



## ***Kurzinformation zur humangenetischen Untersuchung:***

### **Schwere Kolitis des Kleinkindes infolge von Mutationen im IL10-, IL10RA- oder IL10RB-Gen**

Die durch Bauchschmerzen, Durchfälle, Blutungen und Malabsorption charakterisierten chronischen inflammatorischen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sind die Folge einer fehlgesteuerten Immunantwort auf die intestinale Mikroflora in genetisch prädisponierten Patienten. Etwa ein Drittel der Patienten leidet zudem unter extraintestinalen Manifestationen, die die Haut (Erythema nodosum, Pyoderma gangraenosum), die Gelenke (Arthritis, ankylosierende Spondylitis), die Augen (Uveitis), den hepatobiliären Trakt (Leberverschattung, primäre sklerosierende Cholangitis), die Knochen (Osteoporose) und das Gerinnungssystem (erhöhtes Thromboserisiko) betreffen können. Hauptmanifestationsalter ist das frühe Erwachsenenalter. In Einzelfällen kommt es jedoch bereits innerhalb des ersten Lebensjahres zu einer schweren Enterokolitis oder Proktitis mit der Ausbildung multipler perianaler Abszesse sowie von enterokutanen und rektovaginalen Fisteln, wie sie für schwere Verläufe der adulten Form typisch sind. Einige der betroffenen Patienten leiden zudem unter einer Follikulitis und wiederholten Infektionen des Respirationstraktes. Eine Behandlung mit Kortikosteroiden, Methotrexat, Thalidomid, Azathioprin und Biologika erweist sich als wirkungslos. Der Erbgang dieser schweren frühkindlichen Kolitis ist autosomal rezessiv. Genetische Analysen führten 2009 zur Entdeckung von homozygoten Mutationen in den für die R1- und R2-Kette des Interleukin (IL)-10-Rezeptors kodierenden Genen IL10RA und IL10RB (Glocker et al. 2009. N. Engl. J. Med. 361: 2033-2045) als Ursache der Erkrankung bei drei betroffenen Kindern türkischer, libanesischer und deutscher Herkunft. Bei einem 9 Monate alten Jungen und einem 11 Monate alten Mädchen konsanguiner Eltern erbrachten diese Untersuchungen jedoch kein Ergebnis. Deshalb wurde zusätzlich das für den Liganden kodierende IL10-Gen untersucht. Beide Kinder waren homozygote Träger eines von Exon 3 kodierten Glycin113 (GGG)\*Arginin (AGG)/-p.Gly113Arg-/G113R-Austausches, der vermutlich zu einer Fehlfaltung des Proteins und damit zu einer gestörten Dimerisierung des Proteins führt (Glocker et al. 2010. Lancet 376: 1272). Interleukin-10 ist das wahrscheinlich wichtigste antiinflammatorische wirkende Zytokin. Es wird von B- und T-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen sowie von Mastzellen, Keratinozyten und Epithelzellen gebildet und ist natürlicher Gegenspieler der proinflammatorisch wirksamen Interleukine IL-1, IL-6 und IL-12. Darüber hinaus inhibiert er die Sekretion von IL-2 und von Interferon (IFN)- $\gamma$  und kontrolliert die Proliferation und Differenzierung von B- und T-Lymphozyten sowie von Makrophagen. Dadurch schützt IL-10 den Körper vor einer exzessiven Entzündungsreaktion. Um diese antiinflammatorische Wirkung zu entfalten, bilden zwei IL10-Moleküle ein Dimer. Dieses Dimer bindet an einen zellständigen IL10-Rezeptor, der wiederum aus zwei  $\alpha$ - oder R1- und zwei  $\beta$ - oder R2-Ketten besteht. Dadurch werden die Janus-Kinase 1 (JAK1) und die Tyrosin-Kinase 2 (TYK2) aktiviert. Sie katalysieren ihre eigene Phosphorylierung und die der IL10R1-Kette, wodurch eine Bindungsstelle für das Protein STAT3 ("signal transducer and activator of transcription 3") entsteht. Das gebundene STAT3 wird ebenfalls phosphoryliert, worauf es dimerisiert und in den Zellkern transloziert, wo es die Expression abhängiger Gene herauf- (z. B. MYC, PIM1, PTPN11 und SOCS2) oder herunterreguliert (z. B. PIAS, PTPN6 und SPRED2). Interessanterweise wird die  $\alpha$ - oder R1-Kette nur für den IL10-Rezeptor verwendet, während die  $\beta$ - oder R2-Kette auch von den Rezeptoren für die Interleukine IL-22, IL-26, IL-28A, IL28B und IL-29 genutzt wird. Deshalb sollte eine IL10RB-Mutation pleiotrope Effekte haben. Dies bestätigt sich insofern, als betroffene Kinder zusätzlich zu der schweren Enterokolitis oder Proktitis eine Follikulitis aufweisen, die wahrscheinlich auf eine defekte IL22-Signaltransduktion zurückzuführen ist, die die Keratinozyten-Differenzierung stört (Boniface et al. 2005. J. Immunol. 174: 3695-3702).

**Material:** 0,5 - 2 ml EDTA-Blut, Mundschleimhautabstrich, DNA (normaler Postversand)

**Methode:** Nach Isolierung der DNA des Patienten aus seiner EDTA-Blutprobe werden in einer Stufendiagnostik zunächst die sieben Exons des auf Chromosom 11q23.3 lokalisierten IL10RA-Gens oder im Falle einer Kolitis mit Begleitfollikulitis die ebenfalls sieben Exons des IL10RB-Gens auf Chromosom 21q22.11 mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert und sequenziert. Lässt sich keine Mutation nachweisen, wird in einem zweiten auch das für die andere Kette kodierende Gen untersucht. Im erneut negativen Fall werden zusätzlich die fünf Exons des auf Chromosom 1q32.1 gelegenen IL10-Gens analysiert.

**Zeitdauer:** ca. ein bis zwei Wochen