

# Morbus Osler – Hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie

Manfred Stuhmann<sup>1</sup> und Loukas Argyriou<sup>2</sup>

- 1) Institut für Humangenetik,  
Medizinische Hochschule  
Hannover
- 2) Institut für Humangenetik  
Universität Göttingen

## Zusammenfassung

Bei der hereditären hämorrhagischen Teleangiektasie (HHT) handelt es sich um eine Systemerkrankung der Gefäße, die mit dem Auftreten von Epistaxis, Teleangiektasien an Haut und Schleimhäuten, sowie arterio-venösen Fehlbildungen in verschiedenen Organen und unterschiedlichen Ausmaßes einhergeht. Diese autosomal dominant vererbte Erkrankung ist genetisch heterogen, wobei sich bei den meisten Betroffenen ursächliche Mutationen entweder im ENG-Gen (HHT1) oder im ACVRL1-Gen (HHT2) nachweisen lassen. In der klinischen Ausprägung besteht eine große Überlappung zwischen HHT1 und HHT2, so dass bei der molekulargenetischen Diagnostik zumeist beide Gene untersucht werden müssen. Patienten mit Leberbeteiligung sollten allerdings zuerst auf Mutationen im ACVRL1-Gen untersucht werden, da diese fast stets Mutationen im ACVRL1-Gen tragen. ENG und ACVRL1 kodieren für die Proteine Endoglin und ALK-1 (activin receptor-like kinase 1), die als Mitglieder der TGF- $\beta$ -Rezeptor-Familie wichtige Funktionen für den Erhalt der Integrität der Gefäße erfüllen. Ein weiterer Typ der Erkrankung (HHT3) wird durch Mutationen in einem derzeit noch nicht identifizierten Gen auf dem Chromosom 5 bedingt, und in einigen wenigen Fällen kann die Erkrankung auch durch Mutation im MADH4-(SMAD4-)Gen verursacht sein, wobei im letzteren Fall zumeist neben der Gefäßerkrankung auch eine juvenile Polyposis vorliegt (sog. juvenile polyposis/HHT overlap syndrome, JPHT).

## Schlüsselwörter

ACVRL1, ALK-1, Endoglin, ENG, HHT,

## Summary

Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT) is a multi-systemic vascular disorder characterized by epistaxis, telangiectases in the mucous membrane of various organs as well as larger arteriovenous malformations. Genetic heterogeneity of HHT is confirmed; two major types of the disease, HHT1 and HHT2, are attributed to mutations in the ENG and ACVRL1 genes. The clinical symptoms largely overlap between HHT1 and HHT2, and molecular genetic diagnosis normally involves testing of both genes. However, in cases of liver involvement, initial testing of the ACVRL1 gene is recommended, since most of these patients carry mutations in the ACVRL1 gene. ENG and ACVRL1 code for proteins, i.e. endoglin and ALK-1 (activin receptor-like kinase 1), which are members of the TGF- $\beta$  receptor family; both proteins are essential for maintaining vascular integrity. Another, as yet unidentified gene has been implicated in HHT; the HHT3 locus linked to chromosome 5. Mutations in the MADH4 (also designated as SMAD4) gene have been identified in patients with a juvenile polyposis/HHT overlap syndrome (JPHT).

## Keywords

ACVRL1, ALK-1, endoglin, ENG, HHT

## Einleitung

Die hereditäre hämorrhagische Teleangiektasie (HHT; OMIM 187300), auch als Morbus Osler oder Osler-Rendu-Weber-/ (ORW-) Syndrom bezeichnet, ist eine weltweit beobachtete, autosomal dominant vererbte Gefäßerkrankung. Die Prävalenz der Erkrankung reicht von 1:39.216 in Nord-England bis 1:1.331 in den Niederländischen Antillen; insgesamt kann für kaukasische Bevölkerungen eine durchschnittliche Prävalenz von etwa 1:10.000 angenommen werden. Die Expressivität der HHT ist variabel. Die Penetranz ist hoch und hängt vom Alter ab: während im Alter von 16 Jahren etwa 71% der Mutations-träger Symptome der HHT zeigen, findet sich im Alter von 40 Jahren bei mehr als 90% eine klinisch manifeste HHT.

## Klinik – diagnostische Kriterien

Mehr als 90% aller Patienten leiden an rezidivierender Epistaxis (Tabelle 1). Diese ist meistens Erstmanifestation der Erkrankung und tritt häufig bereits in der Kindheit oder Pubertät auf. Teleangiektasien der Haut manifestieren sich meist später als die Epistaxis und sind hiermit in der Regel das zweite Symptom der Erkrankung. Prädilektionsstellen sind insbesondere Gesicht, Zunge und Finger. Teleangiektasien der gastrointestinalen Mucosa führen bei 15 bis 44% der Patienten mit HHT zu Blutungen aus dem Gastrointestinaltrakt (GIT), wobei diese meist nach dem 50. Lebensjahr auftreten.

Tab 1 Prävalenzen der wichtigsten Manifestationen bei der HHT

Symptome	Prävalenz
Epistaxis	78-96%
Teleangiektasien	>90%
Gastrointestinale Blutung	13-44%
Pulmonal-arteriovenöse Malformationen	5-50%
Hepatische arteriovenöse Malformationen	8-31%
Zerebrovaskuläre Malformationen	1-15%

Tab 2 Curaçao-Kriterien (nach Shovlin et al., 2000)

Curaçao-Kriterien	Erklärung
Epistaxis	spontan und rezidierend
Teleangiektasien	Lokalisierung: Lippen, Mundhöhle, Finger, Nase
viszerale Manifestation	GI-Blutung, pAVMs, hAVMs, CVMs*)
positive Familienanamnese	ein Verwandter 1. Grades mit Morbus Osler nach oben genannten Kriterien

## \*) Legende

GI: gastrointestinal  
 pAVMs: pulmonale, arteriovenöse Malformationen  
 hAVMs: hepatisch, arteriovenöse Malformationen  
 CVMs: zerebrovaskuläre Malformationen.

Die Diagnose gilt als „sicher“, wenn  $\geq$  drei Kriterien erfüllt werden,  
 die Diagnose gilt als „wahrscheinlich“, wenn zwei Kriterien erfüllt werden,  
 die Diagnose gilt als „unwahrscheinlich“, wenn kein oder ein Kriterium erfüllt wird.

Die Häufigkeit von sich klinisch manifestierenden hepatischen arteriovenösen Malformationen (AVMs) beträgt ca. 8–31%. Mögliche Komplikationen der Leberbeteiligung sind Herzversagen, portosystemische Enzephalopathie, regenerative Hyperplasien (sog. Pseudozirrhose) und Blutungen aus Ösophagusvarizen. Bei Screening-Programmen zeigte sich jedoch, dass hepatische AVMs sehr häufig subklinisch verlaufen. So ließen sich in einer Studie durch Doppler-Sonographie bei 41,4% der untersuchten Patienten hepatische AVMs feststellen, während anderen Angaben zufolge die Inzidenz hepatischer AVMs sogar auf 78% geschätzt wurde.

Pulmonale AVMs treten bei 5–50% der Betroffenen auf. Mögliche Komplikationen sind zerebrale und viszerale Embolien sowie Abszesse und Blutungen in Form von Hämoptysen oder eines Hämothorax. Allgemeine Symptome wie Dyspnoe, Zyanose, Trommelschlegelfinger und Uhrglasnägel können bei Patienten mit HHT auftreten.

Zerebrale AVMs bei HHT-Patienten sind viel seltener (Inzidenz von ca. 1–15%). Es ist allerdings klinisch schwierig zu unterscheiden, ob Symptome wie Kopfschmerzen und Anfallsleiden auf zerebrale AVMs oder auf Hirnabszesse im Rahmen von pulmonalen AVMs zurückzuführen sind.

Zur weiterführenden Literatur bezüglich des klinischen Erscheinungsbildes der HHT sei auf die im Abschnitt Genotyp-Phänotyp-Korrelation angegebenen Referenzen und die darin enthaltenen Literaturangaben verwiesen.

Um eine Objektivität bei der klinischen Diagnose vom M. Osler zu ermöglichen, wurden auf einem von der nordamerikanischen Selbsthilfeorganisation „HHT Foundation Int. Inc.“ organisierten Expertentreffen die in der Tabelle 2 aufgelisteten Curaçao-Kriterien festgelegt, basierend auf den oben genannten Beschreibungen (Shovlin et al. 2000). Wenn drei oder mehr Kriterien erfüllt sind, gilt die Diagnose „Morbus Osler“ als sicher, bei zwei Kriterien ist die Diagnose wahrscheinlich, bei einem bzw. keinem Kriterien unwahrscheinlich. Dabei muss erwähnt werden, dass sich die Familiarität bei der Praxis der molekulargenetischen Diagnostik als das wertvollste Kriterium erweist.

**Die vaskulären Malformationen bei HHT**

Die vaskulären Fehlbildungen bestehen aus direkten arteriovenösen Verbindungen dünnwandiger Aneurysmen und reichen von kleinen Teleangiektasien bis hin zu großen viszeralen arteriovenösen Malformationen (AVMs). Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen an Hautschnit-

ten Betroffener ist bekannt, dass sich anfänglich die postkapillären Venolen erweitern und anschließend die Kapillaren und Arteriolen betroffen werden, bis sich letztendlich eine direkte arteriovenöse Verbindung ohne normales intermediäres Kapillarnetz ausgebildet. Pulmonale AVMs können nicht nur zu bedrohlichen Blutungen, sondern durch die Einschränkung der Filterwirkung der Lungenkapillaren auch zu zerebralen Abszessen und Embolien führen. In der Leber kann es neben Malformationen hepatischer Arterien und Venen auch zu Shunts zwischen Pfortader und Lebervenen kommen, wodurch eine Herzinsuffizienz resultieren kann. Am Gastrointestinaltrakt können Blutungen aus arteriovenösen Malformationen mitunter lebensbedrohliche Ausmaße annehmen. In seltenen Fällen kann es schließlich auch zu Gefäßanomalien an den Nieren, der Milz, der Retina oder den Bindehäuten der Augen kommen.

**Genotyp-Phänotyp-Korrelation**

Abhängig davon, ob Mutationen im *ENG*-Gen oder im *ACVRL1*-Gen vorliegen (siehe unten), erfolgt die Unterscheidung der beiden Haupttypen der HHT in HHT1 und HHT2. Auch wenn selbst bei Betroffenen in derselben Familie eine sehr unterschiedliche Ausprägung der klinischen Symptome und des Schweregrades der Erkrankung beobachtet werden kann, trotz der weitgehenden Überlappung der Krankheitsbilder HHT1 und HHT2, können doch inzwischen anhand umfangreicher Studien (z. B. Berg et al., 2003, Harrison et al., 2003, Kjeldsen et al., 2005, Kuehl et al., 2005, Lette-

Tab 3 Detektionsrate von *ENG*- und *ACVRL1*-Mutationen bei HHT-Patienten unterschiedlicher Herkunft

HHT-Patienten		Mutationen (n)		Detektionsrate (%) <i>ENG + ACVRL1</i>	Referenz
Herkunft	n	<i>ENG</i>	<i>ACVRL1</i>		
Göttingen	51	13	19	62,8	Wehner et al. 2006 <sup>1</sup>
Tübingen	39	16	18	87,2	Schulte et al. 2005 <sup>1</sup>
Hannover	19	3	12	78,9	Kühl et al. 2005 <sup>1</sup>
Deutschland	109	32	49	74,3	
Frankreich	136	37 + 3*	79 + 0*	85,3 (87,5*)	Lesca et al. 2006 <sup>1</sup>
Italien	66	20	41	92,4	Lenato et al. 2006 <sup>2</sup>
Spanien	25	6	11	68,0	Fernandez-L et al. 2006 <sup>1</sup>
Niederlande	104	55	42	93,3	Letteboer et al. 2005 <sup>1</sup>
Dänemark	25	14 + 0**	7 + 0**	84,0 (84,0**)	Brusgaard et al. 2004 <sup>3</sup>
USA	119	52 + 6***	34 + 1***	72,3 (78,2***)	Bossler et al. 2006 <sup>1</sup>
Kanada	194	87 + 7*	54 + 4*	72,7 (78,4*)	Prigoda et al. 2006 <sup>1</sup>
<b>Gesamt</b>	<b>778</b>	<b>303 + 16</b>	<b>317 + 5</b>	<b>79,7 (82,4)</b>	

Alle Patienten erfüllten mindestens drei Curaçao-Kriterien (siehe Tab. 2).

Das Mutationsscreening erfolgte jeweils mittels direkter Sequenzierung<sup>1</sup>, DHPLC<sup>2</sup> oder DGGE<sup>3</sup>.

Zusätzliches Screening auf größere Rearrangements erfolgte mittels:

\* quantitativer multiplex PCR, \*\* long-range PCR oder \*\*\* quantitativer Southernblot-Analyse.

Göttingen, Tübingen oder Hannover steht für die drei Zentren, in denen die deutschen Patienten untersucht wurden.

boer et al., 2006) einige allgemeine Aussagen zur Genotyp-Phänotyp-Beziehung bei der HHT getroffen werden:

- 1) Generell findet sich bei der HHT2 ein etwas milderer Phänotyp als bei der HHT1. HHT2 hat eine etwas geringere Penetranz, und Spätmanifestationen der Erkrankungen sind häufiger als bei HHT1.
- 2) Pulmonal-arteriovenöse Malformationen sind signifikant häufiger bei HHT1 als bei HHT2 und finden sich häufiger bei Frauen als bei Männern.
- 3) Patienten mit HHT und primärer pulmonaler Hypertension haben zumeist Mutationen im *ACVRL1*-Gen.
- 4) Zerebrale arteriovenöse Malformationen werden etwas häufiger bei HHT1 beobachtet.
- 5) Gastrointestinale Blutungen verlaufen bei HHT1 mitunter schwerwiegender als bei HHT2.
- 6) Epistaxis tritt bei HHT1 oft eher auf als bei HHT2, wobei sich im weiteren Verlauf keine wesentlichen Unterschiede in der Schwere zeigen.
- 7) Leberbeteiligung ist weitaus häufiger bei HHT2 als bei HHT1 und tritt häufiger bei Frauen als bei Männern auf.
- 8) Bei dem gemeinsamen Auftreten von juveniler Polyposis und HHT liegt wahrscheinlich ein JP/HHT-Syndrom vor (Mutation im *SMAD4*-Gen, siehe unten).

### Genetische Heterogenität

#### *Es gibt mindestens vier verschiedene HHT-Loci*

Die genetische Heterogenität der HHT konnte durch eine Vielzahl von Studien belegt werden. Als erster Genort wurde das auf dem Chromosom 9q34.1 lokalisierte *ENG*-Gen identifiziert. *ENG* kodiert für das Protein Endoglin, und Mutationen im *ENG*-Gen führen zur HHT1 (OMIM 131195). Der zweite Genort ist das auf Chromosom 12q13 lokalisierte *ACVRL1*- (auch als *ALK-1*-bezeichnete) Gen, das für eine *activin receptor-like* Kinase kodiert. Mutationen im *ACVRL1*-Gen sind mit HHT2 (OMIM 601284) assoziiert. Ein dritter HHT-Locus (HHT3) wurde kürzlich auf dem Chromosom 5 lokalisiert (Cole et al., 2005), ohne dass das betroffene Gen bisher identifiziert werden konnte. Das vierte Gen, das bei der HHT betroffen sein kann, ist das auf Chromosom 18q21.1 lokalisierte *SMAD4*- (alias *MADH4*-)Gen, in dem bei mehreren Patienten mit HHT und juveniler Polyposis (sog. JP/HHT-Syndrom, OMIM 175050) Mutationen nachgewiesen werden konnten.

#### *Das ENG-Gen*

Das 40 kB große *ENG*-Gen hat 15 Exons, von denen Exon 9 nochmals unterteilt ist in 9a und 9b. Die kodierenden Abschnitte des *ENG*-Gens variieren in Größe von 39 bis 258 Basenpaaren (bp) und sind durch Introns unterschiedlicher Länge (136 bis 13.267 bp) unterbrochen. Endoglin besteht aus 658 Aminosäuren und ist ein homo-dimeres Glycoprotein von

180 kDa, dessen beide Untereinheiten durch Disulfidbrücken verbunden werden. Endoglin setzt sich aus einer extrazellulären Domäne (kodiert von Exons 2-12), einer transmembranen Domäne (kodiert von Exon 13) und einer zytoplasmatischen Domäne (kodiert von Exon 14) zusammen. Die extrazelluläre Domäne enthält eine Arginin-Glyzin-Aspartat (RGD) Tripeptid-Sequenz, die als potentielle Bindungsstelle für Integrine im Rahmen von Zelladhäsionsprozessen angesehen wird.

In der HHT-Mutationsdatenbank der *HHT Foundation international* (<http://www.macs.hw.ac.uk/hht>) sind mit Datum vom 13.6.06 für das *ENG*-Gen insgesamt 248 potenziell krankheitsverursachende Mutationen, 21 Polymorphismen und drei Sequenzveränderungen unklarer Bedeutung eingetragen.

Im Exon 14 sind bisher keine Mutationen bekannt. Die Abwesenheit von Mutationen im *ENG*-Exon 14 bei HHT-Patienten könnte bedeuten, dass diese Bereiche nicht wichtig für die Funktion des Endoglins sind. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung gestützt, dass in den cDNAs von gesunden Kontrollpersonen eine alternative Spleißvariante ohne Exon 14 dafür aber mit einem längeren Exon 13 festgestellt wurde.

#### *Das ACVRL1-Gen*

Das *ACVRL1*-Gen erstreckt sich über 14 kB; seine 10 Exons sind 61 bis 276 bp groß und werden von 203 bp bis 2,8 kB großen Introns unterbro-

chen. Exons 2 bis 10 des *ACVRL1*-Gens kodieren für ein aus 503 Aminosäuren bestehendes Protein, das sich aus einer extrazellulären Domäne (kodiert von Exon 3 und einem Teil des Exons 4), einer transmembranen Domäne (kodiert vom restlichen Exon 4), einer intrazellulären Gly-Ser-Domäne (kodiert von Exon 5) und einer intrazellulären Kinase-Domäne (kodiert von Exons 6 bis 10) zusammensetzt.

In der HHT-Mutationsdatenbank der *HHT Foundation international* (<http://www.macs.hw.ac.uk/hht>) sind mit Datum vom 13.6.06 für das *ACVRL1*-Gen insgesamt 205 potentiell krankheitsverursachende Mutationen, 15 Polymorphismen und eine Sequenzveränderung unklarer Bedeutung eingetragen. Mutationen finden sich in allen kodierenden Exons des *ACVRL1*-Gens und in vielen flankierenden intronischen Sequenzen.

Bei bislang sechs Familien mit putativen Spleißmutationen aus dem Göttinger Patientenkollektiv konnte in zwei Fällen ein aberrantes Transkript (ein Intron einschließend) nachgewiesen werden (Argyriou et al, 2006).

#### Molekulargenetische Diagnostik

Die molekulargenetische Diagnostik der HHT ist ein wertvolles Mittel bei der Diagnostik dieses Krankheitsbildes. Insbesondere bei Fällen mit untypischem Verlauf (z.B. Teleangiectasien vor Eintritt der Epistaxis, oder multiple innere AVMs familiären Vorkommens ohne Hautveränderungen) kann durch die molekulargenetische Untersuchung die Diagnose gesichert werden.

In den beiden Genen *ENG* und *ACVRL1* gibt es weder einzelne Mutationen, die häufig auftreten, noch existieren typische „mutation hot spots“. Stattdessen findet sich eine Vielzahl unterschiedlicher Mutationen, die zumeist nur in einer Familie vorkommen. Die molekulargenetische Diagnostik bei Personen mit der klinischen Verdachtsdiagnose HHT besteht daher in aller Regel in der kompletten Sequenzierung der kodierenden Bereiche und der flankierenden Intronsequenzen beider Gene. Eine Ausnahme von dieser Regel besteht dann, wenn bei ei-

nem oder mehreren anderen betroffenen Familienmitgliedern bereits eine krankheitsverursachende Mutation nachgewiesen wurde (in diesem Fall reicht zumeist die Untersuchung der bekannten Mutation aus), oder wenn beim Betroffenen eine Leberbeteiligung vorliegt. Im letzteren Fall sollte stets mit der Untersuchung des *ACVRL1*-Gens begonnen werden. Bei 10 HHT-Patienten mit Leberbeteiligung aus Hannover konnte in 8 Fällen eine Mutation im *ACVRL1*-Gen identifiziert werden, während in zwei Fällen weder eine *ACVRL1*-, noch eine *ENG*-Mutation nachweisbar war (Kühl et al., 2005). Im Göttinger Kollektiv hatten alle acht Patienten mit einer ausgeprägten Leberbeteiligung (alle Patienten waren lebertransplantiert oder waren für eine Lebertransplantation angemeldet worden) ausschließlich Mutationen im *ACVRL1*-Gen (Argyriou et al. 2005). Die Mutation c.199C>T fand sich dabei zweimal. Bei zwei weiteren Familien aus der Göttinger Diagnostik und bei zwei weiteren, in der Literatur beschriebenen Familien (Olivieri et al, 2002) mit derselben Mutation war bei den Betroffenen immer auch eine Leberbeteiligung präsent.

Trotz Sequenzierung beider Gene findet sich bei ca. einem Viertel der deutschen HHT-Patienten keine Mutation (Tabelle 3). Ein Ausschluss der klinischen Verdachtsdiagnose HHT ist somit mittels molekulargenetischer Diagnostik nicht möglich (es sei denn, es handelt sich um eine Person, bei der das Vorhandensein einer in der Familie bekannten Mutation ausgeschlossen werden konnte). Bei dringender Verdachtsdiagnose ist gegebenenfalls eine weiterführende molekulargenetische Diagnostik möglich (Deletionsscreening, *SMAD4*-Untersuchung, siehe unten), aber auch dann wäre noch keine vollständige Detektionsrate erreicht. Darüber hinaus ist momentan nicht absehbar, ob sich bei den Betroffenen ohne Mutationsnachweis in den bisher bekannten Genen gehäuft Mutationen in dem derzeit noch unbekanntem Gen auf dem Chromosom 5 (HHT3) finden werden.

In einigen wenigen Fällen liegen größere Rearrangements (Deletionen oder Insertionen mehrerer *ENG*- oder *ACVRL1*-Exons) vor, die sich mittels spezieller Screeningmethoden (siehe Tabelle 3 und dortige Referenzen) nachweisen lassen. Für Deutschland liegen hier noch keine publizierten Daten vor, wobei erste eigene Untersuchungen darauf hinweisen, dass der Anteil größerer Deletionen oder Insertionen eher gering ist.

Bei einigen HHT-Patienten konnten schließlich Mutationen im *SMAD4*-Gen nachgewiesen werden, ohne dass bei den Betroffenen eine Polyposis coli bekannt gewesen wäre (Prigoda et al. 2006, Lesca et al. 2006, Gallione et al. 2006). Gallione und Mitarbeiter regen daher an, dass sich bei der molekulargenetischen Diagnostik von HHT-Patienten die Untersuchung des *SMAD4*-Gens anschließen sollte, sofern beim Betroffenen keine *ENG*- oder *ACVRL1*-Mutation nachgewiesen wurde (Gallione et al. 2006). Eine Untersuchung des *SMAD4*-Gens sollte in diesem Fall aufgrund der besonderen klinischen Bedeutung und des prädiktiven Charakters unseres Erachtens auf jeden Fall allerdings nur nach vorheriger genetischer Beratung erfolgen.

#### Pathophysiologie

##### **Endoglin und ALK-1 sind an dem TGF- $\beta$ -Signalweg beteiligt**

Die Mitglieder der TGF- $\beta$ -Familie übernehmen verschiedene Funktionen in mehreren Zelltypen. Sie steuern z.B. die Proliferation, Migration und Differenzierung verschiedener Zellsorten und regulieren die Apoptose, die Hämatopoese oder Immunreaktionen. Als Zytokine, die generell an Reparaturmechanismen beteiligt sind, spielen sie hier eine Rolle in der Wundheilung nach Gewebeerletzungen oder Infektionen sowie in der Stimulation der Angiogenese (Blobe et al., 2000). Beim Menschen identifizierte Mitglieder dieser Familie sind die 3 TGF- $\beta$ -Isoformen (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2 und TGF- $\beta$ 3), die „bone morphogenetic proteins“ (BMP) und die Aktive. Anhand ihrer ähnlichen Struktur und Sequenzhomologie gehören End-

oglin und ALK-1 zu der Familie der TGF- $\beta$ -Rezeptoren. ALK-1 ist ein Typ I-Rezeptor mit einer Domäne mit Serin-Threonin-Kinase-Aktivität. Transfunktionsstudien in COS-1-Zellen haben gezeigt, dass ALK-1 TGF- $\beta$ 1 oder Aktivin bei Anwesenheit des TGF- $\beta$ -Rezeptors-II oder des Aktivin Typ II-Rezeptors (ActR-II) binden kann. Der Ligand von ALK-1 *in vivo* ist jedoch bislang nicht identifiziert worden. Endoglin reguliert in Endothelzellen andere TGF- $\beta$ -Rezeptoren und unterdrückt die Expression von Smad1 (Pece-Barbara et al., 2005). Die derzeitige Hypothese zur Pathogenese der HHT geht davon aus, dass eine Störung des Gleichgewichts zwischen TGF- $\beta$ -Rezeptoren und den intrazytoplasmatischen Smad-Transduktionsignalen die Defekte der Gefäßentwicklung verursacht.

Obwohl der oben postulierte pathogenetische Mechanismus weiterer Klärung bedarf, ist es sehr wahrscheinlich, dass eine Störung des Gleichgewichts beim ALK-1- und Endoglin-gesteuerten TGF- $\beta$ -Signalweg zu einem Entwicklungsdefekt der Endothelzellen während der Angiogenese führt (Abdalla & Letarte, 2006). Es gibt Hinweise, dass bei Patienten mit HHT Typ I erniedrigte TGF- $\beta$ 1 Plasmaspiegel vorliegen. Die erniedrigte Endoglinexpression in den Endothelzellen dieser Patienten könnte die Regulation von TGF- $\beta$  auch durch einen Smad-unabhängigen Signalweg beeinflussen (Letarte et al., 2005). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass einige *ACVRL1*-Mutationen einen dominant negativen Effekt haben, wohingegen andere zu einem Verlust von Rezeptoraktivität führen (sog. „Nullmutationen“). „Loss of function“-Mutationen auf einem *ACVRL1*-Allel reichen jedoch aus, um Defekte des Endothelreparaturmechanismus zu verursachen. Bei sog. „Null-“ oder „loss of function“-Mutationen ist der prognostizierte, durch die Mutation veränderte ALK-1-Rezeptor nicht nachweisbar. Der Mangel an ALK1-Rezeptormolekülen ist hier für die Symptome verantwortlich. Beim dominant negativen Effekt hingegen liegt die Ursache in einer zusätzlichen Funktion, die der in diesem Fall vorhandene veränderte Rezeptor

durch die Mutation bekommen hat. Diese zusätzliche Funktion führt zur Erkrankung.

Möglicherweise könnten sogar *ACVRL1*-Polymorphismen eine Rolle bei sporadischen Malformationen des CNS spielen. So berichten Simon et al. (2006) von einer statistisch signifikanten Assoziation eines *ACVRL1*-Polymorphismus mit sporadischen AVMs des CVS und duralen arteriovenösen Fisteln, wobei dieser Befund sicherlich noch der Bestätigung an einem unabhängigen Untersuchungskollektiv bedarf.

TGF- $\beta$  hat das seltene Merkmal, die Angiogenese *in vivo* und *in vitro* stimulieren oder inhibieren zu können. Gemäß eines vor kurzem postulierten Modells kann TGF- $\beta$  nach seiner Bindung an den TGF- $\beta$ -Typ II-Rezeptor zwei Typ I-Rezeptoren in Endothelzellen aktivieren, z.B. den endothelspezifischen ALK-1-Rezeptor oder den ubiquitär exprimierten ALK-5-Rezeptor. ALK-1 stimuliert durch die Transkriptionsfaktoren Smad1/5 die Proliferation und Migration von Endothelzellen, während ALK-5 dieselben Zellfunktionen durch Smad 2/3 inhibiert.

#### **ALK-1 und Leberbeteiligung bei HHT2**

Warum HHT-Patienten mit Leberbeteiligung fast stets Mutationen im *ACVRL1*-Gen tragen (HHT2) und nur selten im *ENG*-Gen, bleibt bislang unklar. Dabei könnte die Interaktion von LXR- $\beta$  mit ALK-1 eine Rolle spielen. LXR- $\beta$  gehört zu den sogenannten Liver-X-Rezeptoren (LXR). Die in der Leber vorkommenden LXR-Rezeptoren können als Transkriptionsfaktoren die Expression eines ganzen Gen-Netzwerkes anstoßen. Mo et al. (2002) zeigten, dass die zytoplasmatische Domäne von ALK-1 an LXR- $\beta$  *in vitro* und *in vivo* bindet. Nach der Interaktion von ALK-1 mit LXR- $\beta$  kommt es zur Phosphorylierung von LXR- $\beta$  und zur Transkription verschiedener Gene im Zellkern (Mo et al., 2002). Da diese Signaltransduktionskaskade in der Leber vorhanden ist, ist es denkbar, dass durch verschiedene Mutationen, die die intrazelluläre Domäne von ALK-1 verändern (wie z.B. die Mutation c.199C>T), die Interaktion mit

LXR- $\beta$  zerstört werden könnte. Dies könnte dazu führen, dass die Betroffenen überwiegend Malformationen in der Leber (z.B. hepatische AVMs, Links-Rechts-Shunts, Pseudozirrrose) haben.

#### **Fazit**

Die Identifizierung von Mutationen in den Genen *ENG* und *ACVRL1* von HHT-Patienten hat zu einem deutlich erweiterten Verständnis über Pathogenese und molekulare Grundlage dieser Erkrankung geführt (siehe auch Abdalla & Letarte, 2006). Dies ermöglicht die Durchführung molekulargenetischer Untersuchungen zur Bestätigung der Diagnose. Klinische Angaben über den Patienten und seine Familie können dabei in gewissem Maße Hinweise auf das betroffene Gen geben (insbesondere *ACVRL1* bei hepatischen AVMs, eher *ENG* bei pulmonalen AVMs, oder *SMAD4* bei gleichzeitiger juveniler Polypose). Die Tatsache, dass bei ca. 25% der Patienten mit klinisch gesicherter oder wahrscheinlicher HHT durch die herkömmliche Untersuchung der *ENG*- und *ACVRL1*-Gene keine molekulargenetische Bestätigung der Diagnose gelingt, zeigt, dass die molekulargenetischen Grundlagen dieser Erkrankung einer weiteren Erforschung bedürfen.

#### **Literatur**

- Abdalla SA, Letarte M (2006) Hereditary haemorrhagic telangiectasia: Current views on genetics and mechanisms of disease. *J Med Genet* 43:97-110.
- Argyriou L, Pfitzmann R, Wehner LE et al. (2005) ALK-1 mutations in liver transplanted patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Liver Transpl* 11: 1132-1135.
- Argyriou L, Twelkemeyer S, Panchulidze I et al. (2006) Novel mutations in the *ENG* and *ACVRL1* genes causing hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Int J Mol Med* 17: 655-659.
- Berg JN, Porteous M, Reinhardt D et al. (2003) Hereditary haemorrhagic telangiectasia: a questionnaire based study to delineate the different phenotypes caused by endoglin and ALK1 mutations. *J Med Genet* 40: 585-590.
- Blobe GC, Schieman WP, Lodish HF (2000) Role of transforming growth factor  $\beta$  in human disease. *N Eng J Med* 342: 350-1358.
- Bossler AD, Richards J, George C et al. (2006) Novel mutations in *ENG* and *ACVRL1* identified

- in a series of 200 individuals undergoing clinical genetic testing for hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT): Correlation of genotype with phenotype. *Hum Mutat* 27: 667-675.
- Brusgaard K, Kjeldsen AD, Poulsen L et al. (2004) Mutations in endoglin and in activin receptor-like kinase 1 among Danish patients with hereditary haemorrhagic telangiectasia. *Clin Genet* 66: 556-561.
- Cole SG, Begbie ME, Wallace GMF, Shovlin CL (2005) A new locus for hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT3) maps to chromosome 5. *J Med Genet* 42: 577-582.
- Fernandez-L A, Sanz-Rodriguez F, Zarrabeitia R et al. (2006) Mutation study of Spanish patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia and expression analysis of endoglin and ALK1. *Hum Mutat Mutation in brief #884*, online.
- Gallione CJ, Richards JA, Letteboer TG et al. (2006) SMAD4 mutations found in unselected HHT patients. *J Med Genet* 43:793-797.
- Harrison RE, Flanagan JA, Sankelo M et al. (2003) Molecular and functional analysis identifies ALK-1 as the predominant cause of pulmonary hypertension related to hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med Genet* 40: 865-871.
- Kjeldsen AD, Moller TR, Brusgaard K et al. (2005) Clinical symptoms according to genotype amongst patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Intern Med* 258: 349-355.
- Kuehl HK, Caselitz M, Hasenkamp S et al. (2005) Hepatic manifestation is associated with ALK1 in hereditary hemorrhagic telangiectasia: identification of five novel ALK1 and one novel ENG mutations. *Hum Mutat Mutation in brief #782*, online.
- Lenato G, Lastella P, Di Giacomo MD et al. (2006) DHPLC-based mutation analysis of ENG and ALK-1 genes in HHT Italian population. *Hum Mutat Mutation in brief #871*, online..
- Lesca G, Burnichon N, Raux G et al. (2006) Distribution of ENG and ACVRL1 (ALK1) mutations in French HHT patients. *Hum Mutat Mutation in brief #892*, online.
- Letarte M, McDonald ML, Chenggang L et al. (2005) Reduced endothelial secretion and plasma levels of transforming growth factor- $\beta$  in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1. *Cardiovas Res* 68: 155-164.
- Letteboer TGW, Zewald RA, Kamping EJ et al. (2005) Hereditary hemorrhagic telangiectasia: ENG and ALK-1 mutations in Dutch patients. *Hum Genet* 116: 8-16.
- Letteboer TGW, Mager JJ, Snijder RI et al. (2006) Genotype-phenotype relationship in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Med Genet* 43: 371-377.
- Mo J, Fang SJ, Chen W, Blobe GC (2002): Regulation of ALK-1 signaling by the nuclear receptor LXR $\beta$ . *J Biol Chem* 277: 50788-50794
- Olivieri C, Mira E, Delu G et al. (2002) Identification of 13 new mutations in the ACVRL1 gene in a group of 52 unselected Italian patients affected by hereditary haemorrhagic telangiectasia. *J Med Genet* 20: E39.
- Pece-Barbara N, Vera S, Kathirkamathamby K et al. (2005) Endoglin null endothelial cells proliferate faster and are more responsive to transforming factor beta 1 with higher affinity receptors and an activated ALK1 pathway. *J Biol Chem* 280: 27800-27808.
- Prigoda NL, Savas S, Abballa SA et al. (2006) Hereditary haemorrhagic telangiectasia: mutation detection, test sensitivity and novel mutations. *J Med Genet* 43: 722-728.
- Schulte C, Geisthoff U, Lux A et al. (2005) High frequency of ENG and ALK1/ACVRL1 mutations in German HHT patients. *Hum Mutat Mutation in brief #816*, online.
- Shovlin CL, Guttmacher AE, Buscarini E et al. (2000) Diagnostic criteria for hereditary hemorrhagic telangiectasia (Rendu-Osler-Weber syndrome). *Am J Med Genet* 91: 66-67.
- Simon M, Franke D, Ludwig M et al. (2006) Association of a polymorphism of the ACVRL1 gene with sporadic arteriovenous malformations of the central nervous system. *J Neurosurg* 104: 945-949.
- Wehner LE, Folz BJ, Argyriou L et al. (2006) Mutation analysis in hereditary haemorrhagic telangiectasia in Germany reveals 11 novel ENG and 12 novel ACVRL1/ALK1 mutations. *Clin Genet* 69: 239-245.

#### Korrespondenzadressen der Autoren

Prof. Dr. med. Manfred Stuhmann  
 Institut für Humangenetik  
 Medizinische Hochschule  
 Carl-Neuberg-Str. 1  
 30625 Hannover  
 Tel +49 511 532 3719  
 Fax+49 511 532 5865  
 Stuhmann.Manfred@MH-Hannover.de

Dr. med Loukas Argyriou  
 Institut für Humangenetik  
 Universität Göttingen  
 Heinrich-Düker-Weg 12  
 37073 Göttingen  
 Tel +49 551 39 7593  
 Fax +49 551 39 9303  
 argi13@yahoo.com