



Vielversprechende molekular gezielte Medikamente für eine Therapie, die für jeden individuellen Tumor maßgeschneidert ist, sind unter anderem für das Neuroblastom in der Entwicklung und werden uns hoffentlich bereits in wenigen Jahren am Krankenbett zur Verfügung stehen.

Fortschritte bei jungen KrebspatientInnen

Personalisierte Diagnostik
und Behandlung für krebskranke Kinder

Von Angelika Eggert

Krebs bei Kindern

Im Kindes- und Jugendalter sind Krebserkrankungen glücklicherweise selten. Dennoch ist Krebs die häufigste tödliche Krankheit bei Kindern und in westlichen Ländern nach den Unfällen die zweithäufigste kindliche Todesursache. In Deutschland sind jedes Jahr etwa 2.000 junge Patientinnen und Patienten bis zum 15. Lebensjahr neu davon betroffen. Die häufigsten Krebserkrankungen sind Leukämien mit 34 Prozent, gefolgt von Hirntumoren mit 23 Prozent und Lymphomen mit zwölf Prozent (Abb. 1). Relativ häufig sind auch das Neuroblastom (8 %) und das Nephroblastom (5 %). Das Reti-

noblastom ist mit vier Prozent der häufigste bösartige Augentumor.

Bezüglich der einzelnen Erkrankungsarten und ihrer Häufigkeit bestehen grundlegende Unterschiede zwischen Kindern und Erwachsenen. So sind Karzinome im Kindes- und Jugendalter außerordentlich selten (1 %), während sie bei Erwachsenen mehr als 90 Prozent der Neuerkrankungen ausmachen. Daher können wir aus Erkenntnissen der Erwachsenen-Onkologie oft nur wenig für die pädiatrische Onkologie lernen. Neue Medikamente, die für Karzinome des Erwachsenenalters entwickelt wurden, sind für die Therapie vieler kindlicher Krebserkrankungen

nicht optimal geeignet. Eine gezielte Krebsforschung für Kinder, die sich mit den besonderen Eigenschaften kindlicher Krebserkrankungen beschäftigt, ist daher unerlässlich.

Bis Ende der 1960er Jahre kam die Aussage „Ihr Kind hat Krebs“ einem Todesurteil gleich, denn die Überlebensraten lagen damals unter 20 Prozent. Dank der engen Zusammenarbeit von behandelnden Ärzten und Forschern im Rahmen vorbildlich strukturierter Behandlungsstudien gehört der Kampf gegen Krebs bei Kindern mittlerweile jedoch zu den großen Erfolgsgeschichten der Medizin. In den Industrienationen überleben heute 70 bis 80 Prozent aller Kinder und Jugendlichen mit

Krebserkrankungen und sind langfristig geheilt (Abb. 2). Entscheidend für diesen Erfolg war der Zusammenschluss von Kinderonkologen in zahlreichen nationalen und internationalen Fachgesellschaften, wie beispielsweise der Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH) oder der Internationalen Gesellschaft für Kinderonkologie (SIOP).

Europaweit werden mittlerweile in über 250 spezialisierten Behandlungszentren fast alle Kinder und Jugendliche mit bösartigen Erkrankungen im Rahmen von Studien behandelt, die der Therapieoptimierung dienen. Die weitere Verbesserung der Behandlungsergebnisse soll durch Diagnostik und Therapie nach dem besten Stand des Wissens und auf der Grundlage der Erkenntnis vorangegangener Studien erzielt werden. Es geht hierbei nicht um die Zulassung neuer Medikamente, wie es bei den Studien der Pharmaindustrie der Fall ist. Die Kinderonkologie ist ein Beispiel dafür, wie durch konsequente Erfassung aller Erkrankungen und einem einheitlichen, multizentrischen, evidenzbasierten Vorgehen Erfahrung in der Therapieoptimierung gewonnen werden und dadurch die Prognose verbessert werden kann.

Der Preis des Therapieerfolges ist jedoch noch immer sehr hoch: lebensbedrohliche Nebenwirkungen und gravierende Spätfolgen können mit der Behandlung einhergehen. Insbesondere die Spätfolgen nach Chemotherapie und Bestrahlung (Zweitmaligome, Schäden am Herzen, an den Nieren oder der Leber, Hormonstörungen, Hörverlust usw.) geben Anlass zur Sorge. Hinzu kommt, dass die Möglichkeiten der klassischen Drei-Säulen Therapie (Chirurgie, Chemotherapie und Strahlentherapie) ausgeschöpft zu sein scheinen, da die Heilungsraten bei den meisten kindlichen Krebserkrankungen trotz Intensivierung der Therapie stagnieren.

In den letzten Jahren ist das Wissen über die molekularen

Ursachen von Krebserkrankungen sprunghaft gestiegen. Diese neuen Erkenntnisse ebnet den Weg für präzise Diagnosen und individuelle, für jeden Patienten maßgeschneiderte Behandlungsansätze. Um alle krebserkrankten Kinder heilen zu können, ist die gezielte Forschung auf dem Gebiet der pädiatrischen molekularen Onkologie als Grundlage personalisierter Diagnostik- und Behandlungskonzepte zwingend notwendig.

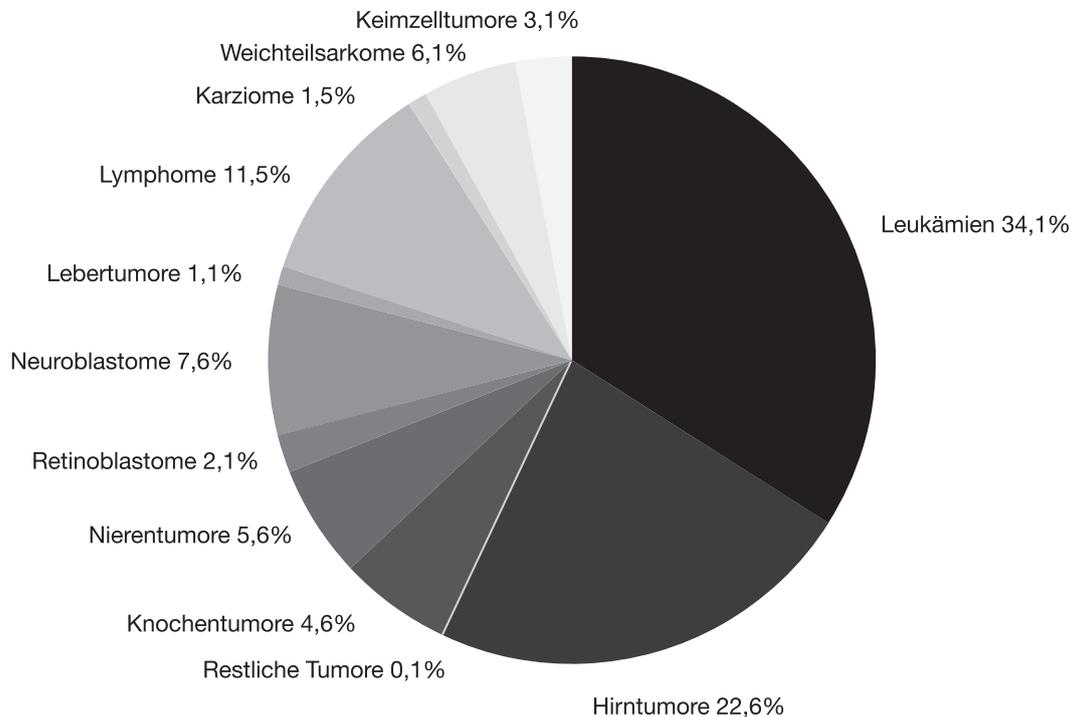
Was ist molekulare Onkologie?

Nach Jahrzehnten der intensiven Krebsforschung hat sich gezeigt, dass sich unter dem Sammelbegriff „Krebs“ eine Vielzahl ganz unterschiedlicher Erkrankungen verbergen, die alle nach anderen, eigenen Gesetzmäßigkeiten funktionieren. Selbst bei gleichem Tumortyp, gleichem Ursprungsgewebe und gleichem Aussehen in der feingeweblichen Untersuchung können sich Krebszellen von Patient zu Patient vollkommen unterschiedlich verhalten. Wie ist das zu erklären? Die Antwort liegt in den so genannten molekularen Strukturen und Signalwegen der Krebszelle. Das Aussehen und die Funktion einer Krebszelle werden durch ihr genetisches Programm, die DNA und ihre Funktionselemente – die RNA-Moleküle und die Proteine – bestimmt. Krebszellen unterscheiden sich in vielen Aspekten von normalen Zellen:

- sie wachsen unkontrolliert
- sie können eine unbegrenzte Anzahl von Zellteilungen durchführen
- sie sind unempfindlich gegenüber wachstumshemmenden Signalen
- sie sind unempfindlich gegenüber dem programmierten Zelltod
- sie wachsen invasiv in das umliegende Gewebe
- sie stellen Faktoren her, die die Gefäßneubildung (Angiogenese) anregen
- sie werden beweglich und gelangen über das Blut- oder Lymphsystem in andere Organe, um dort Metastasen (Absiedlungen) zu bilden.

Wenn wir diese Eigenschaften verstehen wollen, lernen, wie Krebs entsteht, sich ausbreitet und bekämpft werden kann, so müssen wir unseren Blick in das Innere der Krebszelle richten und uns mit den einzelnen Bausteinen – den Molekülen – und ihren Wechselwirkungen beschäftigen. Herauszufinden, welche Moleküle in der Krebszelle einen bedeutenden Defekt aufweisen und sich als Zielstruktur für die Entwicklung neuer Medikamente eignen, ist eine große Herausforderung, da es in einer Zelle zigtausend Mitspieler im zellulären Geschehen gibt. Immer wichtiger werden daher technologische Hochdurchsatzverfahren für die Analyse molekularer Eigenschaften sowie computergestützte, bioinformatische Verfahren, durch die eine schnelle und möglichst umfassende Betrachtung der molekularen Mechanismen von Krebszellen ermöglicht wird. Die aus den so gewonnenen Daten abgeleiteten Hypothesen werden dann in verschiedenen Modellen auf Zellebene sowie im tierexperimentellen Ansatz auf ihre Funktionalität hin untersucht. Nur so können wir der Vielfalt der Krebserkrankungen gerecht werden und in Zukunft hochwirksame Behandlungsstrategien entwickeln, die gezielt auf die molekularen, krebsauslösenden Mechanismen gerichtet sind.

Die Entstehung und Ausbreitung von Tumoren wird vor allem durch Veränderungen in Tumorgenen vorangetrieben. Wenn ein mutiertes (= verändertes) Gen das Tumorgeschehen aktiv beeinflusst, handelt es sich um ein so genanntes Onkogen. Ein Gen, das durch Funktionsverlust Tumorwachstum fördert, wird als Tumorsuppressor bezeichnet. Manche Tumorgene sind bereits in der Keimbahn verändert, andere nur im Tumorgewebe. Die große Mehrzahl der Tumorgene kodiert Proteine – die Tumorproteine. Manche Tumorgene kodieren auch RNA Moleküle (Micro-RNAs), die die Stabilität von mRNAs und ihre Regulation beein-



Häufigkeit kindlicher Krebserkrankungen.

flussen. Durch den Einsatz moderner Technologien, die heute eine parallele Untersuchung der Aktivität aller Gene eines Gewebes erlauben, konnten wir fehlregulierte Komponenten eines Signalwegs in Tumoren identifizieren und die Funktion entsprechender Gene charakterisieren. Klinische Bedeutung erfährt die Erforschung eines Signalwegs durch das Vorhandensein spezifischer Inhibitoren (Hemmstoffe), die auf verschiedenen Stufen der Signalkaskade wirken und vielversprechende neue Medikamente darstellen können.

In den letzten Jahren hat sich die Erkenntnis durchgesetzt, dass nicht nur die reine Abfolge von Basen im Genom ausschlaggebend für die Aktivität eines Gens oder die Ausprägung eines Zelltyps ist, sondern dass auch Modifikationen (Veränderungen) der DNA und ihrer Verpackungsproteine diese Prozesse steuern (= Epigenetik). Epigenetische Veränderungen in Form von DNA-Methylierungen und Histon-Methylierungen sind derzeit stark

beforschte Mechanismen, die mit der Entstehung und Ausbreitung von Krebserkrankungen in Verbindung gebracht werden.

Was ist personalisierte Medizin?

Bereits seit einiger Zeit haben Onkologen die Vision einer individualisierten Diagnostik und Therapie, auch als „personalisierte Medizin“ bekannt. Personalisierte Medizin bedeutet kurz: die richtige Therapie für den richtigen Patienten zur richtigen Zeit. Voraussetzung dafür sind präzise und molekularbasierte diagnostische Möglichkeiten, die eine gezielte statt einer breit gestreuten Therapie ermöglichen. Hierunter versteht man beispielsweise eine Biomarker-gestützte Diagnostik, die hilft herauszufinden, ob ein Patient von einer bestimmten Therapie profitieren wird. Solche Marker befinden sich etwa auf der Ebene des Genoms und der Eiweißmoleküle, der Proteine. Moderne Therapeutika in der personalisierten Therapie richten sich auf die im Pati-

ententumor tatsächlich vorliegenden molekularen Zielstrukturen. Zusätzlich wird die Medikamentenauswahl und -dosierung an die individuelle Stoffwechsellistung des einzelnen Patienten optimal angepasst. Durch die individualisierte Therapie können den Patienten wirksamere und sicherere Therapieoptionen angeboten werden. Diese Entwicklung in der Therapie zeichnet sich klar ab: Immer stärker zielen Strategien darauf ab, Arzneien nur bei jenen Patienten anzuwenden, die voraussichtlich am meisten davon profitieren und die wenigsten Nebenwirkungen haben werden. Die Ära der personalisierten Therapie eingeläutet haben die Medikamente Trastuzumab Ende der 1990er Jahre für Frauen mit HER2-positivem Brustkrebs und Imatinib zur Behandlung von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) 2001. Imatinib ist ein kleines Molekül und ein Tyrosinkinase-Hemmer. Zugelassen ist es für CML-Patienten, bei denen ein Test auf das Gen BCR-ABL positiv ist.

Die personalisierte Medizin benötigt auch neue Datenbanklösungen. Im EU-Projekt „p-medicine“ bauen derzeit 20 Institutionen aus elf Ländern eine hochkomplexe IT-Infrastruktur für eine personalisierte Medizin auf. Dabei sollen patientenbezogene klinische Daten, bildgebende Daten aus der Radiologie, Labor- und molekulargenetische Daten eines Tumorpatienten IT-gestützt so zusammengeführt werden, dass unter Berücksichtigung aller Aspekte des Datenschutzes und der Datensicherheit personenbezogene Risikofaktoren ermittelt werden können. Ziel ist es außerdem, die Krankheitsdaten eines Patienten mit den molekulargenetischen Daten seines Tumors und weiterer Forschungsdaten zu dem speziellen Tumor direkt zu verzahnen und auszuwerten.

Forschungsprojekte zur Verbesserung der personalisierten Diagnostik und Therapie kindlicher Krebserkrankungen am Universitätsklinikum Essen

Die Forschergruppe *Pädiatrisch Onkologische Forschung* der UDE besteht aus zwei Arbeitsgruppen (geleitet von Prof. Dr. med. Johannes Schulte und PD Dr. rer. nat. Alexander Schramm) und widmet sich der anwendungsorientierten Grundlagenforschung, die klinische Beobachtungen am Krankenbett in molekulare Muster und molekulare Muster wiederum in diagnostische Instrumente und neue Behandlungsmöglichkeiten übersetzen helfen soll. Unser Forschungsportfolio enthält Studien zu Tumorerkrankungen des Kindesalters, die aufgrund ihrer Häufigkeit und unzureichender Behandlungsansätze eine große Bedeutung im klinischen Alltag eines Kinderkrebszentrums besitzen. Dieses sind vor allem embryonale Tumorerkrankungen, die ihren Ursprung in Vorläuferzellen des Nervensystems haben, so genannte *neuroektodermale Tumoren*: das *Neuroblastom*, das *Retinoblastom*

und das *Medulloblastom*. Sie betreffen vorwiegend Kinder im Säuglings- und Kleinkindalter.

Unsere Strategie besteht aus einer Kombination der Anwendung von Hochdurchsatztechnologien mit offenen Fragestellungen einerseits und zielgerichteten, hypothesengestützten Forschungsansätzen andererseits. Wir haben seit einigen Jahren gelernt, unsere Sicht nicht auf einzelne Gene oder Moleküle entlang eines definierten Signalwegs einzuengen, sondern größere Funktionszusammenhänge zu begreifen. Hierbei helfen uns auch bioinformatische und systembiologische Ansätze. Dabei behalten wir stets die Bedürfnisse unserer jungen Patienten im Blick. Beobachtungen am Krankenbett helfen uns, die richtigen wissenschaftlichen Fragen zu stellen. In innovativen Forschungsansätzen suchen wir nach den Antworten und schlagen dann eine enge Brücke von der Laborbank zurück in die Klinik, um auf der Basis neuer molekularer Erkenntnisse die Diagnostik und Therapie von morgen mitzugestalten. Kennzeichnend für die fächerübergreifende Ausrichtung unserer Projekte ist dabei eine intensive Zusammenarbeit mit Kollegen naturwissenschaftlicher und medizinischer Forschungseinrichtungen innerhalb der Universität Duisburg-Essen, aber auch auf nationaler und internationaler Ebene. Um höchste Qualitätsstandards bei den Untersuchungen zu gewährleisten und Forschungsergebnisse in die Praxis umsetzen zu können, sind internationale Kooperationen für uns unerlässlich.

Was sind die Besonderheiten kindlicher embryonaler Tumoren?

Viele Tumoren des Kindesalters sind durch die Ähnlichkeit der bösartigen Zellen mit ihren embryonalen Vorläuferzellen definiert und zeigen ein den Ursprungszellen der entsprechenden Organe ähnliches Muster der Aktivität verschiedener Gene. Das charakteristisch frühe

Entstehen embryonaler Tumoren im Säuglings- und Kleinkindesalter lässt vermuten, dass vergleichsweise wenig genetische Schritte bis zur Ausbildung bösartiger Eigenschaften notwendig sind. Diese Hypothese wird auch von der Tatsache gestützt, dass es häufig aus bislang noch ungeklärten Gründen zur spontanen Rückbildung oder zur Ausreifung des Tumors kommt. Neuere Erkenntnisse weisen darauf hin, dass eine Fehlregulierung von Signalübertragungswegen, die bei der Entwicklung des Kindes im Mutterleib eine wichtige Rolle spielen, zur Entstehung embryonaler Tumorerkrankungen im Kindesalter führen kann. Dabei kommt es oftmals zur Aktivierung von Signalmolekülen, die das Überleben von Krebszellen dauerhaft fördern beziehungsweise den programmierten Zelltod (Apoptose) dieser Zellen verhindern. Dies könnte bedeuten, dass die Entstehung von Tumoren des Kindesalters auf ein überschießendes embryonales Programm zurückzuführen ist, das normalerweise im fertig entwickelten Menschen ausgeschaltet sein sollte, jedoch durch genetische und/oder epigenetische Veränderungen dauerhaft aktiviert ist.

Forschungsschwerpunkt Neuroblastom

Das Neuroblastom ist mit acht Prozent der kindlichen Krebserkrankungen der häufigste bösartige Tumor bei Kindern. In Deutschland erkranken jährlich etwa 150 Kinder neu an einem Neuroblastom. Fast 90 Prozent der Patienten sind jünger als fünf Jahre. Am häufigsten betroffen sind Säuglinge vor dem ersten Lebensjahr (etwa 40 %). Neuroblastome entstehen aus entarteten unreifen Zellen des Nervensystems. Sie kommen am häufigsten im Nebennierenmark und im Bereich der Nervengeflechte beidseits der Wirbelsäule (Grenzstrang) im Bauch, in der Brust oder im Halsbereich vor. Die Tumorzellen produzieren Botenstoffe des Nervensystems

(Katecholamine) und andere Substanzen, deren Abbauprodukte im Urin ausgeschieden werden und als Tumormarker benutzt werden können.

Die Erkrankung weist sehr unterschiedliche Verläufe auf. Eine Besonderheit der Neuroblastome ist, dass sie sich spontan zurückbilden können. Das gilt insbesondere für Tumore, die im frühen Säuglingsalter auftreten und dem Tumorstadium 4s zugeordnet werden. Diese Patienten können durchaus ausgedehnte Metastasen (Absiedlungen) vor allem der Leber aufweisen, die rasch wachsen und durch die Verdrängung von Bauchorganen und der Lunge ein lebensbedrohliches Ausmaß erreichen. Diese Metastasen und auch der eigentliche Tumor bilden sich dann aber häufig spontan oder nach einer mild dosierten Chemotherapie zurück.

Besonders bei älteren Kindern wachsen Neuroblastome allerdings oft sehr aggressiv und verbreiten sich schnell über das Blut- oder das Lymphsystem im ganzen Körper. Es kommt zu schwer behandelbaren Metastasen, vorwiegend in Knochenmark und Knochen, in der Leber, der Haut und in entfernten Lymphknoten (Tumorstadium 4). Diese aggressive Form der Erkrankung führt auch heute noch trotz intensiver Behandlung häufig zum Tod der Patienten.

Zum Zeitpunkt der Diagnose gelingt die Unterscheidung dieser beiden gegensätzlichen Verlaufsformen bis heute nur unvollkommen. Die frühzeitige Bestimmung des zu erwartenden Krankheitsverlaufs ist für die Auswahl einer passenden Therapie jedoch eine wichtige Voraussetzung. Für die Art der Therapie und die Überlebenschancen sind vor allem die Ausbreitung des Tumors (das Stadium), das Alter des Kindes und zunehmend auch molekulargenetische Eigenschaften des Tumors wichtig.

Die Behandlung des Neuroblastoms besteht aus einer Kombination aus Chemotherapie, Operation und

manchmal auch Bestrahlung. Für die Abschätzung der Heilungsaussichten spielen sowohl das Ausmaß der Erkrankung als auch die Aggressivität des Tumors und das Alter des Patienten eine Rolle. Eine sehr gute Prognose besteht bei Kindern mit Stadium 4s sowie bei begrenzten Tumoren und bei jüngeren Kindern. Bei älteren Kindern mit metastasiertem Neuroblastom (Stadium 4) sind die Heilungsaussichten trotz intensiver Therapie noch immer ausgesprochen ungünstig. Die Behandlung des Neuroblastoms sollte in einem onkologischen Zentrum im Rahmen kontrollierter Studien erfolgen und reicht von Beobachtung ohne Chemotherapie bis zur Maximaltherapie mit autologer Stammzelltransplantation.

Einsatz genomweiter Untersuchungsverfahren

In den letzten Jahren stehen der molekularen Medizin moderne Hochdurchsatzverfahren aus den Gebieten der Genomik, Transkriptomik, Epigenomik und Proteomik zur Verfügung, mit deren Hilfe wir uns sehr effizient ein umfassendes Bild der komplexen Mechanismen der Krebsentstehung und des Fortschreitens der Erkrankung in einer Tumorart machen können. Ein Forschungsschwerpunkt unseres Labors sind daher diese molekularen Hochdurchsatzanalysen.

Die individuelle Anpassung der Therapie an die Aggressivität des jeweiligen Tumors des Patienten stützt sich heute größtenteils auf den Nachweis genomischer Veränderungen in den Tumorzellen. Diese liefern nicht nur Informationen über die Diagnose, sondern auch über die Prognose des Patienten. Effiziente neue Technologien ermöglichen die gleichzeitige Untersuchung zehntausender Gene in einer kleinen Tumorprobe in einem einzigen Experiment mit Hilfe so genannter Bio-Chips (Abb. 3) oder mit Hilfe genomweiter Sequenzierungen der

DNA. Mithilfe dieser Tumorgenomanalysen, die in unserem Labor durchgeführt werden, erhält der behandelnde Arzt eine Entscheidungsgrundlage für die optimale Therapieplanung. Wir verwenden hierbei verschiedene technische Plattformen zur Analyse des Genoms, des Transkriptoms und des Proteoms, kombiniert mit einer bioinformatischen Systemanalyse zur Identifikation zentraler Faktoren und Mechanismen der Tumorentstehung und -ausbreitung.

Ein erstes, größtenteils bereits erreichtes Ziel dieser Untersuchungen war die Verbesserung der Prognose-Einschätzung bei Neuroblastompatienten zum Zeitpunkt der Diagnose, um eine gezielte Anpassung der Therapieintensität an die Aggressivität des individuellen Tumors zu ermöglichen. Durch die Untersuchung eines umfangreichen Tumorkollektivs mit Hilfe der GenChips ist es gelungen, eine genetische Signatur („Fingerabdruck“) zu identifizieren, die die Einschätzung des Rückfallrisikos bei einem Neuroblastom deutlich verbessert: Im Rahmen eines von unserer Arbeitsgruppe koordinierten Neuroblastom-Forschungsverbands im Nationalen Genomforschungsnetz wurde in Zusammenarbeit mit Kinderonkologen der Universitätsklinik Köln und mit dem Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg ein genetischer Test, der „Neuroblastom-Genchip“ entwickelt, der den bislang bekannten Prognosefaktoren an Genauigkeit deutlich überlegen ist und eine genauere Aussage über den Krankheitsverlauf und die Heilungsaussicht der Patienten erlaubt.

Die neuen Methoden des „Next Generation Sequencing“, die wir ebenfalls bereits anwenden, erlauben in Zukunft eine noch feinere und detailliertere Darstellung der genetischen Auffälligkeiten eines Tumors. Unter Nutzung dieser neuen molekularen Diagnostik-Instrumente soll dem behandelnden Arzt geholfen werden, für jedes

erkrankte Kind eine auf die individuellen Bedürfnisse zugeschnittene Therapie einzuleiten.

Ein weiteres wichtiges Ziel dieser Untersuchungen ist zudem die Identifikation therapeutisch angreifbarer Zielstrukturen auf der Oberfläche von Tumorzellen. Die im Rahmen von Hochdurchsatzanalysen an Tumormaterial oder Blutproben gewonnenen Erkenntnisse über wichtige Gene und Proteine der Krebsentstehung werden hierbei in Zellkulturmodellen und ggf. auch in etablierten oder selbst entwickelten Mausmodellen einer weiteren Überprüfung unterzogen. So kann schrittweise die biologische Bedeutung zahlreicher vielversprechender Moleküle für die Krebszelle verstanden werden. Dieses Verständnis ist die Grundlage für die Entwicklung innovativer, zielgerichteter Medikamente. Denn hierfür kommen nur die allerwichtigsten Zielmoleküle infrage, von denen das Leben der Krebszelle direkt abhängt.

Neue Therapiezielstrukturen des Neuroblastoms

Es ist uns in den vergangenen Jahren gelungen, nicht nur wichtige Zielstrukturen zu identifizieren, sondern ihre biologische Bedeutung in den genannten Zellkultur- und Mausmodellen bereits zu überprüfen. Einige dieser Moleküle werden in den folgenden Textabschnitten näher vorgestellt. Bei weiterhin vielversprechenden Ergebnissen erhoffen wir uns die Weiterentwicklung dieser innovativen biologischen Therapieziele zu neuen Medikamenten.

Einige Projekte unserer Forschergruppe konzentrieren sich auf Untersuchungen zu den biologischen Merkmalen aggressiver Neuroblastome im Vergleich zu Neuroblastomen mit günstigen biologischen Eigenschaften und guter Prognose. Als Modellsystem boten sich hierbei die Neurotrophin-Rezeptoren TrkA und TrkB an: der TrkA-Rezeptor ist ein wichtiger prognostischer Marker des Neuroblastoms, der mit einer

besonders günstigen Prognose der Erkrankung einhergeht. Eine hohe Expression (Ausprägung) von TrkA auf der Oberfläche von Neuroblastomzellen führt zu einem verlangsamten Wachstum der Tumorzellen, einer Hemmung der für das Tumorstromwachstum erforderlichen Gefäßneubildung (Angiogenese), einer erhöhten Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Chemotherapie sowie zur Ausreifung der Zellen (Differenzierung). Im Gegensatz dazu ist die Anhäufung von TrkB typisch für aggressive Tumoren mit schnellem Wachstum, erhöhter Therapieresistenz und der Neigung zu Metastasierung.

Ein von uns etabliertes Zellkulturmodell einer menschlichen Neuroblastomzelllinie mit stabiler TrkA- oder TrkB-Expression zeigte sich als gut geeignet für Untersuchungen zu den biologischen Unterschieden von Neuroblastomzellen unterschiedlicher Aggressivität. In diesem SY5Y-Zellkulturmodell untersuchten wir die von TrkA beeinflussten Signalwege und ihre einzelnen „Spieler“ im Detail. In jüngster Zeit konzentrieren wir uns auf den Einfluss der unmittelbaren Tumorgewebeumwelt auf das regulatorische Netzwerk von TrkA sowie den Einfluss der Trk-Rezeptoren auf die genomische Stabilität.

Wir konnten bereits zeigen, dass die Expression des Moleküls Galectin-1 mit der hohen Ausprägung von TrkB und damit verbundenem aggressivem Wachstum von Neuroblastomzellen zusammenhängt. Erste Daten aus Tumormodellen in abwehrgeschwächten Mäusen zeigen, dass die Blockade von Galectin-1 das Tumorstromwachstum hemmt. Unter Verwendung eines Neuroblastom-Mausmodells sowie eines Mausstamms, in dem Galectin-1 gentechnisch ausgeschaltet wurde, untersuchen wir nun die Bedeutung von Galectin-1 für die Tumor-Wirt-Interaktion beim Neuroblastom. Ziel des Projekts ist die Aufklärung der Bedeutung von Galectin-1 für die Tumor-Wirt-Wechselwirkung und

den „Tumor-Immune-Escape“ beim Neuroblastom. Da sich eine erhöhte Expression von Galectin-1 bei vielen Tumorentitäten findet, sollen durch diese Arbeiten langfristig die Grundlagen für eine Galectin-1 gerichtete Tumor-Therapie gelegt werden.

Es gibt zunehmend Hinweise, die eine wichtige Bedeutung epigenetischer Mechanismen bei der Tumorentstehung aufzeigen. Die erst vor kurzem identifizierte Enzymklasse der Histon-Demethylasen reguliert durch epigenetische Mechanismen die Aktivität von Genen. Wir konnten bereits im Neuroblastom zeigen, dass die *Histon-Demethylase LSD1* in großen Mengen produziert wird. Eine Hemmung von LSD1 führte interessanterweise zu einer Verminderung des Wachstums von Neuroblastomzellen in der Zellkultur und im Mausmodell. Eine Funktion von LSD1 wurde mittlerweile auch in anderen Tumorarten und bei der Ausreifung von Blutstammzellen beschrieben. Wir möchten die Grundlagen für eine neuartige Therapie des Neuroblastoms und anderer bösartiger Erkrankungen legen, die auf der Hemmung von LSD1 und anderer Demethylasen basiert. Dazu untersuchen wir den Effekt der Hemmung verschiedener Demethylasen mit genetischen (siRNA) oder chemischen Stoffen (niedermolekulare Inhibitoren). Um die Behandlungssituation zu simulieren, haben wir ein Mausmodell entwickelt, das die genetische Hemmung von LSD1 nach Zugabe eines Stoffes (Tetrazyklin) in das Trinkwasser der Tiere erlaubt. Dieses Mausmodell werden wir mit Tumormodellen kombinieren, um so eine LSD1-gerichtete Therapie zu simulieren. Die so generierten Daten stellen einen wichtigen Schritt für den späteren Einsatz einer Demethylase-gerichteten Therapie von Neuroblastom-Patienten dar.

Weitere interessante Schlüsselstrukturen bei jeder Krebsart sind so genannte MicroRNAs (miRNAs) – kleine regulatorische RNA-Moleküle. Durch Wechselwirkung mit ihren Zielstrukturen können sie

in die Proteinbiosynthese eingreifen und so die Aktivität von Genen regulieren. Sie sind an der Regulation normaler Körperprozesse ebenso ursächlich beteiligt wie an der Entstehung vieler Krankheiten, einschließlich der Krebserkrankungen. In Tumoren können verschiedene miRNAs sowohl wachstumshemmende als auch aktivierende (onkogene) Funktion haben.

Wir untersuchen die Rolle ausgewählter miRNAs bei der Entstehung des Neuroblastoms sowie die Eignung von miRNAs als therapeutischen Angriffspunkten. Wir haben bereits miRNAs identifiziert, die im Neuroblastom im Vergleich zu Normalgewebe unterschiedlich reguliert sind, und untersuchen nun die Bedeutung dieser miRNAs für die Tumorentstehung in der Zellkultur und in transgenen Mausmodellen. Hierzu wurden gentechnisch veränderte Mäuse mit fehlender oder erhöhter Ausprägung der wichtigen micro-RNAs miRNA-221/222 und miR-34a hergestellt. Für die miRNA34a konnten wir nach Kreuzung der Mäuse mit einem etablierten Medulloblastom-Mausmodell bereits zeigen, dass diese miRNA einen sichtbaren Beitrag zur Tumorentstehung liefert.

Um die Entstehung des Neuroblastoms im Modellsystem zu untersuchen, arbeiten wir mit verschiedenen genetisch veränderten Mauslinien, die teilweise im eigenen Labor entwickelt werden. Auf diese Weise ist es uns gelungen, erstmalig die krebsauslösende Wirkung zweier Gene – der anaplastischen Lymphomkinase (ALK) und des Gens *LIN28B* in einem lebenden Organismus zu beweisen: Nach Manipulation dieser Gene entwickelten die betroffenen Mäuse interessanterweise spontan Neuroblastome.

Aktivierende Mutationen im ALK-Gen finden sich in etwa zehn Prozent aller Neuroblastome. Da ALK ebenfalls in einer Subgruppe von Lungenkarzinomen aktiviert ist, werden zur Zeit von mehreren Pharmafirmen ALK-Inhibitoren

entwickelt, die sich in ersten Studien bereits als sehr wirksam erwiesen haben. Da der Einsatz von ALK-Inhibitoren auch einen vielversprechenden neuen Behandlungsansatz für Neuroblastompatienten darstellt, deren Tumoren aktivierende ALK-Mutationen aufweisen, wird dieses Behandlungskonzept bald im Rahmen einer klinischen Studie in Essen und weiteren internationalen Tumorzentren geprüft.

Lin28b bindet bestimmte microRNAs und unterdrückt so deren Wirkung. Schon seit längerem wird eine tumorauslösende Wirkung von *Lin28b* diskutiert. Um die Bedeutung von *Lin28b* im Gesamtorganismus zu untersuchen, baute unsere Forschergruppe um Professor Johannes Schulte eine Extrakopie des *Lin28b* Gens in ein Mausgenom ein und aktivierte dieses Gen in der Neuralleiste, dem vermuteten Ursprungsgewebe der Neuroblastome. Tatsächlich entwickelten diese Mäuse aggressive Tumore dieses Typs. Wurden sie jedoch mit einer bestimmten Substanz behandelt (JQ1), die gerade präklinisch entwickelt wird, führte dies zum programmierten Zelltod und Teilungsstopp der Tumorzellen. Geplant ist nun, neue Substanzen zu entwickeln, die *Lin28b* hemmen können.

Ausblick

Es ist absehbar, dass molekulare Hochdurchsatzverfahren zur Analyse des Genoms, Transkriptom und Epigenoms in naher Zukunft in der Routinediagnostik krebserkrankter Kinder und Erwachsener eingesetzt werden können. Die „Diagnose und Therapieempfehlung aus dem Computer“ und die Erfahrung des Arztes werden sich dabei im Idealfall ergänzen und schrittweise auf das Ziel der personalisierten Krebsmedizin, den richtigen Patienten zur richtigen Zeit mit dem richtigen Medikament zu behandeln, hinarbeiten. Vielversprechende molekular gezielte Medikamente für eine Therapie,

die für jeden individuellen Tumor maßgeschneidert ist, sind auch für das Neuroblastom bereits in der Entwicklung und werden uns hoffentlich bereits in wenigen Jahren am Krankenbett zur Verfügung stehen.

Summary

Treating children with cancer is different from treating adults. Today, most children with cancer are treated at specialized centers designed for children. During the past 25 years, interdisciplinary work and clinical trials performed in these centers have contributed to the significant improvements in the survival rates for childhood cancers, meanwhile allowing an excellent cure rate of ~80%. Although childhood cancers usually respond well to chemotherapy, long-term side effects are frequent and some tumor types demonstrate a high frequency of chemoresistant tumor cells resulting in relapse of the disease. Therefore, pediatric cancer chemotherapy is in evolution from non-specific cytotoxic drugs to more specific targeted agents within so-called “personalized medicine” approaches. Targeted agents are directed at unique molecular features of cancer cells, and aim towards greater effectiveness with less general toxicity. The development of high-throughput technologies able to comprehensively assess DNA, RNA and proteins in patient tumors has fueled efforts to tailor medical care for patients with many types of cancers. In this paper, representative examples for personalized medicine approaches in the devastating childhood tumor neuroblastoma are presented. Molecular profiling of neuroblastomas has provided us with a wealth of data for optimized risk stratification and potential targets for novel therapies. The masses of data generated by high-throughput technologies are challenging to manage and convert to the know-

ledge required to improve patient outcomes. A cross-disciplinary bioinformatics and systems biology effort will be necessary to convert the information into useful biomarkers that can classify patient tumors by prognosis and identify the drivers of tumor behavior that are optimal targets for therapy. The major tasks in the next few years will be to harmonize the existing biological datasets and functional experimental data, validate results in sophisticated cell culture and mouse models, and, finally, define algorithms for molecular target prioritization to support individualized therapy choices guided by biology.

Literatur

- Molenaar JJ, Domingo-Fernández R, Ebus ME, Lindner S, Koster J, Drabek K, Mestdagh P, van Sluis P, Valentijn LJ, van Nes J, Broekmans M, Haneveld F, Volckmann R, Bray I, Heukamp L, Sprüssel A, Thor T, Kieckbusch K, Klein-Hitpass L, Fischer M, Vandesompele J, Schramm A, van Noesel MM, Varesio L, Speleman F, Eggert A, Stallings RL, Caron HN, Versteeg R, Schulte JH. *LIN28B* induces neuroblastoma and enhances MYCN levels via let-7 suppression. *Nat Genet.* 2012; 44:1199–206.
- Heukamp LC, Thor T, Schramm A, De Preter K, Kumps C, De Wilde B, Odersky A, Peifer M, Lindner S, Spruessel A, Pattyn F, Mestdagh P, Menten B, Kuhfittig-Kulle S, Künkele A, König K, Meder L, Chatterjee S, Ullrich RT, Schulte S, Vandesompele J, Speleman F, Büttner R, Eggert A, Schulte JH. Targeted expression of mutated ALK induces neuroblastoma in transgenic mice. *Science Translat Med* 2012, 4:141ra91.
- Schulte JH, Lindner S, Bohrer A, Maurer J, De Preter K, Lefever S, Heukamp L, Schulte S, Molenaar J, Versteeg R, Thor T, Künkele A, Vandesompele J, Speleman F, Schorle H, Eggert A, Schramm A. MYCN and ALKF1174L are sufficient to drive neuroblastoma development from neural crest progenitor cells. *Oncogene* 2012 Apr 9.
- Schulte JH, Bachmann HS, Brockmeyer B, Depreter K, Oberthür A, Ackermann S, Kahlert Y, Pajtler K, Theissen J, Westermann F, Vandesompele J, Speleman F, Berthold F, Eggert A, Brors B, Hero B, Schramm A, Fischer M. High ALK Receptor Tyrosine Kinase Expression Supersedes ALK Mutation as a Determining Factor of an Unfavorable Phenotype in Primary Neuroblastoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17:5082–5092.
- Eggert A, Schulte JH. A small kiss of death for cancer. *Nature Med.* 2010;16:1079–81.
- Schulte JH, Marschall T, Martin M, Rosenstiel P, Mestdagh P, Schlierf S, Thor T, Vandesompele J, Eggert A, Schreiber S, Rahmann S, Schramm A. Deep sequencing reveals differential expression of microRNAs in favorable versus unfavorable neuroblastoma. *Nucleic Acids Res.* 2010; 38:5919–28.
- Cimmino F, Schulte JH, Zollo M, Koster J, Versteeg R, Iolascon A, Eggert A, Schramm A. Galectin-1 is a major effector of TrkB-mediated neuroblastoma aggressiveness. *Oncogene* 2009;28:2015–23.
- Schulte JH, Lim S, Schramm A, Friedrichs N, Koster J, Versteeg R, Ora I, Pajtler K, Klein-Hitpass L, Kuhfittig-Kulle S, Metzger E, Schüle R, Eggert A, Büttner R, Kirfel J. Lysine-Specific Demethylase 1 Is Strongly Expressed in Poorly Differentiated Neuroblastoma: Implications for Therapy. *Cancer Res.* 2009; 69:2065–71.

Die Autorin

Angelika Eggert studierte von 1986 bis 1993 an der damaligen Universität Essen Humanmedizin, promovierte 1995 am Institut für Molekularbiologie der UDE und absolvierte ihre Facharztausbildung von 1993 bis 1997 und 2000 bis 2002 am Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikum Essen. Zwischenzeitlich (1997–2000) widmete sie sich im Rahmen eines dreijährigen Forschungsaufenthaltes im Labor von Prof. G. Brodeur, Children's Hospital Philadelphia, USA, ersten molekulargenetischen und -genetischen Studien des Neuroblastoms. Neben ihrer fachärztlichen und oberärztlichen Tätigkeit baute Angelika Eggert von 2000 bis 2004 ein eigenes Forschungslabor an der Universitätskinderklinik Essen auf und habilitierte sich 2004 mit dem Thema „Expression und biologische Funktion von Neurotrophinrezeptoren und Rezeptoren der TNF-Familie in embryonalen Tumoren“. Noch im gleichen Jahr nahm sie den Ruf auf eine Professur für Pädiatrisch-Onkologische Forschung an der UDE an. Seit März 2007 ist Angelika Eggert Direktorin des Westdeutschen Tumorzentrums, das von der Deutschen Krebshilfe als Onkologisches Spitzenzentrum gefördert wird. Gleichzeitig bekleidet sie seit Juli 2008 eine Professur für Pädiatrie verbunden mit der Position der Klinikdirektorin der Klinik für Kinderheilkunde III am Universitätsklinikum Essen. Rufe auf Professuren nach Innsbruck und Hannover hat Angelika Eggert im Jahr 2008 abgelehnt. Aktuell hat sie einen Ruf auf eine Professur für Kinderonkologie der Charité Berlin erhalten. Der Forschungsschwerpunkt von Angelika Eggert sind molekulargenetische und -biologische Untersuchungen embryonaler Tumoren, insbesondere des Neuroblastoms, Medulloblastoms und Retinoblastoms.

DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT
DUISBURG
ESSEN

Offen im Denken

ub | universitäts
bibliothek

Dieser Text wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt. Die hier veröffentlichte Version der E-Publikation kann von einer eventuell ebenfalls veröffentlichten Verlagsversion abweichen.

DOI: 10.17185/duepublico/70516

URN: urn:nbn:de:hbz:464-20190823-143325-5

Erschienen in: UNIKATE 44 (2013), S. 126 -134

Alle Rechte vorbehalten.