

Zytogenetik der Ataxia teleangiectatica und des Nijmegen Breakage Syndroms

Markus Stumm, Rolf-Dieter Wegner

Zusammenfassung

Zellen von Patienten mit Ataxia teleangiectatica oder Nijmegen Breakage Syndrom zeigen charakteristische zytogenetische Anomalien, die als diagnostische Kriterien einsetzbar sind. So ist eine erhöhte spontane und strahleninduzierte Chromosomeninstabilität typisch. Auch mittels Radiomimetika, z.B. durch Bleomycin, ist die Hypersensitivität nachweisbar. Die Empfindlichkeit von AT- und NBS-Zellen gegen alkylierende Agenzien wird kontrovers eingeschätzt. Eigene Ergebnisse zeigen eine eindeutig nachweisbare, erhöhte Bruchrate in allen getesteten Zelllinien, allerdings mit großer interindividueller Variabilität. Die Analyse des Spektrum der Mutagensensitivität von Patientenzellen wird in Hinblick auf die therapeutische Relevanz bei Tumorbehandlung diskutiert.

Schlüsselwörter

Ataxia teleangiectatica, Nijmegen Breakage Syndrom, zytogenetische Diagnostik, Chromosomeninstabilität; FISH

Summary

Cytogenetic features of ataxia telangiectasia and Nijmegen breakage syndrome

AT and NBS cells show typical cytogenetic characteristics which can be used for diagnostic purposes. Thus, an increased spontaneous and radiation-induced chromosomal instability is commonly found. Also radiomimetic, e.g. bleomycin, can be used as potential mutagen. Controversial data are published about the sensitivity of AT- and NBS-cells to alkylating agents. Our own results on several cell lines show unequivocally an increased chromosomal breakage rate after treatment with Trenimon or Mitomycin C. However, there exists a high interindividual variability. The diagnosis of the individual spectrum of mutagen sensitivity in AT- and NBS-patients is discussed with respect to its therapeutic relevance.

Keywords

Ataxia telangiectasia, Nijmegen breakage syndrome, cytogenetic diagnostic, chromosomal breakage, FISH

Die Ataxia teleangiectatica (AT) gehört zusammen mit dem Nijmegen Breakage Syndrom (NBS), dem Bloom Syndrom (BS) und der Fanconi Anämie (FA) zur Gruppe der klassischen Syndrome mit Chromosomeninstabilität. Alle vier Syndrome zeigen als Gemeinsamkeiten einen autosomal rezessiven Vererbungsmodus, eine erhöhte spontane Chromosomenbrüchigkeit, Immundefizienzen und ein erhöhtes Krebsrisiko. Die Krankheitsbilder lassen sich aber durch charakteristische zytogenetische und/oder klinische Merkmale voneinander abgrenzen.

Bemerkenswert ist die nahezu vollständige Übereinstimmung der zellulären Eigenschaften von AT und NBS, so daß eine Differentialdiagnose nur aufgrund der klinischen Symptomatik möglich ist. Im folgenden werden die zytogenetischen Auffälligkeiten von AT und NBS vorgestellt.

Eine spontane und durch ionisierende Strahlen induzierbare Chromosomeninstabilität sind zytogenetische Charakteristika. Spontane Chromosomenaberrationen in AT werden regelmäßig in Lymphozyten und in Fibroblasten von AT-Patienten gefunden (27). Für lymphoblastoide Zelllinien (LCLs) gibt es widersprüchliche Berichte. Schmid und Jerusalem (18) sowie Cohen und Simpson (7) konnten in lymphoblastoiden Zellen von AT-Patienten keine erhöhte spontane Chromosomeninstabilität nachweisen, während in späteren Untersuchungen spontane Chromosomeninstabilitäten in AT-LCLs gefunden wurden (23; 28, 5, 20).

Die T-Lymphozyten von AT-Patienten zeigen in 5–10% der Metaphasen spezifische chromosomale Umbauten, die die Chromosomen 7 und 14 betreffen (2, 3). Die spezifischen Bruchstellen auf Chromosom 7 sowie auf Chromosom 14 sind im Bereich der Immunglobulin- und T-Zell-Rezeptorgene lokalisiert (15). Daneben finden sich aber auch unspezifische offene Aberrationen wie Chromatidbrüche (chtb), Chromosomenbrüche (chrb), azentrische Fragmente (ace) und Reunionsfiguren (chte). Diese Aberrationstypen treten auch als spontane Chromosomeninstabilität in Fibrobla-

FOTO

Abb 1
Strahlen-induzierte Chromosomenaberrationen in LCLs von AT-Patienten.
G2-Phasen Bestrahlung mit 0,5 Gy und 1,0 Gy

sten und LCLs auf. Eine weitere zytogenetische Eigenschaft von AT-Zellen ist die Bildung von Telomerassoziationen (22, 12), die durch einen Defekt der Chromatinstruktur oder durch verkürzte Telomere induziert werden könnten (16).

Die Chromosomenanalyse aus peripherem Blut gestaltet sich bei vielen AT-Patienten problematisch, da ihre T-Lymphozyten eine sehr geringe Stimulierbarkeit durch Mitogene und dadurch einen niedrigen Mitoseindex aufweisen können. Als alternatives Testsystem bietet sich dann eine Chromosomenanalyse aus LCLs an.

Die T-Lymphozyten von NBS-Patienten sind ebenfalls schlecht stimulierbar (24, 19, 26, 17, 4) und die Chromosomeninstabilität zeigt sich ebenfalls durch spontane Chromosomenbrüche und spezifische strukturelle Umbauten, in die zumeist die Chromosomen 7 und 14 involviert sind. Die Bruchpunkte der Umbauten sind in den gleichen Chromosomenbanden lokalisiert wie in AT-Zellen, jedoch liegt der Prozentsatz von Umbauten der Chromosomen 7 und 14 signifikant höher (10–35% der Metaphasen) als bei AT-Patienten (25).

Ionisierende Strahlen induzieren in AT-Zellen unabhängig vom Ursprung des Gewebes im Vergleich zu Kontrollzellen vermehrt Chromosomenbrüche. Diese erhöhte Brüchigkeit zeigt sich auch, wenn AT-Zellen Bleomycin, Neocarzinostatin, oder Tallysomyin (27) sowie Adriamycin (9) ausgesetzt werden. Die Schäden, die durch ioni-

FOTO

Abb 2
Trenimon-induzierte Chromosomenaberrationen in LCLs von AT- und NBS-Patienten.
Trenimon-Exposition (10^{-8} M und 10^{-7} M) für 24 Stunden

sierende Strahlung in AT-Zellen erzeugt werden, unterscheiden sich in ihrem Schadensspektrum von denen in Kontrollzelllinien. Nach Bestrahlung in der G0/G1-Phase finden sich in Kontrollzellen nur Aberrationen vom Chromosomentyp, während sich in AT-Zellen sowohl Chromatidtyp- als auch Chromosomentypaberrationen finden (21). In der G2-Phase verursachen ionisierende Strahlen in AT-Zellen im Vergleich zu Kontrollzellen eine höhere Anzahl an Chromosomenaberrationen (Abb 1) (13).

NBS-Zellen besitzen ebenfalls die für die AT-Zellen beschriebene Hypersensitivitäten gegenüber ionisierenden Strahlen bzw. Radiomimetika (29).

Die Analyse der zellulären bzw. chromosomalen Empfindlichkeit gegenüber dem alkylierenden Agens Diepoxybutan (DEB) ergab für NBS-Zellen bisher widersprüchliche Ergebnisse (19, 10). Für AT-Zellen wurde gezeigt, daß das bifunktionelle alkylierende Agens Diepoxybutan (DEB) die Chromosomenbruchfrequenz in AT-Zellen erhöht (1). Die Behandlung mit UV-aktiviertem Psoralen (8-Methoxypsoralen und 5-Methoxypsoralen) (bifunktionell) und Angelicin (monofunktionell) führt ebenfalls zu einer erhöhten Rate von Chromosomenaberrationen und SCEs in AT-Zellen (14). Eigene Daten an einer Reihe von Zelllinien zeigen eine recht variable chromosomale Hypersensibilität von AT- und NBS-Zellen gegenüber dem trifunktionellen Agens Trenimon (Abb 2) (27, 20) bzw. gegen das bifunktionelle Mitomycin C (MMC) (unverf-

fentlichte Daten). Diese Ergebnisse stehen aber im Widerspruch zu Literaturdaten, die nach MMC-Behandlungen von AT-Zellen keine erhöhten Chromosomenaberrationsraten berichteten (6, 8). Eine Erklärung für diese Diskrepanz könnte im individuellen Sensibilitätsspektrum der einzelnen Zelllinien liegen.

Die Befunde der Experimente mit Trenimon und Mitomycin C könnten auch von therapeutischer Relevanz sein, z.B. im Zusammenhang mit der zytostatischen Behandlung maligner Erkrankungen von AT- und NBS-Patienten. Da die Patientenzellen interindividuell reagieren, könnte eine chemotherapeutische Behandlung mit alkylierenden Agensen im Einzelfall zu starken Nebenwirkungen führen. Deshalb ist zu überlegen, ob vor der Tumorthherapie von AT- und NBS-Patienten ein individuelles zelluläres Sensibilitätsspektrum für Substanzen, die für den Therapieeinsatz eingeplant sind, bestimmt werden sollte. Die Ergebnisse dieser Analysen könnten das Risiko durch Nebenwirkungen reduzieren.

Chromosomenaberrationstests sind ein sehr sensibles System um Hypersensibilitäten nachzuweisen. Ein Problem ist aber der hohe Zeitaufwand, den diese Untersuchungen erfordern. Neue und effektive zytogenetische Analysemethoden müssen deshalb entwickelt und eingesetzt werden. Einen Ansatz dazu bietet der Einsatz der Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) bei der Analyse von Chromosomeninstabilitäten. Bei einem kürzlich entwickelten Ansatz werden die

Chromosomen 1, 2 und 4 durch unterschiedlich gefärbte „Whole Chromosome Paints (WCP)“ markiert und die zytogenetischen Aberrationen dieser Chromosomen analysiert. Diese FISH-Technik wurde bereits erfolgreich in Chromosomenbruchexperimenten getestet (siehe Neubauer et al. in diesem Band).

Literatur

1. Auerbach AD and Wolmann SR (1979) Carcinogen-induced chromosome breakage in chromosome instability syndromes. *Cancer Genet Cytogenet* 1: 21-28
2. Aurias A, Dutrillaux B, Buriot D and Lejeune J (1980) High frequency of inversions and translocations of chromosomes 7 and 14 in ataxia-telangiectasia. *Mutat Res* 69: 369-374
3. Aurias A, Dutrillaux B and Griselli C (1983) Tandem translocation t(14:14) in isolated and clonal cells in ataxia telangiectasia are different. *Hum Genet* 63: 320-322
4. Chrzanowska KH, Kleijer WJ, Krajewska-Walasek M, Bialecka M, Gutkowska A, Goryluk-Kozakiewicz B, Michalkiewicz J, Stachowski J, Gregorek H, Lyson-Wojciechowska G, Janowicz W and Jozwiak S (1995) Eleven Polish patients with microcephaly, immunodeficiency, and chromosomal instability: The Nijmegen breakage syndrome. *Am J Med Genet* 57: 462-471
5. Chessa L, Petrinelli P, Antonelli A, Fiorilli M, Elli R, Marucci L, Federico A and Gandini E (1992) Heterogeneity in ataxia telangiectasia: classical phenotype associated with intermediate cellular radiosensitivity. *Am J Med Genet* 42: 741-746
6. Cohen MM, Simpson SJ, Pazos L (1981) Specificity of bleomycin-induced cytotoxic effects on ataxia telangiectasia lymphoid cell lines. *Cancer Res* 41: 1817-1823
7. Cohen MM, Simpson SJ (1982) The use of lymphoblastoid cells in the study of ataxia-telangiectasia. In: Bridges BA, Harnden DG (eds) *Ataxia-telangiectasia – a cellular and molecular link between cancer, neuropathology, and immune deficiency*. Wiley, New York, pp 203-218
8. Cohen MM, Simpson SJ (1983) Increased clastogenicity and decreased inhibition by neocarzinostatin and tallsomycin in ataxia telangiectasia lymphoid cell. *Mutat Res* 112: 119-128
9. Crocker M and Woods CG (1992) A comparison of three cytogenetic measures of chromosome instability in ataxia telangiectasia. *J Med Genet* 29: 283
10. Der Kaloustian VM, Kleijer W, Booth A, Auerbach AD, Mazer B, Elliott AM, Abish S, Usher R, Watters G, Vekemans M and Eydoux P (1996) Possible new variant of the Nijmegen breakage syndrome. *Am J Hum Gen* 65: 21-26
11. Hecht F, Koler RD, Rigas DA, Dahnke GS, Case MP, Tisdale V and Miller RW (1966) Leukaemia and lymphocytes in ataxia-telangiectasia. *Lancet* II:1193
12. Kojis TL, Schreck RR, Gatti RA and Sparkes RS (1989) Tissue specificity of chromosomal rearrangements in ataxia-telangiectasia. *Hum Genet* 83: 347-352
13. Natarajan AT and Meyers M (1979) Chromosomal radiosensitivity of ataxia telangiectasia cells at different cell cycle stages. *Hum Genet* 52: 127-132
14. Natarajan AT, Verdegaal-Immerzeel EAM, Meijers M, Zoetelief J and Ashwood-Smith MJ (1982) Cytogenetic response of ataxia-telangiectasia cells to physical and chemical mutagens. In *Ataxia-Telangiectasia: A Cellular and Molecular Link between Cancer, Neuropathology, and Immune Deficiency* (BA Bridges and DG Harnden, eds.) John Wiley & Sons, Chichester, pp 219-226
15. O'Connor RD, Brown MG and Francke U (1982) Immunologie and karyotypic studies in ataxia-telangiectasia: specificity of break-points on chromosomes 7 and 14 in lymphocytes from patients and relatives. In: Bridges BA, Harnden DG (eds) *Ataxia-telangiectasia – a cellular and molecular link between cancer, neuropathology, and immune deficiency*. Wiley, New York. pp 259-270
16. Pandita TK, Pathak S and Geard CR (1995) Chromosome end associations, telomeres and telomerase activity in ataxia telangiectasia cells. *Cytogenet Cell Genet* 71: 86-93
17. Sanak M, Kowalczyk D and Lis G (1991) Congenital immunodeficiency with microcephaly – Seemanova syndrome. *Przegl Lek* 48: 355-357
18. Schmid W and Jerusalem F (1972) Cytogenetic findings in two brothers with ataxia-telangiectasia (Louis-Bar syndrome). *Arch Genet* 45: 49-52
19. Seemanova E, Passarge E, Benesova J, Houstek J, Kasal P, Sevcikova M (1985) Familial microcephaly with normal intelligence, immunodeficiency and risk for lymphoreticular malignancies: A new autosomal recessive disorder. *Am J Med Genet* 20: 639-648
20. Stumm M (1997) *Ataxia telangiectasia Varianten: Zytogenetische und molekulargenetische Untersuchungen an Zellen von Patienten mit spontaner Chromosomeninstabilität*. Dissertation FU Berlin
21. Taylor AMR, Matcalfe JA, Oxford JM and Harnden DG (1976) Is chromatid-type damage in ataxia telangiectasia after irradiation at G0 a consequence of defective repair? *Nature* 260: 441-443
22. Taylor AMR, Oxford JM and Metcalfe JA (1981) Spontaneous cytogenetic abnormalities in lymphocytes from thirteen patients with ataxia telangiectasia. *Int J Cancer* 27: 311-319
23. Waghray M, Gascon GG, Al-Sedairy S, Hannan MA et al (1991) Cytogenetic investigations in three cell types of a Saudi family with ataxia telangiectasia. *Hum Genet* 87: 285-289
24. Weemaes CMR, Hustinx TWJ, Scheres JMJC, van Munster PJJ, Bakkeren JAJM and Taalman RDFM (1981) A new chromosomal instability disorder: the Nijmegen breakage syndrome. *Acta Paediat Scand* 70: 557-564
25. Weemaes DMR, Smeets DFCM and Burgt CJAM (1994) Nijmegen breakage syndrome: A progress report. *Int J Radiat Biol* 66: 185-188
26. Wegner RD, Metzger M, Hanefeld F, Jaspers NGJ, Baan C, Magdorf K, Kunze J and Sperling K (1988) A new chromosomal instability disorder confirmed by complementation studies. *Clin Genet* 33: 20-32
27. Wegner RD (1991a) Chromosomal instability syndromes in man. In: Obe G (ed) *Advances in mutagenesis research* 3. Springer: 81-117
28. Wegner RD (1991b) Cytogenetic characterization of human disorders with increased spontaneous and induced chromosomal instability. In: Sobti RC, Obe G (eds) *Eukaryotic chromosomes*, Narosa Publishing House, New Delhi.
29. Wegner RD, Chrzanowska KH, Sperling K, Stumm M (1998) Ataxia telangiectasia variants (Nijmegen Breakage Syndrome). In Ochs H, Smith, Puck J (Hrsg.) *Primary immunodeficiency diseases, a molecular and genetic approach*.