

Bernhard Horsthemke:

DNS-Diagnosen für Risiko-Familien

UNIKATE: Herr Prof. Horsthemke, Sie haben sich als Humangenetiker in den letzten Jahren besonders mit einem Netzhaut-Tumor, dem Retinoblastom, beschäftigt. Können Sie die Gründe dafür kurz darstellen?

Bernhard Horsthemke: Zum einen ist die Genetik des Retinoblastoms recht einfach. Zwei Mutationen scheinen auszureichen, um die Tumorbildung zu initiieren. Diese Mutationen betreffen die beiden Allele eines Gens, das man seit 1986 kennt. Zum anderen ist die Essener Augenklinik durch die Arbeit von Herrn Prof. Höpping weltweit eines der größten Zentren für die Diagnose und Therapie dieses Tumors. Die Voraussetzungen, genetische Faktoren bei der Krebsentstehung zu untersuchen, sind hier also besonders günstig.

UNIKATE: Auf welche Erkenntnisse der Retinoblastom-Forschung konnten Sie in ihrer Arbeit bereits zurückgreifen?

Horsthemke: Das für das Retinoblastom verantwortliche Gen, das sogenannte RB1-Gen, wurde erst-

mals in den USA kloniert. Bei einer kleinen Anzahl von Patienten, die außer Retinoblastom noch andere klinische Zeichen aufwiesen - geistige oder körperliche Retardierung - konnte lichtmikroskopisch festgestellt werden, daß genetisches Material vom Chromosom 13 verloren gegangen war. Von daher lag die Vermutung nahe, daß ein Gen auf diesem Chromosom für das Entstehen des Retinoblastoms zumindest mitverantwortlich war. Dann konnte geklärt werden, daß ein Enzym - die sogenannte Esterase-D, die von einem Gen auf Chromosom 13 kodiert wird und einen Protein-Polymorphismus besitzt - sich bei Familien, die in mehreren Generationen unter Retinoblastom litten, zusammen mit dem RB1-Gen vererbt. Sie mußten also eng beieinander liegen. Diese Information hat man ausgenutzt, um sich zu diesem Gen vorzuarbeiten.

UNIKATE: Das Retinoblastom-Gen wurde sozusagen örtlich eingekreist. Ist dies so einfach möglich?

Horsthemke: Nun, einfach ist es nicht, aber inzwischen kann man

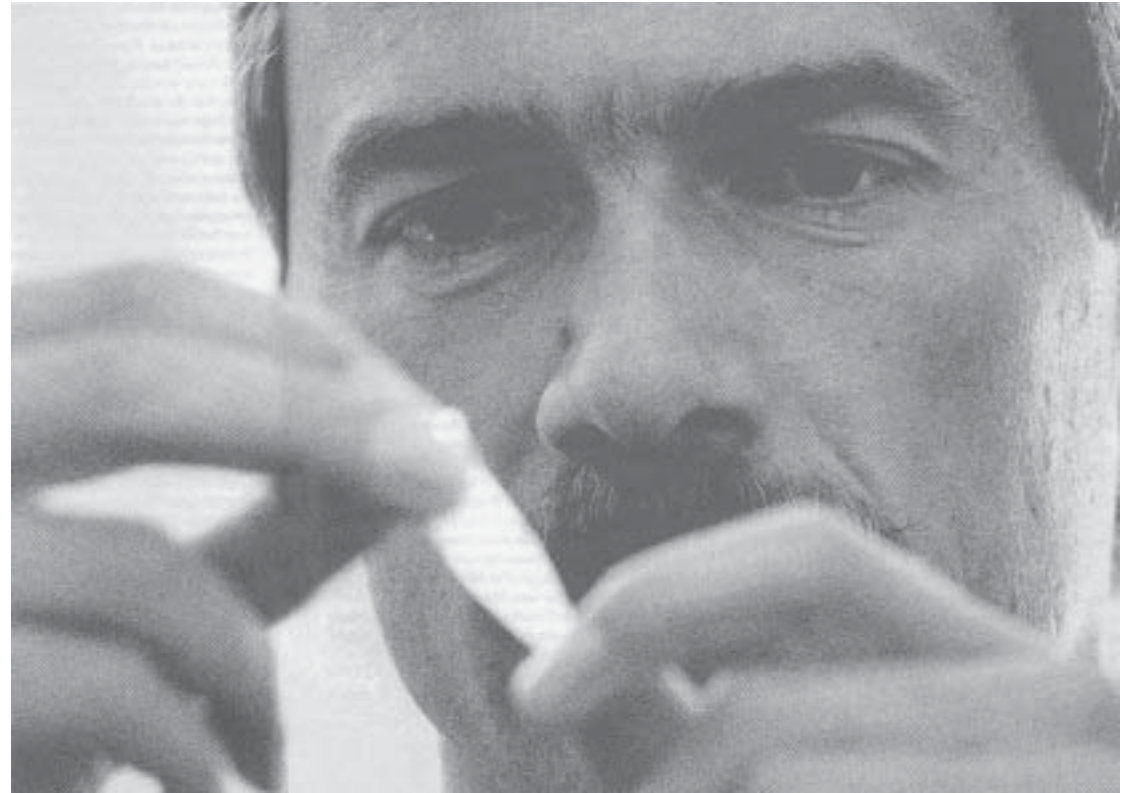


Foto: Universitätsklinikum Essen/UKA

Gene klonieren und identifizieren, einzig und allein aufgrund ihrer Position im Chromosom. Das ist einer der wichtigsten Fortschritte, den wir in der Humangenetik in den letzten zehn Jahren erreicht haben. Die traditionelle Arbeitsweise in der Molekulargenetik war bisher das sogenannte funktionelle Klonieren: In der Regel reinigt man ein Protein, bestimmt die Aminosäuren-Sequenz, isoliert das dazugehörige Gen mit molekulargenetischen Techniken und lokalisiert es

schließlich auf dem Chromosom. Dabei geht man also von der Funktion des Proteins aus und versucht es, von daher auf dem Chromosom zu verorten. Das Problem ist nur, daß man bei fast allen Erbkrankheiten gar nicht weiß, welche Funktion gestört ist. Auch beim Krebs weiß man zunächst nur, daß die Zelle "ausrastet": Sie teilt sich einfach weiter. Aber welche Funktion soll man testen? Was ist eigentlich gestört? Man kann diesen Weg beim Krebs und bei vielen anderen

Erbkrankheiten nicht einschlagen. Deswegen mußte man die Sache anders aufzäumen: Man muß von Hinweisen auf die chromosomale Lokalisation ausgehen, also von Hinweisen darauf, wo sich das betroffene Gen befindet. Hierfür sind in den letzten zehn Jahren Techniken entwickelt worden, die eine positionelle Klonierung ermöglichen. Bei dieser Arbeitsweise muß man zunächst herausfinden, auf welchem Chromosom sich das Gen befindet. Beim Retinoblastom

war ja schon bekannt, das es bei einigen Patienten kleine Stückverluste auf dem Chromosom 13 in einer bestimmten Bande, q14, gibt. Dann versucht man, DNS aus diesem Bereich zu klonieren. Dies wird dann nach Genen abgesucht.

UNIKATE: Dies dürfte eine erhebliche, empirische Vergleichsarbeit mit sich bringen?

Horsthemke: Natürlich, die Genstruktur muß ja erst einmal identi-

ziert werden. Man hat zunächst nur ein Stück DNS und kann weder sagen, ob dieses Stück nun ein Gen oder ein Stück zwischen zwei Genen ist, noch was für ein Gen es ist. Bei der Identifikation des Retinoblastom-Gens kam dabei ein bißchen Glück ins Spiel: Es war mehr oder weniger das erste Gen, das man sich angeschaut hatte. Und hier zeigten sich nun in Retinoblastom-Zellen winzige Strukturveränderungen - eben genau das, was man in einem solchen Fall erwarten würde. Ein

“Das Problem ist, daß man bei fast allen Erbkrankheiten gar nicht weiß, welche Funktionen der Proteine gestört sind. Auch beim Krebs weiß man zunächst nur, daß die Zelle ‘ausrastet’: Sie teilt sich einfach weiter...”

Gen, das neben dem für die Krankheit Verantwortlichen liegt, wäre ja nicht betroffen.

Von diesem Punkt aus kann man dann die Funktion klären. Es ist inzwischen bekannt, daß das Retinoblastom-Gen bei der Zellzyklus-Regulation eine Rolle spielt. Es bremst den Zellzyklus und blockiert damit die unkontrollierte Zellteilung. Wenn das entsprechende Gen auf beiden Chromosomen 13 defekt ist oder fehlt, fehlt auch die bremsende Funktion. So teilt sich die Zelle weiter.

UNIKATE: Hat die Arbeitsweise der positionellen Klonierung auch bei anderen, erblich mitbedingten Krebsformen Ergebnisse erbracht?

Horsthemke: Ja, zum Beispiel beim Dickdarmkrebs. Bei diesem Krebs weiß man inzwischen, das die entsprechenden Gene auf den Chromosomen 5, 17 und 18 liegen. Alle

diese Gene sind identifiziert worden mit der Methode der positionellen Klonierung. Die weitreichendsten Kenntnisse hat bislang jedoch die Forschung zum Retinoblastom-Gen erbracht, das allerdings genetisch ja auch das einfachste zu sein scheint. Zur Initiierung sind wie gesagt nur zwei Mutationen nötig, und Umweltfaktoren spielen kaum eine Rolle - im Gegensatz beispielsweise zum Lungenkrebs.

UNIKATE: Die Technik des positionellen Klonierens eröffnet also einen anderen Weg hin zur Klärung der Funktion eines Gens - oder besser: hin zum Funktionsdefekt. Ergeben sich von daher auch neue Therapie-Ansätze?

Horsthemke: Zumindest ergeben sich Hinweise auf therapeutische Möglichkeiten. Wenn man die Funktion nicht kennt, kann man auch keine Therapie entwickeln, die wirklich an den Ursachen ansetzt. Wenn man weiß, daß dieses Retinoblastom-Protein eine bestimmte Funktion im Zellzyklus ausübt, könnte man sich für die Therapie überlegen, ob man nicht ein anderes Protein dazu bringen kann, die gestörte Funktion mit zu übernehmen. Bei den Patienten mit der erblichen Form des Retinoblastoms ist dieses Protein ja auch in anderen Zellen gestört, deshalb sind sie anfällig für andere Tumoren. Aber trotzdem führt dies signifikant häufiger zur Entstehung eines Retinoblastoms als beispielsweise zu Lungenkrebs. Patienten, die eine Mutation im RB1-Gen haben, erkranken zu 90 Prozent an Retinoblastom, aber nur bei 10 Prozent entwickelt sich später auch noch ein Knochentumor. Es muß also in vielen anderen Zellen noch andere Proteine geben, die diese “bremsenden” Funktionen mit übernehmen. Eine Therapiemöglichkeit könnte sich vielleicht dadurch ergeben, ein solches Protein im Retinoblastom zu aktivieren, das dann möglicherweise die Funktion des gestörten Gens mitübernimmt.

UNIKATE: In Ihrer Darstellung der Funktionsweise des Retinoblastom-Gens ist es bereits angeklungen: Normalerweise *verhindert* dieses Gen die unkontrollierte Zellteilung. Dieser Eigenschaft verdankt es vermutlich die Bezeichnung Tumorsuppressor-Gen oder Anti-Onkogen?

Horsthemke: In den letzten fünf Jahren haben wir weltweit die Einsicht gewonnen, daß solche Gene eine genauso wichtige Rolle spielen, wie Onkogene - also Gene, die bei einer zumeist nur leicht veränderten DNS-Struktur krebserzeugend wirken. Historisch gesehen wurden zunächst dominant wirkende Onkogene bei einigen krebsauslösenden Virenarten entdeckt: Infiziert man beispielsweise ein Huhn mit einem Rous-Sarkom-Virus, dann bekommt es mit hundertprozentiger Sicherheit einen Tumor. Das Virus enthält ein Gen, das diesen Tumor - ein Sarkom - initiiert.

Wenn man dieses Gen entfernt, dann vermehrt sich der Virus zwar noch, aber er löst keinen Tumor mehr aus. Man konnte den auslösenden Mechanismus für die Tumorentstehung in diesem Fall also auf

“Wenn man die Funktion nicht kennt, kann man auch keine Therapie entwickeln, die wirklich an den Ursachen ansetzt.”

ein Gen eingrenzen, das dieser Virus mit sich nimmt, in der Regel sind es Abarten von zellulären Genen, die der jeweilige Organismus bereits besitzt.

Die Anti-Onkogene oder Tumorsuppressor-Gene dagegen machen sich erst durch ihren Verlust bemerkbar. Ihre Funktion besteht vermutlich darin, für den normalen Zellablauf zu sorgen, ihn zu regulieren und bestimmte Pro-

zesse - wie das “Ausrasten” der Zelle bei der Krebsentstehung - in Schach zu halten. Es gibt also Kontrollmechanismen, die die Zelle im Zellverband halten und sie daran hindern, sich einfach ungehindert zu teilen. Daran sind Proteine und letztlich diese Gene beteiligt.

Die positiven oder dominant wirkenden Onkogene sind dominant durch ihre Mutation, durch sie werden sie aktiviert. Hier reicht eine aktivierende Mutation, dann entsteht ein verändertes Protein, das die Krebsauslösung verursacht. Bei den Anti-Onkogenen dagegen wird die Krankheit ausgelöst, wenn diese Gene ihre normale Funktion, die sie in der Zellproliferation zur Differenzierungskontrolle ausüben, verlieren. Deswegen sind für die Entstehung des Retinoblastoms auch zwei Mutationen notwendig: Wenn in einer Zelle nur ein Retinoblastom Allel auf einem Chromosom 13 geschädigt ist, dann reicht die Restaktivität des anderen noch aus, die Zelle ganz normal weiterleben zu lassen. Erst wenn auch dieses durch eine weitere Mutation ausgeschaltet wurde, dann produziert die Zelle das entsprechende Protein nicht mehr und die ungehemmte Zellteilung beginnt.

UNIKATE: Sind inzwischen noch andere Tumorsuppressor-Gene identifiziert worden?

Horsthemke: Das Retinoblastom-Gen war das erste, daß isoliert wurde. Sehr viele der weiteren Forschungen stützen sich auf das RB1-Gen. Inzwischen sind noch weitere kloniert worden, beispielsweise das sogenannten Wilms-Tumors - ein Nierentumor - und ein Gen, das bei der Entstehung des Dickdarmkrebses eine Rolle spielt.

UNIKATE: Und wodurch verlieren diese Tumorsuppressor-Gene ihre krebshemmende Funktion?

Horsthemke: Bei der ersten Klasse von Mutationen, die wir untersucht haben, fehlt ein Stück des Gens

oder eine Base ist ausgetauscht - es sind also strukturelle Veränderungen des Gens. Diese liegen der erblichen Prädisposition zugrunde. Wir haben uns dann angesichts einiger nicht so eindeutiger Befunde gefragt, ob nicht noch andere Veränderungen des Gens bei der Tumorentstehung eine Rolle spielen könnten - Veränderungen, die das Gen einfach “abschalten”, obwohl es strukturell normal ist. Inzwischen vermuten wir, daß die Methylierung des Gens dabei eine Rolle spielt.

“Es könnte sein, daß die fehlende Methylierung am Genanfang etwas mit der Funktion des Gens zu tun hat.”

UNIKATE: Könnten Sie diese Hypothese etwas weitergehender erläutern?

Horsthemke: Die DNS besteht ja zunächst einmal aus Cytosin, Thymin, Adenin und Guanin. Am Cytosin-Rest hängen häufig Methylreste, damit entsteht eine Modifikation des Cytosins durch eine Methyl-, also eine CH₃-Gruppe. Bei der Säugetier-DNS und auch bei der menschlichen DNS ist eine solche Methylierung weit verbreitet. Allerdings ist der Anfang der Gene von der Methylierung gespart. Es könnte sein, daß diese fehlende Methylierung am Genanfang etwas mit der Funktion des Gens zu tun hat. Diese Überlegungen sind zur Zeit zwar noch hypothetisch, es gibt aber schon einige Hinweise darauf, daß am unmethylierten Anfang eines Gens Proteinfaktoren sitzen, die die Aktivität des Gens regulieren. Und wenn diese Faktoren dort sitzen, dann kommt vermutlich das Enzym, das normalerweise die Methylgruppe anhängt, nicht an die Stelle heran. Wenn diese Stelle allerdings durch

irgendwelche Umstände doch methyliert wird, dann können die normalen Proteinfaktoren hier eventuell nicht mehr binden und das Gen wird nicht mehr abgelesen. Dies könnte beim unilateralen Retinoblastom, dem keine erbliche Prädisposition zugrunde liegt, eine Rolle spielen. In ihrer Gänze konnten wir die Funktion allerdings noch nicht klären. Sollte unsere Hypothese zutreffen, dann könnte man versuchen Drogen zu finden, die die Methylierung am Anfang des Gens wieder aufheben. Falls das Gen also tatsächlich durch die Methylierung inaktiviert wird, dann sollte man es durch eine Wegnahme der Methylierung auch wieder aktivieren können. Ein aktives RB1-Gen könnte dann die weitere Tumorentwicklung bremsen.

UNIKATE: Womit sich auch neue Ansätze für eine Therapie andeuten würden?

Horsthemke: Soweit sind wir in Bezug auf diese Hypothese noch lange nicht. Womit wir in Essen allerdings bereits Erfolge vorweisen können, das ist die Integration der Gen-Analyse in die Diagnose. Dadurch wurde es möglich, im Rahmen der Vorsorge die Abschätzung des Erkrankungs-Risikos erblich zu verbessern. Auf diesem Gebiet konnten wir als erste klinische Einrichtung DNS-Diagnosen bei Risiko-Familien stellen - was auch wesentlich der außerwöhnlich guten Kooperation mit der Essener Augenklinik zu verdanken ist. Die Augenklinik hat für die Behandlung von Retinoblastom-Patienten schon seit Jahrzehnten überregionale Bedeutung.

UNIKATE: Durch welche Umstände hat sich gerade dieser medizinische Schwerpunktbereich in Essen etabliert?

Horsthemke: Durch die Entwicklung der Lichtkoagulation an der Essener Augenklinik durch Professor Gerd Meyer-Schwickerath.

Dabei handelt es sich um eine Behandlungsmethode, die ursprünglich zur Therapie der Netzhautablösung entwickelt wurde. Mit der Lichtkoagulation können aber auch Netzhauttumore unschädlich gemacht werden. Durch die Entwicklung dieser Therapie sind schon früh viele Patienten mit Retinoblastom nach Essen gekommen. Darauf aufbauend hat sich dann das Zusammenspiel von Augenklinik, Humangenetik, Strahlentherapie und Kinderklinik entwickelt, so daß wir heute für die Diagnose und Behandlung des Retinoblastoms optimale Voraussetzungen haben. Fast alle Retinoblastom-Patienten aus der Bundesrepublik werden inzwischen früher oder später in der Essener Augenklinik behandelt oder weiterversorgt.

UNIKATE: Könnten Sie abschließend kurz darstellen, wie die Zusammenarbeit mit der Augenklinik konkret aussieht?

Horsthemke: Wenn es uns gelingt, die entsprechende Mutation - direkt oder indirekt - nachzuweisen, können wir bei Risikofamilien, in denen schon einmal ein Elternteil erkrankt war oder die schon erkrankte Kinder haben, bei Neuge-

borenen anhand des Nabelschnurbluts nachprüfen, ob das Kind die Mutation geerbt hat oder nicht. Haben wir Mutationen feststellen können, dann wird das Kind in der Augenklinik alle zwei oder drei Wochen untersucht, um ein Ausbrechen der Krankheit möglichst früh zu erkennen. Oder wir sehen, daß das Kind die Mutation nicht geerbt hat. Aus Sicherheitsgründen wird Prof. Höpping in der Augenklinik das Kind trotzdem zur Zeit noch mehrmals anschauen, allerdings kann er aufgrund unseres Befunds dann die Untersuchungsabstände zwischen den einzelnen Augenspiegelungen erheblich vergrößern. Und wenn nach einer bestimmten Zeit nichts zu finden ist, kann er das Kind ganz aus der klinischen Kontrolle entlassen. Bevor wir involviert waren, hat man jedes Risikokind aus solchen Familien alle drei Monate augenspiegelt - was eine erhebliche Belastung ist, weil diese Untersuchung bei Kleinkindern unter Vollnarkose stattfinden muß. Das ist zuviel für die Kinder, die keinen Tumor zu erwarten haben, und zu wenig für jene, die tatsächlich an der Krankheit leiden.

Das Gespräch führte Norbert Weigend

