

Klinik und molekulargenetische Diagnostik des MEN1-Syndroms

Hartmut Peters¹, Grit Pape¹, Daniela Völker¹, Manfred Ventz²

1 Institut für Medizinische Genetik, Universitätsklinikum Charité, Medizinische Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin

2 Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, Universitätsklinikum Charité, Berlin

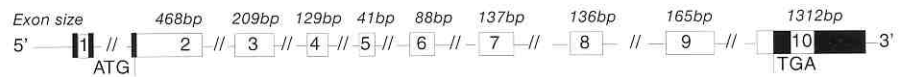


Abb 1 Struktur des MEN1-Gens

Das Syndrom der multiplen endokrinen Neoplasie (MEN) oder früher Syndrom der multiplen endokrinen Adenomatose genannt, gehört zu den pluriglandulären endokrinen Syndromen. Das MEN-Syndrom ist definiert als genetisch determiniertes Krankheitsbild mit benignen oder malignen Veränderungen von 2 oder mehr endokrinen Organen. Trotz der vielfältigen Erscheinungsbilder lassen sich 2 wichtige Formen differenzieren. Das MEN1-Syndrom (Wermer-Syndrom, OMIM 131100) geht mit Nebenschilddrüsenveränderungen, Inselzelltumoren und Hypophysenadenomen einher und ist abzugrenzen vom MEN2-Syndrom (Sipple-Syndrom, OMIM 171400), das als Hauptmanifestation medulläre Schilddrüsenkarzinome in Kombination mit bilateralen Phäochromozytomen und einer Nebenschilddrüsenhyperplasie aufweist (Typ 2a). Beim Typ 2b zeigen sich noch zusätzlich Neurofibrome und marfanoider Habitus, aber eine Nebenschilddrüsenbeteiligung tritt nicht auf.

Das MEN1 Syndrom ist gekennzeichnet durch den Befall von 2 endokrinen Organen. In der Regel sind die Nebenschilddrüsen und die Bauchspeicheldrüse und/ oder die Hypophyse betroffen. Bei familiärem Auftreten der Erkrankung reicht der Nachweis von einem Tumor. Weitere Erkrankungen können im Laufe des Lebens auftreten.

Klinisches Bild

Das klinische Bild hängt von den betroffenen Organen und den sezernierten Hormonen ab. Die Erstmanifestation beginnt meist nach dem 10. Lebensjahr mit einer Manifestations-

wahrscheinlichkeit von 80% bis zum 50. Lebensjahr. Am häufigsten, bis zu 95%, tritt das Krankheitsbild als Erstmanifestation in Form des primären Hyperparathyreoidismus als Nebenschilddrüsen-Hyperplasie oder -Adenom auf. Bei MEN1-Patienten liegt die Häufigkeit der Pankreastumoren zwischen 30–80% und die der Hypophysentumoren zwischen 50–70% (Rau 1997).

Primärer Hyperparathyreoidismus (HPT)

Nebenschilddrüsenhyperplasien und seltener Adenome führen zum primären HPT. Klinisch manifestiert sich das Krankheitsbild mit Nierensteinen, Osteopenie oder Osteodystrophia cystica fibrosa. Gehäuft kommen auch Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüre sowie Pankreatitiden vor. Meist verläuft das Krankheitsbild blande.

Pankreastumoren

Am häufigsten ist ein gastrinproduzierender Pankreas- oder Duodenaltumor, der auch häufig maligne sein kann. Die durch das Gastrin erzeugte ständig vermehrte Säuresekretion führt zu rezidivierenden, oft therapieresistenten Magengeschwüren (Zollinger-Ellison-Syndrom). Am zweithäufigsten ist das Insulinom, das durch die unkontrollierte Insulinsekretion zu einer Hypoglykämie führt. Die Patienten klagen über Heißhunger, Hyperhidrose, Herzjagen, Gewichtszunahme und Bewußtseinsstörungen, die bis zum ausgeprägten hypoglykämischen Schock führen können. Seltene Pankreastumoren bzw. Hyperplasien sind das Glukagonom,

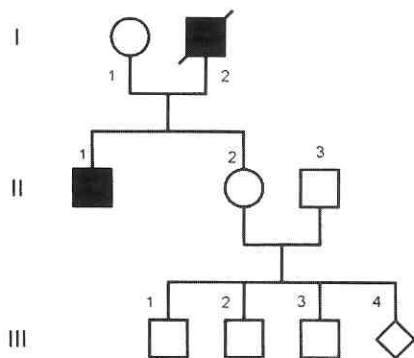
Hypophysentumoren

Hypophysentumoren können als hormonaktive Adenome wie Prolaktinom, Akromegalie sowie ganz selten als Cushing-Syndrom und als hormoninaktiver Tumor beobachtet werden. Als seltene Tumoren kommen Karzinome des Thymus, der Lungen, des Magens und des Duodenums vor. Diese Tumoren können Serotonin, Calcitonin oder auch Corticotropin sezernieren. Assoziierte Tumoren finden sich auch in der Schilddrüse und der Nebennierenrinde.

MEN1-Gen

Das MEN1-Syndrom folgt dem autosomal dominanten Erbgang und ist durch eine hohe Penetranz bei variabler Expressivität gekennzeichnet. Die Prävalenz dieser seltenen Erkrankung liegt zwischen 2:10000 bis 2:100000 (Wilkinson et al. 1996). Die MEN1 betrifft beide Geschlechter gleichermaßen und weist keine geographischen oder ethnischen Präferenzen auf.

Von Larsson et al. 1988 konnte das Gen durch klassische Kopplungsanalyse auf dem langen Arm des Chromosoms 11 (11q13) lokalisiert werden. Friedmann et al. und Thakker et al. stellten 1989 Heterozygotieverluste (LOH) in der Region 11q13 bei 50 bis 60% der Nebenschilddrüsentumoren von MEN1-Patienten fest. Die Tatsache, daß das jeweils deletierte Allel vom nichtbetroffenen Elternteil kam, unterstützte die Hypothese, daß es sich beim MEN1-Syndrom um die Inaktivierung eines Tumorsuppressorgens handelte. Jüngere Untersuchungen an MEN1-assoziierten Tumoren zeigten, daß die Mehrzahl der unter-



Marker	Haplotyp/		
	II/1	II/2	I/1
D11S956	279/275	271/275	279/271
D11S480	197/201	197/201	197/197
PYGM	186/174	162/174	186/162
D11S913	221/223	223/223	221/223
D11S987	110/114	108/114	110/108
INT2	175/163	175/163	175/175
D11S533	423/543	435/543	423/435

Abb 2 Diese präsymptomatische Kopplungsanalyse zeigt, dass die Probandin II/2 wie ihr Bruder II/1 das mutierte MEN1-Allel geerbt hat und somit Anlageträgerin ist.

suchten Nebenschilddrüsentumoren und 83% der endokrinen Pankreastumoren aber nur 21% der Gastrinome einen LOH in der MEN1-Region aufwiesen.

Es folgte eine Phase vergeblicher Suche nach Mutationen in mehr als 11 Kandidatengenen (z.B. FAU, PYGM, FKBP2, CAPN1, Phospholipase C β 3, ZFM1).

Chandrasekharappa et al. 1997 gelang es in einem Konsortium aus mehreren amerikanischen Arbeitsgruppen das MEN1-Gen zu klonieren. Es besteht aus 10 Exons und ist 9 kb lang (Abb 1). Die 2,8 kb lange mRNA kodiert für ein offensichtlich ubiquitär exprimiertes 610 Aminosäuren umfassendes Protein das „Menin“ genannt wurde. Ein Sequenzvergleich ergab keinerlei Ähnlichkeit von Menin mit anderen bisher bekannten Proteinen. Es waren weder eine Signalsequenz, noch eine hydrophobe Transmembrandomäne nachweisbar. Guru et al. 1998 konnten mittels Immunfluoreszenz nachweisen, das Menin primär im Nucleus lokalisiert ist. Sie fanden im C-terminalen Bereich des Proteins zwei unabhängige Kernlokalisationssignale.

Kopplungsanalyse

Aufgrund der altersabhängigen Manifestation der Erkrankung, entwickelt die Mehrzahl der Individuen, die ein mutiertes MEN1-Allel tragen, Symptome erst in der dritten Lebensdekade. Zur Vermeidung eines unnötigen biochemischen Screenings konnte durch das Auffinden flankierender polymorpher RFLP- und Mikrosatelliten-Marker nahe am MEN1-Locus eine präsymptomatische Diagnostik mittels

Kopplungsuntersuchung in den betroffenen Familien seit mehreren Jahren durchgeführt werden. Jedoch ließ sich nur in Familien mit bereits zwei erkrankten Individuen die Segregation des mutierten MEN1-Allels durch die Weitergabe der Markerallele verfolgen. Bei Verwendung des Markers PYGM und, jeweils eines flankierenden Telomer sowie eines Centromer gelegenen Markers lag die Sicherheit des Nachweises bei nahezu 100%.

Abbildung 2 zeigt ein Beispiel für eine präsymptomatische Kopplungsuntersuchung einer MEN1-Familie. Die Marker D11S956, D11S480, PYGM, D11S913, D11S987, INT2, D11S533 waren in dieser Familie informativ. Aus der Allelverteilung der 7 untersuchten Mikrosatellitenmarker ergibt sich, das die Probandin II/2 wie ihr Bruder II/1 das mutierte MEN1-Allel von ihrem Vater I/1 geerbt hat und somit Anlageträgerin ist. Bei ihr werden regelmäßige klinische sowie biochemische Kontrolluntersuchungen empfohlen.

Ein Ausschluß in der in Abbildung 3 dargestellten Familie gelang nur unter Einbeziehung von Tumor-DNA (Tm II/6, Nebenschilddrüsenadenom der Patientin II/6). Im Vergleich mit DNA aus Lymphozyten konnte durch LOH-Untersuchung des Tumors das mutierte MEN1-Allel identifiziert und eine Erkrankung für 3 Familienangehörige (Patienten II/1, III/2 und III/3) ausgeschlossen werden.

Wie die Beispiele zeigen, ist es mit Hilfe der indirekten Genanalyse (Kopplungsanalyse) möglich, Genträ-

ger präsymptomatisch zu identifizieren und durch endokrinologische Beobachtung die Tumoren frühzeitig zu erkennen und einer optimalen Therapie zuzuführen.

Bei einer nichtinformativen Familiensituation kann unter Zuhilfenahme von Tumormaterial eine Bestimmung des MEN1-Allels erfolgen.

Mutationsanalyse

Mit der Klonierung des MEN1-Gens im April 1997 wurde eine direkte Genanalyse (Mutationsuntersuchung) möglich. In 56 von 60 Fällen mit familiärer MEN1 konnten Agarwal et al. 1997 heterozygote Keimbahnmutationen nachweisen. Ferner wurden von dieser Gruppe bei 8 von 11 sporadischen MEN1-Fällen Mutationen gefunden.

LOH in der MEN1-Region wurden mit unterschiedlicher Häufigkeit auch in anderen sporadischen neuroendokrinen Tumoren beschrieben: LOH in 5 von 11 sporadischen, Aldosteron-produzierenden adrenokortikalen Tumoren, LOH in 78% von 46 untersuchten neuroendokrinen Tumoren verschiedener Lokalisation, LOH in 3 von 16 sporadischen Insulinomen und 8 von 18 sporadischen Gastrinomen. Familien mit isoliertem, familiärem primärem Hyperparathyreoidismus oder familiären Formen der Akromegalie durch Hypophysenadenome ohne MEN1-Phänotyp wiesen ebenfalls einen LOH in der Region 11q13 auf.

In 4 von 11 sporadischen Karzinoid-Tumoren der Lunge waren beide MEN1-Allele durch Mutationen bzw. LOH in-

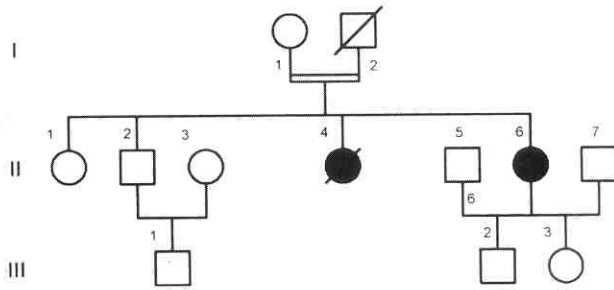


Abb 3
Diese Kopplungsanalyse war nur durch Einbeziehung der Tumor-DNA (Tm II/6) der Patientin II/6 möglich. Durch LOH-Bestimmung in der Tumor-DNA konnte das mutierte MEN1-Allel zugeordnet und die Erkrankung bei drei Familienangehörigen (II/1, III/2 und III/3) ausgeschlossen werden.

Marker	Haplotyp/Allele	in bp				
	II/6	Tm II/6	I/1	II/1	III/2	III/3
D11S956	287/279	-/279	287/283	287/259	287/271	287/283
D11S480	199/189	-/189	199/197	199/197	199/197	199/197
PGYM	178/180	-/180	178/174	178/174	178/168	178/172
D11S913	227/221	-/221	227/223	227/223	227/223	227/223
D11S987	104/102	-/102	104/112	104/112	104/112	104/108
INT2	171/179	-/179	171/177	171/169	171/167	171/169
D11S533	543/435	-/435	543/432	543/423	543/405	543/429

aktiviert. Diese Ergebnisse weisen auf die Rolle des MEN1-Tumorsuppressorgens in der Onkogenese nicht-neuroendokriner Neoplasien, wie z.B. follikulärer Schilddrüsentumoren, Brust-, Ovar- und Blasenkarzinomen hin.

Bei den bisher gefundenen Mutationen handelt es sich zumeist um Nonsense-Mutationen und um kleine Deletionen, die zu einer Verkürzung bzw. zum Funktionsverlust des Proteinproduktes Menin führen, und sich auf Grund der Tumorsuppressorfunktion des Menin erklären lassen. Insgesamt scheinen mehr als 90% der MEN1-Patienten Keimbahn-Menin-Gen-Mutationen zu tragen. Diese Mutationen sind über die ganze kodierende Sequenz verteilt, eine Hot-Spot-Region wurde bisher nicht gefunden. Etwa 70% der MEN1-Familien haben jeweils ihre spezifische MEN1-Mutation. Diese heterogene Verteilung der Mutationen erschwert die Entwicklung eines schnellen molekulargenetischen Screenings. So ein Screening wäre u.a. für Patienten mit isolierten endokrinen Tumoren sowie für die Ausschluß- bzw. präsymptomatische Diagnostik innerhalb von MEN1-Familien von Interesse.

Die familiären Tumorerkrankungen stellen eine große Belastung für alle Familienangehörigen dar. Die Komplexität der Erkrankung, die Kenntnis der Möglichkeiten der molekulargenetischen Diagnostik sowie die fachgerechte Beurteilung der klinischen Befunde erfordern eine enge Zusammenarbeit von Endokrinologen und Genetikern bei der Beratung des Patienten vor der prädiktiven Testung.

Durch den Nachweis einer MEN1-Mutation ist es jetzt möglich frühzeitig eine definitive Aussage zu treffen, ob ein Familienmitglied gefährdet ist oder nicht. Für diese Individuen kann rechtzeitig eine klinische und biochemische Kontrolle begonnen werden. In der Zukunft ergeben sich evtl. durch die Aufklärung der Menin-Funktion, als einen möglichen Zell-Zyklus-Regulator, erste Ansätze für eine Therapie.

Anmerkung

- VIP-om: Tumor mit vasoaktivem intestinalen Peptid als Hauptsekretionsprodukt
- PP-om: Tumor mit pankreatischem Polypeptid als Hauptsekretionsprodukt

Literatur

- Agarwal, Sk, Kester, MB, Debelenko, LV, Heppner, C., Emmert-Buck, MR, Skarulis, MC, et al. (1997) Germline mutations of the MEN1 gene in familial multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *Hum. Mol. Gen.* 6(7): 1169-1175
- Chandrasekharappa S, Guru S, Manickam P, Olfurni SE, Collins F, Emmert-Buck M, et al. (1997) Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1. *Science* 276: 404-407
- Friedmann E, Sakaguchi K, Bale AE, Falchetti A, Streeten E, Zimering MB et al. (1989) Clonality of parathyroid tumors in familial multiple endocrine neoplasia type 1. *New England Journal of Medicine* 321: 213-218
- Guru SC, Goldsmith PK, Burns AL, Marx SJ, Spiegel AM, Collins FS, Chandrasekharappa SC (1998) Menin, the product of the MEN1 gene, is a nuclear protein. *PNAS* 95(4): 1630-1634
- Larsson C, Skogseid B, Öberg K, Nakamura Y, Nordenskjöld M. (1988) Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature* 332: 85-87
- Larsson C., Calender A, Grimmond S, Giraud S, Hayward NK, Teh B, Farnebo F (1995). Molecular tools for presymptomatic testing in MEN type 1. *Journal of Internal Medicine* 238: 239-245

Raue F (1997): Pluriglanduläre Syndrome. in Meng W und Ziegler R: Endokrinologie: Grundlagen - Klinik - Praxis, G.Fischer Verlag, 496-508

Thakker RV, Bouloux P, Wooding C, Chotai K, Broad PM, Spurr NK, et al. (1989) Association of parathyroid tumors in multiple endocrine neoplasia type 1 with loss of alleles on chromosome 11. *N.Engl.J.Med.* 321:218-224

Teh BT, Cardinal J, Shepherd J, Hayward NK, Weber G, Cameron D, et al (1995). Genetic mapping of the multiple endocrine neoplasia type 1 locus at 11q13. *Journal of Internal Medicine* 238: 249-255

Wilkingson S, Young M, Shepherd JJ (1996): The prevalence of MEN1 in Tasmania. *Aust.N.Z.J. Surg.* 66:141-143

Korrespondenzadresse

Hartmut Peters
Institut für Medizinische Genetik
Universitätsklinikum Charité
Medizinische Fakultät
der Humboldt-Universität zu Berlin
Tel 030-2802-5681
Fax 030-2802-1286
h.peters@genetik.charite.hu-berlin.de