

# Molekularbiologische Veränderungen bei gastrointestinalen Tumoren

Diagnostische und therapeutische Perspektiven

Stephan A. Hahn<sup>1, 3</sup>  
 Scott E. Kern<sup>1, 2</sup>  
 Wolff-H. Schmiegel<sup>3</sup>

In der Tumorforschung hat die Entdeckung der Onkogene und Tumorsuppressor-Gene dazu beigetragen, daß sich unsere Kenntnisse über die Kanzerogenese entscheidend erweitert haben. Erste Möglichkeiten der klinischen Anwendung für die Tumordiagnostik und Tumorthapie zeichnen sich ab. So wurde für das kolorektale Karzinom ein Tumorprogressionsmodell erstellt, welches den einzelnen Stadien der Entwicklung vom Adenom zum Karzinom Veränderungen in bestimmten Onkogenen oder Tumorsuppressor-Genen zuordnet. Dadurch ist eine nicht invasive molekulargenetische Tumorfürhdiagnose für kolorektale Tumoren grundsätzlich möglich geworden. Die Entdeckung des Gens, das für die häufigste Form des hereditären Kolonkarzinoms verantwortlich ist, eröffnet die Möglichkeit, Risikopatienten rechtzeitig zu erkennen und sie durch entsprechende gastroenterologisch-endoskopische Vorsorge potentiell vor einer Krebserkrankung zu bewahren. Gentherapeutische Therapieansätze sind derzeit Gegenstand intensiver Forschung.

Die Hypothese, daß der Krebsentstehung eine Akkumulation verschiedener genetischer Veränderungen zugrunde liegt, wurde bereits 1958 publiziert (16). Es gelang jedoch erst in den letzten zehn Jahren durch die Anwendung neuer molekularbiologischer Methoden experimentelle Bestätigung für diese Hypothese zu finden. So konnte gezeigt werden, daß diesen bislang unbekannt genen Veränderungen eine Aktivierung von Onkogenen und/oder Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen zugrunde liegen und wesentlich an der Karzinomentstehung beteiligt sind (6).

Onkogene leiten sich von den physiologisch in der Zelle vorkommenden Proto-Onkogenen ab. Letztere wurden im Verlauf der Evolution außergewöhnlich konserviert und haben entscheidende Funktionen in der Zellwachstumskontrolle (17, 60). Sie kodieren für Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren, für intrazelluläre Signalüberträger oder für Transkriptionsfaktoren (steuern die RNA-Synthese an einer DNA-Matrize). Aus dem Wissen über diese wichtige Wachstums-Kontrollfunktion der Proto-Onkogene wird verständlich, daß eine Veränderung dieser Gene, das heißt die Konversion des Proto-Onkogens in ein Onkogen, weitreichende Konsequenzen für die betroffene Zelle haben kann. Verantwortlich für die Konversion eines Proto-Onkogens in ein dominant wirkendes aktiviertes Onkogen sind verschiedene Veränderungen wie Punktmutationen, kleine Insertionen oder Deletionen sowie Translokationen. Mögliche Folgen sind: Die mutierten Onkogene oder deren Produkte können nicht mehr reguliert werden, eine übermäßige

Produktion des Genproduktes findet statt oder die Funktion des Genproduktes ist verändert.

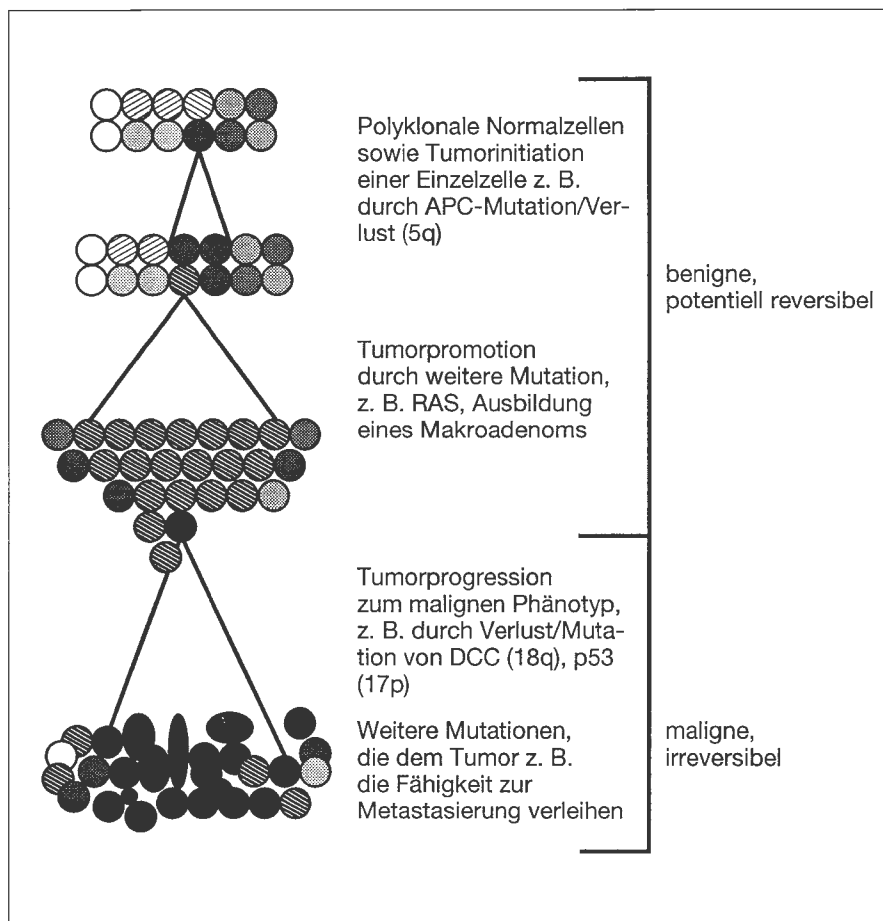
Jede dieser Veränderungen kann entsprechend der nunmehr gestörten Kontrollfunktion der betroffenen Zelle einen Wachstumsvorteil bringen, und es kann zur Ausbildung eines Tumors kommen (Abbildung 1).

Tumorsuppressor-Gene wurden zunächst aufgrund folgender Beobachtung vermutet: Die Herstellung von Zellhybriden, das heißt die Fusion von Tumorzellen mit normalen Zellen, führte in vielen Fällen zum Überwachen der Zellkultur mit Zellen des Normalphänotypus. Dies zeigte, daß die Normalzellen genetische Informationen lieferten, die den Tumorphänotyp unterdrücken konnten und die die Tumorzellen offensichtlich auf dem Wege ihrer Entwicklung zur Krebszelle verloren hatten (22). Den inzwischen nachgewiesenen Tumorsuppressor-Genen ist, mit einigen Ausnahmen, ein rezessiver Expressionsmodus gemeinsam. Dies würde im einfachsten Tumormodell (nur ein Tumorsuppressor-Gen ist für die Tumorentstehung verantwortlich) bedeuten, daß im Falle eines funktionsunfähigen Allels das verbliebene „normale“ Allel ausreicht, um die betreffende Zelle vor der Entwicklung eines malignen Phänotypus zu schützen, und entsprechend kann der (Funktions-)verlust beider Allele zur malignen Entartung führen. Die soeben ge-

Departments of Pathology<sup>1</sup> (Director: Dr. Fred Sanfilippo) and Oncology<sup>2</sup> (Director: Dr. Martin Abeloff), School of Medicine Johns Hopkins University

<sup>3</sup>Medizinische Klinik (Direktor: Prof. Dr. Wolff-H. Schmiegel) Ruhr-Universität Bochum, Knappschafts-Krankenhaus

Abbildung 1: Modell einer klonalen Tumorentstehung, wie sie für das kolorektale Karzinom angenommen wird: Eine erste Einzelzell-Mutation führt zu einer limitierten Expansion von Tochterzellen. In der Folge akquiriert eine dieser Tochterzellen eine weitere Mutation, der dadurch entstandene Wachstumsvorteil führt zu einer noch ausgeprägteren klonalen Zellexpansion mit der Entstehung eines Adenoms. Ist die „kritische“ Zahl an Mutationen erreicht, kann das bisher „noch kontrollierte“ Wachstumsverhalten in ein malignes Wachstum übergehen



machte Vereinfachung trifft in der Praxis nur sehr selten zu, in der Regel ist mehr als ein defektes Suppressor-Gen für die Tumorentstehung notwendig. An dem (Funktions)verlust eines Tumorsuppressor-Gens sind Mechanismen wie Mutationen, Deletionen unterschiedlich großer Bereiche eines Chromosomenarmes oder der Verlust eines gesamten Chromosoms beteiligt (61). Funktionell stellen die von Tumorsuppressor-Genen kodierten Proteine negative Regulatoren der Zellteilung dar. So können sie beispielsweise die Zelle in der Progression innerhalb des Zellzyklus aufhalten (29, 30), sie terminal differenzieren lassen, die Zelle altern lassen oder einen programmierten Zelltod (Apoptosis) der Zelle einleiten. Eine Übersicht wichtiger Tumorsuppressor-Gene ist in *Tabelle 1* dargestellt. In vielen hereditären Tumorerkrankungen finden sich, im Gegensatz zu den Onkogenen, bereits Mutationen oder Deletionen eines Tumorsuppressor-Allels auf Keimbahnebene, so zum Beispiel

beim Retinoblastom (RB). Der Verlust des zweiten RB-Allels im Rahmen eines somatischen Ereignisses führt letztendlich zum Ausbruch der Erkrankung. Bei nicht hereditären Neoplasmen ist der (Funktions)verlust beider Tumorsuppressor-Allele in der Regel die Folge von zwei somatischen Ereignissen (33). Für das APC (Adeno-

matisis Polyposis Coli)- und p53-Tumorsuppressor-Gen sind auch heterozygote Tumoren bekannt. Diese Tumoren tragen in einem der beiden Allele eine Mutation und weisen trotz des noch vorhandenen funktionstüchtigen Wildtyp-Gens (zweites Allel) einen neoplastischen Phänotyp auf. Als Ursache hierfür werden folgende Hypothesen diskutiert:

① Inaktivierung des Wildtyp-Genproduktes durch eine Komplexbildung mit dem mutierten Genprodukt (dominant negative Funktion des mutierten Genprodukts, wie für p53 experimentell gezeigt) (11),

② ein sogenannter Dosiseffekt. Im letzteren Falle ist die Genproduktmenge durch Transkription nur einer Wildtyp-Kopie zu gering, um die normale Wirkung des Genproduktes aufrechtzuerhalten. Auch ist es vorstellbar, daß die funktionstüchtige Kopie nicht transkribiert werden kann, da beispielsweise eine Methylierung vorliegt, wel-

Gen	Karzinom	Hereditäres Syndrom	Genfunktion
APC	Kolonkarzinom	Familiäre Polyposis Coli	?
DCC	Kolonkarzinom	-	Zell-Adhäsions-Molekül
p53	Kolonkarzinom, weitere Tumoren	Li-Fraumeni Syndrom	Transkriptionsfaktor
Rb	Retinoblastom	Retinoblastom	Transkriptionsfaktor
WT 1	Nierenzellkarzinom	Wilms Tumor	Transkriptionsfaktor
NF 1	Schwannome, Meningiome	Neurofibrome	GTPase-Aktivator

che den Ablesevorgang verhindert (genetic imprinting).

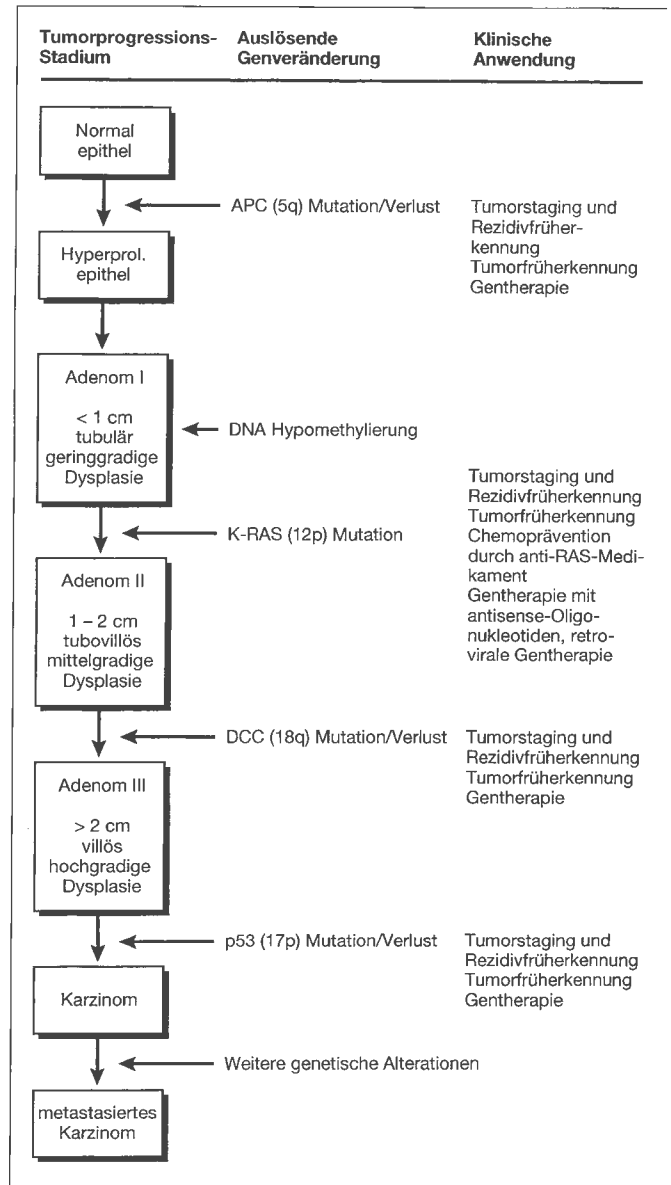
Welche Onkogene und Tumorsuppressor-Gene für hereditäre und sporadische Formen der gastrointestinalen Tumoren (Schwerpunkt kolorektales Karzinom und Pankreaskarzinom) von Bedeutung sind und welche klinisch relevanten Möglichkeiten der Diagnostik und Therapie in Zukunft daraus entwickelt werden könnten, ist Gegenstand der weiteren Betrachtungen.

### Molekulargenetische Veränderung in der Entwicklung vom kolorektalen Adenom zum Karzinom

Ausgehend von den oben dargestellten molekulargenetischen Ergebnissen entwickelten Vogelstein und seine Mitarbeiter für das kolorektale Karzinom (KRK) ein sogenanntes Tumor-Progressionsmodell (13). Sie konnten zeigen, daß bestimmte Kolonkarzinom-Entwicklungsstufen (Normalgewebe → Adenom → Karzinom) häufig mit bestimmten Onkogen- und/oder Tumorsuppressor-Gen-Veränderungen einhergehen (Abbildung 2). Dieses Modell hat weitreichende Implikationen für die klinische Medizin. So wie der hereditäre Verlust eines Tumorsuppressor-Gen-Allels eine Prädisposition zur Entwicklung eines bestimmten Tumors markiert, kann der Nachweis eines bestimmten Gendefektmusters aus aktivierten Onkogenen und/oder funktionsdefekten Tumorsuppressor-Genen den Entwicklungsstand eines Adenoms hin zum Karzinom charakterisieren. Die folgende Sequenz genetischer Veränderungen ist häufig bei der Progression vom Adenom zum Karzinom in kolorektalen Karzinomen gefunden worden:

In frühen Adenomstadien (inklusive hyperproliferatives Kolon-epithel) findet sich in etwa 30 Prozent der Fälle ein Verlust mehr oder weniger großer Anteile des Chromosomenarmes 5q sowie DNA-Hypomethylierungen. Eine Untersu-

Abbildung 2: Molekulargenetische Therapie- und Diagnosemöglichkeiten, veranschaulicht am Modell der Kolonkarzinomentstehung – modifiziert (nach Fearon und Vogelstein) (13)



chung an Adenomen zwischen 0,5 cm und 3,5 cm Größe wies in 60 Prozent Veränderungen des auf dem Chromosomenarm 5q lokalisierten APC(Adenomatosis Polyposis Coli)-Gens nach (44, 58).

Das APC-Genprodukt scheint an einem zytoplasmatischen Proteinkomplex, der für die Signalübermittlung via Zell-Interaktion der Zonula adhaerens verantwortlich ist, beteiligt zu sein. Dies bedeutet, daß das APC-Protein wahrscheinlich die Rolle eines Modulators der durch interzelluläre Interaktionen gesteuerten Zellwachstums- und Differenzierungsprozesse spielt (47, 55). Vorstellungen, wie die Hypomethylierung in die Tu-

morprogression eingreifen könnte, sind: veränderte Genexpression (zum Beispiel Veränderungen des „genetic imprinting“ (4)) oder Hemmung der Chromosomenkondensation und dadurch Begünstigung einer mitotischen Nondisjunktion (nichtsynchrones Aufteilen der beiden Chromatidenpaare).

Ungefähr 50 Prozent der kolorektalen Karzinome tragen K-ras-Onkogenmutationen, eine ähnliche Mutationshäufigkeit findet sich bei fortgeschrittenen Adenomen, die größer als 1 cm sind. Adenome, die kleiner als 1 cm sind, weisen weniger als 10 Prozent K-ras-Mutationen auf (7, 15, 58). Das K-ras-Onkogen kodiert für einen intrazel-

lulären Signaltransmitter mit GT-Pase (Guanosinriphosphatase)-Aktivität (40). Weiterhin findet sich der Verlust eines DCC-Allels („deleted in colorectal cancer“) auf Chromosom 18q in mehr als 70 Prozent der kolorektalen Tumoren und in immerhin 50 Prozent der Adenome, die größer als 2 cm sind (58, 10, 41). Das DCC-Tumorsuppressorgen kodiert für ein Gen mit signifikanter Homologie zur Familie der Zelladhäsionsmoleküle und mag durch Beeinflussung der Zell-Kontakte oder der Zell-Extrazellulär-Matrix-Interaktion in die Wachstumskontrolle eingreifen (12).

Am häufigsten in KRK findet sich mit 75 bis 80 Prozent ein Allelverlust auf dem Chromosomenarm 17p, welcher die Region des Tumorsuppressor-Gens p53 einschließt. Bei Adenomen von etwa 1 bis 2 cm Größe finden sich derartige Allelverluste nur in 6 Prozent und mit zunehmender Größe der Adenome (2 cm) und Zunahme der villösen Anteile oder der Dysplasie in bis zu 25 Prozent der Fälle (2, 10, 49, 58). P53 ist funktionell ein Transkriptionsfaktor.

Abbildung 2 zeigt eine bestimmte Abfolge genetischer Veränderungen in der Tumorprogression des KRK. Es ist jedoch wichtig, die Tumorprogression weniger durch eine bestimmte Abfolge genetischer Veränderungen determiniert zu sehen, als vielmehr durch eine kritische Gesamtzahl an Mutationen/Allelverlusten in Onkogenen und Suppressor-Genen, welche akkumuliert werden müssen, damit die maligne Transformation entstehen kann, vier bis sieben solcher Veränderungen scheinen für das KRK notwendig zu sein (46).

### Molekularbiologisch orientierte Diagnostik des sporadischen kolorektalen Karzinoms

Neue molekularbiologische Techniken wie die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR), die Einzelstrang-Konformations-Analyse (SSCP), die differentielle DNA-Hy-

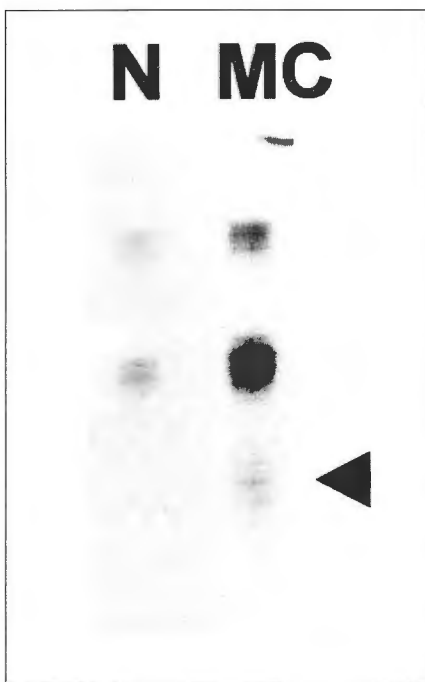


Abbildung 3: Autoradiographischer Nachweis einer Mikrosatelliten-Längenveränderung („shift“) eines „Lynch“-Kolonkarzinoms (MC) im Vergleich zum Bandenmuster der Normalgewebe-Kontrolle (N). Der Pfeil markiert die neue Mikrosatellitenlänge, die beiden darüberliegenden Banden entstehen durch kontaminierende Normalgewebe-DNA.

bridisierung und die DNA-Sequenzierung erlauben die Detektion von Mutationen in spezifischen Genen mit einer hohen Sensitivität.

Es ist derzeit möglich, eine bestimmte Mutation in wenigen Nanogramm-Gesamt-DNA zu identifizieren.

Die Anwendung dieser Methoden in der klinischen Tumordiagnostik könnte die Karzinomfrüh- und Rezidivdiagnostik sowie das Tumorstaging deutlich erweitern und verbessern. Erst vor kurzem wurden mit Hilfe dieser Methoden Ras-Onkogenmutationen im Stuhl von Kolonadenom- und Kolonkarzinomträgern erfolgreich nachgewiesen (54). Daraus ergibt sich prinzipiell die Möglichkeit, Patientenstuhl im Rahmen eines kolorektalen Tumorscreenings auf Mutationen derjenigen Gene zu untersuchen, die in den einzelnen Stadien der Progression vom Adenom zum Karzinom verändert gefunden wurden. Im positiven Falle würde sich der Patient einer Lokalisationsdiagnostik (Kolonoskopie, Gastrosko-

pie, CT) unterziehen müssen und entsprechend dem Ergebnis entweder in eine Follow-Up- oder Therapiestrategie eingeschlossen werden. In diesem Sinne ist es durchaus vorstellbar, daß in Zukunft ein sogenannter „Genokult-Test“ den Hämokult-Test in der Krebsfrüherkennung ergänzen könnte. Einschränkung muß gesagt werden, daß ein solcher Test nur durch automatisierte molekularbiologische Verfahren, wie sie derzeit nur in Ansätzen verfügbar sind, möglich sein wird. Auch fehlen noch ausreichend große Patientenstuhl-Studien, die die Grundlage für die Beurteilung der klinischen Anwendbarkeit eines „Genokult“-Tests sowie dessen korrekte Interpretation sein müssen.

Patienten mit reseziertem Kolonkarzinom ohne histopathologischen Nachweis einer Metastasierung (Ro) könnten ebenfalls von den molekular diagnostischen Verfahren profitieren. Unter dem Gesichtspunkt, daß die Prognose eines Patienten einerseits mit Mikrometastasierung deutlich schlechter ist und diese Patienten von einer adjuvanten Chemotherapie profitieren könnten, andererseits Patienten ohne Metastasierung durch eine Chemotherapie einem unnötigen Risiko ausgesetzt werden, ist die möglichst sichere Unterscheidung der Patienten mit oder ohne Metastasierung außerordentlich wünschenswert (27, 42). Es ist zu erwarten, daß sich Mikrometastasen, die sich der üblichen Diagnostik entziehen, durch vergleichende molekulare Untersuchung von Tumorgewebe, Peritonealhöhlenflüssigkeit, Blut sowie Knochenmark auf im Tumorgewebe des Patienten nachgewiesene Mutationen (wie Ras und p53) weit aus sensitiver erfassen lassen.

Eine Möglichkeit, weitere Prognoseparameter und damit Therapie-Entscheidungshilfen zu gewinnen, bietet die Bestimmung des sogenannten Tumor-Allelotyps sowie die Berechnung des FAL („fractional allelic loss“). Dabei wird TumordNA mit chromosomenarm-spezifischen Markern auf Allelverluste untersucht, was eine Art indirektes Maß für die genetische Zerstörung

Abbildung 4: Humane Kolonkarzinomzellen wurden in die rechte Seite der Nacktmaus injiziert und es kam zur Tumorausbildung. Dieselben Zellen führen nach Substitution eines in den Tumorzellen defekten Tumorsuppressor-Gens via Chromosomentransfer auf der linken Seite zu keiner sichtbaren Tumorbildung. (Gedruckt mit freundlicher Genehmigung von E. Stanbridge und Science, vol. 261, pp. 1385–1387. Copyright 1993 American Association for the Advancement of Science)



der Tumorzelle ist. Der FAL entspricht dem Quotienten aus der Zahl der Chromosomenarme mit nachgewiesenem Allelverlust und der Anzahl der untersuchten Chromosomenarme, die mit allelspezifischen Markersonden informativ sind. Informativ ist eine Markersonde immer dann, wenn sie im Normalgewebe zwei Allele differenzieren kann.

Ein Tumor weist in der Regel entweder dasselbe Allelmuster wie das korrespondierende Normalgewebe auf oder er hat eines/beide Allele verloren (im englischen Schrifttum als „loss of heterozygosity“, LOH, bezeichnet) (59). Es konnte gezeigt werden, daß der FAL-Wert ein von der Dukes-Klassifikation unabhängiger Prognoseparameter darstellt. Dabei ging ein hoher FAL-Wert mit einem hohen Risiko für den jeweiligen Patienten, an den Folgen eines Rezidivs aus Tumormetastasen zu versterben, einher, entsprechendes galt für die Überlebensrate dieser Patienten. Zum selben Ergebnis führte die isolierte statistische Analyse des 17p-(p53)Allelverlustes, der damit als unabhängiger Prognoseparameter eingestuft werden kann (31, 34).

### Genetische Diagnostik des hereditären nicht polypösen kolorektalen Karzinoms

Hereditäre Erkrankungen des Kolons, welche eine hohe Karzinominzidenz aufweisen, sind die familiäre Adenomatosis Coli und das Lynch-Syndrom (auch Cancer-Family-Syndrom oder „hereditary nonpolyposis colorectal cancer“ [HNPCC] genannt). Diese Erkran-

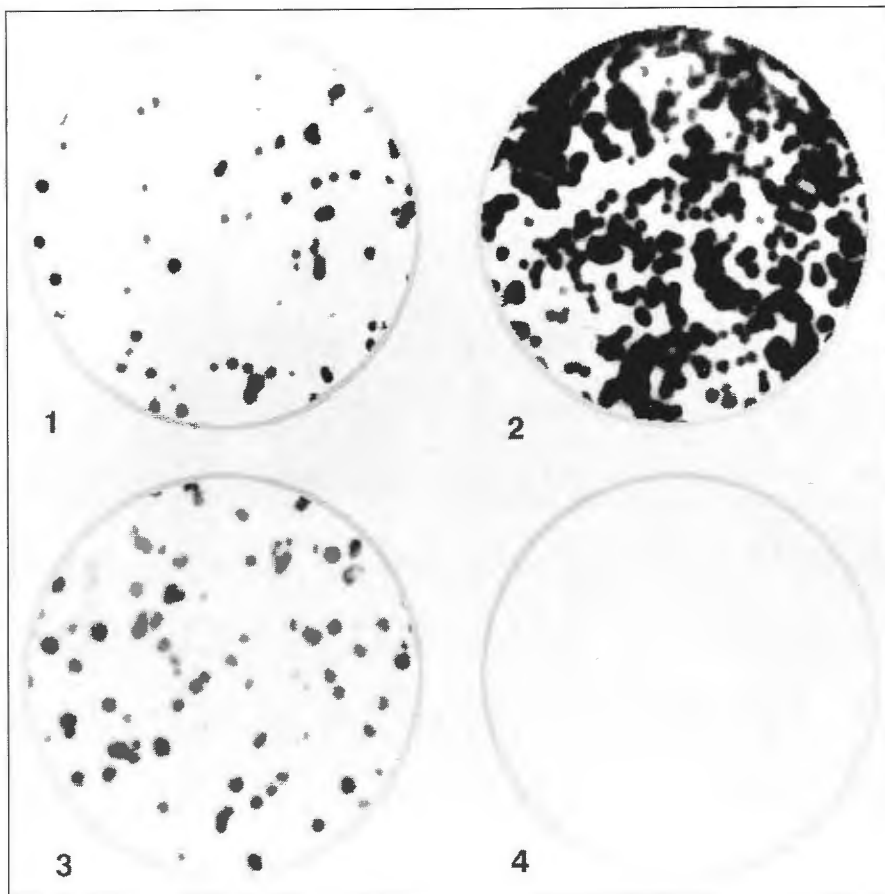
kungen haben einen eindeutigen Phänotypus (Kolonpolypen verschiedener Ausprägung), was die klinische Unterscheidung von betroffenen oder nicht betroffenen Patienten erleichtert. Eine Unterscheidung der hereditären, nicht polypösen, Formen des kolorektalen Karzinoms ist bisher nur durch genaue Familienanamnese möglich gewesen (38). Ein HNPCC kann angenommen werden, wenn mindestens drei Verwandte innerhalb zwei Generationen ein kolorektales Karzinom ausbildeten und wenn das Karzinom bei einem der Erkrankten vor dessen fünfzigstem Lebensjahr diagnostiziert wurde. Klinische Merkmale des HNPCC sind seine überwiegend rechtskolische Lage mit deutlich besserer Prognose sowie eine Häufung von synchronen und metachronen Kolonkarzinomen. Weitere Organe, wie Endometrium, Ovarien, Magen, das biliopankreatische System und Nierenbecken oder die Ureteren, können ebenfalls betroffen sein. Das „familiäre“ Kolonkarzinom macht anteilig an der Gesamtzahl der kolorektalen Karzinome 4 bis 13 Prozent aus (39).

Zwei Forschergruppen berichteten vor kurzem für unterschiedliche Chromosomen über eine sogenannte genetische Verknüpfung (engl. linkage) dieser hereditären Kolonkarzinome mit Markern, zum einen für den kurzen (p-)Arm des Chromosoms 2 (2p15 bis 16) (43)

und zum anderen für den p-Arm des Chromosoms 3 (3p21 bis 23) (36). Auch fanden sich in TumordNA von HNPCC-Patienten Längenveränderungen sogenannter repetitiver Sequenzen (Abbildung 3). Diese repetitiven, stark konservierten Dinukleotid- und Trinukleotid-Sequenzen („Mikrosatelliten“) sind in großer Zahl über das Genom verteilt und können mit speziell konstruierten DNA-Sonden nachgewiesen werden (1). Inzwischen wurde ein für die Mikrosatelliten-Instabilität verantwortliches Gen (hMSH2) isoliert und sequenziert (14, 35). In Patienten mit oder ohne typische Lynch-Syndrom-Familienanamnese und nachgewiesenen Längenveränderungen in den Mikrosatelliten fanden sich die für hereditäre Tumorerkrankungen typischen Keimbahn-Mutationen dieses Gens (35). Funktionell ist das hMSH2-Genprodukt Teil eines in Bakterien gut charakterisierten Reparatursystems, welches Fehlpaarungen nach der Replikation erkennt und korrigiert.

Diese Ergebnisse eröffnen erstmals die Möglichkeit, Familienangehörige von auffallend jung an Kolonkarzinom erkrankten Patienten (< 50. Lebensjahr) auf hMSH2-Mutationen zu untersuchen und entsprechend dem Ergebnis von einer Sorge zu befreien oder im positiven Testfall durch engmaschige Koloskopie-Kontrollen rechtzeitig einer Therapie zuzuführen, wie auch die

Abbildung 5: Nachweis einer K-Ras-Mutation (Exon 1, Kodon 12, Glycin zu Aspartat) im Stuhl eines Pankreaskarzinompatienten mit Hilfe einer radioaktiv markierten, mutationsspezifischen Sonde. Plaque-Filterhybridisierung (FH) 1 und 2: Detektion der Aspartat-positiven Plaques (FH1) im Vergleich zu den Wildtyp-positiven Plaques (Glycin, FH2), FH 3 und 4: Positiv- oder Negativkontrolle



anderen häufig betroffenen Organe entsprechend zu überwachen. Für die Zukunft wäre auch ein Populationscreening vorstellbar, um Neuerkrankungen oder bislang unerkannt gebliebene Familien frühzeitig zu erkennen. Dies mag unter dem Gesichtspunkt, daß dieser Gendefekt wahrscheinlich den häufigsten erblichen Tumorrisikofaktor darstellt (geschätzte Genträgerfrequenz zirka 1:200 [39]), einen wichtigen Beitrag zur Tumorprävention darstellen.

### Molekularbiologisch orientierte Therapie des kolorektalen Karzinoms

Ziel einer molekularbiologisch orientierten Tumorthherapie sollte die Korrektur eines Gendefektes oder dessen Folgen möglichst vor der Ausbildung eines malignen Zellwachstumsverhaltens sein. Tumorbologische Voraussetzungen hierfür sind der Nachweis, daß ein durch bestimmte Mutationen hervorgerufenen verändertes Wachstums-/Differenzierungsverhalten mit entsprechenden therapeutischen Manipulationen zu stoppen oder reversibel ist. Eine Reihe von Experimenten verfolgen diesen Ansatz: So wurden Chromosomen, die eines der Tumorsuppressor-Gene APC, DCC oder p53 trugen, in Kolonkarzinomzellen eingebracht und die Zellen auf Nacktmäuse übertragen. Es kam, im Gegensatz zu den unveränderten Tumorzellen, nicht mehr zur Ausbildung von Tumoren (Abbildung 4). Modellexperimente, die, anstatt ein gesamtes Chromosom in Tumorzellen einzuführen, ein bestimmtes Gen in Tumorzellen einbringen, wurden ebenfalls bereits erfolgreich durchgeführt (52, 53). Ein anderer Therapieansatz ist

das Einbringen von DNA- oder RNA-Antisense-Oligonukleotiden in Tumorzellen, welche selektiv eine ras-onkogen-kodierte Genexpression inhibieren und dadurch in vitro die Ausbildung eines malignen Zellphänotypus verhindern (9). Auch retrovirale Gentherapiemodelle, die ein Gen via eines molekularbiologisch konstruierten retroviralen Vektors in die Zelle einführen und theoretisch somit das defekte Gen durch ein funktionsfähiges „Normal-Gen“ ersetzen, zeigen erste Erfolge (18).

Von der pharmakologischen Seite bieten sich interessante neue Möglichkeiten. Gegenstand intensiver Forschung sind derzeit Pharmaka, mit Hilfe derer in den Regelkreis von Onkogen- oder Tumorsuppressor-Genprodukten eingegriffen werden kann. So gelang es vor kurzem, Farnesyltransferase-Inhibitoren (FTI) zu isolieren, welche selektiv die Farnesylierung blockieren und damit verhindern, daß das Ras-Protein an die innere Plasmamembran assoziiert wird. Ohne

die membranständige Lokalisation kann weder das normale noch das onkogen veränderte Ras-Protein seine Signaltransmitter-Funktion ausführen. Tumorzellkultur- und Tierexperimente konnten inzwischen den Effekt der Verminderung des Tumorwachstums dieser Substanzen bestätigen (21, 26, 61, 62). Dies ist ein erster Schritt, in Ras-abhängigen Tumoren die transformierende Eigenschaft des onkogen veränderten Ras-Proteins zu unterdrücken. Weitere potentielle „Design-Tumorprotektiva“ sind in Zukunft mit zunehmendem Verständnis der Funktion der einzelnen Onkogene oder Tumorsuppressor-Gene zu erwarten.

### Molekularbiologische Veränderungen des Pankreaskarzinoms

Im Gegensatz zum Kolonkarzinom liegen über das Pankreaskarzinom noch relativ wenig molekular-genetische Daten vor. Untersuchun-

gen des K-ras-Onkogens ergaben für das Pankreaskarzinom die höchste Mutationsfrequenz (90 Prozent), die bisher in humanen Tumoren beobachtet wurde (20, 25). Im p53-Tumorsuppressor-Gen fanden sich in 45 bis 70 Prozent der Fälle Mutationen (45, 50) sowie eine erhöhte p53-mRNA oder p53-Proteinexpression in 50 bis 60 Prozent (5, 28). Das APC-Gen scheint beim Pankreaskarzinom, soweit bei den noch spärlich vorliegenden Daten überhaupt beurteilbar, sehr selten, wenn überhaupt, von Mutationen betroffen zu sein (24, 51). Ein Expressionsverlust des DCC-Gens wurde in einer kleineren Untersuchungsreihe in etwa 50 Prozent bei überwiegend undifferenzierten Tumoren gefunden. Direkte DNA-Untersuchungen des DCC-Gens auf spezifische Mutationen liegen derzeit nicht vor (23), es finden sich jedoch in den meisten Pankreaskarzinomen Allelverluste, die das DCC-Gen einschließen (51). Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Pankreaskarzinomentstehung durch Korrelation von histopathologischen und molekularbiologischen Befunden besser verstehen zu lernen, damit ein pankreas-spezifisches Tumorprogressionsmodell etabliert werden kann. Dies ist, wie für das kolorektale Karzinom dargestellt, die Grundlage für einen rationalen Einsatz molekularbiologischer Methoden in Diagnostik und Therapie. Es ist bekannt, daß sich in der Nachbarschaft von Pankreaskarzinomen gehäuft atypische Zellhyperplasien finden und daß Pankreasgewebe von chronisch entzündlich veränderten Organen einfache, papilläre und atypische muzinöse Hyperplasien aufweisen. In solchen potentiell als Vorläufer-Läsionen einzustufenden Gewebsveränderungen fanden sich gehäuft K-ras-Mutationen (60 Prozent) (63). Dies mag ein Hinweis dafür sein, daß die chronische Pankreatitis die Entstehung von K-ras-Mutationen begünstigt und die atypischen Hyperplasien Folge einer klonalen Zellexpansion sind, welche wiederum durch eine Ras-Mutation ausgelöst wurde. In diesem Zusammenhang ist interessant, daß kürzlich in einer Multizen-

ter-Studie für Patienten mit chronischer Pankreatitis ein erhöhtes Risiko, an einem Pankreaskarzinom zu erkranken, gefunden wurde (37).

Neben den Fortschritten in der molekularen Pankreaskarzinom-Forschung gibt es auch wichtige neue Erkenntnisse, die in der Pankreas-Tumordiagnostik hilfreich sein können. So gelang der Nachweis von tumoridentischen K-ras-Mutationen in Pankreassekreten, welche im Rahmen einer ERCP gewonnen wurden (56), sowie in unserem Labor erstmals der Nachweis dieser Mutationen im Stuhl von chronischen Pankreatitikern und Tumorpatienten (Abbildung 8). Es erscheint daher theoretisch vorstellbar, daß in Zukunft ein „Genokult“-Test, wie er zur Präventivdiagnostik kolorektaler Karzinome besprochen wurde, auch für weitere Tumore des Gastrointestinaltrakts, in diesem Falle für das Pankreaskarzinom, eingesetzt werden kann.

Auch können, wie für das KRK oben dargestellt, das präoperative Staging mit molekulargenetischen Methoden erweitert und verbessert werden sowie durch Bestimmung des Allelotyps und des FAL prognostische Parameter erhoben werden. Eine neuere Untersuchung an pankreatektomierten Patienten in unserem Labor zeigt, daß tendenziell Patienten mit hohem FAL die für das Pankreaskarzinom typische hohe 1-Jahres-Mortalität aufweisen, wohingegen diejenigen Patienten mit niedrigerem FAL zumindest nach 17 Monaten noch rezidivfrei am Leben sind (51). Weitere Untersuchungen sind notwendig, um zum Beispiel Allelverlust-Muster auf bestimmten Chromosomenarmen zu finden, in denen sich die Patienten mit besserer oder schlechterer Prognose unterscheiden.

### Schlußbemerkung

Die Molekularbiologie hat dazu beigetragen, unser Verständnis der Tumorentwicklung entscheidend zu erweitern. Meilensteine waren dabei die Entdeckung der Tumorsuppressor- und Onkogene sowie die Entwicklung des ersten

Tumorprogressions-Modells für das kolorektale Karzinom. Durch letzteres gelang es, die theoretischen Erkenntnisse in der Tumorbiologie für die klinische Medizin fruchtbar zu machen. Inzwischen sind für weitere Tumore ähnliche Modelle entwickelt worden: Von den Tumoren des Gastrointestinaltrakts sind neben den besonders gut charakterisierten kolorektalen Karzinomen zunehmend detaillierte molekularbiologische Daten über das Magenkarzinom verfügbar (57).

Das Pankreaskarzinom sowie die Dysplasien der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und deren Progression zum Karzinom sind Gegenstand neuerer Forschung (32).

Auch konnte der molekularbiologische Hintergrund unter anderem des Mamma- und Lungenkarzinoms teilweise erhellt werden (48).

Ebenso werden derzeit Technologien zur Automatisierung molekularbiologischer Methoden für die Anwendung im Routinelabor untersucht und entwickelt.

Es ist daher zu hoffen, daß in absehbarer Zukunft diese Anstrengungen sowie unser wachsendes tumorbiologisches Wissen helfen werden, Diagnostik und Therapie von Krebspatienten wesentlich zu verbessern.

---

Zitierweise dieses Beitrags:  
Dt Ärztebl 1995; 92: A-211-217  
[Heft 4]

---

Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Literaturverzeichnis im Sonderdruck, anzufordern über die Verfasser.

#### Anschrift für die Verfasser:

Prof. Dr. med. Wolff-H. Schmiegel  
Medizinische Klinik des  
Knappschafts-Krankenhauses  
der Ruhr-Universität Bochum  
In der Schornau 23-25  
44892 Bochum