

## Genetische Aspekte der chronischen Pankreatitis\*

Heiko Witt<sup>1</sup>, Peter Simon<sup>2</sup>, Markus M. Lerch<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitätskinderklinik der Charité, Campus Virchow-Klinikum, Berlin und

<sup>2</sup>Medizinische Klinik B der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster

1952 beschrieben Comfort und Steinberg erstmals eine hereditäre Form der chronischen Pankreatitis, die einem autosomal dominantem Erbgang folgte (8). Diese hereditäre Form der chronischen Pankreatitis ist durch rezidivierende Pankreatitisschübe, die meistens in der frühen Kindheit beginnen, durch eine positive Familienanamnese, eine gleiche Geschlechterverteilung, das frühzeitige Auftreten eines Pankreaskarzinomes, sowie in der Regel durch das Fehlen anderer krankheitsassoziiierter Risikofaktoren charakterisiert (31). 1996 gelang die Identifikation eines mit der sogenannten hereditären chronischen Pankreatitis assoziierten Gendefektes im kationischen Trypsinogen-Gen (50). Nur kurze Zeit später wurden Veränderungen in weiteren Genen mit der chronischen Pankreatitis – insbesondere der klinisch idiopathischen Form – in Verbindung gebracht (6, 54). Die pathophysiologischen Grundlagen der genetisch bedingten Pankreatitiden sind noch nicht endgültig aufgeklärt. Bereits vor über einem Jahrhundert stellte Hans Chiari die Hypothese auf, dass die Pankreatitis Folge einer Selbstverdauung des Organs sei (4). Die Entdeckung, dass Mutationen im kationischen Trypsinogen-Gen zu einer chronischen Pankreatitis führen können (50) und die Tatsache, dass Trypsin alle anderen Verdauungsenzyme aktivieren kann, legen heute eine Schlüsselrolle von Trypsin bei der Entstehung der Pankreatitis nahe. Die Identifizierung von Mutationen im SPINK1-Gen, einem wichtigen intrapankreatischen Trypsin-Inhibitor, unterstreicht die pathogenetische Bedeutung des pankreatischen Proteasesystems.

Bisher wurde diese erblich bedingte Entzündung der Bauchspeicheldrüse für selten gehalten. Neuere Untersuchungsergebnisse weisen jedoch darauf hin, dass besonders in der Gruppe der Patienten, bei denen bisher keine Ursache der Pankreatitis identifiziert wurde – und deren Erkrankung demzufolge als idiopathisch angesehen wurde – genetische Ursachen häufig sind. In der nachfolgenden Übersicht werden die neuesten Erkenntnisse zu den genetischen Grundlagen der chronischen Pankreatitis dargestellt und ihre zum Teil gravierenden Konsequenzen für die betroffenen Patienten diskutiert.

### Kationisches Trypsinogen (PRSS1)

#### Biologische Funktion

Das kationische Trypsinogen (OMIM 276000, (28)), auch als Serinprotease 1 (PRSS1) bezeichnet, gehört zu den meistsynthetisierten sekretorischen Proteinen des Pankreas (11). Drei verschiedene Trypsinogene wurden aus Pankreassekret isoliert, die entsprechend ihres Wanderungsverhaltens in der isoelektrischen Fokussierung als anionisches, kationisches und Mesotrypsinogen bezeichnet werden. Der Anteil der kationischen Form am Gesamttrypsinogen beträgt 40% und der Anteil der anionischen Form 60%, während das Mesotrypsinogen nur in geringer Menge nachweisbar ist. Kationisches und anionisches

Trypsinogen besitzen die gleiche enzymatische Aktivität, das kationische Isoenzym zeigt eine stärkere Neigung zur Selbstaktivierung und eine geringere Inaktivierungstendenz (7).

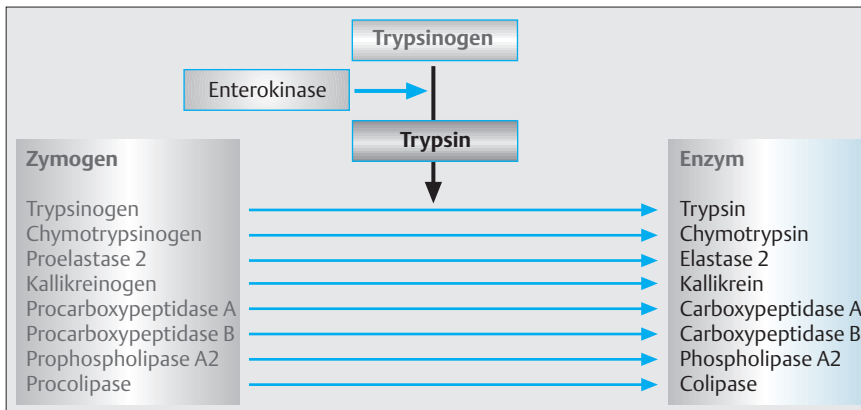
Trypsin nimmt bei der Aktivierung der pankreatischen Verdauungsenzyme eine Schlüsselrolle ein (**Abb. 1**) und kann sowohl sich selbst als auch alle anderen proteolytischen Proenzyme des Pankreas aktivieren (20). Das Pankreas synthetisiert und sezerniert Trypsin als inaktives Trypsinogen (Zymogen). Erst im Darm erfolgt durch Abspaltung des Aktivierungspeptides mit Hilfe des Enzyms Enteropeptidase (Enterokinase) die Umwandlung des Trypsinogens zu Trypsin. Mehrere Mechanismen schützen das Pankreas vor einer Aktivierung der pankreatischen Enzymkaskade und Selbstverdauung (35). Hierzu gehört die Synthese der Verdauungsenzyme als inaktive Proenzyme (Zymogene), die Lokalisierung des aktivierenden Enzyms Enteropeptidase außerhalb des Pankreas im Dünndarm und eine niedrige intrapankreatische Calciumkonzentration (20). Auch im normalen Pankreasgewebe werden allerdings geringe Mengen an Trypsinogen durch Autolyse zu aktivem Trypsin umgewandelt. Diese Trypsinaktivität wird aber durch zwei Mechanismen antagonisiert. Zum einen wird Trypsin durch Bindung an den Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) zu Komplexen gebunden zum anderen kann aktives Trypsin durch sich selbst und durch Mesotrypsin degradiert werden (35).

#### Identifizierung von PRSS1 als Pankreatitis-Gen

1996 gelang es mehreren Arbeitsgruppen, unabhängig voneinander mittels Kopplungsanalysen einen Genort für die hereditäre Pankreatitis auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q35) zu lokalisieren (19,30,51). Im gleichen Jahr identifizierten Whitcomb und Mitarbeiter eine Mutation im kationischen Trypsinogen-Gen als Ursache für die Erkrankung. Bei fünf Pankreatitisfamilien fand sich ein Austausch des Arginins durch Histidin an Position 122 des Proteins (R122H) (50). Inzwischen wurden mehrere weitere Mutationen im PRSS1-Gen beschrieben (9,10,47,48,52). Nachfolgende Untersuchungen zeigten, dass Trypsinogen-Mutationen auch bei der sogenannten idiopathischen chronischen Pankreatitis nachweisbar sind (43,52). Wegen der Schlüsselrolle von Trypsin in der Aktivierungskaskade im Dünndarm wird zur Zeit angenommen, dass diese Mutationen zu einer vermehrten oder verlängerten Trypsinaktivität im Pankreasgewebe und damit zur Selbstverdauung des Organs führen (**Abb. 2**).

#### Pathogenetische Bedeutung der R122H-Mutation

Die R122H-Mutation ist wahrscheinlich die häufigste PRSS1-Mutation weltweit (9,25,44,51,52). Auch wenn die starke Assoziation dieser Mutation mit der chronischen Pankreatitis inzwischen unbezweifelt ist, ist der zugrundeliegende patho-



**Abb. 1** Aktivierungskaskade der Verdauungsenzyme im Darm. Verdauungsenzyme werden meist als inaktive Vorstufen (Zymogene) synthetisiert und sezerniert. Im Duodenum wandelt das Enzym Enteropeptidase durch Abspaltung des aminoterminalen Aktivierungspeptides inaktives Trypsinogen zu aktivem Trypsin um. Aktives Trypsin kann sich selbst und auch alle anderen proteolytischen Proenzyme des Pankreas aktivieren (modifiziert nach Rinderknecht, 35).

genetische Mechanismus wenig verstanden. Anhand von Simulationen am dreidimensionalen Strukturmodell des Trypsinogenmoleküls («molecular modelling») sowie aufgrund von funktionellen Untersuchungen am Trypsinogen der Ratte wurde vermutet, dass die R122H-Mutation aktiviertes Trypsin unempfindlich gegenüber hydrolytischer Inaktivierung werden lässt (37,51,56). Die gezielte Mutagenese von rekombinantem humanen Trypsinogen ergab aber, dass beide der untersuchten Mutationen (R122H und N29I) in vitro zu einer verstärkten Autoaktivierung führten, während R122H zusätzlich den proteolytischen Abbau des Enzyms verminderte (40).

### Pathogenetische Bedeutung der N29I-Mutation

Zwei unabhängige Arbeitsgruppen beschrieben eine A zu T Transversion im Exon 2, die einen Austausch von Asparagin durch Isoleucin im Kodon 29 bedingt (N29I) (10,47). Mehrere Studien bestätigten diese Mutation (9,25). Es wurde vermutet, dass N29I zu einer vermehrten Autoaktivierung (10,47) oder zu einer verminderten Proteolyse führt (47). Die zweite Hypothese wurde anfänglich durch In-vitro-Experimente am Trypsinogen der Ratte unterstützt (38), jedoch zeigten funktionelle Studien an rekombinantem menschlichen Trypsinogen eine vermehrte Autoaktivierung und keine verminderte Degradierung (39).

### Pathogenetische Bedeutung der A16V-Mutation

Bei der Analyse pädiatrischer Patienten fand sich bei 4 von 44 Patienten ein Alanin-Valin-Austausch an Position 16 (A16V) (52). Drei der vier betroffenen Patienten wiesen keine Familienanamnese auf, obwohl die Mutation in allen Fällen durch ein Elternteil vererbt wurde. Von sieben Angehörigen mit der A16V-Mutation war nur einer ebenfalls klinisch betroffen. Im Gegensatz zu den beiden vorher erwähnten Mutationen (R122H, N29I) besitzt A16V nur eine geringe Penetranz (2,32,52). Die A16V-Mutation verändert die erste Aminosäure des Trypsinogen-Aktivierungspeptides, das eine wichtige funktionelle Rolle zu spielen scheint. Entsprechende funktionelle Untersuchungen bezüglich der pathophysiologischen Bedeutung der A16V-Mutation sind bisher nicht durchgeführt worden.

### Andere PRSS1-Mutationen

Mehrere weitere Mutationen im kationischen Trypsinogen sind beschrieben worden, deren pathogenetische Relevanz allerdings nicht gesichert ist. Eine französische Studie fand bei zwei Mitgliedern einer Familie einen Arginin-Lysin-Aus-

tausch an Position 23 (K23R) sowie bei einem Patienten eine Deletion von drei Basen im nicht kodierenden 5'-Bereich (-28delTCC) (9). Eine andere Studie beschrieb einen Austausch von Asparaginsäure gegen Glycin an Position 22 (D22G) (48). In-vitro-Experimente mit synthetischen Dodeka-Peptiden des aminoterminalen Endes zeigten, dass das D22G- und das K23R-Peptid im Vergleich zum Wildtyp-Peptid eine verstärkte Hydrolyserate aufwies (48). Es wurde gefolgert, dass beide Mutationen durch erleichtertes Abspalten des Aktivierungspeptides zu einer vermehrten Autoaktivierung führen.

### Vererbungsmodell

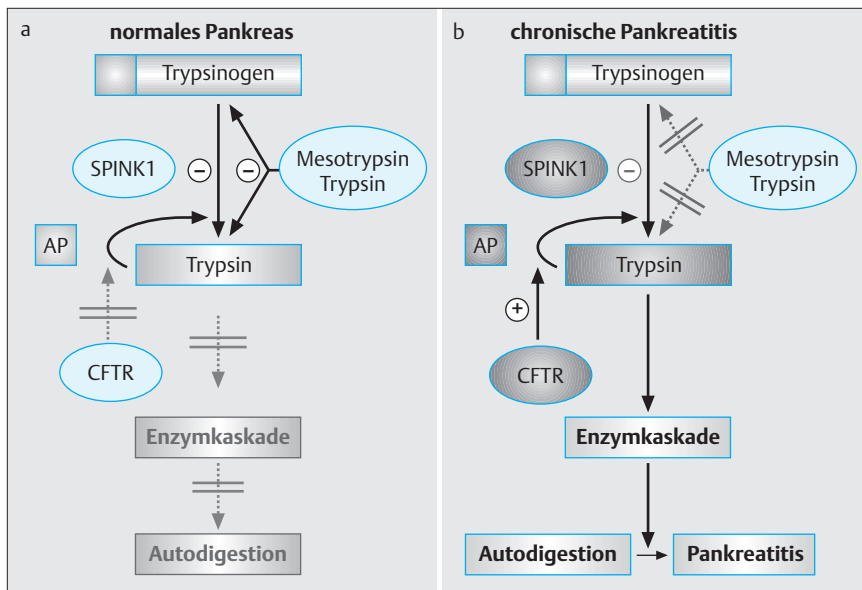
Die hereditäre Pankreatitis ist definiert als eine autosomal-dominante Erkrankung mit einer variablen Penetranz von 40-80%. Die Charakteristika der Familien mit der R122H- oder der N29I-Mutation sind mit diesem Konzept gut vereinbar. Im Gegensatz dazu weist die A16V-Mutation nur eine geringe Penetranz auf und wird am häufigsten bei Patienten gefunden, die keine positive Familienanamnese haben (52). Daher gilt, dass zur Zeit nur für die beiden häufigsten Punktmutationen des PRSS1-Gens nämlich R122H und N29I, ein autosomal-dominanter Erbgang anzunehmen ist und die Frage des Erbganges für die selteneren Mutationen bisher nicht abschließend geklärt werden konnte.

**Kurzgefasst:** Die hereditäre Pankreatitis lässt sich nach klinischen Kriterien nicht von anderen Formen der akuten oder chronischen Pankreatitis unterscheiden. Verschiedene Punktmutationen im kationischen Trypsinogen-Gen (PRSS1) wurden als genetische Risikofaktoren für die Entstehung der Erkrankung nachgewiesen. Bei den häufigsten dieser Mutationen (R122H und N29I) liegt ein autosomal-dominanter Erbgang vor. Eine Indikation zur genetischen Untersuchung besteht bei Patienten mit akuter oder chronischer Pankreatitis, die eine positive Familienanamnese haben sowie bei Patienten, die vor dem 25. Lebensjahr an einer chronischen Pankreatitis erkranken und bei denen sich keine anderen Risikofaktoren (z.B. Alkoholabusus) nachweisen lassen.

### Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1)

#### Biologische Funktion

Der Serinprotease-Inhibitor, Kazal-Typ 1 (SPINK1) (OMIM 167790 (28)), auch als pankreatischer sekretorischer Trypsin-Inhibitor (PSTI) bezeichnet, ist ein spezifischer intrapankrea-



**Abb. 2** Hypothetisches Modell der genetisch bedingten chronischen Pankreatitis. -a-) Normales Pankreas: Trypsin wird durch Bindung an den Serinprotease-Inhibitor SPINK1 gehemmt bzw. durch Trypsin und trypsinähnliche Enzyme wie Mesotrypsin degradiert. Diese Mechanismen schützen das Pankreas vor einer Aktivierung der pankreatischen Enzymkaskade und Selbstverdauung. -b-) Chronische Pankreatitis: Mutationen im PRSS1- oder SPINK1-Gen bewirken ein Ungleichgewicht von Proteasen und ihren Inhibitoren innerhalb des Pankreasparenchyms mit konsekutiver Aktivierung des Proteasesystems und einer Selbstverdauung des Organs. CFTR-Mutationen könnten ebenfalls das Protease-Inhibitor-Gleichgewicht durch einen defekten Transport von Zymogenen zerstören. Dunkle Rechtecke repräsentieren Produkte mutierter Gene (AP, Aktivierungspeptid, modifiziert nach Teich et al., 48).

tischer Trypsin-Inhibitor. SPINK1 wurde erstmalig 1948 von Kazal und Mitarbeitern aus dem Rinderpankreas isoliert (14) und lässt sich im Pankreas aller untersuchten Spezies nachweisen. Außer dem Pankreas exprimieren auch der Gastrointestinaltrakt sowie zahlreiche andere Gewebe wie Leber, Lunge, Nieren, Ovarien und Brustdrüse SPINK1. SPINK1 fungiert nicht nur als intrapancreatischer Proteaseninhibitor, sondern auch als Akute-Phase-Protein und ist wahrscheinlich bedeutsam beim Schutz der gastrointestinalen Epithelschicht vor exzessiver Verdauung und bei der Wundheilung.

Das humane SPINK1-Gen ist auf Chromosom 5 lokalisiert und setzt sich aus vier Exonen zusammen (13). SPINK1 besteht aus 79 Aminosäuren, von denen die ersten 23 Aminosäuren die Signalsequenz bilden. Das sezernierte Protein ist ausgesprochen stabil bei saurem pH. Das reaktive Zentrum von SPINK1 bildet ein Lysin an Position 41 und ein Isoleucin an Position 42 (K41-I42) (1). Die Inkubation äquimolarer Mengen von Trypsin und dem Inhibitor führt zu einer kovalenten Bindung zwischen dem katalytischen Serin der Protease und dem Lysin im reaktiven Zentrum von SPINK1. Nach längerer Inkubation wurde allerdings ein kontinuierlicher Wiederanstieg der Trypsinaktivität beobachtet (18). Dieses Phänomen der »temporären Inhibition« wird durch die Tatsache erklärt, dass der Trypsin-Inhibitor-Komplex selber als Substrat für Trypsin dient. Die dadurch bedingte Degradierung des Inhibitors resultiert in einer Wiederherstellung der ursprünglichen Trypsinaktivität.

### Pathogenetische Bedeutung der N34S-Mutation im SPINK1-Gen

Da viele Patienten mit hereditärer Pankreatitis keine Mutation im PRSS1-Gen aufweisen, wurde postuliert, dass genetische Defekte in anderen Genen existieren, die ebenfalls zu einer Pankreatitis führen. Dieses Postulat wurde durch die Identifizierung von SPINK1 als weiteres Pankreatitis-Gen bestätigt (54). Bei 22 von 96 (23%) pädiatrischen Patienten mit chronischer Pankreatitis wurde eine Mutation in diesem Gen nachgewiesen.

18 Patienten besaßen eine Adenin (A) zu Guanin (G) Transition im Exon 3, die zu einem Austausch von Asparagin gegen Serin an

Position 34 führt (N34S) (54). Sechs der Patienten waren homozygot für diese Mutation. Phänotypische Unterschiede zwischen heterozygoten und homozygoten N34S-Trägern bestanden nicht. Eine gemischte Heterozygotie als auch große Deletionen oder Insertionen wurden durch Sequenzierung der gesamten intronischen Sequenz nach »long-range« PCR ausgeschlossen. Drei andere Arbeitsgruppen bestätigten die hohe Frequenz von N34S bei chronischer Pankreatitis (3,33,45).

N34S ist ausnahmslos mit vier weiteren intronischen Polymorphismen gekoppelt: IVS1-37 T>C, IVS2+268 A>G, IVS3-604 G>A und IVS3-66-65insTTTT (54). Die vollständige Kopplung dieser fünf genetischen Veränderungen weist darauf hin, dass es sich um evolutionär alte Mutationen handelt, die vor sehr langer Zeit entstanden. Bislang existieren keine funktionellen Studien zur N34S-Mutation. Da die Mutation nahe des reaktiven Zentrums (K41-I42) gelegen ist, führt sie möglicherweise zu einer verminderten Inhibitorkapazität. Denkbar wäre auch eine vermehrte Degradierung im endoplasmatischen Retikulum durch fehlerhafte Proteinprozessierung. Andererseits ist es nicht auszuschließen, dass nicht N34S, sondern eine der vier gekoppelten Intronvariationen die relevante Mutation darstellt.

Die N34S-Mutation findet sich vornehmlich bei Patienten ohne Familienanamnese. 25-40% der Patienten mit chronischer und klinisch idiopathischer Pankreatitis tragen auf einem oder beiden Allelen eine N34S-Mutation (33,45,54). Allerdings dürfte eine Heterozygotie für N34S pathogenetisch nicht ausreichend sein, da ungefähr 1% der Bevölkerung heterozygote N34S-Träger sind. Warum die Mehrheit der N34S-Heterozygoten keine Pankreatitis entwickelt, ist derzeit unbekannt. Wahrscheinlich führt erst die Kombination mit anderen Gendefekten oder Umweltfaktoren zum Ausbruch der Erkrankung.

### Andere SPINK1-Mutationen

Neben N34S wurden mehrere weitere SPINK1-Mutationen identifiziert, deren Bedeutung zur Zeit noch unklar ist. In einer Familie fand sich eine heterozygote Mutation im Startkodon (MIT) (54). Die MIT-Mutation konnte beim Indexpatienten, dem gesunden Vater und dem erkrankten Großvater nachgewiesen

werden. Der verstorbene Urgroßvater litt ebenfalls an der Erkrankung. Da die Mutation nicht bei dessen Frau nachweisbar war, dürfte der Urgroßvater ebenfalls Mutationsträger gewesen sein. Bei mehreren Patienten wurde eine Mutation der Spleißstelle im Intron 3 nachgewiesen (IVS3+2 T>C). Das T an Position 2 der Spleißdonorstelle ist bei Eukaryonten hoch konserviert (33,54). Weitere Mutationen, deren Bedeutung derzeit unklar ist, wurden jeweils nur bei einem Patienten bzw. in nicht kodierenden Bereichen gefunden: -53C>T, L14P, D50E, IVS3+125 C>A und IVS3+184 T>A (33,54).

### Vererbungsmodell

Die Bedeutung der SPINK1-Mutationen bei der Pathogenese der chronischen Pankreatitis und das Vererbungsmuster dieser Mutationen wird in der Literatur unterschiedlich bewertet. Eine Gruppe zog den Schluss, dass SPINK1-Mutationen weder über einen autosomal-rezessiven noch über einen autosomal-dominanten Erbgang eine Pankreatitis auslösen (33) sondern einen »Disease Modifier« darstellen. Unsere eigenen Untersuchungen zum Einfluss von SPINK1-Mutationen auf den Beginn und Verlauf der hereditären Pankreatitis mit PRSS1-Mutationen bestätigen eine solche Funktion von SPINK1-Mutationen zunächst nicht, da sie weder den klinischen Verlauf, noch die Penetranz der Pankreatitis bei Patienten mit R122H Mutation im kationischen Trypsinogen Gen beeinflussen (unveröffentlichte Daten). Nach unserer Ansicht kann die durch SPINK1-Mutationen bedingte Pankreatitis ein autosomal-rezessives, ein multigenetisches und möglicherweise auch ein autosomal-dominantes Vererbungsmuster aufweisen (54,55).

Die hohe Frequenz an N34S-Homozygoten suggeriert einen autosomal-rezessiven Erbgang. In zwei großen Studien waren ungefähr 10% der Patienten mit einer bisher als idiopathisch klassifizierten chronischen Pankreatitis homozygot für N34S (33,54). Bei einer Heterozygotenfrequenz von etwa 1% in der allgemeinen Bevölkerung beträgt die erwartete Homozygotenfrequenz 1:40 000. Bei einer angenommenen Prävalenz der idiopathischen Form der chronischen Pankreatitis von 1:16 000 (29), ergibt sich eine geschätzte Penetranz von mindestens 25%. Eine unvollständige Penetranz findet sich bei vielen rezessiven Erkrankungen wie zum Beispiel dem  $\alpha_1$ -Antitrypsinmangel oder der hereditären Hämochromatose. Die hohe N34S-Heterozygotenfrequenz bei der idiopathischen Form der chronischen Pankreatitis legt nahe, dass ein Teil dieser Patienten an einer multigenetisch bedingten Erkrankung leidet.

Die oben erwähnte Familie mit der Startkodonmutation (MIT) im SPINK1-Gen legt einen autosomal-dominanten Erbgang nahe. Die Tatsache, dass verschiedene Mutationen in dem selben Gen den gleichen Phänotyp bei unterschiedlichen Vererbungsmustern hervorrufen können, ist schon bei anderen Erkrankungen wie z.B. der  $\beta$ -Thalassämie beschrieben worden.

Möglicherweise beeinflusst das Ausmaß der intrapancreatischen SPINK1-Erniedrigung den Erbgang (55). Die MIT-Mutation zerstört das einzige Startkodon des SPINK1-Gens und führt wahrscheinlich zu einer 50%igen Reduktion des Inhibitors und somit zu einem dominanten Effekt. Die N34S-Mutation reduziert vermutlich die intrapancreatische SPINK1-Kapazität weniger, was einen rezessiven oder komplexen Erbgang zur Folge haben mag.

**Kurzgefasst:** Der Serinprotease-Inhibitor SPINK1 ist ein endogener intrapancreatischer Inhibitor von Trypsin und anderen Verdauungsproteasen. Punktmutationen im SPINK1-Gen werden gehäuft bei Patienten mit chronischer Pankreatitis gefunden, die weder eine Familienanamnese für Pankreaserkrankungen, noch klinische Risikofaktoren für eine Pankreatitis haben.

## Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)

### Biologische Funktion

Die zystische Fibrose (OMIM #219700 (28)) ist eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung mit einer geschätzten Inzidenz von 1:2500. Die zystische Fibrose ist durch eine Pankreasinsuffizienz und durch eine chronische Lungenerkrankung charakterisiert. Die Pankreasbeteiligung variiert von einem kompletten Verlust der exokrinen und endokrinen Funktion bis zu einer nahezu normalen Pankreasfunktion. Eine rezidivierende Pankreatitis wird in 1-2% der pankreasuffizienten und selten auch bei pankreasinsuffizienten Patienten beobachtet (42). 1989 wurde das CFTR-Gen als Krankheitsgen identifiziert (16,36).

CFTR (OMIM 602421 [28]) kodiert für ein Transmembranprotein, es ist auf der Oberfläche der meisten Epithelzellen nachweisbar und fungiert als cAMP-abhängiger Chloridkanal. Das Pankreas exprimiert CFTR in der apikalen Membran der duktilären Zellen allerdings nur sehr gering in den Azinuszellen. Es besitzt ferner eine bedeutende Rolle für die duktile Sekretion von Bicarbonat in den Pankreassaft, dessen Störung für die Entstehung der exokrinen Pankreasinsuffizienz weitaus bedeutender zu sein scheint als die eines gestörten Chloridtransportes (5).

Bislang sind über 1000 verschiedene CFTR-Mutationen beschrieben worden. Die häufigste CFTR-Mutation ist eine Deletion von 3 Basenpaaren an Position 508 (DF508), die sich weltweit bei 66% aller CF-Chromosomen findet. CFTR-Mutationen lassen sich in 5 Klassen einteilen (49): Mutationen, die eine fehlerhafte Transkription der mRNA (Klasse I), eine defekte Proteinprozessierung (Klasse II) oder eine fehlerhafte Aktivierung (Klasse III) bewirken, führen zu einem gering oder nicht funktionellen Protein und sind gewöhnlich mit einem schweren Phänotyp assoziiert. Mutationen, die die Aktivität (Klasse IV) oder Menge (Klasse V) des Proteins reduzieren, führen zu einer erniedrigten aber nicht vollständig aufgehobenen CFTR-Funktion und sind oft mit einem milden Phänotyp assoziiert.

### CFTR und chronische Pankreatitis

Zwei Arbeiten beschrieben eine starke Assoziation zwischen CFTR-Mutationen und chronischer Pankreatitis (6,41). Nachfolgende Studien ergaben jedoch widersprüchliche Ergebnisse (17,24,27,34). Anlass für die beiden ersten Studien gaben mehrere Beobachtungen: Sowohl bei zystischer Fibrose als auch bei chronischer Pankreatitis finden sich pathologische Chloridkonzentration im Schweiß sowie auch pathomorphologisch eine duktiläre Obstruktion durch eingedickte Sekretionen. Zudem leiden 1-2% der Patienten mit zystischer Fibrose an einer rekurrenden Pankreatitis (42).

Sharer und Mitarbeiter untersuchten 134 Patienten mit chronischer Pankreatitis auf 22 CFTR-Mutationen und auf das 5T-Allel

im Intron 8 (41). 18 Patienten (13,4%) mit chronischer Pankreatitis bzw. 12 Patienten (20%) mit idiopathischer chronischer Pankreatitis waren heterozygot für eine CFTR-Mutation. Vier Patienten waren gemischt heterozygot für eine CFTR-Mutation und das 5T-Allel. CFTR-Mutationen fanden sich bei alkoholischer Pankreatitis zweimal so häufig (nicht signifikant) und bei idiopathischer Pankreatitis viermal so häufig wie erwartet, während die Frequenz des 5T-Allels nicht erhöht war.

Cohn et al. untersuchten 27 Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis auf 17 CFTR-Mutationen und das 5T-Allel (6). Sieben Patienten (25,9%) besaßen mindestens eine CFTR-Mutation und 5 Patienten (18,5%) das 5T-Allel. Ein Patient war gemischt heterozygot für DF508 und R117H und 2 Patienten für DF508 und das 5T-Allel. Eine CFTR-Mutation wurde bei den Patienten somit sechsmal häufiger als erwartet gefunden, während die Frequenz des 5T-Allels verdoppelt war.

Die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Mutationen im CFTR-Gen und der Entwicklung einer chronischen Pankreatitis sind bis heute noch nicht sicher geklärt.

### Pathophysiologische Bedeutung

Warum heterozygote CFTR-Träger ein erhöhtes Risiko für eine chronische Pankreatitis besitzen, ist nicht genau geklärt. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Kombination zweier milder bzw. einer schweren und einer milden CFTR-Mutation den Phänotyp einer Pankreatitis verursacht, während die Kombination zweier schwerer CFTR-Mutationen zu dem Phänotyp einer zystischen Fibrose führt. Allerdings waren 16 der 18 von Sharer et al. und sechs der acht von Cohn et al. gefundenen Mutationen sog. schwere Mutationen (Klasse I-III) und nur ein Patient war gemischt heterozygot (5T-Allel hierbei nicht berücksichtigt). Da in beiden Studien nur eine kleine Anzahl von Mutationen getestet wurde (17 bzw. 22 von über 1000 bekannten), ist es vorstellbar, dass etliche Patienten eine eher selten auftretende Mutation auf dem zweiten Allel tragen. Aus unserer Erfahrung finden sich bei mehr als 30% der Patienten mit bis dahin angenommener idiopathischer chronischer Pankreatitis CFTR-Mutationen (nicht publizierte Daten). Möglicherweise disponiert eine gemischte Heterozygotie oder die Kombination einer heterozygoten CFTR-Mutation mit einem genetischen Defekt in einem anderen Gen für eine Pankreatitis.

**Kurzgefasst:** Bei bis zu 30% der Patienten mit chronischer idiopathischer Pankreatitis fanden sich in Studien aus England und North-Carolina Mutationen im CFTR-Gen. Die pathophysiologische Bedeutung von heterozygoten CFTR-Mutationen ist bisher nicht geklärt. Studien, die zu Zeit noch nicht abgeschlossen sind, müssen klären, ob bereits eine einzelne CFTR-Mutation einen Risikofaktor für die Pankreatitis darstellen, ob eine Kombination von mehreren (seltenen) Mutationen für die Pankreatitis prädisponiert, und ob möglicherweise für die Mukoviszidose untypische Mutationen für die chronische Pankreatitis verantwortlich sind.

### Genetische Aspekte der chronischen alkohol-induzierten Pankreatitis

Da genetische Faktoren bei der Entstehung der familiären und idiopathischen Pankreatitis eine Rolle spielen, wurde vermutet, dass eine genetische Prädisposition auch für die alkohol-indu-

zierte Pankreatitis Bedeutung haben könnte. In einer Reihe von Studien wurde untersucht, ob Mutationen im kationischen Trypsinogen-Gen, im SPINK1-Gen, oder im CFTR-Gen bei dieser Form der Erkrankung vorkommen. Bei 274 Patienten mit alkoholischer chronischer Pankreatitis wurde in 5,8 % eine Punktmutation im SPINK1-Gen (N34S) nachgewiesen und damit ein zusätzlicher Risikofaktor für die häufigste Form der chronischen Pankreatitis identifiziert (53). In einem Kollektiv von 23 Patienten mit chronischer alkoholischer Pankreatitis wurden die Exons zwei und drei des kationischen Trypsinogen-Gens auf das Vorliegen der Punktmutationen N29I und R122H untersucht. In dieser Studie liess sich bei keinem der untersuchten Patienten eine Mutation nachweisen (46). Auch Veränderungen im CFTR-Gen, im  $\alpha_1$ -Antitrypsin-Gen, im Alkohol-Dehydrogenase-Gen, im HLA-Antigen oder im Gen des Pankreatitis-assoziierten Protein (PAP) wurden bei Patienten mit alkohol-induzierter chronischer Pankreatitis bisher nicht gefunden (26,12,15).

### Fazit für die Praxis

Die jüngsten Ergebnisse der molekulargenetischen Forschung legen nahe, dass eine signifikante Anzahl von Patienten mit chronischer Pankreatitis an einer genetisch determinierten und vererbaren Erkrankung leidet. Dies gilt insbesondere für Patienten ohne andere identifizierbare Erkrankungsursache (idiopathische Pankreatitis), für Patienten, die vor dem 25. Lebensjahr an einer chronischen Pankreatitis erkrankt sind und für Patienten, bei denen andere Familienmitglieder von einer Pankreatitis oder einem Pankreaskarzinom betroffen sind. Patienten mit chronischer Pankreatitis und einer Mutation im kationischen Trypsinogen, haben ein 70–140-fach erhöhtes Risiko ein Pankreaskarzinom zu entwickeln (21,22,23). Ob dies auch für Patienten mit SPINK1- oder CFTR-Mutationen gilt, ist bisher ungeklärt. Die Erkenntnisse über die genetischen Grundlagen haben das pathophysiologische Verständnis der Erkrankung dramatisch beeinflusst und es besteht die begründete Hoffnung, dass sich daraus therapeutische Ansätze für die Prävention der Pankreatitis entwickeln lassen. Genetische Untersuchungen gesunder Verwandter von Patienten mit hereditärer Pankreatitis sollten aufgrund der zum jetzigen Zeitpunkt noch fehlenden therapeutischen Konsequenzen nur nach ausführlicher Aufklärung erfolgen. Eine pränatale Diagnostik kann nicht empfohlen werden.

Eine genetische Testung von betroffenen Patienten kann heute empfohlen werden, wenn entweder Verwandte ersten Grades ebenfalls an einer Pankreatitis oder einem Pankreaskarzinom erkrankt sind, oder wenn bei einem Patienten vor dem 25. Lebensjahr eine chronische oder eine rezidivierende akute Pankreatitis besteht und keine anderen Risikofaktoren vorliegen. Bei Patienten mit positiver Familienanamnese ist nach heutiger Kenntnis die R122H- und die N29I-Mutation im kationischen Trypsinogen-Gen die wahrscheinlichste Veränderung, während bei Patienten ohne Familienanamnese eine A16V-Mutation im kationischen Trypsinogen-Gen oder die N34S-Mutation im Exon 3 des SPINK1-Gens wahrscheinlicher ist.

**Danksagung:** Die klinischen und experimentellen Arbeiten, auf denen diese Übersicht basiert, wurden teilweise von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem BMBF, dem IZKF Münster und der Sonnenfeld Stiftung (Berlin) gefördert.

## Literatur

- 1 Bartelt DC, Shapanka R, Greene LJ. The primary structure of the human pancreatic secretory trypsin inhibitor. Amino acid sequence of the reduced S-aminoethylated protein. *Arch Biochem Biophys* 1977;179:189-199.
- 2 Chen JM, Raguénès O, Férec C, Deprez PH, Verellen-Dumoulin C, Andriulli A. The A16V signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene and chronic pancreatitis (letter). *Gastroenterology* 1999;117:1508-1509.
- 3 Chen JM, Mercier B, Audrezet MP, Raguénès O, Quere I, Férec C. Mutations of the pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene in idiopathic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2001;120:1061-1063.
- 4 Chiari H. Über Selbstverdauung des menschlichen Pankreas. *Zeitschrift für Heilkunde* 1896;17:69-96.
- 5 Choi JY, Muallem D, Kiselyov K, Lee MG, Thomas PJ, Muallem S. Aberrant CFTR-dependent HCO<sub>3</sub>-transport in mutations associated with cystic fibrosis. *Nature*. 2001;410:94-7.
- 6 Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *New Engl J Med* 1998;339:653-658.
- 7 Colomb E, Figarella C. Comparative studies on the mechanism of activation of the two human trypsinogens. *Biochem Biophys Acta* 1979;571:343-351.
- 8 Comfort MW, Steinberg AG. Pedigree of a family with hereditary chronic relapsing pancreatitis. *Gastroenterology* 1952;21:54-63.
- 9 Férec C, Raguénès O, Salomon R, et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene and evidence for genetic heterogeneity in hereditary pancreatitis. *J Med Genet* 1999;36:228-232.
- 10 Gorry MC, Gabbazadeh D, Furey W, et al. Mutations in the cationic trypsinogen gene are associated with recurrent acute and chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997;113:1063-1068.
- 11 Guy O, Lombardo D, Bartelt DC, Amic J, Figarella C. Two human trypsinogens: purification, molecular properties and N-terminal sequences. *Biochemistry* 1978;17:1669-1675.
- 12 Haber, P, Wilson J, Apte M, et al. Individual susceptibility to alcoholic pancreatitis: still an enigma. *J Lab Clin Med* 1995;125:305-312.
- 13 Horii A, Kobayashi T, Tomita N, et al. Primary structure of human pancreatic secretory trypsin inhibitor (PSTI) gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;149:635-641.
- 14 Kazal LA, Spicer DS, Brahinsky RA. Isolation of a crystalline trypsin inhibitor-anticoagulant protein from the pancreas. *J Am Chem Soc* 1948;70:304-340.
- 15 Keim V, Hoffmeister A, Teich N, et al. The pancreatitis-associated protein in hereditary and chronic alcoholic pancreatitis. *Pancreas* 1999;19:248-254.
- 16 Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245:1073-1080.
- 17 Kimura S, Okabayashi Y, Inushima K, Yutsudo Y, Kasuga M. Polymorphism of cystic fibrosis gene in Japanese patients with chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2000;45:2007-2012.
- 18 Laskowski M, Wu FC. Temporary inhibition of trypsin. *J Biol Chem* 1953;204:797-805.
- 19 Le Bodic L, Bignon JD, Raguénès O et al. The hereditary pancreatitis gene maps to long arm of chromosome 7. *Hum Mol Genet* 1996;5:549-554.
- 20 Lerch MM, Gorelick FS. Early trypsinogen activation in acute pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;84:549-563.
- 21 Lerch MM, Ellis I, Whitcomb DC, Keim V et al. Maternal inheritance pattern of hereditary pancreatitis in patients with pancreatic carcinoma. *J Natl. Cancer Inst*. 1999;91: 723-724.
- 22 Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group. *N Engl J Med* 1993;328:1433-1437.
- 23 Lowenfels AB, Maisonneuve P. Risk factors for cancer in hereditary pancreatitis. *Med Clin North Am* 2000;84:5565-5573.
- 24 Malats N, Casals T, Porta M, Guarner L, Estivill X, Real FX. Cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) DeltaF508 mutation and 5T allele in patients with chronic pancreatitis and exocrine pancreatic cancer. *Gut* 2001;48:70-74
- 25 Nishimori I, Kamakura M, Fujikawa-Adachi K et al. Mutations in exons 2 and 3 of the cationic trypsinogen gene in Japanese families with hereditary pancreatitis. *Gut* 1999;44:259-263.
- 26 Norton I, Apte M, Dixon H, et al. Cystic fibrosis genotypes and alcoholic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1998;13:496-499.
- 27 Ockenga J, Stuhmann M, Ballmann M et al. Mutations of the cystic fibrosis gene, but not cationic trypsinogen gene, are associated with recurrent or chronic idiopathic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:2061-2067.
- 28 Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM): <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 29 Owyang C, Levitt M. Chronic pancreatitis. In: Yamada T, ed. *Textbook of Gastroenterology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, 1991: 1874-1893.
- 30 Pandya A, Blanton SH, Landa B et al. Linkage studies in a large kindred with hereditary pancreatitis confirms mapping of the gene to a 16-cM region on 7q. *Genomics* 1996;38:227-230.
- 31 Perrault J. Hereditary pancreatitis. *Gastroenterol Clin North Am* 1994;23:743-752.
- 32 Pfützter RH, Whitcomb DC. Trypsinogen mutations in chronic pancreatitis (letter). *Gastroenterology* 1999; 117: 1507-1508.
- 33 Pfützter RH, Barmada NM, Brunskill APJ, et al. SPINK1/PSTI polymorphisms act as disease modifiers in familial and idiopathic chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000;119:615-623.
- 34 Ravnik-Glavac M, Glavac D, di Sant'Agnese P, Chernick M, Dean M. Cystic fibrosis gene mutations detected in hereditary pancreatitis. *Pflügers Arch* 1996; 431(Suppl):R191-R192.
- 35 Rinderknecht H. Activation of pancreatic zymogens. Normal activation, premature intrapancreatic activation, protective mechanisms against inappropriate activation. *Dig Dis Sci* 1986;31:314-321.
- 36 Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene. *Science* 1989;245:1066-1073.
- 37 Sahin-Tóth M, Gráf L, Tóth M. Trypsinogen stabilization by mutation arg117-to-his: a unifying pathomechanism for hereditary pancreatitis? . *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:505-508.
- 38 Sahin-Tóth M. Hereditary pancreatitis-associated mutation Asn21 → Ile stabilizes rat trypsinogen in vitro. *J Biol Chem* 1999;274:29699-29704.
- 39 Sahin-Tóth M. Human cationic trypsinogen. Role of Asn-21 in zymogen activation and implications in hereditary pancreatitis. *J Biol Chem* 2000; 275:22750-22755.
- 40 Sahin-Tóth M, Tóth M. Gain-of-function mutations associated with hereditary pancreatitis enhance autoactivation of human cationic trypsinogen. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;278:286-289.
- 41 Sharer N, Schwarz M, Malone G, et al. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *New Engl J Med* 1998;339:645-52.
- 42 Shwachman H, Lebenthal E, Khaw W. Recurrent acute pancreatitis in patients with cystic fibrosis with normal pancreatic enzymes. *Pediatrics* 1975;55:86-94.
- 43 Simon P, Zimmer KP, Domschke W, Lerch MM. Cationic trypsinogen mutations in patients with idiopathic pancreatitis. *Pancreas* 1999;19:438
- 44 Simon P, Zimmer KP, Domschke W, Lerch MM. Etiological risk factors for familial pancreatitis. *Gastroenterology* 2000;118:A423
- 45 Simon P, Weiss FU, Domschke W, Lerch MM. Mutationen im pankreatischen Trypsin-inhibitor (SPINK-1) bei Patienten mit idiopathischer chronischer Pankreatitis. *Med. Klin*. 2001;96:188.
- 46 Teich N, Mössner J, Keim V. Screening for mutations of the cationic trypsinogen gene: are they of relevance in chronic alcoholic pancreatitis? *Gut* 1999;44:413-416.
- 47 Teich N, Mössner J, Keim V. Mutations of the cationic trypsinogen in hereditary pancreatitis. *Hum Mut* 1998;12:39-43.
- 48 Teich N, Ockenga J, Hoffmeister A, Manns M, Mössner J, Keim V. Chronic pancreatitis associated with an activation peptide mutation that facilitates trypsin activation. *Gastroenterology* 2000;119:461-465.
- 49 Welsh M, Smith A. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993;73:1251-1254.
- 50 Whitcomb DC, Gorry MC, Preston RA, et al. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nature Genet* 1996;14:141-145.
- 51 Whitcomb DC, Preston RA, Aston CE et al. A gene for hereditary pancreatitis maps to chromosome 7q35. *Gastroenterology* 1996;110:1975-1980.
- 52 Witt H, Luck W, Becker M. A signal peptide cleavage site mutation in the cationic trypsinogen gene is strongly associated with chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1999;117:7-10.
- 53 Witt H, Luck W, Becker M, et al. Mutation in the SPINK1 trypsin inhibitor gene, alcohol use and chronic pancreatitis. *JAMA* 2001;285:2716-7.
- 54 Witt H, Luck W, Hennies HC, et al. Mutations in the gene encoding the serine protease inhibitor, Kazal type 1 are associated with chronic pancreatitis. *Nature Genet* 2000;25:213-216.
- 55 Witt H, Hennies HC, Becker M. SPINK1 mutations in chronic pancreatitis (letter). *Gastroenterology* 2001;120:1060-1061.
- 56 Várallyay É, Pál G, Patthy A, Szilágyi L, Gráf L. Two mutations in the rat trypsin conifer resistance against autolysis. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;243:56-60.

## Korrespondenz

Prof. Dr. Markus M. Lerch  
 Medizinische Klinik B der  
 Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
 Albert-Schweitzer-Str. 33  
 48129 Münster  
 E-mail: markus.lerch@uni-muenster.de

Dr. Heiko Witt  
 Universitätskinderklinik der Charité  
 Campus Virchow-Klinikum  
 Augustenburger Platz 1  
 13353 Berlin  
 E-mail: heiko.witt@charite.de