

---

bereits bei 2-4 Jahren. Ein Enzymdefekt wurde in den meisten Fällen zwischen 2-8 Jahren diagnostiziert. Nur eine einzige Patientin (B3, R565Q, das andere Allel wurde nicht identifiziert) zeigte eine abgeschwächte Form der MPS IIIB. Mit einem Alter von 15 Jahren war sie noch in der Lage zu sprechen. Ein anderer Patient aus Deutschland (B9, C277F/ MIL) hatte eine sehr schwere Ausprägung der Erkrankung mit Manifestation bei Geburt. Eine Ursache für die unterschiedlichen Schweregrade des Krankheitsbildes der MPS IIIB konnte bisher noch nicht gefunden werden (Andria et al., 1979; Vance et al., 1980; Natale, 1991).

Die Expressierung mutierter Allele in in-vitro-Expressionssystemen könnte Aufschluss über die Funktion einzelner Bereiche des NAG-Proteins geben. Erst dann könnte man Aussagen über die Restfunktion des Enzyms machen, woraus Unterschiede im Phänotyp besser erklärbar würden.

## **5 Zusammenfassung**

Die Mucopolysaccharidose Typ IIIB (M. Sanfilippo B) ist eine autosomal-rezessiv vererbte lysosomale Speicherkrankheit. Dieser Erkrankung liegt ein Defekt der  $\alpha$ -N-Acetylglucosaminidase (NAG) zugrunde, die als Schlüsselenzym der Stoffwechselkette für den vollständigen Abbau von Heparansulfat, einem Glycosaminoglycan, nötig ist. Beim Ausfall der NAG kommt es zur Akkumulation von partiell degradiertem Substrat in vielen Geweben und Organen. Die klinischen Ausprägungen resultieren u.a. aus dem Untergang von Nervenzellen, da das Heparansulfat besonders im Zentralnervensystem eine wichtige Rolle spielt.

Erste Symptome manifestieren sich nach zunächst oft normaler Entwicklung des Kindes im Alter zwischen 2 und 6 Jahren, wobei es zu einem progredienten Verlust bereits erlernter Fähigkeiten kommt. Das Verhalten ist geprägt von Hyperaktivität, Unruhe und Aggressivität. Neben mentaler Retardierung tritt im Spätstadium eine generalisierte motorische Schwäche hinzu. Der Tod tritt meist im zweiten oder dritten Lebensjahrzehnt ein.

Für die Mucopolysaccharidose Typ III (alle Formen zusammen) wird in der Literatur eine Häufigkeit von 1:53000 angegeben, wobei MPS IIIB in Griechenland dominiert. In Deutschland ist sie eher selten.

In dieser Arbeit wurde in einem Kollektiv von 22 Patienten nach Sequenzabweichungen im Gen der  $\alpha$ -N-Acetylglucosaminidase (NAG) gesucht. Es kamen in der Molekulargenetik etablierte Methoden wie die Polymerase-kettenreaktion (PCR), "Single-Strand-Conformation-Polymorphism"-Analyse (SSCP), Restriktionsverdau und direkte Sequenzierung zur Anwendung. DNA-Proben, die in der SSCP-Analyse ein auffälliges Muster zeigten, wurden sequenziert und, soweit Restriktionsstellen

---

existierten, die gefundenen Sequenzierungen per Restriktionsverdau als Mutation bestätigt.

15 unterschiedliche Mutationen wurden identifiziert, 13 von ihnen waren in der Literatur noch nicht beschrieben. Das Mutationsspektrum setzte sich zusammen aus zwei Deletionen (delF142; 1006delAG), einer Insertion (338ins24) und 12 unterschiedlichen Punktmutationen. Eine der 12 "Missense"-Punktmutationen, M1L, betrifft das Initiations-Codon. Zwei Nonsense-Mutationen (R203X, W404X) führen zu einem frühzeitigen Kettenabbruch bei der Proteinsynthese.

Ferner wurden zwei Polymorphismen gefunden: In Exon VI konnte G737R identifiziert werden. Ein weiterer Polymorphismus befand sich im Intron-Bereich zwischen Exon II und III (IVS2+50g→c).

Die Insertion (338ins24) umfasst einen Einschub von 24 Nucleotiden in Exon I, wobei es bei der Translation zu einer Duplikation von 8 Aminosäuren kommen sollte. Bei der Deletion 1006delAG kommt es aufgrund der Leserasterverschiebung 14 Aminosäuren abwärts zu einem Kettenabbruch nach Ablesung eines an dieser Stelle entstandenen Stop-Codons.

Bisher konnte kein Zusammenhang zwischen den gemessenen Enzymaktivitäten in Zellen von Patienten mit MPS IIIB und dem klinischen Verlauf hergestellt werden. Auch wenn es bisher keine biologischen Marker oder Assays (z.B. Restenzymaktivität oder Glycosaminoglycanlevel) gibt, mit denen man den voraussichtlichen Verlauf messen kann, ist es von Bedeutung Mutationen zu finden. Hierzu leistet die vorliegende Arbeit einen wichtigen Beitrag. Die Identifikation der primären genetischen Defekte sollte in jedem Fall durchgeführt werden, bevor neue Therapieformen (z.B. Enzymersatz-Therapie, Gen-Therapie), die derzeit entwickelt werden, bei den einzelnen Patienten angewendet werden.

Wichtige Teile der vorliegenden Arbeit wurden im Journal of Medical Genetics publiziert: Bunge S, Knigge A, Steglich C, Kleijer WJ, Diggelen OP v, Beck M, Gal A: Mucopolysaccharidosis type IIIB (Sanfilippo B): identification of 18 novel  $\alpha$ -N-acetylglucosaminidase gene mutations. J Med Genet 36: 28-31 (1999).