

Lungentumoren

Bertram Opalka, Sebastian Bauer, Jochen Schütte

Innere Klinik und Poliklinik
(Tumorforschung), Universitätsklinikum Essen

Zusammenfassung

Bronchialkarzinome stellen in den Industrieländern eine Haupttodesursache dar. Ihre Pathogenese beruht auf der Akkumulation genetischer Schäden, die Protoonkogene, vor allem RAS, und Tumorsuppressorgene wie p53 und RB betreffen. Allelverluste an zahlreichen Chromosomenarmen deuten auf die Beteiligung weiterer Tumorsuppressorgene hin. Ein wichtiger Mechanismus zur funktionellen Inaktivierung von Genen ist die Promotormethylierung, die bereits in präneoplastischem Gewebe nachweisbar ist. Weitere an der Pathogenese beteiligte Mechanismen sind die Aktivierung autokriner Signalkaskaden, die tumorinduzierte Neoangiogenese und die Fähigkeit zur Metastasierung. Es gibt allerdings noch keinen genetischen Marker, der so eindeutig malignem Wachstum zuzuordnen ist, dass er für eine Früherkennung routinemäßig einzusetzen wäre. Die zunehmende Analyse der genetischen Alterationen bei Bronchialkarzinomen und die Verfügbarkeit neuer Techniken wie der Array-Analysen lässt jedoch für die Zukunft auf solche Marker hoffen. Darüber hinaus ergeben sich aus der Kenntnis der molekularen Aberrationen neue Ansätze zu rationalen Therapieoptionen, beispielsweise mit Rezeptorkinaseinhibitoren oder Immuntherapie.

Schlüsselwörter

Bronchialkarzinome, Protoonkogene, Tumorsuppressorgene, Promotormethylierung, Allelverluste, autokrine Regelkreise, molekulare Marker

Summary

Lung cancer is one of the major causes of death in the industrialized countries. Its pathogenesis involves accumulation of genetic alterations affecting proto-oncogenes, mainly RAS, and tumor suppressor genes like p53 and RB. Allelic losses at numerous chromosomal arms suggest the involvement of various other tumor suppressor genes. An important mechanism of expressional silencing is promoter methylation. Further pathogenetic mechanisms include the activation of autocrine signalling loops, tumor-induced neoangiogenesis, and the ability to metastasize. There is, however, up to now no genetic marker that is significantly associated with malignant growth in a way that it could be used for routine early detection of lung cancer. The ongoing analysis of genetic alterations and the advent of new techniques like array analysis raise hope for the availability of such markers in the near future. Moreover, knowledge of molecular aberrations should give rise to rational and efficient new concepts of lung cancer therapy, e.g. use of receptor kinase inhibitors or immunotherapy.

Key words

Lung cancer, proto-oncogenes, tumor suppressor genes, promoter methylation, allelic losses, autocrine systems, molecular markers

Einleitung

Bronchialkarzinome stellen die überwiegende Mehrzahl von Lungentumoren dar und gehören zu den häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrieländern. Allein in Deutschland sterben jährlich etwa 37.000 Patienten an einem Tumor der Bronchien oder der Lunge. Dabei zeigt sich in den letzten Jahren insgesamt eine Stabilisierung der Mortalität; allerdings wird weiterhin noch eine Zunahme der Erkrankung bei Frauen beobachtet. Hauptrisikofaktor stellt das Zigarettenrauchen dar, das in bis zu 90% aller Fälle als ursächlich angesehen wird.

Klinisch und pathologisch werden im wesentlichen kleinzellige und nichtkleinzellige Bronchialkarzinome unterschieden. Die Majorität von 80% aller Bronchialkarzinome machen die nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome aus, die sich weiter in Plattenepithelkarzinome, Adenokarzinome und großzellige Bronchialkarzinome unterteilen lassen. Daneben werden noch einige seltene histologische Entitäten abgegrenzt wie z.B. das neuroendokrin differenzierte Karzinoid, das adenoid-zystische Karzinom, das maligne Melanom des Bronchus sowie Sarkome der Lunge, welche klinisch allerdings nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Da Bronchialkarzinome in frühen, prognostisch günstigeren Krankheitsstadien selten mit einer klinischen Symptomatik einhergehen, werden sie zu meist in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert. Das häufige Vorliegen

Tab 1 Wichtige molekulare Aberrationen bei Bronchialkarzinomen, verändert nach Zöchbauer-Müller et al, 2002, Wistuba et al, 2001

Genetische Schäden / Aberrationen	Beteiligte Gene
An autokrinen / parakrinen Regelkreisen beteiligte Gene / Genprodukte	EGFR, EGF, GRP/BN, NMB, NMBR, GRPR, IGF, HGF, MET,
Aktivierte Protoonkogene	EGFR, HER2/neu, KRAS, MYC, BCL-2, CyclinD1
Funktionell inaktivierte Tumorsuppressorgene	p53, RB, p16, FHIT, RASSF1A, APC,
LOH-Loci mit unbekanntem Tumorsuppressorgen	1p13, 1p36, 3p14-cen, 3p21.3-22, 4p15.1-15.3, 4q25-26, 4q33-34, 5q21-22, 6p21.3, 6q25, 9p21, 11p13, 13q14, 17p13.1, 18q21.1, 22q13-qter
Gene mit aberranter Promotor-methylierung	APC, CDH13, DAPK, FHIT, MGMT, p16, RAR β , TIMP-3, RASSF1A
Verlust von Komponenten der Apoptoseregulation	
Aktivierung der Telomerase und Immortalisierung	
Tumorinduzierte Neoangiogenese	
Verlust von Komponenten der DNA-Reparatur	

systemischer Metastasen vornehmlich in Leber, Nebennieren, Gehirn und Skelett, schließt dann in der Regel einen kurativen Therapieansatz aus. Trotz der Optimierung chirurgischer Operationstechniken sowie der Entwicklung neuer chemotherapeutischer Wirkstoffe hat sich die Prognose in den letzten Jahren bei fortgeschrittenen Stadien mit hämatogener Metastasierung nur gering verbessert. Die kumulative 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei etwa 5-10%.

Wie die meisten Tumorerkrankungen sind auch Bronchialkarzinome eine Folge der Akkumulation genetischer Schäden. Hierzu gehören die aberrante Expression von Wachstumsfaktoren und ihrer Rezeptoren, die Mutation oder deregulierte Expression von Protoonkogenen oder Regulatoren des Zellzyklus und/oder der Apoptose, die Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen durch Deletion, Mutation oder Promotormethylierung, Aktivierung der tumorstimulierten Angiogenese, Reaktivierung der Telomeraseaktivität in den Tumorzellen sowie der Verlust der Fähigkeit zur Reparatur von DNA-Schäden (Tab. 1). Die genaue Kenntnis dieser Läsionen und ihrer physiologischen Konsequenzen dient einerseits dem Verständnis der Pathomechanismen, bietet prinzipiell aber auch die Möglichkeit, neue Verfahren zur Früherkennung bzw. rationale Behandlungsmöglichkeiten zu entwickeln. Diese Alterationen wurden kürzlich in einigen Übersichtsartikeln ausführlich beschrieben (Zöchbauer-Müller et al, 2002; Wistuba et al, 2001; Sekido et al, 1998).

Alterationen an Protoonkogenen

Eine wichtige Klasse der in Tumoren veränderten Gene stellen die Protoonkogene dar, deren Proteinprodukte in der Regel die Zellproliferation positiv regulieren und deren Mutationen sich dominant auswirken.

RAS

Die Gene der RAS-Familie, HRAS, NRAS, KRAS, gehören als Signalvermittler zu den GTP-bindenden Proteinen, die rezeptorvermittelte wachstumsfördernde Signale in regulierbarer Form weiterleiten. Bei mutierten Formen ist eine GTP-spaltende Aktivität nicht vorhanden, so dass stimulierende Signale permanent weitergegeben werden. Nichtkleinzellige Bronchialkarzinome weisen RAS-Mutationen in 15-20% der Fälle auf; Adenokarzinome sogar in bis zu 30 % aller Fälle, wobei die Mutationen zu über 90% das KRAS-Gen betreffen. RAS-Mutationen gehen mit einer ungünstigen Prognose einher (Zöchbauer-Müller et al, 2002), allerdings gibt es hier erste Ansätze zu einer gezielteren Therapie: RAS-Proteine tragen einen Farnesylrest, um sie an den Ort ihrer Funktion, nämlich an die Zellmembran zu binden. Es ist gelungen, Farnesyltransferaseinhibitoren zu entwickeln, die spezifisch mutierte RAS-Moleküle inhibieren und die bereits in klinischen Studien geprüft werden (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin; Arteaga et al, 2002).

MYC

Das MYC-Protoonkogen kodiert für einen Transkriptionsfaktor, der proli-

ferationsstimulierende, unter bestimmten Bedingungen aber auch apoptoseinduzierende Aktivität hat. In Tumoren werden die Gene der MYC-Familie vornehmlich durch Überexpression mit oder ohne Genamplifikation dereguliert. Amplifikation des MYC-Gens wurde bei 18-31% der kleinzelligen und 8-20% der nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome gefunden (Wistuba et al, 2001 und Referenzen darin).

BCL-2

Der programmierte Zelltod, die Apoptose, spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung vielzelliger Organismen und ihrer zellulären Homöostase und wird durch eine Vielzahl pro- und antiapoptotischer Proteine reguliert. Bei manchen Molekülen wie z.B. MYC sind diese Aktivitäten nicht streng voneinander zu trennen, sondern hängen vom Gesamtzustand der Zelle ab. Ein wichtiges antiapoptotisches Molekül ist BCL-2, das in einigen Tumortypen überexprimiert wird und so zum Überleben der Zellen beitragen kann. Sowohl bei kleinzelligen (75-95%) als auch bei nichtkleinzelligen (10-35%) Karzinomen wurde eine erhöhte BCL-2-Expression beobachtet (Wistuba et al, 2001), deren prognostische Bedeutung aber nicht eindeutig geklärt ist. So fanden einige Autoren ein besseres therapeutisches Ansprechen bei Patienten mit BCL-2-exprimierenden Tumoren. Trotz dieser Befunde sind klinische Studien mit Antisensekonstrukten geplant, die möglicherweise den Erfolg einer Strahlen- oder Chemotherapie verbessern sollen

Abkürzungsverzeichnis

AIS	amplified in squamous cell carcinoma
APC	adenomatöse Polyposis coli
BCL-2	B-cell CLL/Lymphoma 2
BCR-ABL	Fusionsgen des Breakpoint cluster region-Gens und des humanen Homologs des Abelson murinen Leukämievirusonkogens
CACNA2D2	calcium channel $\alpha 2\delta 2$ auxiliary protein
CDH13	H-Cadherin
CDK4	cycline dependent kinase 4
DAPK	death associated protein kinase
DMBT1	deleted in malignant brain tumors
EGF	epidermal growth factor, epidermaler Wachstumsfaktor
EGFR	epidermal growth factor receptor, epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor
FHIT	fragile histidine triad
GRP/BN	gastrin-releasing peptide, bombesin like peptide
GRPR	gastrin releasing peptide receptor, GRP-Rezeptor
GTP	Guanosin-Triphosphat
HGF	hepatocyte growth factor, Hepatozytenwachstumsfaktor
hOGG1	DNA-Reparatur-Protein
hMLH1	DNA-Reparatur-Protein
IGFR	insulin-like growth factor receptor, Rezeptor für den insulinähnlichen Wachstumsfaktor
KIT	Tyrosinkinase-Rezeptor
LOH	Loss of heterozygosity, Allelverlust
MET	MET-Protoonkogen, Rezeptor für HGF
MGMT	O ⁶ -methylguanine-DNA methyltransferase
MMAC1	mutated in multiple advanced cancers
MYC	v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog
NMB	Neuromedin B
NOTCH-3	notch homolog 3
p16 ^{INK4} , p16	Gen für einen CDK-Inhibitor, Tumorsuppressorgen
PCR	polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion zum Vervielfältigen von DNA
PTEN	tensin homolog deleted on chromosome 10
RAR β	retinoic acid receptor β
RAS, HRAS; NRAS; KRAS	v-ras Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog, Harvey-RAS, Neuroblastom-RAS, Kirsten-RAS
RASSF1	RAS association domain family 1A
RB	Retinoblastom
RON	putatives Tumorsuppressorgen
SEMA3B	Semaphorin 3B
SEMA3F	Semaphorin 3F
TIMP-3	tissue inhibitor of metalloproteinase 3
TSG101	tumorsuppressor gene 101-Gen
VEGF	vascular endothelial growth factor, proangiogenetischer Wachstumsfaktor
WNT	wingless type MMTV integration site family-Gene, Liganden für Frizzled-Rezeptoren

(Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Weitere Alterationen bei Protoonkogenen

Weniger gut charakterisiert ist die Überexpression des NOTCH-3-Gens, dessen Produkt bei der Regulation der Differenzierung eine Rolle spielt, und die mit einer Chromosom 19-Translokation assoziiert ist. Ein weiterer Amplifikationsloкус findet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 3 und kodiert für ein p53-Homolog, AIS (amplified in squamous cell carcinoma). Eine Rolle dieser Amplifikation und Überexpression für die Klinik ist bis jetzt unklar (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Tumorsuppressorgene

Tumorsuppressorgene kodieren nach klassischer Definition für negative Regulatoren der Zellproliferation. In Tumorzellen sind sie in der Regel funktionell inaktiviert durch Deletionen, Punktmutationen, andere Mutationen oder, wie in jüngerer Zeit immer häufiger nachgewiesen wird, durch transkriptionelle Inaktivierung bedingt durch Promotormethylierung.

RB

Ein Schlüsselmolekül für die Regulation des Zellzyklus ist RB, ein Genprodukt, das in Retinoblastomen inaktiviert ist. Zusammen mit der zyklin-abhängigen Kinase CDK4, Cyclin D1 und deren Inhibitor p16^{INK4} bildet es einen zentralen Teil der Maschinerie, die den Zellzyklus reguliert. Bei Bronchialkarzinomen werden inaktivierende Mutationen in entweder RB selbst oder p16^{INK4} zu mehr als 90% gefunden, was darauf hindeutet, dass dieser Mechanismus in nahezu allen Tumorzellen inaktiviert ist. Der prognostische Wert von RB-Verlusten ist nicht eindeutig geklärt (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

p53

Ein anderes Tumorsuppressorgenprodukt von herausragender Bedeutung bei vielen Tumoren ist der Transkriptionsfaktor p53. Er spielt eine Rolle bei der Überwachung der Integrität des Genoms, der Reparatur von

DNA-Schäden und der Induktion von Apoptose. Insbesondere ist die Präsenz von nichtmutiertem p53 vielfach Voraussetzung für die Apoptoseinduktion bei einer Chemo- oder Strahlentherapie. p53-Mutationen resultieren in einer längeren Halbwertszeit der Moleküle, wodurch sie sich im Gegensatz zum Wildtyp gut immunhistochemisch darstellen lassen. Auf diese Weise wurde eine abnormale p53-Expression in 40-70% der kleinzelligen und in 40-60% der nichtkleinzelligen Bronchialkarzinome gefunden. p53-Mutationen waren in Metaanalysen bei Adenokarzinomen, nicht jedoch bei Plattenepithelkarzinomen mit einem signifikant schlechteren Verlauf der Erkrankung korreliert (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Die hohe Rate von p53-Mutationen und seine besondere Rolle für die therapieinduzierte Apoptose haben dazu geführt, dass beim Bronchialkarzinom genterapeutische klinische Studien mit p53 durchgeführt wurden. In Einzelfällen wurden dabei lokale Remissionen in transduziertem Gewebe beobachtet (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin, Swisher et al, 2002).

3p-Alterationen und weitere Tumorsuppressorgene / -loci

Bronchialkarzinome weisen in mehr als 90% der kleinzelligen und mehr als 80% der nichtkleinzelligen Karzinome Deletionen und / oder Allelverluste am Chromosomenarm 3p auf, die vielfach auch schon zytogenetisch detektierbar waren. Konsequenterweise wurde in dieser Region besonders intensiv nach Tumorsuppressorgen gesucht. Neben dem VHL-Gen in 3p25-26 wurden mehrere andere Gene isoliert, die entweder in Tumoren eine aberrante Expression aufwiesen und/oder tumorsupprimierende Aktivität in experimentellen Systemen zeigten. Hierzu gehören das RASSF1-Gen in 3p21.3, das unterschiedliche Transkripte exprimiert, von denen eins, RASSF1A, häufig in Bronchialkarzinomen fehlt, wobei Promotormethylierung als Mechanismus für die Negativregulierung nachgewiesen wurde. Darüber hinaus

hatten Patienten mit methyliertem Promotor des Gens eine kürzere Überlebenszeit (Zöchbauer-Müller et al., 2002 und Referenzen darin).

Das FHIT-Gen aus 3p14 weist in 80% der kleinzelligen und 40% der nichtkleinzelligen Karzinome aberrante Transkripte auf; bei ca. 50% aller Proben war eine FHIT-Expression nicht nachweisbar. Dies deutet auf eine mögliche Rolle von FHIT als Tumorsuppressorgen in der Pathogenese von Bronchialkarzinomen hin. Darüber hinaus konnte sich bei Zelllinien eine Reversion des malignen Phänotyps durch eine Überexpression von FHIT zeigen lassen, so dass ein Einsatz von FHIT als therapeutisches Transgen möglich erscheint (Zöchbauer-Müller et al., 2002 und Referenzen darin).

Andere pathogenetisch bedeutsame Tumorsuppressorgene sind das RAR β -Gen, das für einen wichtigen Retinolsäurerezeptor kodiert, für den aberrante Expression und Promotormethylierung bei ca. 50% von Lungentumoren nachgewiesen wurde. Andere Kandidatengene sind die auf 3p lokalisierten Reparaturgene hOGG1, hMLH1, die Semaphoringene SEMA3B und SEMA3F, die Tyrosinkinase RON und das Gen für eine auxiliäre Untereinheit eines Kalziumkanals, CACNA2D2. Häufig wurde bei Bronchialkarzinomen auch der Verlust der Expression des APC-Gens gefunden, wodurch eine Signalkaskade aktiviert wird (WNT-Weg), durch die proliferationsfördernde Gene aktiviert werden (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Weitere Regionen von besonderem Interesse für die Suche nach Tumorsuppressorgen für Bronchialkarzinome sind die Chromosomenarme / -banden 1p, 2q, 4p, 5q, 6p, 8p, 8q, 9p (mit p16), 10p, 10q, 11p, 13q (mit RB), 14q, 15q, 17p (mit p53), 17q, 18q, 19q, 22q, Xp und Xq (Tabelle 1; Wistuba et al., 2001; Zöchbauer-Müller et al, 2002). Aus ihnen wurden z. T. Gene wie PTEN / MMAC1, TSG101 oder DMBT1 isoliert, deren pathogenetische Rolle aber noch weiterer Abklärung bedarf (Wistuba et al, 2001)

Aberrante Promotormethylierung

Die Methylierung von CpG-Motiven im Promotorbereich von Tumorsuppressorgen kann zu deren funktioneller Inaktivierung führen und damit zur Tumorgenese beitragen. Bei Bronchialkarzinomen wurden solche Methylierungen bei zahlreichen Genen gefunden, denen eine pathogenetische Bedeutung zugeschrieben wird. Dazu gehören APC, RAR β , CDH13, FHIT, RASSF1A, TIMP-3, p16^{INK4}, DAPK. Einigen dieser Alterationen konnte prognostische Bedeutung zugeordnet werden; so konnte eine kürzere Überlebenszeit bei Patienten beobachtet werden, bei denen der APC- oder RASSF1A-Promotor methyliert waren. Methylierte Promotor-Sequenzen lassen sich in zirkulierender DNA im Serum nachweisen. Die Verfügbarkeit demethylierender Substanzen wie 5-aza-2'-Deoxycytidin eröffnet möglicherweise diesbezügliche spezifische Therapieoptionen (Zöchbauer-Müller et al., 2002 und Referenzen darin).

Autokrine / parakrine wachstumsstimulierende Systeme

Autokrine oder parakrine Regulationssysteme bestehen in der Regel aus einem Rezeptor für beispielsweise einen Wachstumsfaktor und seinem Liganden, die von derselben (autokrin) oder verschiedenen Zellen (parakrin) in einem Tumorgewebe exprimiert werden können; solche Systeme spielen bei Bronchialkarzinomen eine bedeutende Rolle (Zöchbauer-Müller et al., 2002 und Referenzen darin; Sekido et al, 1999 und Referenzen darin). Eines der wichtigsten autokrinen Systeme stellt der epidermale Wachstumsfaktor EGF und sein Rezeptor EGFR, ein Tyrosinkinaserzeptor, dar. Der EGFR ist bei nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen mit und ohne Amplifikation des Gens häufig überexprimiert. Von klinischer Bedeutung ist, dass sich die Überexpression immunhistochemisch einfach bestimmen lässt und dass es verschiedene neue, den Rezeptor blockierende Substanzen in Form von Antikörpern oder Kinaseinhibitoren gibt. Diese befinden sich derzeit in klinischen Studien (Arteaga et al, 2002).

Weitere autokrine Regelkreise stellen das gastrinreleasing Peptid (gastrin-releasing peptide, GRP/BN) und andere bombesinähnliche Wachstumsfaktoren wie Neuromedin B (NMB) dar. Ihre Rezeptoren gehören zu den G-Protein-gekoppelten Bombesinrezeptoren. Diese Wachstumsfaktoren spielen eine bedeutende Rolle bei der normalen Lungenentwicklung. Der NMB-Rezeptor wird üblicherweise in nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen exprimiert, während NMB selbst sowohl in nichtkleinzelligen wie auch kleinzelligen Bronchialkarzinomen zu finden ist und zumindest bei ersteren Bestandteil eines autokrinen Regulationssystems sein könnte. Von pathogenetischer Bedeutung sind auch der Hepatozytenwachstumsfaktor HGF (hepatocyte growth factor) und die Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren IGF (insulin-like growth factor) I und II und ihre Rezeptoren MET und IGFR sowie HER2/neu und sein Ligand Heregulin. Von möglicher Bedeutung ist hierbei HER2/neu, da dieser Rezeptor auch bei anderen Tumorerkrankungen, vor allem beim Mammakarzinom überexprimiert wird und durch den bereits für den klinischen Einsatz zugelassenen therapeutischen Antikörper Trastuzumab (Herceptin[®]) blockiert werden kann (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Bei einem Teil kleinzelliger Bronchialkarzinome wurde eine aberrante Expression des Tyrosinkinaserzeptors für den Stammzellfaktor, KIT, beobachtet. Dies könnte insofern von möglicher therapeutischer Bedeutung sein, als sich gezeigt hat, dass sich die KIT-Proteinkinase durch das neue, bisher zur Behandlung der BCR-ABL-positiven chronischen myeloischen Leukämie und der gastrointestinalen Stromazelltumoren entwickelten Medikaments Imatinib (STI571) sehr effizient hemmen lässt (Arteaga et al., 2002).

Telomeraseaktivierung und Neoangiogenese

Telomerase ist ein Enzymkomplex, der die terminalen Strukturen der Chromosomen, die Telomere, verlängern kann, die sich normalerweise bei

jeder Zellteilung verkürzen und so möglicherweise die Anzahl der Zellteilungen begrenzen. Im erwachsenen Organismus ist die Telomerase nur in Keimzellen oder proliferierenden Zellen des Immunsystems sowie in Stammzellen der Wechselgewebe, aber auch in den meisten Tumorzellen aktiv. Ca. 80% der nichtkleinzelligen und die Majorität der kleinzelligen Bronchialkarzinome weisen eine hohe Telomeraseaktivität auf, die bei nichtkleinzelligen Karzinomen mit erhöhter Zellproliferation und fortgeschrittenen Stadien assoziiert ist (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Ein weiteres Charakteristikum solider Tumoren ist die tumorspezifische Neoangiogenese, die durch die Expression angiogenetischer Wachstumsfaktoren wie VEGF induziert wird. Ohne die Versorgung durch Blutgefäße könnte ein Tumor nur zu einer Größe von wenigen Millimetern auswachsen. VEGF wird häufig von Bronchialkarzinomen produziert, und diese Expression ist bei nichtkleinzelligen Karzinomen mit einer schlechten Prognose assoziiert. Ebenso stellt eine hohe Anzahl von Mikrogefäßen im Tumor oder dessen Umgebung einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor bei nichtkleinzelligen Karzinomen dar (Zöchbauer-Müller et al, 2002 und Referenzen darin).

Tumorspezifische Expressionsmuster (Array-Technik)

Eine relativ neue, aber sich schnell entwickelnde Technik zur genetischen Analyse bzw. Expressionsanalyse ist die Array- oder Chip-Technik, die darauf beruht, durch miniaturisierte Hybridisierungen die Expression einer Vielzahl von Genen (bis zu >10.000) in einem Experiment zu bestimmen. Mit Hilfe dieser Methodik hofft man, physiologische Subgruppen aufgrund dieser spezifischen Expressionsmuster zu identifizieren und diese mit klinischen Parametern zu korrelieren, um die Patienten dann gezielt nach ihren Bedürfnissen zu therapieren. In einer jüngeren Studie konnte gezeigt werden, dass eine solche Analyse in der Lage war, normales Lungengewebe, kleinzellige, nichtkleinzellige Kar-

zinome, Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome zu unterscheiden. Mehr noch, innerhalb der Adenokarzinome konnten drei Gruppen unterschieden werden, deren Überlebenszeiten sich substantiell unterschieden (Garber et al, 2001). Andere Ansätze gehen dahin, Patienten zu analysieren, die auf bestimmte Medikamente/Therapien ansprechen oder nicht, um anhand solcher Expressionsmuster direkt diejenigen zu identifizieren, die von vorneherein „nonresponder“ wären.

Ein ähnlicher Ansatz versucht, die genomische Variabilität in Form von Einzelnucleotidpolymorphismen (single nucleotide polymorphisms, SNPs) zu gleichen Zwecken nutzbar zu machen und herauszufinden, welcher Genotyp mit physiologischen Merkmalen korreliert (Stichwort „pharmacogenomics“). Darüber hinaus wird versucht, aus der Kenntnis biochemischer Mechanismen der Zytostatikaresistenz und daran beteiligter Gene Patienten individuell zu evaluieren und ihnen nur diejenige Therapie anzubieten, bei der aufgrund der genetischen Konstitution bzw. von Genexpressionsmustern Aussicht auf Erfolg besteht (Rosell et al, 2002).

Expression von Tumorantigenen

In jüngerer Zeit hat sich gezeigt, dass auch bei Bronchialkarzinomen definierte Tumorantigene nachweisbar sind, die prinzipiell vom Immunsystem erkannt werden können (Weynants et al, 1994). Hieraus ergeben sich in Zukunft möglicherweise neue Ansätze zur Immuntherapie (Swisher et al, 2002).

Diskussion

Durch die Anwendung unterschiedlicher Methoden wie klassischer Zytogenetik, molekularer Zytogenetik und positionellem Klonieren wurde eine Vielzahl von Genen identifiziert, die bei Bronchialkarzinomen charakteristische Alterationen aufweisen und möglicherweise bei deren Pathogenese eine Rolle spielen.

Die Allelverluste/Alterationen an zahlreichen Chromosomenarmen, deren betroffene Gene noch nicht identifi-

ziert sind, deuten darauf hin, dass die Tumorgenese von Bronchialkarzinomen ein sehr komplexes Geschehen ist, und dass sich durch die bereits bekannten daran beteiligten Gene nur ein kleiner Teil der deregulierten Signalwege beschreiben lässt.

Für einen Teil dieser Gene ist die Funktion weitgehend klar oder nahelegend. Dies trifft auf die Elemente der autokrinen/parakrinen Wachstumsstimulationswege zu. Ebenso ist die Funktion von Protoonkogenprodukten wie MYC oder RAS bzw. von Tumorsuppressorgenprodukten wie RB, p53 oder p16 zumindest in Grundzügen bekannt. Dies erlaubt der Grundlagenforschung die Einsicht in grundlegende Mechanismen der Pathogenese von Bronchialkarzinomen.

Wie im Falle der EGFR-Überexpression oder der RAS-Mutationen zu sehen ist, gibt es erste Ansätze, bekannte Alterationen mit spezifischen Therapien anzugehen (Arteaga et al, 2002). Darüber hinaus werden Therapieentscheidungen zukünftig möglicherweise auch nach Analysen verschiedener Resistenzmechanismen getroffen werden (Rosell et al, 2002).

Ein wesentliches Problem bei Bronchialkarzinomen ist das Fehlen von frühen Markern, die im Idealfall geeignet wären, zumindest bei Risikogruppen Reihenuntersuchungen mit vertretbarem Aufwand und zu ebensolchen Kosten durchführen zu können. Mit bildgebenden Verfahren wie der Laserfluoreszenzbronchoskopie ist es möglich, relativ frühe Stadien von Dysplasien zu erkennen. Neuere Grundlagenarbeiten zeigen, dass es in Zukunft möglich sein könnte, auch genetische Marker einzusetzen. So konnte eine Arbeitsgruppe zeigen, dass sich bestimmte Mikrosatellitenaberrationen in Serum-DNA von Patienten mit Lungentumoren nachweisen ließen (Sozzi et al, 2001). Ebenso ließen sich aberrante Methylierungen in Tumor-DNA, aber auch in Plasma und Serum von Tumorpatienten nachweisen (Usadel et al., 2002). Soria und Kollegen (2002) wiesen nach, dass sich aberrante Methylierungen

an Promotorsequenzen auch in Bronchiallavagen ehemaliger Zigarettenraucher nachweisen ließen. Dieser Befund weist aber auch schon auf ein Problem solcher Untersuchungen hin, nämlich die mangelnde Spezifität für maligne Stadien. Späte Marker wie RAS-Mutationen sind dann wieder nur in Subgruppen von Tumoren zu finden (Sekido et al, 1998).

Für den Kliniker / Pharmakologen ergeben diese Kenntnisse über Schlüsselmechanismen der Pathogenese die Möglichkeit, neue und vor allem rationale therapeutische Ansätze zu erarbeiten und gezielt Moleküle mit Schlüsselfunktionen anzugreifen. Ein Beispiel hierfür sind die laufenden Studien mit Farnesyltransferaseinhibitoren, die zur Behandlung von Tumoren mit RAS-Mutationen denkbar sind und die Ansätze mit Tyrosinkinaseinhibitoren, mit denen in ersten Studien objektive Tumorremissionen bzw. Tumorstabilisierung beobachtet wurden (Arteaga et al., 2002)

Ausblick

Bislang existieren beim Bronchialkarzinom, abgesehen vom EGFR oder KIT, keine molekularen Marker, die eine mögliche therapeutische Bedeutung haben. In naher Zukunft könnten solche Marker, eventuell am ehesten in Form von Expressionsmusteranalysen mit Array-Techniken, zur Verfügung stehen. Wünschenswert wären vor allem leicht zugängliche Marker zur Früherkennung bei Risikogruppen; bis heute mangelt es bei den vorhandenen jedoch noch an der erforderlichen Spezifität. Die Möglichkeit, genetische Alterationen wie Mikrosatellitenveränderungen oder Promotormethylierungen im Serum nachweisen zu können, sind jedoch vielleicht richtungweisend für neue Verfahren zur Früherkennung und / oder Verlaufskontrolle, und ebenso könnten sie erlauben, prognoseadaptierte Therapiekonzepte zu entwickeln. Vielversprechend sind zukünftig möglicherweise auch die Ansätze zur Immuntherapie.

Literatur

Aufgrund vorgegebener Beschränkungen konnten aus der Fülle der vorhandenen Originalliteratur nur wichtige Übersichtsartikel und spezielle Originalarbeiten zitiert werden.

Arteaga CL, Khuri F, Krystal G, Sebti S (2002) Overview over rationale and clinical trials with signal transduction inhibitors in lung cancer. *Semin Oncol* 29 (Suppl 4):15-26.

Garber ME, Troyanskaya OG, Schlues K, Petersen S, Thaesler Z, Pacyna-Gengelbach M, van de Rijn M, Rosen GD, Perou CM, Whyte RI, Altman RB, Brown PO, Botstein D, Petersen I (2001) Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13784-13789.

Rosell R, Monzó M, Alberola V, Taron M, Barnadas A, Sánchez JM, Manzano JL, Sanchez JJ (2002) Determinants of response and resistance to cytotoxics. *Semin Oncol* 29 (Suppl 4): 110-118.

Sekido Y, Fong KM, Minna JD (1998) Progress in understanding the molecular pathogenesis of human lung cancer. *Biochim Biophys Acta* 1378: F21-F29.

Soria JC, Rodriguez M, Liu DD, Lee JJ, Hong WK, Mao L (2002) Aberrant promoter methylation of multiple genes in bronchial brush samples from former cigarette smokers. *Cancer Res* 62: 351-355.

Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, Pierotti MA, Tavecchio L (2001) Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res* 61: 4675-4678.

Swisher SG, Roth JA, Carbone DP (2002) Genetic and immunologic therapies for lung cancer. *Semin Oncol* 29 (Suppl 4): 95-101.

Usadel H, Brabender J, Danenberg KD, Jeronimo C, Harden S, Engles J, Danenberg PV, Yang S, Sidranski D (2002) Quantitative adenomatous polyposis coli promoter methylation analysis in tumor tissue, serum, and plasma DNA of patients with lung cancer. *Cancer Res* 15: 371-375.

Weynants P, Lethe B, Brasseur F, Marchand M, Boon T (1994) Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int J Cancer* 56: 826-829.

Wistuba II, Gazdar AF, Minna JD (2001) Molecular genetics of small cell lung cancer. *Semin Oncol* 28 (Suppl 4): 3-13.

Zöchbauer-Müller S, Gazdar AF, Minna JD (2002) Molecular pathogenesis of lung cancer. *Ann Rev Physiol* 64: 681-708.

Korrespondenzadresse

PD Dr. Bertram Opalka
Dr. Sebastian Bauer
Prof. Dr. Jochen Schütte
Innere Klinik und Poliklinik
(Tumorforschung)
Hufelandstr. 55
D-45122 Essen

Tel. 0201-723-2020 (Opalka)
-2014 (Schütte)
-2048 (Bauer)

Fax 0201-723-2020 (Opalka)
-5925 (Schütte)

bertram.opalka@uni-essen.de
sebastianbauer@uni-essen.de
jochen.schuette@uni-essen.de