

# Ist Diabetes erkennbar?

## Genetische Untersuchungen aus Sachsen

Universitätsklinikum  
TU Dresden  
III. Medizinische Klinik

### Zusammenfassung

Mit der Entdeckung von Calpain10 (CAPN10) können wir einen genetischen Faktor beschreiben, der das Diabetesrisiko in bisher allen untersuchten Bevölkerungen deutlich erhöht. In der deutschen Bevölkerung ist die genetische Variabilität im CAPN10-Gen für ungefähr 7 bis 10% des Typ-2-Diabetes verantwortlich. Da die genetischen Kombinationen bekannt sind, könnten sie in Zukunft ein Diagnosemittel sein, das zur Erkennung einer solchen erblichen Belastung eingesetzt werden

kann. Bei bestehendem Risiko ist es vielleicht in Zukunft möglich, die für die Entstehung der Krankheit entscheidenden Umweltfaktoren positiv zu beeinflussen und damit eine Verhinderung oder Verzögerung der Manifestation des Diabetes mellitus Typ 2 zu erreichen.

**Schlüsselwörter:** Genetik, Typ-2-Diabetes, CAPN10, Prävention des Diabetes

### Diabetes mellitus Typ 2 – von der Erkrankung zum Gen und wieder zurück?

#### Einführung

Genetische Einflüsse haben eine große Bedeutung für die Entwicklung des Diabetes mellitus Typ 2. Im Herbst letzten Jahres wurden neuartige Veränderungen in einem Gen beschrieben, welche mit einem erhöhtem Diabetesrisiko assoziiert sind. Neuartig deshalb, da erstmalig nicht Mutationen in einem Gen, sondern Kombinationen normaler genetischer Variabilität in diesem Gen das Diabetesrisiko beeinflussen. Diese Arbeit ist das Ergebnis einer weltweiten Kooperation von Wissenschaftlern unter Beteiligung von Ärzten des Bereiches für Endokrinopathien und Klinische Stoffwechselerkrankungen der TU Dresden und unter aktiver Mitwirkung vieler Hausärzte und Diabetologen aus Sachsen. Im Folgenden sollen die Ergebnisse dieser in Nature Genetics erschienenen Veröffentlichung erläutert werden und ein Ausblick auf die weitere Bedeutung dieser Entdeckung und die weitere Entwicklung gegeben werden. Die Autoren möchten sich gleichzeitig auf diesem Wege für die Mitarbeit der sächsischen Kollegen herzlich bedanken.

#### Der Weg von der Erkrankung zum Gen

Die familiäre Häufung des Typ-2-Diabetes, hohe Konkordanzsiffern bei einiigen Zwillingen und die unterschiedliche Krankheitshäufung in verschiedenen ethnischen Gruppen ließen schon seit langem eine genetische Disposition bzw.

ein genetisch vorbestimmtes Diabetesrisiko vermuten. Es ist anzunehmen, dass sich im Falle des Diabetes mellitus Typ 2 verschiedene genetische Faktoren in einem oder mehreren Genen summieren und im Zusammenspiel mit den entsprechenden Umweltfaktoren (Ernährung, Bewegungsmangel usw.) in einem schleichenden Prozess zur Manifestation der Erkrankung führen. Damit handelt es sich bei dem Typ-2-Diabetes um eine multifaktorielle polygene Erkrankung. Die Untersuchung der genetischen Ursachen einer solchen Erkrankung gestaltet sich damit aufgrund der vielen Einflussfaktoren schwierig.

Bei der Suche nach genetischen Ursachen für eine Erkrankung gibt es verschiedene Lösungsansätze. Ein häufig beschrittener Weg ist die Durchführung von Kopplungsanalysen. Dafür analysiert man Familien über mehrere Generationen, in denen die Erkrankung häufig vorkommt und man deutlich zwischen erkrankten und nichterkrankten Personen unterscheiden kann. Man nimmt für diese Untersuchungen an, dass alle erkrankten Personen das gleiche Gen tragen, die nichterkrankten aber nicht. Unter Verwendung polymorpher Marker wird zunächst versucht, den Chromosomenabschnitt (DNA-Abschnitt) näher einzugrenzen, der das krankhaft veränderte Gen trägt. Diese Marker sind über die gesamte menschliche Erbinformation verteilte genetische Abschnitte, die durch eine große genetische Variabilität gekennzeichnet sind. Der Methode liegt die Annahme zugrunde, dass ein Marker, der in der Nähe des gesuchten Gens

liegt, gemeinsam -gekoppelt- mit diesem in der Gruppe der erkrankten Familienangehörigen weitervererbt wird. Mit Hilfe statistischer Methoden kann der Marker, der am stärksten an die Erkrankung gekoppelt ist, bestimmt werden. Durch Auswertung der gewonnenen Daten angrenzender Marker kann anschließend der DNA-Abschnitt mit der größten Assoziation zur untersuchten Erkrankung festgestellt werden. Im weiteren Verlauf führt die exakte Untersuchung dieses DNA-Abschnitts zur Isolation des gesuchten Gens. Diese Art der Kopplungsanalyse ist für die Untersuchung monogenetischer Erkrankungen sehr gut geeignet, stößt jedoch bei der Untersuchung polygener und multifaktorieller Erkrankungen rasch an ihre Grenzen.

Bei multifaktoriellen Erkrankungen, wie Diabetes mellitus Typ 2, ist die Definition der Erkrankung von vielen Faktoren abhängig und aufgrund des relativ späten Erkrankungsalters sind für Typ-2-Diabetes kaum Kopplungsuntersuchungen in größeren Familien möglich. Bei einem angenommenen Durchschnittsalter einer Diabetesdiagnose von 50 Jahren sind häufig ältere Angehörige eines Erkrankten schon verstorben, und man kann über die Diagnose bei Kindern und Enkeln noch keine Aussage machen.

In Anlehnung an die oben beschriebene Methode wird in diesen Fällen auf die Untersuchung betroffener Geschwisterpaare zurückgegriffen. Hierbei geht man davon aus, dass die beiden Geschwister, wenn sie erkrankt sind, mit hoher Wahrscheinlichkeit den gleichen krankheitsauslösenden Genort von ihren Eltern

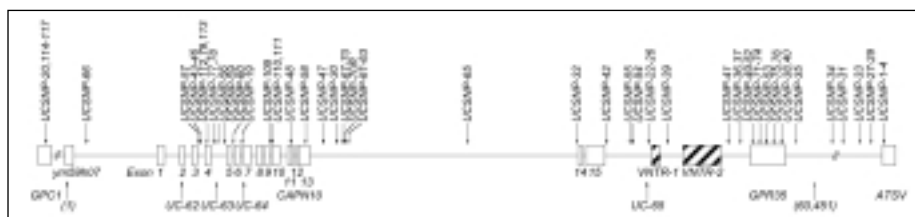
vererbt bekommen haben. Wiederum wird unter Verwendung polymorpher Marker versucht, den DNA-Abschnitt, der überdurchschnittlich häufig auf erkrankte Geschwister vererbt wird, näher einzugrenzen. Man geht davon aus, dass dieser das krankhaft veränderte Gen trägt. Da zwei Geschwister zu nur 50% die gleichen Gene der Eltern vererbt bekommen, muss eine wesentlich größere Zahl an betroffenen Geschwisterpaaren untersucht werden (zirka 500), als dies bei Kopplungsanalysen in großen Familien bei monogenetischen Erkrankungen der Fall wäre.

In den letzten Jahren wurde in enger Kooperation mit internationalen Forschergruppen an der University of Chicago in der Arbeitsgruppe um Professor Graeme Bell an der Identifizierung eines „Diabetesgens“ für Typ-2-Diabetes, NIDDM1, gearbeitet. Dabei wurden die oben beschriebenen Kopplungsuntersuchungen in einer Gruppe mexiko-amerikanischer Geschwisterpaare durchgeführt. Gleichzeitig wurde eine Gruppe von Geschwisterpaaren mit Typ-2-Diabetes aus Sachsen untersucht, die in enger Zusammenarbeit mit den niedergelassenen Diabetologen, Hausärzten und Ambulanzen der Krankenhäuser in Sachsen über fünf Jahre für diese Studie gewonnen worden waren. Im Ergebnis dieser Kopplungsanalysen konnte eine Region auf dem Chromosom 2 beschrieben werden, in der mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Gen liegt, welches das Diabetesrisiko beeinflusst. Die Verknüpfung dieses DNA-Abschnitts mit der Erkrankung erreichte jedoch nur in der Gruppe der mexiko-amerikanischen Geschwisterpaare ein signifikantes Niveau (1). Die Größe dieses Abschnitts betrug 1,7 Millionen Basenpaare, was etwa 1/2000 des menschlichen Genoms ausmacht. Man stellte sich nun der Aufgabe, das Diabetesgen zu finden, welches in dieser DNA-Region liegen musste. In aufwendiger Kleinarbeit wurde diese Region auf Chromosom 2 analysiert. Dabei wurden kleinste genetische Unterschiede (Austausch einer einzelnen Base), soge-

nannte Polymorphismen (SNP's) identifiziert. Die Häufigkeit dieser SNP's war in einem Abschnitt dieser DNA-Region sehr hoch. In dieser Region lag ein bisher unbekanntes Gen, Calpain 10 (CAPN10) genannt. Unter Verwendung neuer genetischer und mathematischer Methoden konnten Kombinationen einzelner Polymorphismen im Calpain-10-Gen gefunden werden, die mit Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert sind. Mit einer bestimmten genetischen Kombination war ein 4-8fach erhöhtes Diabetesrisiko verbunden. Das CAPN10-Protein, für welches das CAPN10-Gen codiert, ist eine nichtlyso-somale kalziumabhängige Protease, ein proteinspaltendes Enzym, das in einer Vielzahl menschlicher Zellen synthetisiert wird.

Zum Erstaunen liegen die genetischen Unterschiede, die zu einer Erhöhung des Typ-2-Diabetes-Risikos führen, nicht in der codierenden Region von CAPN10, in der Informationen für den Aufbau von Struktur- und Funktionsproteinen verschlüsselt werden, sondern in den dazwischen liegenden nichtkodierenden Abschnitten. Diesen Abschnitten wurde bisher keine spezifische Funktion zugeordnet. Aus diesem Grund stieß die Entdeckung international erst einmal auf Skepsis. Interessant und neu ist weiterhin, dass nicht nur eine einzelne genetische Variante (SNP's) für das Diabetesrisiko ausschlaggebend ist. Eine Kombination von drei genetischen Varianten innerhalb dieser Region hat den entscheidenden Einfluss auf das Diabetesrisiko. Es ist erhöht, wenn an drei verschiedenen Genorten eine genetische Veränderung auftritt. Ein

einzelner oder zwei Faktoren reichen dafür nicht aus. In der mexiko-amerikanischen Bevölkerung, die als erste untersucht wurde, führt die entsprechende Konstellation zu einem 8fach höheren Diabetesrisiko. In der Gruppe der Patienten aus Sachsen war mit der gleichen genetischen Konstellation ein 4-5fach erhöhtes Diabetesrisiko verbunden. Anschließend wollte man diese Entdeckung in anderen ethnischen Gruppen replizieren. Es konnte gezeigt werden, dass die gleiche genetische Kombination in der asiatischen (Japan, China), in der afrikanischen (Ostafrika, Nigeria) und europäischen (England, Irland, Finnland, Deutschland, Tschechien) Bevölkerungsgruppe das Diabetesrisiko auf ein 3-6faches erhöht. Welchen Anteil hat diese genetische Konstellation aber an der endgültigen Diabetikerclientel? In der mexiko-amerikanischen Bevölkerung konnte der Anteil der Typ-2-Diabetesfälle aufgrund der Veränderungen im CAPN10-Gen auf 16% in dieser Region geschätzt werden. Der Anteil an der deutschen Diabetikerclientel ist mit 7 bis 10% etwas geringer. Das bedeutet: In der europäischen Bevölkerung hat ungefähr jeder zehnte zukünftige Diabetiker ein erhöhtes Erkrankungsrisiko, welches mit CAPN10 assoziiert ist. Die Ergebnisse und vor allem der Weg zu diesen sind in der bahnbrechenden Veröffentlichung ausführlich dargestellt und untermauern die These, dass geringfügige Veränderungen normaler genetischer Variabilität in nichtkodierenden Regionen des menschlichen Genoms mit einem höheren Erkrankungsrisiko verknüpft sind – ein Paradigmenwechsel in der genetischen Forschung.



Organisation der NIDDM1-Region mit dem CAPN10 Gen. Darstellung der einzelnen genetischen Varianten in dieser Region. UCSNP-43, -19 und -63 bilden Haplotypen, von denen zwei in heterozygoter Kombination das Typ-2-Diabetesrisiko erhöhen [1].

### Der Weg vom Gen zur Erkrankung

Nach der Entdeckung von CAPN10 als Diabetesgen mittels genetischer, statistischer und epidemiologischer Methoden stellen sich eine Vielzahl von Fragen:

Wo greift Calpain 10 in die Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels ein? Calpain 10 codiert für eine Protease. Was hat diese Protease mit der Regulation des Glukosestoffwechsels zu tun? Von entscheidendem Interesse ist, ob dieser Prozess medikamentös beeinflusst werden kann. Wie können Unterschiede in der nichtkodierenden Region dieses Gens zu einem höheren Erkrankungsrisiko führen? Was ist der detaillierte Mechanismus, wie genetische Variabilität in CAPN10 das Diabetesrisiko beeinflusst? Ist CAPN10 direkt mit dem Typ-2-Diabetesrisiko assoziiert oder ist die Assoziation eher mit einem Typ-2-Diabetes-Risikofaktor (zum Beispiel Übergewicht, Bluthochdruck, metabolisches Syndrom) zu erklären?

Diese Fragen sind noch nicht beantwortet und sind Gegenstand laufender und zukünftiger Untersuchungen. Bereits zum jetzigen Zeitpunkt liegen Dank der Mitwirkung vieler niedergelassener Kollegen aus Sachsen genaue Angaben über die Rolle der genetischen Variabilität von Calpain10 in der deutschen Bevölkerung vor. In einer gesonderten Studie soll jetzt aber untersucht werden, wie sich die Erhöhung des Diabetesrisikos pathophysiologisch zusammensetzt. Wir vermuten nach ersten Untersuchungen, dass die CAPN10-Varianten mit zwei Effekten gleichzeitig assoziiert sind. Sie führen vermutlich einerseits zu einer 10 bis 20% verringerten frühen Insulinsekretion und gleichzeitig zu einer geringfügigen Steigerung der Insulinresistenz. Alle diese Untersuchungen erfolgen anonym und unter der Wahrung des Datenschutzes. Es stellt sich nun die Frage, welche Bedeutung das für den Typ-2-Diabetes und vor allem für den Typ-2-Diabetiker haben kann und wer einen direkten Nutzen daraus ziehen kann. Einmal besteht eine deutliche Chance in der Entwick-

lung von Medikamenten, die das Diabetesrisiko oder die Erkrankung durch Interaktion mit CAPN10 beeinflussen. Vergangene Untersuchungen an Aids-Patienten, die mit Proteaseinhibitoren behandelt werden, zeigen, dass ein Teil dieser Patienten einen Diabetes entwickelt. Es ist aber noch zu früh, hier Zusammenhänge zu sehen. Zusätzlich untersuchen wir, ob genetische Varianten im CAPN10-Gen die Ursache für eine verstärkte Neigung zu Begleitkomplikationen beim Typ-2-Diabetes sein können. Wenn das der Fall ist, könnte eine genetische Risikodiagnose für die Prognose, aber auch die medizinische Intervention im Rahmen der Diabetestherapie für diese Patienten von Bedeutung sein. Den entscheidenden Wert der Entdeckung von CAPN10 als Diabetesrisikofaktor sehen wir zum heutigen Zeitpunkt in der Früherkennung des Diabetesrisikos als Möglichkeit zur Prävention der Erkrankung. Nach der Befruchtung der Eizelle ist die Zusammensetzung der genetischen Information eines Menschen festgelegt und existiert lebenslang. Das birgt die Möglichkeit, eine genetische Risikokonstellation in CAPN10 vor dem eigentlichen Erkrankungsbeginn potentieller Diabetiker zu diagnostizieren. Mit diesem Wissen ist es möglich, Personen zu identifizieren, die ein erhöhtes Diabetesrisiko tragen, lange bevor die Erkrankung ausbricht. Diese Personen wären zur Teilnahme an Programmen zur Prävention des Diabetes prädestiniert. Damit könnte uns die Genetik ein Werkzeug in die Hand geben, welches uns erlaubt, Erkrankungsrisiken frühestmöglich zu erkennen und anschließend unter Umständen zu verhindern oder hinauszuzögern.

Die Chancen, die die Entdeckungen genetischer Risikofaktoren für häufige Erkrankungen bieten, dürfen aber nicht darüber hinwegtäuschen, dass die Diskussion über den Umgang mit genetischen Daten noch sehr zurückhaltend in Deutschland geführt wird. Auf der einen Seite hat es eine hohe individuelle und gesundheitspolitische Bedeutung, Krank-

heitsrisiken vor der Erkrankung zu erkennen und möglicherweise präventiv zu behandeln. Auf der andere Seite kann das Wissen um ein erhöhtes Erkrankungsrisiko Nachteile beim Abschluss von Kranken- und Lebensversicherungen haben.

Unser Ziel ist es, die Patienten und behandelnden Ärzte über die Ergebnisse in Zukunft zu informieren. Diese Informationen müssen sowohl dem informationellen Selbstverständnis der Patienten als auch den Anforderungen des Datenschutzes entsprechen.

### Glossar

**Allel:** Alternative (durch Mutationen entstandene) Formen eines Gens, die an korrespondierenden Genloci der homologen Chromosomen vorkommen.

**DNA-Marker:** Definierte DNA-Sequenz, deren genomische Lokalisation bekannt ist. Diese wird bei einem indirekten Gentest „stellvertretend“ für ein benachbartes Gen untersucht.

**Exon:** DNA-Abschnitt eines eukaryontischen Gens, der informationstragend für das entsprechende Protein ist. Zwischen den Exons eines Gens befinden sich die nicht-kodierenden DNA-Abschnitte, die sogenannten Introns.

**Genetische Assoziation:** Statistisch gehäuftes gemeinsames Auftreten eines Allels, zum Beispiel mit einer Erkrankung beim Vergleich zweier Gruppen.

**Genomscreen:** Untersuchung des gesamten Erbgutes mittels vieler Marker auf Kopplung und/oder Assoziation mit einer Erkrankung.

**Haplotypen:** Die Menge genetischer Information, die maximal auf einem Allel (Chromosom) liegt. Sie kann größere und kleinere Abschnitte des Chromosoms umfassen.

**Haplotypanalyse/Kopplungsanalyse:** Bei der Haplotypanalyse kann mit Hilfe von sogenannten polymorphen DNA-Markern die Vererbung eines chromosomalen Bereichs innerhalb einer Familie verfolgt werden. Auch wenn innerhalb dieses Bereichs die genaue Lokalisation und Sequenz des die Krankheit verursachenden Gens unbekannt ist, kann durch die Kenntnis der Vererbung des Chromosomenbereichs indirekt auf die Vererbung der Mutation geschlossen werden. Ebenso kann bei bekanntem Gen eine unbekannt Mutation indirekt nachgewiesen werden. Eine Vorgehensweise, die gewählt wird, wenn die direkte Mutationssuche im entsprechenden Gen zu aufwendig ist. Die Haplotypanalyse ist eine Familienuntersuchung.

Daher ist es notwendig, dass neben dem/den Betroffenen selbst möglichst viele Familienmitglieder an der Untersuchung teilnehmen.

**Intron:** Nicht informationstragender DNA-Abschnitt eines eukaryontischen Gens, der zwischen Exons lokalisiert ist.

**Kandidatengen:** Gen, welches aufgrund bestimmter Eigenschaften bei bestimmten Erkrankungen einen Rolle spielen könnte.

**Konkordanz:** Auftreten eines Merkmals/Erkrankung bei beiden Zwillingen

**Kopplung:** Benachbarte Loci auf einem Chromosom, die überdurchschnittlich häufig miteinander vererbt werden. (Auch für Kopplung von einem Locus auf einem Chromosom und einem Merkmal (Erkrankung) gebräuchlich).

**Monogenetisch:** Im Gegensatz zu polygenetischen Erkrankungen sind monogenetische Erkrankungen in der Regel von Veränderungen in einem bestimmten Gen hervorgerufen. Diese Erkrankungen machen nur einen sehr kleinen Teil der sogenannten Volkskrankheiten aus. Veränderungen an diesem Gen können an sehr vielen Positionen in dem Gen vorkommen, die häufig zu dem gleichen Effekt, nämlich der Funktionsbeeinträchtigung des dazugehörigen Proteins, führen (zum Beispiel MODY). Bisher sind zirka 6000 solcher Erkrankungen beschrieben.

**Multifaktoriell:** Bei multifaktoriellen Erkrankungen ist ein Wechselspiel zwischen einerseits genetischen Veranlagungen und andererseits Umweltfaktoren entscheidend. Die genetische Veranlagung kann dabei durch einen, Vielzahl von genetischen Faktoren, die interagieren und sich auch gegenseitig aufheben, hervorgerufen sein. Bei den Umweltfaktoren

kann man genauso wenig einen benennen, sondern eine Vielzahl von Faktoren kommt zusammen. Der genetische Anteil und der Umweltanteil sind variabel. So können in einigen Fällen überwiegend genetische Faktoren, in anderen Fällen überwiegend Umweltfaktoren, die Rolle spielen. Die genetische Fixierung ist mit der Befruchtung festgelegt. Das Ausmaß der Umweltfaktoren, die das Risiko für eine multifaktoriell-polygenetische Erkrankung beeinflussen, ist häufig regulierbar. (Beispiele: Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Fettstoffwechselerkrankungen, Gicht, etc.).

**PCR, Polymerase-Kettenreaktion:** Methode zur in-vitro-Amplifikation einer bestimmten DNA-Sequenz mit Hilfe von DNA-Polymerasen. Sie ist als Grundlage für die meisten diagnostischen oder wissenschaftlichen Methoden die Voraussetzung. Die Amplifikation erfolgt durch zyklisch wiederholte Anlagerung von einzelsträngigen, synthetisch hergestellten DNA-Fragmenten(Primer) an denaturierte (einzelsträngige) genomische DNA und Verlängerung dieser Fragmente durch eine DNA-Polymerase.

**Polygenetisch:** Bei diesen Erkrankungen spielen Veränderungen in mehreren Genen in Kombination mit verschiedenen Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle, so dass sie auch als multifaktorielle Erkrankungen bezeichnet werden. Generell beinhalten diese genetischen Faktoren eine Disposition für eine Erkrankung.  
**polymorpher Marker:** Siehe Haplotypanalyse/Kopplungsanalyse.

**Relatives Risiko:** Faktor, der das Ausmaß einer genetischen Assoziation angibt.

**SNP (single nukleotide polymorphism; Einzelnukleotidpolymorphismus)** Locus mit min-

destens zwei verschiedenen genetischen Varianten, die mit einer Häufigkeit von mindestens 1% in der Bevölkerung und einer Wahrscheinlichkeit von 1/1000 Nukleotiden vorkommen. Sie können ein pathogenetisches Korrelat besitzen.

**Sequenzanalyse, Sequenzierung:** Automatisierte Verfahren zur Analyse der Nukleotidabfolge von DNA-Abschnitten. Mit Hilfe dieser Methode kann die Nukleotidsequenz aufgetrennt und nachgewiesen werden.

**UCSNP:** University of Chicago single nukleotide polymorphism, dieser SNP wurde von der Arbeitsgruppe in Chicago erstmalig beschrieben.

#### Literatur

1. Horikawa, Y., N. Oda, N.J. Cox, X. Li, M. Orho-Melander, M. Hara, Y. Hinokio, T.H. Lindner, H. Mashima, P.E.H. Schwarz, L. del Bosque-Plata, Y. Oda, I. Yoshiuchi, S. Colilla, K.S. Polonsky, S. Wei, P. Concannon, N. Iwasaki, J. Schulze, L.J. Baier, C. Bogardus, L. Groop, E. Boerwinkle, C.L. Hanis, and G.I. Bell. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet*, 2000. **26**(2): 163-75.

Korrespondenzadresse:

Peter Schwarz

Technische Universität Dresden,

Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus

Medizinische Klinik III

Bereich Endokrinopathien/Klinische

Stoffwechselerkrankungen

Fetscherstraße 74, 01307 Dresden