generationen. Zur weiteren Veranschaulichung wurden für die vier genannten Familien in Microsoft Excel Tabellen erstellt, die die betroffenen Gelenke und Besonderheiten verdeutlichen.

Des Weiteren wurden KI-Tools (z. B. ChatGPT) zur sprachlichen und grafischen Unterstützung genutzt.

4.4 Wissenschaftliches Schreiben

Vor dem Verfassen dieser Arbeit konnte ich meine Kenntnisse im wissenschaftlichen Schreiben durch die Teilnahme am ESHG (European Human Genetics Virtual Conference) 2020.2 vom 06.06.2020-09.06.2020 vertiefen. Aufgrund der Corona-Pandemie fand der Kongress nur virtuell statt. Am 07.06.2020 präsentierte ich unsere deutsche Familie in einem e-Poster (P04.16.A) in der Kategorie Skelett- und Bindegewebs-, ektodermale und Hauterkrankungen (P04.) vor.

Des Weiteren wurde im Rahmen dieser Arbeit zusammen mit meinem Doktorvater Prof. Dr. Oliver Bartsch und mit Hilfe der Koautoren Diplombiologin Frau Mareike Selig, Dr. Markus Wingendorf und Prof. Matthew Brown eine Publikation verfasst und im März des Jahres 2025 in the American Journal of Medical Genetics, Part A, eingereicht und nach zweimaliger Revision im Juli 2025 angenommen. Der Artikel wird separat am Ende der Dissertation beigelegt (siehe 9 Artikel in the American Journal of Medicine, Part A).

4.5 Beschreibung des Patientenkollektiv und Identifikation des Falles

Im Rahmen meiner früheren Tätigkeit als Arzthelferin in einer orthopädischen Facharztpraxis in der Region Westerwald lernte ich eine Familie mit früh einsetzender, über mehrere Generationen hinweg auftretender Gelenksymptomatik kennen. Die betroffenen Familienmitglieder wurden über Jahre in der Praxis durch uns betreut und zeigten ein wiederkehrendes klinisches Bild mit rezidivierenden Gelenkbeschwerden, akuten Entzündungsschüben sowie strukturellen Gelenkveränderungen.

Die Diagnostik erfolgte durch den behandelnden Orthopäden der Praxis (Dr. Markus Wingendorf, Kirchen/Sieg) und umfasste wiederholt konventionelle Röntgenuntersuchungen sowie sonographische Bildgebung der betroffenen Gelenke. Ergänzend wurden laborchemische Parameter zur rheumatologischen und entzündungsdiagnostischen Abklärung erhoben.

Aufgrund des familiären Musters der Erkrankung und der über Jahre konsistenten klinischen und bildgebenden Befunde bestand der Verdacht auf eine genetisch bedingte, familiär gehäufte Gelenkerkrankung. Dieser Verdacht war Anlass, dass Thema im Rahmen meiner medizinischen Dissertation weiterzuverfolgen.

Nach erster Vorstellung des Falls bei meinem Doktorvater wurde das Projekt initiiert, mit dem Ziel, die zugrunde liegende genetische Ursache systematisch zu erfassen und wissenschaftlich aufzuarbeiten.

Die in dieser Arbeit untersuchte Familie umfasst 12 Mitglieder über vier Generationen aus Rheinland-Pfalz, Deutschland, bei denen anamnestisch und klinische Hinweise auf eine familiäre Chondrokalzinose (CCAL1) vorlagen. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung waren initial 10 Familienmitglieder lebend. Von den Probanden II.1 und II.2 (Abbildung 8, s. S. 32) waren nur Informationen und klinische Befunde in Form von Röntgenaufnahmen und Arztberichten über die Töchter (III.2 und III.5, Abbildung 8, s. S. 32) möglich, da sie bei Studienbeginn beziehungsweise währenddessen verstorben waren. Von Proband I.1 liegen nur mündliche Erzählungen von den Angehörigen (III.1, 2, 4 und 5, Abbildung 8, s. S. 32) vor, da er vor langer Zeit verstorben ist.

Die Altersspanne der lebenden Familienmitglieder zum Zeitpunkt der klinischen Untersuchung in der Praxis Dr. Wingendorf lag zwischen 18 und 82 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 49 Jahren.

Für die molekulargenetische Diagnostik und detaillierte klinische Einschätzung wurden die Familienmitglieder nach vorheriger Aufklärung und schriftlicher Einwilligung zur Untersuchung eingeladen.

4.5.1 Klinische Diagnostik

Die Diagnose der Chondrokalzinose erfolgte nach den Kriterien der EULAR. Bei allen Probanden wurden folgende diagnostischen Maßnahmen durchgeführt:

- Ausführliche Erhebung der Krankengeschichte und klinische Untersuchung einschließlich Neutral-0-Methode,
- Röntgenuntersuchung der betroffenen Gelenke,
- Ultraschalluntersuchung zur ergänzenden Bildgebung.

4.5.2 Labordiagnostik

Standard-Laborparameter (Blutbild, BSG, CRP, RF, Ferritin, Calcium, Phosphat, Magnesium, TSH, Harnsäure, Parathormon, 25-OH-Vitamin D) wurden bestimmt, um entzündliche Prozesse und Differentialdiagnosen auszuschließen. Zusätzlich erfolgte bei drei Probanden (III.1, III.5 und III.6) die mikroskopische Untersuchung der Synovialflüssigkeit auf CPP-Kristalle (Knie- und Ellenbogengelenk).

4.5.3 Konventionelle Röntgendiagnostik

Goldstandard, um den Gelenkzustand zu verifizieren, ist die Projektionsradiographie. Die Röntgenaufnahmen paariger Gelenke sollten stets von beiden Seiten angefertigt werden, nach Möglichkeit in zwei Ebenen. Sowohl in der Frühdiagnostik als auch zur Diagnosefindung und Verlaufskontrolle findet sie Anwendung. Dadurch ist sie bestens geeignet für die Dokumentation des Krankheitsverlaufes. Die Beurteilung des Bildes umfasst verschiedene Komponenten:

- Achsenstellung des Gelenkes, Abweichungsrichtung
- Knochenstruktur bezüglich ihrer Dichte, Sklerose, Geröllzysten und osteophytäre Anbauten
- Gelenkspaltverschmälerung
- Knorpel-, Meniskus-Verkalkungen
- Weichteilveränderungen
- Gelenkerguss

Von den 12 Betroffenen waren acht Familienmitglieder aus den Generationen III und IV zur direkten röntgenologischen Diagnostik zugänglich. Vor allem die Knie-, Sprung-, Hand- und Kleinfingergelenke, die Ellenbogen und die HWS waren betroffen. Es wurden standardisierte Aufnahmen in mehreren Ebenen (meistens zwei Ebenen) der Gelenke angefertigt. Das Knieröntgen umfasste drei Ebenen, eine anterior posterior Aufnahme (a.p.) im Stand, eine liegende Seitenaufnahme 30 ° und zusätzlich eine Patella tangential 60° im Liegen. Beurteilt wurde sowohl das Ausmaß der Arthrose bezüglich der Gelenkspaltverschmälerung mit Hilfe

des Kellgren-Lawrence-Scores (0=keine OA, 1=fragliche OA, 2=minimale OA, 3=moderate OA, 4=schwere OA) (Kellgren et al.1963), der subchondralen Sklerose und zystischen Veränderungen als auch die Kalzifikationen vor allem im Bereich des Innen- und Außenmeniskus.

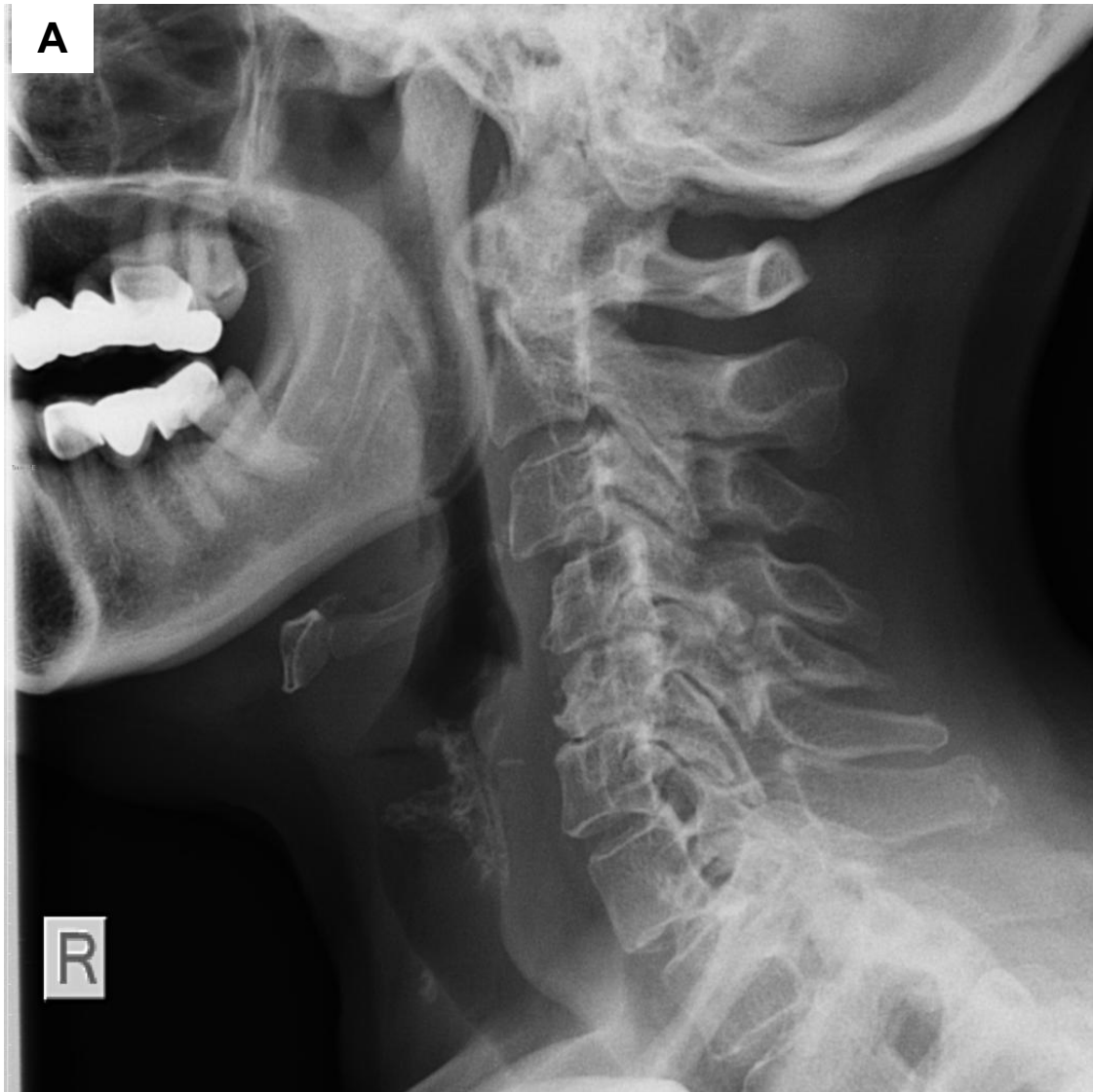




Abbildung 5: Röntgenbilder mit den typischen schweren Arthrosemerkmalen:

A: HWS seitlich von Probandin III.5: Anterolisthesis C3/4 mit Verdacht auf degenerative Instabilität, Osteochondrose C4-6 und Retrolisthesis C5 auf C6.

B: Rechter Ellenbogen seitlich von Proband III.1: Grad IV Ellenbogenarthrose mit vollständiger Zerstörung des Humeroulnar- und des Humeroradialgelenks.

4.5.4 Arthrosonographie

Die Sonographie als nicht-invasive Methode ist eine sehr sensitive Methode zur Darstellung von Gewebsverkalkungen. Sie ermöglicht an den Gelenken durch Darstellung der Weichteile und der Knochenoberfläche eine Visualisierung verschiedener entzündlicher Prozesse:

- Gelenkergüsse: echoarme bis echofreie Kapselabhebungen, komprimierbar und verschieblich
- Synovialitis: echoarme bis echoreiche intrakapsuläre Raumforderung, nicht oder nur minimal komprimierbar
- Tenosynovialitis: echo arme oder echofreie Struktur innerhalb der Sehnenscheide
- Erosionen: intraartikuläre Unterbrechung des Kortikalis-Reflexes
- Kalzifikationen

Das Auflösungsvermögen der Sonographie hängt entscheidend von den Schallfrequenzen ab. Zur Untersuchung kleiner Gelenke werden hochfrequente Linearschallköpfe >10 MHz empfohlen, die selbst minimale Ergüsse und Strukturstörungen aufzeigen. Zur Darstellung der Hypervaskularisation im Rahmen akuter Entzündungen sind Power-Doppler unverzichtbar.

Die komplette Sonographie erfordert einen standardisierten Untersuchungsablauf, damit keine pathologischen Veränderungen übersehen werden. Je nachdem, welches Gelenk untersucht werden soll, gibt es verschiedene Schnittebenen, die durchgeführt werden müssen, um eine synovialitische Veränderung nachzuweisen. Unabhängig davon muss die Untersuchung immer dynamisch erfolgen, weil z.B. kleine Ergüsse oft nur durch Bewegung demaskiert werden können. Ein weiterer wichtiger Punkt ist, dass man den Schallkopf mit möglichst wenig Druck führt, um keine synovialen Gefäße zu komprimieren. Dennoch könnte die Sonographie auf Grund ihrer schnellen Verfügbarkeit, der geringen Belastung vor allem bei älteren Patienten und der hohen Sensitivität zum wichtigsten bildgebenden Verfahren in der Diagnostik der Chondrokalzinose werden.

4.5.5 Genetische Labordiagnostik

Ein Teil der Familie wurde bereits seit den 1990er Jahren bis heute klinisch und radiologisch in der orthopädischen Praxis von Dr. Markus Wingendorf in Kirchen/Sieg untersucht.

Die initiale humangenetische Vorstellung erfolgte jedoch erst im Jahr 2014 bei Frau Dr. Isabel Spier im medizinischen Versorgungszentrum Venusberg Zentrum für medizinische Genetik in Bonn mit dem Ziel des Ausschlusses einer primären hereditären Chondrokalzinose. Alle Probanden zeigten sich mit der Durchführung molekulargenetischer Tests einverstanden.

Die durchgeführte molekulargenetische Untersuchung des *ANKH*-Gens ergab keine pathogene Mutation. Auch die abgenommenen Laborparameter (Ferritin, Calcium, Phosphat, Albumin, alkalische Phosphatase, Magnesium und TSH) weisen keine sekundäre Chondrokalzinose auf.

Im Jahr 2015 erfolgte die Kontaktaufnahme sowie die Übersendung von Blutproben von fünf Probanden (III.1, III.2, III.5, IV.2, IV.3, Abbildung 8, s. S. 32) zur Exom-Sequenzierung im

Rahmen eines wissenschaftlichen Projektes unter der Leitung von Professor Matthew Brown an der University of Queensland, Diamantina Institute, Princess Alexandra Hospital, Brisbane, Queensland, Australia. An dieser Stelle konnte die Variante NM_002546.5:c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19) im *TNFRSF11B*-Gen nachgewiesen werden.

Im Jahre 2017 wurde in der Humangenetik der Uniklinik Köln die Mutation mittels Sanger-Sequenzierung validiert und damit die familiäre Chondrokalzinose gesichert.

Vier Jahre später wurden Blutproben von den Probanden III.1, III.2, III.4-6 und IV.1-3 (Abbildung 8, s. S. 32) zur molekulargenetischen Diagnostik an das Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Mainz, an Diplombiologin Frau Mareike Selig, geschickt. Alle zeigten sich mit der molekulargenetischen Diagnostik einverstanden.

Das Labor extrahierte genomische DNA aus dem peripheren Blut der Probanden III.1, III.2, III.4, III.5, III.6, IV.1, IV.2 und IV.3 (Abbildung 8, s. S. 32) mit Standardverfahren. Von Probandin III.3 konnte aufgrund der räumlichen Distanz keine Blutprobe entnommen werden. Im letzten kodierenden Exon (Exon 5) des *TNFRSF11B*-Gens wurde die heterozygote Variante *TNFRSF11B* (NM_002546.4): c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19), die heute auch als dbSNP rs2129877362 bekannt ist, mittels Sanger-Sequenzierung bestätigt bzw. nachgewiesen.

In der Analyse mittels VarSome (<https://varsome.com/>) wurde die nachgewiesene Sequenzänderung als pathogen (Pathogenitätsstufe 4) eingestuft.

Um die Verwandtschaft zwischen der vorliegenden Familie, der US-amerikanischen Long Island-Familie und der israelischen Familie zu klären, führten wir eine SNP-Genotypisierung mit den polymorphen Markern rs2073618, rs1564858, rs10554146 und rs2228568 durch, wie an anderer Stelle beschrieben (Williams et al. 2018, Abbildung 7, s. S. 31).

Die Ergebnisse habe ich für diese Arbeit wie folgt zusammengefasst:

Bei der Sequenzierung des Gens wurde ein Basenaustausch A>T in Exon 5 identifiziert (c.1205A>T; entsprechend der Referenznummer der GenBank NM_002546.5), der im Gen zu einer Stopp-loss-Mutation mit Proteinverlängerung (p.Ter402Leuext*19), die funktionell als gain-of-function-Mutation beschrieben wurde, führt (Abbildung 6, s. S. 30). Auf Proteinebene führt diese heterozygote Sequenzveränderung zu einem Austausch des Stopp-Codons zur Aminosäure Leucin an der Aminosäureposition 402 (p.402Leuext19) und somit zu einer Proteinverlängerung. Diese Verlängerung ist in Verbindung mit einer Chondrokalzinose beschrieben. Des Weiteren ist sie in der Human Gene Mutation Database (HGMD) in Verbindung mit OA plus Chondrokalzinose aufgeführt (HGMD-ID CM146104). Die identifizierte Sequenzveränderung wurde als pathogen (Klasse 4-Variante) eingestuft (ClinVar, Accession: VCV001454756.7) Bis dato liegen zwei weitere Berichte über gain-of-function-Mutationen des *TNFRSF11B*-Gens vor (Ramos et al. 2015, Williams et al 2018) Der

Mutationsnachweis gelang bei Probanden III.1, III.2, III.4-6 und IV.1-3 (Abbildung 8, s. S. 32). Andere lebende Familienmitglieder waren noch nicht von der Gelenkproblematik betroffen.

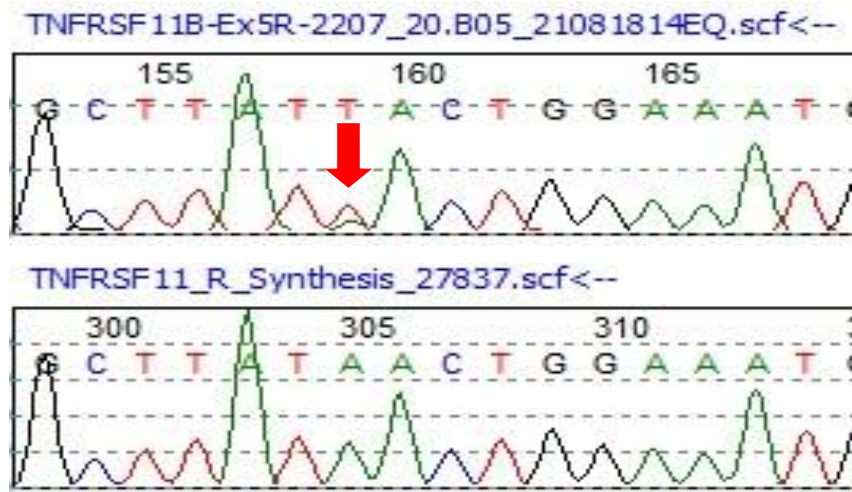


Abbildung 6: Elektropherogramm: (oben) die heterozygote TNFRSF11B c.1205A>T p.(Ter402Leuext*19) Variante bei Patient III.2 (Basensubstitution durch roten Pfeil gekennzeichnet) und (unten) die Wildtyp-Variante.

	Position in <i>TNFRSF11B</i>	Change	Average Heterozygosity	Israeli Family	Long Island Family	German Family
rs2073618	Exon 1	c.9C>G	0.522	+	+	+
rs1564858	Intron 2	c.400+4C>T	0.105	+	-	-
rs10554146	Intron 3	c.592+55_56del	0.215	+	-	-
rs2228568	Exon 4	c.768A>G	0.105	+	-	-

Abbildung 7: SNP-Analysen von vier polymorphen Varianten innerhalb des *TNFRSF11B*-Gens in der US-amerikanischen Familie aus Long Island, der israelischen Familie (Williams et al. 2018) und der vorliegenden Familie.

4.6 Datenauswertung

Die klinischen und genetischen Daten wurden deskriptiv ausgewertet. Aufgrund der kleinen Fallzahl war keine inferenzstatische Analyse möglich.

5 Ergebnisse

Das Kollektiv setzte sich aus einer deutschen Familie aus der Region Westerwald mit der familiär erblich gesicherten Chondrokalzinose (CCAL1) zusammen. Die Kalzifikationen führten zur Ausbildung von multiplen Sekundärarthrosen. Der Krankheitsbeginn lag ausnahmslos bei allen Probanden zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr, zudem kam es ab dem 50. Lebensjahr zu einer Abnahme der Körpergröße. Die mittlere Größe in der Familie lag im Alter von 20 Jahren im 10. Perzentil. Neun von elf Personen hatten im Alter von 20 Jahren eine Körpergröße zwischen dem 1. und dem 21. Perzentil. III.3 und III.4 (Abbildung 8, s. S. 32) hatten eine Körpergröße an der 43. bzw. 69. Perzentil (Abbildung 9, s. S. 32). Betroffen waren drei Generationen, insgesamt 11 Personen. Die molekulargenetische Sicherung der Diagnose CCAL1 erfolgte 20 Jahre nach der Erstvorstellung in der Praxis Dr. Markus Wingendorf. Klinisch beurteilt wurden acht Familienmitglieder, bei den übrigen lagen lediglich externe Befunde vor bzw. es wurden Informationen über die Angehörigen gesammelt. Bei acht Probanden wurde die Entnahme von Vollblutproben zur weiteren Diagnostik veranlasst (Abbildung 8, s. S. 32).

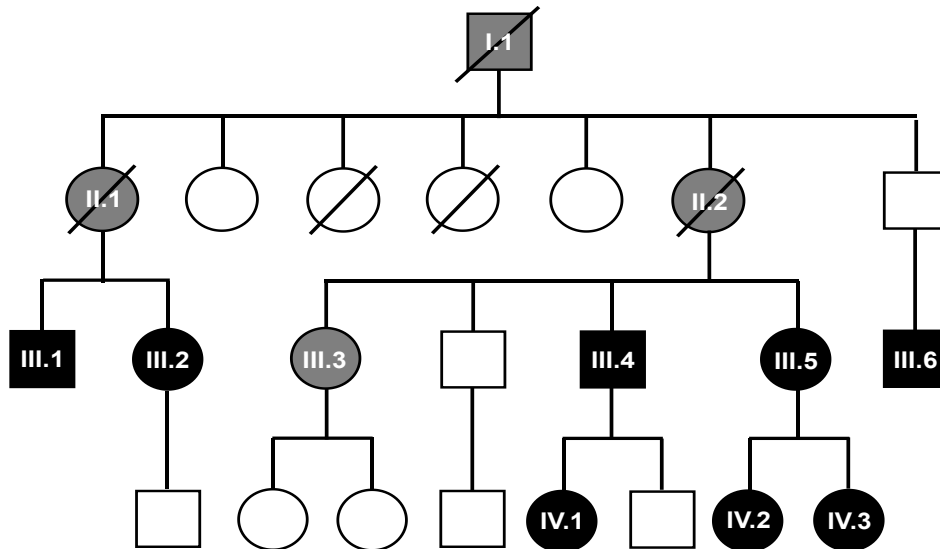


Abbildung 8: : Stammbaum der Familie: Schwarze Symbole (n = 8) stehen für Personen mit einer klinischen und molekularen Diagnose von CCAL1 (Genotyp: *TNFRSF11B* c.1205A>T, Wildtyp/Mutation) und graue Symbole (n = 4) für Personen, bei denen nur die klinische Diagnose CCAL1 gestellt wurde. Darüber hinaus sind im Stammbaum elf Familienmitglieder dargestellt, die für die Studie nicht zur Verfügung standen (leere Kreise und Quadrate). Für diese Personen wurde der Phänotyp nicht ausgewertet.



Abbildung 9: : Fotografie von links nach rechts: Proband III.1, III.2, III.5 und III.4. Auffällig die relativ kleine Körpergröße, Ausnahme III.4.

Probandin II.1: (*1936-1999), im Alter von 63 Jahren an metastasiertem Malignom verstorben, 1,56 m, 58 kg

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** (nicht im Stammbaum abgebildet). **Vater:** s. Proband I.1 (verstorben 1964). Beschwerden an den Kniegelenken und an der Lendenwirbelsäule.

Geschwister: s. Proband II.2, sechs weitere Geschwister. Drei Schwestern mit Beschwerden an Ellenbogen, Händen, Lendenwirbelsäule und Kniegelenke. Die vierte Schwester im Alter von 11 Jahren verstorben (Epilepsie?), die fünfte Schwester keine Gelenkbeschwerden. Der Bruder hatte ein Kniegelenks-Endoprothese

Die ersten Symptome traten bei der Probandin im Alter von 30 Jahren auf. Betroffen waren die Ellenbogen, Handgelenke, Kniegelenke, Sprunggelenke und die Halswirbelsäule. Im Alter von 58 Jahren wurde eine Kniegelenksendoprothese implantiert. Mit 62 Jahren stellte sich die Probandin erstmals rheumatologisch vor. Bei der körperlichen Untersuchung zeigte sich ein deutliches Streckdefizit beider Ellenbogen, eine teigige Schwellung beider Handgelenke mit konzentrischer Bewegungseinschränkung sowie eine Kissenbildung über den MCP-Gelenken. Die PIP- und DIP-Gelenke waren beidseits stark geschwollen und der Faustschluss war unvollständig. Die Knie- und Sprunggelenke imponierten mit Schwellung und Bewegungseinschränkung. In den Nativröntgenbildern der Hände zeigten sich erosiv-destruierende Veränderungen an den MCP II–IV, deutlich auch an den PIP III links sowie an den DIP-Gelenken mit betonter Fingerpolyarthrose. Die Daumensattelgelenke wiesen bereits 1972 eine Grad IV Arthrose auf, ebenso die Halswirbelsäule. Das rechte Kniegelenk wies deutliche subchondrale Zysten und Zeichen der Chondrokalzinose auf. Therapeutisch wurde zunächst eine Methotrexat-Therapie (MTX) mit begleitender Low-Dose-Steroidmedikation empfohlen. Röntgenbilder der beiden Kniegelenke aus dem Jahr 1981 zeigten bereits eine Grad IV Femoropatellararthrose und Kalkablagerungen im Bereich des medialen und lateralen Meniskus.

Probandin II.2: (*1938-2020), im Alter von 82 Jahren an einer Covid-Infektion verstorben, ca. 1,54 m, 80 kg, Informationen über Tochter III.5

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** (nicht im Stammbaum abgebildet), keine Beschwerden. **Vater:** s. I.1 (verstorben 1964). Beschwerden an den Kniegelenken und an der Lendenwirbelsäule. **Geschwister:** s. Proband II.1, sechs weitere Geschwister. Drei Schwestern mit Beschwerden an Ellenbogen, Händen, Lendenwirbelsäule und Kniegelenke. Die vierte Schwester im Alter von 11 Jahren verstorben (Epilepsie?), die fünfte Schwester keine Gelenkbeschwerden. Der Bruder hatte ein Kniegelenks-Endoprothese.

Die Probandin beklagte sich über Beschwerden in beiden Ellenbogen, Handgelenken und Sprunggelenken. Im Alter von 61 Jahren wurde eine Kniegelenksendoprothese implantiert. Vorbefunde liegen nicht vor, da sie selten einen Arzt aufsuchte und die Beschwerden auf das zunehmende Alter schob. Aufgrund der starken Beschwerden und des destruktiven Gelenkverschleißes musste sie im Alter von 50 Jahren berentet werden. Mit 78 Jahren war sie aufgrund von Knie- und Sprunggelenksbeschwerden auf einen Rollstuhl angewiesen. Eine Schwerbehinderung mit einem Grad der Behinderung (GdB) von 60 lag vor. Im Jahr 2020 verstarb die Probandin im Alter von 82 Jahren an den Folgen einer Corona-Infektion.

Proband III.1: (*1962), 63 Jahre, 1,59 m, 75 kg, (Abbildung 9, erster von links, s. S. 34)

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** siehe Probandin II.1. **Vater:** nicht im Stammbaum abgebildet. **Geschwister:** s. Probandin III.2

Der Proband wurde 1998 im Alter von 36 Jahren erstmals vorgestellt. Zu diesem Zeitpunkt beklagte er sich über Beschwerden in beiden Sprung- und Kniegelenken. Die Arthrose war weit fortgeschritten und beeinträchtigte ihn zunehmend im Alltag. In den Jahren 1988 und 1992 wurde das rechte Sprunggelenk offen operiert. Dabei wurde eine ventrale Gelenkrevision mit Exostosen-Abtragung durchgeführt. Aufgrund rezidivierender Beschwerden suchte der Proband im selben Jahr einen Rheumatologen auf. Dieser diagnostizierte eine erosiv-destruierende chronische Polyarthrititis mit entzündlicher Komponente. Aufgrund der Grad IV Gonarthrose rechts wurde im Alter von 58 Jahren eine Endoprothese implantiert. Der Proband litt unter anhaltenden, belastungsabhängigen Schmerzen in beiden Kniegelenken, wobei die Beschwerden auf der rechten Seite stärker ausgeprägt waren. Das linke Kniegelenk zeigte eine Grad IV Gonarthrose mit vollständigem medialem Gelenkspaltaufbrauch und lateraler Meniskus-Kalzinose (Abbildung 10, s. S. 37). Klinisch imponierte ein Genu varum mit deutlichen Zeichen einer Instabilität des linken Sprunggelenkes (Abbildung 11, s. S. 38). Sonographisch stellte sich eine verdickte synoviale Membran dar. Die maximale Gehstrecke war auf circa 100 bis 150 Meter am Stück begrenzt. Eine konservative Therapie würde keine ausreichende Beschwerdelinderung mehr erbringen und es habe sich eine Achsfehlstellung eingestellt. Der Befund wurde histologisch gesichert durch Nachweis von CPP-Kristallen. Im Nativröntgen zeigten beide Sprunggelenke eine Grad VI Talocrural- und Subtalargelenksarthrose. Der gesamte Talus wirkt deformiert und ausgewalzt. Klinisch imponierten eine Verformung und Schwellung der Sprunggelenke mit funktioneller Instabilität mit eingeschränkter Beweglichkeit. Auch die Ellbogen und Handgelenke wiesen eine Arthrose Grad IV mit Schwellung und degenerativen, zystischen

Umformungen auf. Auch die Halswirbelsäule (HWS) zeigte eine Osteochondrose der HWK 4–5 und 5–6 mit einer Anterolisthese der HWK 3 auf HWK 4.

Die Extensionsaufnahmen zeigten massive degenerative Umformungen im Atlantoaxialgelenk sowie der HWK 4–5, 5–6 und 6–7 mit konsekutiver Facettengelenksarthrose. Die erhobenen Befunde verursachten nicht nur eine enorme Bewegungseinschränkung und Schmerzen, sondern auch sensomotorische Ausfallerscheinungen. Deshalb erfolgte eine langstreckige Fusion von HWK 3 bis BWK1, sowie eine Korporektomie von HWK. Seit 2009 verfügt er über einen GdB von 70.



Abbildung 10: Röntgenbild linkes Kniegelenk a.p. von Proband III.1: vollkommener medialer Gelenkspaltaufbrauch, typische Chondrokalzinose am lateralen Meniskus.



Abbildung 11: Dorsalansicht der Beine von III.1: Genu varum und die massive Instabilität des linken Sprunggelenks.

Probandin III.2: (*1969), 56 Jahre, 1,54 m, 54 kg, (Abbildung 9, zweite von links, s. S. 34)
Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** siehe Probandin II.1. **Vater:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Geschwister:** siehe Proband III.1

Auch bei dieser Probandin traten die Gelenkbeschwerden zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr auf. Betroffen waren die HWS, die Ellbogen, die Handgelenke, die Finger, die Lendenwirbelsäule (LWS), die Kniegelenke und die Sprunggelenke. Die HWS wies degenerative Veränderungen mit Instabilität in den Segmenten 4/5, 5/6 und 6/7, sowie eine Anterolisthese von 4/5 und 5/6 und eine Spinalkanalstenose HWK 3–BWK1 auf. Die Probandin klagte über zunehmende Schmerzen im Halswirbelsäulenbereich, mit Ausstrahlung in beide Arme. Auch die Einschränkung der Feinmotorik, sowie eine Kraftminderung an den oberen Extremitäten nahmen zu. Bei der klinischen Untersuchung war die Beweglichkeit des Kopfes in alle Richtungen um 30° eingeschränkt und schmerzhaft. Es lag eine Kraftminderung des Kraftgrads 3/5 bilateral in allen Dermatomen von HWK 4–7 vor. Aufgrund des immobilisierenden Schmerzsyndroms, der neurologischen Ausfälle und Einschränkungen der Feinmotorik, sowie der Zunahme der Kraftminderung, wurde eine dorsale Dekompression und Fusion von HWK 2–BWK3 durchgeführt. Trotz des operativen Eingriffs an der HWS beklagt die Probandin weiterhin eine eingeschränkte Kopfbewegung und ein Taubheitsgefühl in den Händen, vor allem auf der rechten Seite. Im Nativröntgen zeigten sich bei beiden Ellbogen eine fortgeschrittene, Grad IV Arthrose mit vollständiger Auswulzung der Ellenzange, sowie eine starke Gelenkdeformation. Auch hier ist die Bewegungsfähigkeit massiv eingeschränkt. Die Handgelenkskulisse wirkte deutlich aufgetrieben, es bestand ein Druckschmerz über der Handwurzel. Röntgenologisch zeigte sich eine fortgeschrittene, subluxierte Rhizarthrose links mit Z-förmigem Daumen („Zick-Zack-Deformität“). Ebenso sind stark arthrotische Veränderungen im Bereich der DIP-Gelenke der Langfinger mit Schwanenhalsdeformität bei den Strahlen 2 und 3 zu erkennen. Auf der rechten Seite sind die PIP- und DIP-Gelenke der Strahlen 2–4 betroffen, es liegt eine Schwanenhalsdeformität und ein Zick-Zack-Daumen vor (Abbildung 11, s. S. 39). Die Röntgenbilder beider Kniegelenke zeigten eine Grad VI Femoropatellargonarthrose und eine Grad III-IV Drei-Kompartiment-Gonarthrose mit varischer Beinachse. Es zeigten sich calzinotische Veränderungen in Projektion auf den Innen- und Außenmeniskus. In der a. p. - Projektion zeigte sich eine Verschmälerung des medialen Gelenkspaltes um etwa 60 % mit beginnender Entrundung der medialen und lateralen Rolle. In der sonographischen Untersuchung der Kniegelenke zeigte sich eine verdickte synoviale Formation und Ergussbildung im Recessus. Beide Sprunggelenke wurden endoprothetisch versorgt. Auch sie verfügt seit dem Jahr 2015 über einen GdB von 50.



Abbildung 12: Fotografie der beiden Hände von Probandin III.2: Teigige Schwellung der MCP-Gelenke II und III sowie der Finger 2–5, Arthrose der DIP-Gelenke und einen Zickzack-Daumen. Hinzu kommen eine Hyperextension und Schwellung im Daumengrundgelenk, was ein klinischer Hinweis auf eine Rhizarthrose ist.

Probandin III.3: (*1962), 63 Jahre, nur telefonische Befragung der Probandin und orthopädische Vorbefunde aufgrund großer räumlicher Entfernung. 1,67 m, 59 kg
Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** s. Probandin II.2. **Vater:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Geschwister:** s. Probanden III.4, III.5.

Die ersten Gelenkbeschwerden traten bei der Probandin im Alter von 20 Jahren auf. Zwischen dem 15. und 16. Lebensjahr betrieb sie noch Leichtathletik. Dabei seien ihr erstmals Schmerzen in den Kniegelenken aufgefallen. Weitere betroffene Gelenke waren die HWS, die LWS, beide Ellenbogen, beide Handgelenke, beide Daumensattelgelenke, beide Sprunggelenke und das linke Hüftgelenk. Ab dem 30. Lebensjahr nahmen die Schmerzen stetig an Intensität zu. Zudem beklagte sie eine Morgensteifigkeit in den Gelenken und deutliche Bewegungseinschränkungen. Im Jahr 2014, im Alter von 52 Jahren, wurde aufgrund einer schweren Koxarthrose links eine Hüfttotalendoprothese implantiert. Seit 2011 verfügt sie über einen GdB von 30.

Proband III.4: (*1966), 59 Jahre, 1,84 m, 100 kg,(Abbildung 9, erster von rechts, s. S. 34)
Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** s. Probandin II.2. **Vater:** nicht im Stammbaum
aufgeführt. **Geschwister:** s. Probandinnen III.3, III.5.

Der Proband stellte sich im Jahr 2010 erstmals im Alter von 44 Jahren in der orthopädischen Praxis (Dr. Markus Wingendorf) vor. Damals klagte er über Schmerzen in beiden Knie- und Sprunggelenken. Zudem kam eine Morgensteifigkeit der Gelenke hinzu und er gab an, dass selbst das Gehen längerer Strecken ihm Probleme bereiten würde. Zu diesem Zeitpunkt waren die verwandtschaftlichen Verhältnisse zu den übrigen betroffenen Probanden noch nicht bekannt. Es wurde eine seronegative, CCP-Antikörper-negative rheumatoide Arthritis vermutet, differentialdiagnostisch eine Arthritis psoriatica. Die damals angefertigten Röntgenbilder beider Kniegelenke unter Standbelastung zeigten eine Grad IV Varus betonte Gonarthrose mit Femoropatellararthrose. Die Patella stand deutlich dezentriert, rechts mehr als links. Auch die Sprunggelenke zeigten eine Grad IV Arthrose. Bereits zu diesem Zeitpunkt wurde dem Probanden eine endoprothetische Versorgung beider Kniegelenke empfohlen und bezüglich der Sprunggelenke eine Arthrodese angeraten. Ein Jahr später, im Jahr 2011, stellte er sich konsiliarisch im Rheumazentrum St. Josef-Stift in Sendenhorst vor. Er berichtete, dass er über diverse Gelenkbeschwerden seit etwa 20 Jahren leide, die an den Knie- und Sprunggelenken begonnen hätten und anfangs mit Schwellungen einhergingen. Mit 42 Jahren wurde eine Therapie mit MTX versucht, die allerdings wegen einer Unverträglichkeit beendet werden musste. Eine Behandlung mit Steroiden brachte Linderung, und auch Radiosynoviorthese (RSO)-Behandlungen an den Knie- und Sprunggelenken wurden durchgeführt. Zusätzlich sind nun auch die PIP-Gelenke III, IV und das Handgelenk rechts betroffen. Aufgrund eines erhöhten Ferritins wurde der Verdacht auf eine Hämochromatose gestellt, der sich jedoch in der genetischen Diagnostik nicht bestätigte. Röntgenbilder der Hände zeigten eine hochgradige Gelenkspaltverschmälerung zwischen Os capitatum, Os naviculare und Os lunatum. Auffällig waren auch die Anbauten am rechten MCP III. Laborchemisch zeigten sich keine Besonderheiten. Weder Entzündungsaktivitäten noch spezifische Antikörper konnten nachgewiesen werden. In den darauffolgenden Jahren wurden beide Kniegelenke endoprothetisch versorgt (2011 und 2012), zu diesem Zeitpunkt war der Proband 40 Jahre alt. Die beiden Sprunggelenke wurden mit einer Arthrodese (2013 und 2019) versorgt. Im Jahr 2019 erfolgte eine erneute Vorstellung wegen starker Beschwerden in beiden Ellbogen, beiden Handgelenken und der HWS. Zur besseren Beurteilung wurden Röntgenbilder der betroffenen Gelenke angefertigt. Die Ellbogengelenke zeigten eine Grad IV Arthrose mit vollständiger Gelenkspaltverlegung. Am rechten Handgelenk war eine interkarpale Arthrose auffallend, ebenso eine radiokarpale Gelenkspaltverschmälerung. Zudem waren zystische Umformungen im Os scaphoideum,

capitatum und lunatum erkennbar. Im linken Handgelenk zeigte sich eine beginnende Verschmälerung des Radiocarpalgelenks und ein kompletter Gelenkspaltaufbrauch zwischen dem Mondbein und dem Kopfbein. Deutlich zu sehen war auch eine Arthrose im Daumensattelgelenk und Peritrapezium. Auch die Halswirbelsäule war von dem destruktiven Verschleiß betroffen. Hier sah man eine mehrsegmentale Osteochondrose mit Schwerpunkt auf den Segmenten HWK4/5, 5/6 und 6/7 mit anteriorer und retrospondylärer Spondylose. Der Proband verfügt ebenfalls über einen GdB von 60.

Probandin III.5: (*1968), 57 Jahre, 1.58 m, 56 kg, (Abbildung 9, zweite von rechts, s. S. 34)
Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** siehe Probandin II.2. **Vater:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Geschwister:** s. Probanden III.3, III.4.

Die 36-jährige Probandin stellte sich mit Beschwerden in der rechten Handwurzel und in den beiden Sprunggelenken erstmals in der orthopädischen Praxis (Dr. Markus Wingendorf) vor. Im Nativröntgen wurde im rechten Handgelenk bereits eine deutliche Arthrose der intercarpalen Handgelenkslinie mit zystischen Umformungen der Knochen Os scaphoideum, Os lunatum, Os triquetrum, Os trapezium, Os trapezoideum, Os capitatum und Os hamatum festgestellt. Auch die Sprunggelenke zeigten eine auffallende Gelenkspaltverschmälerung, die über das Altersmaß hinausging. Zu diesem Zeitpunkt fand man jedoch noch keine typischen kalzinotischen Ablagerungen. Die Probandin berichtete, dass die Gelenkschmerzen bereits seit dem 20. Lebensjahr bestünden und ständig an Intensität zunehmen würden. Auch wären immer mehr Gelenke betroffen. Unter anderem seien die Halswirbelsäule, beide Ellenbogen, das linke Handgelenk, die Lendenwirbelsäule und beide Kniegelenke betroffen. Sie klagte über eine Morgensteifigkeit, Schwellungen und Schmerzen. Auch die Beweglichkeit sei enorm eingeschränkt, sodass alltägliche Dinge nur unter starken Schmerzen möglich seien. Nichtsteroidale-Antirheumatika (NSARs) brächten nur eine Linderung, jedoch keine vollständige Schmerzfreiheit.

Knapp sechs Jahre später, im Alter von 42 Jahren, stellte sich die Patientin erneut mit Beschwerden in den Sprunggelenken vor. Sie klagte über eine deutliche Einschränkung der Gehstrecke und der Standbelastungsfähigkeit, sowie über Probleme beim Bergabgehen. Erneute Röntgenbilder bestätigten eine Grad IV Arthrose des Talocruralgelenks mit komplettem Gelenkspaltaufbrauch. Auch das rechte Knie wies eine Grad III Gonarthrose anteromedial auf. Aufgrund der starken Beschwerden wurde die Patientin im Jahr 2009 erstmals in einer rheumatologischen Klinik vorgestellt. Eine Diagnose konnte nicht gestellt werden. Therapeutisch wurden einige Medikamente eingesetzt. Unter anderem MTX und Sulfasalazin. Diese mussten aufgrund von Unwirksamkeit und Unverträglichkeiten abgesetzt

werden. Darüber hinaus wurden Colchicum und der rekombinante IL-1-Rezeptorantagonist Anakinra versucht. Auch diese Therapien mussten wegen einer heftigen lokalen Reaktion vorzeitig beendet werden. Seit 2018 wird die Probandin mit dem monoklonalen Antikörper und Interleukin-Inhibitor Canakinumab in Kombination mit niedrig dosierten Steroiden subkutan therapiert. Allerdings mit mäßigem Erfolg.

Im Alter von 44 Jahren wurde schließlich eine Sprunggelenksendoprothese links implantiert. Ein Jahr später suchte sie erneut die Praxis Dr. Wingendorf auf. Diesmal klagte die Probandin über Schmerzen im rechten Ellenbogen, im rechten Kniegelenk und im rechten Handgelenk. Klinisch zeigte sich ein aufgetriebener Carpus mit Bajonettstellung, druckdolent im Daumensattelgelenk, welches aufgerieben imponierte. Der Ellenbogen zeigte eine Bewegungsfähigkeit von 0–20–105° Extension/Flexion bei freier Pro- und Supination. Die Beinachse des rechten Kniegelenks ist varisch bei 0–5–130° Extension/Flexion mit deutlichem retropatellarem Reiben. Es wurden Röntgenbilder der betroffenen Gelenke angefertigt. Das rechte Kniegelenk zeigte eine Grad IV Femoropatellararthrose. Im lateralen Gelenkflächenfeld sah man zartsklerotische Ablagerungen, wo der Außenmeniskus zu vermuten ist. Das rechte Handgelenk wies eine interkarpale, radiokarpale und peritrapzoide Arthrose, sowie eine Arthrose des Daumensattelgelenks mit zystischen Umformungen der Gelenkpartner und einer vermehrten Sklerosierung der Gelenkflächen auf. Auch der rechte Ellenbogen wies eine fortgeschrittene Arthrose mit zystischen Veränderungen auf. Die Probandin stellte sich aufgrund der starken Schmerzen in den verschiedenen Gelenken und der damit verbundenen körperlichen Beeinträchtigungen immer wieder vor. Im Jahr 2015, im Alter von 46 Jahren, wurde eine Arthroskopie mit Probenentnahme, Teilsynovektomie und Arthrolyse des rechten Ellenbogens durchgeführt. Bei der histologischen Begutachtung der entnommenen Proben wurden Calciumpyrophosphatkristalle nachgewiesen. Nur ein Jahr später, im Jahr 2016, wurde eine Sprunggelenksendoprothese rechts implantiert. Zusätzlich wurde eine Umstellungsosteotomie des Mittelfußknochens zur Korrektur durchgeführt. Im selben Jahr beklagte die Probandin Beschwerden in der unteren Lenden- und Halswirbelsäule. Sie gab Schmerzen in der HWS mit Ausstrahlung in beide Arme an. Die Kraft und Ausdauer der Arme war vermindert und auch die Feinmotorik ließ nach. Bei der körperlichen Untersuchung zeigte sich eine betonte thorakale Kyphose. Die HWS-Rotation betrug rechts/links 45°/45°, die Seitneigung 10°/10°. Beim Durchbewegen der HWS war ein massives Reiben zu verzeichnen, es lagen jedoch keine Kraftleistungsstörungen und keine koordinativen Störungen der oberen Extremitäten vor. Es bestand eine Druckdolenz über beide Iliosakralgelenken (ISG) und im lumbosacralen Übergang. Die Hüftinnenrotation betrug 20° und die Außenrotation 60°. Aufgrund der glaubhaften Beschwerden wurden von den betroffenen Regionen Röntgenbilder angefertigt.

Bei der Halswirbelsäule wurde eine Anterolisthese HWK 3/4 mit Verdacht auf degenerative Instabilität sowie eine Osteochondrose HWK 4/5 und 5/6 diagnostiziert. Zudem wurde eine Retrolisthese HWK 5/6 festgestellt. Bei der Lendenwirbelsäule wurde eine Anterolisthese L5/S1 mit degenerativen Veränderungen der vier untersten Facettengelenke diagnostiziert. Die ISG wirkten im proximalen Anteil verdichtet. Die Hüftgelenke waren angesichts der Vorgeschichte und der starken Schädigung der anderen Gelenke erstaunlich gut erhalten. Zur weiteren Abklärung wurde eine Kernspintomographie (MRT) der HWS angefertigt. Diese bestätigte die fortgeschrittenen degenerativen Veränderungen der Höhen HWK 3–6 mit hochgradiger Spinalstenose, Sanduhrphänomen, zervikaler Myelopathie und Syrinx HWK 5/6.

Aufgrund der progredienten Deformierung der HWS, der zervikalen Myelopathie mit Störung der Feinmotorik und des Gleichgewichts besteht die Indikation zur ventralen Fusion HWK 3–6 mit Verplattung und Dekompression.

Im Jahr 2017, im Alter von 49 Jahren, wurde das rechte Kniegelenk aufgrund einer fortgeschrittenen, varusbetonten Panarthrose mit einer Hemiprothese versorgt.

Im Jahr 2021 beantragte die Probandin eine Rente wegen voller Erwerbsminderung. Zuletzt war sie als kaufmännische Angestellte in einem Betrieb tätig, was ihr jedoch zunehmend schwerfiel. Aus diesem Grund wurden aktuelle Röntgenbilder angefertigt. Dabei zeigte sich im linken Kniegelenk eine Grad IV Gonarthrose mit kompletter Gelenkspaltverlegung. In der lateralen Projektion sah man eine zarte Meniskuskalzinose. Bei zunehmenden Beschwerden ist auch hier eine zeitnahe endoprothetische Maßnahme indiziert. Es lag eine Grad IV Arthrose des linken Ellenbogens vor, die radiohumere und radioulnare Arthrose mit vollständiger Gelenkdeformierung umfasste. Die rechte Hand wies eine Grad III-IV Rhizarthrose sowie eine radiocarpale und mediocarpale Arthrose auf. Seit 2017 bezieht sie bereits eine Teilerwerbsminderungsrente und seit 2011 wurde ihr ein GdB von 50 zuerkannt.

Proband III.6: (*1970), 55 Jahre, 1,60 m

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Vater:** im Stammbaum als leeres Quadrat aufgeführt, da keinerlei Informationen.

Auch Proband III.6 litt seit dem 20. Lebensjahr an multiplen Gelenkbeschwerden. Vor allem zu Beginn waren die Kniegelenke und Füße betroffen. Ein beidseitiger Klumpfuß ist angeboren und wurde im Verlauf operativ versorgt. Mit zunehmendem Alter traten zudem Schmerzen und Bewegungseinschränkungen an den Ellenbogengelenken, Handgelenken und Sprunggelenken auf. Klinisch zeigte sich sowohl an den Kniegelenken als auch an den Sprunggelenken eine deutliche Schwellung und Bewegungseinschränkung. In den

Röntgenbildern war eine Grad IV Arthrose mit vollkommenem Gelenkspaltaufbrauch erkennbar. In der Sonographie zeigte sich ein Erguss in den Knie- und Ellenbogengelenken. Im Jahr 2021 wurde zunächst eine arthroskopische Gelenktoilette durchgeführt. Dabei zeigte sich eine chronische Synovialitis und ein regressiv veränderter hyaliner Knorpel. Der Nachweis von CCP-Kristallen gelang nicht. Aufgrund zunehmender Schmerzen im linken Kniegelenk erfolgte nach erfolgloser konservativer Therapie im Alter von 53 Jahren die Implantation einer vollzementierten bikompartimentellen Oberflächenersatzprothese. Bei zunehmenden Schmerzen in der Halswirbelsäule wurde ein MRT durchgeführt. Dabei wurde eine multisegmentale, hochgradige foraminale Stenose von HWK 2–6 diagnostiziert. Seit 2021 verfügt der Proband über einen GdB von 70.

Probandin IV.1: (*1992), 33 Jahre, 1,60 m, 72 kg, Entwicklungsverzögerung

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Vater:** s. Proband III.4.

Auch bei der Probandin begannen die Gelenkbeschwerden im Alter von 20 Jahren. Vor allem die Kniegelenke sind von der Symptomatik betroffen. Im Nativröntgen des rechten Kniegelenks aus dem Jahr 2020 ist eine komplette mediale Gelenkspaltverlegung mit beginnender Entrundung der lateralen Rolle zu erkennen. Das laterale Gelenkflächenfeld zeigte sich hingegen noch gut erhalten. Die Kniescheibe ist dysplastisch. Im Jahr 2018 wies das linke Kniegelenk eine Grad III-IV varusbetonte und femoropatellare Gonarthrose mit nahezu vollständiger Verlegung des medialen Gelenkflächenfeldes auf. Im Alter von 28 Jahren beklagte die Probandin nun auch Beschwerden in der HWS, die gelegentlich mit Missempfindungen in beiden Händen einhergingen. In der klinischen Untersuchung zeigte sich eine Rotation rechts/links von 70–70°, eine Seitneigung von 20–20°, sowie keine motorischen und sensiblen Störungen. Es wurde ein MRT durchgeführt. Dieses zeigte ein degeneratives Zervikalsyndrom bei MR-nachgewiesener Bandscheibendegeneration, Spondylarthrose von HWK 3–7 und neuroforaminale Enge HWK 5/6. Im Alter von 30 Jahren zeigte das Röntgenbild der linken Hüfte eine Grad IV Koxarthrose und komplett aufgehobenem Gelenkspalt, Sklerosierung in der Hauptbelastungszone, osteophytäre Randanbauten, eine Verformung des Femurkopfes sowie dezente zystische Veränderungen im Femurkopf und in der Gelenkpfanne (Abb. 12, s. S. 44). Aufgrund der starken Schmerzen und Bewegungseinschränkungen erfolgte die Implantation einer Hüfttotalendoprothese links im Alter von 30 Jahren.



Abbildung 13: Beckenübersicht von Probandin IV.1: Grad IV Koxarthrose der linken Hüfte.

Probandin IV.2: (*1997), 27 Jahre, 1,63 m, 56,5 kg

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** siehe Probandin III.5. **Vater:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Geschwister:** s. Probandin IV.3.

Die Gelenkschmerzen begannen bei der Probandin mit 20 Jahren. Momentan ist nur das linke Kniegelenk betroffen. Aufgrund zunehmender Schmerzen und einer leichten Schwellung wurde im Jahr 2022 ein Röntgenbild des Kniegelenks in drei Ebenen angefertigt. Hier zeigte sich der mediale Gelenkspalt etwas reduziert, die Patella dysplastisch mit lang ausgezogener lateraler Facette und steiler medialer Facette. Bislang wurden keine kalzinotischen Ablagerungen festgestellt. Ansonsten gibt sie keinerlei Beschwerden oder Symptome an. Im Jahr 2018 wurde eine Knochendichtemessung in der Uniklinik Köln (Prof. Dr. Schönau) durchgeführt. Dabei wurde unter anderem bei der Messung des Radius ein Calciumpyrophosphatkristall angeschnitten. Die Knochendichte zeigte sich ansonsten als normal bis leicht überdurchschnittlich, insbesondere im Bereich der Wirbelsäule. Es gab keinen Hinweis auf eine Osteopenie oder Osteoporose. Die gemessenen Ergebnisse sprechen für eine intakte Knochenstruktur.

Da bei der Probandin eine genetische Mutation im *TNFRSF11B*-Gen nachgewiesen wurde, muss beobachtet werden, ob im Laufe der Jahre weitere Gelenke von der Chondrokalzinose betroffen sind.

Probandin IV.3: (*2003), 22 Jahre, 1,62 m, 55,5 kg

Eltern: keine Verwandtschaft. **Mutter:** siehe Probandin III.5. **Vater:** nicht im Stammbaum aufgeführt. **Geschwister:** s. Probandin IV.2.

Auch bei der Probandin wurde die für die familiäre Chondrokalzinose verantwortliche Mutation im *TNFRSF11B*-Gen nachgewiesen. Bisher sind bei der Probandin im Rahmen der Erkrankung keine gravierenden Gelenkbeschwerden aufgetreten. Sie ist sportlich sehr aktiv und betreibt Leichtathletik. Auch bei dieser Probandin wurde im Zusammenhang mit der CCAL1 im Jahr 2018 eine Knochendichtemessung durchgeführt. Diese zeigte, ebenso wie bei ihrer Schwester (Probandin IV.2), keine Hinweise auf krankhafte Veränderungen der Knochendichte.

Proband	Geschlecht, Alter (Jahre)	OA mit CPPD	Akute CPP-Arthritis	Chronische Arthritis	betroffene Gelenke ¹	Alter erster Gelenkersatz (Jahre)
II.1	W 63	+	+	+	10	55
II.2	W 82	+	+	+	7	61
III.1	M 63	+	+	+	10	58
III.2	W 56	+	+	+	10	44
III.3	W 63	+	+	+	7	51
III.4	M 59	+	+	+	9	44
III.5	W 57	+	+	+	9	45
III.6	M 55	+	+	+	5	52
IV.1	W 33	+	+	+	5	30
IV.2	W 27	-	-	-	1	0
IV.3	W 22	-	-	-	0	0

Tabelle 2: Klinische Merkmale der Probanden. W, weiblich; M, männlich; OA; Osteoarthrose; CPPDD, CPPDD, Calcium Pyrophosphate Deposition Disease; CPP, calcium pyrophosphat,

¹Kellgren-Lawrence Skala ≥ 3

6 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals eine deutsche Familie mit autosomal-dominant vererbter Chondrokalzinose Typ 1 (CCAL1) beschrieben, bei der eine heterozygote Stop-Loss Mutation NM_002546.5:c.1205A>T;p.(Ter402Leuext*19) im *TNFRSF11B*-Gen identifiziert wurde. Diese Mutation führt zu einer Substitution des physiologischen Stop-Codons in Position 402 durch ein Leucin (Ter402Leuext*19) und verlängert somit das OPG (OPG-XL) über das natürliche Ende hinaus (Mitton-Fitzgerald et al. 2021). Diese Mutation wurde zuvor bereits zweimal in einem nicht-deutschen Kollektiv mit CCAL1 beschrieben (Ramos et al. 2015, Williams et al. 2018).

Die hier vorgestellte Arbeit erweitert somit das geographische Spektrum dieser seltenen Erkrankung und unterstreicht die Relevanz der Position 402 im *TNFRSF11B*-Gen für die Pathogenese von CCAL1.

Die betroffenen Mitglieder unserer Familie zeigten den typischen CCAL1-Phänotyp: eine frühbeginnende Chondrokalzinose mit daraus resultierender schwerer OA mit gleichzeitig positiver Familienanamnese und ohne Nachweis von sekundären Ursachen. Die klinische Präsentation und der bildgebende Nachweis von CCP-Kristallen stimmen mit den zuvor beschriebenen Familien überein. Der Nachweis dieser Mutation bei mehreren betroffenen Familienmitgliedern und ihr Fehlen bei nicht erkrankten Verwandten sprechen für eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation.

Meinem Doktorvater und mir fiel zudem auf, dass die Probanden eine relativ kleine Körpergröße aufwiesen (Pansa et al. 2025). Die mittlere Größe in der Familie lag im Alter von 20 Jahren im 10. Perzentil. Neun von elf Personen hatten im Alter von 20 Jahren eine Körpergröße zwischen dem 1. und dem 21. Perzentil. III.3 und III.4 (Abbildung 8, s. S. 32) hatten eine Körpergröße an der 43. bzw. 69. Perzentil. Die relativ kleine Körpergröße wurde in den zuvor veröffentlichten Studien mit der identischen Mutation nicht erwähnt. Es ist unklar, ob es sich um eine bislang nicht beschriebene, mit der p.*402Leu-Mutation assoziierte Folge der Mutation handelt, oder ob beispielsweise ein familiärer Kleinwuchs vorliegt. Hier müssen künftige Fallberichte zu CCAL1 abgewartet werden.

Funktionelle Daten zu der genannten Mutation deuten auf eine gain-of-function-Mechanismus hin. Die Verlängerung des Proteins am C-Terminus könnte zur Störung der physiologischen Sekretion, zur Aggregation oder zu pathologischen Protein-Protein-Interaktionen führen. Die Studie vom Jahr 2018 konnte zeigen, dass das verlängerte OPG in Zellmodellen unzureichend sekretiert wurde und sich in lysosomalen Kompartimenten anreicherte, was auf eine mögliche Störung der extrazellulären Matrixregulation schließen lässt (Williams et al. 2018).

Eine zusätzliche experimentelle Evidenz liefert eine umfassende Studie aus dem Jahr 2022, in der der funktionelle Effekt der p.Ter402Leuext*19 Mutation (OPG-XL) anhand humaner

induzierter pluripotenter Stammzellen und aus diesen differenzierten Knorpel- und Knochenorganoiden untersucht wurde (Rodriguez et al. 2022). Diese Studie konnte zeigen, dass OPG-XL sowohl eine gesteigerte Verkalkung des Knorpels als auch eine Veränderung der subchondralen Knochenstruktur bewirkt. Diese Effekte wurden durch veränderte Expression von Genen wie Matrix Gla Protein (MGP) und Deiodinase Typ 2 (DIO2) vermittelt, die für Mineralisierung und Differenzierung relevant sind. Dadurch wird ein bidirektionaler Effekt der Mutation auf zwei unterschiedliche Gewebe eindrucksvoll nachgewiesen. Diese Datenlage stützen die Annahme eines neomorphen Mechanismus (qualitativer Funktionsgewinn) und belegen, dass CCAL1 auf einer strukturell veränderten, aber exprimierten Variante von OPG beruht.

Darüber hinaus wurde in einem murinen Modell gezeigt, dass OPG-XL im Vergleich zum Wildtyp-Protein eine deutlich geringere Wirksamkeit in der Hemmung der RANKL-induzierten Osteoklastogenese aufweist. Die reduzierte Bindung an Osteoblasten verstärkt den Effekt zusätzlich, was auf einen partiellen Funktionsverlust in Bezug auf die Wirkung von OPG hinweist (Mitton-Fitzgerald et al. 2021).

Ein bemerkenswerter Befund ergibt sich beim Abgleich mit genetischen Referenzdatenbanken wie zum Beispiel OMIM. Obwohl *TNFRSF11B* dort in erster Linie mit der juvenilen Paget-Erkrankung Typ 5 (PDB5, OMIM #239000) in Verbindung gebracht wird, findet sich keine Nennung der CCAL1 als Krankheitsassoziation. Die juvenile Paget-Erkrankung ist durch eine loss-of-function-Mutation im *TNFRSF11B*-Gen gekennzeichnet, die typischerweise frühere Exons betreffen und zu einem vollständigen Verlust der OPG-Funktion führen (Cundy et al. 2002).

Demgegenüber stehen die bei CCAL1 identifizierten Varianten, einschließlich der hier nachgewiesenen Mutation, am C-terminalen Ende des Gens. Dies führt zu strukturellen Veränderungen des Proteins mit verlängerter Aminosäuresequenz, was auf einen anderen pathophysiologischen Prozess hindeutet.

Diese klare Genotyp-Phänotyp-Differenzierung legt nahe, dass es sich bei PDB5 und CCAL1 um zwei unterschiedliche klinische Entitäten handelt, die durch unterschiedliche *TNFRSF11B*-Mutationen verursacht werden. Während bei PDB5 ein quantitativer Mangel an funktionellem OPG im Vordergrund steht, scheint bei CCAL1 eine qualitative Störung infolge von Protein-Strukturveränderungen mit aberranter Funktion („neomorphic effect“) ursächlich zu sein (Mitton-Fitzgerald et al. 2021).

Die vorliegenden Ergebnisse betonen die Bedeutung differenzierter genetischer Diagnostik bei familiär auftretender Chondrokalzinose und unterstreichen, dass Datenbanken wie OMIM regelmäßig aktualisiert werden sollten, um neuere klinisch-genetische Zusammenhänge abzubilden. Die Aufnahme von CCAL1 als eigenständige *TNFRSF11B*-assoziierte

Erkrankung in Referenzdatenbanken wäre aus klinischer Sicht sinnvoll, um die Diagnostik und die differenzialdiagnostische Einordnung zu erleichtern.

Insgesamt erweitert diese Arbeit das Verständnis der genetischen Grundlage von CCAL1, dokumentiert die p*402Leu-Mutation erstmals in einer deutschen Familie und liefert weitere Evidenz für die pathogenetische Relevanz dieser Region des *TNFRSF11B*-Gens.

Künftige funktionelle Studien sind nötig, um die molekulare Wirkung solcher C-terminaler Mutationen im Detail zu verstehen und mögliche therapeutische Ansatzpunkte zu ermitteln.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird erstmals eine deutsche Familie mit einer autosomal-dominant vererbten Form der Chondrokalzinose Typ 1 (CCAL1) beschrieben. Bei dieser Familie wurde eine *TNFRSF11B*-Mutation (NM_002546.5:c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19)) nachgewiesen, die bereits zweimal in der Literatur molekulargenetisch beschrieben wurde (Ramos et al. 2015, Williams et al. 2018).

Die molekulargenetische Analyse ergab eine Mutation c.1205A>T, die das Stopp-Codon in Position 402 in ein Leucin kodierendes Codon umwandelt („stop-loss“- Mutation, p.*402Leu). Diese Variante führt zu einer Proteinverlängerung über das normale C-Terminal definierte Ende hinaus und wurde in den Jahren 2015 und 2018 bereits beschrieben (Williams et al. 2018, Ramos et al. 2015). Funktionelle Studien sprechen für einen sogenannten neomorphen Effekt: Die verlängerte OPG-Variante (OPG-XL) wird ineffizient sezerniert, aggregiert und führt zu einem gestörten Gleichgewicht in der extrazellulären Matrix des Gelenkknorpels (Rodriguez-Ruiz et al. 2022). Darüber hinaus zeigen neuere Daten, dass OPG-XL sowohl zu einer gesteigerten Knorpelmineralisierung als auch zu pathologischen Umbauprozessen im subchondralen Knochen führt (Rodriguez-Ruiz et al. 2022). Ergänzend weist eine verminderte Funktion von OPG-XL auf eine Hemmung in der Osteoklastogenese hin, was eine Beteiligung des Knochenstoffwechsels zusätzlich nahelegt (Mitton-Fitzgerald et al. 2021).

Die betroffenen Familienmitglieder unserer deutschen Familie zeigten einen für CCAL1 typischen Phänotyp: eine früh einsetzende Chondrokalzinose mit daraus resultierender schwerer Arthrose mit massiven Einschränkungen im täglichen Leben bis hin zur Frührente und Schwerbehinderung mit positiver Familienanamnese, radiologischem Kristallnachweis und Fehlen von sekundären Ursachen. Ein besondere Abbs Merkmal in der Familie stellt die relativ kleine Körpergröße dar. Diese Auffälligkeit wurde in der Fachliteratur bisher nicht beschrieben, sodass weitere Falldaten erforderlich sind, um zu klären, ob es sich um einen Bestandteil dieser Erkrankung handelt oder ob es sich beispielsweise um einen familiären Kleinwuchs handelt.

Mit dieser Arbeit wird die NM_002546.5:c.1205A>T;p.(Ter402Leuext*19) Variante erstmalig in einer deutschen Familie nachgewiesen und damit das internationale Spektrum klinisch und genetisch bestätigter CCAL1-Fälle erweitert. Unsere Ergebnisse untermauern die Vermutung, dass Veränderungen im Bereich des Stop-Codons von der *TNFRSF1B*-Gens funktionelle Konsequenzen für die Proteinkonformation und ebenso -regulation von OPG haben. Die Proteinverlängerung durch „stopp-loss“ könnte zur gestörten Sekretion, veränderter Ligandenbindung oder neuen krankheitsrelevanten Interaktionen führen. Diese Arbeit unterstreicht die Bedeutung genetischer Diagnostik bei familiärer Chondrokalzinose und liefert einen Beitrag zum Verständnis der molekularen Pathogenese von CCAL1. Weitere funktionelle Studien zur genauen Wirkung der hier beschriebenen Mutation auf die OPG-Aktivität sind nötig, um mögliche therapeutische Konsequenzen abzuleiten.

8 Literaturverzeichnis

Abhishek, A. (2016): Calcium pyrophosphate deposition disease: a review of epidemiologic findings. *Curr Opin Rheumatol*; 28:133–139.

Announ, N. & Guerne, P.A. (2007): Diagnosis, and treatment of calcium pyrophosphate crystal-induced arthropathy. *Rheumatol*; 66(7):573–574, 576–578.

Asshoff, H., Böhm, P., Schoen, E. & Schörholz, K. (1966): Hereditäre Chondrocalcinosis Articularis. Untersuchung einer Familie. *Hum. Genet.* 3:98–103.

Baldwin, C.T., Farrer, L.A., Adair, R., Dharmavaram, R., Jimenez, S. & Anderson, L. (1995): Linkage of early-onset osteoarthritis and chondrocalcinosis to human chromosome 8q. *Am J Hum Genet*; 56:692–697.

Bengtsson, A.K. & Ryan, E.J. (2002): Immune function of the decoy receptor osteoprotegerin. *Crit Rev Immunol* ;22(3):201–215.

Bjelle, A., Nordström & Hagstam, A. (1982): Hereditary pyrophosphate arthropathy (familial articular chondrocalcinosis) in Sweden. *Clin Genet*; 21(3):174–180.

Bucay, N, Sarosi, I, Dunstan, C.R., et al. (1998): Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*; 12:1260–1268.

Chollet-Janin, A., Finckh, A., Dudler, J. & Guerne, P.A. (2007): Methotrexate as an alternative therapy for chronic calcium pyrophosphate deposition disease: an exploratory analysis. *Arthritis Rheum*; 56:688–692.

Couto, A.R. & Brown, M.A. (2007): Genetic factors in the pathogenesis of CPPD crystal deposition disease. *Curr Rheumatol Rep*; 9:231–236.

Cundy, T., Hegde, M., Naot, D., et al. (2002): A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet*; 21:19–27.

Derfus, B., Kranendonk, S., Camacho, N., et al. (1998): Human osteoarthritic cartilage matrix vesicles generate both calcium pyrophosphate dihydrate and apatite in vitro. *Calcif Tissue Int.*; 63:258–262.

Dieppe, P.A., Alexander, G.J., Jones, H.E., et al. (1982): Pyrophosphate arthropathy: a clinical and radiological study of 105 cases. *Ann Rheum Dis*; 371–376.

Doherty, M. & Dieppe, P. (1986): Crystal deposition disease in the elderly. *Clin Rheum Dis*; 12:97–116.

Eshel, G., Gulik, A., Halperin, N., et al. (1990): Hereditary chondrocalcinosis in an Ashkenazi Jewish family. *Ann Rheum Dis*; 49:529–530.

Frediani, B., Filippou, G., Falsetti, P., et al. (2005): Diagnosis of calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease: ultrasonographic criteria proposed. *Ann Rheum Dis*; 64:638–640.

Gaucher, A., Pourel, J., Faure, G., Netter, .P, Peterschmitt, J., Cromer R. (1977): Les chondrocalcinosis articulaires diffuses hereditaires. *Rev Rhum* 44: 589–597.

Gaudreau, A., Camerlain, M., Pibarot, M.L., Beaugard, G., Lebrun, A. & Petitclerc, C. (1981): Familial articular chondrocalcinosis in Quebec. *Arthritis Rheum.* 24, 611–615.

Geelhoed, G.W. & Kelly, T.R. (1989): Pseudogout as a clue and complication in primary hyperparathyroidism. *Surgery*; 106:1036–1042.

Hamza, M., Meddeb, N., Bardin, T. (1992): Hereditary chondrocalcinosis in a Tunisian family. *Clin Exp Rheumatol*; 10(1):43–9.

Ho, A.M., Johnson, M.D., Kingsley, D.M. (2000): Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science*; 289(5477):265–270.

Kohn, N.N., Hughes, R.E., McCarty, D.Jr.& Faires, J.S. (1962): The significance of calcium phosphate crystals in the synovial fluid of arthritic patients: the “pseudogout syndrome.” II. Identification of crystals. *Ann Intern Med*; 56:738–745.

Landewe, R.B., Gunther, K.P., Lukas, C., et al. (2010): EULAR/EFORT Recommendations for the diagnosis and initial management of patients with acute or recent onset swelling of the knee. *Ann Rheum Dis*; 69:12–19.

Lee, S.Y. & Müller, C.E. (2017): Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 (NPP1) and its inhibitors. *Medchemcomm*; 8:823–840.

Löffler, C., Sattler, H., Peters, L., Löffler, U., Uppenkamp, M. & Bergner, R. (2015): Distinguishing gouty arthritis from calcium pyrophosphate disease and other arthritides. *J Rheumatol*; 42: 513–520.

Mazzoni, D., Xiao, Y., Loch-Wilkinson & Stephens, S. (2021): Calcium pyrophosphate deposition disease of the spine mimicking septic arthritis. *Intern Med J*; 51(8):1357–1358.

McCarthy, G. (2008): Calcium phosphate dihydrate, hydroxyapatite, and miscellaneous crystals. In: Klippel, J.H., Sone, J.H., Crofford, L.J. & White, P.H. (eds): *Primer on the Rheumatic Diseases*. 13th ed. Berlin: Springer, S. 263–270.

Millán, J.L. & Plotkin, H. (2012): Hypophosphatasia - pathophysiology and treatment. *Actual osteol*; 8:164–182.

Mitroulis, I., Skendros, P. & Ritis, K. (2010): Targeting IL-1beta in disease; the expanding role of NLRP3 inflammasome. *Eur J Intern Med*; 21:157–163.

Mitton-Fitzgerald, E., Gohr, C.M., Bettendorf, B. & Rosenthal, A.K. (2016): The Role of ANK in calcium pyrophosphate deposition disease. *Curr Rheumatol Rep*; 18(5):25.

Mitton-Fitzgerald, E., Gohr, C.M., Williams, C.J., Ortiz, A., Mbalaviele, G. & Rosenthal, A.K. (2021): Effects of the TNFRSF11B mutation associated with calcium pyrophosphate deposition disease in osteoclastogenesis in a murine model. *Arthritis Rheumatol*; 73:1543–1549.

Morinaga, T., Nakagawa, N., Yasuda, H., Tsuda, E. & Higashio, K. (1998): Cloning and characterization of the gene encoding human osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor. *Europ J Biochem*, 254: 685–691.

Moskowitz, R.W & Katz, D. (1964): Chondrocalcinosis (Pseudogout syndrome). A familial study. *J. Amer. med. Ass.* 188, 867–871.

Pascual, E. & Jovani, V. (2005): Synovial fluid analysis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*; 19:371–386.

Pendleton, A., Johnson, M.D., Hughes, A., et al. (2002): Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. *Am J Hum Genet*; 71:933–940.

Stuart, H.R. , Langston, A.L. & Reid, I.R. (2008): Pathogenesis and management of Paget's disease of bone. *Lancet*; 372(9633):155–163.

Ramos, Y., Bos, S.D., van der Breggen, R., et al. (2015): A gain-of function mutation in TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes osteoarthritis with chondrocalcinosis. *Osteoarthritis Cartilage*; 23(12):2133–2139.

Reginato, M.A., Valenzuela, F.R., Maartinéz, V.C., Passano, G.M. & Daza, S.K. (1970): Polyarticular and familial chondrocalcinosis. *Arthritis Rheum.* 13, 197–213.

Richette, P., Bardin, T. & Doherty, M. (2009): An update on the epidemiology of calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *Rheumatology (Oxford)*; 48(7):711–715.

Rodriguez-Ruiz, A., van Hoolwerff, M., Sprangers, S. & Meulenbelt, I. (2022): Mutation in the CCAL1 locus accounts for bidirectional process of human subchondral bone turnover and cartilage mineralization. *Rheumatology (Oxford)*;62(1):360–372.

Rodriguez-Valverde, V., Tinture, T., Zuniga, M., Pena, J. & Gonzales, A. (1980): Familial chondrocalcinosis. *Arthritis Rheum.*; 23,471–478.

Rosenthal, A., Ryan, L.M. & McCarty, D.J. (2005): Calcium pyrophosphate deposition disease, pseudogout, and articular chondrocalcinosis. In: Koopman, W.J. & Moreland, L.W. (eds): **Arthritis and Allied Conditions**. 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, S. 27.

Rosenthal, A.K., Gohr, C.M., Mitton-Fitzgerald, E., Lutz, M.K., Dubyak, G.R. & Ryan, L.M. (2013): The progressive ankylosis gene product ANK regulates extracellular ATP levels in primary articular chondrocytes. *Arthritis Res Ther* 15:(5): R154.

Rosenthal, A.K. & Ryan, L.M. (2016): Calcium pyrophosphate deposition disease. *New Engl J Med*; 374:2575–2584.

Ruiz, A.R., Tuerlings, M., Das, A., et al. (2022): The role of TNFRSF11B in development of osteoarthritic cartilage. *Rheumatology (Oxford)*; 61(2):856–864.

Ryan, L. & McCarty, D. (1985): Calcium pyro-phosphate crystal deposition disease; pseudogout; articular chondrocalcinosis. In: McCarty D, (eds): *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology*. 10th ed Philadelphia: Lea & Febiger, S. 1515–1546.

Ryan, L.M., Kurup, I.V. & Cheung, H.S. (2003): Metabolism of extracellular pyrophosphate. *Curr Opin Rheumatol*; 15(3): 315–320.

Schlesinger, N. (2006): Response to application of ice may help differentiate between gouty arthritis and other inflammatory arthritides. *J Clin Rheumatol*; 12:275–276.

Schlesinger, N., Detry, M.A., Holland, B.K., et al. (2002): Local ice therapy during bouts of acute gouty arthritis. *J Rheumatol*; 29:331–334.

Simonet, W.S., Lacey, D.L., Dunstan, C.R., et al. (1997): Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*; 89: 309–319.

Stücker, S., Bollmann, M., Garbers, C. & Bertrand, J. (2021): The role of calcium crystals and their effect on osteoarthritis pathogenesis. *J Best Pract Res Clin Rheumatol*; 35(4):101722.

Tavil, A.S. (2001): American Association for the Study of Liver Diseases; American College of Gastroenterology; American Gastroenterological Association. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology*; 33:1321–1328.

Tomoyasu, A., Goto, M., Fujise, N., Mochizuki, S, Yasuda, H., Morinaga, T., Tsuda, E. & Higashio, K. (1998): Characterization of monomeric and homodimeric forms of osteoclastogenesis inhibitory factor. *Biochem Biophys Res Commun*;245(2):382–387.

Tristan, P., Filippou, G., Lioté, F., Sirotti, S., Jauffret, C., Abhishek Abhishek, A. (2024): Calcium pyrophosphate deposition disease. *Lancet Rheumatol*;6(11):791–780.

Van der Korst, J.K., Geerards, J., Driessens F.C.M. (1974): A hereditary type of idiopathic articular chondrocalcinosis: survey of a pedigree. *Am J Med* 56:307–314.

Walker, J., Doherty, M. & Bijlsma, J.W. (2021): Diagnosis and treatment of calcium pyrophosphate deposition (CPPD) disease. *Rheumatology*; 13:255–271.

Werwath, K. (1928): Abnorme Kalkablagerungen innerhalb des Kniegelenkes, ein Beitrag zur Frage der primären “Meniskopathie”. *Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen*, 37, 169–171.

Williams, C.J., Zhang, Y., Timms, A., et al. (2002): Autosomal dominant familial calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease is caused by mutation in the transmembrane protein ANKH. *American Journal of Human Genetics*; 71(4):985–991.

Williams, C.J., Qazi, U., Bernstein, M., et al. (2018): Mutations in osteoprotegerin account for the CCAL1 locus in calcium pyrophosphate deposition disease. *Osteoarthritis Cartilage*; 26:797–806.

Williams, C. & Rosenthal, A. (2021): Pathogenesis of calcium pyrophosphate deposition disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol*; 35(4):1017.

Yamaguchi, K., Kinoshita, M., Goto, M., et al. (1998): Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. *J Biol Chem*; 273(9):5117–5123.

Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., et al. (1998): Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*; 39:1329–1337.

Zamora, N. & Naik, R. (2023): Calcium Pyrophosphate Deposition Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540151/>

Zhang, W., Doherty, M., Pascual, E., et al. (2006): EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. EULAR evidence based recommendations for gout. Part I: Diagnosis. Report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*; 65(10):1301–1311.

Zhang, W., Doherty, M., Bardin, T., et al. (2011): European League Against Rheumatism recommendations for calcium pyrophosphate deposition. Part I: terminology and diagnosis. *Ann Rheum Dis*; 70:563–570.

Zhang, W., Doherty, M., Pascual, E., et al. (2011): EULAR recommendations for calcium pyrophosphate deposition. Part II: Management. *Annals of the Rheumatic Diseases*; 70:571–575.

Zitnan, D. & S. Sitaj (1963): Chondrocalcinosis articularis. Section I. Clinical and radiological study. *Ann. Rheum. Dis.* 22, 142–152.

9 Artikel in “American Journal of Medicine Genetics, Part A”

Auf den folgenden Seiten findet sich der im Rahmen dieser Dissertation verfasste und im „American Journal of Medicine Genetics, Part A“ publizierte Artikel. Dieser wurde nach zweimaliger Revision am 03.07.2025 angenommen.

ORIGINAL ARTICLE 

Further Evidence That Chondrocalcinosis 1 (CCAL1) is a Confirmed Mendelian Phenotype With a Known Molecular Basis

 Anna-Christina Pansa¹  | Mareike Selig¹ | Markus Wingendorf² | Matthew A. Brown^{3,4}  | Oliver Bartsch⁵ 

¹Institute of Human Genetics, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz, Mainz, Germany | ²Orthopedic Medical Practice, Kirchen/Sieg, Germany | ³Department of Medical and Molecular Genetics, Faculty of Life Sciences and Medicine, King's College London, London, UK | ⁴Genomics England, London, UK | ⁵Department of Human Genetics, Medical Care Center, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University Mainz, Mainz, Germany

Correspondence: Oliver Bartsch (oliver.bartsch@mvz.unimedizin-mainz.de)

Received: 18 March 2025 | **Revised:** 17 June 2025 | **Accepted:** 3 July 2025

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Keywords: c.1205A>T | calcium pyrophosphate dehydrate deposition disease | CCAL1 | chondrocalcinosis 1 | CPPDD | osteoarthritis | osteoprotegerin | *TNFRSF11B*

ABSTRACT

Chondrocalcinosis (CCAL), also known as calcium pyrophosphate dihydrate deposition disease (CPPDD), is a frequent multifactorial condition in the elderly, but there are two rare autosomal dominant Mendelian forms, CCAL1 (OMIM %600668) and CCAL2. Only three families with molecularly proven CCAL1 have been reported. Here, we describe an additional family from Germany (12 individuals, nine living) with CPPDD manifesting in the third decade of life, presenting with severe spinal problems and variable levels of disability, only two of them with hip problems. The mildly impaired growth in this family (median height at age 20: 10th percentile) may represent an as yet undescribed sign of CCAL1, or alternatively familial short stature. In all documented families and in this family, the disorder resulted from the recurrent heterozygous stop-loss variant NM_002546.4:c.1205A>T; p.(Ter402Leuext*19) in *TNFRSF11B* on chromosome 8q24, which predicts an extended osteoprotegerin protein with 19 additional amino acid residues. The pathomechanism of CCAL1 is not known. Biallelic *TNFRSF11B* loss-of-function variants cause autosomal recessive juvenile Paget's disease of bone (PDB5); shared features between CCAL1 and PDB5 include demineralization, osteoporosis, increased fractures, and a progressive height loss with age, but PDB5 and CCAL1 have very different phenotypes and heterozygous carriers of PDB5-associated variants are asymptomatic. Summing up, NM_002546.4:c.1205A>T represents a rare type of stop-lost variant, likely a gain-of-function variant, and to date no other variant is known to cause CCAL1. Our findings expand the phenotypic spectrum of CCAL1 and underscore that CCAL1 is a distinct rare Mendelian disorder for which the underlying molecular basis is now known.

1 | Introduction

Calcium pyrophosphate crystal deposition disease (CPPDD) is a frequent crystal-induced arthropathy characterized by calcium pyrophosphate crystal deposition (CPPD) in joints and

soft tissues, leading to inflammation and joint destruction (Rosenthal and Ryan 2016). CPPDD phenotypes include asymptomatic CPPD, CPPD with osteoarthritis, chronic inflammatory CPP crystal arthritis, and acute CPP crystal arthritis (also known as pseudogout) (Zhang et al. 2011). Diagnosis is based

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2025 The Author(s). *American Journal of Medical Genetics Part A* published by Wiley Periodicals LLC.

on clinical and/or radiological findings and the definitive diagnosis of CPPDD should include the microscopic detection of CPP crystals in the synovial fluid (Hollander et al. 1961; Zhang et al. 2011).

CPPDD is extremely common in older age and is idiopathic in most cases; it is associated with aging, osteoarthritis, gout, endocrine disorders, for example, hyperparathyroidism, genetic disorders such as haemochromatosis, and multifactorial familial predisposition (Doherty and Dieppe 1986; Ryan and McCarty 1997). In contrast, autosomal dominant CPPDD manifesting already in the third or fourth decade of life is very rare. Genetic studies have linked two chromosomal regions to the rare autosomal dominant familial forms of early-onset CPPDD, CCAL1 (OMIM #600668) on chromosome 8 and CCAL2 (OMIM #118600) on chromosome 5 (Baldwin et al. 1995; Hughes et al. 1995; Andrew et al. 1999). CCAL2 was found to be caused by various autosomal dominant mutations of the ANKH gene on chromosome 5p15, which increase pyrophosphate levels in the extracellular matrix and thus CPP crystal formation in the joints (Pendleton et al. 2002; Williams et al. 2002). The molecular basis of CCAL1 is less well understood. Only three molecularly proven CCAL1 families have been reported to date: an Israeli family first described in 1990 (Eshel et al. 1990) and revisited in 2018 (Williams et al. 2018), a family from the Netherlands (Ramos et al. 2015), and a US family of German-Italian ancestry from Long Island, NY (Williams et al. 2018). The families all presented a heterozygous c.1205A>T stop-loss (read-through) variant in *TNFRSF11B* (the gene encoding osteoprotegerin, OPG), predicting an abnormal OPG protein extended by 19 amino acid residues; p.(Ter402Leuext*19). The mutant protein was named OPG-XL (termination codon "X" replaced by leucine, "L"), and murine *in vitro* studies showed that in osteoclast formation assays, synthetic OPG-XL behaves as a loss of function protein (Mitton-Fitzgerald et al. 2021). The pathomechanism of CCAL1 in man is still unknown.

Here, we describe a four-generation family totaling 12 individuals (nine alive, three deceased) from Rhineland-Palatinate, Germany, with early-onset CPPDD and the heterozygous c.1205A>T variant in *TNFRSF11B*, indicating a proven diagnosis of CCAL1. We provide detailed clinical, radiological, and microscopic findings and show that the variant occurred on an allele with genetic polymorphisms identical to the Long Island family and different from the Israeli family. We propose that CCAL1 is a distinct, rare, and likely underdiagnosed Mendelian disorder for which the underlying molecular basis is now known.

2 | Subjects and Methods

2.1 | Ethical Considerations

All procedures were conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and all living subjects in this study (II.2, III.1–3, III.4–6, and IV.1–3) provided written consent to participation according to the ethical approval of the University Medical Centre of the Johannes Gutenberg University Mainz. Furthermore, III.2 provided consent for her deceased mother (II.2) and grandfather (I.1).

2.2 | Subjects, Data Sources, and Methods

The four-generation family (pedigree, Figure 1A) originated from the Westerwald region of Rhineland-Palatinate, Germany, and has been known to us since 1999. Over the course of 22 years, we studied 12 affected individuals (eight females, four males; age at diagnosis 18–82 years, median age at diagnosis 49 years excluding the deceased subjects I.1 and II.1). In addition to these individuals, the pedigree included 11 family members who had not been available for study (Figure 1A: unnumbered diamond-shaped symbols); of these, four were allegedly affected (striped diamonds) and seven were allegedly unaffected (white diamonds) based on reports from studied subjects. These 11 family members were no part of this study, they were not seen by us, no genetic testing was done, and no data were available.

All subjects studied by us were diagnosed in the medical practice of M.W. The deceased great-grandfather (I.1) was diagnosed based on narratives of III.2 and III.5; his daughters II.1 and II.2 were diagnosed based on medical records and radiographs provided by their respective daughters (III.2 and III.5), and III.3 lived elsewhere and had requested diagnosis based on telephone interviews, medical records, and x-rays. The remaining subjects (III.1–2, III.4–6, and IV.1–3) were patients in the medical practice of M.W. Medical reports obtained in the medical practice included clinical, sonographical, radiological, and microscopic findings, and the subjects provided additional reports and data. Joint range of motion was measured using the neutral position method. Joint radiographs were obtained in two or three planes (knee: anterior–posterior, lateral, and patella tangential) and osteoarthritis (OA) was evaluated using the Kellgren-Lawrence (K/L) score (0: no OA, 1: doubtful OA, 2: minimal OA, 3: moderate OA, and 4: severe OA).

2.3 | Molecular Genetic Analysis and SNP Genotyping

Eight subjects (III.1–2, III.4–6, and IV.1–3) were available for molecular studies. The c.1205A>T variant in exon 5 of the *TNFRSF11B* gene (NM_002546.4, hg19) was first identified by one of us (M.A.B.) at the Australian Translational Genomics Centre in Queensland, Australia, in a genome-wide scientific study of blood DNA from subjects III.2, III.5, IV.2, and IV.3. Thereafter, we confirmed the findings at the Medical Care Center of the Johannes Gutenberg University Mainz, Germany, using genomic DNA from peripheral blood of subjects III.1–2, III.4–6, and IV.1–3 and Sanger sequencing with a CEQ Genetic Analysis System (Beckmann Coulter, Brea, CA).

To study the genetic background of the affected alleles in the family, we performed SNP genotyping using polymorphic markers rs2073618, rs1564858, rs10554146, and rs2228568 as described elsewhere for two other CCAL1 families (Williams et al. 2018).

2.4 | Statistical Analysis

Medians and percentages of the outcomes were calculated, but means, standard deviations, and comparative statistical tests were not used due to the small sample size.

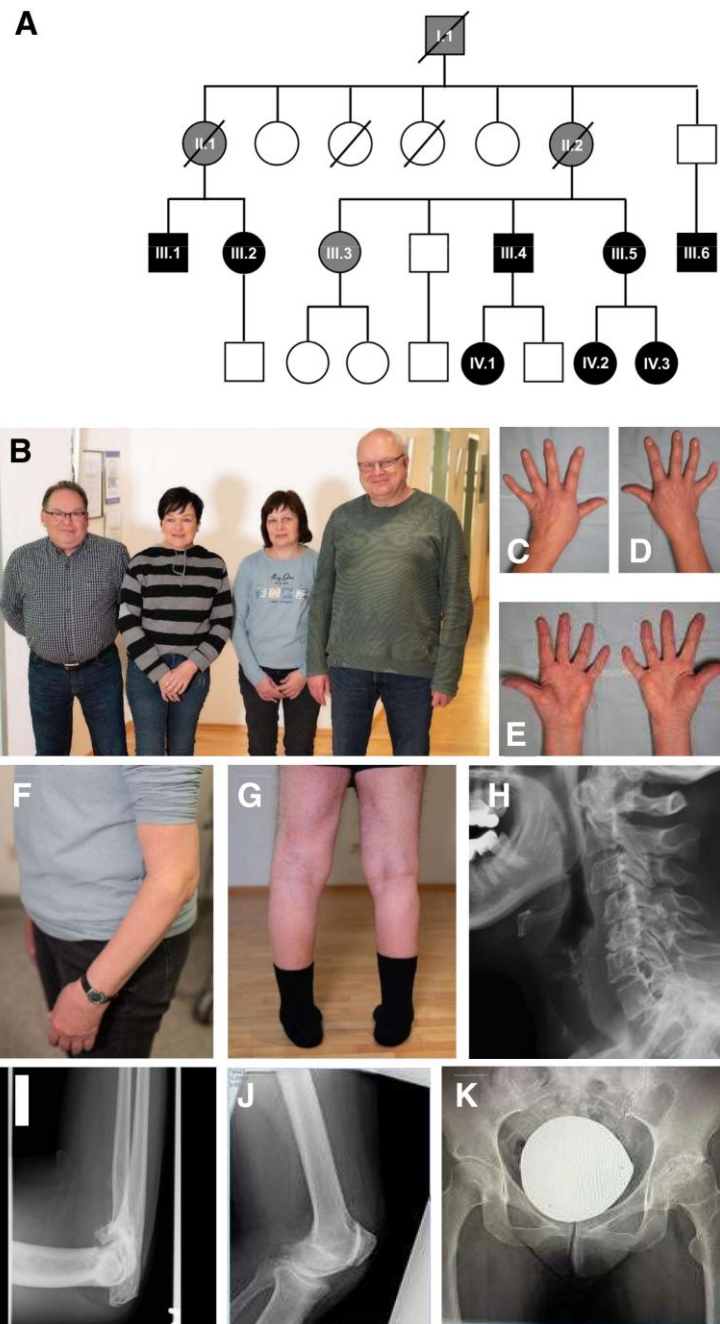


FIGURE 1 | Legend on next page.

FIGURE 1 | Family with early onset osteoarthritis and chondrocalcinosis. (A) Pedigree of the family: Black symbols ($n=8$) represent individuals with a clinical and molecular diagnosis of CCAL1 (genotype: *TNFRSF11B* c.1205A>T wt/mut) and gray symbols ($n=4$) represent individuals with a clinical diagnosis of CCAL1 only. In addition, the pedigree shows 11 family members who had been not available for study (blank circles and squares); the phenotype was not evaluated for these individuals. (B) Group photograph of family members: III.1 aged 61 years, III.2 aged 54 years, III.5 aged 54 years, and III.4 aged 56 years. Note the relatively short stature in almost all affected individuals, except for III.4 (C, D, E). Subject III.2 at the age of 53, dorsal and palmar views of the hands show doughy swellings over MCP joints II and III and fingers 2–5, and hyperextension and swelling of the metacarpophalangeal joint of the thumb, which is a clinical sign of rhizarthrosis. (F) Subject III.5, lateral view of the left elbow at the age of 54, indicating limitation of motion and extension deficit. (G) Subject III.1, dorsal view of the legs at the age of 60, note genu varum and massive instability of the left ankle joint. (H) Radiograph of III.5, lateral view of the cervical spine at the age of 56, note multisegmental osteochondrosis of C3–6, loss of cervical lordosis, degenerative kyphosis with anterolisthesis, C3/4 instability, and facet joint arthrosis of C4/5 and C5/6. (I) Radiograph of III.1, lateral view of the right elbow at the age of 54, note severe arthrosis of the humeroulnar and humeroradial joints. (J) Radiograph of III.1, lateral view of the left knee at the age of 56, note severe gonarthrosis, with marked calcification of the articular cartilage and suprapatellar recess (indicated by arrow). (K) X-ray of the pelvis of IV.3 showing severe coxarthrosis on the left side.

3 | Results

3.1 | Clinical Findings

Clinical data of all symptomatic and pre-symptomatic (IV.2–3) family members are summarized in Table 1. Subjects III.1–2, III.4–6, and IV.1 presented with severe early-onset chronic and acute arthritis manifesting between age 20 and 30 years and mostly affecting the knees, ankles, elbows, cervical spine, and wrists. All showed early-onset OA and joint calcifications (CPPD) by physical examination, sonography, and radiography. Subjects III.1, III.2, III.5, III.6, and IV.1 were additionally examined by magnetic resonance imaging (MRI), and III.2 and III.5 also by computed tomography (CT). The diagnosis of CPPDD was proven by microscopic detection of CPP crystals in synovial fluid obtained during synovectomy for inflammatory arthritis of III.5 (right elbow) and III.1 (right knee). The other subjects had multiple acute episodes of acute joint inflammation but no synovectomy. Figure 1B depicts four subjects with severe joint destructions (from left to right: siblings III.1 and III.2, and siblings III.5 and III.4; aged 61, 54, 53, and 55 years, respectively); subject III.3 was similarly affected but lived elsewhere and was not available for Figure 1B, and III.6 had not yet been diagnosed. Figure 1C–K shows clinical and radiographic findings.

Previous reports have associated CCAL1 also with arthritis of the hips (Eshel et al. 1990; Baldwin et al. 1995; Ramos et al. 2015). In the five most seriously affected subjects of this family, evaluation of the hip joints using the Kellgren scale showed severe OA of the hips (K/L grade 4) in only two subjects (III.3 and IV.1), requiring artificial joint replacement at ages 52 and 30 years, respectively. Subjects III.1, III.2, and III.5 (aged 56, 52, and 48 years at radiography) demonstrated no or only doubtful OA of the hip joints (K/L grade 0–1).

The degree of disability (Grad der Behinderung, GdB, by German social welfare law) reflects the deterioration in a person's health and the loss of independence in daily activities. GdB scores range from 20 (mildly disabled) to 100 (most severely disabled), and GdB ≥ 50 signifies severe disability by law. In this family, severe disability was acknowledged at a median age of 47 years (range: 30–53 years). Subjects II.2, III.2, and III.5 retired at ages 50, 51, and 52 years, respectively, while III.1 and III.3 could work beyond age 60 in office jobs.

None of the affecteds had additional rheumatic or endocrine disorders. Comorbidity included cancer at old age in two subjects: In II.1, a melanoma of the right eye was diagnosed at age 61 years and treated by surgery; she died 2 years later of liver metastases. II.2 was diagnosed at age 68 years with a hormone receptor-positive breast cancer, was successfully treated with mastectomy and tamoxifen, and died aged 81 years of Covid-19.

The available subjects over the age of 50 were approximately 6–7 cm shorter than they had been as young adults, showing a marked decline in height (Figure 1, Table 1). Interestingly, with the exception of III.4, all subjects with recorded height data (generations II–IV) had always been of relatively short stature (below the 50th percentile for age); the median height in the family at age 20 years was at the 10th percentile (Table 1). Nine out of 11 subjects had a height between the 1st and 21st percentile at age 20, and III.3 and III.4 had heights at the 43rd and 69th percentiles, respectively. We do not know whether the short height is due to the disorder or reflects familial short stature.

3.2 | DNA Sequencing, gnomAD Data, and SNP Genotyping of *TNFRSF11B*

Molecular analysis of subjects III.1, III.2, III.4–6, and IV.1–3 was performed in 2016–2021 and revealed a heterozygous variant NM_002546.4:c.1205A>T p.(Ter402Leuext*19) in *TNFRSF11B* (Figure 2A), which had been previously reported in CCAL1 (Ramos et al. 2015; Williams et al. 2018). In the relevant databases, the alteration was initially classified as a “variant of uncertain significance” (ACMG classification, American College of Medical Genetics and Genomics), but meanwhile this was changed to “pathogenic.” At the protein level, the variant predicts a read-through mutation of the termination codon (Ter402Leu), with an exchange at position 402 of the stop codon to a leucine amino acid (aa) residue and a protein elongation of 19 aa residues. The wild-type OPG comprises 401 aa, and the mutant OPG-XL molecule spans 420 aa.

GnomAD (v4.1.0, searched March 18, 2025) indicated a germline classification of the c.1205A>T variant as pathogenic (single submitter) and an allele frequency of 4 in 1,614,162 (2.48e–6), with zero homozygotes, which would indicate a frequency in the population of 1:201,770 individuals. GnomAD (2025) lists two neighboring variants altering the *TNFRSF11B* stop codon,

TABLE 1 | Clinical findings in the probands.

Proband	Gender and age (years) when last seen	OA with CPPDD	Acute CPP crystal arthritis	Chronic inflammatory arthritis	Number of affected joints ^a	Age (years) at first joint replacement	Number of artificial joints	Height (cm) and percentile at age 18–20, taken from identity card	Age, height (cm) and percentile when last measured	Comments
I.1	M 65	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	n.k.	Born in Molzhain, Westerwald, Rhineland-Palatinate, Germany, in 1899. Died at the age of 65.
II.1	F 63	+	+	+	10	55	1	160 (10th)	n.k.	Bilateral rhizarthrosis and arthrosis of MCP II + III and DIP IV, died aged 63 from metastatic melanoma of the right eye.
II.2	F 82	+	+	+	7	61	1	158 (6th)	n.k.	Died aged 82 from COVID-19.
III.1	M 62	+	+	+	10	58	1	164 (1st)	61 years 158 (1st)	Ventral spondylolysis C3-Th1 at age 57, right knee replacement at age 58.
III.2	F 55	+	+	+	10	44	3	160 (10th)	54 years 153 (1st)	Arthrosis of DIP II-V on the left, surgery by dorsal spondylolysis of L4-L5 at 41 and of C2-Th3 at 51.
III.3	F 61	+	+	+	7	51	1	167 (43th)	n.k.	Bilateral arthrosis of DIP II + III, left hip replacement at age 52.

(Continues)

TABLE 1 | (Continued)

Proband	Gender and age (years) when last seen	OA with CPPDD	Acute CPP crystal arthritis	Chronic inflammatory arthritis	Number of affected joints ^a	Age (years) at first joint replacement	Number of artificial joints	Height (cm) and percentile at age 18–20, taken from identity card	Age, height (cm) and percentile when last measured	Comments
III.4	M 58	+	+	+	9	44	2	184 (69th)	56 years 177 (69th)	Left ankle arthrodesis at age 47 and right ankle arthrodesis at age 53.
III.5	F 55	+	+	+	9	45	4	162 (17th)	54 years 155 (2nd)	Spinal canal stenosis C3–C6 awaiting surgery. Condition after bilateral ankle arthroplasty aged 44 and 47 and partial right knee arthroplasty aged 48.
III.6	M 53	+	+	+	5	52	1	160 (< 1st)	n.k.	Massive degenerative deformity C1–C7, left knee replacement aged 53. Incidental finding: Congenital clubfoot.
IV.1	F 32	+	+	+	5	30	1	160 (10th)	n.k.	First symptoms at age 20, bilateral severe coxarthrosis and gonarthrosis, hip replacement at age 30.
IV.2	F 26	–	–	–	1	0	0	163 (21st)	n.k.	Knee problems from the age of 20.
IV.3	F 21	–	–	–	0	0	0	162 (17th)	n.k.	Diagnosed by presymptomatic genetic testing, no symptoms yet.

Abbreviations: CPP, calcium pyrophosphate; CPPDD, calcium pyrophosphate deposition disease; DIP, distal interphalangeal joint; F, female; M, male; MCP, metacarpophalangeal joint; n.k., not known; OA, osteoarthritis.

^aKellgren-Lawrence score ≥ 3 .

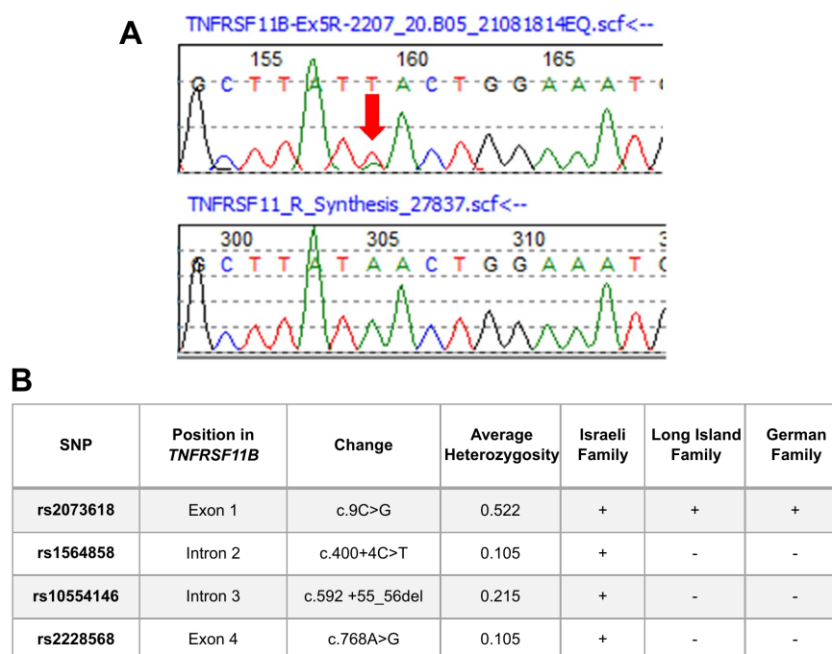


FIGURE 2 | (A) Electropherograms showing (top) the heterozygous *TNFRSF11B* c.1205A>T p.(Ter402Leuext*19) variant in patient III.2 (base substitution indicated by red arrow) and (bottom) the wild-type variant. (B) Table comparing the results of SNP analyses of four polymorphic variants located within the *TNFRSF11B* gene in the US family from Long Island and the Israeli family (Williams et al. 2018) with the present family. Note that the German family and the Long Island family showed similar markers, whereas the Israeli family is clearly unrelated.

c.1204T>C and c.1206A>C, that predict very similar stop lost variants of, respectively, p.Ter402GlnextTer19 and p.Ter402TyrextTer19. GnomAD reports these variants with respective allele frequencies of 8 in 1,614,016 ($4.96e-6$) and 1 in 1,614,142 ($6.20e-7$), with zero homozygotes, indicating population frequencies of 1:100,876 and 1:807,071 individuals, respectively. In gnomAD, these variants are listed without germline classification, but prediction tools such as the VarSome and Franklin databases classify them as variants of uncertain significance.

In subjects III.1, III.2, III.4–6, and IV.1–3, genotyping of SNPs within and adjacent to *TNFRSF11B* showed SNPs identical to the US Long Island family and different from the Israeli family (Williams et al. 2018), indicating that the variant originated on at least two different genetic backgrounds (Figure 2B).

4 | Discussion

We describe a German family with autosomal dominant CCAL1. The family showed the c.1205A>T p.(Ter402Leuext*19) stopLoss variant in the *TNFRSF11B* gene at chromosome 8q24.12 (the OPG-XL variant) that had been previously reported in all three molecularly confirmed CCAL1 families, originating from the Netherlands (Ramos et al. 2015), from Israel, and from Long Island, USA (Eshel et al. 1990; Williams et al. 2018). Only one other family (from Maine, USA) with likely molecularly

confirmed CCAL1 is known, which showed genetic linkage to a 32-cM region on chromosome 8q (Baldwin et al. 1995). Findings from SNP genotyping show that the c.1205A>T variant in this family and the Long Island family could have originated on the same allele.

Clinical signs and age at onset in this family were similar as in the previously described families. All families had early-onset radiographic chondrocalcinosis. In this family, we demonstrated the presence of CPP crystals by microscopy of synovial fluid from knee and elbow joints obtained during synovectomy. Recurrent acute inflammatory episodes and early joint destruction led to severe pain and to functional limitations beginning in the 3rd decade of life (range 20–40 years), and to early joint replacement from the 4th to 6th decade (range 30–58 years). Significant hip arthritis was observed in only two out of 9 informative subjects (22%) from this family, and had been reported previously in only three out of 10 members (30%) of the Maine family (Baldwin et al. 1995). In contrast, in the families from Israel, the Netherlands, and Long Island, all major weight-bearing joints of the lower extremities, including the hips, were described as typically affected (Eshel et al. 1990; Ramos et al. 2015; Williams et al. 2018). The reasons for these differences remain unknown.

Body height was not documented in the previously described families. From official documents issued around age 20 years, we

collected body height data for 11 individuals in this family and found a median height at the 10th percentile. Possibly, this could represent familial short stature, or alternatively a mild growth impairment caused by the OPG variant representing a limited phenotypic overlap with juvenile-onset Paget's disease 5 (PDB5). Short stature is a typical symptom in PDB5, which is caused by biallelic *TNFRSF11B* loss-of-function variants. Further body height data from CCAL1 families, including affected and unaffected family members, are needed to determine whether the OPG-XL protein causes defects of cartilage and bone metabolism leading not only to changes in bone density, but also to a mildly defective bone development and thus to a tendency towards short stature. A recent study (including human induced pluripotent stem cells expressing OPG-XL) demonstrated increased cartilage mineralization with concurrent lower subchondral bone mineralization as a result of the *TNFRSF11B* readthrough variant, which could possibly affect endochondral ossification during skeletal development towards reduced stature (Rodríguez Ruiz et al. 2022). Findings highlight the importance of studying multiple tissues/cells/phenotypes to determine the underlying pathways of disease caused by mutations such as the *TNFRSF11B* c.1205A>T stopLoss variant.

A previous study reported osteopenia with CCAL1 (Williams et al. 2018) and likewise we found osteopenia and additionally osteoporosis in this family. The OPG-XL osteoprotegerin was initially described as a gain-of-function mutation (Ramos et al. 2015), but results of murine in vitro studies with synthetic OPG-XL were considered to indicate a loss-of-function (Mittone-Fitzgerald et al. 2021). In vitro, the OPG-XL protein resulted in a loss-of-function in the RANKL-mediated osteoclastogenesis and in increased osteolytic activity, offering a possible explanation for osteopenia and arthritis in CCAL1. In contrast, a gain-of-function would have promoted inadequate bone resorption and osteopetrosis. Nevertheless, clinical findings support a genetic gain-of-function (Ramos et al. 2015). In humans, the c.1205A>T stopLoss variant represents the only known heterozygous, genetically dominant disease-causing variant, whereas all null mutations of *TNFRSF11B* function as PDB5-causing recessives with apparently healthy heterozygous carriers.

Biallelic inactivating *TNFRSF11B* variants reduce OPG function and result in the (severe) autosomal recessive, juvenile-onset phenotype of PDB5, while the heterozygous OPG-XL mutation causes the (relatively milder) adult-onset phenotype of CCAL1. PDB5 is a rapidly disabling disorder beginning in the first decade of life and characterized by increased bone resorption and deposition. Clinical features include skeletal demineralization, osteoporosis, osteosclerosis, cortical and trabecular thickening, progressive skeletal deformities, fractures, vertebral collapse, and skull enlargement, and occasionally extra-skeletal manifestations such as hearing loss and retinopathy (Cundy et al. 2002). However, despite their differences, PDB5 and CCAL1 share a small subset of features. The current CCAL1 family presented demineralization, osteoporosis, vertebral collapse, and progressive height loss, which are typical features of PDB5 as well. Possibly, short stature could represent another shared sign of PDB5 and CCAL1.

All familial forms of CPPDD are rare, but the literature completely lacks population-based studies to date. Given that in all molecularly proven CCAL1 families, all affected individuals presented rather uniformly physically severely disabled at an

age of 40–60years, we would hypothesize, based on the gnomAD data (see results) that the paucity of reported families does not reflect reduced penetrance or highly variable expressivity. In gnomAD, the c.1205A>T variant was present with an allele frequency of 4 in 1,614,162 (2.48e–6) and zero homozygotes, which would equate to a frequency of the heterozygous variant in the population of 1:201,770 individuals and would suggest that there should be dozens of affected families in the US as well as in Europe, and many more worldwide. Furthermore, if other stop lost alterations of *TNFRSF11B* (e.g., c.1204T>C and c.1206A>C, see results) would be associated with the clinical signs and symptoms of CCAL1 as well, this would predict an even higher prevalence of the disorder. Hence, the molecular data suggest that CCAL1 is a rare and underdiagnosed disorder.

In conclusion, we describe the fourth molecularly proven CCAL1 family with a total of 12 individuals with CPPDD manifesting in the third decade of life. In all families, including this one, the disorder resulted from a recurrent heterozygous stop-loss variant c.1205A>T in the *TNFRSF11B* gene on chromosome 8q, which predicts an extended osteoprotegerin protein with 19 additional amino acid residues; p.(Ter402Leuext*19). The clinical signs and symptoms of CCAL1 (caused by the recurrent dominant stop-loss variant in *TNFRSF11B*) and the corresponding disorder of PDB5 (caused by various recessive loss-of-function variants in *TNFRSF11B*) show only limited phenotypic overlap, including osteoporosis, osteopenia, joint degeneration, vertebral collapse, and possibly growth impairment/short stature, suggesting different underlying pathomechanisms. The rare type of mutation suggests that CCAL1 is a rare disorder; but we anticipate that there could be a few further *TNFRSF11B* stop lost variants causing CCAL1. The findings underscore that CCAL1 is a distinct rare Mendelian disorder for which the underlying molecular basis is now known.

Author Contributions

The study was carried out as part of the medical thesis of Anna-Christina Pansa. Anna-Christina Pansa suggested the subject of the thesis, and Oliver Bartsch was her doctoral supervisor. Anna-Christina Pansa and Oliver Bartsch drafted the manuscript and assembled Figure 1 and Table 1, and Mareike Selig contributed Figure 2. Mareike Selig and Matthew A. Brown critically revised the manuscript. All authors collected and/or interpreted clinical, radiological, and/or molecular data of the patients, and all authors gave final approval of the version to be published. Oliver Bartsch agrees to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Acknowledgments

We thank the family for making this work possible and a number of colleagues for helpful comments. We also thank an anonymous reviewer for helpful comments.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to privacy or ethical restrictions.

References

- Andrew, L. J., V. Brancolini, L. S. de la Pena, et al. 1999. "Refinement of the Chromosome 5p Locus for Familial Calcium Pyrophosphate Dihydrate Deposition Disease." *American Journal of Human Genetics* 64: 136–145.
- Baldwin, C. T., L. A. Farrer, R. Adair, R. Dharmavaram, S. Jimenez, and A. Anderson. 1995. "Linkage of Early-Onset Osteoarthritis and Chondrocalcinosis to Human Chromosome 8q." *American Journal of Human Genetics* 56: 692–700.
- Cundy, T., M. Hegde, D. Naot, et al. 2002. "A Mutation in the Gene *TNFRSF11B* Encoding Osteoprotegerin Causes an Idiopathic Hyperphosphatasia Phenotype." *Human Molecular Genetics* 21: 19–27.
- Doherty, M., and P. Dieppe. 1986. "Crystal Deposition Disease in the Elderly." *Clinical Rheumatology* 12: 97–116.
- Eshel, G., A. Gulik, N. Halperin, et al. 1990. "Hereditary Chondrocalcinosis in an Ashkenazi Jewish Family." *Annals of the Rheumatic Diseases* 49: 529–530.
- GnomAD. 2025. *NM_002546.4(TNFRSF11B):c.1205A>T*. GnomAD [v4.1.0]. https://gnomad.broadinstitute.org/gene/ENSG00000164761?dataset=gnomad_r4.
- Hollander, J. L., R. A. Jessar, and D. J. McCarty. 1961. "Synovial Analysis: An Aid in Arthritis Diagnosis." *Bulletin on the Rheumatic Diseases* 12: 263.
- Hughes, A. E., D. McGibbon, E. Woodward, J. Dixey, and M. Doherty. 1995. "Localisation of a Gene for Chondrocalcinosis to Chromosome 5p." *Human Molecular Genetics* 4: 1225–1228.
- Mitton-Fitzgerald, E., C. M. Gohr, C. J. Williams, A. Ortiz, G. Mbalaviele, and A. K. Rosenthal. 2021. "Effects of the *TNFRSF11B* Mutation Associated With Calcium Pyrophosphate Deposition Disease in Osteoclastogenesis in a Murine Model." *Arthritis and Rheumatology* 73: 1543–1549.
- Pendleton, A., M. D. Johnson, A. Hughes, et al. 2002. "Mutations in *ANKH* Cause Chondrocalcinosis." *American Journal of Human Genetics* 71: 933–940.
- Ramos, Y. F., S. D. Bos, R. van der Breggen, et al. 2015. "A Gain of Function Mutation in *TNFRSF11B* Encoding Osteoprotegerin Causes Osteoarthritis With Chondrocalcinosis." *Annals of the Rheumatic Diseases* 74: 1756–1762.
- Rodríguez Ruiz, A., M. van Hoolwerff, S. Sprangers, et al. 2022. "Mutation in the *CCAL1* Locus Accounts for Bidirectional Process of Human Subchondral Bone Turnover and Cartilage Mineralization." *Rheumatology (Oxford, England)* 62: 360–372.
- Rosenthal, A. K., and L. M. Ryan. 2016. "Calcium Pyrophosphate Deposition Disease." *New England Journal of Medicine* 374: 2575–2584.
- Ryan, L. M., and D. J. McCarty. 1997. "Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology." In *Calcium Pyrophosphate Crystal Deposition Disease, Pseudogout, and Articular Chondrocalcinosis*, edited by W. J. Koopman, 13th ed., 2103–2126. Williams and Wilkins.
- Williams, C. J., U. Qazi, M. Bernstein, et al. 2018. "Mutations in Osteoprotegerin Account for the *CCAL1* Locus in Calcium Pyrophosphate Deposition Disease." *Osteoarthritis and Cartilage* 26: 797–806.
- Williams, C. J., Y. Zhang, A. Timms, et al. 2002. "Autosomal Dominant Familial Calcium Pyrophosphate Dihydrate Deposition Disease Is Caused by Mutation in the Transmembrane Protein *ANKH*." *American Journal of Human Genetics* 71: 985–991.
- Zhang, W., M. Doherty, T. Bardin, et al. 2011. "European League Against Rheumatism Recommendations for Calcium Pyrophosphate Deposition. Part I: Terminology and Diagnosis." *Annals of the Rheumatic Diseases* 70: 563–570.

Supporting Information

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section. **Data S1** Supporting Information.

10 Danksagung

Mit dieser Arbeit geht ein bedeutender Abschnitt meines Lebens zu Ende- ein Weg, der ohne die Unterstützung vieler Menschen nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. Oliver Bartsch, für die fachliche Begleitung, das entgegengebrachte Vertrauen und die wertvollen wissenschaftlichen Impulse, die diese Arbeit maßgeblich geprägt haben. Seine Unterstützung hat mir Orientierung und Motivation gegeben- auch in herausfordernden Phasen. Er hat stets an mich geglaubt und mir stets Mut gemacht, dieses Werk zu beenden.

Ich danke auch den Familien, die durch ihre Teilnahme einen entscheidenden Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben. Ihre Bereitschaft, Zeit und persönliche Erfahrungen zur Verfügung zu stellen, bildet die Grundlage dieser wissenschaftlichen Untersuchung. Ohne sie wäre die Arbeit nicht möglich gewesen.

Von Herzen danke ich meiner Mutter, die mir stets mit Liebe, Geduld und beständigem Rückhalt zur Seite gestanden hat. Ihre Stärke und ihr Glaube an mich haben mir den Rücken gestärkt- nicht nur während der Entstehung dieser Dissertation.

Mein tief empfundener Dank gilt auch meinem Ehemann, Mario, für seine Unterstützung, seine Geduld und dafür, dass er an meiner Seite war, mit Verständnis, Humor und Zuversicht. Ohne ihn wäre vieles um einiges schwerer gewesen.

Diese Arbeit ist nicht nur ein wissenschaftliches Ergebnis, sondern auch Ausdruck der Wertschätzung für die Menschen, die mich auf diesem Weg begleitet haben.

01.09.2011 – 30.09.2014

MVZ Betzdorf-Kirchen
Orthopädie, Friedrichstr. 15, 57518 Betzdorf

01.06.2008 – 31.08.2011

Kirchener Gemeinschaftspraxis
Allg. Medizin, Innere Medizin, Bahnhofstr. 36, 57548
Kirchen