

Genetische Diagnostik bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Stefan Schreiber¹, S. Nikolaus² und Jochen Hampe¹

- 1) Institut für klinische Molekularbiologie (komm. Direktor: Prof. Dr. S. Schreiber)
- 2) Klinik für Allgemeine Innere Medizin (Direktor: Prof. Dr. U. R. Fölsch) des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein

Zusammenfassung

Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED, M. Crohn, Colitis ulcerosa) treten in Schüben auf und betreffen bei steigender Inzidenz bis zu 0.5–1% der jüngeren nordeuropäischen Bevölkerung. Durch den klaren Phänotyp sind chronisch entzündliche Darmerkrankungen eine Beispielerkrankung für explorative molekulare aber auch therapeutische Studien geworden. Die Ätiologie scheint modellhaft durch Triggerfaktoren (im Lebensstil westlicher Industriegesellschaften) auf dem Boden eines vererbaren genetischen Risikos erklärbar. Die Aufklärung der ersten Krankheitsgene ermöglicht die hypothetische Formulierung von Szenarios für eine zukünftige genetische Testung. Daraus wird klar, dass vor einem ethisch vertretbaren und medizinisch sinnvollen Einsatz genetischer Tests noch eine erhebliche weitere molekulare Exploration und die Etablierung geeigneter Interventionsstrategien stehen müssen.

Schlüsselwörter

CED, M. Crohn, Colitis ulcerosa

Summary

Inflammatory Bowel Disease (IBD, Crohn's disease, ulcerative colitis) is a chronic inflammatory relapsing disorder with a rising incidence and a lifetime prevalence between 0.5 and 1% in the Northwest European population. Through its clear phenotype inflammatory bowel diseases have become a prototype disease for exploratory molecular studies and therapeutic trials in chronic inflammation. The etiology model includes a polygenic susceptibility component but also strong triggering events of unknown nature in the lifestyle of Western industrialized civilizations. The identification of the first disease genes allows the hypothetical drafting of scenarios for future genetic testing. From these it appears clear that considerable additional molecular work and the establishment of intervention strategies are relevant conditions before genetic tests can be used in an ethically and medically acceptable way.

Keywords

IBD, Crohn's disease, ulcerative colitis

Einleitung

Morbus Crohn (MIM 266600) und Colitis ulcerosa (MIM 191390) sind die beiden Hauptformen der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (MIM 601458), die zu ausgeprägten zerstörenden Veränderungen des menschlichen Gastrointestinaltrakts führen können. Aufgrund des chronischen, in Schüben verlaufenden Charakters findet sich ein hoher negativer Einfluss auf Lebensqualität und sozioökonomische Leistungsfähigkeit der Erkrankten. Langzeitfolge einer chronischen Entzündung des Kolons durch diese Krankheitsbilder ist eine deutlich erhöhte Inzidenz in der Entwicklung des colorectalen Adenokarzinoms. Insbesondere der M. Crohn (Erstbeschreibung Anfang des 20. Jahrhunderts) hat eine steigende Inzidenz (bis zu 20 Neuerkrankungen /100.000 Einwohner) in allen Teilen Deutschlands. Es wird davon ausgegangen, dass die Lebenszeitprävalenz für die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung für Einwohner westlicher Industrienationen zwischen 0.5 und 1% liegt. Hauptmanifestationsalter ist die frühe Adoleszenz, mit einem nennenswerten Prozentsatz der Patienten, die ein pädiatrisches Krankheitsbild entwickeln. Obwohl klinische, endoskopische, radiologische und histologische Kriterien zur phänotypischen Unterscheidung der beiden Krankheitsbilder Morbus Crohn und Colitis ulcerosa existieren, wird davon ausgegangen, dass in bis zu 20% der Fälle eine eindeutige Zuordnung im langfristigen Verlauf nicht erfolgen kann oder revidiert werden muss. Neben diesen

Tab 1 Etablierte Kopplungsregionen und Krankheitsgene bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

Region <i>OMIM Designation</i>	Lokalisation	Krankheitsgen	Kommentar
IBD1	16 p/q	NOD2/CARD15 (16q12)	Mindestens ein weiteres Krankheitsgen in der Region, siehe auch IBD8
IBD8	16p	Unbekannt	Multiple Assoziationsbefunde am ehesten durch LD (z.B. TNF-857)
IBD2	12p13-q24	Unbekannt	
IBD3	6p	Unbekannt	
IBD4	14q11-12	Unbekannt	Weitere funktionelle Daten notwendig
IBD5	5q31	OCTN 1/2	
IBD6	19p13	Unbekannt	Externe Replikation notwendig, wahrscheinlich weitere Krankheitsgene in der Region
IBD7	1p36	Unbekannt	
IBD9	3p26	Unbekannt	
Keine	10 p/q	DLG5	

Fällen der Colitis indeterminata bestehen zwei seltene, klinisch schlecht charakterisierte und bislang genetisch nicht explorierte Sonderformen, die mikroskopische Colitis und kollagene Colitis.

Genetische Ätiologie der Erkrankung

Aus klinischen wie auch aus epidemiologischen Daten ergibt sich der Verdacht, dass es sich bei Morbus Crohn und Colitis ulcerosa nicht nur um zwei Krankheitsformen, sondern möglicherweise um ein Syndrom mit einem sowohl in den Einzelcharakteristika als auch im Krankheitsverlauf heterogenen Spektrum von Manifestationen im Gastrointestinaltrakt handelt. Diese Heterogenität, die sich auch in der Pathophysiologie zeigt, könnte ein Grund für die bislang negative Ursachenforschung mit Mitteln der Immunologie und Zellbiologie sein. Diese Art der Untersuchungen ist aus technischen Gründen auf kleine Stichproben (typischerweise weit weniger als 100 Patienten, manchmal auch weniger als 10) beschränkt und führen daher bei einer polygenen Ätiologie zu variierenden Befunden. Auch der individuell stark unterschiedliche Erfolg von immunsuppressiven Therapiemaßnahmen (z.B. Therapie mit TNF bindenden Antikörpern) könnte durch eine Heterogenität in der Ätiopathogenese der Krankheitssubgruppen und darauf aufbauender pathophysiologischer Prozesse begründet sein. Die familiäre Häufung (in circa 10% der Patienten, relatives Geschwisterrisiko (λ_s) 10-50) und die erhöhte Konkordanz zwischen mono-

zygoten Zwillingen (50-60% gegenüber 4% in dizygoten Zwillingen) dokumentiert die Beteiligung genetischer Faktoren an der Ätiologie. Das familiäre Auftreten der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen folgt keinem Mendelschen Erbgang. Daher wird eine polygene Ätiologie angenommen.

Diese Annahme wird durch den Nachweis multipler Kopplungsregionen in der Mikrosatelliten-basierten Kopplungsanalyse von erkrankten Geschwisterpaaren gestützt (Tab. 1). Bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen findet sich im Vergleich zu anderen polygenen Erkrankungen eine weitgehende Replikation von Kopplungsregionen in der kaukasischen Bevölkerung. Die Voraussetzungen für eine Identifikation der krankheitsverursachenden Mutationen scheinen daher günstig. Im Jahre 2001 erfolgte die Identifikation des ersten Krankheitsgens, NOD2 (CARD15) auf dem q-Arm des Chromosoms 16 (1-3). Drei genetische Varianten (3020insC, G908R, und R702W), die zu strukturellen Veränderungen von C-terminalen Leucin-reichen Repeat-Formationen führen, sind mit dem Auftreten des M. Crohn nicht jedoch der Colitis ulcerosa assoziiert (1-3). Insbesondere der Insertionspolymorphismus 3020insC, der zu einer Verschiebung des Leserahmens und damit einer vorzeitigen Trunkierung des Proteins führt, ist in verschiedenen Populationen die führende Risikovariante. Homozygotie für 3020insC ist ebenso wie eine kombinierte Heterozygotie mit einem sehr hohen Risiko für die

Entwicklung des M. Crohn als Erwachsener vergesellschaftet (RR ca. 25), wohingegen Heterozygotie ein moderates Risiko haben (RR 2-6) (4). Populationsrepräsentative Studien, die eine Abschätzung des absoluten Risikos ermöglichen würden, liegen bislang nicht vor. Neben den drei wesentlichen Risikovarianten des CARD15-Gens liegen noch eine Reihe seltener Sequenzvarianten vor, die ebenfalls gehäuft bei Patienten mit M. Crohn zu finden sind, deren assoziiertes genetisches Risiko jedoch nicht formal bewertet werden kann (5).

Die Kopplungsregion auf Chromosom 16 wird durch die Varianten im CARD15-Gen nicht erklärt. Es können weitere Krankheitsgene innerhalb der Kopplungsregion sowohl auf den p- als auch auf dem q-Arm vermutet werden (6). Das gleichzeitige Vorliegen mehrere Krankheitsgene innerhalb einer Kopplungsregion könnte neben dem reproduzierbaren Phänotyp der Erkrankung zum hohen Replikationsgrad der Kandidatenregion auf Chromosom 16 durch die Technik der Kopplungsanalyse (eine Analyseform, die durch eine geringe statistische „power“ gekennzeichnet ist) beigetragen haben. Interessanterweise findet sich bei Asiaten ein erheblich reduziertes Mutationsspektrum im CARD15-Gen. In dieser Rasse sind genetische Varianten im CARD15-Gen offensichtlich kaum vorhanden und die bei Kaukasiern ursächlichen Varianten sind nicht Teil des Mutationsspektrums. Daher muss davon ausgegangen werden, dass das CARD15-Gen in der

genetischen Ätiologie des M. Crohn bei Asiaten nicht beteiligt ist. (7).

Vor kurzem wurden durch Positions-klonierung zwei weitere Krankheitsgene für die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen identifiziert. Ein klares positionelles Signal wurde auf Chromosom 10 durch Assoziationskartierung über dem *DLG5*-Gen lokalisiert (8). Ein frequenter, krankheitsassoziiertes Haplotyp wurde sowohl in der Analyse von Falk-Rubinstein-Trios (TDT) als auch in Fall-Kontroll-Studien beschrieben. Eine Reihe von kodierenden Varianten konnten im *DLG5*-Gen identifiziert werden, wobei funktionelle Studien zum Beweis der Ursächlichkeit der genetischen Veränderungen noch erbracht werden müssen. Eine Interaktion zwischen Varianten im *DLG5*-Gen und Varianten im *CARD15*-Gen für das genetische Risiko für die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung konnte dokumentiert werden (8). Das zweite Krankheitsgen wurde auf Chromosom 5q31 („IBD5“-Region) vorgeschlagen. Die Risikoregion auf Chromosom 5q31 konnte zu einem großen, krankheitsassoziierten Haplotyp aufgelöst werden (9). Hier war eine weitere Assoziationskartierung durch das hohe Ausmaß an internem Kopplungsungleichgewicht nicht möglich. Mit den *OCTN1*- und *2*-Genen wurde Ionenkanal-Gene innerhalb des assoziierten Haplotyps als ursächlich vorgeschlagen. Diese Interpretation stützt sich auf die Identifikation kodierende Varianten bzw. Promoter-Polymorphismen, die die Funktion der Kanäle beeinträchtigen (10). Erwartungsgemäß sind diese kodierenden Varianten als Bestandteil des unterliegenden Haplotyps mit der Krankheit assoziiert.

In der Analyse des genetischen Risikos für chronisch entzündliche Darmerkrankungen fällt die hohe Zahl der replizierten Kopplungsregionen auf (Tab.1). In mindestens zwei Kopplungsregionen finden sich zudem klare Hinweise auf die Existenz von mehr als einem Krankheitsgen. Aus der Zahl der Kopplungsbefunde und dem Risikobeitrag der bereits identifizierten Sequenzvarianten in Krankheitsgenen kann daher die Existenz

einer sehr großen Zahl von genetischen Risikofaktoren (wahrscheinlich mehr als 20-30) vermutet werden.

Auslösende Ereignisse

Das Risiko für die Entwicklung einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung wird durch die vorliegenden genetischen Befunde allein nicht erklärt. Die meisten Patienten tragen keinen der bislang bekannten Risikofaktoren. Auch scheint es klar, dass – mit Ausnahme der *CARD15*-Homozygoten bzw. -kombiniert-Heterozygoten – die bekannten genetischen Risikovarianten in den meisten Fällen nicht zum Auftreten einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung führen, sondern die Penetranz eher gering zu sein scheint. Interessanterweise ist der M. Crohn ein Zivilisationsphänomen und wurde erstmalig erst 1920 beschrieben. Der Verdacht liegt daher nahe, dass der steile Anstieg von Inzidenzen und Prävalenzen (zuerst nach dem zweiten Weltkrieg in Nordwest-Europa, später in Süd-Europa und Asien) auf die spezifische Interaktion zwischen genetischem Risiko und auslösenden Faktoren im Lebensstil westlicher Industriegesellschaften zurückzuführen ist. Die Ursachen hierfür sind wahrscheinlich im Bereich der Hygiene oder der Ernährung zu suchen (11,12).

Ein erster Anhaltspunkt ergibt sich aus dem mechanistischen Verständnis, das aus der Identifikation des *CARD15*-Genes entwickelt wurde (2,13). Die C-terminalen Leucin-Reste des Proteins sind wesentlicher Interaktionspartner von bakteriellem Muramyl-dipeptid. Die intrazelluläre Expression des *CARD15*-Proteins in Colon-Epithelzellen stellt daher ein wichtiges Element der natürlichen Barrierefunktion gegen die Darmflora dar. Dabei führt ein Eindringen von Bakterien in Epithelzellen des Darmes über eine lokale Aktivierung von NFκB wahrscheinlich zur Elimination der Bakterien und Wiederherstellung einer intakten Barriere. Eine funktionell beeinträchtigtes *CARD15*-Protein (z.B. durch 3020insC) begünstigt hingegen eine chronische bakterielle Infektion der Colon-Epithelzelle. Interessanterweise ist auch *DLG5* in die Integrität der Colon-Epithelbarriere durch Sta-

bilisierung des Proteinkomplexes der Desmosomen involviert.

Zu dieser Hypothese passen Befunde, die eine Simplifizierung der Colon-Flora bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gegenüber gesunden Kontrollen dokumentieren (14). Eine Reduktion der normalen Diversität durch Einflüsse des Lebensstils wäre geeignet, einen erhöhten Invasionsdruck „normaler“ Bakterienspezies zu erklären. Dies könnte einen der auslösenden Kofaktoren darstellen. Unterstützend für die Hypothese ist die (allerdings limitierte) therapeutische Effizienz von Probiotika in Placebo-kontrollierten Studien zur Remissionsprophylaxe. Probiotika scheinen als einen ihrer wesentlichen Effizienzmechanismen die Diversität der Darmflora zu erhöhen. Für die Bestätigung dieser Hypothese sind jedoch noch eine Reihe von klärenden mechanistischen und molekular-epidemiologischen Studien notwendig.

Pharmakogenetik

Pharmakogenetische Studien basieren auf der Hypothese, dass Polymorphismen in Genen, die für den Abbau oder die Wirkung von Pharmazeutika notwendig sind, als Marker oder Ursache für die Ansprechrate oder das Auftreten von Nebenwirkungen bestimmt werden können. Bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen findet sich oft ein Ansprechen auf immunsuppressive Medikation von 30–60 % aus einer Kohorte von phänotypisch nicht unterscheidbaren Patienten, ohne dass eine Stratifikation aufgrund klinischer oder populationspezifischer Charakteristika möglich wäre. Die systematische Etablierung einer pharmakogenetischen Hypothese ist schwer, da ein Erbgang mit den typischen Methoden der genetischen Epidemiologie (familiäre Häufung oder Konkordanz in monozygoten Zwillingen) nicht etabliert werden kann. Es ist nicht möglich, systematische Kopplungsstudien durchzuführen, da eine ausreichende Verfügbarkeit von gleichzeitig betroffenen Geschwisterpaaren (die das Merkmal einer therapeutischen Antwort oder charakteristischen Nebenwirkung teilen würden) nicht gegeben ist. Demgegenüber

sind die molekularen Mechanismen der Wirkung und auch die Abbauwege für viele, insbesondere der neueren Therapeutika, bekannt und eröffnen damit die Möglichkeit einer gezielten Evaluation von Kandidatengen mit Mitteln der genetischen Epidemiologie, die durch Kenntnis von Pathophysiologie und Mechanismus priorisiert werden können. Pharmakogenetisch interessante molekulare Variationen können die Pharmakokinetik oder die Pharmakodynamik betreffen.

Die Behandlung von chronisch aktivem Morbus Crohn durch die Gabe eines humanisierten monoklonalen Antikörpers, der gegen TNF α gerichtet ist (Infliximab), scheint für eine pharmakogenetische Exploration besonders interessant. Dieser induziert eine komplette klinische Remission in 33–50 % der Patienten (15,16). In ersten Arbeiten wurde vorgeschlagen, dass den TNF-Locus-flankierende Mikrosatelliten eine therapeutische günstige Antwort bei einer Behandlung mit TNF-bindenden Proteinen vorhersagen sollen. Dieser Befund konnte nicht bestätigt werden. In einem aufwändigen Design mit zwei aufeinanderfolgenden prospektiven Studien, die unter den Bedingungen der „good clinical practise“ durchgeführt wurden, konnten sowohl die als ätiologisch relevant angesehenen Polymorphismen des *CARD15*-Gens als auch Varianten im *TNF*-Gen und in den TNF-Rezeptor-Genen als pharmakogenetische Prädiktoren des Therapieerfolgs einer Therapie mit dem anti-TNF Antikörper Infliximab ausgeschlossen werden (17,18). Der Wirkungsmechanismus von TNF-bindenden Proteinen scheint neben der Neutralisation von freiem TNF weitere Moleküle einzubeziehen. Wir denken daher, dass andere genetische Varianten außerhalb des Bereichs der TNF-Rezeptoren in die Modulation einer therapeutischen Antwort auf eine Therapie mit TNF-bindenden Proteinen involviert sind.

Azathioprin ist eine immunmodulatorisch wirkende Substanz, die neben ihrem Einsatz in der Immunsuppression nach Organtransplantation auch bei chronisch aktivem Morbus Crohn

und Colitis ulcerosa antientzündlich wirksam ist. Die Verwendung von Azathioprin verursacht in seltenen Fällen schwere Nebenwirkungen, die durch eine Knochenmarkssuppression, insbesondere eine Leukopenie, und opportunistische Infektionen gekennzeichnet sind. Als wesentliche abbauende Enzyme sind die Thiopurinmethyltransferase (TPMT) und die Xantinoxidase identifiziert worden. Mutationen dieser Moleküle sind mit toxischen Reaktionen assoziiert. Die Detektion von Polymorphismen im für die TPMT kodierenden Gen wird daher als klinisches Diagnostikum eingesetzt. Die Datenlage für eine Anwendung der Tests in der Praxis ist widersprüchlich: Während die Spiegel des Hauptmetaboliten (6-Thioguanin) mit der Aktivität, dem TPMT-Genotyp und der therapeutischen Effizienz korrelieren, zeigt eine Studie jüngerer Datums, dass zwar Patienten mit einer homozygoten Mutation der TPMT ein erhöhtes Risiko für eine schwerwiegende Nebenwirkung haben, jedoch die Mehrzahl aller Nebenwirkungen sich nicht durch eine Mutation in der TPMT begründen lässt (19).

Ein weiterer Zugangsweg für eine Anwendung von pharmakogenetischen Tests könnte die Beobachtung sein, dass die Expression des *CARD15*-Gens durch gamma-Interferon stark positiv reguliert wird (20). Die Applikation von gamma-Interferon hat – trotz des pathophysiologisch widersprüchlichen Mechanismus – in Einzelfällen mehrfach zu Therapieerfolgen bei kompliziertem Morbus Crohn geführt. Der Einsatz von gamma-Interferon – oder anderen Substanzen, die in Heterozygoten zu einer Stimulation der Expression des Wildtyp-Allels des *CARD15*-Gens führen – könnte daher in einer genetisch definierten Subpopulation der Patienten sinnvoll sein.

Einsatz genetischer Testverfahren – inhaltliche und strukturelle Voraussetzungen

Ein genetischer Test ist die Analyse von menschlicher DNA, RNA, Chromosomen, Eiweißen oder bestimmten Metaboliten, die dazu geeignet sind, vererbte krankheitsbezogene Ge-

notypen, Mutationen, Phänotypen oder Karyotypen für eine klinische Anwendung zu entdecken (21). Diese Definition geht deutlich über das Verständnis eines genetischen Tests in der Bevölkerung hinaus. Für einen Einsatz bei einem Krankheitsbild wie „chronisch entzündlichen Darmerkrankungen“ müssen besondere Anforderungen an Spezifität und Sensitivität gestellt werden. Tests müssen in auf den individuellen Benefit ausgerichtete diagnostische oder therapeutische Strategien einmünden. Solche diagnostischen oder therapeutischen Strategien sind keineswegs als etabliert anzusehen, sondern bedürfen der Formulierung und der prospektiven Evaluation ihres Benefits durch klinische Studien mit den Mitteln der evidenzbasierten Medizin unter diesen spezifischen Bedingungen. Eine weitere wichtige Voraussetzung ist die Kenntnis des absoluten Risikos. Dieses lässt sich aus den hochgradig selektierten Populationen, die zur erfolgreichen Definition von Krankheitsgenen genutzt werden, nicht ableiten. Die Verfügbarkeit populationsrepräsentativer Kohorten (durch Langzeitprojekte wie z.B. PopGen, KORA (im kardiovaskulären Bereich) oder EPIC (Diabetes)) ist daher eine wichtige Voraussetzung für den Aufbau von Algorithmen einer genetischen Medizin. Schließlich müssen Testverfahren kurzfristig zu für die Behandlung verfügbaren Ergebnissen führen (abhängig von der klinischen Anwendung unter Umständen in wenigen Stunden) und allgemein verfügbar sein. Bei einer Erkrankung wie chronisch entzündlicher Darmerkrankung muss zudem eine ausreichende Zugänglichkeit des genetischen Tests gegeben und des damit verbundenen Beratungsbedarfs gegeben sein. Weiterhin muss die genetische Beratung hier auch an den diagnostischen und therapeutischen Rat gekoppelt sein. Diese diagnostische und therapeutische Kompetenz ist in der Regel nur bei auf dieses Krankheitsbild klinisch spezialisierten ärztlichen Einrichtungen gegeben. Dabei muss es sich nicht zwangsläufig um Gastroenterologen handeln. Wichtig scheint hier die Notwendigkeit eine Interaktion zwischen humangenetischer Spezialisierung und auf Diagnostik und The-

rapie ausgerichteten Behandlungszentren. Im Gegensatz zu monogenen Erkrankungen ist aufgrund der Komplexität des Beratungsbedarfs jedoch die Notwendigkeit eines interdisziplinären Ansatzes abzusehen.

Anwendbarkeit genetischer Testung

Mögliche Anwendungsgebiete eines genetischen Tests sind die vorgeburtliche Testung, die Testung von Gesunden zur Steuerung von Prophylaxe-Maßnahmen und genetische Testung zur Steuerung von diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen nach Manifestation der Erkrankung.

Prä- und Perinataldiagnostik

Für die vorgeburtliche Anwendung sind weder die Natur der Krankheit noch die genetisch-epidemiologischen Charakteristika (geringe Penetranz, hohe Populationsfrequenz der ursächlichen genetischen Veränderungen) geeignet. Diese ist daher ethisch nicht vertretbar und medizinisch nicht sinnvoll.

Prophylaxe

Die Anwendung zur Prophylaxe der Manifestation der CED bei bestehender genetischer Disposition scheint aufgrund der bestehenden Hypothesen greifbar. Eine gezielte Prophylaxe in genetisch suszeptiblen Individuen wäre z.B. durch den Einsatz von Probiotika denkbar. Für einen Einsatz sind jedoch wesentliche Voraussetzungen nicht erfüllt: Das genetische Risikoprofil wird durch die derzeit bekannten ursächlichen Varianten und genetischen Marker nur unvollständig abgedeckt. Erst nach Aufdeckung weiterer ätiologischer Faktoren und deren Bewertung durch populationsrepräsentative Ansätze ist eine Einschätzung des altersspezifischen individuellen Risikos als Voraussetzung für eine Prophylaxeentscheidung möglich. Eine geeignete Prophylaxe-strategie muss zudem durch doppelblinde, kontrollierte Studien zuerst als wirksam etabliert werden. Ein solches, langfristig angelegtes Vorhaben scheint allerdings bei dieser Erkrankung aufgrund des hohen Organisationsgrades der Betroffenen und ihrer

engen Vernetzung mit der therapeutischen Szene zumindest prinzipiell möglich.

Unklar sind jedoch die gesellschaftlichen Konsequenzen eines zukünftigen prophylaktischen Einsatzes einer genetischen Testung. Eine gezielte individuell abgestimmte Präventionsstrategie bedingt zusätzlich zu den bereits diskutierten molekularen, ethischen und klinischen Voraussetzungen die Entwicklung einer geeigneten Datenschutsumgebung. Hier sind Pilotprojekte flankierend zum NGFN-2 geplant, die individuelle Datenumgebungen schaffen, die zwar den Schutz genetischer Daten vor Offenlegung garantieren, aber gleichzeitig in kryptographisch gesicherter Form die Integration eines individuellen Genotyps als Teil eines Gesamt-Risikoprofils in medizinische Expertensysteme ermöglichen.

Ein weiteres Problem ist die Bewertung genetischer Suszeptibilität im Rahmen des gesellschaftlich akzeptierten Krankheitsbegriffes. Der Krankheitsbegriff unterliegt starken kulturellen, soziologischen, gesellschaftlichen und äußeren, in den Lebensbedingungen liegenden, Einflüssen. Die Beschreibung einer Suszeptibilität für die mögliche spätere Entwicklung von Krankheiten könnte unter dem derzeitigen gesamtgesellschaftlichen Verständnis von Prinzipien der Genetik zu einer Vorverlagerung und damit Ausweitung des Krankheitsbegriffes führen. Während bislang der Krankheitsbegriff das Vorhandensein klinischer Manifestationen voraussetzt, wäre vorstellbar, dass zukünftig auch das Vorliegen von Veranlagungsfaktoren bereits Bestandteil des Krankheitsbegriffes würde. Hier muss noch einen erheblicher gesellschaftlicher Diskurs stattfinden. Um so mehr muss die Integrität der genetischen Information des Individuums trotz Nutzung für präventive oder frühtherapeutische Strategien geschützt werden. Eine Krankheitsmanifestation bleibt bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen auch bei starker genetischer Prädisposition und ohne gezielte prophylaktische Strategien ein potentiell Ereignis in der Zukunft.

Steuerung von Diagnostik und Therapie

Die pharmakogenetische Bewertung von potentiellen Therapieantworten und –nebenwirkungen ist ein naheliegender klinischer Zugangsweg. Die Erkenntnislage für Zusammenhänge zwischen genetischer Disposition und Therapieantwort ist jedoch sehr unvollständig. Besondere methodische Gefahren ergeben sich durch den Pilotcharakter vieler Studien und die verwendeten multiplen Vergleiche. Die vorgelegten pharmakogenetischen Studien sind daher sehr vulnerabel für falsch-positive Resultate. Einem pharmakogenetischen Einsatz muss daher ein Äquivalent zu den ICH-Richtlinien für die klinische Entwicklung von therapeutisch aktiven Substanzen definierter Evaluationsweg für pharmakogenetische Marker vorausgehen. Die Kohortengröße sollte durch die erwartete Frequenz der zu untersuchenden Mutation vorab geschätzt und festgelegt werden. Patienten, die in pharmakogenetische Studien eingehen, sollten nach den auch für Therapiestudien gültigen Regeln der „good clinical practice“ sorgfältig und prospektiv phänotypisch (Therapieantwort bzw. Nebenwirkungsprofil) charakterisiert worden sein. Analog den therapeutischen Studien ist eine Bestätigung des Experiments in einer unabhängigen Kohorte zu verlangen. Erst dann sollte von einer diagnostischen Etablierung eines pharmakogenetischen Markers für eine potentielle medizinische Nutzung ausgegangen werden.

Es ist allerdings zu erwarten, dass sich auch nach Überwindung der methodischen Hürden, nur sehr wenige der so validierten genetischen Risikobeziehungen aufgrund ihres positiven bzw. negativen prädiktiven Wertes für den Einsatz in der individuellen Therapieentscheidung eignen. Eine Entwicklung von pharmakogenetischen Tests ist unter diesen Qualitätsbedingungen eine Frage der politischen Willensbildung der Zulassungsbehörden, da nur in den Phasen der klinischen Arzneimittelprüfung entsprechend validierte Therapieverläufe verfügbar sein dürften.

Zusammenfassung

Die genetische Epidemiologie und die vorliegenden molekularen Befunde in der Exploration chronisch entzündlicher Darmerkrankungen weisen auf eine polygene Erkrankung hin. Der Einsatz einer genetischen Testung steht auch bei diesem Krankheitsbild trotz des fortgeschrittenen molekularen Explorationsgrades nicht in greifbarer Nähe. Ein Einsatz wäre am ehesten zur Steuerung einer gezielten Prophylaxe vorstellbar, setzt jedoch eine erfolgreiche weitere molekulare Exploration der genetischen Risikofaktoren des Krankheitsbildes und mehrjährige Vorarbeiten zur Etablierung geeigneter interventioneller Strategien voraus.

Literatur

- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard J-P, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar J-P, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606
- Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJP, Mirza MM, Mascheretti S, Fisher S, Frenzel H, King K, Hasselmeier A, MacPherson AJS, Bridger S, van Deventer S, Forbes A, Nikolaus S, Lennard-Jones JE, Foelsch UR, Krawczak M, Lewis C, Schreiber S, Mathew CG. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British population. *Lancet* 2001; 357: 1925-1928
- Cuthbert AP, Fisher SA, Mirza MM, King K, Hampe J, Croucher PJ, Mascheretti S, Sanderson J, Forbes A, Mansfield J, Schreiber S, Lewis CM, Mathew CG. The contribution of NOD2 gene mutations to the risk and site of disease in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 122: 867-874
- Lesage S, Zouali H, Cezard JP, Colombel JF, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain C, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Modigliani R, Gower-Rousseau C, Macry J, Merlin F, Chamaillard M, Jannot AS, Thomas G, Hugot JP. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 845-857.
- Hampe J, Frenzel H, Mirza MM, Croucher PJ, Cuthbert A, Mascheretti S, Huse K, Platzer M, Bridger S, Meyer B, Nurnberg P, Stokkers P, Krawczak M, Mathew CG, Curran M, Schreiber S. Evidence for a NOD2-independent susceptibility locus for inflammatory bowel disease on chromosome 16p. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99: 321-6.
- Croucher PJ, Mascheretti S, Hampe J, Huse K, Frenzel H, Stoll M, Lu T, Nikolaus S, Yang SK, Krawczak M, Kim WH, Schreiber S. Haplotype structure and association to Crohn's disease of CARD15 mutations in two ethnically divergent populations. *Eur J Hum Genet*. 2003; 11: 6-16.
- Stoll M, Corneliusen B, Costello CM, Waetzig GH, Mellgard B, Koch WA, Rosenstiel P, Albrecht M, Croucher PJ, Seegert D, Nikolaus S, Hampe J, Lengauer T, Pierrou S, Foelsch UR, Mathew CG, Lagerstrom-Fermer M, Schreiber S. Genetic variation in DLG5 is associated with inflammatory bowel disease. *Nat Genet*. 2004; 36: 476-80
- Rioux JD, Daly MJ, Silverberg MS, Lindblad K, Steinhart H, Cohen Z, Delmonte T, Kocher K, Miller K, Guschwan S, Kulbokas EJ, O'Leary S, Winchester E, Dewar K, Green T, Stone V, Chow C, Cohen A, Langelier D, Lapointe G, Gaudet D, Faith J, Branco N, Bull SB, McLeod RS, Griffiths AM, Bitton A, Greenberg GR, Lander ES, Siminovitch KA, Hudson TJ. Genetic variation in the 5q31 cytokine gene cluster confers susceptibility to Crohn disease. *Nat Genet*. 2001; 29: 223-8
- Peltekova VD, Wintle RF, Rubin LA, Amos CI, Huang Q, Gu X, Newman B, Van Oene M, Cesson D, Greenberg G, Griffiths AM, St George-Hyslop PH, Siminovitch KA. Functional variants of OCTN cation transporter genes are associated with Crohn disease. *Nat Genet*. 2004; 36: 471-5
- Gent AE, Hellier MD, Grace RH, Swarbrick ET, Coggon D. Inflammatory bowel disease and domestic hygiene in infancy. *Lancet*. 1994; 343: 766-7
- Hampe J, Heymann K, Krawczak M, Schreiber S. Association of inflammatory bowel disease with indicators for childhood antigen and infection exposure. *Int J Colorectal Dis*. 2003; 18: 413-7
- Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M, Foster SJ, Moran AP, Fernandez-Luna JL, Nunez G. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2. Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem*. 2003; 278: 5509-12
- Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Folsch UR, Timmis KN, Schreiber S. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut*. 2004; 53: 685-93
- Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, DeWoody KL, Schaible TF, Rutgeerts PJ. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N Engl J Med*. 1997; 337: 1029-35
- Nikolaus S, Raedler A, Kuhbacker T, Sfikas N, Folsch UR, Schreiber S. Mechanisms in failure of infliximab for Crohn's disease. *Lancet*. 2000; 356: 1475-9
- Mascheretti S, Hampe J, Kuhbacher T, Herfarth H, Krawczak M, Folsch UR, Schreiber S. Pharmacogenetic investigation of the TNF/TNF-receptor system in patients with chronic active Crohn's disease treated with infliximab. *Pharmacogenomics J* 2002; 2: 127-36
- Mascheretti S, Hampe J, Croucher PJ, Nikolaus S, Andus T, Schubert S, Olson A, Bao W, Folsch UR, Schreiber S. Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene: an analysis in 534 patients from two multicenter, prospective GCP-level trials. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 509-15
- Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, Marteau P, Gendre JP, Bonaz B, Soule JC, Modigliani R, Touze Y, Catala P, Libersa C, Broly F. Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. *Gastroenterology*. 2000; 118: 1025-30
- Rosenstiel P, Fantini M, Brautigam K, Kuhbacher T, Waetzig GH, Seegert D, Schreiber S. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1001-9
- Holtzmann NA and Watson MS (eds). Promoting safe and affecting testing in the United States: Final report of the task force on genetic testing. Baltimore, Jon Hopkins University Press 1998

Acknowledgement

Dieses Manuskript und die besprochenen Forschungsergebnisse basieren auf Infrastrukturen und Untersuchungen, die durch das BMBF (Nationales Genomforschungsnetz, Kompetenznetz „chronisch entzündliche Darmerkrankungen), die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) sowie die Europäische Kommission gefördert wurden. Die Untersuchungen der Autoren werden von der Deutschen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa Vereinigung (DCCV e.V.) unterstützt. Die Autoren verneinen jeglichen Konflikt zwischen Manuskriptinhalt und finanziellen Eigeninteressen. Nützliche Internetreferenzen für weitere Information: www.ngfn.de, www.popgen.de, www.kompetenznetz-ced.de

Korrespondenzadresse

Dr. Stefan Schreiber
Institut für klinische Molekularbiologie
Universitätsklinikum Schleswig Holstein der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Schittenhelmstrasse 12
24105 Kiel, Germany
Tel. +49-431-597-2350
Fax: +49-431-597-1842/1434
s.schreiber@mucosa.de