

Neue molekularbiologische Erkenntnisse aus der Pankreaskarzinom-Forschung

Stephan A. Hahn¹
Scott E. Kern²
Wolff-H. Schmiegel¹

Diagnostische und therapeutische Perspektiven

Das duktales Adenokarzinom des Pankreas ist weltweit bei Männern die viert- und bei Frauen die fünfthäufigste Tumorerkrankung (5). In Deutschland sterben daran jährlich mehr als 11 000 Menschen (1). Das erste Jahr nach Diagnosestellung überleben weniger als 20 Prozent der Patienten, und die Fünf-Jahres-Überlebensrate beträgt weniger als fünf Prozent (80). Leider hat sich an diesen Zahlen in den vergangenen 20 Jahren trotz intensiver Anstrengungen wenig geändert. Dies unterstreicht einmal mehr, daß das Pankreaskarzinom nach wie vor ein signifikantes Problem in der Krankenversorgung und eine große Herausforderung für Klinik und Forschung darstellt.

Einer der wichtigsten Fortschritte in der Tumorbilogie der letzten zehn Jahre war der Nachweis, daß Krebs im Prinzip durch genetische Veränderungen verursacht wird. Die Krebsentstehung setzt die Ansammlung einer „kritischen“ Anzahl von Mutationen in bestimmten Genen voraus. Viele dieser genetischen Alterationen konnten bereits identifiziert werden. Im Unterschied zu den großen Fortschritten in der Aufdeckung des „genetischen Profils“ mancher Tumorarten war die molekulare Analyse des Pankreaskarzinoms bislang nicht sehr weit fortgeschritten.

Tumorprogressionsmodell

Makroskopische und mikroskopische Untersuchungen humaner Neoplasien konnten zeigen, daß die meisten malignen epithelialen Tumoren sich über verschiedene Vorläuferstadien entwickeln. Eine derartige morphologische Progression findet sich unter anderem bei Zervixkarzinomen, duktalem Mammakarzinomen und kolorektalen Karzinomen und

In den vergangenen zwei Jahren gelangen beträchtliche Fortschritte in der Pankreastumorforschung. So konnten neben den bereits bekannten Genen K-ras und p53 drei weitere neue Gene (p16, DPC4 und BRCA2) der Pankreastumorgenese zugeordnet werden. Daher zählt das Pankreaskarzinom heute zu den Tumoren, die molekular am besten charakterisiert sind. Die Nutzbarmachung dieser neuen molekularbiologischen Erkenntnisse für die Diagnose, die Prognose, die Prävention und die Behandlung des Pankreaskarzinoms sind derzeit Gegenstand intensiver Forschung.

wird auch beim duktalem Adenokarzinom des Pankreas postuliert. Die molekulare Untersuchung der verschiedenen Progressionsstadien von Dickdarmpolypen beziehungsweise kolorektalen Adenomen und Karzinomen führte zur Entwicklung des ersten molekularen Tumorprogressionsmodells. Dieses Modell besagt, daß die Entstehung eines kolorektalen Karzinoms durch mehrere genetische Veränderungen bedingt ist. Diese Veränderungen treten häufig in einer bestimmten Abfolge auf und definieren molekulargenetisch unterschiedliche Stadien innerhalb der Tumorprogression vom Adenom zum metastasie-

renden Karzinom (16, 79). Mit anderen Worten: Der Nachweis eines bestimmten Gendefektmusters in einer Vorläuferläsion (Adenome der verschiedenen Stadien) kann Aufschluß über den jeweiligen Entwicklungszustand eines Polypen in Richtung Karzinom geben, eine Information, die für die Erarbeitung eines molekularen Vorsorgeuntersuchungsprogramms grundlegend ist. Daher ist die Etablierung eines entsprechenden molekularen Tumorprogressionsmodells für das Pankreaskarzinom ein vorrangiges Ziel der laufenden Pankreaskarzinom-Forschung.

Innerhalb eines karzinomatös veränderten Pankreas finden sich nicht selten „hyperplastische“ Veränderungen des Gangepithels, die einen flach muzinösen oder einen papillären Charakter haben können (1, 10, 86). Einige dieser Läsionen weisen zusätzlich Kennzeichen einer Atypie auf (nukleärer Pleomorphismus und Hyperchromasie) (*Grafik 1*). In einem Tumorprogressionsmodell des Pankreaskarzinoms können diese duktalem Läsionen in Analogie zu epithelialen Neoplasien anderer Organsysteme als Formen der duktalem pankreatischen intraepithelialen Neoplasie (DPIN) charakterisiert werden. Es wird vermutet, daß auch hier Anzahl und Art der in den Läsionen vorhandenen genetischen Veränderungen mit dem histologischen Stadium der jeweiligen DPIN korrelieren. Hyperplastische Läsionen ohne Atypie und mit einer flachen oder papillären Architektur sollten nur wenige genetische Alterationen aufweisen. Das histologische Fortschreiten solcher Läsionen geht dann mit zusätzlichen genetischen Veränderungen bis hin zum vollen Mutationsspektrum des Pankreaskarzinoms einher.

¹ Medizinische Klinik, Knappschafts-Krankenhaus (Direktor: Prof. Dr. Wolff-H. Schmiegel), Ruhr-Universität Bochum

² Department of Oncology (Direktor: Dr. Martin Abeloff), The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD USA

Derzeit werden intensive Anstrengungen unternommen, das Modell durch die genetische Analyse solcher Vorläuferläsionen experimentell zu untermauern. Eine wichtige Frage in diesem Zusammenhang ist, ob molekular charakterisierbare Vorstufen mit unterschiedlich hohem Progressionsrisiko gefunden werden können. Wenn dies der Fall ist und wenn es gelingt, solche genetischen Befunde in Form eines klinisch anwendbaren Tests für die Patientenbetreuung nutzbar zu machen, besteht die Hoffnung, daß in naher Zukunft Patienten mit einem hohen Pankreaskarzinom-Risiko frühzeitig identifiziert werden können. Welche genetischen Veränderungen uns in Pankreaskarzinomen bereits heute bekannt sind und für die oben besprochenen Analysen in DPIN überprüft werden müssen, soll in den folgenden Abschnitten genauer erläutert werden.

Onkogene und Tumorsuppressor-Gene

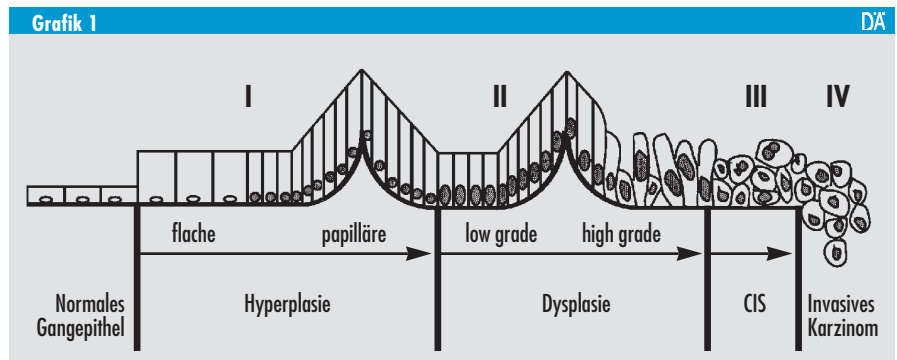
Onkogene

Die ersten identifizierten molekularen Veränderungen in Tumorzellen betrafen die sogenannten Onkogene. Dies sind aktivierte Formen zellulärer Proto-Onkogene: Gene, die in der Regulation von Wachstum und Differenzierung eine wichtige Rolle spielen. Viele der von Proto-Onkogenen kodierten Proteine sind Bestandteile der Signaltransduktionsketten von Wachstumsfaktoren (4, 82). Werden solche Gene (durch Amplifikation, Translokation oder Mutation) aktiviert, kann dies zur Transformation von Zellen beitragen. Für diese Wirkung ist die Aktivierung einer der beiden Kopien eines Proto-Onkogens ausreichend, das heißt: Onkogene wirken dominant.

Die ras-Gene gehörten zu den ersten bekannten Onkogenen. Ein Mitglied der ras-Onkogen-Familie (K-ras) wies in Pankreaskarzinomen eine Mutationshäufigkeit (bis zu 100 Prozent) auf, wie sie aus anderen Karzinomarten bislang unbekannt war (10, 23, 32, 37, 54, 60). Die aktivierenden Mutationen treten in der Regel an ganz bestimmten Stellen des ras-

Gens auf (Kodon 12 und weitaus seltener in den Kodons 13 und 61). Mutationen in den anderen Familienmitgliedern (N-ras und H-ras) sind ungewöhnlich. Die Einschränkung der K-ras-Mutationen auf die oben beschriebenen Abschnitte innerhalb des K-ras-Gens erlaubten die Entwicklung spezifischer und hoch sensibler Tests zum Nachweis dieser Mutationen. Hiermit hat man einen experimentellen Zugang, der eine Mutationsanalyse in unterschiedlichen Probenmaterialien wie auch in Situationen mit sehr geringen Probenmengen ermöglicht. In jüngerer Zeit wurden K-ras-Mutationen in „frühen dukta len Läsionen“ (DPIN) gezeigt. Es konnten K-ras-Mutationen in DPIN, assoziiert mit einem Karzinom, aber auch in DPIN, assoziiert mit einer

ver Wachstumsfaktoren sein oder auch für die Beendigung oder Reduktion positiver Wachstumssignale zuständig sein. Solche Gene tragen zur Transformation von Zellen bei, wenn ihre Funktion (als Wachstumsbremsen) verlorengeht. Der Funktionsverlust kann dabei durch den Verlust der Gene oder durch inaktivierende Veränderungen verursacht sein. Tumorsuppressor-Gene wirken rezessiv, das heißt, für einen vollständigen Funktionsverlust müssen das väterliche und das mütterliche Allel unwirksam werden (biallelische Inaktivierung) (40). Die häufigste Art der Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen besteht in der Mutation eines Allels in Kombination mit dem Verlust einer größeren chromosomalen Region, die das zweite Allel enthält (Grafik 2). Der



Progressionsmodell des dukta len Pankreaskarzinoms. Dargestellt sind in vereinfachter und schematischer Form die zeitliche Abfolge der histologisch abgrenzbaren Progressionsstadien (Hyperplasie bis zum Carcinoma in situ, CIS) der Pankreasgangläsionen. Die als Stufe I gezeigten hyperplastischen Läsionen weisen definitionsgemäß keine Atypien auf. Innerhalb der Stufe II nimmt dann der Grad der Atypie zu, um fließend von der „high grade“-Dysplasie in das Carcinoma in situ (Stufe III) und das metastasierende Karzinom (Stufe IV) überzugehen.

chronischen Pankreatitis, und sogar in normalem Pankreasgewebe nachgewiesen werden. Die höchste K-ras-Mutationsfrequenz (\gg 50 Prozent) fand sich in atypischen papillären DPIN bei chronischer Pankreatitis oder Pankreaskarzinom, wogegen flache muzinöse Läsionen eine wesentlich geringere Mutationsrate aufwiesen (10, 11, 86).

Tumorsuppressor-Gene

Als Tumorsuppressor-Gene werden Gene bezeichnet, deren Proteinprodukte in der Zelle eine wachstumshemmende und differenzierungsinduzierende Funktion besitzen. Sie können beispielsweise Komponenten in der Signalkaskade negati-

Verlust von genetischem Material wird üblicherweise mit Hilfe von Markern bestimmt, die sehr häufig heterozygot sind, also auf den Schwesterchromosomen in unterschiedlichen Formen (beispielsweise mit geringen Längenunterschieden) vorkommen. Wird nur noch ein Allel eines solchen in der „Normal-DNA“ heterozygoten Markers gefunden, bezeichnet man dies als LOH („loss of heterozygosity“). Eine weitere Art der Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen besteht im homozygoten Verlust beider Genkopien. Die Deletionen betreffen dabei meistens einen relativ eingeschränkten Chromosomenabschnitt für ein Allel, in Kombination wiederum mit dem Verlust eines größeren Abschnitts des Schwe-

sterchromosoms (*Grafik 2*). Von den bis heute bekannten Tumorsuppressor-Genen sind in Pankreaskarzinomen p53, p16, DPC4 und BRCA2 in unterschiedlichen Häufigkeiten betroffen (*Tabelle*).

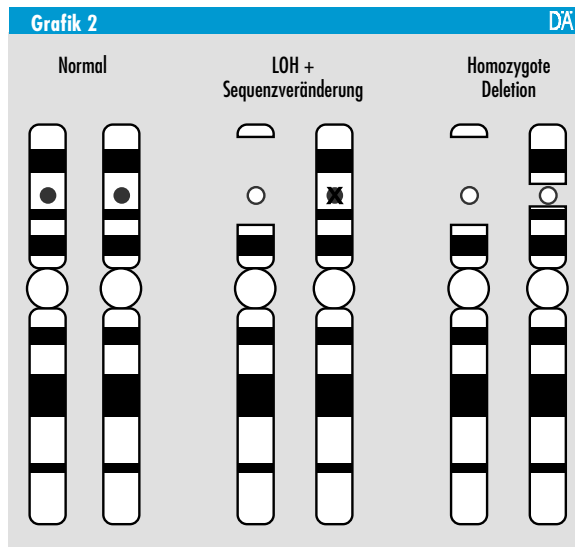
p53, p16 und die Zell-Zyklus-Kontrolle

Das Tumorsuppressor-Gen p53 ist bisher das Gen, das am häufigsten in humanen Tumoren mutiert nachgewiesen wurde. p53 liegt auf dem kurzen (p-)Arm des Chromosoms 17 (29, 31). Eine Sequenzanalyse von p53 in Pankreaskarzinomen konnte zeigen, daß es in 50 bis 76 Prozent der Karzinome mutiert ist (37, 54, 59, 60). Eine Hauptfunktion von p53 wird darin gesehen, nach verschiedenen Schädigungen der DNA einen Wachstumsstopp der Zellen oder den programmierten Zelltod zu induzieren, um die Ausbreitung von Mutationen zu verhindern.

p16 (auch p16^{INK4}, CDKN2 oder MTS1 genannt) ist ein weiteres Tumorsuppressor-Gen, dessen Beteiligung an der Pankreas-Karzinogenese kürzlich gezeigt werden konnte. Es ist auf Chromosom 9p21 lokalisiert und in 96 Prozent der Pankreaskarzinome inaktiviert (38 Prozent der Fälle sind mutiert, 43 Prozent sind homozygot deletiert, und in einem kleineren Anteil der Karzinome [15 Prozent] findet sich ein Expressionsverlust des Gens aufgrund einer Hypermethylierung des p16 Promotors [2, 9, 33, 52, 60, 63]). p16 gehört zu den Zellzyklus-Kontrollgenen, das heißt, es ist Teil des Systems, das die alternierenden Phasen der DNA-Vermehrung (Replikation) und die der Zellteilung (Mitose) steuert. Diese Phasen sind stark vom Aktivitätszustand bestimmter Proteine (den zyklinabhängigen Kinasen oder cyclin dependent kinases [CDK] sowie den Zyklinen) abhängig (56, 68).

Ferner kann der Aktivitätszustand dieser Proteine durch die Bindung von inhibitorischen Proteinen reguliert werden. p16 gehört zur Familie dieser inhibitorischen Proteine (auch „cyclin dependent kinase inhibitors“, CKI, genannt).

Grafik 3 stellt modellhaft denjenigen Abschnitt des Zellzyklus dar, in dem die bisher beschriebenen an der Pankreas-Karzinogenese beteiligten Gene aktiv sind. Das K-ras-Gen führt



Formen der biallelischen Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen. Die häufigste Form der Inaktivierung besteht aus einem chromosomalen Stückverlust (auch „loss of heterozygosity“, LOH, genannt) und einer Sequenzveränderung im Zielgen (schematisch als Kreis dargestellt). Besonders häufig wurde in Pankreaskarzinomen die Inaktivierung der Gene p16 und DPC4 durch eine homozygote Deletion nachgewiesen. Diese besteht aus dem sequentiellen Verlust von zwei unterschiedlich großen chromosomalen Stücken, wodurch beide Kopien des Zielgens verlorengehen.

in seiner aktivierten Form zu einem permanent „feuernden“ Wachstums-signal, das über Zwischenschritte letztendlich wiederum den Durchgang der Zellen durch den Teilungszyklus fördert. Zusammenfassend zeigen die bisher vorgestellten molekularen Daten, daß in Pankreaskarzinomen eine erhebliche Dysregulation des Zellzyklus vorliegt, was möglicherweise zum aggressiven klinischen Verlauf dieser Erkrankung beiträgt (14, 55, 67, 84).

DPC4 und der TGFβ-Signalweg

Vor kurzem wurde ein neues Tumorsuppressor-Gen mit dem Namen „deleted in pancreatic carcinoma,

locus 4“ (DPC4) auf Chromosom 18q21.1 gefunden. DPC4 ist in 20 Prozent der bisher untersuchten Pankreaskarzinome durch Punktmutationen und in 30 Prozent durch eine homozygote Deletion der DPC4-Region inaktiviert (24, 25). Bisher gibt es keine Hinweise auf eine Beteiligung von DPC4 an einer erblichen Disposition zum Pankreaskarzinom. Elf Familien mit einer Häufung von Pankreaskarzinomen wurden auf bereits in der Keimbahn vorhandene Mutationen im DPC4-Gen untersucht. Diese Analyse fiel negativ aus (48). Mutationsanalysen des DPC4-Gens in verschiedenen anderen Tumortypen zeigen bisher, daß DPC4 vor allem für die Entwicklung des sporadischen Adenokarzinoms des Pankreas verantwortlich ist und zu einem geringeren Anteil für die Entstehung der Kolonkarzinome (20 bis 30 Prozent) (74, 76). Nur in seltenen Fällen ist DPC4 an der Entwicklung von Pharynx-, Lungen-, Ovarial-, Mamma-, Blasen- und Gallengangskarzinomen beteiligt (15, 39, 51, 61, 62).

DPC4 besitzt eine starke Sequenzhomologie zum Drosophila-Mad-Gen (34, 64). Das Mad-Genprodukt ist an der Signalübertragung von Genen aus der TGFβ-(transforming growth factor β-)Familie beteiligt, so daß die Funktion von DPC4 – abgeleitet aus der Sequenzhomologie – ebenfalls in der Signalübertragung von TGFβ oder TGFβ-verwandten Faktoren vermutet wird. Da TGFβ bereits seit langem als negativer Wachstumsfaktor bekannt ist und Tumorzellen häufig nicht mehr auf hemmende Signale ansprechen, erscheint eine Inaktivierung solcher Regulationswege durch den Verlust von DPC4 schlüssig (25, 47, 66).

Inzwischen konnte, durch neuere Untersuchungen gestützt, ein Modell der DPC4-vermittelten Signalübertragung etabliert werden (*Grafik 4*) (46). Wesentliche Forschungsanstrengungen konzentrieren sich derzeit auf die genaue Analyse des TGFβ-DPC4-Signalwegs, woraus sich möglicherweise in der Zukunft Ansatzpunkte ergeben werden, den potentiell tumorsupprimierenden Effekt dieses Signalwegs für Pankreaskarzinom-Patienten diagnostisch und therapeutisch zu nutzen.

Genetisches Modell und klinische Perspektiven

Ein massiver Verlust von genetischem Material ist eines der zellulären Charakteristika maligner Tumoren. Aus einiger Entfernung betrachtet, mag das Muster der genetischen Aberrationen in den unterschiedlichen Tumorarten eher zufällig erscheinen. Eine nähere Analyse ergibt jedoch, daß durchaus karzinomspezifische genetische Muster existieren, die helfen können, „spezifische“ genetische Alterationen von „allgemeinen“ Veränderungen (wie sie in vielen Tumorarten gefunden werden) zu unterscheiden. So finden sich beispielsweise Verluste (Deletionen) von Chromosom 17 und 18 in vielen Tumorarten (einschließlich Pankreaskarzinom); entsprechend häufig sind auch die Mutationen im p53-Gen, dem Zielgen der 17p-Deletionen. Das Pankreaskarzinom unterscheidet sich hingegen von allen epithelialen Tumoren durch seine extrem hohe Prävalenz (nahezu 100 Prozent) an aktivierenden K-ras-Mutationen und inaktivierten Mutationen des p16/MTS1-Gens. Auch konnte bisher eine hohe Inaktivierungsfrequenz des DPC4-Gens nur in Pankreaskarzinomen identifiziert werden. Ferner weisen Pankreaskarzinome selten eine Mikrosatelliten-Instabilität auf, wie sie typischerweise in hereditären, nichtpolyposen Kolonkarzinomen (HNPCC) gefunden wird (etwa ein Prozent gegenüber zirka 15 Prozent in kolorektalen Karzinomen) (26). Inwieweit diese genetischen Charakteristika Ausdruck gewisser Unterschiede im Selektionsdruck an Schlüsselpunkten im Verlauf der Pankreaskarzinogenese darstellen, ist letztendlich unklar, bietet sich jedoch als Erklärungsmöglichkeit an.

Unser Wissen über die Molekulargenetik des Pankreaskarzinoms hat sich in den letzten Jahren deutlich verbessert. Wir sind heute in der Lage, ein wesentlich detaillierteres genetisches Modell für das Pankreaskarzinom und teilweise auch schon für seine Vorläuferstufen zu formulieren.

Risikoeinschätzung

Zu den Risikofaktoren einer Pankreaskarzinom-Entstehung gehören das Rauchen und möglicher-

weise eine vorher bestehende chronische Pankreatitis (12, 19, 21, 43, 45). Auch gibt es Familien, die eine deutlich erhöhte Frequenz an Pankreaskarzinomen aufweisen, jedoch konnte bei den wenigsten dieser Familien bisher ein „Suszeptibilitäts-Gen“ gefunden werden. Beispiele für die seltenen Ausnahmen bieten die beiden in jüngerer Zeit identifizierten Tumorsuppressor-Gene p16 und BRCA2, die zunächst durch ihre Beteiligung an der Entstehung des familiären Melanoms (p16) beziehungsweise

sichtlich Veränderungen in einem der angesprochenen Gene wäre jedoch – außerhalb von kontrollierten Studien – verfrüht. Zunächst müssen noch wichtige epidemiologische Fragen geklärt werden, zum Beispiel: Wie hoch ist die Penetranz von mutiertem p16 und BRCA2 bezüglich der Entstehung eines Pankreaskarzinoms? Welchen Einfluß haben spezifische Mutationen in diesen Genen auf die Penetranz, und besteht eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation? Nicht zuletzt muß auch eine effektive Vorsorgeuntersu-

Tabella

Häufig veränderte Gene des Pankreaskarzinoms

Gen	Lokus	LOH* ¹	Alterationsfrequenz* ²
K-ras	12p12	nicht anwendbar	100% (59, 60)
p53	17p13	100% (26)	76% (59, 60)
p16 ^{INK4}	9p21	85% (9)	96% (9, 63)
DPC4	18q21.1	91% (25)	50% (25)

*¹ Heterozygote Deletionen oder loss of heterozygosity (LOH) wurden mit Hilfe einer PCR-Analyse von Mikrosatelliten bestimmt. Die Prozentangaben repräsentieren diejenige Fraktion der Karzinome, die einen oder mehrere Mikrosatelliten-Marker auf dem jeweiligen chromosomalen Arm verloren hatten.

*² Genetische Alterationen sind wie folgt angegeben: Für K-ras und p53 wurden lediglich die Sequenzveränderungen in die Berechnung eingeschlossen; für p16 und DPC4 wurden die homozygoten Deletionen und die Sequenzveränderungen aufaddiert.

des familiären Mammakarzinoms (BRCA2) bekannt wurden. In Pankreaskarzinom-Familien gelang der Nachweis von Keimbahnmutationen im p16-Gen, und bei sporadischen Pankreaskarzinomen wurden Keimbahnmutationen im BRCA2-Gen gefunden (20, 49, 83). Ferner finden sich in Mammakarzinom- und Melanomfamilien, die eine p16-beziehungsweise BRCA2-Keimbahnmutation tragen, gehäuft Pankreaskarzinome. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß Keimbahnveränderungen in diesen Genen auch eine Prädisposition zum Pankreaskarzinom darstellen können (20, 22, 49, 57, 75, 77, 83). In der Betreuung von Patienten mit einem familiären Risiko für ein Mammakarzinom oder Melanom sollte daher der Kliniker auch an das Auftreten eines Pankreaskarzinoms denken und umgekehrt. Eine Testung von Patienten mit einer positiven Pankreaskarzinom-Familienanamnese hin-

derung und Therapie für Patienten mit einem positiven Testergebnis entwickelt werden. Dies ist angesichts der derzeitig limitierten Möglichkeiten, das Pankreaskarzinom beispielsweise durch bildgebende Verfahren in einem kurativen Stadium zu erfassen, eine weitere große Herausforderung an zukünftige diagnostische und therapeutische Methoden. Die Antworten auf die gestellten Fragen sowie eine entsprechende technologische Entwicklung werden erst eine abschließende Beurteilung zulassen, nach der eine Untersuchung dieser „Prädispositions“-Gene als klinischer Test sinnvoll eingesetzt oder empfohlen werden kann.

Frühdiagnose

Eine erfolgreiche Strategie zur Pankreaskarzinom-Prävention wird besonders von einem sensitiven Screeningverfahren abhängen, durch

das Patienten mit einem inzipienten/drohenden Pankreaskarzinom so früh entdeckt werden, daß eine kurative Therapie noch greifen kann. Eine molekulargenetische Detektionsmethode sollte in der Lage sein, die notwendige hohe Sensitivität zu erbringen.

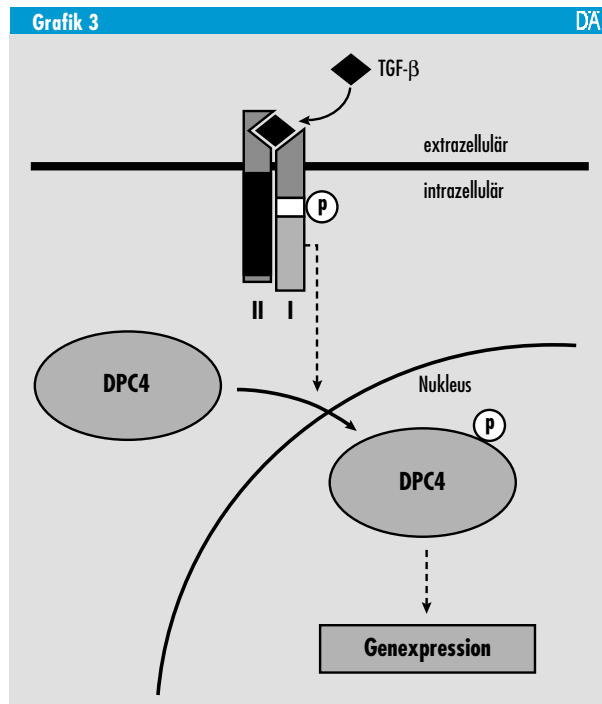
Ein erster Schritt in diese Richtung ist der Nachweis von K-ras-Mutationen im Stuhl von Patienten mit chronischer Pankreatitis, Pankreaskarzinom, Cholangiokarzinom oder Kolonkarzinom (10, 70). Ähnliche

zeit als Hinweise dafür diskutiert, daß der K-ras-Mutation möglicherweise eine frühe Schlüsselfunktion im Prozeß der neoplastischen Progression des Pankreaskarzinoms zukommt. Deshalb erscheint die Analyse des K-ras-Gens als Frühdiagnosemarker besonders vielversprechend. Dennoch sei an dieser Stelle angemerkt, daß bisher kaum Daten über die Nachweisfrequenz von K-ras-Mutationen bei klinisch gesunden Patienten vorliegen. Entsprechend können wir noch keine Aussagen darüber ma-

dien zusammen, so lag die K-ras-Detektionsfrequenz in Pankreasgangsekreten von Karzinompatienten bei 25 bis 100 Prozent (insgesamt wurden 102 Sekrete untersucht, und davon waren 82 [80 Prozent] positiv). Hingegen konnten in den meisten der angegebenen Studien keine K-ras-Mutationen in Sekreten von Patienten mit einer chronischen Pankreatitis nachgewiesen werden (drei von 84 [vier Prozent] untersuchten Patienten waren positiv). Bemerkenswerterweise wurden in zwei der angegebenen Studien insgesamt drei Patienten gefunden, die eine K-ras-Mutation hatten, zum Zeitpunkt der Untersuchung klinisch kein Pankreaskarzinom aufwiesen (dies war aber auch nicht mit den üblichen bildgebenden Diagnostika ausgeschlossen worden), jedoch im weiteren Verlauf ein Pankreaskarzinom „entwickelten“ (3, 7).

Um die Sensitivität und Spezifität eines solchen Tests definitiv bestimmen zu können, müssen zunächst die Ergebnisse prospektiver Studien von Patienten abgewartet werden, die nicht offensichtlich an einem Pankreaskarzinom leiden. Es wäre jedoch aus tumorbiologischen Gesichtspunkten überraschend, wenn die Analyse eines einzelnen Gens die gewünschte Spezifität eines Tumornachweises erbringen würde. Daher ist es auch dringend erforderlich, daß wir ein genaueres Bild über den Zeitpunkt und Ablauf des Auftretens von charakteristischen Mutationen in den „Pankreaskarzinom-Genen“ p16, p53 und DPC4 erarbeiten. Die simultane Analyse mehrerer Gene und damit eine Steigerung der Testspezifität wird vermutlich eine wesentlich bessere Unterscheidung zwischen Hochrisikoneoplasien und Niedrigrisikoneoplasien ermöglichen. Leider bereitet die Routineanalyse der oben genannten Gene noch erhebliche technische Probleme und ist derzeit nur in Speziallabors durchführbar. Die Einführung eines molekularen Frühdiagnose-Tests für das Pankreaskarzinom steht also noch nicht unmittelbar bevor, auch wenn der Nachweis von K-ras-Mutationen in abgeschilferten Zellen ein erster Ansatz in Richtung der Entwicklung eines solchen Tests für diese Krebserkrankung ist.

Schematische Darstellung eines Ausschnitts aus dem Zell-Zyklus. Damit eine Zelle nach abgeschlossener Zellteilung (Mitose) erneut als Vorbereitung einer weiteren Mitose in die DNA-Synthese-Phase oder S-Phase eintreten kann, müssen sowohl der Wachstumszustand wie auch die „Umweltbedingungen“ der Zelle bestimmten Anforderungen genügen. Um dies zu gewährleisten, existiert zwischen Mitose und DNA-Synthese eine Zwischenphase, die auch G(Gap)-Phase genannt wird. Spät in dieser G1-Phase liegt ein wichtiger Kontrollpunkt (auch „restriction point“ oder „START“ genannt). An diesem Restriktionspunkt werden positive und negative Signale integriert, wodurch sich entscheidet, ob die Zelle eine weitere Zellteilung durchlaufen wird. Der aktive Komplex aus CDK4 und Zyklin D bewegt die Zelle über den Restriktionspunkt hinaus. Um weiterhin in Richtung des G1/S-Übergangs zu gelangen, muß das Retinoblastoma-Protein (Rb) hyperphosphoryliert werden, das heißt von seinem aktiven in den inaktiven Zustand übergehen (71). Rb kann sowohl durch den CDK4/Zyklin-D wie auch den CDK2/Zyklin-E-Komplex phosphoryliert werden. Die Phosphorylierung bewirkt eine Dissoziation des Rb-Proteins von einem Komplex mit Transkriptionsfaktoren (beispielsweise E2F), und die Folge ist wahrscheinlich die Aktivierung von Genen, die für den G1/S-Phasen-Übergang wichtig sind. Auf der anderen Seite können CKI-Proteine (wie p16, p21 und p27) die Phosphorylierung des Rb-Proteins durch ihre Bindung an den CDK4/Zyklin-D- und CDK2/Zyklin-E-Komplex verhindern und damit auch die Progression einer Zelle durch die G1-Phase unterbrechen (28, 58, 67, 78, 85). Ferner sind in der G1-Phase weitere Kontrollpunkte aktiv, die unter anderem mit dem p53-Tumorsuppressor-Protein zusammenhängen. So führen DNA-Schäden in einer Zelle zur Anhäufung des p53-Proteins. Dadurch wird die Produktion des p21-Proteins (auch WAF1, CIP1 und SDI1 genannt), ein CDK-Inhibitor, induziert (13, 28, 38). p21 bindet und inaktiviert verschiedene CDK/Zyklin-Komplexe wie auch den CDK/Zyklin-E-Komplex und verlangsamt oder verhindert dadurch den Eintritt der betroffenen Zelle in die S-Phase. Dies gibt der Zelle Zeit, die beschädigte DNA zu reparieren oder einen programmierten Zelltod (Apoptose) einzuleiten (14, 28, 85, 87).



Grafik 3

DÄ

Analysen wurden auch an Duodenal- oder Pankreasgang-Sekreten erfolgreich durchgeführt (3, 7, 8, 42, 72, 73, 81). Das praktisch durchgehende Auftreten von K-ras-Mutationen in Pankreaskarzinomen und der Nachweis von K-ras-Mutationen in potentiellen Vorläuferläsionen werden der-

chen, welches tatsächliche Karzinomrisiko ein Patient mit einer nachgewiesenen K-ras-Mutation hat. Die bisher publizierten Analysen konzentrierten sich auf Patienten mit einem bekannten Karzinom oder mit einer chronischen Pankreatitis. Faßt man die Ergebnisse der oben zitierten Stu-

Prognose

Prognostische Faktoren der Pankreaskarzinom-Erkrankung werden zukünftig, abhängig von der Entwicklung neuer Therapieformen für diese Karzinomart, an Bedeutung gewinnen. Auch ist die Erforschung derjenigen Faktoren, die für das aggressive klinische Verhalten des Pankreaskarzinoms verantwortlich sind, von großem Interesse.

Eine kombinierte Analyse der genetischen Veränderungen in individuellen Tumoren und der häufig in Pankreaskarzinomen nachgewiesenen chromosomalen Verluste könnte die Unterscheidung zwischen Patientengruppen mit unterschiedlicher Prognose ermöglichen. Dies mag helfen, diejenigen Patienten zu identifizieren, die von einer aggressiveren Therapie (beispielsweise adjuvante Chemotherapie nach operativer Tumoresektion) profitieren würden, und auf der anderen Seite die Patienten, bei denen die erwarteten Nebenwirkungen einer Therapie den zu erreichenden Nutzen übersteigen würden. Für das kolorektale Karzinom konnte gezeigt werden, daß der Verlust des langen (q-)Arms von Chromosom 18 oder der Verlust der Expression eines bestimmten Tumorsuppressor-Gens (DCC) in Stadium-II-Karzinomen mit einer deutlich schlechteren Prognose verknüpft ist (36, 69). Welche therapeutischen Konsequenzen sich aus diesen Ergebnissen ergeben könnten, ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Für das Pankreaskarzinom ist eine genetische und klinische Analyse vergleichbaren Umfangs noch nicht verfügbar.

Mit der Entwicklung von verbesserten Therapieansätzen für das Pankreaskarzinom werden auch sensitivere Stagingmethoden für Pankreaskarzinom-Patienten notwendig werden. So wird man zukünftig auch durch molekularbiologische Methoden versuchen, Patienten mit und ohne metastatische Krebserkrankung oder Metastasenrisiko zu unterscheiden. Derzeit geht man davon aus, daß eine solche Unterscheidung zum Beispiel an Hand der Anzahl von zirkulierenden Tumorzellen im peripheren Blut oder der Anzahl der disseminier-

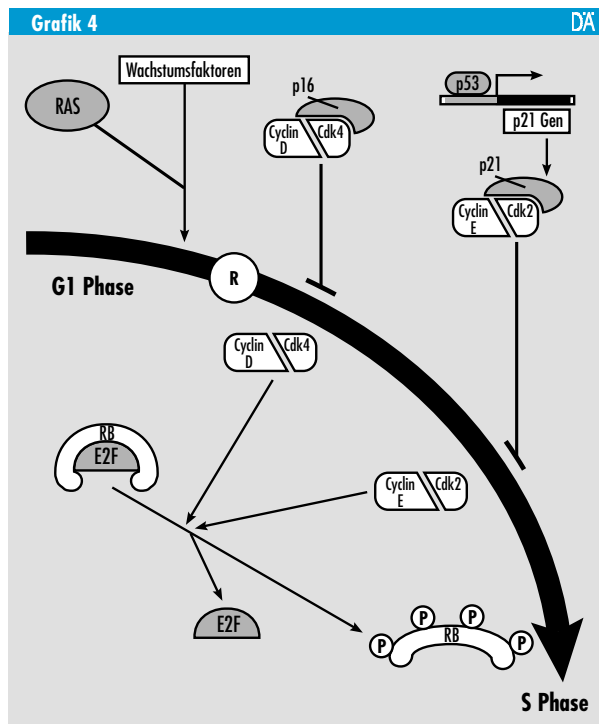
ten Tumorzellen im Knochenmark möglich werden wird. Auch ein Staging/Grading durch die molekulare Analyse des Tumorgewebes oder der Lymphknoten sollte eine höhere Sensitivität beim Nachweis von neoplastischen Zellen gegenüber routinopathologischen Methoden aufweisen und helfen, den individuellen Tumor besser klassifizieren zu können. Viel-

sentieren; normales Knochenmark enthält üblicherweise keine epithelialen Zellen) (44, 53).

Therapie

Die größten Aussichten, erfolgreich am infausten Schicksal der Pankreaskarzinom-Patienten etwas ändern zu können, bestehen fraglos darin, ein drohendes Karzinom rechtzeitig zu identifizieren. Hierzu müssen die individuellen genetischen und epigenetischen Risikofaktoren, gekoppelt an ein sensitives Frühdiagnoseverfahren, erfaßt werden. Ohne die Entwicklung neuer Therapiekonzepte wird jedoch auch eine verbesserte Frühdiagnostik kaum dem Patienten nutzen, da überzeugende therapeutische Möglichkeiten derzeit, abgesehen von einer zu diskutierenden „prophylaktischen“ Pankreatektomie, nicht bestehen. Anders als beim kolorektalen Adenom ist die einfache endoskopische Identifizierung und Entfernung einer neoplastischen Läsion im Pankreas auch in Zukunft kaum vorstellbar. Daher sind Fortschritte in der Frühdiagnostik entscheidend auch an Fort-

schritte in der Therapie früher duktaler neoplastischer Läsionen geknüpft. Eine Möglichkeit wäre eine pharmakologische Therapie, die in der Lage ist, eine neoplastische Veränderung (abhängig von ihrem Genveränderungsmuster, wie es durch die Analyse des Pankreassafts des betreffenden Patienten identifiziert wurde) zur Rückbildung zu zwingen. Auch müssen neue Therapieansätze in der Behandlung nicht resektabler Karzinome oder Tumorresiduen gefunden werden. Die möglichst umfassende Aufklärung der genetischen Veränderungen in Pankreasneoplasien sollte



Schematische Darstellung des DPC4-Signalwegs. Nach erfolgter Stimulation des Rezeptors (beinhaltet die Bindung eines bestimmten Proteins aus der Familie der TGFβ-Liganden an die entsprechende TGFβ-Typ-I/II-Rezeptorkombination) wird das Signal vom Rezeptor über eine Serin/Threonin-Kaskade weitergeleitet. Dadurch kommt es zu einer zytoplasmatischen Phosphorylierung des DPC4-Proteins. Im Anschluß an die Phosphorylierung findet sich das DPC4-Protein im Zellkern und scheint dort direkt oder indirekt die transkriptionelle Aktivierung von bisher unbekanntem Genen zu bewirken.

versprechende Befunde in dieser Richtung sind bereits bei anderen Tumortypen erbracht worden. So wurden in einer Untersuchung von p53 und K-ras an Lymphknoten von Patienten mit einem Pharynx- oder kolorektalen Karzinom neoplastische Zellen entdeckt, die der Routinehistopathologie entgangen waren (6, 30). Auch bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen, die nach dem konventionellen Staging keine Lymphknotenmetastasen (N₀) hatten, konnten isolierte epitheliale Zellen im Knochenmark gefunden werden (die wahrscheinlich Tumorzellen reprä-

helfen, um beispielsweise biochemische Alterationen einer neoplastischen Zelle (als direkte oder indirekte Folge der Genveränderungen und/oder Veränderungen in den Signalkaskaden der jeweils beteiligten Tumorgene) als Angriffspunkt für die Entwicklung neuer Therapeutika nutzbar zu machen. Ein Beispiel für diese Therapierationale stellt die Unterdrückung der sogenannten Ras-Farnesyl-Transferase durch spezifische Inhibitoren dar. Diese Inhibitoren sind in der Lage, die Bindung des Ras-Proteins an die Zellmembran zu hemmen. Dadurch läßt sich das Ras-Signal und damit die transformierende Eigenschaft von Ras unterdrücken (27, 35, 41). Inzwischen wurden verschiedene Farnesyl-Transferase-Inhibitoren entwickelt, die derzeit in ihrer Wirkung auf neoplastische Zellen untersucht werden (17, 50, 65). Insgesamt hat sich jedoch die aktuelle Situation therapeutischer Möglichkeiten zur Bekämpfung des Pankreaskarzinoms durch gentechnische Metho-

den (trotz weniger Fortschritte in anderen Tumorarten) noch nicht verändert.

Schlußbemerkung

Aufgrund der Forschungserfolge der letzten Jahre zählt das Pankreaskarzinom heute zu den molekular am besten charakterisierten Tumorarten. Wir kennen inzwischen ein Onkogen (K-ras) und vier Tumorsuppressor-Gene (p53, p16, DPC4 und BRCA2), die in Pankreaskarzinomen verändert sind. Ferner konnte gezeigt werden, daß Keimbahnmutationen in den Genen p16 und BRCA2 zum Pankreaskarzinom prädisponieren können. Allerdings haben diese neu gewonnenen Erkenntnisse derzeit noch wenig Konsequenzen für die tägliche Patientenbetreuung. Da ein großer Anteil der besprochenen molekularen Befunde gerade erst ein oder zwei Jahre bekannt ist, wäre eine solch kurzfristige Umsetzung nicht zu erwarten und auch

noch verfrüht. Aktuelle Anstrengungen der Pankreastumorforschung konzentrieren sich unter anderem auf die Entwicklung von sensitiven Frühdiagnoseverfahren. Auch ist zu erwarten, daß in der Zukunft von der Molekularbiologie Impulse zur Entwicklung dringend notwendiger neuer therapeutischer Konzepte für dieses aggressive Tumorleiden ausgehen werden.

Zitierweise dieses Beitrags:

Dt Ärztebl 1997; 94: A-3342-3350 [Heft 49]

Die Zahlen in Klammern beziehen sich auf das Literaturverzeichnis, das über den Sonderdruck und über die Internetseiten (unter <http://www.aerzteblatt.de>) erhältlich ist.

Anschrift für die Verfasser

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

Homocysteinspiegel und Herzinfarkttrisiko

Plasmahomocystein, ein kürzlich entdeckter weiterer Risikofaktor für die koronare Herzerkrankung (KHK), wurde in einer norwegischen Studie hinsichtlich des Mortalitätsrisikos bei KHK untersucht. 587 Patienten mit angiographisch gesicherter KHK und bekannten Homocysteinwerten, die zwischen 1991 und 1992 entweder mit Bypass-Chirurgie, perkutaner transluminaler Angioplastie oder konservativ behandelt worden waren, wurden im Mittel über 4,6 Jahre nachuntersucht. 10,9 Prozent der Patienten waren in dieser Zeit verstorben, dabei zeigte sich eine strenge Korrelation zwischen der Höhe der Homocysteinwerte und der Mortalität. Bei Serumspiegeln unter 9 µmol/l waren unabhängig von der weiteren Therapie 3,8 Prozent der Patienten verstorben, bei Patienten mit Werten über 15 µmol/l waren es dagegen 24,7 Prozent. Überraschenderweise waren die Homocysteinspiegel nur schwach mit dem Schweregrad der KHK assoziiert, da-

gegen zeigte sich mit bereits stattgehabten Infarkten, mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion oder mit den Serumkreatininwerten eine strenge Assoziation. Somit erweist sich nach Ansicht der Autoren das Plasmahomocystein als guter prädiktiver Wert für die KHK-Mortalität. acc

Nygaard O et al.: Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.

Dr. Nygaard, Department of Heart Disease, Haukeland University Hospital, 5021 Bergen, Norwegen.

Ulkus und Magenkrebs

In jüngster Zeit sind einige epidemiologische Studien publiziert worden, die darauf hinweisen, daß die chronische *Helicobacter-pylori*-Gastritis für 80 bis 90 Prozent aller Magenkarzinome verantwortlich zu machen ist. Dabei ist aufgefallen, daß beim Ulcus duodeni zwar *Helicobacter pylori* praktisch immer nachweisbar ist, das Risiko, ein Magenkarzinom zu entwickeln, jedoch eher niedrig ist. Die Autoren haben Daten von Krankenhäusern des US

Department of Veterans Affairs ausgewertet und zwei Populationen von 1 069 Personen mit Kardiakarzinom und 3 078 Personen mit einem Karzinom von Magenkorpus und -antrum mit einer Kontrollgruppe von 89 082 Personen ohne Magenkrebs verglichen. Die Anamnese eines Ulcus ventriculi war mit einem um den Faktor 1,53 erhöhten Magenkrebsrisiko vergesellschaftet, während beim Ulcus duodeni das Krebsrisiko um 32 Prozent vermindert war. Auch im operierten Magen war das Krebsrisiko um den Faktor 1,86 erhöht, nicht jedoch für das Karzinom der Kardialia. Beim Kardiakarzinom waren überwiegend weiße Personen betroffen, bevorzugt Männer. Auch in dieser Studie zeigt sich, daß unter pathogenetischen Aspekten zwischen dem Kardiakarzinom und dem Karzinom von Antrum und Korpus differenziert werden muß. w

Molloy RM, Sonnenberg A: Relation between gastric cancer and previous peptic ulcer disease. *Gut* 1997; 40: 247-252.

Gastroenterology Section, Department of Veterans Affairs Medical Center, 111-F, 2100 Ridgecrest Drive SE, Albuquerque, NM 87108, USA.