

Ein großer Teil unseres heutigen Wissens über genetische und molekularbiologische Prozesse bei der Entstehung von Tumoren in höheren Organismen ist auf Untersuchungen der Struktur und Interaktionen von Viren mit ihren Wirtszellen zurückzuführen. Bei der Analyse viraler Gene von Tumoviren hat man eine überraschende Beobachtung gemacht: Jede "normale" Körperzelle verfügt in ihrem genetischen Material über Gene, die in ihrer Struktur und Funktion vielen krebsauslösenden, viralen Genen in überraschender Weise ähneln.

Ideale Modell-Systeme für die Grundlagenforschung

Virale Tumorgene und Krebsentstehung

Von Helmut Esche

Erste Hinweise, daß Viren bei der Entstehung von Krebs eine Rolle spielen könnten, haben Experimente ergeben, die schon 1910 von Peyton Rous am Rockefeller Institut für medizinische Forschung durchgeführt wurden. Jungen Hühnern hatten Rous und Kollegen zellfreie Extrakte injiziert, die sie aus Tumoren (sogenannten *Sarkomen*) bestimmter Gewebe von Artgenossen (tumortragenden Tieren) präpariert hatten. Ein großer Teil der infizierten Jungtiere entwickelte daraufhin Sarkome. Der Beweis, daß die von Rous vermuteten Viren tatsächlich für die Entstehung bestimmter Tumore verantwortlich sind, gelang jedoch erst Jahrzehnte später, Anfang der 60er Jahre, durch die Entwicklung neuer physikalischer Reinigungs- und Analysever-

fahren (Ultrazentrifugation, Elektronenmikroskopie). Seither ist eine Vielzahl von Viren isoliert und charakterisiert worden, die bei Nagetieren (Mäusen, Ratten, Hamstern, Kaninchen), Katzen, Rindern und Affen Tumore induzieren können. Eindeutige Beweise, daß auch beim Menschen Tumore durch Viren induziert werden, gibt es bis auf eine Ausnahme (das *human T cell leucemia virus, HTLV*) trotz großer Anstrengungen bis heute nicht. Die Tatsache jedoch, daß man bei verschiedensten Tierarten krebsauslösende Viren nachgewiesen hat, läßt es als wahrscheinlich erscheinen, daß auch menschliche Tumoviren existieren.

Viren, die vor allem wegen ihrer Fähigkeit Erkrankungen in lebenden Organismen zu erzeugen ent-

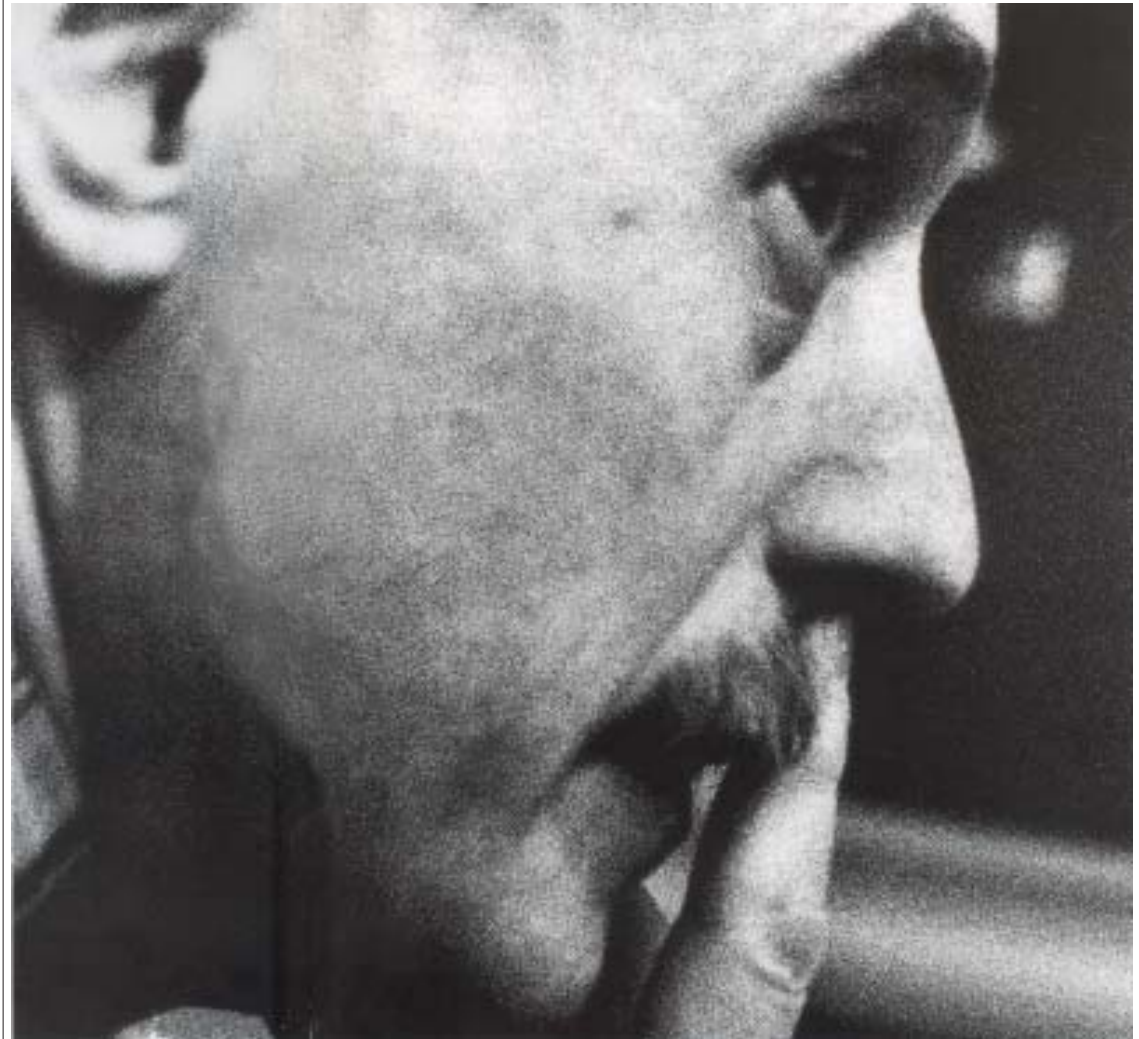
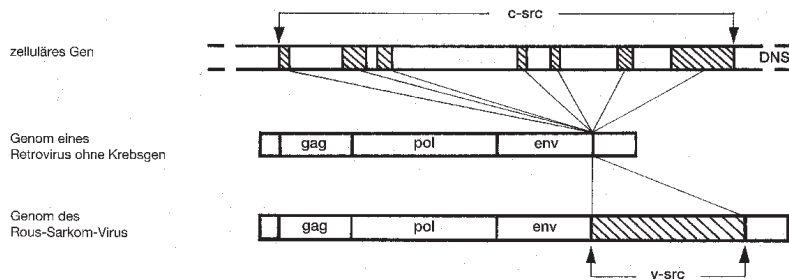


Foto: Universität GH Essen/LS&M

Forschungsschwerpunkt auf der Analyse viraler Onkogene: Prof. Dr. rer. nat. Helmut Esche



(1) Das zelluläre *src*-Gen (oben) setzt sich, wie nahezu alle zellulären Gene, aus den für das Genprodukt kodierenden Bereichen (Exons - *express regions*, in der Graphik schwarz schraffiert) und nicht kodierenden Bereichen (Introns - *intervening regions*, nicht schraffiert) zusammen. In der Vergangenheit wurde irgendwann einmal das zelluläre *src*-Gen von einem Retrovirus (Mitte) aufgenommen, seiner Introns beraubt und via RNS als geschlossener Exonblock in das Virusgenom eingebaut (unten). Die für die Vermehrung eines Retrovirus notwendigen viralen Gene sind *gag*, *pol* und *env*. *Gag* trägt den Bauplan für das Protein der Viruskapsel, *pol* für das Enzym reverse Transkriptase und *env* für ein Glykoprotein, das in die das Virus umgebende Membranhülle eingebaut wird.

Quelle/Graphik: Universität GH Essen/Eache/MKL85

deckt wurden, gehören zu den kleinsten sich replizierenden biologischen Strukturen. Sie besitzen zwar ein Information tragendes Genom-genetisches Material, daß die Bauleitungen für die viralen Eiweißmoleküle enthält - jedoch keinen eigenen Energiestoffwechsel und keine eigenen, kompletten Enzymsysteme, um ihr Genom zu vervielfältigen und die genetische Information auf ihrem Genom zu realisieren. Dies ist nur in Verbindung mit dem Syntheseparat einer Zelle möglich, in die ihre genetische Information über den Prozeß der Infektion gelangen muß. Durch diesen Umstand gehen Untersuchungen der Reproduktion des viralen Genoms und der Realisierung seiner in den Virusgenen festgelegten Information durch die komplexen Syntheseparatoren der Wirtszelle (*Genexpression*) auch Aufschluß über die Art und Weise, wie derartige Prozesse prinzipiell im Wirtsgenom - beispielsweise in einer menschlichen Zelle - ablaufen.

Zu den von vielen Forschern bevorzugten Studienobjekten unter den Viren zählten in den letzten Jahrzehnten die Bakterienviren, da ihre Wirtszellen, die Bakterien, sich leicht auf Nährmedien im Labor vermehren lassen. Erst mit der Etablierung von Zellkulturen höherer

Zellen wurde es möglich auch die Entwicklung von Tier-, Mensch- und Pflanzenviren unter kontrollierten Bedingungen zu studieren. Ein besonderes Interesse fanden dabei tierische (*animale*) Viren, die in der Diskussion stehen an der Entstehung maligner Tumore beteiligt zu sein.

Krebsentstehung: Ursachen und Prozeß

Die Entstehung von Tumoren beruht nach unseren heutigen Erkenntnissen auf einer Akkumulation genetischer Veränderungen (*Defekte*) in spezifischen Genen einer Zelle. Solche genetischen Veränderungen (*Mutationen*) können durch chemische Mutagene (*Kanzerogene*), energiereiche Strahlung (Röntgen-, radioaktive Strahlung), Viren oder durch Fehler bei der Verdopplung des Genoms der Zelle vor der Zellteilung ausgelöst werden. Entstehen die genetischen Defekte in für die Zelle wichtigen Genen mit regulatorischen Funktionen - beispielsweise in solchen Genen, die die *Genexpression*, das Zellwachstum (*Proliferation*), die Zellreifung (*Differenzierung*) oder die Kommunikation zwischen einzelnen Zellen regulieren - so kann dies zu einer Veränderung der

Genfunktionen und damit zur permanenten Zellteilung (*Immortalisierung*) und zur Bildung eines Tumors führen (Abb. 2).

Die Identifikation zellulärer Gene, die aufgrund ihrer genetischen Veränderung an der Tumorentstehung beteiligt sein könnten, gehört heute zu den dringlichsten Problemen in der medizinischen Grundlagenforschung und der Molekular- und Zellbiologie. Die Erfassung solcher Gene ist sehr schwierig - wenn nicht unmöglich - bei Tumoren, die durch chemische Mutagene oder energiereiche Strahlung induziert wurden, da in der Regel durch diese kanzerogenen Einflüsse Defekte an beliebig vielen und verschiedenen Stellen des zellulären Genoms entstehen. Es ist daher kaum möglich herauszufinden, welche der vielen mutierten Gene nun diejenigen sind, die aufgrund ihrer Veränderung an der Entstehung einer Tumorzelle beteiligt waren.

Im Gegensatz dazu wird das genetische Material einer Zelle nach der Infektion durch ein Tumovirus so gut wie nicht verändert. Das Tumovirus bringt durch sein eigenes Genom jedoch zusätzliche genetische Information in die Zelle ein, dessen Aktivität anscheinend die Ursache für die Entstehung der Krebszelle ist. Es liegt daher nahe,

nach jenen viralen Genen zu suchen, deren Funktionen für die Krebsentstehung verantwortlich sind. Für viele animale Tumoviren kennt man inzwischen diese *viralen Onkogene*.

Die Identifikation und biochemische Charakterisierung viralen Onkogene ermöglichte in den letzten Jahren weiterführende Untersuchungen, die zeigen konnten, wo in der Zelle die Produkte (*Proteine*) der viralen Onkogene lokalisiert sind und mit welchen zellulären Strukturen und Funktionen sie zusammenwirken. So wie ein Schlüssel nur zu einem ganz bestimmten Schloß paßt, muß das virale Onkogenprotein die Schaltstelle in der Zelle finden, an der es die normale Regulation spezifischer zellulärer Prozesse wie *Genexpression*, Wachstum, Differenzierung und Zellkommunikation verändern und umprogrammieren kann.

RNS-Tumoviren

Anders als in höheren Zellen kann das Genom bei Viren nicht nur aus Desoxyribonukleinsäure (DNS), sondern auch aus Ribonukleinsäure (RNS) bestehen; Tumoviren lassen sich deshalb in zwei Hauptgruppen einteilen: in RNS- und DNS-Tumoviren. Das RNS-Genom von Retroviren - zu denen das oben erwähnte, von Peyton Rous entdeckte Sarkomvirus gehört - enthält in der Regel nur drei Gene (Abb. 1). Gelangt das Virus in eine Zelle, wird seine RNS, von einem vom Viruspartikel mitgebrachten Enzym (*reverse Transkriptase*), erst einmal in eine doppelsträngige DNS-Kopie, der Art von Genmaterial, das in der Zelle üblich ist, übersrieben (Abb. 2). Diese Rückschreibung von RNS in DNS, die von D. Baltimore (Massachusetts Institute of Technology) und H. Temin (University of Wisconsin) erstmals genauer untersucht wurde, hat den Retroviren ihren Namen gegeben. Die auf diese Weise neu synthetisierte, sogenannte *Provirus-DNS* gelangt in den Zellkern und wird dort in das Genom der Wirts-

zelle eingebaut. Dadurch werden nicht nur die viralen Gene zusammen mit dem zellulären Genom vermehrt und an die Tochterzellen weitergegeben, sondern auch die in den viralen Genen gespeicherte Information von der Zelle durch die Synthese viraler Boten-RNS (*messenger RNS*) und Proteine realisiert.

Wie alle vermehrfähigen Retroviren besitzt das Rous-Sarkom-Virus die für die Virusvermehrung wichtigen Gene *gag*, *pol* und *env*. *Gag* vermittelt die Herstellung eines Strukturproteins, *env* sorgt für die Virushülle, und *pol* für die Herstellung der reversen Transkriptase. Bei der Genomanalyse des Rous-Sarkom-Virus fand man ein weiteres Gen, *src*, dessen Funktion für die Sarkombildung verantwortlich zu sein scheint - was als erste K. Toyoshima, R.R. Friis und P. Vogt (University of Southern California) und G.S. Martin (University of Berkeley) zeigen konnten. Rous-Sarkom-Viren, deren *src*-Gen künstlich entfernt oder durch Mutationen inaktiviert wurde, konnten keine Tumore mehr induzieren, das Virus konnte sich jedoch noch vermehren. Damit war erstmals gezeigt, daß das Rous-Sarkom-Virus ein eigenes Gen in die Zelle mitbringt, dessen Produkt eine bestimmte Art von Krebs induzieren kann. Heute wissen wir darüber hinaus, daß das Onkogen ständig anwesend sein muß, um das Tumorstadium zu erhalten. Ein erstaunlicher Befund: Ein einzelnes Gen kann darüber entscheiden, ob eine Zelle wie eine Tumorzelle wächst oder nicht.

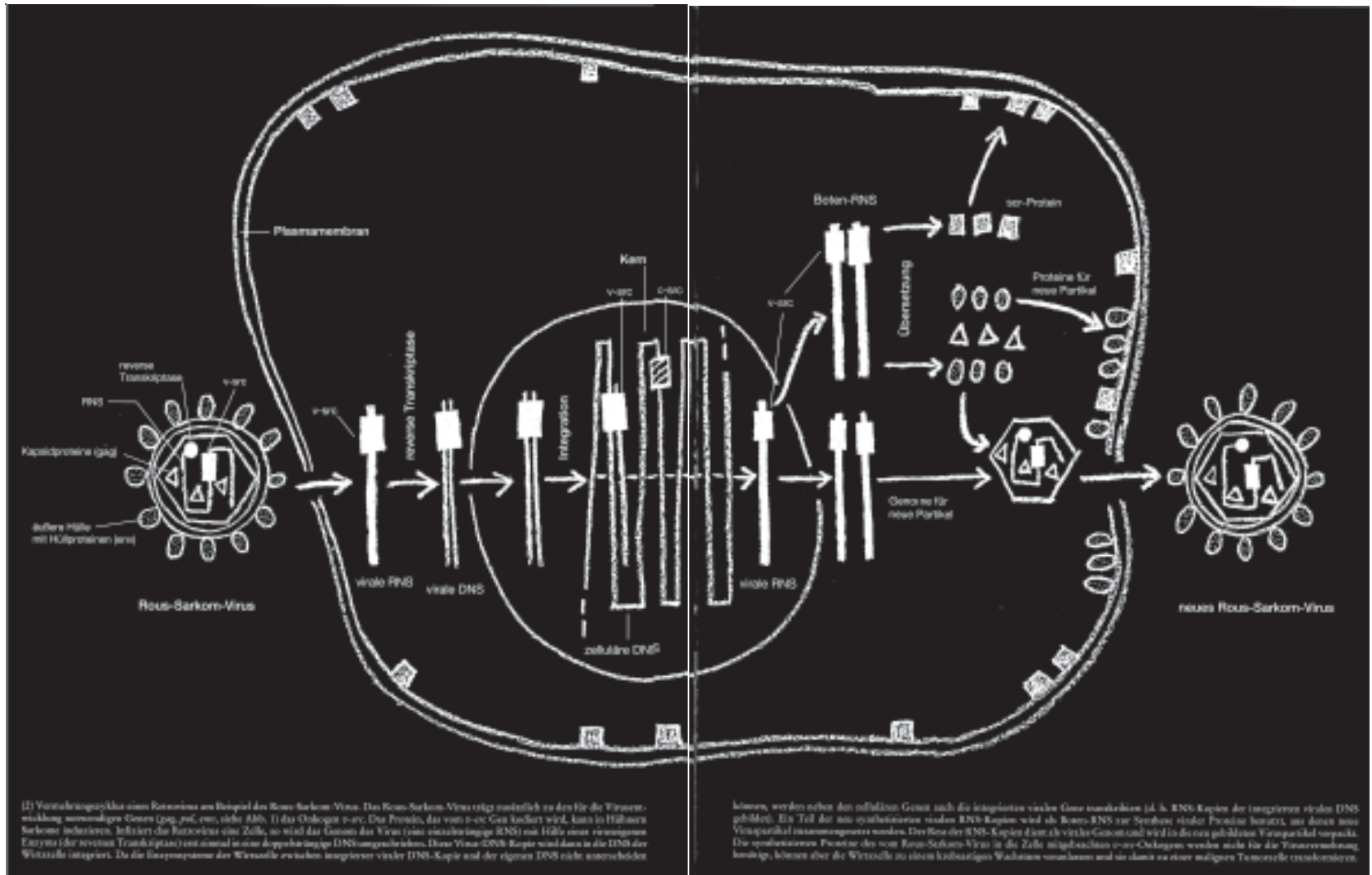
Krebsgene: Veränderte Kopien normaler Gene?

1979 machte H. Hanafusa von der Rockefeller University mit einer Virusmutante, der das *src*-Gen entfernt (*deletiert*) wurde, eine merkwürdige Beobachtung: Er und seine Kollegen injizierten Hühnern diese Virusmutante ohne *src*, und es trotzdem entstanden, wenn auch bei sehr wenigen Tieren, Sarkome. Die Tumore traten in diesem Fall nicht

sofort und direkt in der Umgebung der Injektionsstelle, sondern erst nach Monaten und an entfernten Stellen auf. Zum Erstaunen aller Forscher trugen die aus den Tumoren isolierten RNS wieder das komplette *src*-Gen. Aber woher kam das Gen? Enthielten möglicherweise einige Hühnerzellen inaktive Viren mit *src*, die durch die Infektion mit der Mutante aktiviert wurden?

Um diese Frage abzuklären, stellten D. Stehelin, H.E. Varmus, J.M. Bishop und P. K. Vogt (University of California in San Francisco und Los Angeles) mit gentechnologischen Methoden eine radioaktiv gekennzeichnete *src*-DNS-Sonde her, um durch sogenannte *Hybridisierungsexperimente* zu prüfen, ob das *src*-Gen oder Teile davon eventuell auch außerhalb des Rous-Sarkom-Virus im Genom von normalen Hühnerzellen vorkommen. Das Ergebnis dieses Experimentes war überraschend: Die *src*-Sonde fand fast gleiche Gensequenzen in jeder Hühnerzelle, darüber hinaus lokalisierte man *src*-Sequenzen unter anderem auch im Genom der Maus, des Menschen und vieler wirbelloser Tiere. Enthalten also alle Organismen das *src*-Gen, und damit vermutlich Krebsgene? Einerseits bestätigte diese Nachricht die Überlegung, daß Krebs ein vererbbarer Vorgang ist und Krebsigenschaften über ein oder mehrere Gene von Zelle zu Zelle weitergegeben werden. Andererseits sind es völlig normale Zellen, in denen das Krebsgen *src* gefunden wurde. Wie kann aber ein Onkogen zugleich ein normales Gen sein?

Das Auffinden eines zelleigenen *src*-Gens läßt vermuten, daß die Rous-Sarkom-Virusmutante (ohne das *src*-Gen) in den oben beschriebenen, von Hanafusa durchgeführten Experimenten das *src*-Gen aus der Zelle "aufgepickt" und damit die Eigenschaft, Sarkome zu verursachen, wiedergewonnen hat. Es bleibt aber die Frage, wie das bisher in der normalen Zelle "harmlose" *src*-Gen im Virus zum Krebsgen



werden kann. Gibt es möglicherweise einen Unterschied in der Menge der *src*-Genprodukte, die jeweils vom viralen oder dem zellulären Genom gebildet werden? Das Versetzen eines Gens vom zellulären Genom in das virale Genom könnte die normale Regulation, der das Gen in der Zelle unterliegt, aufheben. Oder wird die Struktur des Gens bei der Aufnahme ins Virusgenom verändert und damit das Genprodukt? Dies sind Kernfragen, mit denen sich die Molekular- und Zellbiologen seit etwa zehn Jahren intensiv beschäftigt haben.

Onkogene und Proto-Onkogene

Heute wissen wir, daß das *src*-Gen im Rous-Sarkom-Virus strukturelle Unterschiede zum zellulären *src*-Gen aufweist, und aufgrund viraler Regulationselemente (*Promotoren für die Transkription*) einer anderen Kontrolle als in der Zelle unterliegt. Das zelluläre *src*-Gen ist wie fast alle Gene höherer Organismen in Abschnitte zerstückelt: In sogenannte *Exons*, die den Bauplan des Genprodukts enthalten und damit ihre Struktur bestimmen. Die Exons werden von intervenierenden Sequenzen (*Introns*, die keine Bauplaninformation tragen), voneinander getrennt. Während der Herstellung einer messenger RNS-Kopie werden die Intron-Anteile aus der RNS-Kopie herausgeschnitten. Bei der reifen, verwendungsfähigen messenger RNS finden sich so alle informationstragenden *src*-Abschnitte (*Exons*) direkt hintereinander angeordnet. Das virale *src*-Gen dagegen enthält keine Introns und hat damit die Struktur der reifen messenger RNS-Kopie des zellulären *src*-Gens. Man vermutet daher, daß die Introns bei der Aufnahme des zellulären *src*-Proto-Onkogens durch das Virus verloren gegangen sind (Abb. 1). Ein exakter Vergleich der Bausteinsequenz der zellulären RNS-Kopie und des viralen *src*-Onkogens haben außerdem gezeigt, daß oft zusätzliche Änderungen in der Bausteinsequenz auftreten: Das

zelluläre und das virale *src*-Gen sind sich zwar sehr ähnlich, doch an einigen Stellen verschieden.

In den Versuchen von H. Hanafusa hatte das Rous-Sarkom-Virus also ein *src*-Gen von der Wirtszelle aufgenommen und es dabei in seiner Struktur verändert. Warum aber gerade das *src*-Proto-Onkogen? Sollte nicht jedes andere Gen der Zelle die gleiche Chance haben, vom Virus aufgenommen zu werden? Wir können auch heute nur spekulieren, daß dem so ist. Zum einen ist die Aufnahme zellulärer Gensequenzen durch ein Virus ein sehr seltenes Ereignis. Zum anderen können wir möglicherweise nur diejenige Viren finden, die Onkogene aufgenommen haben, da sie für uns erst durch ihre Eigenschaft Tumore zu induzieren erkennbar werden. Andere vom Virus aufgenommene Gene zeigen dagegen vermutlich weder keinsichtbaren Effekt oder töten die Zelle, was bei der enormen Anzahl von Zellen höherer Organismen nicht auffallen würde.

Wie bringt aber nun das Proteinprodukt des viralen *src*-Gens eine Zelle dazu, wie eine Tumorzelle zu wachsen? R. L. Erikson und M. S. Collett sowie unabhängig von ihnen - A. R. Levinson und H. E. Varmus entdeckten, daß das *src*-Protein eine *Proteinkinase* ist. Kinasen sind Enzyme, die Phosphat-Reste an bestimmte Aminosäuren eines Eiweißmoleküls heften, ein Vorgang, den man *Phosphorylierung* nennt. T. Hunter und B. M. Sefton vom Salk Institut für Biologie fanden heraus, daß das *src*-Protein spezifisch die Aminosäure Tyrosin phosphoryliert. Damit unterscheidet sich das Enzym von allen bis dahin bekannten Kinasen, die Phosphat-Reste an die Aminosäuren Serin und Threonin hängen. Inzwischen weiß man, daß die Phosphorylierung von Tyrosin eine charakteristische Eigenschaft einer Reihe von onkogenkodierten Proteinen ist, aber auch bei der Wachstumsregulation einer normalen Zelle eine wichtige Rolle spielt.

Doch was unterscheidet nun die

Funktion des viralen *src*-Genprodukts von dem der normalen Zelle, wo doch beide *src*-Proteine andere zelluläre Proteine phosphorylieren können? Zum einen hat man zeigen können, daß die Menge phosphorylierter Tyrosinreste nach Einführung des viralen *src*-Gens in eine normale Zelle etwa um das Zehnfache steigt. Dies kann nur mit der Funktion des zusätzlich in die Zelle gelangten viralen *src*-Enzyms erklärt werden. Die Kernfragen jedoch, welche zellulären Proteine von dem *src*-Protein phosphoryliert werden, und ob das leicht modifizierte, virale *src*-Protein möglicherweise noch andere zelluläre Proteine phosphorylieren kann als die der normalen Zelle, sind noch unbeantwortet. Die Suche nach den Angriffspunkten des *src*-Enzyms, den vom *src*-Protein phosphorylierten zellulären Proteinen und deren Funktionen in der Zelle ist zur Zeit noch im vollen Gange.

Seit der Isolierung des Rous-Sarkom-Virus in den 60er Jahren sind zahlreiche weitere Tumorerzeugende und Onkogen-tragende Retroviren isoliert worden (s. Tab.). Für nahezu alle in Retroviren gefundenen Onkogene hat man entsprechende äquivalente Gene in der normalen Zelle gefunden. Das heißt zugleich, daß die Forschung in vielen Fällen erst durch die in den Retroviren gefundenen Onkogene wichtige zelluläre Gene mit regulatorischen Funktionen in der Genexpression, Proliferation und Differenzierung von Zellen entdeckt hat. Wie beim *src*-Gen gibt es zwischen den viralen Onkogenen und den Genen ihrer Herkunft (den zellulären Proto-Onkogenen) an einigen Stellen Unterschiede in der DNA-Bausteinsequenz. Bis heute sind auf diese Weise etwa 37 zelluläre Gene (Proto-Onkogene) entdeckt worden, die, werden sie in leicht veränderter Kopie durch Retroviren in die Zelle zusätzlich wieder eingebracht, die verschiedensten Tumore induzieren können.

Wird die Bausteinsequenz und damit die genetische Information

der zellulären Gegenstücke der viralen Onkogene in normalen Zellen durch chemische Karzinogene oder energiereiche Strahlen verändert, kann dies ebenfalls zur Bildung von Krebs führen. Die viralen Onkogene der krebsauslösenden Retroviren sind also tatsächlich nichts anderes als veränderte Versionen normaler Gene, die in jeder Körperzelle vorhanden sind. Die von den veränderten Genen kodierten Proteine lösen möglicherweise Tumore aus, weil sie ihre normalen Funktionen nicht mehr richtig wahrnehmen können. Noch sind nicht alle zellulären Proto-Onkogene bekannt - man schätzt ihre Anzahl auf etwa 50 bis maximal 100 - und noch kennt man nur die Funktionen eines Teils der isolierten viralen Onkogen- und zellulären Proto-Onkogenprodukte. Trotzdem läßt sich schon erkennen, daß die normalen zellulären Gene, deren veränderte Kopien man in Tumoren findet, wichtige Aufgaben in einem Netzwerk haben, welches

die Genexpression in den Zellen, das Wachstum, die Differenzierung und die Kommunikation von Zellen reguliert.

An dieser Stelle soll nicht unerwähnt bleiben, daß Retroviren noch über einen weiteren, völlig anderen Mechanismus verfügen, durch den sie Tumore induzieren können. Im Grunde können nämlich alle, nicht nur die Onkogen-tragenden Retroviren sondern auch solche, die keine Onkogene besitzen, Krebs induzieren. Die Onkogen-tragenden Viren erzeugen Tumore in der Regel sehr schnell, in wenigen Wochen und nahezu jede infizierte Zelle wird zur Krebszelle. Retroviren, die keine Onkogene tragen, transformieren die infizierten Zellen nur sehr selten; die Tumore treten zu dem erst nach Monaten oder Jahren auf. Eine mögliche Erklärung hierfür läßt sich wiederum aus den Experimenten von Hanafusa ableiten: "Langsame", kein Onkogen enthaltende Retroviren könnten ein zelluläres Proto-Onkogen aufnehmen

(was ein sehr seltenes Ereignis ist), seine Struktur verändern und sich dann in ein "schnelles" (ein Onkogen enthaltendes) Retrovirus verwandeln. Träfe dies zu, müßte man aus den Tumoren Viren isolieren können, die ein Onkogen enthalten. In vielen virusinduzierten Tumoren hat man jedoch keine dieser Viren gefunden, wohl aber Viren ohne Onkogen.

Aufklärung darüber, wie ein Retrovirus ohne Onkogen Krebs induzieren kann, brachten Analysen der Struktur des in die Zell-DNS eingebauten Retrovirus und Untersuchungen des Ortes, an dem das Virusgenom integriert wurde. Nach Überschreibung der viralen RNS in DNS (durch die virusgenese reverse Transkriptase) und dem Einbau in das Wirtsgenom werden die viralen Gene von zwei gleichen viralen Strukturelementen, sogenannten *long terminal repeats (LTRs)*, flankiert. Beide LTRs tragen wichtige regulatorische Elemente für die Genexpression, obwohl nur der

Beispiele retroviraler Onkogene und ihrer verwandten zellulären Gene

Name des Retrovirus	Virales Onkogen	Spezies ¹	Tumortyp	verwandte Gene in Wirbeltier-DNA	Funktion des Onkogen-Proteins ²
Rous Sarkom Virus	v- <i>src</i> ¹	Huhn	Sarkom	ja (c- <i>src</i>) ¹	tyrosinspezif. PK
Yamaguchi Sarkom Virus	v- <i>yes</i>	Huhn	Sarkom	ja (c- <i>yes</i>)	tyrosinspezif. PK
Gardner-Rasheed Sarkom Virus	v- <i>lgr</i>	Katze	Sarkom	ja (c- <i>lgr</i>)	tyrosinspezif. PK
Fujinami Sarkom Virus	v- <i>lps</i>	Huhn	Sarkom	ja (c- <i>lps</i>)	tyrosinspezif. PK
Snyder-Theulen Sarkom Virus	v- <i>fes</i>	Katze	Sarkom	ja (c- <i>fes</i>)	tyrosinspezif. PK
Abelson Leukemia Virus	v- <i>abl</i>	Maus	Leukämie	ja (c- <i>abl</i>)	tyrosinspezif. PK
UR2 Sarkom Virus	v- <i>ros</i>	Huhn	Sarkom	ja (c- <i>ros</i>)	tyrosinspezif. PK
Erythroblastosis Virus	v- <i>erb A</i>	Huhn	Sarkom, Leukämie	ja (c- <i>erbA</i>)	?
Erythroblastosis Virus	v- <i>erb B</i>	Huhn	Sarkom, Leukämie	ja (c- <i>erbB</i>)	EGF-Wachst.fakt. Rezeptor
McDonough Sarkom Virus	v- <i>fms</i>	Katze	Sarkom	ja (c- <i>fms</i>)	CSF-Rezeptor
3611 Sarkom Virus	v- <i>raf</i>	Maus	Sarkom	ja (c- <i>raf</i>)	serin/threoninspezif. PK
Mill-Hill-2 Sarkom Virus	v- <i>mil</i>	Huhn	Karzinom	ja (c- <i>mil</i>)	serin/threoninspezif. PK
Moloney Sarkom Virus	v- <i>mos</i>	Maus	Sarkom, Leukämie	ja (c- <i>mos</i>)	?
Harvey Sarkom Virus	v- <i>Ha-ras</i>	Ratte	Sarkom, Karzinom	ja (c- <i>Ha-ras</i>)	GTP-bindendes Protein
Kirsten Sarkom Virus	v- <i>Ki-ras</i>	Ratte	Sarkom, Karzinom, Leukämie	ja (c- <i>Ki-ras</i>)	GTP-bindendes Protein
Myelocytomatosis Virus	v- <i>myc</i>	Huhn	Karzinom, Sarkom, Leukämie	ja (c- <i>myc</i>)	Kernprotein
Erythroblastosis Virus (MC 29)	v- <i>myb</i>	Huhn	Leukämie	ja (c- <i>myb</i>)	Kernprotein
Erythroblastosis Virus (E 26)	v- <i>ets</i>	Huhn	Leukämie	ja (c- <i>ets</i>)	?
Finkel Osteo-Sarkom Virus	v- <i>fos</i>	Maus	Sarkom	ja (c- <i>fos</i>)	Kernprotein
Sloan-Kettering Virus (770)	v- <i>ski</i>	Huhn	Sarkom	ja (c- <i>ski</i>)	?
Retivuloendotheliosis Virus	v- <i>rel</i>	Truthahn	Leukämie	ja (c- <i>rel</i>)	serin/threoninspezif. PK
Simian Sarkom Virus	v- <i>sis</i>	Affe	Sarkom	ja (c- <i>sis</i>)	PDGF-Wachstumsfaktor

¹) Wirtsgenom des Virus. ²) PK-Proteinkinase, EGF-epidermal growth factor, CSF-colony stimulation factor, PDGF-platelet-derived growth factor, GTP-Guanosin-triphosphat, v-*src* virales Onkogen, c-*src* zelluläres Proto-Onkogen. ³) v-*src*, virales Onkogen. ⁴) c-*src*, zelluläres Proto-Onkogen. Quelle: Universität GH Essen/Fachbereich

linksseitige LTR für die Expression der viralen Gene - also für die Synthese viralen messenger RNS - benötigt wird. 1981 lieferten W. Hayward und B. Neel von der Rockefeller University New York und S. Astrin vom Institute of Cancer Research in Philadelphia einen überzeugenden Beweis dafür, daß bestimmte regulatorische Regionen auf den LTRs, *enhancer* genannt, einen Einfluß auf die Genaktivität benachbarter zellulärer Gene haben können. Sie untersuchten unter anderem die Orte der Virusintegration in das zelluläre Genom bei einer spezifischen Form von Leukämie (bei durch das *Avian Leukosis Virus* induzierten *B-Zell-Lymphomen*). Allen untersuchten Tumoren war gemeinsam, daß mindestens eines der Retrovirusgenome sich immer in der Umgebung des zellulären Proto-Onkogens mit dem Namen *c-myc* befand. Sie konnten weiterhin nachweisen, daß die Nachbarschaft der viralen LTRs die Aktivität des *c-myc*-Gens stark beeinflusst. Es wurde dreißig- bis hundertfach häufiger transkribiert und folglich synthetisiert die Zellen auch viel mehr *c-myc*-Genprodukt als eine normale Zelle. Die Überexpression des *c-myc*-Proteins stellt offensichtlich einen wichtigen Schritt in der Lymphomenstehung dar.

Die Befunde im Überblick: Retroviren mit Onkogenen sind sehr effektiv bei der Tumorerzeugung. Fast jede der infizierten Zellen verhält sich wie eine Tumorzelle. Retroviren ohne Onkogen können ebenfalls Krebs verursachen, aber nur selten, da ihre Krebs-auslösende Wirkung von der zufälligen Integration nahe eines zellulären Proto-Onkogens abhängt. Wird entweder die Menge des von einem zellulären Proto-Onkogen gebildeten Proteins oder die Struktur des Gens und damit das Genprodukt verändert - und genau das passiert, wenn entweder ein Retrovirus in der Nachbarschaft eines zellulären Proto-

Onkogens mit seinem Genom in eine Zelle einbringt - kann es zur einer Deregulation wichtiger Kontrollmechanismen der Genexpression, des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung kommen.

DNS-Tumoviren

Die zweite Gruppe von Viren, die Krebs induzieren kann, ist die der DNS-Tumoviren. Sie besitzen als genetisches Material nicht RNS, sondern DNS. Die bekanntesten Vertreter dieser Gruppe sind die *Papovaviren* (*Simian-Virus 40*, *Polyoma-Virus*), *Adenoviren* und bestimmte Typen der Herpes-Virus-Gruppe (etwa das *Epstein-Barr-Virus*).

Für einige dieser DNS-Tumoviren sind die viralen Onkogene und die Funktion ihrer Genprodukte gut untersucht. Adenoviren beispielsweise haben zwei Onkogene, *E1a* und *E1b*, deren Proteine unterschiedliche Funktionen haben. Die Funktionen beider Gene zusammen können primäre (normale) Zellen zu Tumorzellen transformieren, während Funktionen der einzelnen Gene dazu nicht in der Lage sind. Die *E1a*-Onkoproteine allein können die Zellen nur immortalisieren. Solche immortalisierten Zellen sind unsterblich; sie besitzen eine unbegrenzte Fähigkeit zur Zellteilung - ein erster wichtiger Schritt auf dem Weg zu einer Tumorzelle -, können jedoch im Tierorganismus, beispielsweise in Mäusen, Ratten oder Hamstern nicht zu Tumoren auszuwachsen. Die Fähigkeit zum aggressiven, infiltrativen Wachstum und zur Bildung von Tochtertumoren (*Metastasierung*) erhalten die immortalisierten Zellen erst durch Funktionen der *E1b*-Onkoproteine. *E1a*-Onkoproteine sind im Zellkern lokalisiert und greifen in die Regulation der Aktivität zellulärer Gene ein. Über die Funktionen der *E1b*-Onkoproteine weiß man heute noch recht wenig.

Das *SV40*- und das *Polyoma-Virus* kodieren ebenfalls für mehrere Onkoproteine verschiedener

Größe, diese sogenannten *Tumorigene* sind für die Entstehung von Tumorzellen verantwortlich. Bei den Herpesviren konnte bisher noch kein nach den oben festgelegten Kriterien definiertes Onkogen eindeutig charakterisiert werden. Im Gegensatz zu den Retroviren benötigen alle DNS-Tumoviren die Funktionen ihrer Onkogene für ihre eigene Vermehrung, für die Expression ihrer Gene oder zumindest indirekt für die Vervielfältigung ihres Genoms.

Allen DNS-Tumoviren ist noch etwas gemeinsam, was sie, neben anderen Parametern, von den RNS-Tumoviren unterscheidet: Für keines der viralen Onkogene von den bisher untersuchten DNS-Viren hat man ein entsprechendes zelluläres Gegenstück (Proto-Onkogen) gefunden. Es gibt allerdings Hinweise dafür, daß undifferenzierte, noch embryonale Zellen Proteine synthetisieren, die sich in ihrer Struktur zwar von den Onkoproteinen der DNS-Tumoviren unterscheiden, ihnen jedoch in ihren Funktionen sehr ähneln. Solche zellulären Proteine werden von ausdifferenzierten, reifen und nicht mehr teilungsfähigen Zellen nicht mehr gebildet.

Der Stand der Forschung

Wir wissen heute, daß bestimmte RNS- und DNS-Viren bei Tieren Krebs hervorrufen können. Vermutlich spielen diese Tumoviren eine größere Rolle bei der Entstehung von Tumoren als man bisher glaubte. Durch die heute zur Verfügung stehenden gentechnologischen Methoden ist es möglich geworden, das Genom von Tumoviren zu untersuchen, experimentell zu verändern und dadurch grundlegende Erkenntnisse über die Funktion der Onkogenprodukte und damit über die Krebsentstehung zu gewinnen. Die Onkogene der RNS-Tumoviren (Retroviren) sind normale, die Genexpression, das Zellwachstum, die Zelldifferenzierung und Zell-Zell-Kommunikation

regulierende zelluläre Gene (Proto-Onkogene), die zufällig in das Genom der Retroviren aufgenommen wurden. Die Überproduktion solcher vom Retrovirus aufgenommenen und im Retrovirusgenom strukturell leicht veränderten zellulären Proto-Onkogene führt auf bisher noch sehr wenig verstandene Art und Weise zum Versagen der normalen Kontrollmechanismen, die die Genexpression, das Wachstum und die Reifung (Differenzierung) von Zellen regulieren. Untersuchungen einer Reihe von - auch menschlichen - Tumoren, die nicht durch Viren induziert wurden, haben in den letzten Jahren zeigen können, daß einige jener normalen, zelleigenen Proto-Onkogene - die erstmals als Kopien (Onkogene) in Retroviren nachgewiesen wurden - in den Tumorzellen verändert sind. Aufgrund dieser Veränderungen können die ebenfalls veränderten Proto-Onkogenprodukte in den Tumorzellen ihre normale Funktion nicht mehr richtig wahrnehmen.

SUMMARY

Most, if not all, complex eukaryotic organisms are subject to disorders of cell growth and differentiation that result in the appearance of localized or disseminated tumors. In the last twenty years there has been a virtual explosion in our understanding of genetic and molecular mechanisms which regulate cell proliferation and differentiation. This applies both to normal cells, in which growth is tightly controlled, as well as to tumor cells which divide in an uncontrolled fashion. A great part of this knowledge comes from the analysis of genes which are responsible for malignant transformation by certain tumor viruses. The great attraction of oncogenic viruses in tumor research depends in large part on the apparent simplicity of many of these viruses and on the correlative hope that a

detailed understanding of the genetic contribution such viruses make to a cell will enlarge our understanding of neoplastic conversion in general. Several retrovirus strains, the family of viruses which carry an RNA genome but replicate via a DNA intermediate (fig. 2), rapidly induce malignant tumors following infection of animals of the appropriate host species. The same strains also induce the transformation of cells in culture. Analysis of these retroviral genomes has led to the identification of some two dozen different transforming genes, known as viral oncogenes (v-onc, see table) which are - in contrast to those of DNA tumor viruses - distinct from the genes required for viral replication (fig. 1). These viral oncogenes raised a number of immediate questions for which at least partial answers are now available: Where do tumor genes come from? How is the gene introduced, reproduced and expressed? What kind of protein is expressed by such a gene? What does the protein do, directly or indirectly, to the metabolism of host cells and how do viral oncogenes disturb the control of cell growth and division? Since 1976 it is known that oncogenes are not unique to retroviruses but that nearly identical sequences at least to retroviral oncogenes are present in the genome of all vertebrate cells. These so-called cellular oncogenes (c-onc or proto-oncogenes, as they are also designated, see table) show a remarkable degree of evolutionary conservation, suggesting that they express essential functions. The fact that retroviruses which have captured cellular oncogenes are able to induce abnormal cell proliferation raised the speculation that proto-oncogenes participate in regulating the growth of normal cells.

Der Autor:

Helmuth Esche ist seit 1985 Professor am Institut für Molekularbiologie (Tumorforschung) des Zentrums für Tumorforschung

und Tumorthherapie am Universitätsklinikum Essen. Nach dem Studium der Biologie und Genetik an der Freien Universität Berlin, mit Studienaufenthalten in Tübingen und München, promovierte er 1974 am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin über die Regulation der Genexpression des *Bacillus subtilis* Phagen SP1. 1976 ging er für vier Jahre an das Institut für Genetik der Universität zu Köln in die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. W. Doerfler, wo er Untersuchungen über die Struktur, Expression und Funktion Adenovirus-spezifischer Tumorigene durchführte. Während eines zweijährigen Forschungsaufenthaltes an den Cold Spring Harbor Laboratories in den USA, wurde die Analyse viraler Onkogene zu seinem Forschungsschwerpunkt, den er nach seiner Rückkehr und Einrichtung einer selbstständigen Arbeitsgruppe am Institut für Genetik der Universität Köln ausbaute. Seit 1986 leitet er eine von zwei Arbeitsgruppen am Institut für Molekularbiologie (Tumorforschung) der Universität Essen mit Forschungsschwerpunkten auf dem Gebiet viraler Onkogene und zellulärer Proto-Onkogene. 1989 ging er nochmals für neun Monate an das Whitehead Institut for Biomedical Research in Cambridge, USA, wo er Interaktionen viraler Tumorigene mit Proteinen zellulärer Tumorsuppressorgene untersuchte. Seit 1988 ist er Sprecher des am Universitätsklinikum Essen eingerichteten Sonderforschungsbereichs der Deutschen Forschungsgemeinschaft (1988-1991) des SFB 102 *Experimentelle und klinische Leukämie und Tumorforschung*, seit 1992 des SFB 354 *Genetische und Biochemische Grundlagen der Karzinogenese und Metastasierung*.

Literatur:

- Bishop JM (1983) Cellular Oncogenes and Retroviruses. ANNUAL REVIEW OF BIOCHEMISTRY 52: 301-35
 Bishop JM (1985) Proto-Oncogenes: Clues to the Puzzle of Purpose. NATURE 316: 483-491
 Esche H (1986) Early Proteins Coded by the Adenovirus Genome: Functional Aspects. In: Development in Molecular Virology, Vol. 5: Adenovirus DNS: The Viral Genome and its Expression (Eds. W. Doerfler, Y. Becker), Martinus Nijhoff Publishing, Boston, pp 223
 Klein G, Weinberg W (Eds) (1982) Retroviruses and Cancer Genes. Advances in Cancer Research 37, Academic Press, New York
 Land H, Parada LF, Weinberg RA (1983) Tumorigenic conversion of primary embryonic fibroblasts requires at least two cooperating oncogenes. NATURE 304: 596-602
 Rukey HE (1983) Adenovirus Early Region 1A Enables Viral and Cellular Transforming Genes to Transform Primary Cells in Culture. NATURE 304: 602-608
 Varmus H, Levine AJ (Eds) (1983) Readings in Tumor Virology. Cold Spring Harbor Laboratory Press