



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

### **Nachweis bzw. Ausschluss eines C→G-Austausches 3518 Nukleotide 5' des IL28B Gens (rs4803221), der mit dem Nichtansprechen auf eine kombinierte PEG Interferon- $\alpha$ -/ Ribavarin-Therapie assoziiert ist**

Schätzungsweise 120-180 Millionen Menschen weltweit, d. h. etwa 3 % der Weltbevölkerung, und davon etwa 4 Millionen in Europa sind mit dem Hepatitis C-Virus (HCV) infiziert. Circa 80 % der Patienten entwickeln eine chronische HCV-Infektion, die eine der Hauptursachen einer Leberzirrhose und eines hepatozellulären Karzinoms ist. Die HCV-induzierte Leberzirrhose ist zudem in den USA der häufigste Grund für eine Lebertransplantation. Bei etwa 5-20 % der Patienten führt die sich infolge der Infektion entwickelnde chronische Lebererkrankung zu einer Zirrhose. Von diesen sterben wiederum 20 – 25 % an einem Leberversagen, während etwa 1-5 % der Betroffenen ein hepatozelluläres Karzinom entwickeln (WHO, 2000). Rund 50-60 % der chronisch infizierten Patienten sprechen nicht dauerhaft auf eine kombinierte PEG-Interferon- $\alpha$ -/ Ribavarin-Therapie an. Zudem hat die Kombinationstherapie Nebenwirkungen (Anämie, Leukopenie, Dermatitis, Hautausschlag, Juckreiz, Dyspepsie, Brechreiz, Schlaflosigkeit). Es wäre deshalb sehr hilfreich, frühzeitig Patienten identifizieren zu können, die von dieser Therapie nicht oder nur bedingt profitieren. Auf der Suche nach genetischen Prädiktoren für das Ansprechen auf eine PEG-Interferon- $\alpha$ -/Ribavarin-Therapie haben mehrere Arbeitsgruppen im Jahre 2009 zwei Einzelnukleotid-Polymorphismen ("single nucleotide polymorphisms" oder SNPs) identifiziert, die mit dem Therapieerfolg HCV-infizierter Patienten europäischen, afrikanischen und asiatischen Ursprungs assoziiert sind. Suppiah et al. (Nat. Genet. 41: 1100-1104) und Tanaka et al. (Nat. Genet. 41: 1105-1109) demonstrierten durch genomweite Assoziationsstudien (GWAS) die Verknüpfung eines circa 7,5 Kilobasen 5' des Interleukin (IL) 28B-Gens gelegenen T→G Austausches (in der SNP-Datenbank als rs8099917 gelistet) mit einer dauerhaften Viruselimination (SVR). Im Vergleich zu T/T Homozygoten hatten T/G-Heterozygote und G/G-Homozygote in der Studie von Suppiah et al. ein 1,64fach bzw. 2,39fach höheres Risiko, nicht auf die Kombinationstherapie anzusprechen (Sensitivität 57 %, Spezifität 63 %). Tanaka et al. identifizierten G/G Homozygote nur in der Untergruppe japanischer Patienten mit "null virological response" (NVR). Expressionsanalysen zeigten, dass Träger des G-Allels weniger IL28B-mRNA synthetisierten. Interleukin 28B oder Interferon- $\lambda$ -3 ist ein Ligand des Klasse II-Zytokin-Rezeptors, der aus dem IL10-Rezeptor  $\beta$  und dem IL28-Rezeptor  $\alpha$  besteht. Nahe verwandte Zytokine sind IL28A und IL29. Die entsprechenden Gene sind in enger Nachbarschaft auf Chromosom 19q13 lokalisiert. Alle drei Proteine werden auch als Typ III-Interferone oder Interferon- $\lambda$ s bezeichnet. Als Folge einer Virusinfektion aktivieren sie den JAK-STAT-Signaltransduktionsweg und hemmen dadurch die Virusreplikation. Smith et al. identifizierten in einer 2011 publizierten Studie insgesamt 19 Polymorphismen in den das IL28B-Gen flankierenden Sequenzen (Genome Med. 3: 57). Diese ließen sich bei Kaukasiern in sechs häufige Haplotypen gruppieren (Haplotyp 1: 43,2 %; Haplotyp 2: 23,8 %; Haplotyp 3: 10,3 %, Haplotyp 4: 9,8 %; Haplotyp 5: 1,9 %; Haplotyp 6: 1,4 %). Dabei zeigte der Haplotyp 2 die signifikanteste Assoziation mit einem fehlenden Therapieansprechen. Die darin repräsentierten SNPs rs4803221, rs7248668 und rs8099917 wiesen ähnlich hohe positive prädiktive Werte (PPV) für ein Therapieversagen von 78,6 bis 80,3 auf und schnitten damit besser ab als der PPV des ebenfalls häufig in der Diagnostik verwendeten SNPs rs12979860 (73,1). Die Autoren empfehlen, für die Identifizierung des größten Teils der Patienten mit einem "Non-responder"-Genotyp eine Kombination aus dem SNP rs4803221, der die Haplotypen 2 und 6 repräsentiert, und einer HLA-C-Genotypisierung. Eine Homozygotie für den HLA-C2-Haplotyp (Asparagin (N) und Lysin (K) statt Serin (S) und Asparagin (N) an den Aminosäure-Positionen 77 und 80 des reifen Proteins) in Kombination mit einem G-Allel des rs4803221 oder eine Homozygotie für das G-Allel fand sich in ihrer Untersuchung bei 19,9 % der Nicht-Ansprecher und bei nur 7,7 % der Patienten, die auf die Kombinationstherapie positiv reagierten. Die Autoren postulieren dass es beim Haplotyp 2 zu dem Verlust zweier Methylierungsstellen kommt. Folge soll eine vermehrte Synthese des IL28B sein, die wiederum zu einer verminderten Expression Interferon-sensitiver Gene führt.

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

**Methode:** Die genomische DNA wird aus einer EDTA-Blutprobe isoliert. Anschließend wird die den rs4803221-C→G Nukleotidaustausch umgebende Region des Chromosoms 19q13 mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert und anschließend sequenziert. Ist der Patient nicht homozygoter Träger des G-Allels, wird anschließend auch das für die Aminosäuren 77 und 80 des reifen HLA-C-Proteins kodierende Exon 2 auf Chromosom 6p21.33 analysiert.

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