

Sandra Besthorn

Dr. med.

## **Eine Mutation in dem kanalikulären Phospholipidtransportergen *ABCB4* ist assoziiert mit Cholestase, Duktopenie und Leberzirrhose beim Erwachsenen**

Fach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. Peter Sauer

Die vorliegende Familienanalyse beschreibt eine Familie mit elf Kindern aus einer isolierten Population in Siebenbürgen, bei der die Eltern konsanguin sind. Alle elf Kinder sind von einer cholestatischen Lebererkrankung betroffen, die initial keiner bekannten Entität zugeordnet werden konnte. Sechs der elf Geschwister sind schwer, die übrigen fünf Geschwister nur leicht erkrankt. Drei der sechs schwer Erkrankten sind bereits verstorben, zwei im Kindesalter mit fünf und sieben Jahren und das dritte als Erwachsener im Alter von 43 Jahren. Die drei noch lebenden schwer Erkrankten haben erhöhte Leberwerte, eine Cholangiopathie der kleinen Gallengänge, eine Duktopenie und schreiten auf eine Leberzirrhose zu – eine der drei (die Indexpatientin) wurde aufgrund einer Leberzirrhose im Endstadium bereits lebertransplantiert.

Da das Krankheitsbild zu keiner bekannten Diagnose passte, und bei der vorliegenden familiären Häufung von einem genetischen Defekt ausgegangen werden konnte, war es das Ziel dieser Studie, die krankheitsverursachende Genmutation in dieser Familie zu finden.

Hierzu fand eine umfassende Datenerhebung zu jedem der dreizehn Familienmitglieder, deren Vorfahren und lebenden Verwandten statt. Die gewonnenen Informationen, unter anderem die Tatsache, dass die Eltern Cousin und Cousine vierten Grades sind, bildeten die klinische Grundlage für eine Stammbaum-analyse. Auf deren Basis wurde eine parametrische Kopplungsanalyse mittels genomweiter Einzel-Nukleotid-Polymorphismus-Genotypisierung (SNP-Genotyping) durchgeführt. Diese lieferte Hinweise darauf, an welchen Stellen im Genom betroffene Familienmitglieder eine genetische Veränderung haben, die die Gesunden nicht haben. Zur hier angewandten parametrischen Kopplungsanalyse wurde ein genaues genetisches Modell benötigt, welches aufgrund des familiären Hintergrundes erstellt werden konnte: Da die familiäre Häufung eine multifaktorielle Ursache sehr unwahrscheinlich machte, wurde eine monogenetische Vererbung vermutet. Die Vorfahren beider Elternteile stammten von einer geographisch abgegrenzten Region in Siebenbürgen, Rumänien und gehörten einer streng gläubigen Religionsgemeinschaft an (Heirat nur innerhalb dieser Gemeinschaft), daher wurde die Hypothese eines hoch penetranten autosomal-rezessiven Erbganges aufgestellt.

Die mit der MERLIN Software durchgeführte Kopplungsanalyse lieferte als Ergebnis den signifikanten Hinweis, dass ein Segment auf Chromosom 7 krankheitsverursachend sein könnte. Insbesondere zwei Genloki auf 7q21.1-7q22 zeigten maximale LOD-Scores von >3.0 (Genlokus bp 86,111,166-88,261,357 erzielte einen LOD-Score von 3.01 und Genlokus bp 98,993,981-106,630,227 einen LOD-Score von 3.88), die signifikant für eine Kopplung der cholestatischen Lebererkrankung an diesen Genort sprechen. Der LOD-Score von 3.88 spricht mit einer Odds Ratio von etwa 7500:1 für die Kopplung der Erkrankung an diesen Genlokus.

Die schwer betroffenen Familienmitglieder (I.1, I.5 und I.6) waren für dieses Intervall auf Chromosom 7q21.1-7q22 homozygot, was eine Homozygotie für eine zugrunde liegende krankheitsverursachende Genmutation implizierte. Umgekehrt waren die nur schwach betroffenen (I.8-I.11, II.2) sowie die nicht betroffenen (II.1) Familienmitglieder für dieses Intervall heterozygot.

Gesucht war nun in diesem Bereich auf Chromosom 7 mit LOD-Score von  $>3.0$  eine Genmutation, die nachweislich zu einer funktionellen Störung des Genprodukts geführt haben könnte. Diese Störung müsste eine hinreichende Erklärung für die Krankheitsentstehung in dieser Familie liefern können.

Die identifizierten Haplotyp-Blöcke auf 7q21.1-7q22 enthielten 149 Kandidatengene. Darunter fielen besonders zwei Gene auf, da Mutationen in diesen – im Gegensatz zu Mutationen in den anderen Kandidatengen – eine Auswirkung auf die Zusammensetzung der Gallenflüssigkeit haben könnten. Sie kodieren jeweils einen hepatokanalikulären Transporter: ABCB1 und ABCB4. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine Mutation in einem der beiden hepatokanalikulären Transportergene und die daraus resultierende Transporter-fehlfunktion die Gallensekretionsstörung in dieser Familie verursacht habe.

Während *ABCB1* bisher noch nie in Zusammenhang mit bekannten Krankheiten beschrieben wurde, sind Mutationen in *ABCB4* bekannt dafür, cholestatische Erkrankungen wie z.B. PFIC3, Cholesteralgallensteine oder ICP hervorzurufen. Die Vermutung lag folglich nahe, dass auch im Falle der Indexfamilie das *ABCB4*-Gen betroffen sei.

Gefunden wurde bei der anschließenden DNA-Sequenzierung des *ABCB4*-Gens, dem vielversprechendsten Gen innerhalb der Kandidatenregion, eine Missense-Mutation, für welche die schwer betroffenen Geschwister homozygot und die nur leicht betroffenen Geschwister heterozygot waren. Es wurde gezeigt, dass diese Missense-Mutation c.2362C>T (p.R.788W, Arg788Trp) des *ABCB4*-Gens, welche zu einer eingeschränkten Funktion des kanalikulären Phosphatidylcholin-Transporters und damit zu einem zu niedrigen Gehalt von Phosphatidylcholin in der Galle und zu einer toxischen Wirkung der ungebundenen Gallensäuren führt, für die chronische cholestatische und duktopenische Lebererkrankung dieser Familie verantwortlich ist. Die Gallensaft-Analyse unterstützte diese Interpretation. So zeigte die Galle einer Patientin mit der homozygoten *ABCB4*-Mutation ein passend zur verringerten ABCB4-Transporteraktivität reduziertes Phosphatidylcholin/ Gallensäuren-Verhältnis, welches eine hinreichende Erklärung für die Krankheitsentstehung lieferte.

Interessant war das breite Spektrum der Erkrankungen, die mit dieser *ABCB4*-Mutation assoziiert waren. So reichten die Symptome der betroffenen Geschwister von eher milden Symptomen bei Gallensteinen und Gallenkoliken, über ICP mit Fehl- und Totgeburten sowie duktopenischer Leberfibrose, bis hin zu terminaler biliärer Leberzirrhose im Kindes- und Erwachsenenalter. Die hier vorliegende Familienanalyse zeigt, dass ein einzelner, gemeinsam zugrundeliegender Gendefekt bei Familien mit unterschiedlichen cholestatischen Phänotypen in Betracht gezogen werden sollte. Basierend auf dieser Studie sollte bei allen Patienten mit cholestatischen Lebererkrankungen unbekannter Ursache eine Mutationsanalyse des *ABCB4*-Gens durchgeführt werden, unabhängig von Alter und Krankheitsbeginn der Betroffenen.