

KREBS IST EINE GENETISCHE ERKRANKUNG

Krebs entsteht durch eine Anhäufung somatischer DNS-Veränderungen, die zu ungehemmter Zellproliferation führen. Sequenzänderungen (d. h. Mutationen) der DNS machen dabei den Großteil der Veränderungen aus. Diese können infolge von zufälligen Replikationsfehlern, einer Exposition gegenüber Karzinogenen (z. B. Strahlung) oder durch fehlerhafte DNS-Reparaturprozesse auftreten. Obwohl die meisten Krebserkrankungen sporadischer Natur sind, treten sie doch gehäuft in Familien mit Keimbahnmutationen in Krebsgenen auf.

HISTORISCHER HINTERGRUND

Die Idee, dass eine Abfolge somatischer Mutationen spezifischer Gene die Krebsprogression vorantreibt, wurde erst im Verlauf der letzten 25 Jahre generell akzeptiert. Vor dem Einsatz des Mikroskops hielt man Krebs für Aggregate von Schleim oder anderer nicht zellulärer Substanz. Erst in der Mitte des 19. Jahrhunderts wurde klar, dass Tumoren aus zahlreichen Zellen bestehen und diese wiederum von den normalen Zellen des betroffenen Organs abstammen. Dennoch blieben die molekularen Grundlagen des ungehinderten Wachstums von Krebszellen über ein weiteres Jahrhundert rätselhaft. Während dieser Zeit wurden mehrere Theorien zur Krebsentstehung aufgestellt. Der berühmte Biochemiker Otto Warburg führte in seiner Verbrennungstheorie Krebs auf einen abnormen Sauerstoffmetabolismus zurück. Auch glaubten einige Wissenschaftler, dass alle Krebserkrankungen viral verursacht und daher ansteckend seien.

Schließlich konnten Beobachtungen von Krebserkrankungen bei Schornsteinfegern, Studien mit Röntgenstrahlen, die überwältigende Datenfülle, die einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Zigarettenrauch und Lungenkrebs belegten, und nicht zuletzt die Arbeiten von Ames zur chemischen Mutagenese überzeugende Belege dafür liefern, dass Krebs durch DNS-Veränderungen entsteht. Obwohl sich eine generelle Virustheorie des Krebses nicht bestätigte (mit Ausnahme der humanen Papillomaviren, die für das humane Zervixkarzinom und andere Krebsformen verantwortlich sind), führten nach 1975 durchgeführte Untersuchungen an Retroviren zur Entdeckung der ersten menschlichen *Onkogene*. Kurz darauf waren Untersuchungen von Familien mit erblicher Neigung zu Krebserkrankungen entscheidend für die Entdeckung der *Tumorsuppressorgene*. Das Fachgebiet, das sich mit Mutationen in diesen Genen und deren Auswirkungen auf Tumorzellen beschäftigt, wird heute als Tumorgenetik bezeichnet.

KLONALITÄT UND VIELSCHRITTIGE ENTWICKLUNG VON KREBSERKRANKUNGEN

Nahezu alle Krebskrankheiten stammen von einer einzigen Zelle ab. Diese klonale Entstehung ist ein wesentliches Unterscheidungsmerkmal zwischen Neoplasie und Hyperplasie. Stets ist eine Vielzahl kumulativer Mutationsereignisse für die Progression einer normalen Zelle in eine mit vollständig malignem Phänotyp erforderlich. Dieser Prozess kann im Sinne von Darwin als Mikroevolution betrachtet werden, wobei die mutierte Zelle mit jedem zusätzlichen Schritt einen Wachstumsvorteil gewinnt und sich damit gegenüber ihren Zellnachbarn durchsetzt (Abb. 101e-1). Aufgrund der Zunahme der Krebsfrequenz mit dem Alter sowie neuerer molekulargenetischer Forschung geht man davon aus, dass 5–10 Mutationen akkumulieren müssen, damit eine zuvor normale Zelle einen vollständig malignen Phänotyp entwickelt.

Das Verständnis der genauen Natur und Entstehungsreihenfolge der für einige bösartige Erkrankungen notwendigen genetischen Veränderungen steht erst am Anfang. Am Beispiel des kolorektalen Karzinoms haben DNS-Analysen an normalem Dickdarmepithel, Adenomen und Karzinomen einige der Gene, welche in diesem Prozess mutiert sein können, identifiziert (Abb. 101e-2). Vermutlich gelten auch für andere Tumoren derartige Progressionsmodelle, wobei Abfolge und Identität der betroffenen Gene variieren können.

ZWEI HAUPTKLASSEN DER KREBSGENE: ONKOGENE UND TUMORSUPPRESSORGENE

Es gibt zwei Hauptklassen von Krebsgenen. Diese umfassen solche Gene, die das Zellwachstum direkt entweder positiv (*Onkogene*) oder negativ (*Tumorsuppressorgene*) beeinflussen und somit durch ihre Fähigkeiten zur Kontrolle von Zellteilung (Zellgeburt) oder Zelltod (Apoptose) auch auf das Tumorwachstum wirken, wobei die Mechanismen sehr komplex sind. In normalen Zellen unterliegen Onkogene einer strengen Regulation. In Krebszellen dagegen kommt es an Onkogenen zu Mutationen, die diese Kontrolle aufheben und zu einer gesteigerten Aktivität des jeweiligen Genproduktes führen. Dieses Mutationsgeschehen tritt typischerweise in nur einem Allel des betreffenden Onkogens auf und wirkt dominant. Im Gegensatz dazu zügeln Tumorsuppressorgene normalerweise das Zellwachstum; eine Funktion, die ihnen in Krebszellen verloren geht. Wegen des diploiden Chromosomensatzes in Säugetierzellen müssen jedoch beide Allele inaktiviert werden, bevor es zum vollständigen Funktionsverlust eines Tumorsuppressorgens kommt, was auf zellulärer Ebene einem rezessiven Mechanismus entspricht. Ausgehend von diesen Ideen und Studien der erblichen Form des Retinoblastoms formulierten Knudson und andere die *Zwei-Treffer-Theorie*, die in ihrer modernen Version besagt, dass bei Krebserkrankungen beide Kopien eines Tumorsuppressorgens inaktiviert sein müssen.

Eine Untergruppe der Tumorsuppressorgene, die *Kuratorene*, beeinflusst das Zellwachstum nicht unmittelbar, sondern trägt zur Erhaltung der zellulären Genomintegrität bei. Zellen mit Defekten dieser Gene weisen eine gesteigerte Mutationsrate aller Gene auf, auch der Onkogene und Tumorsuppressorgene. Der resultierende Mutator-Phänotyp kann nach einer Hypothese von Loeb erklären, wie es zu der für die Tumorgenese nötigen großen Zahl von Mutationen im Laufe eines Menschenlebens kommen kann. Ein Mutator-Phänotyp kann bei Krebserkrankungen sowohl auf Nukleotidsequenzebene als auch auf chromosomaler Ebene beobachtet werden. Inzwischen wurde bei einigen Krebsformen, wie denen mit Störungen der DNS-Mismatch-Reparatur, ein Mutator-Phänotyp entdeckt. Die meisten Krebserkrankungen enthalten jedoch keine Reparaturdefekte und besitzen eine Mutationsrate ähnlich derjenigen von normalen Zellen. Viele dieser Krebsformen scheinen jedoch eine andere genetische Instabilität zu beherbergen, durch die es zum Verlust oder Zugewinn ganzer Chromosomen oder Chromosomenabschnitte kommt (siehe unten für eine ausführlichere Besprechung).

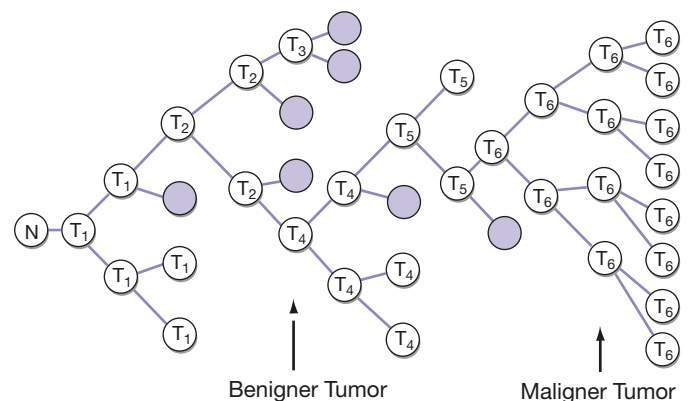


Abbildung 101e-1 Klonale vielschrittige Krebsentstehung. In diesem Diagramm führt eine Serie von fünf kumulativen Mutationen (T1, T2, T4, T5, T6), die einzeln nur einen mäßigen Wachstumsvorteil bedingen, letztlich zu einem bösartigen Tumor. Nicht alle Veränderungen dienen der Progression. So führt die Mutation T3 in eine Sackgasse. Die genaue Zahl der zur Transformation vom normalen in den malignen Zustand erforderlichen kumulativen Mutationen ist für die meisten Tumoren unbekannt. (Nach P Nowell, *Science* 194:23, 1976, mit frdl. Genehmigung.)

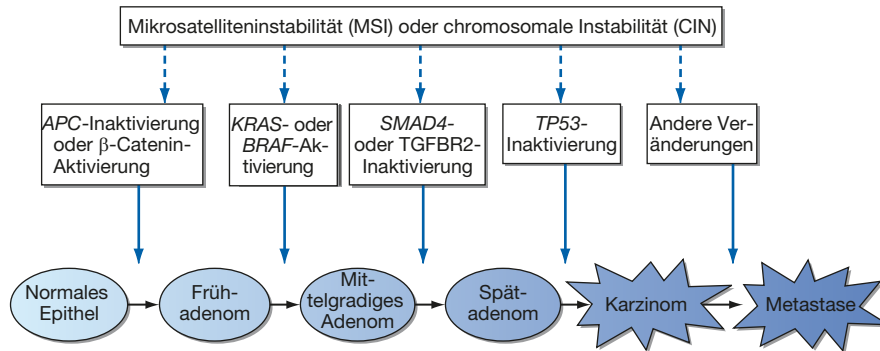


Abbildung 101e-2 Fortschreitende somatische Mutationen bei der Entwicklung von Dickdarmkarzinomen. Kumulative Alterationen verschiedener Gene liegen der progressiven Veränderung normaler Epithelzellen zu Adenomen und voll entwickelten Karzinomen zugrunde. Mikrosatelliten oder chromosomale Instabilität beschleunigen diesen Prozess, indem sie zu jedem Zeitpunkt die Wahrscheinlichkeit zusätzlicher Mutationen erhöhen. FAP-Patienten weisen durch die hemizygoten Keimbahninaktivierung des APC-Gens bereits einen Schritt dieser Entwicklung in allen ihren Körperzellen auf. TGFBR2 = Transforming Growth Factor β Receptor Type II.

TABELLE 101e-1 Häufig veränderte Onkogene bei menschlichen Krebserkrankungen

Onkogen	Funktion	Art der Veränderung	Neoplasie
AKT1	Serin-/Threoninkinase	Amplifikation	Magenkarzinom
AKT2	Serin-/Threoninkinase	Amplifikation	Ovar-, Mamma-, Pankreaskarzinom
BRAF	Serin-/Threoninkinase	Punktmutation	Melanom, Kolon, Lunge
CDK4	Cyclin-abhängige Kinase	Punktmutation, Amplifikation	Mammakarzinom, Melanom, Myelom, andere
CTNNB1	Signaltransduktion	Punktmutation	Kolon-, hepatozelluläres Karzinom
FOS	Transkriptionsfaktor	Überexpression	Osteosarkom
ERBB2	Rezeptor-Tyrosinkinase	Amplifikation, Punktmutation	Mamma-, Ovar-, Magenkarzinom, Neuroblastom
JUN	Transkriptionsfaktor	Überexpression	Lungenkarzinom
MET	Rezeptor-Tyrosinkinase	Punktmutation, Rearrangement	Osteosarkom, Nierenkarzinom, Gliom
MYB	Transkriptionsfaktor	Amplifikation	AML, CML, Kolonkarzinom, Melanom
MYC	Transkriptionsfaktor	Amplifikation	Mamma-, Kolon-, Magen-, Lungenkarzinom
LMYC	Transkriptionsfaktor	Amplifikation	Lungen-, Harnblasenkarzinom
NMYC	Transkriptionsfaktor	Amplifikation	Neuroblastom, Lungenkarzinom
PIK3A	Phosphoinositid-3-Kinase	Punktmutation	Multiple Krebsformen
HRAS	GTPase	Punktmutation	Kolon-, Lungen-, Pankreaskarzinom
KRAS	GTPase	Punktmutation	Melanom, Kolonkarzinom, AML
NRAS	GTPase	Punktmutation	Verschiedene Karzinome, Melanom
REL	Transkriptionsfaktor	Rearrangement, Amplifikation	Lymphome
WNT1	Wachstumsfaktor	Amplifikation	Retinoblastom

Abkürzungen: AML = akute myeloische Leukämie; CML = chronische myeloische Leukämie.

ONKOGENE BEI MENSCHLICHEN KREBSERKRANKUNGEN

Die Arbeit von Peyton Rous am Anfang des 20. Jahrhunderts zeigte, dass sich bei Hühnern Sarkome durch zellfreie Extrakte von einem Tier auf das andere übertragen lassen, sodass Krebs vermutlich durch eine Substanz ausgelöst wird, die aktiv die Tumorbildung fördert. Das für die Krebsübertragung verantwortliche Agens war ein Retrovirus (Rous Sarcoma Virus, RSV) und das verantwortliche Onkogen wurde 75 Jahre später als v-src identifiziert. Weitere Onkogene wurden ursprünglich in der DNS von Retroviren entdeckt, die bei Hühnern, Mäusen und Ratten zu Tumoren führen. Die zellulären Homologe dieser viralen Gene werden als Protoonkogene bezeichnet und sind in menschlichen Karzinomen oft mutiert oder abnorm reguliert. Während viele Onkogene durch ihr Vorkommen in Retroviren identifiziert werden konnten, sind andere, darunter besonders solche, die bei der Entstehung gewisser Leukämie- und Lymphomformen beteiligt sind, mithilfe genomischer Verfahren isoliert worden. Dabei wurden die Sequenzabschnitte aus der Umgebung zytogenetisch auffälliger chromosomaler Translokationen kloniert und darin gelegene Gene als Zielorte dieser Translokationen identifiziert. Manche stellten sich dabei als bekannte retrovirale Onkogene heraus, so das ABL-Gen, welches bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML) eine Rolle spielt, andere wiederum waren völlig neu, wie etwa das bei B-Zelllymphomen beteiligte BCL2-Gen. Unter normalen Umgebungsbedingungen kommt

den Protoonkogenen eine entscheidende Rolle bei Wachstum und Differenzierung von Zellen zu. **Tabelle 101e-1** gibt eine Übersicht bekannter bei menschlichen Krebserkrankungen beteiligter Onkogene.

Das normale Zellwachstum wird wie die Zelldifferenzierung von Wachstumsfaktoren kontrolliert, die an entsprechenden Rezeptoren der Zelloberfläche binden. Die von den Membranrezeptoren generierten Signale werden im Zellinneren kaskadenartig von Kinasen, G-Proteinen und anderen Regulationsproteinen weitergegeben. Letztendlich beeinflussen diese Signale die Aktivität von nukleären Transkriptionsfaktoren, die wiederum die Expression entscheidender Gene für Zellproliferation, -differenzierung und -tod regulieren. Fehlerhaft aktiviert können diese Signalpfade (**Kap. 102e**), an deren kritischen Punkten Onkogenprodukte wichtige Funktionen ausüben, zur Tumorentstehung führen.

MECHANISMEN DER ONKOGENAKTIVIERUNG

■ PUNKTMUTATION

Punktmutationen sind ein häufiger Mechanismus der Onkogenaktivierung. Beispielsweise finden sich Mutationen in einem der drei RAS-Gene (HRAS, KRAS oder NRAS) bei bis zu 85 % der Pankreaskarzinome und bei 45 % der Dickdarmkarzinome, während sie bei anderen Krebsarten relativ selten sind. Allerdings finden sie sich

ebenfalls oft bei Leukämien, Bronchial- und Schilddrüsenkarzinomen. Bemerkenswerterweise und im Gegensatz zu der bei Tumorsuppressoren herrschenden Mutationsvielfalt (siehe unten) enthalten die aktivierten RAS-Gene zumeist Punktmutationen in den Kodons 12, 13 oder 61. (Diese Mutationen reduzieren die RAS GTPase-Aktivität und aktivieren so das mutierte RAS-Protein.) Das im Vergleich zu den Tumorsuppressoren beschränkte Mutationsspektrum kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass zu Funktionsgewinnen führende Mutationen schwieriger zu erreichen sind als inaktivierende. Während die beliebige Einführung eines Stoppkodons in den Leserahmen zumeist zur Geninaktivierung führt, bedarf es zur Aktivierung des jeweiligen Proteins eines gezielten Aminosäureaustausches an einer Position, welche auf bestimmte Weise die Aktivität des kodierten Proteins verstärkt. Wichtig ist, dass die einzelnen Onkogenmutationen diagnostisch relevant sind, weil die Entwicklung von Tests auf Mutationen an bestimmten Positionen leichter ist als von Tests, die Zufallsänderungen im Genom erfassen sollen.

■ DNS-AMPLIFIKATION

Ein zweiter Mechanismus zur Onkogenaktivierung besteht in DNS-Amplifikationen, die zu einer Überexpression des beteiligten Genproduktes führen. Diese Steigerung der Anzahl der DNS-Sequenzkopien kann wegen ihrer einheitlichen Färbeeigenschaften zytologisch erkennbare Chromosomenveränderungen verursachen, die als *Homogenous Staining Regions* (HSRs) bezeichnet werden, wenn sie in die Chromosomen integriert sind, und als *Double Minutes* (dmins), wenn sie extrachromosomal vorliegen. DNS-Amplifikationen werden durch verschiedene zytogenetische Verfahren, wie die komparative genomische Hybridisierung (Comparative Genomic Hybridization, CGH) und die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH), welche chromosomale Aberrationen mittels Fluoreszenzfarbstoffen sichtbar machen, nachgewiesen. Außerdem gibt es inzwischen nicht auf zytogenetischen Methoden basierende Mikroarrays, die mit hoher Auflösung Veränderungen der Kopienzahl identifizieren können. Amplifikationen werden mit der neuen Short-tag-Sequenzierung erfasst. In Kombination mit den modernsten Sequenzierungsinstrumenten („next-generation sequencing“, abgekürzt NGS) bietet dieses Vorgehen die derzeit höchstmögliche Auflösung und Quantifizierung. Mittels Mikroarray und NGS kann das gesamte Genom auf Zugewinne oder Verluste von DNS-Sequenzen untersucht werden. Auf diese Weise lassen sich chromosomale Regionen identifizieren, die wahrscheinlich wichtige Gene für die Krebsprogression enthalten.

Für zahlreiche Gene sind Amplifikationen bei Krebserkrankungen beschrieben worden. Einige davon, wie NMYC und LMYC, wurden identifiziert, weil sie in amplifizierten DNS-Sequenzen eines Tumors vorlagen und Homologien zu bekannten Onkogenen aufwiesen. Da sich die amplifizierte Region oft auf mehrere hunderttausend Basenpaare erstreckt, kann bei manchen Krebsarten mehr als ein Onkogen in einem Amplikon amplifiziert sein (vor allem bei Sarkomen). Bei zahlreichen Sarkomen und anderen Tumoren wurde die gleichzeitige Amplifikation von MDM2, GLI, CDK4 und SAS auf Chromosom 12q13–15 nachgewiesen. Der Nachweis einer Genamplifikation deutet häufig auf eine schlechte Prognose. So sind etwa ERBB2/HER2 bzw. NMYC häufiger bei aggressiven Mammakarzinomen bzw. Neuroblastomen amplifiziert.

■ CHROMOSOMALE VERÄNDERUNGEN

Chromosomale Veränderungen liefern wichtige Hinweise auf die genetischen Veränderungen bei Krebs. Die heterogenen und komplexen chromosomalen Veränderungen solider menschlicher Tumoren wie der Karzinome entstehen durch die häufig bei diesen Tumoren zu beobachtende chromosomale Instabilität (CIN, siehe unten). Im Gegensatz dazu bestehen die chromosomalen Veränderungen bei Leukämien und Lymphomen häufig aus einfachen Translokationen, das heißt reziprokem Austausch zwischen Armen verschiedener Chromosomen. Folglich wurden zahlreiche präzise Chromosomenanalysen bei hämatopoetischen Krebserkrankungen durchgeführt. Die Chromosomenbruchpunkte häufig nachweisbarer Abnormalitäten liegen oft in Bereichen zellulärer Onkogene. Repräsentative Beispiele für derartige häufige chromosomale Alterationen bei malignen Erkrankungen sind zusammen mit den assoziierten, rearrangierten oder durch die chromosomale Umlagerung deregulierten Genen in **Tabelle 101e-2** aufgelistet. Translokationen kommen besonders häufig in lymphoiden Tumoren vor, wahrscheinlich weil dieser Zelltyp auch normalerweise

TABELLE 101e-2 Repräsentative Onkogene im Bereich chromosomaler Translokationen

Gen (Chromosom)	Translokation	Malignom
ABL (9q34.1) – BCR (22q11)	(9;22)(q34;q11)	Chronische myeloische Leukämie
ATF1 (12q13) – EWS (22q12)	(12;22)(q13;q12)	Malignes Melanom der Weichteile (MMSP)
BCL1 (11q13.3) – IgH (14q32)	(11;14)(q13;q32)	Mantelzell-Lymphom
BCL2 (18q21.3) – IgH (14q32)	(14;18)(q32;q21)	Follikuläres Lymphom
FLI1 (11q24) – EWS (22q12)	(11;22)(q24;q12)	Ewing-Sarkom
LCK (1p34) – TCRB (7q35)	(1;7)(q34;q35)	Akute lymphatische T-Zell-Leukämie (ALL)
MYC (8q24) – IgH (14q32)	(8;14)(q24;q32)	Burkitt-Lymphom, B-Zell-ALL
PAX3 (2q35) – FKHR/ALV (13q14)	(2;13)(q35;q14)	Alveoläres Rhabdomyosarkom
PAX7 (1p36) – FKHR/ALV (13q14)	(1;13)(p36;q14)	Alveoläres Rhabdomyosarkom
REL (2p13)–NRG (2p11.2-14)	Inv(2)(p13;p11.2-14)	Non-Hodgkin-Lymphom
RET (10q11.2) – PKAR1A (17q23)	(10;17)(q11.2;q23)	Schilddrüsenkarzinom
TAL1(1p32) – TCTA (3p21)	(1;3)(p34;p21)	Akute T-Zell-Leukämie
TRK (1q23-1q24) – TPM3 (1q31)	Inv1(q23;q31)	Kolonkarzinom
WT1 (11p13) – EWS (22q12)	(11;22)(p13;q12)	Desmoplastischer kleiner Rundzelltumor

Quelle: R Hesketh: The Oncogene and Tumour Suppressor Gene Facts Book, 2. Aufl. San Diego, Academic Press, 1997; mit frdl. Genehmigung.

die DNS rearrangiert, um Antigenrezeptoren zu erzeugen. Tatsächlich sind die Antigen-Rezeptorgene häufig an den Translokationen beteiligt, was darauf schließen lässt, dass eine fehlerhafte Regulation des Rezeptorarrangements an der Pathogenese der Erkrankung beteiligt ist. Ein Beispiel ist das Burkitt-Lymphom, ein B-Zell-Tumor, der durch eine reziproke Translokation zwischen den Chromosomen 8 und 14 charakterisiert ist. Molekulare Analysen von Burkitt-Lymphomen zeigten, dass die Bruchpunkte in oder nahe dem MYC-Locus auf Chromosom 8 und im Immunglobulin-Schwerketten-Locus (IGH) auf Chromosom 14 auftreten, was zu einer Aktivierung der MYC-Transkription führt. Eine Aktivierung von „Enhancer“-Elementen durch Translokationen scheint, wenn auch keine universelle, jedoch eine wichtige Rolle bei der malignen Progression zu spielen. Neben einer gesteigerten Expression von Transkriptionsfaktoren oder Molekülen der Signalübertragung können Translokationen auch zur Überexpression von Regulatoren des Zellzyklus oder -todes führen.

Die erste in menschlichen Malignomen entdeckte, reproduzierbare Chromosomenveränderung war das Philadelphia-Chromosom bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML). Diese zytogenetische Veränderung entsteht durch reziproke Translokation, die das Onkogen ABL, eine Tyrosinkinase auf Chromosom 9, in die Nähe der sog. Bruchpunktclusterregion (breakpoint cluster region, BCR) auf Chromosom 22 bringt. **Abbildung 101e-3** zeigt schematisch die Entstehung dieser Translokation und ihres Proteinprodukts. Als Folge der Expression des BCR-ABL-Genprodukts werden Signaltransduktionswege aktiviert, die zu einem von normalen externen Wachstumsfaktorsignalen unabhängigen Zellwachstum führen. Interessanterweise zeigt eine synthetische Substanz (Imatinib), die spezifisch die Aktivität der Abl-Tyrosinkinase hemmt, eine hohe therapeutische Wirkung und nur geringe Toxizität bei CML-Patienten. Man hofft, dass die Kenntnis genetischer Alterationen in Tumorzellen zu einer auf Erkrankungsmechanismen basierenden Entwicklung neuer Krebstherapeutika führen kann.

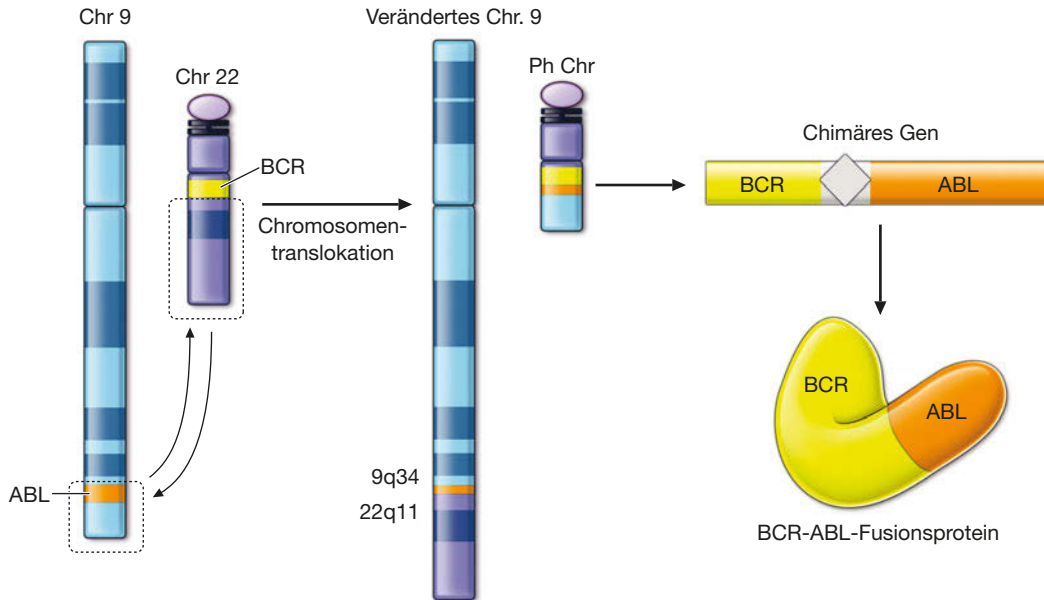


Abbildung 101e-3 Spezifische Translokation bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML). Das Philadelphia-Chromosom (Ph) entsteht aus einer reziproken Translokation zwischen den Chromosomen 9 und 22, wobei der Bruchpunkt Abschnitte des *ABL*-Onkogens und des *BCR*-Gens verbindet. Die Fusion dieser DNS-Sequenzen ermöglicht die Entstehung eines völlig neuen Fusionsproteins mit veränderter Funktion.

CHROMOSOMALE INSTABILITÄT IN SOLIDEN TUMOREN

Solide Tumoren sind überwiegend hochgradig aneuploid, das heißt, sie enthalten eine abnorme Anzahl von Chromosomen, die oft darüber hinaus strukturelle Veränderungen wie Translokationen, Deletionen und Amplifikationen zeigen. Diese Veränderungen werden insgesamt als chromosomale Instabilität (CIN) bezeichnet. Der Zellzyklus normaler Zellen weist mehrere Haltepunkte („checkpoints“) auf, die einer für das geregelte Fortschreiten der Mitose erforderlichen Qualitätskontrolle dienen. Bei bestimmten Krebsformen konnten Defekte des Mitose-Haltepunkts nachgewiesen werden, der für eine geordnete Verbindung der Chromosomen mit dem mitotischen Spindelapparat vor der Trennung der Schwesterchromatidstränge sorgt. Die molekulare Basis der chromosomalen Instabilität bleibt unklar, obwohl in einigen Tumoren mehrere Gene für den mitotischen Haltepunkt mutiert sind oder anormal exprimiert werden. Die genauen Auswirkungen dieser Veränderungen auf den Haltepunkt der Mitose sind unbekannt; vorgeschlagen wurden sowohl eine Abschwächung als auch eine Überaktivierung. Angesichts der mehreren hundert Gene, die an der Kontrolle mitotischer Haltepunkte und anderer zellulärer Prozesse zur Sicherung der chromosomalen Segregation beteiligt zu sein scheinen, dürfte die Erforschung der Ursache tumoraler CIN äußerst schwierig werden. Ungeachtet der zugrunde liegenden Mechanismen ist es jetzt möglich, die Zahl der chromosomalen Alterationen mittels zytogenetischer und molekularer Techniken zu bestimmen und daraus, wie einige Studien nahelegen, prognostisch nützliche Informationen zu gewinnen. Da der Haltepunkt der Mitose für das Überleben der Zelle essenziell ist, bietet er womöglich ein neues therapeutisches Angriffsziel.

MECHANISMEN DER TUMORSUPPRESSORGENINAKTIVIERUNG

Die ersten Hinweise auf die Existenz von Tumorsuppressorgenen stammten aus Experimenten, in denen die Fusion von Krebszellen der Maus mit normalen Mausfibroblasten zu einem nicht malignen Phänotyp der Fusionszellen führte. Normalerweise beschränken Tumorsuppressorgene das Zellwachstum; bei Krebserkrankungen ist ihre Funktion inaktiviert. *Punktmutationen* und *Deletionen größerer chromosomaler Abschnitte* sind die beiden Haupttypen somatischer Schädigungsmuster an Tumorsuppressorgenen während der Tumorentwicklung. Punktmutationen in kodierenden Abschnitten von Tumorsuppressorgenen führen häufig zu verkürzten Translationsprodukten oder anderweitig funktionsdefekten Proteinen. In ähnlicher Weise führen Deletionen zum Verlust eines funktionellen Genprodukts in der DNS von Tumor- gegenüber Normalgewebe (**Abb. 101e-4**) zu Heterozygotieverlusten („loss of heterozygosity“, LOH), die nicht selten das ganze Gen oder einen ganzen Chromosomenarm betreffen. Heterozygotieverluste in tumoraler DNS gelten als Hinweis

auf das Vorliegen eines Tumorsuppressorgens im Bereich der korrespondierenden Genregion und tragen daher zur positionellen Klonierung einiger solcher Gene bei.

Ein weiterer Mechanismus zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen beruht auf einer Hypermethylierung des jeweiligen Promotors. Solche Modifikationen, auch „Gene Silencing“ genannt, verändern die betroffenen Gensequenzen nicht und stellen daher typische epigenetische Veränderungen dar.

Als *epigenetische Modifikation* bezeichnet man eine Genomveränderung, die zwar an die Zellnachkommenschaft weitergegeben wird, jedoch nicht mit einer DNS-Sequenzänderung einhergeht. Die Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms in weiblichen Zellen ist ein Beispiel für einen epigenetischen Mechanismus, der eine Expression von Genen des inaktivierten Chromosoms verhindert. Während der Embryogenese werden ganze Chromosomenregionen eines Elternteils ausgeschaltet, während die Genexpression von Chromosomen des anderen Elternteils erhalten bleibt. Die meisten Gene werden von beiden elterlichen Allelen oder zufällig von dem einen oder dem anderen Allel exprimiert. Die bevorzugte Expression eines bestimmten Gens ausschließlich von dem Allel eines Elternteils wird als parentale Prägung (*Parental Imprinting*) bezeichnet. Als Ursache einer solchen Regulation werden kovalente Modifikationen an Chromatinproteinen und der DNS (vor allem durch Methylierung) des ausgeschalteten Allels angenommen.

Die Bedeutung der epigenetischen Kontrollmechanismen für die Entwicklung humaner Krebserkrankungen ist unklar. Eine generelle Abnahme des DNS-Methylierungsgrades wurde als eine bei Krebs weit verbreitete Veränderung festgestellt. Darüber hinaus scheinen viele Gene, darunter auch die Tumorsuppressorgene *VHL* und *CDKN2A*, im Verlauf der Tumorentstehung hypermethyliert und damit ausgeschaltet zu werden. Insgesamt scheinen epigenetische Mechanismen bei Krebserkrankungen für die Umprogrammierung der Expression zahlreicher Gene verantwortlich zu sein und können so zusammen mit Mutationen spezifischer Gene entscheidend zur Entwicklung menschlicher Tumoren beitragen. Eine neue Behandlungsoption ist bei bestimmten Krebsformen und prä-malignen Veränderungen der Einsatz von Substanzen, welche die epigenetischen Veränderungen in Krebszellen umkehren können. So wurden von der FDA inzwischen demethylierende Substanzen (Azacytidin und Decitabin) zur Behandlung von Patienten mit myelodysplastischen Hochrisikosyndromen zugelassen.

FAMILIÄRE KREBSSYNDROME

Ein kleiner Anteil von Krebserkrankungen tritt bei Patienten mit entsprechender erblicher Veranlagung auf. Betroffene aus diesen Familien tragen die prädisponierende, Funktionsverlust bedingende Mutati-

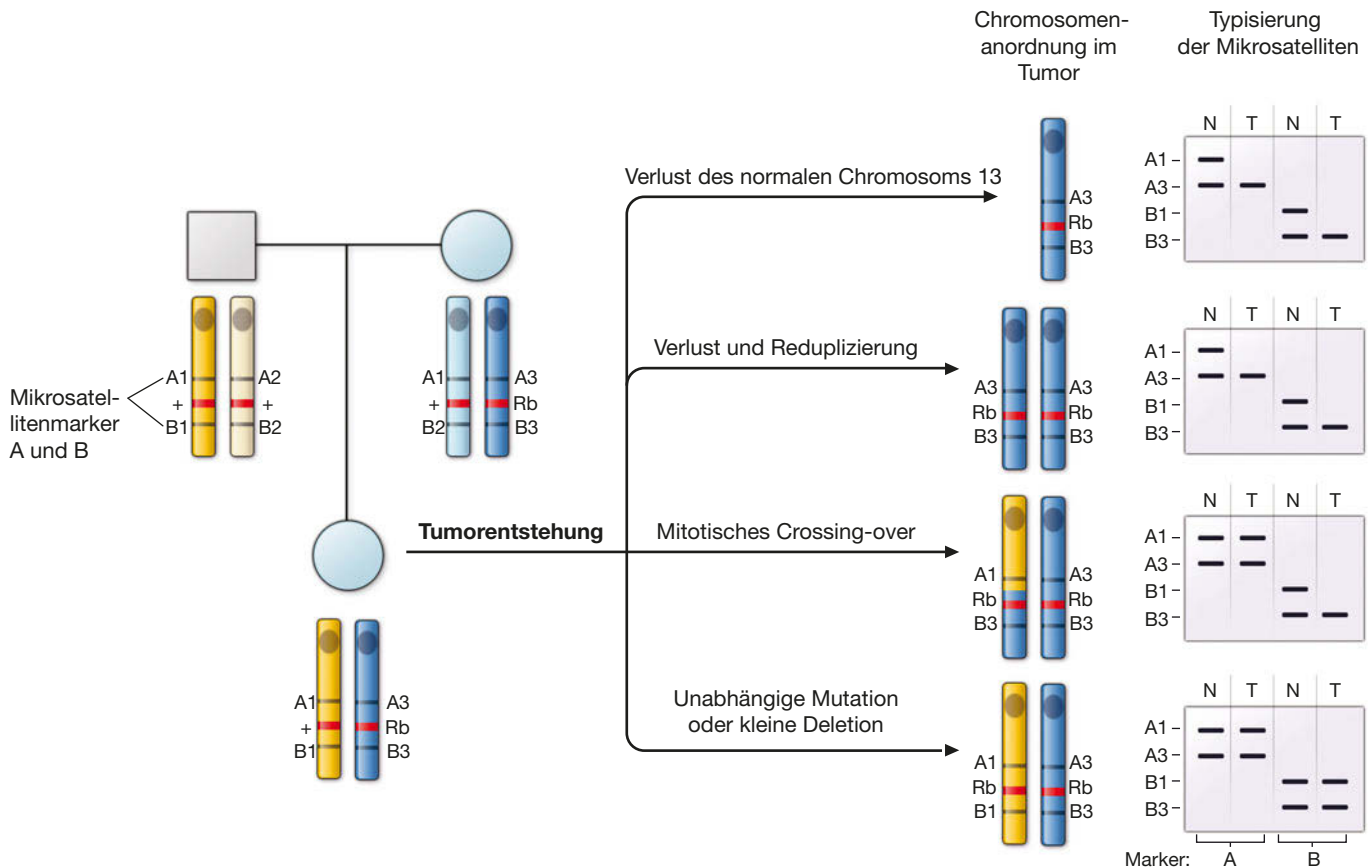


Abbildung 101e-4 Diagramm möglicher Tumorentstehungsmechanismen bei einem Individuum mit hereditärem (familiärem) Retinoblastom. Links dargestellt ist der Stammbaum einer betroffenen Frau, die das abnorme (Rb) Allel von ihrer erkrankten Mutter geerbt hat. Das normale Allel ist durch ein + gekennzeichnet. Die vier Chromosomen der beiden Eltern sind unterschiedlich farblich markiert, um ihren Ursprung zu kennzeichnen. Auch die neben dem Retinoblastom-Locus befindlichen Mikrosatellitenmarker (A und B) wurden in dieser Familie untersucht. Die Marker A3 und B3 liegen auf dem das Retinoblastomkrankheitsgen tragenden Chromosom. Zur Tumorentstehung muss noch das vom Vater geerbte normale Allel (N) inaktiviert werden. Rechts dargestellt sind vier mögliche Mechanismen einer solchen Inaktivierung. Für jeden Fall sind das resultierende Chromosom-13-Arrangement und die Ergebnisse der Typisierung der Mikrosatellitenmarker mit einem Vergleich des normalen und des Tumorgewebes abgebildet. In den ersten drei Fällen ist das normale Allel (A) im Tumorgewebe verloren gegangen, eine Situation, die man als tumoralen Heterozygotieverlust („loss of heterozygosity“, LOH) an diesem Genort bezeichnet.

on in einem Allel eines Tumorsuppressor- oder Kuratorgens in allen Zellen ihrer Körpers. Entsprechend der Knudson-Hypothese ist in den Tumoren dieser Patienten das homologe normale Allel durch somatische Prozesse (Punktmutationen oder Deletionen) verloren gegangen (Abb. 101e-4). So ist also die überwiegende Zahl der Zellen eines Individuums mit einer ererbten, zu Funktionsverlust führenden Mutation eines Tumorsuppressorgens funktionell normal; unkontrolliertes Wachstum tritt nur in den Zellen auf, die eine zusätzliche somatische Mutation des verbliebenen normalen Allels erleiden.

Bislang wurden etwa 100 familiäre Krebs syndrome beschrieben, von denen viele nur selten auftreten. Die meisten werden autosomal dominant vererbt; einige derjenigen jedoch, die mit DNS-Reparaturdefekten assoziiert sind (Xeroderma pigmentosum, Fanconi-Anämie, Ataxia teleangiectatica), folgen einem autosomal rezessiven Erbgang. **Tabelle 101e-3** führt eine Reihe von Syndromen mit Krebsprädisposition und die ihnen zugrunde liegenden Gene auf. Nach gegenwärtigem Verständnis können Gene, die erbliche Tumorerkrankungen verursachen, auch in sporadischen (nicht erblichen) Tumoren somatisch mutiert sein. Die Untersuchung von Krebs syndromen kann somit wertvolle Hinweise auf in vielen verschiedenen Tumorarten vorliegende Progressionsmechanismen liefern. Der folgende Abschnitt behandelt das erbliche Dickdarmkarzinom, die hierfür gewonnenen allgemeinen Einsichten lassen sich auf die in der **Tabelle 101e-3** aufgeführten Krebs syndrome übertragen. Insbesondere die Studie zum familiären Kolonkarzinom wird den Unterschied zwischen diesen beiden Formen von Tumorsuppressorgenen unterstreichen: den Gatekeeper („Wächter“)-Genen, die das Tumorstadium direkt beeinflussen, und den Kuratorgenen, bei deren Mutation es zur genetischen Instabilität kommt, die sich indirekt auf das Tumorstadium auswirkt.

Die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) ist ein dominant vererbtes Dickdarmkrebs syndrom, das auf Keimbahnmutationen des auf dem langen Arm des Chromosoms 5 kodierten Tumorsuppressorgens APC („adenomatous polyposis coli“) beruht. Genträger entwickeln im Dickdarm Hunderte bis Tausende von Adenomen, deren Zellen

das normale APC-Allel verloren, aber noch nicht die für eine vollständige Malignisierung erforderliche Zahl an zusätzlichen Mutationen akkumuliert haben (Abb. 101e-2). Der Verlust des zweiten funktionellen APC-Allels in Tumoren von FAP-Familien ist oft Folge eines Verlusts der Heterozygotie. Bei einem Bruchteil dieser Adenome treten jedoch unweigerlich weitere Alterationen auf, sodass sich einige schließlich zu Karzinomen entwickeln. Dem APC-Gen kommt somit für die kolorektale Tumorgenese eine Schlüsselfunktion zu, weil sich ohne Mutation dieses Gatekeeper-Gens (oder eines Gens, das über denselben Signalweg wirkt) kein kolorektales Karzinom entwickeln kann. **Abbildung 101e-5** zeigt die Verteilung von Keimbahn- und somatischen Mutationen über das APC-Genprodukt, dessen Funktion zwar noch nicht vollständig verstanden ist, aber mit der Vermittlung von Differenzierungs- und Apoptosesignalen in Dickdarmepithelzellen zu tun haben dürfte. Defekte Migrationsvorgänge in den Krypten des Darms können zu abnormer Akkumulation von Zellen führen, die normalerweise apoptotisch untergehen sollten.

Im Gegensatz zur FAP entwickeln Patienten mit dem hereditären kolorektalen Krebs syndrom ohne Polyposis („hereditary nonpolyposis colorectal cancer“ [HNPCC] oder Lynch-Syndrom) nur wenige Adenome, die jedoch besonders schnell zu Karzinomen fortschreiten. Meist ist ein HNPCC Folge von Mutationen in DNS-Fehlpaarungsreparaturgenen (Tab. 101e-3), die Bestandteile eines normalerweise für die Korrektur von Fehlern in neu replizierter DNS verantwortlichen Multimolekülsystems sind. MLH1- und MSH2-Keimbahnmutationen sind dabei für mehr als 90 % der Fälle verantwortlich, während MSH6- oder PMS2-Mutationen sehr viel seltener beobachtet werden. Sobald das verbliebene Wildtypallel des jeweiligen DNS-Fehlpaarungsreparaturgens durch somatische Mutation inaktiviert ist, entwickeln die Zellen einen hypermutablen Phänotyp. Dieser ist durch eine erhebliche Instabilität im Genom weit verstreuter, kurzer wiederholter Sequenzen, sogenannter *Mikrosatelliten*, gekennzeichnet. Diese Mikrosatelliteninstabilität (MSI) fördert die Krebsentstehung durch eine gesteigerte Mutationsrate in einer Vielzahl von Genen, da-

TABELLE 101e-3 Krebs syndrome und ihre assoziierten Gene

Syndrom	Gen	Chromosom	Erbgang	Tumoren
Ataxia teleangiectatica (Louis-Bar-Syndrom)	<i>ATM</i>	11q22-q23	AR	Brustkrebs
Autoimmune lymphoproliferative Syndrome (ALPS)				
ALPS 1A	<i>FAS</i>	10q24	AD/AR	Lymphome
ALPS 1B	<i>FASL</i>	1q23	AD	Lymphome
Basalzellnävussyndrom (Gorlin-Goltz-Syndrom)	<i>PTCH</i>	9q22.3	AD	Basaliom, Medulloblastom, Kieferzysten
Bloom-Syndrom	<i>BLM</i>	15q26.1	AR	Verschiedene Karzinome
Cowden-Syndrom	<i>PTEN</i>	10q23	AD	Mammakarzinom, Schilddrüsenkarzinom
Familiäre adenomatöse Polypose	<i>APC</i>	5q21	AD	Intestinale Adenome, kolorektales Karzinom
Familiäres Melanom	<i>CDKN2A</i>	9p21	AD	Melanom, Pankreaskarzinom
Familiärer Wilms-Tumor	<i>WT1</i>	11p13	AD	Nephroblastom
Hereditäres Mamma- und Ovarialkarzinom	<i>BRCA1</i>	17q21	AD	Mammakarzinom (bei <i>BRCA2</i> auch männliches), Ovarialkarzinom
	<i>BRCA2</i>	13q12.3	AD	
Hereditäres diffuses Magenkarzinom	<i>CDH1</i>	16q22	AD	Magenkarzinom
Hereditäre multiple Exostosen	<i>EXT1</i>	8q24.11-q24.13	AD	Exostosen, Chondrosarkom
	<i>EXT2</i>	11p11-p12		
Hereditäres Prostatakarzinom	<i>HPC1</i>	1q24-q25	AD	Prostatakarzinom
Hereditäres Retinoblastom	<i>RB1</i>	13q14.2	AD	Retinoblastom, Osteosarkom
Nicht polypöses hereditäres Kolonkarzinom (HNPCC)	<i>MSH2</i>	2p16	AD	Dünndarm-, Kolon- und Rektumkarzinom, Endometri- umkarzinom, Harnleiter- und Nierenbeckenkarzinom
	<i>MLH1</i>	3p21.3		
	<i>MSH6</i>	2p16		
	<i>PMS2</i>	7p22		
Hereditäres papilläres Nierenzellkarzinom	<i>MET</i>	7q31	AD	Papilläres Nierenzellkarzinom
Juvenile (gastrointestinale) Polypose	<i>SMAD4</i>	18q21	AD	Magen-, Darm- und Pankreaskarzinom
Li-Fraumeni-Syndrom	<i>TP53</i>	17p13.1	AD	Sarkome, Mammakarzinom
Multiple endokrine Neoplasie Typ I	<i>MEN1</i>	11q13	AD	Tumoren der Nebenschilddrüsen und Hypophyse, neuroendokriner Pankreastumor
Multiple endokrine Neoplasie Typ IIa	<i>RET</i>	10q11.2	AD	Medulläres Schilddrüsenkarzinom, Phäochromozytom
Neurofibromatose Typ 1	<i>NF1</i>	17q11.2	AD	Neurofibrome, Neurofibrosarkome, Hirntumor
Neurofibromatose Typ 2	<i>NF2</i>	22q12.2	AD	Akustikusneurinome, Meningeome, spinale Ependyome
Tuberöse Sklerose	<i>TSC1</i>	9q34	AD	Angiofibrom, Angiomyolipom
	<i>TSC2</i>	16p13.3		
Von-Hippel-Lindau-Syndrom	<i>VHL</i>	3p25-26	AD	Nierenzellkarzinom, Phäochromozytom, Angiom der Retina, Hämangioblastom

Abkürzungen: AD = autosomal dominant; AR = autosomal rezessiv.

runter auch Onkogenen und Tumorsuppressorgenen (**Abb. 101e-2**). Daher gelten diese Gene als Kuratorgene. Interessanterweise scheinen sich beim Dickdarmkrebs MSI und CIN gegenseitig auszuschließen, sodass beide zumindest bei dieser Krebsform möglicherweise alternative Mechanismen für die Entstehung eines Mutator-Phänotyps sind (**Abb. 101e-2**). Bei anderen Krebsformen findet sich nur selten eine Mikrosatelliteninstabilität, sondern weitaus eher eine chromosomale Instabilität.

Obwohl die meisten autosomal dominant vererbten Krebs syndrome auf Mutationen in Tumorsuppressorgenen beruhen (**Tab. 101e-3**), gibt es doch einige interessante Ausnahmen. Die multiple endokrine Neoplasie Typ II, eine Erkrankung mit dominantem Erbgang, die durch das Auftreten von Hypophysenadenomen, medullärem Schilddrüsenkarzinom und (in einigen Familien) Phäochromozytom charakterisiert ist, beruht auf Funktionsgewinnmutationen des auf Chromosom 10 lokalisierten *RET*-Protoonkogens. In ähnlicher Weise führen Funktionsgewinnmutationen in der Tyrosinkinasedomäne des *MET*-Onkogens zu hereditären papillären Nierenzellkarzinomen. Interessanterweise verursachen Funktionsverlustmutationen desselben Gens als völlig anderen Phänotyp die Hirschsprung-Krankheit mit aganglionärem Megakolon (**Kap. 353 und Kap. 408**).

Zwar haben uns die oben beschriebenen Krebsformen mit Mendel-Erbgang viel über die Mechanismen der Zellwachstumskontrolle ge-

lehrt, doch folgen die meisten Krebsarten nicht solch einfachen Vererbungsmustern. In vielen Fällen, etwa beim Bronchialkarzinom, haben Umweltfaktoren einen starken Einfluss. Liegt jedoch eine entsprechende Exposition vor, können manche Personen durch die Wirkung modifizierender Gene („modifier genes“) erblich bedingt eher Krebs entwickeln.

GENETISCHE TESTUNG BEI FAMILIÄREN KREBSERKRANKUNGEN

Die Entdeckung von Krebs suszeptibilitäts genen ermöglicht es, das Krebsrisiko von Mitgliedern betroffener Familien mittels DNS-Analyse vorherzusagen. Einen Algorithmus zur Krebsrisikoabschätzung und Entscheidungsfindung bei Hochrisikofamilien unter Verwendung von Gentests ist in **Abbildung 101e-6** dargestellt. Ist erst einmal die Krebs verursachende Mutation in einer Familie identifiziert, kann die Untersuchung asymptomatischer Familienmitglieder entscheidend für die weitere ärztliche Betreuung sein. Ein negativer Gentest und das damit verbundene Wissen um ein gegenüber der Gesamtpopulation nicht erhöhtes Krebsrisiko können angstvolle Jahre verhindern. Ein positiver Gentest wiederum kann eine veränderte klinische Behandlung, etwa häufigere Krebsvorsorgeuntersuchungen und möglicherweise prophylaktische Operationen, notwendig machen. Positive Testergebnisse können jedoch auch negative psychische Symptome (Angstzustände, Depression) und Diskriminierung (durch Versiche-

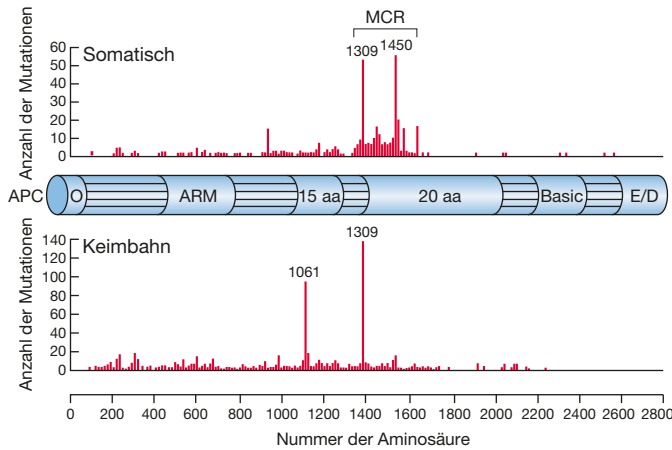


Abbildung 101e-5 Keimbahn- und somatische Mutationen des APC-Tumorsuppressorgens. APC kodiert für ein Protein mit 2843 Aminosäuren und 6 Hauptdomänen: einer Oligomerisierungsregion (O), Armadillo-Wiederholungssequenzen (ARM „repeats“), Wiederholungssequenzen aus 15 Aminosäuren (15 aa) bzw. 20 Aminosäuren (20 aa), einer basischen Region (Basic) und einer Domäne (E/D), die Bindungen mit EB1 und dem dlh („disc large homologue“) Genprodukt der *Taufliege* vermittelt. Im Säulendiagramm sind über bzw. unter dem APC-Schema die Verteilungshäufigkeiten von insgesamt 650 somatischen bzw. 826 Keimbahnmutationen dargestellt (aus der APC-Datenbank unter <http://www.umd.be/APC/>). Der Großteil dieser Mutationen führt zu verkürzten APC-Proteinen. Mit Ausnahme der die Aminosäuren 1061 und 1309 betreffenden Häufungen, die zusammen etwa ein Drittel der bei FAP-Familien identifizierten Genveränderungen ausmachen, finden sich Keimbahnmutationen bis zum Kodon 1600 relativ gleichmäßig verteilt. Somatische APC-Mutationen treten in Dickdarmtumoren gehäuft in der sog. *Mutationsclusterregion* (MCR) auf, deren Lokalisation auf die Bedeutung der „20-aa“-Domäne für die Tumorsuppression hinweist. Die Inaktivierung des verbleibenden APC-Allels in Tumoren erfolgt auch bei FAP-Familien vielfach durch chromosomale oder interstitielle Deletionen, die sich als Heterozygotieverluste (LOH) nachweisen lassen.

rungen oder in Arbeitsverhältnissen) zur Folge haben. Genetische Untersuchungen sollten niemals ohne Beratung vor und nach der Ergebnismittelteilung durchgeführt werden. Ferner sollte eine Entscheidung zum Gentest abhängig von der Verfügbarkeit effektiver Behandlungsverfahren für den jeweiligen Krebstyp gemacht werden. Trotz dieser Vorbehalte scheint der Nutzen einer genetischen Testung auf bestimmte Krebs syndrome die Risiken zu überwiegen. Für viele der in **Tabelle 101e-3** aufgeführten Krankheiten, wie FAP (APC-Gen), hereditäres Mamma- und Ovarialkarzinom-Syndrom (BRCA1- und BRCA2-Gen), Lynch-Syndrom (Mismatch Repair Genes), Li-Fraumeni-Syndrom (TP53-Gen), Cowden-Syndrom (PTEN-Gen), hereditäres Retinoblastom (RB1-Gen) und andere, stehen inzwischen kommerziell verfügbare entsprechende Untersuchungen prädisponierender Gene zur Verfügung.

Zu Untersuchungen der Allgemeinbevölkerung sollten solche Gentests wegen noch zu klärender Kosten-, Sensitivitäts- und Spezifitätsfragen jedoch noch nicht eingesetzt werden. Für bestimmte Bevölkerungsgruppen mit bekanntem erhöhtem Risiko kann auch ohne Familienanamnese eine Testung sinnvoll sein. So sind zwei Mutationen im Brustkrebs susceptibilitygen BRCA1, 185delAG und 5382insC, bei Ashkenasim-Juden häufig genug, um Individuen dieser ethnischen Gruppe genetisch zu testen.

Die Ergebnisse genetischer Tests sollten den Familien möglichst von ausgebildeten genetischen Beratern mitgeteilt werden, insbesondere bei Hochrisiko-Krankheiten mit hoher Penetranz wie dem hereditären Mamma-/Ovarialkarzinom-Syndrom (BRCA1/BRCA2). Um sicherzugehen, dass die Familien die Vor- und Nachteile der Testung und deren Einfluss auf ihre Behandlung und Psyche verstehen, sollten genetische Tests niemals vor einer Beratung durchgeführt werden. Zur Übermittlung genetischer Testergebnisse sind spezielle Kenntnisse erforderlich, um besonders häufige Fehler bei der Interpretation negativer genetischer Tests zu vermeiden. Die Sensitivität der Tests beträgt für viele der zu Krebserkrankungen disponierenden Gene nur 70 % oder weniger, sodass in nur 70 von 100 getesteten Familien die ursächliche Mutation identifiziert werden kann. Normalerweise sollte daher zuerst ein Betroffener, möglichst das jüngste, noch lebende Familienmitglied mit der infrage stehenden Krebserkrankung untersucht werden. Lässt sich keine Mutation nachweisen, sollte der Gentest als nicht informativ (**Abb. 101e-6**) und nicht als negativ beurteilt werden, da ein fehlender Mutationsnachweis mittels Standardverfahren auch allein technische Gründe haben kann. Wenn hingegen sich

Suttorp et al., *Harrisons Innere Medizin* (ISBN 978-3-940615-50-3), © 2016 ABW Wissenschaftsverlag

Dieses Dokument ist nur für den persönlichen Gebrauch bestimmt und darf in keiner Form an Dritte weitergegeben werden!

All rights reserved. Usage subject to terms and conditions of license.

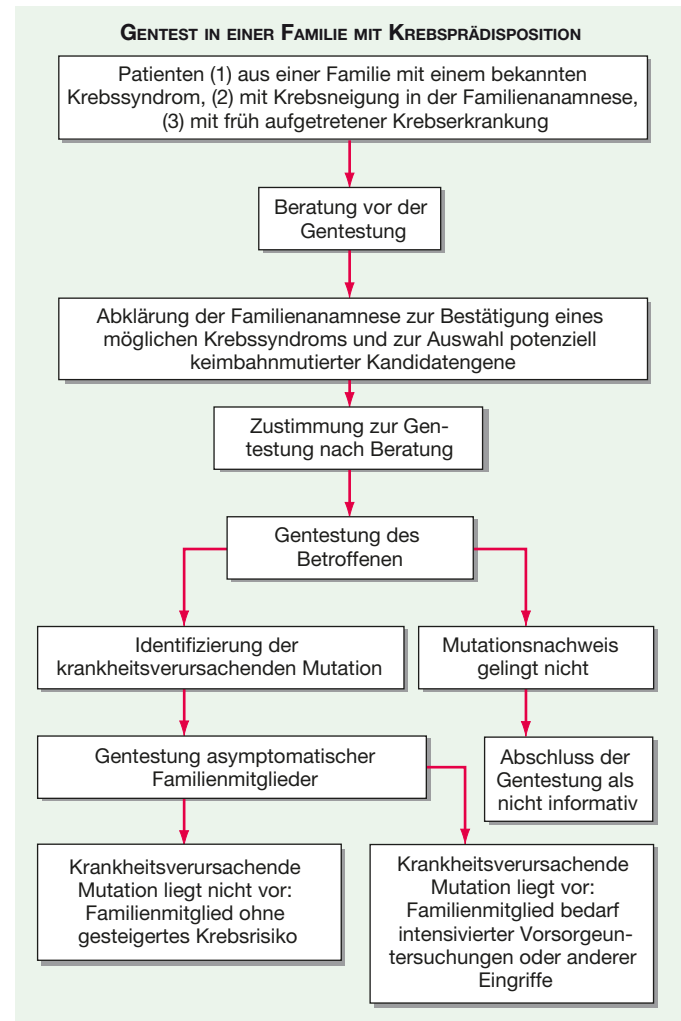


Abbildung 101e-6 Algorithmus zur Gentestung einer Familie mit Krebsneigung. Entscheidend ist die Identifikation der krankheitsverursachenden Mutation bei einem betroffenen Blutsverwandten, die eine Testung auch der asymptomatischen Familienmitglieder erlaubt. Bei asymptomatischen Familienmitgliedern mit Mutationsnachweis können intensivierte Vorsorgeuntersuchungen oder prophylaktische chirurgische Eingriffe notwendig sein, während Familienmitglieder ohne Mutationsnachweis kein erhöhtes Krebsrisiko gegenüber der Normalbevölkerung aufweisen.

bei dem Betroffenen eine Mutation findet, können andere Familienmitglieder untersucht werden. Da die Mutation in dieser Familie mittels Standardverfahren nachweisbar war, kann mit einer Sensitivität von 100 % für diese Tests gerechnet werden.

MI-RNS UND KREBS

MikroRNAs (miRNAs) bezeichnet kleine, nicht kodierende RNS-Moleküle mit einer Länge von 20–22 Nukleotiden, die an der posttranskriptionalen Genregulation beteiligt sind. Erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen miRNAs und Krebserkrankungen stammen aus Studien zur chronischen lymphozytären Leukämie, bei der miR-15 und miR-16 in den meisten Tumoren deletiert oder herabreguliert waren. Seitdem wurde bei mehreren humanen Karzinomen für verschiedene miRNAs-Spezies eine anormale Expression nachgewiesen. Die aberrante Expression von miRNAs bei Krebserkrankungen wurde auf mehrere Mechanismen zurückgeführt, wie chromosomale Rearrangements, Veränderungen der Anzahl der Genkopien, epigenetische Modifikationen, Defekte des miRNAs-Biogenese-Signalwegs und der Regulation durch Transkriptionsfaktoren. Somatische Mutationen von miRNAs wurden bei vielen Krebsformen nachgewiesen, wobei die funktionellen Folgen dieser Veränderungen für die Krebsentwicklung erst noch ermittelt werden müssen. Die SomaMir-Datenbank (<http://compbio.uthsc.edu/Somamir>) bietet einen Katalog der bislang bei Krebs identifizierten somatischen und Keimlinienmutationen der miRNAs.

Funktionell sollen miRNAs-Moleküle durch die Regulation der onkogenen Signalwege zur Tumorgenese beitragen. So greifen miR-15 und miR-16 am BCL2-Onkogen an und führen in leukämischen Zellen zu dessen Herabregulierung und Apoptose. Ein weiteres Beispiel

für eine Beteiligung von miRNAs an onkogenen Signalwegen ist die transkriptionelle Induktion von miR-34 nach genotoxischem Stress durch den p53-Tumorsuppressor, die wichtig für die Vermittlung der p53-Funktion ist. Die Expression von miRNAs erfolgt hochspezifisch und es gibt Hinweise darauf, dass die miRNAs-Expressionsmuster zur Unterscheidung der Herkunft und des Differenzierungsgrads sowie zur Krebsdiagnose und als prognostische Parameter herangezogen werden können.

MENSCHLICHE KREBSVIREN

Bestimmte menschliche Krebserkrankungen sind virusassoziiert. Dazu gehören das Burkitt-Lymphom (Epstein-Barr-Virus, Kap. 218), das hepatozelluläre Karzinom (Hepatitisviren), das Zervixkarzinom (humane Papillomaviren, HPV, Kap. 222) und die T-Zell-Leukämie (Retroviren, Kap. 225e). Die Wirkungsmechanismen dieser Viren sind unterschiedlich, gemeinsam ist ihnen jedoch die Aktivierung wachstumsfördernder Signalwege oder eine Inhibition von Tumorsuppressorgenprodukten in den infizierten Zellen. So binden und inaktivieren etwa die HPV-Proteine E6 und E7 die zellulären Tumorsuppressoren p53 beziehungsweise pRB. Es gibt mehrere HPV-Typen, von denen einige mit der Entwicklung bestimmter Malignome assoziiert sind, wie das Zervix-, Vulva-, Vaginal-, Penis- und Analkarzinom sowie das oropharyngeale Karzinom. Viren allein reichen für die Entwicklung von Krebserkrankungen nicht aus, sie können jedoch einzelne Veränderungen im vielschrittigen Prozess der Krebsentstehung bewirken.

GENEXPRESSIONSPROFILE VON KREBSERKRANKUNGEN

Der durch alterierte Tumorsuppressoren, Onkogene und epigenetische Regulation unterhaltene Vorgang der Tumorentstehung ist von Veränderungen der Genexpression begleitet. Der Einsatz moderner Verfahren, wie solcher zum Hochdurchsatz-Profiling der Genexpression mittels Sequenzierung oder Mikroarrays, ermöglicht die Untersuchung der Genexpression von neoplastischen Zellen in einem bislang nicht erreichbaren Umfang. So ist es nun möglich, den Expressionsgrad mehrerer tausend Gene gleichzeitig zu bestimmen. Ein typisches Experiment zur vergleichenden Untersuchung von Genexpression in Normal- und Krebsgewebe unter Verwendung eines cDNS-Array wird in Abbildung 101e-7 gezeigt. Das Verständnis der Genexpression erlaubt die Identifikation exprimierter Gene und das Verständnis auch komplexer, dem normalen und neoplastischen Zellverhalten zugrunde liegender molekularer Regelkreise. Solche Untersuchungen haben zur Beschreibung tumoraler Genexpressionsprofile geführt, die für Verfahren zur Differenzierung des biologischen Tumorverhaltens (molekulare Klassifizierung), zur Aufklärung von Tumorentstehungswegen und zur Identifikation diagnostischer und therapeutischer Zielmoleküle richtungweisend sein können. Die ersten praktischen Anwendungen dieser Technologie deuten darauf hin, dass mittels globaler Genexpressionsprofile durch andere klinische oder labortechnische Verfahren nicht ableitbare prognostische Erkenntnisse gewonnen werden können. Der Gene Expression Omnibus (GEO, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) ist ein Online-Archiv von Daten über Expressionsprofile mit Suchfunktion.

GENOMWEITE MUTATIONSPROFILE BEI KREBS

Mit der Vollendung des humanen Genomprojekts und durch die Fortschritte der Sequenzierungstechniken ist nun auch die Erstellung systematischer Mutationsanalysen des Krebsgenoms möglich. Inzwischen lässt sich das gesamte Genom von Krebszellen sequenzieren, was unsere Herangehensweise an Prävention, Diagnostik und Behandlung von Krebserkrankungen revolutionieren wird. Das International Cancer Genome Consortium (<http://icgc.org/>) wurde ins Leben gerufen und vereinte die weltweit führenden Krebsgesellschaften, die Genom- und Krebsforscher sowie die Statistiker, um internationale Forschungsprojekte zur Krebsgenetik zu initiieren, zu koordinieren und die Daten zu verbreiten. Inzwischen wurden Hunderte von Genomen von mehr als 25 Krebsarten durch gemeinschaftliche Anstrengungen sequenziert. Außerdem wurde bei zahlreichen Tumoren eine Exomsequenzierung (Sequenzierung aller kodierenden Regionen des Genoms) durchgeführt. Anhand dieser Sequenzierungsdaten wurden die Mutationsprofile von Krebs aufgedeckt und die funktionell an der Tumorgenese beteiligten Treiber(„driver“-)Mutationen entdeckt. Es gibt bei typischen Krebsformen allgemein 40–100 genetische Ver-

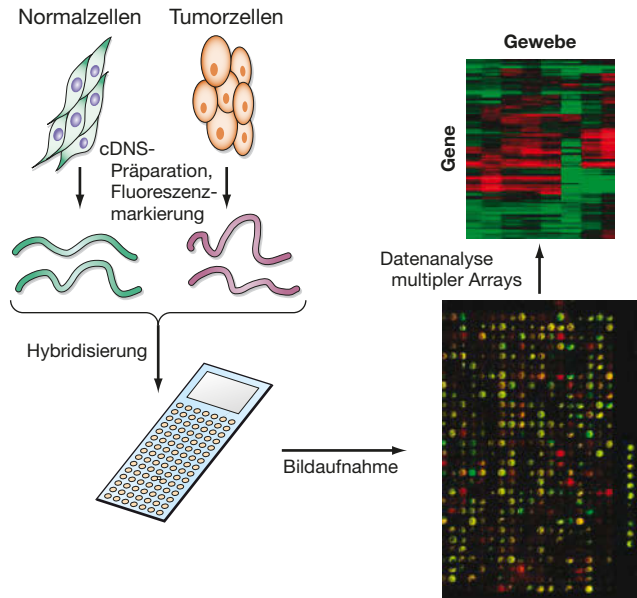


Abbildung 101e-7 Repräsentatives cDNS-Array-Experiment. Nach der Extraktion zellulärer rNS und reverser Transkription wird die cDNS mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert (normale bzw. Tumorzellen üblicherweise grün bzw. rot) und die Fluoreszenz-Sonden-mischung mit dem cDNS-Array hybridisiert. Jeder Array-Punkt enthält ein Oligonukleotid (oder cDNS-Fragment) eines bestimmten Gens. Das Bild wird von einer Fluoreszenzkamera aufgenommen; rote Signale zeigen ein Überwiegen der tumorzellulären Expression, grüne Signale überwiegende Expression in normalen Zellen an. Gelbe Signale zeigen ein zwischen Normal- und Tumorprobe gleiches Expressionsniveau. Nach Cluster-Analyse aller mit den verschiedenen Proben hybridisierten Arrays werden die Ergebnisse zumeist grafisch unter Verwendung des Treeview-Visualisierungsprogramms dargestellt, wobei für jede Gewebsprobe (Spalte) die farb-kodierte Expression für jedes Gen (Zeile) des Arrays wiedergegeben wird.

änderungen der Proteinsequenz, obwohl die statistische Auswertung vermuten lässt, dass nur 8–15 davon funktionell an der Tumorgenese beteiligt sind. Aus diesen Studien lässt sich ableiten, dass die meisten in Tumoren mutierten Gene tatsächlich nur sehr selten mutieren (< 5 %), während einige wenige Gene (wie p53, KRAS) in vielen Tumoren mutiert sind (Abb. 101e-8). Bislang konzentrierte sich die Forschung auf die häufig mutierten Gene, inzwischen zeigt sich jedoch, dass die sehr zahlreichen, nur selten bei Krebs mutierten Gene einen wichtigen Beitrag zum Krebsphänotyp leisten. Die neue Herausforderung liegt im Verständnis der durch diese Mutationen veränderten Signalwege sowie der funktionellen Bedeutung dieser verschiedenen Mutationen. Außerdem leitet die Kenntnis der bei einem bestimmten Tumor veränderten Gene für die Krebsmedizin die neue Ära der individualisierten Behandlung ein (siehe unten). Der Cancer Genome Atlas (<http://cancergenome.nih.gov>) ist ein Gemeinschaftsprojekt des National Cancer Institute und des National Human Genome Research Institute zur systematischen Charakterisierung aller Genomveränderungen bei Krebserkrankungen des Menschen. Die COSMIC-Datenbank (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) ist eine Initiative des Wellcome Trust Sanger Institute zur Speicherung und Darstellung von Informationen über somatische Mutationen und damit zusammenhängender Aspekte von Krebserkrankungen des Menschen (<http://cancer.sanger.ac.uk/>).

ANHAND MOLEKULARER PROFILE INDIVIDUALISIERTE KREBSTHERAPIE

Das Profiling der Genexpression und die genomweite Sequenzierung ermöglichen ein noch nie dagewesenes molekulares Verständnis der Krebserkrankungen. Möglicherweise eröffnet die Kenntnis der jeweiligen Signalwege oder Gene, die bei einem bestimmten Tumor dysreguliert sind (personalisierte Genomik oder Präzisionsmedizin), neue therapeutische Optionen für diesen Tumor und ermöglicht damit eine personalisierte Behandlung des Patienten. Da sich selbst Tumoren des gleichen Typs ausgesprochen heterogen verhalten, könnte die personalisierte informationsbasierte Medizin vor allem bei Tumoren, die auf die konventionellen Therapien nicht ansprechen, die derzeitige histologisch basierte Therapie ergänzen oder vielleicht eines Tages auch ersetzen. Der Erfolg dieses Ansatzes wird von der Identifikation ausreichend angreifbarer Veränderungen (Mutationen oder Signalwege, die gezielt mit einem Medikament angegriffen werden

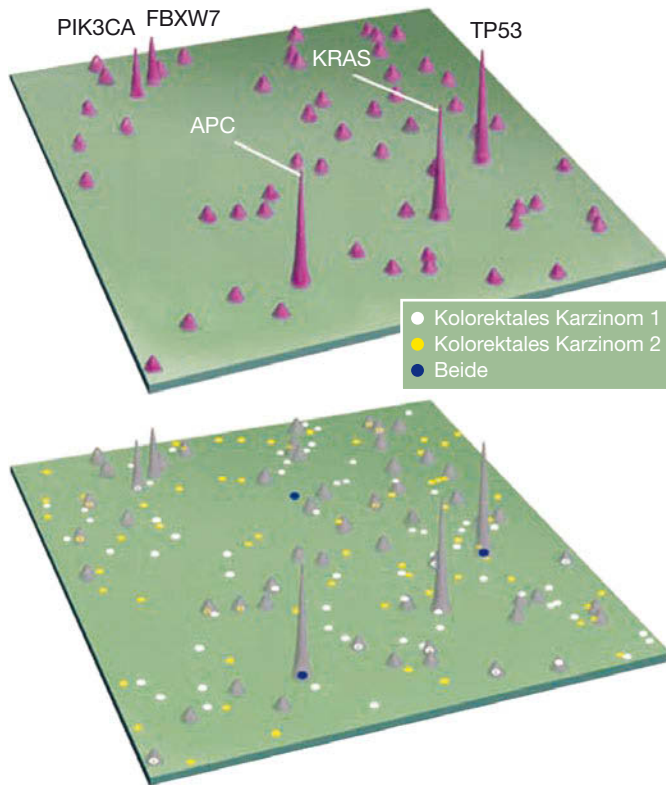


Abbildung 101e-8 Zweidimensionale Karten der bei kolorektalem Karzinom mutierten Gene. Die zweidimensionale Landschaft zeigt die Positionen der RefSeq-Gene entlang der Chromosomenstruktur und die Höhe der Spitzen entspricht der Mutationsfrequenz. Auf der oberen Karte markieren die höheren Spitzen die Gene, die oft beim kolorektalen Karzinom mutiert sind, während die größere Anzahl niedrigerer Hügel den seltener mutierten Genen entspricht. Auf der unteren Karte werden die Mutationen von zwei Tumoren dargestellt. Zu beachten ist die geringe Überschneidung zwischen den mutierten Genen der beiden gezeigten kolorektalen Karzinome. Diese Unterschiede könnten erklären, warum menschliche Krebserkrankungen so verschieden verlaufen und unterschiedlich auf die Therapie ansprechen. (Mit frdl. Genehmigung aus Wood et al: *Science* 318:1108, 2007.)

können) bestimmt. Beispiele für derzeit angreifbare Veränderungen sind BRAF-Mutationen (gezielte Behandlung mit Vemurafenib) und RET-Mutationen (gezielte Behandlung mit Sunitinib und Sorafenib) sowie ALK-Rearrangements (gezielte Behandlung mit Crizotinib). Interessanterweise gehen Studien davon aus, dass 20 % der dreifach Rezeptor-negativen Mammakarzinome und 60 % der Lungenkarzinome potenziell angreifbare genetische Veränderungen aufweisen. Außerdem erlaubt die Genexpression grundsätzlich die Vorhersage der Arzneimittelempfindlichkeit und liefert prognostische Informationen. Handelsübliche Diagnosetests wie MammaPrint und Oncotype DX bei Mammakarzinom helfen den Patienten und Ärzten bei den Behandlungsentscheidungen. Die personalisierte Medizin ist ein aufregender neuer Weg der Krebstherapie, der darauf beruht, dass die Merkmale eines Tumors zu einer effektiven Behandlung verwendet werden. Dieses Konzept leitet eine fundamentale Änderung unseres Behandlungsansatzes bei Krebserkrankungen ein. Allerdings muss bedacht werden, dass die Genexpression einer Krebserkrankung bei ein und demselben Patienten sowie abhängig von der anatomischen Lage der malignen Veränderungen stark variieren kann. Bislang ist noch unbekannt, ob diese klonalen Variationen innerhalb eines Tumors das Ziel der personalisierten Therapie behindern werden.

DIE ZUKUNFT

Eine Revolution der Krebsgenetik im Laufe der letzten 25 Jahre ist offensichtlich. Die Identifikation von Krebsgenen hat das Verständnis der Tumorentstehung vertieft und wesentlich Einfluss auf die gesamte Krebsbiologie genommen. Insbesondere die Einführung leistungsfähiger Verfahren zur genomweiten Ermittlung des Expressionsprofils und zur Mutationsanalyse liefert ein detailliertes Bild der Molekulardefekte einzelner Tumoren. Außerdem ist es bereits möglich, manche Tumoren anhand von spezifischen genetischen Veränderungen individualisiert zu behandeln. Obwohl diese Fortschritte noch nicht zur Veränderung der Prävention, Prognose oder Behandlung von Krebserkrankungen geführt haben, wird es immer mehr Durchbrüche auf diesem Gebiet geben, die eine Anwendung bei immer mehr Krebserkrankungen ermöglichen.

WEITERFÜHRENDE LITERATUR

- HANAHAN D, WEINBERG RA: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144:646–74, 2011
- MITELMAN F, JOHANSSON B, MERTENS F (Eds.): Mitelman Database of Chromosome Aberrations and Gene Fusions in Cancer – <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>, 2015
- NATIONAL CANCER INSTITUTE: www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/targeted-therapies/targeted-therapies-fact-sheet
- VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N, VELCULESCU VE et al: Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–58, 2013