



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

### **Morbus Crohn (Enterocolitis regionalis)**

#### **(Analyse dreier Mutationen des NOD2-Gens zur Beurteilung der genetischen Prädisposition)**

Die chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen M. Crohn und Colitis ulcerosa haben eine kombinierte Prävalenz von etwa 100-300 Fällen/100.000 Einwohner. Jährlich werden etwa 2-8 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner registriert, der Häufigkeitsgipfel liegt zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr. Im Gegensatz zur Colitis ulcerosa ist der M. Crohn eine diskontinuierlich auftretende, segmentale Entzündung auch der tiefen Wandschichten der Darmwand. Der gesamte Gastrointestinaltrakt kann betroffen sein, am häufigsten ist der M. Crohn jedoch im terminalen Ileum und proximalen Kolon lokalisiert. In etwa 10 % der Fälle, die auf die Rektum- und Kolon-Mukosa beschränkt sind, ist eine sichere Differenzierung beider Krankheiten nicht möglich („indeterminierte Colitis“).

Der M. Crohn wird üblicherweise den Autoimmunerkrankungen zugerechnet. Patienten, die an einer ankylosierenden Spondylitis, Psoriasis, primär sklerosierenden Cholangitis oder multiplen Sklerose leiden, haben eine erhöhte Prävalenz chronisch entzündlicher Darmerkrankungen. Auch Rauchen ist ein Risikofaktor. Darüber hinaus gilt eine genetische Veranlagung beim M. Crohn als gesichert. So weisen Geschwister eines Crohn-Patienten ein ca. 30fach höheres Risiko als die Gesamtbevölkerung auf, ebenfalls an einer Enterocolitis regionalis zu erkranken. Zwei voneinander unabhängige Gruppen haben im Jahre 2001 erstmals Mutationen im CARD15-/NOD2-Gen auf Chromosom 16q12.1 beschrieben, die bei Nordamerikanern und Europäern, nicht aber bei Asiaten mit einem M. Crohn assoziiert sind, und die mit deutlich geringerer und sehr ähnlicher Frequenz von etwa 0,5-2 % auch bei Colitis ulcerosa-Patienten und Gesunden gefunden werden (Hugot et al. 2001. Nature 411: 599-603; Ogura et al. 2001. Nature 411: 603-606). Das Mutationsspektrum umfasst drei häufige Mutationen (p.Arg702Trp, p.Gly908Arg und 1007fs (c.3019\_3020insC) in Exons 4, 8 und 11) sowie viele seltene Aminosäure-Substitutionen, die vor allem von Exons 4, 6 und 8 kodiert werden. Diese Mutationen sind jedoch keine unabdingbare Voraussetzung für die Krankheitsmanifestation, da sie sich nur bei etwa 30-40 % der Crohn-Patienten nachweisen lassen. Das relative Risiko eines heterozygoten Merkmalsträgers, an einem M. Crohn zu erkranken, ist um ca. das 2-4fache, das eines Homozygoten oder zusammengesetzt Heterozygoten dagegen um das etwa 20-40fache erhöht. Eine Meta-Analyse von 49 Studien zeigte, dass das Risiko eines schwereren Krankheitsverlaufs mit der Ausbildung von Strikturen und Fisteln bei Patienten mit nur einer Mutation um etwa 8 % und bei Patienten mit zwei mutierten Allelen um ca. 40 % erhöht ist, während das Risiko einer Operation unabhängig davon, ob ein oder beide Allele mutiert sind, um fast 60 % steigt (Adler et al. 2011. Am. J. Gastroenterol. 106: 699-712).

Die genaue Ätiologie des M. Crohn ist bis heute ungeklärt. NOD2 ist ein vor allem in Makrophagen, Neutrophilen und dendritischen Zellen sowie in den am Grund der Dünndarm-Krypten lokalisierten Paneth-Drüsenzellen konstitutiv exprimiertes Protein, das als zytosolischer Sensor von Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien sowie Mykobakterien fungiert, die anhand der Muramyl-dipeptid (MDP)-Bestandteile der Zellwand erkannt werden. NOD2 kann zudem virale ssRNA detektieren, womit es ein Schlüsselprotein der angeborenen Immunabwehr von Pathogenen ist, die in die Darmwand eingedrungen sind. Folge seiner Aktivierung ist eine NF- $\kappa$ B-vermittelte Induktion der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  und IL-6. Darüber hinaus spielt NOD2 eine wichtige Rolle im Prozess der Xenophagie, d. h. dem Abbau von in die Zelle eingedrungenen Mikroorganismen durch Ausbildung eines doppelwandigen zytosolischen Autophagosoms, welches anschließend mit einem Lysosom fusioniert. Eine defekte Xenophagie führt zu einer erhöhten Suszeptibilität gegenüber Infektionen. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass das infolge der 1007fs-Mutation verkürzte NOD2 nicht mit der Plasmamembran assoziiert. Dadurch ist die Interaktion mit dem wichtigen Autophagie-Protein ATG16L1 und damit die proteolytische Degradation der Mikroben gestört, wodurch es auch zu einer ineffektiven MHC-Klasse II-Komplex-vermittelten Antigen-Präsentation und damit zu einer insuffizienten CD4-vermittelten T-Zell-Antwort kommt (Hruz und Eckmann. 2010. Swiss Med. Wkly. 140: w13135).

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

**Methode:** Nach Isolierung der genomischen DNA des Patienten werden die Exons 4, 8 und 11 des NOD2-Gens mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert und sequenziert.

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