

medgen 2013 · 25:486–492
DOI 10.1007/s11825-013-0417-5
Online publiziert: 18. Dezember 2013
© Springer-Verlag 2013

F. Stanke¹ · B. Tümmler¹ · M. Stuhmann²

¹ Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Abteilung für Pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie, Medizinische Hochschule Hannover und Standort des Deutschen Zentrums für Lungenforschung (DZL) Biomedical Research in Endstage and Obstructive Lung Disease Hannover (BREATH), Hannover

² Zentrum für Pathologie, Forensik und Genetik, Institut für Humangenetik, OE 6300, Medizinische Hochschule Hannover

Mukoviszidose – eine pleiotrope Ionenkanalerkrankung mit wesentlicher Lungenbeteiligung

Bei der Mukoviszidose (zystische Fibrose, engl. „cystic fibrosis“, CF) handelt es sich um eine monogene Erkrankung, die autosomal-rezessiv vererbt wird. Sie ist bedingt durch Mutationen im Cystic-fibrosis-transmembrane-conductance-regulator (*CFTR*)-Gen, das auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q32) lokalisiert ist. Die Inzidenz der Erkrankung im deutschsprachigen Raum wird mit etwa 1:3300 [1] angegeben und erlaubt eine Abschätzung der Anlageträgerfrequenz in der Bevölkerung von etwa 1:29. Die häufigste Störung des *CFTR*-Gens, die nach der Deletion der Aminosäure Phenylalanin an der Position 508 des *CFTR*-Proteins benannte Mutation F508del-*CFTR*, wird dabei in der europäischen Population bei 70% der CF-Chromosomen der Patienten mit Mukoviszidose beschrieben, sodass die Hälfte der Mukoviszidosepatienten diese Mutation auf beiden Erbanlagen trägt, also homozygot für F508del-*CFTR* ist [1].

CFTR ist ein molekularbiologisch sehr gut untersuchtes Gen: Zahlreiche auf Diagnose und Behandlung der Mukoviszidose spezialisierte Zentren beziehen eine Sequenzanalyse der kodierenden Bereiche des *CFTR*-Gens in ihre Diagnose mit ein. Doch die sichere Einordnung von Varianten des *CFTR*-Gens in krankheitsauslösende Mutationen und Polymorphismen ohne klinische Relevanz gestaltet sich im Einzelfall schwierig: Nur wenn durch eine ausreichende Fallzahl die Kausalität gesichert ist oder die Mutation in homozygotem Zustand vorliegt, sodass durch eine patientennahe Analytik der funktionelle

Defekt bestätigt werden kann, ist die Diagnose aufgrund des genetischen Befundes möglich [2]. Das verbreitete Bild der „mit humangenetischen Methoden einfach zu diagnostizierenden Erkrankung“ wird darüber hinaus durch atypische Verlaufsformen gestört, von denen zumindest einige Fälle durch Mutationen in anderen Genen als *CFTR* erklärt werden können [2].

Pathophysiologie

Die Mukoviszidose ist eine generalisierte Exokrinopathie, da das krankheitsverursachende mutierte Gen *CFTR*, das für einen Chlorid und Bikarbonat transportierenden Ionenkanal kodiert, in der Apikalmembran epithelialer Zellen in vielen Organen exprimiert wird.

» *CFTR* ist ein Chlorid und Bikarbonat transportierender Ionenkanal

Sekundär folgt dem Basisdefekt eine Störung des Salz- und Wasserhaushalts der betroffenen Organe, die sich bereits bei etwa 15–20% der Neugeborenen als Mekoniumileus manifestieren kann. Bei erwachsenen Patienten wird häufig eine vorübergehende Obstruktion des distalen Intestinums (engl. „distal intestinal obstructive syndrome“, DIOS) beobachtet. Zu weiteren typischen Symptomen des Gastrointestinaltrakts zählt die exokrine Pankreasinsuffizienz, der unbehandelt eine generelle Gedeihstörung folgt. Als Stö-

rung des endokrinen Pankreas wird häufig ein Diabetes bei adoleszenten und erwachsenen Patienten beobachtet. Eine weitere Komplikation ist die chronisch progrediente Hepatopathie, die bei wenigen Patienten in eine portale Hypertonie und Ausbildung von Ösophagusvarizen münden kann. Männliche Patienten mit Mukoviszidose sind typischerweise infolge einer obstruktiven Azoospermie sub- oder infertil. Im Respirationstrakt wird eine kontinuierliche Verschlechterung der durch Lungenfunktionsmessung zugänglichen Parameter beschrieben. Zu den Leitsymptomen zählen Entzündungsreaktionen der Atemwege sowie eine wiederkehrende Besiedlung mit Hefen, Pilzen und bakteriellen Erregern wie *S. aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*, die trotz intensiver antimikrobieller Therapie in vielen Fällen chronisch wird. Die chronischen Atemwegsinfektionen bestimmen Verlauf und Prognose bei der Mehrzahl der Patienten [1].

CFTR-Mutationsanalyse

Das *CFTR*-Gen umfasst einen genomischen Bereich von 200.000 bp und hat 27 Exons, die insgesamt 1480 Aminosäuren kodieren. Es sind derzeit mehr als 1900 Sequenzvariationen des *CFTR*-Gens in der Cystic Fibrosis Mutation Database (<http://www.genet.sickkids.on.ca/app>, zugegriffen: 7. November 2013) aufgelistet. Nur für einen kleinen Teil dieser Sequenzvariationen ist jedoch die Rolle als krankheitsauslösende Genmutation zweifelsfrei bewie-

Tab. 1 Einordnung von *CFTR*-Varianten aufgrund ihres klinischen Phänotyps. (Mod. nach [2])

Klassifikation der <i>CFTR</i> -Sequenzvariation	Klinische Konsequenz	Beispiele ^a
A	Verursacht Mukoviszidose	G85E, R334W, R347P, A455E, I507del, F508del, S549N, G542X, G551D, R553X, R560T, E822X, R1158X, R1162X, W1282X, N1303K, 621+1G→T, 711+1G→T, 1078delT, 1677delTA, 1717-1G→A, 1898+1G→A, 2184delA, 2184insA, 2789+5G→A, 3120+1G→A, 3659delC, 3849+10kbc→T
B	Ist mit einem <i>CFTR</i> -abhängigen Krankheitsbild („ <i>CFTR</i> related disorder“) assoziiert	M592I, L977F, S997F
C	Keine klinische Konsequenz	R75Q, I148T, M470V, F508C, I506V, I521F, E528E, I807M, T854T, P1290P, 875+40 G→A, 2752-15 G→C
A oder B	Variable klinische Manifestation	R117H-T5, R117H-T7, L206W, R297Q, D565G, G576A, D1152H, 711+3A→G, TG13-T5
B oder C	Variable klinische Manifestation	TG11-T5
D	Klinische Bedeutung unbekannt	Die meisten der funktionell nicht untersuchten seltenen <i>CFTR</i> -Varianten

^aDie Cystic-fibrosis-transmembrane-conductance-regulator(*CFTR*)-Varianten sind hier in der im Feld gebräuchlichen Nomenklatur benannt. Zur Konversion in die offizielle Human-genome-variation-society(HGVS)-Nomenklatur verweisen die Autoren auf [3].

sen. Insbesondere für nur in Einzelfällen erhobene Befunde eines Aminosäureaustausches innerhalb der kodierenden Sequenz hat sich gezeigt, dass die Vorhersage der Pathogenität ohne weiterführende patientennahe Analyse des *CFTR*-vermittelten Basisdefektes nicht möglich ist. Bioinformatische Analysen (z. B. mit „mutation taster“ (MT, <http://www.mutationtaster.org/>, zugegriffen: 7. November 2013); PMut (<http://mmb.pcb.ub.es/soft.htm>, zugegriffen: 7. November 2013); PolyPhen 2 (PP2, <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/bgi.shtml>, zugegriffen: 7. November 2013); NetGene2 (NG2, <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetGene2/>, zugegriffen: 7. November 2013) und „fruitfly“ (FF, <http://www.fruitfly.org/seqtools/splice.html>, zugegriffen: 7. November 2013) ermöglichen nur eine sehr eingeschränkte Beurteilung der Pathogenität von Aminosäuresubstitutionen. Bei Leserasterverschiebungen, Stopp- oder Spleißmutationen oder bei Deletionen oder Insertionen eines oder mehrerer Exons ist die Evidenz für eine Pathogenität deutlich höher, ohne letztendlich beweisend zu sein. Ein inter-

nationales Autorenkollektiv hat sich im Jahr 2008 auf Richtlinien zur Interpretation der *CFTR*-Mutationsanalyse in der klinischen Praxis festgelegt [2]:

- Die *CFTR*-Mutationsanalyse kann genutzt werden, um bei Patienten mit klinischer Verdachtsdiagnose den Befund Mukoviszidose zu bestätigen.
- In Abhängigkeit von der Sequenzvariation können *CFTR*-Mutationen Mukoviszidose verursachen, mit einem *CFTR*-abhängigem Krankheitsbild („*CFTR* related disorder“) assoziiert sein oder keine klinische Bedeutung haben (■ **Tab. 1**). Die Einordnung einer bislang unbekannt *CFTR*-Sequenzvariation in eine dieser Kategorien ist in sehr vielen Fällen ohne zusätzliche funktionelle Daten nicht möglich. Die sich daraus ergebenden Limitationen der *CFTR*-Mutationsanalyse müssen dem Arzt, der den genetischen Befund erfragt und gegenüber dem Patienten interpretieren muss, mitgeteilt werden.
- Für die weitaus meisten *CFTR*-Sequenzvariationen ist derzeit nicht be-

wiesen, dass sie pathologische Konsequenzen haben.

- Es gibt *CFTR*-Mutationen, deren klinische Manifestation von Patient zu Patient variabel ist, sodass im Einzelfall mithilfe der *CFTR*-Mutationsanalyse weder eine zweifelsfreie Bestätigung noch ein Ausschluss einer Mukoviszidose möglich ist.

Es gibt große geographische und ethnische Unterschiede im Mutationsspektrum: Wenige *CFTR*-Mutationen erreichen weltweit eine Frequenz von mehr als 0,1%. Aber in einigen Populationen können solche seltenen *CFTR*-Mutationen gehäuft auftreten. Neben Einzelnukleotidaustauschen und kleinen Insertionen und Deletionen sind große genomische Umlagerungen bekannt, die mehr als ein Exon im *CFTR*-Gen umfassen können. Die häufigste dieser genomischen Deletionen ist *CFTR*dele2,3(21kb), die in der slawischen Bevölkerung auf 6% der Chromosomen zu finden ist. Darüber hinaus gibt es komplexe *CFTR*-Allele, bei denen Sequenzvariationen an mehr als einer Position bekannt sein müssen, um die klinische Bedeutung abzuleiten. Dazu zählen der dem Exon 9 voranstehende intronständige $T_n(TG)_m$ -Repeat (synonym gebraucht sind hier: T5, IVS8-T5) sowie die Missense-Mutation R117H. In Abhängigkeit von der Kombination der Allele an den einzelnen Positionen des komplexen *CFTR*-Haplotyps können sie entweder

- Mukoviszidose verursachen (R117H-T5, R117H-T7, TG13-T5),
- mit der Manifestation eines *CFTR*-abhängigen Krankheitsbilds (*CFTR*-related disorder) assoziiert sein (R117H-T5, R117H-T7, TG13-T5, TG12-T5, TG11-T5) oder
- keine klinische Relevanz haben (TG11-T5; [2]).

Die *CFTR*-Mutationsanalyse ist dennoch für die klinische Praxis außerordentlich wertvoll, da für die häufigsten Mutationen, die etwa 90% des CF-Genpools im deutschsprachigen Raum ausmachen, der Krankheitswert belegt ist [4].

Genotyp-Phänotyp-Beziehungen

Die krankheitsauslösenden Sequenzvariationen des *CFTR*-Gens werden in Abhängigkeit vom molekularen Phänotyp in 5 Klassen eingeteilt (■ Tab. 2). Dabei spielt die Zellbiologie der *CFTR*-exprimierenden Epithelzelle eine große Rolle. Funktionsfähiges *CFTR* ist in der Apikalmembran der polarisierten Epithelzelle lokalisiert und hat auf dem Weg dorthin zahlreiche Prozessierungs- und Reifungsvorgänge durchlaufen. Je nachdem ob kein (Klasse I) oder wenig (Klasse V) *CFTR*-Protein gebildet wird und je nachdem, ob das aberrante *CFTR*-Protein hinsichtlich seiner zellulären Reifung (Klasse II), hinsichtlich der Regulation (Klasse III) oder hinsichtlich der Effizienz (Klasse IV) eingeschränkt ist, kann die *CFTR*-vermittelte Ionenleitfähigkeit entweder vollständig fehlen oder es kann eine geringe Menge an *CFTR*-vermittelter Restfunktion beobachtet werden [1].

Bei Patienten, die in einer Genkopie eine Mutation geerbt haben, die sicher den Klassen IV oder V zugeordnet werden kann, zeigt sich eine mildere Verlaufsform der Mukoviszidose, die meist mit exokriner Pankreassuffizienz einhergeht. Komplikationen wie Mekoniumileus, DIOS, Lebererkrankung oder Diabetes werden nahezu ausschließlich bei exokrin pankreasinsuffizienten Patienten beobachtet, die auf beiden Chromosomen Mutationen der Klassen I, II oder III tragen. Es gibt derzeit keine darüber hinausgehenden belastbaren Daten, die einen Zusammenhang zwischen einem spezifischen *CFTR*-Mutationsgenotyp und diesen weiteren Komplikationen belegen. Von einer weitergehenden Vorhersage des Erkrankungsverlaufes rät die Europäische CF-Gesellschaft daher ab, da neben dem *CFTR*-Mutationsgenotyp besonders für den Verlauf der Lungenerkrankung zahlreiche weitere Einflussgrößen eine Rolle spielen [1, 2].

CFTR-abhängige Erkrankungen

In den letzten Jahren sind durch die verbesserten diagnostischen Möglichkeiten zunehmend Fälle beschrieben worden, die als *CFTR*-abhängige Erkrankungen („*CFTR*-related disorder“, „CF-

medgen 2013 · 25:486–492 DOI 10.1007/s11825-013-0417-5
© Springer-Verlag 2013

F. Stanke · B. Tümmler · M. Stuhmann

Mukoviszidose – eine pleiotrope Ionenkanalerkrankung mit wesentlicher Lungenbeteiligung

Zusammenfassung

Die monogene Erkrankung Mukoviszidose wird durch Mutationen im Cystic-fibrosis-transmembrane-conductance-regulator(*CFTR*)-Gen verursacht und folgt einem rezessiven Erbgang. Die erfolgreiche Diagnose der Erkrankung erfolgt durch eine enge Verzahnung von klinischer Beurteilung, humangenetischer Diagnostik und patienten-naher Analyse des *CFTR*-vermittelten Basisdefekts durch Nachweis von dysfunktionalem *CFTR* in der Schweißdrüse, der Nasen- oder der Darmschleimhaut. Häufig ist eine Differenzialdiagnose zu *CFTR*-abhängigen Erkrankungen wie kongenitaler bilateraler Aplasie

der Vasa deferentia (CBAVD), Pankreatitis und Bronchiektasen nötig. Für einige *CFTR*-Mutationen stehen spezifische Therapeutika zur Verfügung, die auf die jeweilige Sequenzvariante zugeschnitten sind und so den *CFTR*-Mutationsgenotyp direkt klinisch nutzbar machen.

Schlüsselwörter

Zystische Fibrose · Zystische Fibrose Transmembranleitfähigkeitsregulator (*CFTR*) · Keimbahnmutation · Genetische Erkrankung, angeboren · Molekulare Medizin

Cystic fibrosis—a pleiotropic ion channel disease with significant pulmonary involvement

Abstract

The monogenic disease cystic fibrosis is caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene and is inherited in an autosomal recessive fashion. Successful diagnosis of the disease is achieved by patient history, clinical assessment, genetic analysis of the *CFTR* gene and by in vivo measurement and ex vivo characterization of the basic defect in patient's samples. Frequently, differential diagnosis of *CFTR*-related disorders such as congenital bilateral absence of the vas deferens

(CBAVD), pancreatitis and bronchiectasis needs to be performed. Molecular therapeutics has been developed for some *CFTR* mutations and these will facilitate direct clinical use of the information provided by *CFTR* mutation analysis.

Keywords

Cystic fibrosis · Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) · Germ-line mutation · Genetic diseases, inborn · Molecular medicine

like disease“) zusammengefasst werden [5]. Diese Patienten sind häufig compound-heterozygot für je eine Mutation der Klassen I–III und IV oder V bzw. homozygot für Mutationen der Klassen IV oder V, wie z. B. viele Patienten mit kongenitaler bilateraler Aplasie der Vasa deferentia (CBAVD), oder es ist nur eine krankheitsauslösende *CFTR*-Variante nachweisbar, wie z. B. bei einigen CBAVD-Patienten, Patienten mit Pankreatitis oder Lungenerkrankung mit Bronchiektasen. Es gibt darüber hinaus Befunde, die dafür sprechen, dass Mutationen in den Genen *SCNNIA*, *SCNNIB* und *SCNNIG*, die für die Untereinheiten des epithelialen Natriumkanals (ENaC) kodieren, einen CF-ähnlichen Phänotyp hervorrufen können [2]. Eine bereits be-

kannte Phänokopie einer mild verlaufenden Mukoviszidose, der Pseudohypoadosteronismus Typ I, wird durch Mutationen in den ENaC-Untereinheiten ausgelöst. Es ist denkbar, dass die Kombination solcher ENaC-Varianten mit einer Mukoviszidoseanlageträgerschaft an der Manifestation von Symptomen beteiligt ist, die mit einer milden oder atypischen Verlaufsform der Mukoviszidose vergleichbar sind. Dieses Themengebiet ist derzeit in der Grundlagenforschung verankert und im Rahmen einer Mukoviszidosegenodiagnostik noch nicht für die klinische Praxis geeignet.

Tab. 2 Einordnung von gut charakterisierten krankheitsauslösenden Cystic-fibrosis-transmembrane-conductance-regulator(CFTR)–Mutationen aufgrund ihres molekularen Phänotyps.(Nach [1, 2])

CFTR-Mutationsklasse	Molekularer Phänotyp	Beispiele	CFTR-vermittelte Restfunktion möglich?
I	CFTR-Protein wird nicht gebildet	Stoppmutationen: z. B. E60X, G542X, R553X, W1282X Insertionen und Deletionen, die mit einer Verschiebung des Leserasters einhergehen: 394delTT, 1078delT, 1677delTA, 2184delA, 2184insA, 3659delC viele große genomische Umlagerungen: z. B. CFTRde-IE _{2,3} (21kb) Spleißmutationen an obligat konservierten Positionen: z. B. 621+1G→T, 711+1G→T, 1717-1 G→A, 3120+1G→A	Nein
II	CFTR-Protein wird gebildet, aber die intrazelluläre Reifung ist fehlerhaft	L206W, F508del, N1303K	Ja
III	CFTR-Protein erreicht die Apikalmembran der Zelle, aber die Regulation ist fehlerhaft	G551D, R560T	Nein
IV	Verminderter Ionenstrom durch den ansonsten regelgerecht prozessierten CFTR-Ionenkanal	R117H, R117C, R334W, R347P	Ja
V	Verringerte Mengen an regelgerecht prozessiertem funktionsfähigem CFTR erreichen die Apikalmembran der Zelle	Spleißmutationen an nichtkonservierten Positionen, aus denen partiell ein korrigiertes CFTR-Transkript in voller Länge hervorgehen kann: z. B. 3849+10kb C→T, 2789+5 G→A, 3272-26A→G, 1811+1.6kb A→G einige Spleißmutationen an konservierten Positionen: z. B. 296+1G→A, 2751+2T→A einige Missensemutationen: z. B. A455E, D565G, G576A	Ja

Diagnostischer Nachweis von dysfunktionalem CFTR

Die CFTR-vermittelte Störung des Ionenstroms – der sog. Basisdefekt der Mukoviszidose – wird zur funktionellen Diagnose der Erkrankung mithilfe von

- Messung der Chloridkonzentration im Schweiß nach Pilocarpinintophorese (sog. Schweißtest),
- In-vivo-Messung der Potenzialdifferenz des nasalen Epithels (NPD) und
- Ex-vivo-Messung der Ionenströme in rektalen Schleimhautbiopsaten (ICM)

genutzt [6]. Die CFTR-Mutationsanalyse und die Basisdefektmessung ergänzen sich dabei in der Diagnose der Mukoviszidose und in der Abgrenzung der Mukoviszidose von einer CFTR-abhängigen Erkrankung (Tab. 3).

» CFTR-Mutationsanalyse und Basisdefektmessung ergänzen sich

Von unschätzbarem Vorteil ist die mit NPD und ICM gegebene Möglichkeit der Ausschlussdiagnose der Erkrankun-

gen Mukoviszidose oder einer CFTR-abhängigen Erkrankung bei unklarer klinischer Relevanz eines Genotypisierungsbefunds und grenzwertigen Befunden im Schweißtest., da eine Funktion von CFTR im Normalbereich von beiden Techniken zweifelsfrei erkannt werden kann.

In dem in Tab. 3 gezeigten Diagnosealgorithmus, der von einem internationalen Expertengremium im Jahr 2011 vorgeschlagen wurde, zeigt sich im Vergleich zum letzten Jahrtausend ein Umdenken hinsichtlich der relativen Wertigkeit der CFTR-Mutationsanalyse und der funktionellen Diagnostik durch ICM und NPD [5]. So wird nun für Patienten mit einem *nichtpathologischen* Schweißtest eine Basisdefektdiagnostik mithilfe von ICM und/oder NPD empfohlen, wenn ein erstes CFTR-Mutationsscreening keine Diagnose der Mukoviszidose erlaubt (Tab. 3). Diese Empfehlung fußt auf der Erfahrung, dass in der Vergangenheit durch eine umfassende CFTR-Mutationsanalyse häufig Sequenzvarianten identifiziert wurden, deren klinische Relevanz nicht eingeschätzt werden konnte und die daher ohne Nachweis einer CFTR-Dysfunktion in einem funktionellen Test keinen diagnostischen Wert besitzen [5]. Die

spezialisierten Techniken ICM und NPD stehen in Deutschland derzeit an den Mukoviszidoseambulanzen in Berlin (Charité), Bochum, Gießen, Hannover und Heidelberg zur Verfügung.

CFTR: membranständiger Ionenkanal in komplexem Netzwerk

CFTR ist ein membranständiger anionenselektiver Kanal. Die phylogenetische Herkunft des CFTR-Proteins, dessen Struktur sich vom dimerisierten ATP-binding-cassette(ABC)-Transporter ableitet, lässt sich dabei am Proteinaufbau erkennen: Je 6 Transmembrandomänen und eine nukleotidbindende Domäne bilden eine der beiden CFTR-Untereinheiten innerhalb der Polypeptidkette [7]. Diese beiden durch eine zytoplasmatische regulatorische Domäne verbundenen Untereinheiten des CFTR gehen während der Öffnung und des Schließens des Kanals Wechselwirkungen ein. Die beiden nukleotidbindenden Domänen können mit ATP nichtkovalent interagieren. Die Steuerung der Kanalöffnung erfordert dabei sowohl eine ATP-Bindung wie bei anderen ligandengesteuerten Ionenkanä-

Tab. 3 Diagnosealgorithmus für CF und CFTR-abhängige Erkrankungen^a. (Mod. nach [4, 5])

Klinische Verdachtsdiagnose auf Mukoviszidose → Schweißtest und CFTR-Mutationsanalyse: Test auf häufige CFTR-Varianten	
Zwei pathogene CFTR Mutationen (AA) ^b und Chloridkonzentration im Schweißtest >60 mmol/l	Diagnose CF
Keine (– –) oder eine (A –) pathogene CFTR-Mutation und Chloridkonzentration im Schweißtest 30–60 mmol/l oder eine pathogene CFTR-Mutation (A –) und Chloridkonzentration im Schweißtest <30 mmol/l → CFTR-Mutationsanalyse: Test auf seltene CFTR-Varianten/Gensequenzierung	
Zwei pathogene CFTR Mutationen (AA) vorhanden	Diagnose CF
Eine pathogene CFTR-Mutation und eine CFTR-Variante unbekannter klinischer Bedeutung (AD) → Funktionsanalytik CFTR: NPD/ICM ^d	
NPD/ICM zeigt CFTR-Dysfunktion	Diagnose CF
NPD/ICM zeigt keine CFTR-Dysfunktion	Keine CF
eine pathogene CFTR-Mutation und eine mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Variante (AB) oder zwei mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Varianten (BB)	Diagnose CFTR-RD
Keine (– –) oder eine (A–) pathogene CFTR-Mutation oder keine (– –) oder eine (B –) mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Variante → Funktionsanalytik CFTR: NPD/ICM ^d	
NPD/ICM zeigt CFTR Dysfunktion	Diagnose CF oder CFTR-RD
NPD/ICM zeigt keine CFTR-Dysfunktion und eine pathogene CFTR-Mutation (A–) oder eine mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Variante (B –) und Chloridkonzentration im Schweißtest 30–60 mmol/l	Proband nicht klassifizierbar ^c
NPD/ICM zeigt keine CFTR-Dysfunktion und keine (– –) oder eine (A –) pathogene CFTR-Mutation oder keine (– –) oder eine (B –) mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Variante und Chloridkonzentration im Schweißtest <30 mmol/l	Keine CF
Keine pathogene CFTR-Mutation (– –) und Chloridkonzentration im Schweißtest <30 mmol/l und männliche Infertilität und/oder CBAVD und/oder Pankreatitis und/oder Bronchiektasen vorhanden <i>erfordert weiteres diagnostisches Vorgehen nach [4] wie andrologische Evaluation, Mutationsanalyse der Gene SPINK1, PRSS 1, CTSC</i> → Funktionsanalytik CFTR: NPD/ICM ^d und CFTR-Mutationsanalyse: Test auf seltene CFTR-Varianten/Gensequenzierung	
NPD/ICM zeigt CFTR-Dysfunktion	Diagnose CF oder CFTR-RD
NPD/ICM zeigt keine CFTR-Dysfunktion	
keine pathogene CFTR-Mutation (– –)	Keine CF, CFTR-RD unwahrscheinlich
Eine pathogene CFTR-Mutation (A –) oder eine mit CFTR-abhängiger Erkrankung assoziierte Variante (B –)	Diagnose CFTR-RD
^a Bei Verdacht auf eine CFTR-abhängige Erkrankung (CFTR-related disorder, CFTR-RD) mit kongenitaler bilateraler Aplasie der Vasa deferentia (CBAVD), Bronchiektasen, Pankreatitis wird zunächst ein Schweißtest und die CFTR-Mutationsanalyse per Test auf häufige CFTR-Varianten empfohlen. Je nach klinischer Evaluation wird anschließend eine umfassende CFTR-Mutationsanalyse und/oder eine CFTR-Funktionsanalytik empfohlen [5]. ^b CFTR-Genotypklassifikation: A, B, D nach Tab. 1 ; –: keine CFTR-Variante identifiziert ^c Monitoring des Langzeitverlaufs an CF-Ambulanz in Jahreskontrollen und Wiederholung der CFTR-Funktionsanalytik empfohlen. ^d Sowohl bei NPD- als auch bei ICM-Messungen wurden in jüngster Zeit Probanden mit einer CFTR-Minderfunktion im Graubereich zwischen CF und Nicht-CF identifiziert, die sich nicht eindeutig klassifizieren ließen. Diese Patienten boten nicht den in der Literatur beschriebenen Phänotyp einer CFTR-RD, sondern zeigten klinisch Teilaspekte einer sehr milden CF (z. B. Nasalpolypen, Disposition zu Atemwegsinfektionen) und trugen keine Mutation in den CFTR-Exons und flankierenden Intronbereichen (Daten aus dem CFTR-Funktionsanalytik des Referenzzentrums der Medizinischen Hochschule Hannover). CFTR, „cystic fibrosis transmembrane conductance regulator“, NPD In-vivo-Messung der Potenzialdifferenz des nasalen Epithels, ICM Ex-vivo-Messung der Ionenströme in rektalen Schleimhautbiopsaten, CF zystische Fibrose.	

len als auch eine ATP-Hydrolyse wie bei klassischen Transportproteinen. Darüber hinaus kann die regulatorische Domäne durch ATP-, Ca²⁺- und cGMP-abhängige Proteinkinase an mehreren Serin- und Tyrosinbausteinen phosphoryliert werden, wodurch die Öffnungswahrscheinlichkeit des Kanals gesteuert wird [7].

Funktionsfähiges regelgerecht prozessiertes CFTR in der Apikalmemb-

ran von Epithelzellen ist komplex glykosyliert und hat zuvor zahlreiche intrazelluläre Reifungs- und Transportvorgänge durchlaufen [8]. Der Transportweg führt vom Endoplasmatischen Retikulum, an dem die Proteinsynthese stattfindet und dabei die 12 Transmembrandomänen der entstehenden Polypeptidkette kotranslational in die Plasmamembran inseriert werden, durch den Golgi-Apparat, wo

das korrekt gefaltete Protein glykosyliert wird, zur Plasmamembran. Nach Fusion eines Trans-Golgi-Vesikels mit der Plasmamembran kann CFTR an der Apikalmembran als Chlorid- und Bikarbonatkanal aktiv werden. Fehlerhaft gefaltetes CFTR wird bereits im endoplasmatischen Retikulum erkannt und nach Ubiquitylierung im Proteasom abgebaut [8]. Ein retrograder Transport von CFTR findet

im subapikalen Kompartiment durch endozytotisch gebildete Vesikel statt, wobei diese CFTR-Kanäle entweder durch Vesikeltransport zur Apikalmembran zurück recycelt werden können oder in Lysosomen abgebaut werden [8]. Die weltweit häufigste Mukoviszidose auslösende Mutation F508del-CFTR ist dabei als Reifungsmutante bekannt, da im Vergleich zum Wildtyp-CFTR nur ein geringer Teil von F508del-CFTR korrekt prozessiert die Plasmamembran der Epithelzelle erreicht [1, 8].

Der im Jahr 1989 vergebene Genname CFTR bedeutet übersetzt „Mukoviszidose-Transmembranleitfähigkeitsregulator“ und beschreibt die inzwischen gut charakterisierten Eigenschaften des CFTR-Proteins überraschend genau: CFTR geht vielseitige Wechselwirkungen mit anderen Proteinen ein und beeinflusst so den über CFTR und andere Ionenkanäle vermittelten Ionentransport der Epithelzelle [9]. Bekannte Interaktionspartner von CFTR sind:

- PDZ-bindende Proteine: CFTR hat C-terminal eine PDZ-Domäne und kann daher mit PDZ-bindenden Proteinen interagieren. Zu diesen PDZ-vermittelten Interaktionen zählen Wechselwirkungen mit den ebenfalls apikal lokalisierten regulatorisch wirkenden Proteinen NHERF1, NHERF2, NHERF3 (alias PDZK1), NHERF4, PDZK2 und CORTBP1 sowie das im Golgi lokalisierte PDZ-bindende Protein GOPC [9].
- Proteine, die die Faltung und Reifung von CFTR ermöglichen: z. B. das im endoplasmatischen Retikulum lokalisierte Hsp70 („70 kDa heat-shock protein“; [8, 9]).
- Proteine, die mit intrazellulärem Vesikeltransport assoziiert sind: Syntaxine wie STX12, STX1A und Bestandteile des Zytoskeletts, das die Vesikel leitet, wie KRT8 [8, 9].

CFTR ist somit in ein Signaltransduktionsnetzwerk eingebunden: PDZ-bindende Proteine vermitteln die Interaktion von CFTR mit anderen Ionenkanälen, wie z. B. dem epithelialen amilorid-sensitiven Natriumkanal. Die zentrale Rolle des CFTR-Netzwerks für die Regulation des Salz- und Wasserhaushalts der

Epithelien bei der Abwehr von Pathogenen wird dabei durch die Verzahnung von immunologisch relevanten Mechanismen mit der Manifestation des CFTR-vermittelten Basisdefekts deutlich [10]: Einige membranständige Rezeptoren für bakterielle und virale Bestandteile wirken unmittelbar auf die Expression und Aktivität von CFTR ein [10]. Ein solcher Wirkmechanismus weist CFTR eine Schlüsselrolle in der Abwehr viraler und bakterieller Pathogene zu und erklärt überzeugend, warum an CFTR-Defizienz erkrankte Patienten mit Mukoviszidose anfällig für Infektionen mit opportunistischen Pathogenen sind, die für andere Menschen mit gesundem Immunsystem keine Bedrohung darstellen [1, 10].

Modifizierende Gene und Umweltfaktoren beeinflussen Krankheitsverlauf

Zahlreiche CFTR-Interaktionspartner sowie Schlüsselmoleküle der zellulären Immunabwehr wurden in den vergangenen Jahren als modifizierende Gene bei Mukoviszidose beschrieben [10, 11]. Auch die Bedeutung von epigenetischen Regulationsmechanismen ist für die Mukoviszidose erkannt worden [11]. Allerdings ist unstrittig, dass Umweltfaktoren die Rolle jeder vererbten Dispositionen überlagern: Die Lebenserwartung für Mukoviszidosepatienten ist in den westlichen Industrienationen seit der Mitte des letzten Jahrhunderts um mehrere Jahrzehnte angestiegen [1, 10, 11]. Dabei sind die wichtigsten Einflussfaktoren der sozioökonomische Status, die regelmäßige Versorgung der Patienten in einem multidisziplinären Team an einer auf Mukoviszidose spezialisierten Ambulanz sowie der Zugang zu modernen Therapeutika, von denen die mutationsspezifischen Therapien in den kommenden Jahren eine entscheidende Rolle spielen werden [1, 12].

Molekulare Medizin

In den letzten Jahren sind für die seltene Erkrankung Mukoviszidose Therapeutika entwickelt worden, die für einzelne CFTR-Mutationen spezifische molekulare Wirkmechanismen nutzen. Zur Korrektur von Stoppmutationen wur-

de Ataluren (alias PTC124) entwickelt [1, 12]. Der CFTR-Verstärker Ivacaftor (alias VX-770, Kalydeco®) ermöglicht CFTR-vermittelte Anionenleitfähigkeit bei Trägern der Mutation G551D. Molekulare Therapeutika für F508del-CFTR sind in der Entwicklung und werden in Studien der Phase II und III geprüft. Die derzeit für solche maßgeschneiderten Therapien anfallenden Kosten von etwa 250.000 € pro Patient und Jahr im Falle von Ivacaftor belasten dabei das Gesundheitssystem jenseits der für die Gesamtheit aller Mukoviszidosepatienten realisierbaren Möglichkeiten [12].

Fazit für die Praxis

- Die Mukoviszidose ist eine bei Humangenetikern seit langer Zeit bekannte Erkrankung, an der die Grenzen der umfassenden Mutationsanalyse und ihre Wertigkeit für den Einzelfall sehr gut erfasst werden können.
- Der Umgang mit und die Deutung von seltenen Sequenzvarianten des CFTR-Gens haben in den letzten Jahren einen Paradigmenwechsel erfahren: Inzwischen wird die patientennahe CFTR-Funktionsanalytik zur Einschätzung der klinischen Bedeutung von seltenen CFTR-Sequenzvarianten gefordert.
- Es ist abzusehen, dass der CFTR-Mutationsgenotyp in Zukunft bei der Indikation für mutationstypspezifische Therapien eine zentrale Rolle spielen wird. In der Cystic Fibrosis Mutation Database CFTR1 (<http://www.genet.sickkids.on.ca>) kann man sich über alle bisher bekannten Sequenzvarianten im CFTR-Gen informieren, in der Datenbank CFTR2 (<http://www.cftr2.org>, zugegriffen: 7. November 2013) stehen Informationen zum molekularen und klinischen Phänotyp von CFTR-Sequenzvarianten zur Verfügung.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. M. Stuhmann

Zentrum für Pathologie, Forensik und Genetik,
Institut für Humangenetik, OE 6300,
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover
stuhmann.manfred@mh-hannover.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. F. Stanke, B. Tümmler und M. Stuhmann geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine Studien an Menschen oder Tieren.

Literatur

1. O'Sullivan BP, Freedman SD (2009) Cystic fibrosis. *Lancet* 373:1891–1904
2. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr et al (2008) Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 7:179–196
3. Berwouts S, Morris MA, Girodon E, Schwarz M, Stuhmann M, Dequeker E. Mutation nomenclature in practice: Findings and recommendations from the cystic fibrosis external quality assessment scheme. *Hum Mutat*; 2011;32:1197–1203
4. Naehrlich L, Stuhmann-Spangenberg M, Barben J et al (o J) S2-Konsensus-Leitlinie „Diagnose der Mukoviszidose“ der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. (AWMF 026–023). <http://www.AWMF.org>. Zugriffen: 7. November 2013
5. Bombieri C, Claustres M, De Boeck K et al (2011) Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros* 10(Suppl 2):S86–S102
6. De Boeck K, Derichs N, Fajac I et al (2011) New clinical diagnostic procedures for cystic fibrosis in Europe. *J Cyst Fibros* 10(Suppl 2):S53–S66
7. Kirk KL, Wang W (2011) A unified view of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gating: combining the allostereism of a ligand-gated channel with the enzymatic activity of an ATP-binding cassette (ABC) transporter. *J Biol Chem* 286:12813–12819
8. Ameen N, Silvis M, Bradbury NA (2007) Endocytic trafficking of CFTR in health and disease. *J Cyst Fibros* 6:1–14
9. Li C, Naren AP (2010) CFTR chloride channel in the apical compartments: spatiotemporal coupling to its interacting partners. *Integr Biol* 2:161–177
10. Stanke F, Becker T, Kumar V et al (2011) Genes that determine immunology and inflammation modify the basic defect of impaired ion conductance in cystic fibrosis epithelia. *J Med Genet* 48:24–31
11. Collaco JM, Cutting GR (2012) Environmental and non-CFTR modifiers of cystic fibrosis. *CML – Cystic Fibrosis* 2: 57–65
12. Barrett PM, Alagely A, Topol EJ (2012) Cystic fibrosis in an era of genomically guided therapy. *Hum Mol Genet* 21:R66–R71

Hier steht eine Anzeige.