

Molekulargenetische Diagnostik der zystischen Fibrose

Hj. Müller

Klinische Situation

Bei Ernst wurde im Alter von knapp 3 Jahren die Diagnose «zystische Fibrose» gestellt. Er hatte nur langsam an Gewicht zugenommen und litt unter wiederholten Infektionen. Der Schweisstest ergab eine erhöhte Chloridkonzentration. Seine Tante, Frau Silvia Huber, ist seit 3 Monaten verheiratet und möchte auch eigene Kinder haben. Nun ist sie verunsichert, weil sie fürchtet, dass diese wie der kleine Ernst auch krank sein könnten.

Medizinisch-genetische Grundlagen

Die zystische Fibrose (CF = «cystic fibrosis»), auch Mukoviszidose genannt, ist die häufigste lebensverkürzende, autosomal-rezessiv vererbte Krankheit der weissen Bevölkerung. Eines von 2000 Neugeborenen

Tab. 1

Die häufigsten in der Schweiz gefundenen CFTR-Gen-Mutationen.

Mutation	Lokalisation	Anzahl	%
ΔF508	Exon 10	270	67
3905insT	Exon 20	25	6.2
R553X	Exon 11	20	5
1717-1G→A	Intron 10	17	4.3
G542X	Exon 11	7	1.75
W1282X	Exon 20	4	1
N1303K	Exon 21	4	1
R1162X	Exon 19	2	0.5
K1200E	Exon 19	2	0.5
1213delT	Exon 7	2	0.5
R347P	Exon 7	1	0.25
3662delA	Exon 19	1	0.25
3849+10kbC→T	Intron 19	1	0.25
4006-19del3	Intron 20	1	0.25
R117H	Exon 4	1	0.25
Total		358	89

ist davon betroffen; es hat von beiden Eltern ein mutiertes Gen geerbt. Eine von 22/23 klinisch unauffälligen Personen ist Überträger der CF.

Die Multisystem-Krankheit «CF» resultiert aus Funktionsstörungen des «cystic fibrosis transmembrane conductance regulator = CFTR», der den Chloridionen-Transport durch die Zellmembranen steuert. Es entsteht ein zähflüssiger Schleim in der Lunge, aber auch im Pankreas und in der Leber. Dies führt zu einer Verstopfung der Sekretgänge, was die Entstehung chronischer Entzündungen und therapieresistenter Infektionen begünstigt.

Korrespondenz:

Prof. Dr. med. Hansjakob Müller

Abteilung Medizinische Genetik UKBB

Departement Klinisch-Biologische Wissenschaften

CH-4005 Basel

Abbildung 1

CFTR-Gen mit den häufigsten Mutationen in der Schweiz.

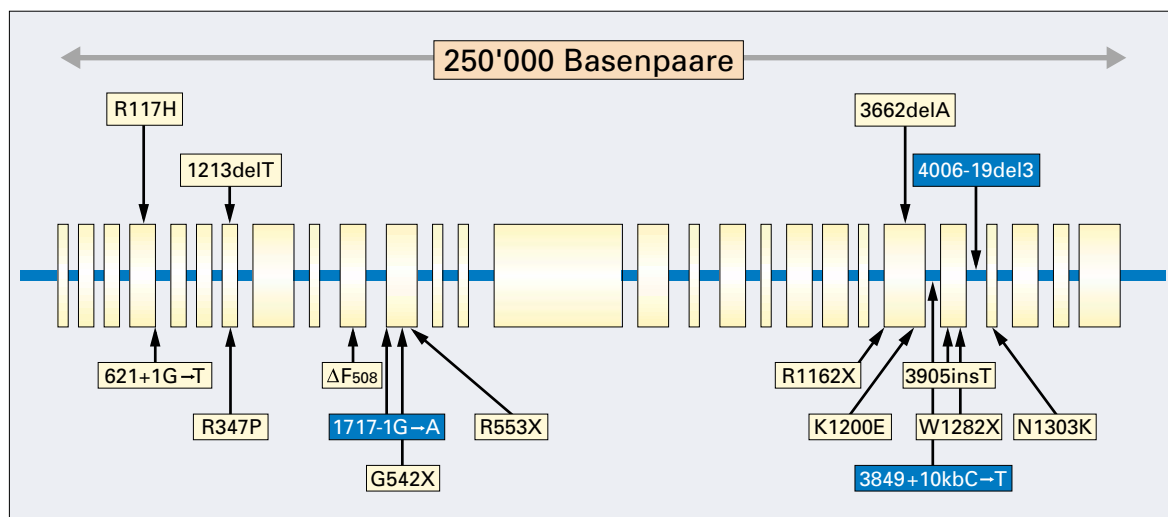
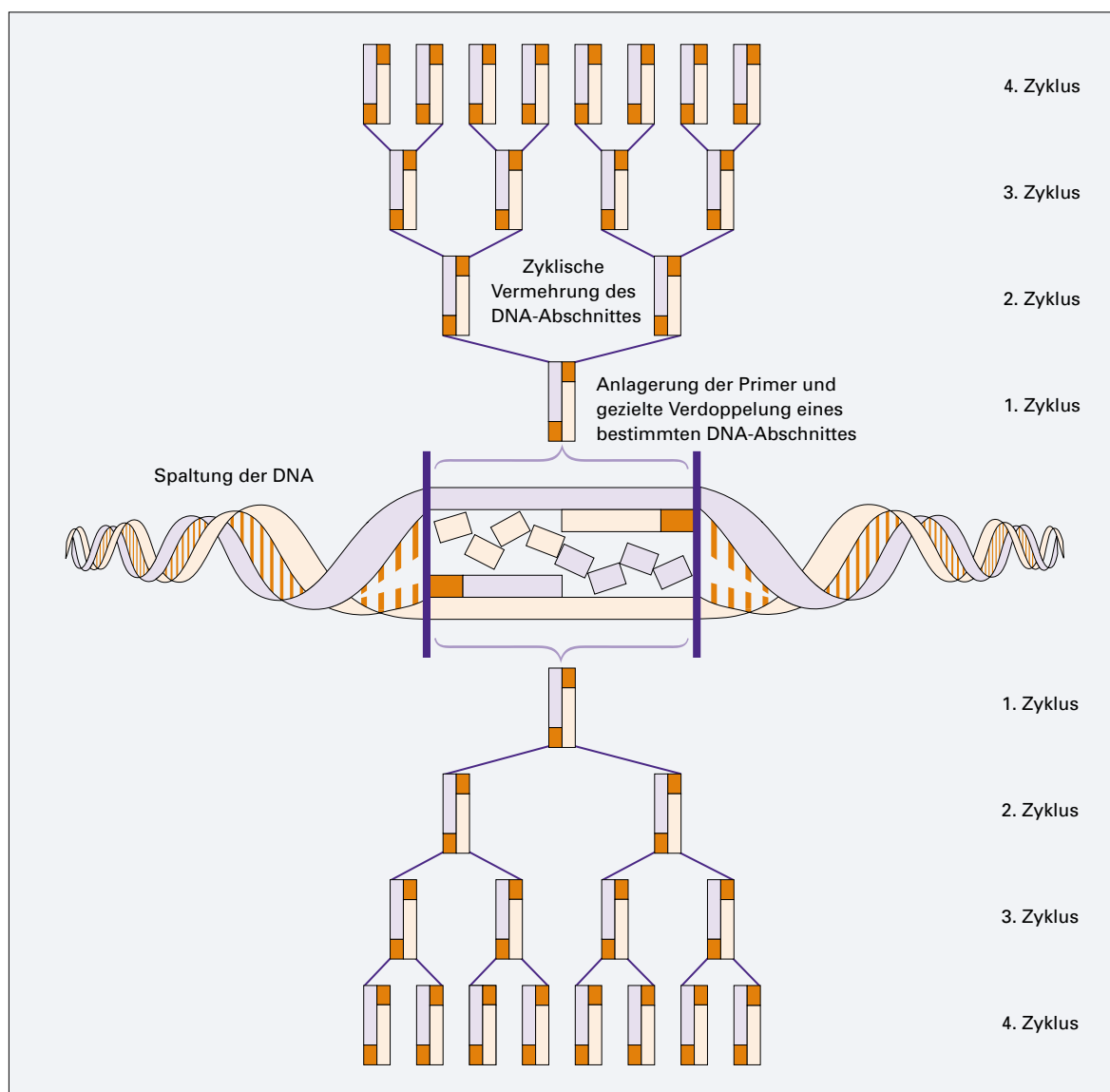


Abbildung 2

Das Prinzip der polymerase-chain-reaction PCR. Mit n Zyklen werden $\sim 2^n$ identische Kopien des interessierenden DNA-Abschnitts hergestellt.



DNA-Diagnostik

Das Gen für den CFTR ist auf dem Langarm des Chromosoms Nr. 7 festgestellt worden. Es erstreckt sich über 250 000 Basenpaare (bp) (Abb. 1). Über 800 verschiedene Mutationen sind beschrieben worden. Die in der Schweiz am häufigsten vorkommenden 15 Mutationen sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Sie haben unterschiedliche Auswirkungen auf das Genprodukt und dessen Funktion.

Bei Ernst wurde die Mutation $\Delta F508$ im Exon 10 und die in der Schweiz relativ häufige 3905insT im Exon 20 gefunden. Exons sind diejenigen Abschnitte eines Gens, die die Information für den Einbau der Aminosäuren ins Genprodukt enthalten. Sie werden durch die Introns voneinander getrennt. $\Delta F508$ bedeutet, dass drei Basenpaare verlorengegangen, daher

fehlt im CFTR-Eiweiss an der Position 508 die Aminosäure Phenylalanin. Bei der Mutation 3905insT liegt an Position 3905 ein zusätzliches Basenpaar, d. h. im kodierenden Abschnitt ein zusätzliches Thymin (T) vor, was den Ableseraster verschiebt und zum Einbau falscher Aminosäuren führt.

Mit der PCR-Methode lassen sich diese Mutationen rasch und zuverlässig erkennen. Tatsächlich liess sich die $\Delta F508$ -Mutation bei der Mutter von Ernst sowie bei ihrer Schwester Silvia nachweisen. Beide sind somit gesunde heterozygote Überträgerinnen des mutierten CFTR-Gens. Beim Ehemann Franz Huber konnte keine der 31 in der Schweiz am häufigsten vorkommenden Mutationen gefunden werden.

Bei der Berechnung, dass Frau Huber ein Kind mit CF haben könnte, muss berücksichtigt werden, dass sie Überträgerin ist und dass bei Robert Huber trotz

des Gentests immer noch ein Restrisiko besteht, Überträger eines mutierten CFTR-Gens zu sein, da nur nach 90% aller möglichen Mutationen gescreent wurde. Dieses beträgt 1 zu 455.

Bedeutung der genetischen Untersuchung

Das aufgrund der molekulargenetischen Abklärung des CFTR-Gens bei Herrn und Frau Huber noch bestehende Restrisiko, ein Kind mit CF zu haben, ist klein, d.h. in der Grössenordnung desjenigen aller in der Schweiz. Die genetische Abklärung bedeutet für Herrn und Frau Huber eine grosse Hilfe. Bei der genetischen Beratung haben sich die grossen Sorgen weitgehend verflüchtigt. Eine pränatale Diagnostik des CFTR-Gens macht in dieser Situation wenig Sinn, da eine allfällig beim Ehemann noch vorliegende Mutation nicht bekannt ist.

Was versteht man unter PCR?

Mit der Polymerase-Ketten-Reaktion («polymerase chain reaction», PCR) (Abb. 2) lassen sich umschriebene DNA-Abschnitte selektiv aus der DNA millionenfach herauskopieren (amplifizieren). Hierzu müssen die DNA-Sequenzen an beiden Enden des Bereichs, den man untersuchen will, bekannt sein. Man braucht dazu zwei kurze, sogenannte Oligonukleotide (Primers), einsträngige kurze DNA-Stücke, die sich an den Strang und Gegenstrang auf beiden Seiten des DNA-Abschnittes von Interesse anlagern. Zur Mutationssuche werden vom CFTR-Gen 8 Abschnitte vermehrt, in denen 31 Mutationen, darunter die häufigsten, vorliegen. Die Mutationen werden ihrerseits mit Oligonukleotiden erfasst. Dies soll später einmal erklärt werden.