

Modifier-Gene als Ursache phänotypischer Diversität

Gerd Utermann

Noch vor kurzem löste die Identifizierung des kausalen Gens für eine Mendelsche Erkrankung beim Forscher Glücksgefühle aus und manchmal ist dies noch heute so. Aber mit der Identifizierung von über 1000 Genen für Mendelsche Erkrankungen rückt ein anderes, allerdings nicht neues Problem zunehmend in das Blickfeld der Humangenetik: Was ist für die phänotypische Variabilität Mendelscher Erkrankungen verantwortlich?

Das klassische Konzept der Mendelschen Erbkrankheit geht davon aus, dass der klinische Phänotyp einer Mendelschen Erkrankung durch die Ausprägung eines einzigen Gens bedingt ist. Daher die Gleichsetzung von Mendelscher mit monogener Erkrankung. Die Kenntnis des Gens und der spezifischen Mutation sollte dann eine Voraussage des Phänotyps erlauben. Dieser Reduktionismus war fruchtbar und hat zu wesentlichen Fortschritten in Genetik, Pathophysiologie und anderen Gebieten geführt. Heute müssen wir feststellen, dass die meisten „einfachen“ Mendelschen Erkrankungen in Wirklichkeit komplexe Merkmale sind. Dies ist eine logische Konsequenz der Tatsache, dass Mutationen in komplexen funktionellen Kontrollsystemen auftreten. Es existieren inzwischen zahllose Beispiele bei diversen Mendelschen Erkrankungen dafür, dass Betroffene in der gleichen Familie und mit gleicher Mutation unterschiedliche klinische Ausprägungen des Krankheitsbildes zeigen. Auch findet sich bei den wenigsten Mendelschen Erkrankungen eine klare Genotyp-Phänotyp-Korrelation. Vielmehr ist der Zusammenhang zwischen Mutation und Phänotyp meist unscharf. Als Ursache phänotypischer Diversität (oder variabler Expressivität) Mendelscher Merkmale, die nicht durch Locus- oder allelische Heterogenität bedingt ist, sind drei wesentliche Faktoren in Betracht zu ziehen:

- 1) Stochastische Ereignisse einschließlich somatischer Mutation
- 2) Umweltfaktoren im weitesten Sinne
- 3) Modifier-Gene

Ein weiterer bekannter modifizierender Faktor genetischer Erkrankungen, der sich keiner dieser Kategorien eindeutig zuordnen lässt, ist das Geschlecht.

Die Idee, dass Modifier-Gene den Effekt eines Hauptgens (des „Monogens“) auf den Phänotyp beeinflussen, ist nicht neu. Haldane versuchte bereits 1941 mit statistischen Methoden die Existenz von Modifier-Genen bei Chorea Huntington nachzuweisen. Neu ist, dass das moderne Methodenarsenal der Genetik die Identifizierung von Modifiern gestattet. Die Zahl postulierter und identifizierter Modifier-Gene steigt derzeit exponentiell an (Tab.1).

Wie für viele grundlegende Erkenntnisse in der Humangenetik hat die Analyse von Hämoglobinopathien wichtige Beiträge zum Verständnis von Modifier-Genen geliefert. Schon 1975 konnten Stamatoyannopoulos et al. zeigen, dass die Sichelzellerkrankung milder verläuft, wenn neben der Homozygotie für HbS eine der genetischen Formen der HbF-Erhöhung (Hereditäre Persistenz des fetalen Hämoglobins = HPFH) vorliegt.

Für einige der bei Europäern häufigsten Mendelschen Erkrankungen bestehen starke Hinweise auf Modifier Loci, jedoch wurden bisher trotz intensiver Suche keine kausalen Gene nachgewiesen. Der derzeitige Stand und die Strategien zur Identifizierung von Modifiern bei Cystischer Fibrose (Beitrag B.Tümmler und F.Stanke) und Spinaler Muskelatrophie (Beitrag K. Zerres und Mitarbeiter) werden in diesem Heft diskutiert. Der Nachweis eines Modifier-Gens gelang dagegen kürzlich bei der Sichelzellanämie. Eine der schwerwiegendsten Komplikationen der HbS Erkrankung ist das Auftreten eines Schlaganfalls auf Grund von Thrombenbildung in cerebralen Gefäßen. Sebastiani et al. (2005) konnten zeigen, dass allelische Varianten in Genen der TGFB Familie bei HbS Homozygoten für das Auftreten von Schlaganfällen prädisponieren. In der gleichen Studie konnten sie mit SELP einen weiteren Modifier identifizieren, der auch in der Allgemeinbe-

völkerung als Risikofaktor für Schlaganfall beschrieben war.

Der Begriff des Modifier-Gens wurde hier bisher im Kontext Mendelscher Phänotypen benutzt, wird aber auch im Zusammenhang mit multifaktoriellen/komplexen Merkmalen verwendet. Das Beispiel HbS und Schlaganfall zeigt zudem, dass gleiche Gene sowohl bei Mendelschen als auch multifaktoriellen Erkrankungen eine Rolle spielen können. Allerdings wird nicht immer scharf zwischen einem Modifier- und einem Suszeptibilitätsgen unterschieden. In der Literatur findet sich heute auch der Begriff „disease risk modifier“ für Suszeptibilitätsgene. Trotz aller Versuche, den Begriff des genetischen Modifiers (oder Modifier-Gens) präzise zu definieren, wird er unterschiedlich benutzt.

Manche Autoren haben zwischen Genen unterschieden, die die Penetranz eines anderen Gens kontrollieren und solchen, die die Expressivität eines anderen Gens beeinflussen. Nur Gene, die die Expressivität beeinflussen, werden dabei als Modifier-Gene gesehen. Situationen, in denen die Penetranz eines Gens vom Effekt eines anderen Gens abhängt, werden dagegen mit dem Begriff Epistasie beschrieben. Diese Betrachtungsweise führt in einen Begriffs- und Definitionsdschungel, der im Beitrag von A. Caliebe und Mitarbeitern durchleuchtet wird. In diesem Beitrag findet sich eine verallgemeinernde Definition des Begriffs Modifier („Effektmodifikator“) als Einflussfaktor, der seinen Effekt nur vor dem Hintergrund spezieller Ausprägungen anderer Faktoren entfaltet und die Anwendung auf multifaktorielle und quantitative Merkmale einschließt. Dieser Beitrag gibt auch einen knappen Überblick über die historische Entwicklung und unterschiedliche Verwendung der Begriffe Epistasie (Epistasis) und Interaktion. Das Charakteristikum eines genetischen Modifiers einer Mendelschen Erkrankung ist also, dass seine Anwesenheit allein den Phänotyp nicht bewirkt. Damit besteht im biologischen Sinn (nicht aber unbedingt im statistischen Sinn (s. Beitrag A. Caliebe) eine Interaktion zwischen Hauptgen und Modifier. Der Unterschied

Tab 1 Beispiele für postulierte Modifizier-Gene bei Mendelschen Krankheiten

Krankheit	Modifizier-Gen(e)	Bemerkung/Referenz
Autosomal rezessive Polyzystische Nierenerkrankung (ARPKD)	Kif 12	Cpk-Maus (Mrug et al., JAmSocNephrol.2005;16:905-916)
Adenomatöse Polyposis	Mom 1	Apc-Maus (Haines et al., PNAS 2005;102:2868-2873)
X-Chromosomale Adrenoleukodystrophie (ALD)	ABCD4 BG 1	Mensch (Asheuer et al., Hum.Mol.Genet. 2005;Mar 30 Epub)
Sichelzellanämie (Schlaganfall)	TGFβ-Familie SELP	Mensch (Sebastiani et al., Nat.Genet.2005;37:435-440)
Innenohrschwerhörigkeit	Mtap 1a	Tubby-Maus (Ikeda et al., Nat.Genet. 2002;30:401-405)
Altersbedingte Schwerhörigkeit	Cdh23	BALB/cBy-Maus (Noben-Trauth et al., Nat.Genet. 2003;35:21-30)
Schwerhörigkeit	ATP 2B2	Mensch (Schultz et a., New.Eng.J.Med. 2005;352:1557-1564)
Familiäre Amyotrophe Lateralsklerose	Cntf/CNTF	hSOD-1 Gly93Ala/Cntf -/- Mäuse; Mensch (Giess et al., Am.J.Hum.Genet. 2002;70:1277-1286)
Familiäres Mittelmeerfieber	SAA1	Mensch (Cazeneuve et al., Am.J.Hum.Genet.2000;67:1136-1143)
Hereditäre Hämochromatose	HP	Doppel-KO Maus (Tolsono et al., Blood 2005;105:3353-3355)
M. Hirschsprung	SOX8	Maus (Maka et al., Dev.Biol. 2005;277:155-169)
Leber Congenitale Amaurose (LCA)	GUCY2D	Mensch (Silva et al., Ophthalmic Genet. 2004;25:205217)

zwischen einem Suszeptibilitätsgen und einem Modifizier kann an einem Beispiel verdeutlicht werden. Faktor V-Leiden und eine Prothrombinvariante sind beide unabhängig Suszeptibilitätsallele für Thrombose. Ihr gemeinsames Vorliegen führt zu einer nicht additiven Erhöhung des Risikos, d.h. es besteht eine statistische Interaktion. Diese beruht auf der biologischen Interaktion im Netzwerk des Gerinnungssystems auf die Thrombinbildung. Aber Prothrombin ist nicht Modifizier von Faktor V oder umgekehrt, da beide unabhängig den Phänotyp Thrombose mitverursachen können. Begrifflich sollten also Modifizier, Epistasie, Interaktion (biologisch, statistisch) und Suszeptibilitätsgen unterschieden werden, auch wenn sie teilweise die gleichen biologischen Phänomene aus verschiedenen Blickwinkeln beschreiben.

Ein genetischer Modifizier kann im einfachsten Fall das „normale“ Allel am gleichen Genort sein. Ein eindrucksvolles Beispiel für diesen Typ des Modifiziers findet sich bei den Prionenerkrankungen. Die Mutation Asp178Asn im Prion-Gen kann sowohl zur Creutzfeld-Jakob-Erkrankung (CJE), als auch zur Fatalen Familiären Insomnie (FFI) führen. Bestimmt wird der Krankheitsphänotyp durch den

Val129Met-Polymorphismus im gleichen Gen. Val129 führt zu CJD und Met129 zu FFI. Eng gekoppelte Modifizier-Gene wurden ebenfalls beschrieben. Im Regelfall handelt es sich bei einem Modifizier jedoch um ein nichtgekoppeltes Gen (Tab.1). Eine interessante Variante des Modifizier-Genkonzepts ist durch Situationen gegeben, in denen die phänotypische Ausprägung einer Erkrankung durch allelische Variation bei einem anderen Individuum – nämlich der Mutter – beeinflusst wird. Ein Beispiel hierfür wird im Beitrag von M.Witsch-Baumgartner dargestellt: Der Apolipoprotein E Genotyp der Mutter beeinflusst den Schweregrad des Smith-Lemli-Opitz Syndroms (SLOS). SLOS beruht auf Mutationen im Gen für 7-Dehydrocholesterol-Reduktase (DHCR7) und führt zu einer Störung der endogenen Cholesterolsynthese. Apolipoprotein E ist ein Bestandteil des gleichen metabolischen Netzwerks (Cholesterooltransport). Interessanterweise ist diese Form eines Modifiziers nicht durch eine Kopplungsanalyse zu erfassen.

Die meisten Modifizier Mendelscher Erkrankungen wurden bisher in Tiernodellen, insbesondere der Labormaus identifiziert (Nadeau, 2001) (Tab.1). Allerdings hat das Beispiel der Ade-

nomatösen Polyposis gezeigt, dass ein bei der Maus identifizierter Modifizier nicht notwendig beim Menschen relevant sein muss. Dennoch kann die Identifizierung wichtige Hinweise auf mögliche Targets für pharmakologische Interventionen geben (s.Beitrag D.Lohmann). In letzter Zeit wurden systematische, teilweise genomweite Screens nach Modifiern u.a. bei Drosophila (Ward et al. 2003) sowie bei hypomorphen *C.elegans*-Mutanten mit Hilfe der RNAi-Technologie durchgeführt (Holway et al. 2005). Die Ergebnisse dieser Screens könnten auch Kandidaten für menschliche Erkrankungen liefern.

Was ist der biologische Hintergrund der Wirkung von Modifizier-Genen? Das einleuchtendste Konzept ist, dass sie Teil des gleichen funktionellen Netzwerks sind (metabolisches Netzwerk, Signalnetzwerk), wie das merkmalsbestimmende Hauptgen. Phänotypen, die durch Haploinsuffizienz oder hypomorphe Allele eines Gens bedingt sind, sollten daher eher durch Modifizier-Gene beeinflussbar sind, als solche, die durch Null-Mutationen hervorgerufen werden. Auf dieser Überlegung beruhen z.B. die oben erwähnten genomweiten Modifizier-Screens bei *C.elegans*.

Kann jede Mutation durch Modifizier-Gene in ihrer phänotypischen Ausprägung beeinflusst werden und wenn ja, was sind die Voraussetzungen? Eine interessante Diskussion zum Kontext, in welchem genetische Modifizierer wirken, findet sich bei Dipple und McCabe (2000). Die Autoren gehen von den Effekten spezifischer Mutationen auf die Funktion des Protein-Produkts aus und postulieren Modelle mit Schwellenwerten, die für den Zusammenhang zwischen der Funktion des mutierten Proteins und dem Phänotyp relevant sein können. In einem Modell (Two-Threshold-Nondiscrete Model) ist unterhalb einer bestimmten Schwelle der Funktionsverlust so stark, dass immer ein schwerer Phänotyp resultiert, oberhalb einer bestimmten Schwelle ist die Funktion so minimal eingeschränkt, dass immer ein leichter Phänotyp ausgeprägt wird. Im Bereich zwischen beiden Schwellen postulieren sie einen Unschärfbereich, in dem Mutationen nicht mit dem Phänotyp korrelieren. Für diese Mutationen bestimmen nicht-gekoppelte Gene (Modifizierer) und Umweltfaktoren den Phänotyp. Dieses Modell würde zumindest für einige Mendelsche Erkrankungen erklären, warum einige Mutationen eines Gens eine Prädiktion erlauben (d.h. eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation besteht), andere aber nicht.

Die Identifizierung von Modifizierern Mendelscher Erkrankungen ist nicht nur von theoretischem Interesse. Für die klinische Genetik ergibt sich aus der Unschärfe und Heterogenität der Genotyp-Phänotyp-Beziehung, dass die Kenntnis des Genotyps in vielen Fällen nicht ausreicht, um die bei einem Mutationsträger zu erwartende Manifestation vorherzusagen (Beitrag D. Lohmann). Es besteht daher die Hoffnung, dass die Identifizierung von Modifizierern zu einer besseren Prädiktion führt. Die Möglichkeit einer schärferen Prädiktion muss aber kritisch gesehen werden und dürfte grundsätzlich die gleiche Problematik haben, wie die Prädiktion bei komplexen Erkrankungen (s. Diskussion bei Weiss und Terwilliger, 2000; Yang et al. 2003; Janssens et al. 2004).

Im Beitrag Lohmann wird dies insbesondere für erbliche Tumorerkrankungen diskutiert und die Komplexität am Beispiel Retinoblastom dargestellt. Als weitere mögliche praktische Konsequenz könnten sich aus der Identifizierung eines Modifizierers Targets für eine pharmakologische Intervention ergeben (s. Beiträge von A. Janecke und D. Lohmann). Ein Beispiel dafür, dass die Kenntnis eines modifizierenden Faktors Hinweise auf die Prognose und den Behandlungserfolg einer Mendelschen Erkrankung geben kann, ist das Serum-Amyloid-A (SAA) bei familiärem Mittelmeerfieber. Allerdings ist hier die Serumkonzentration an SAA, aber nicht der Genotyp ein prognostischer Parameter von praktischer Bedeutung (s. Beitrag Ch. Timman und R. Horstmann). In zwei weiteren Beiträgen dieses Heftes (E. Hauenstein u. Mitarbeiter, J. Loeffler-Ragg und H. Zwierzina) werden modifizierende genetische Faktoren besprochen, die das Ansprechen von Tumorerkrankungen auf medikamentöse Therapie beeinflussen. Diese pharmakogenetische Betrachtungsweise schließt auch somatische Mutationen als Modifizierer ein und bringt den Begriff des Modifizierers in einen weiteren Kontext. Die Identifizierung von Modifizier-Genen ist ein spannendes neues Betätigungsfeld für Humangenetiker. Die Ergebnisse werden noch vielen Forschern Glücksgefühl bescheren. Das zeigen schon die Beiträge dieses Bandes.

Literatur

- Dipple KM, McCabe RB. 2000. Phenotypes of patients with „simple“ mendelian disorders are complex traits: thresholds, modifiers, and systems dynamics. *Am J Hum Genet.* 66:1729-35
- Haldane JBS. 1941. The relative importance of principal and modifying genes in determining some human diseases. *J Genet.* 41:149-57
- Holway AH, Hung C, Michael WM. 2005. Systematic, RNA-interference-mediated identification of mus-101 Modifier genes in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 169:1451-60
- Janssens AC, Pardo MC, Steyerberg EW, van Duijn CM. 2004. Revisiting the clinical validity of multiplex genetic testing in complex diseases. *Am J Hum Genet.* 74(3):585-8
- Nadeau JH. 2001. Modifier genes in mice and humans. *Nat Rev Genet.* 2(3):165-74
- Sebastiani P, Ramoni MF, Nolan V, Baldwin CT, Steinberg MH. 2005. Genetic dissection and prognostic modeling of overt stroke in sickle cell anemia. *Nat Genet.* 37(4):435-40
- Stamatoyannopoulos G, Wood WG, Papayannopoulou T, Nute PE. 1975. A new form of hereditary persistence of fetal hemoglobin in blacks and its association with sickle cell trait. *Blood* 46(5):683-92
- Ward RE, Evans J, Thummel CS. 2003. Genetic modifier screens in *Drosophila* demonstrate a role for Rho1 signaling in Ecdysone-triggered imaginal disc morphogenesis. *Genetics* 165:1397-1415
- Weiss KM, Terwilliger JD. 2000. How many diseases does it take to map a gene with SNPs? *Nat Genet.* 26(2):151-7
- Yang Q, Khoury MJ, Botto L, Friedman JM, Flanders WD. 2003. *Am J Hum Genet.* 72(3):636-49

Korrespondenzadresse

O. Prof. Dr. G. Utermann
 Department für Medizinische Genetik,
 Molekulare und Klinische Pharmakologie
 Medizinische Universität Innsbruck
 Schöpfstrasse 41
 A-6020 Innsbruck/Austria
 Tel. 0043/512/507-3450
 Fax 0043/512/507-2861
 gerd.utermaann@uibk.ac.at