

Molekulargenetische Diagnostik bei der familiären adenomatösen Polypose (FAP)

Z. Dobbie

Klinische Situation

Zwei Jahre nach der Geburt ihres Sohnes musste sich Heidi einer totalen Kolektomie unterziehen. Nachdem sie Blutspuren in ihrem Stuhl entdeckt hatte, liess sie sich endoskopisch untersuchen, wobei eine ausgeprägte Polypose vor allem im linken Kolon festgestellt wurde. Schon Heidis Mutter litt an einer kolonischen Polypose. Sie hat sich jedoch gegen eine Kolektomie gewehrt und starb im Alter von 48 Jahren an einem Kolonkarzinom. Da diese zwei Fälle einen Verdacht auf familiäre Belastung nahelegten und Heidis Sohn Lukas mittlerweile das Alter (12 Jahre) erreicht hat, in dem sich die FAP zu manifestieren beginnt, wird in dieser Familie eine genetische Diagnostik geplant. Sollte sich mittels dieser präsymptomatischen Untersuchung zeigen, dass Lukas die Prädisposition für FAP geerbt hat, wird die erste sigmoidoskopische Untersuchung durchgeführt.

Medizinisch-genetische Grundlagen

Die familiäre adenomatöse Polyposis ist eine autosomal-dominant vererbte Prädisposition zum Kolorektalkarzinom (KRK). Sie kommt bei etwa 1 auf 10000 Einwohnern vor und verursacht 1–2% aller KRK. Der Schweregrad der Polypose, der vor allem mit der Anzahl Polypen und dem Alter bei der Diagnose charakterisiert ist, kann zwar variieren, die Entwicklung eines Karzinoms ist jedoch in fast allen Fällen gewiss.

Die FAP-Erkrankung resultiert aus einem mutierten Adenomatous Polyposis coli (APC)-Gen, das sich auf dem Chromosom 5 befindet und ein multifunktionelles APC-Protein kodiert. Der Signalweg, in dem das APC-Protein eine Schlüsselrolle zu spielen scheint, ist für die Kontrolle der Zellproliferation und des Zelltodes verantwortlich. Falls sich das Gleichgewicht dieser zwei Prozesse, das eine normale

Homöostase des kolonischen Epithels ermöglicht, bedingt durch eine APC-Mutation nicht mehr kontrollieren lässt, führt dies zu einer ungehinderten Zellproliferation in Form eines Polypen.

DNA-Diagnostik

Die kodierende Sequenz des APC-Gens erstreckt sich über 8000 Basenpaare und ergibt fast keine «hot-spots» für Mutationen. So wurden bis heute bereits mehrere hundert verschiedene Mutationen im APC-Gen identifiziert, was die genetische Untersuchung dieses Gens enorm erschwert. Allerdings konnte man beobachten, dass die Mehrheit aller gefundenen Mutationen doch ein typisches Merkmal aufweist. Da sie sogenannte «nonsense»- oder «frameshift»-Mutationen darstellen, verursachen sie eine Verkürzung des resultierenden APC-Proteins. Deshalb wird in einem ersten Schritt der genetischen Analyse des APC-Gens zuerst das APC-Protein mittels des sogenannten «Protein Truncation Tests» (PTT) auf seine Länge hin untersucht.

Als erstes wurde das APC-Gen bei der bekannten Betroffenen, Heidi, analysiert. Sie hat sich als Trägerin der Mutation im Kodon 1309 des APC-Gens erwiesen. Es ist bekannt, dass der Schweregrad der FAP-Erkrankung, zumindest teilweise, mit der Lokalisation der Mutation innerhalb der für verschiedene funktionelle Domänen des Proteins kodierenden Regionen des APC-Gens korrelierbar ist (Abb. 1). Die Mutation 1309 prädisponiert zwar bekannterweise zu einer ausgeprägten und frühmanifestierenden Polypose, ist aber nur selten in Verbindung mit der Entwicklung verschiedener extrakolonischen Manifestationen, wie Desmoide, multiple Osteome und multiple Fibrome, gebracht worden.

Im zweiten Schritt wurde Heidis Sohn Lukas auf die Mutation im Kodon 1309 hin untersucht und tatsächlich als Mutationsträger identifiziert. Eine Planung der engmaschigen (bis zur Entwicklung der ersten Polypen etwa 2 jährlichen) gastroenterologischen Untersuchungen wurde deswegen durchgeführt.

Da die genetische Analyse die Ursache der FAP-Erkrankung eindeutig als 1309-APC-Mutation identifizieren konnte, wurde es möglich, alle anderen Familienmitglieder, die potentiell Träger dieser Mutation sein könnten, zu untersuchen. Heidis jüngere Schwester Regine konnte so als Nichtträgerin identifiziert werden. Somit kann man bei ihr auf engmaschige endoskopische Untersuchungen verzichten.

Zur Bedeutung der DNA-Diagnostik

Das aufgrund der molekulargenetischen Abklärung des APC-Gens bestehende Risiko für FAP ist bei Lukas sehr hoch. Da dieses Risiko bereits in jungem Alter des Patienten bekannt ist, können jedoch prophylaktische Untersuchungen und ein rechtzeitiger Eingriff, der eine Tumorentstehung vermeiden lässt,

Korrespondenz:

Dr. phil. II Zuzana Dobbie

Abteilung Medizinische Genetik UKBB

Molekulargenetisches Labor

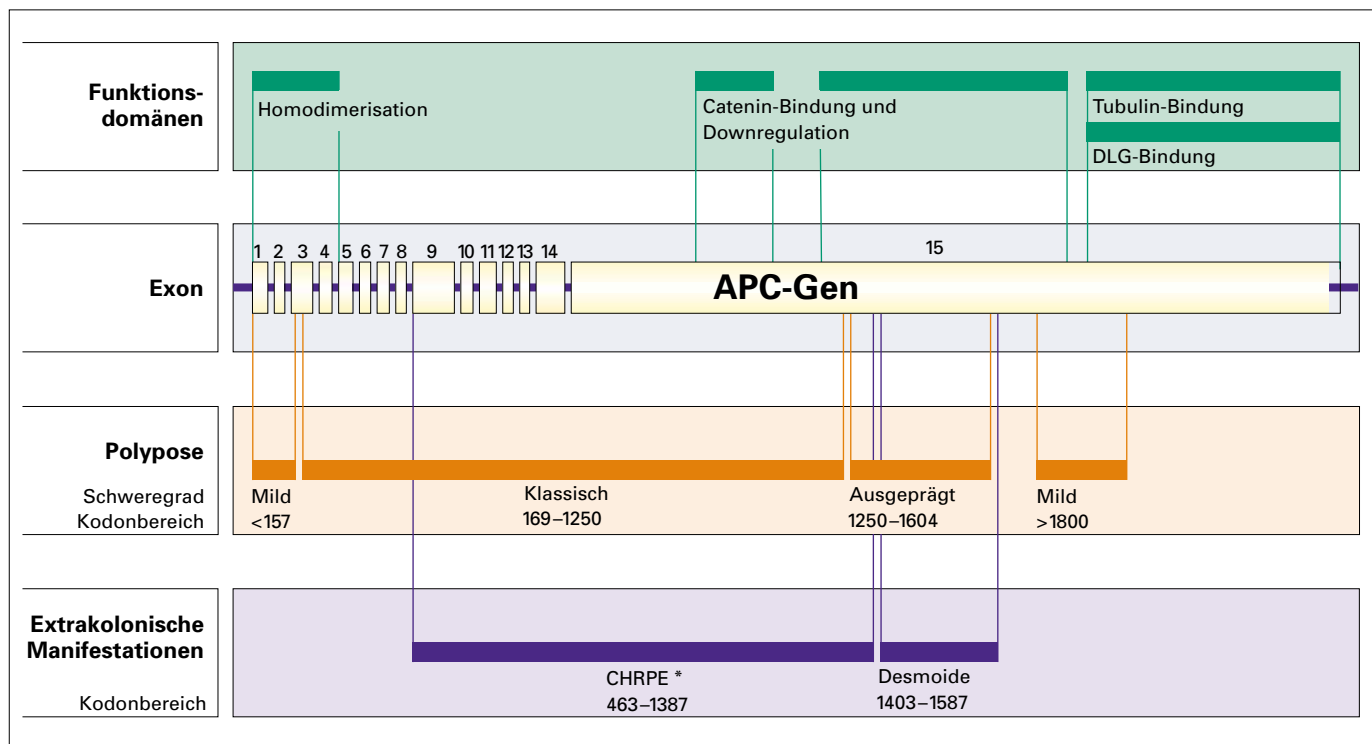
Dept. Klinisch-Biologische Wissenschaften

CH-4005 Basel

Abbildung 1

Genotyp/Phänotyp-Korrelationen in FAP.

Die Lokalisation der Mutation im APC-Gen korreliert mit dem Schweregrad der FAP-Erkrankung.



* Congenital hypertrophy of the retinal pigment epithelium

durchgeführt wurden. Bei Heidis Schwester Regine führt das Resultat der genetischen Analyse nicht nur zur enormen psychischen Entlastung, sondern auch zur Befreiung von jeglichen endoskopischen Kontrolluntersuchungen.

Was versteht man unter PTT?

Das APC-Gen wird mittels PTT in sechs separaten Teilen analysiert (Abb. 2). Jedes Teil, das etwa 1500-1800 Basenpaare enthält, wird hochspezifisch mit der Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert und mittels In-vitro-Transkription und Translation in das entsprechende Protein umgeschrieben. So entsteht ein «synthetisch» erzeugtes Protein, das auf

seine genaue Länge auf einem Polyacrylamidgel im elektrischen Feld hin untersucht und meist autoradiographisch visualisiert wird. Enthält das amplifizierte Genstück keine Mutation, welche die danach folgende Translation unterbrechen würde, werden anhand der zwei Genallele zwei gleiche Proteine synthetisiert, die auf dem Gel als eine Bande erscheinen. Befindet sich da jedoch eine Stop-Mutation, wird zusätzlich zu dem erwarteten ein kürzeres Proteinprodukt vorkommen, das als weitere Bande auf dem Gel sichtbar ist.

Der PTT dient allerdings lediglich als erster Schritt der genetischen Analyse des APC-Genes. Sollte sich als Resultat des PTT ein Hinweis auf eine Mutation ergeben, muss die genaue Lokalisation und Art dieser Veränderung mittels einer detaillierten DNA-Sequenzierung bestimmt werden.

Abbildung 2
Protein Truncation Test (PTT).

