

Genetische Veränderungen setzen bei der Leukämie das Verhältnis von Rot und Weiß außer Kraft

Blut steht für Leben – und für den Tod. Das ist in der Medizin nicht anders als in der Mythologie. Vor wenigen Jahrzehnten war die Diagnose Blutkrebs noch ein sicheres Todesurteil. Heute werden viele Leukämiekranken geheilt. An der Goethe-Universität setzt ein Schwerpunkt für Lymphom- und Leukämieforschung deutschlandweit Akzente bei Forschung und Diagnostik.

von Rolf
Marschalek und
Hubert Serve

█ Blick ins Blutgefäß. Zu sehen sind die roten Blutkörperchen (rot), die weißen Blutkörperchen (weiß) und die Blutplättchen (gelb). Die roten Blutkörperchen sorgen für den Gasaustausch, die weißen für die Immunabwehr und die Plättchen für die Blutgerinnung. Im gesunden Blut ist das Verhältnis der einzelnen Typen sorgfältig aufeinander abgestimmt.

Berlin 1845: In einem Sektionssaal der Charité legt der junge Assistenzarzt Rudolf Virchow den Blutausstrich eines kürzlich verstorbenen Patienten unter das Mikroskop: »Außer sehr wenigen rothen Blutkörperchen bestand der ungleich größere Theil aus denselben farblosen oder weißen Körpern, die auch in normalem Blut vorkommen«, bemerkte er. Auffallend war, dass das Verhältnis zwischen den weißen und roten Blutkörperchen sich umgekehrt hatte, »indem die farblosen die Regel, die farbigen eine Art von Ausnahme zu bilden schienen«. In seiner ersten Veröffentlichung über »weißes Blut« beschrieb der 24-Jährige, der heute als Begründer der modernen Pathologie gilt, erstmals eine Leukämie (eine chronische myeloische Form). Etwa 30 Jahre später gelang es Paul Ehrlich, das Übermaß an weißen Blutkörperchen (Leukozyten) durch spezielle Färbemethoden sichtbar zu machen.

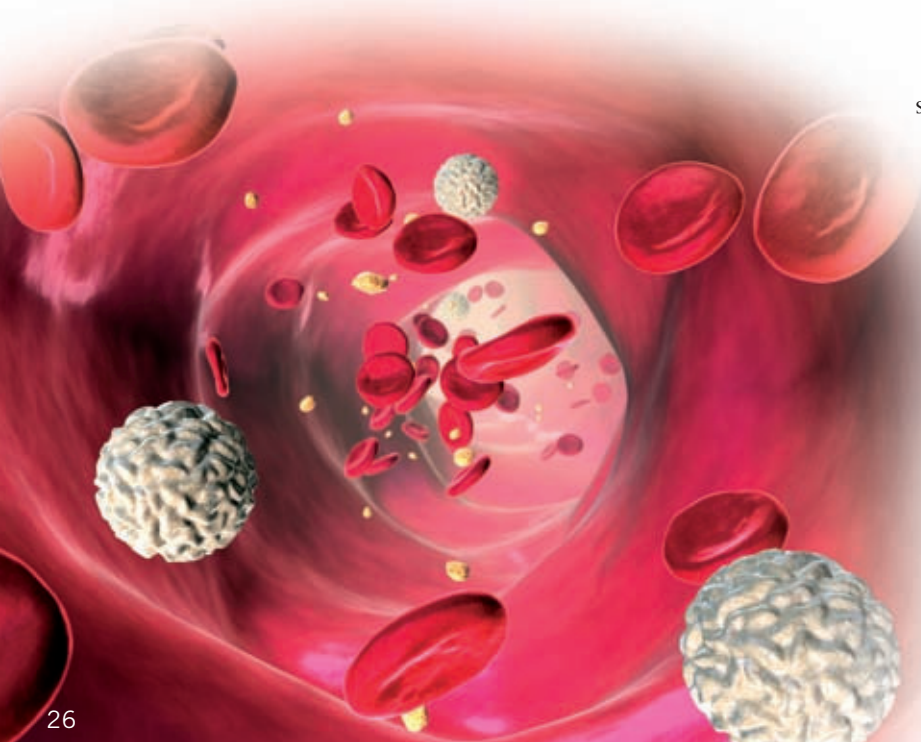
Auch heute kann der erste Hinweis auf eine akute Leukämie durch einen Blutaussstrich ausgelöst werden. Für einen präziseren Befund muss allerdings eine Probe aus dem Knochenmark entnommen werden, weil die Krankheit dort beginnt. Die Vorläuferzellen der Leukozyten vermehren sich im Knochenmark auf unkontrollierte Weise. Im weiteren Verlauf der Krankheit werden diese unreifen Zellen, die sogenannten »leukämischen Blasten«, oft ins Blut ausgeschwemmt. Viel entscheidender ist allerdings, dass die leukämischen

Blasten die normale Blutbildung im Knochenmark verdrängen. Die Patienten leiden an Blutarmut, sind blass und abgeschlagen und neigen zu Blutungen, weil ihnen die Blutplättchen für die Blutgerinnung fehlen. Sie sind auch anfälliger für Infektionen, weil sie nicht genügend gesunde Leukozyten für die Keimabwehr haben.█

Leukämien werden nach ihrem Verlauf in akute und chronische Formen eingeteilt. Die besonders aggressive Akute Lymphatische Leukämie (ALL) tritt vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern auf. Von den Ein- bis Vierjährigen erkranken jedes Jahr sieben bis acht pro 100 000 Einwohner neu daran. Bei den Erwachsenen tritt die ALL vor allem bei den unter 20-Jährigen und den über 75-Jährigen auf. In Deutschland gibt es insgesamt 700 Neuerkrankungen pro Jahr. An der Akuten Myeloischen Leukämie (AML) erkranken hingegen in Deutschland etwa 3000 Menschen pro Jahr.█ Sie kommt vor allem in den letzten Lebensjahrzehnten vor. Zwar schwanken die Heilungsraten je nach Alter des Patienten und molekularem Typ der Leukämie beträchtlich, trotzdem haben einige Formen – etwa die bei älteren Patienten auftretende AML – trotz intensivster Therapie nach wie vor schlechte Heilungschancen. Deshalb versuchen wir die molekularen Krankheitsmechanismen verschiedener Leukämien zu verstehen, um daraus neue Angriffspunkte für die Diagnostik und Therapie abzuleiten.

Leukämie – eine Krankheit der Gene

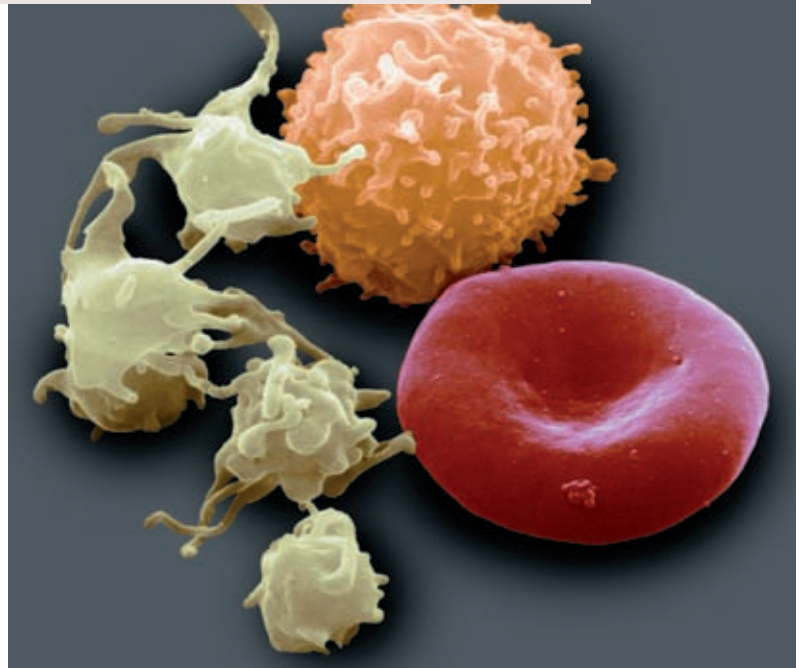
Viele Krebserkrankungen entstehen durch spezifische, genetische Veränderungen. Bei einigen Tumorarten konnte bereits die zeitliche Abfolge dieser Mutationsereignisse nachvollzogen werden. Man geht davon aus, dass rund 20 Ereignisse notwendig sind, um aus einer normalen Zelle eine Tumorzelle zu machen. Die Mutationen bewirken vor allem zweierlei. Sie sorgen entweder dafür, dass ein Gen nicht mehr in der gewohnten Weise abgelesen wird, oder sie behindern die Weiterleitung wichtiger Signale, so dass die Kommunikation innerhalb oder außerhalb der Zelle ins Stocken gerät. Das Spektrum der krebserlösenden Mutationen kann vom Verlust oder Austausch einzelner Basen bis hin zum Verlust oder Austausch ganzer Chromosomenabschnitte reichen. Ein bevorzugter Mutationsmechanismus bei den Leukämien ist die »balancierte chromosomale Translokation«. Bei dieser Mu-



tation brechen zwei Chromosomen auseinander und setzen ihre losen Enden nicht mehr in der gewohnten Weise zusammen, sondern über Kreuz. Das eine Chromosom erhält dadurch ein Stück des anderen und umgekehrt. Damit bleibt zwar die Summe der Gene gleich, die neu zusammengesetzten Enden können aber ein ganz neues Gen hervorbringen. Dieses sogenannte Fusionsgen bringt damit eine ganz neue Funktion in die betroffene Zelle ein. Da bei verschiedenen Leukämiepatienten die gleichen chromosomalen Translokationen beobachtet wurden (man nennt sie dann »rekurrent«), die man bei Gesunden nie findet, glauben viele Wissenschaftler, dass wir durch die Analyse der Funktion dieser Fusionsgene lernen können, wie Leukämien entstehen und möglicherweise auch behandeln können. In den letzten 20 Jahren sind daher rund 400 verschiedene Translokationen analysiert worden. Eine Handvoll solcher Veränderungen hat zu revolutionären Entwicklungen in der Therapie geführt, aber leider nur für einige Leukämiepatienten.

Neues Fusionsgen auf Chromosom 4 und 11

Wir arbeiten am Institut für Pharmazeutische Biologie (Arbeitsgruppe von Prof. Rolf Marschalek) vor allem an einer Form der Leukämie, bei der ein Stück zwischen Chromosom 4 und Chromosom 11 ausgetauscht worden ist. Im wissenschaftlichen Jargon spricht man von der chromosomalen Translokation $t(4;11)(q21;q23)$. 70 bis 80 Prozent der Kleinkinder mit einer ALL haben genau diese genetische Veränderung. Klinisch gesehen gilt sie als besonders aggressiv, weil sie mit bis zu hundertfach höheren Dosen an Chemotherapeutika behandelt werden muss. Das kann das Wachstum und die geistige Entwicklung der Kinder beeinträchtigen. Uns interessiert vor allem die Stelle, wo die beiden Chromosomen wieder zusammengesetzt worden sind. Auf Chromosom 11 liegt dort das MLL-Gen. Das neu entstandene Fusionsgen besteht deshalb immer aus einem unterschiedlich langen Stück des MLL-Gens und einem mehr oder weniger langen Stück eines anderen Gens. Wir haben eine hochsensible Methode entwickelt, um den Anknüpfungspunkt genau zu bestimmen. Wir verwenden diese Methode im Frankfurter »Diagnostikzentrum für Akute Leukämie (DCAL; siehe auch web.uni-frankfurt.de/fb14/dcal)«. In den vergangenen fünf Jahren haben wir damit 30 neue »Fusions-Krebsgene« entdeckt. Ein Ergebnis, das sich wirklich sehen lassen kann und für das wir breite Anerkennung gefunden haben. In dem Zentrum werden deshalb jedes Jahr auch circa 300 Leukämiefälle aus ganz Europa befundet. Wir sind damit ein international gefragtes Diagnostikzentrum. Der Blick auf den Anknüpfungspunkt liefert auch eine Patienten-spezifische DNA-Sequenz, die einen molekularen Fingerabdruck darstellt. Über diesen Fingerabdruck lassen sich kleinste Mengen an Tumorzellen im Patienten nachweisen, selbst wenn auf 150 000 normale Zellen nur noch eine entartete Zelle kommt. Alle europäischen Studiengruppen müssen seit Herbst 2009 die Behandlung ihrer Leukämiepatienten mithilfe der von uns generierten Sonden engmaschig überwachen und nach einer minimalen Resterkrankung suchen. Dadurch kann das unerwünschte Wiederauftreten des Tumors rechtzeitig erkannt und die Behandlung entsprechend optimiert werden.



Die Blutzellen des Menschen: Reife rote Blutkörperchen (rot) haben die Gestalt einer bikonkaven Scheibe. Weil sie keinen Zellkern haben, können sie sich verformen und auch durch Blutgefäße schlüpfen, deren Durchmesser nur halb so groß ist wie ihr eigener. Die weißen Blutkörperchen (hier gelb) besitzen viele Fortsätze, die sie sehr beweglich machen. Blutplättchen (hier grün) entstehen als Abschnürungen von Megakaryozyten im Knochenmark. Im Blut haben sie normalerweise die Form bikonvexer Scheiben, stülpen aber nach Aktivierung – wie in dieser Aufnahme – lange Fortsätze aus.

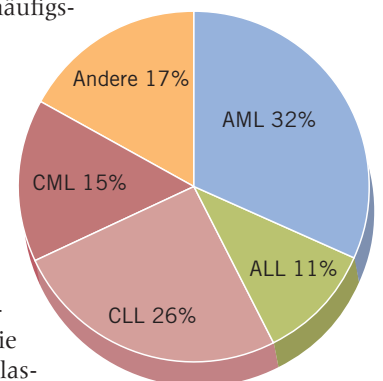
Fusionsgen stört das Ablesen der anderen Gene

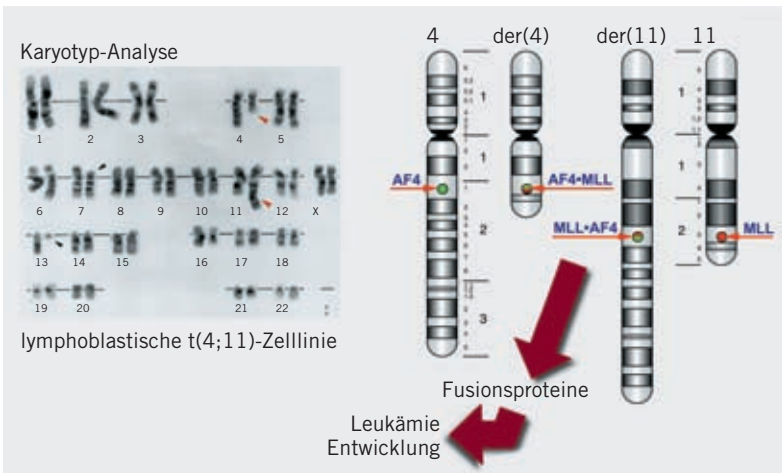
Wir konnten aber auch noch weitere Erfolge verbuchen. Es ist uns gelungen herauszufinden, wie das durch die chromosomale Translokation auf Chromosom 11 und 4 gebildete Fusionsgen ALL auslöst. Das davon abgeleitete Fusionsprotein verändert das Ablesen der Gene auf breiter Front und legt durch sogenannte epigenetische Veränderungen auch einzelne Chromosomen still. Dieser Rundumschlag führt zu den für die Leukämie typischen Verschiebungen bei der Blutbildung im Knochenmark. Dass wir mit dem Fusionsprotein ein zentrales Element der Tumorentstehung gefunden haben, zeigen auch die Tierexperimente. Bei Mäusen löst dieses Fusionsprotein die gleiche Leukämie aus wie beim Menschen. Nun arbeiten wir mit Hochdruck daran, dieses krebsauslösende Fusionsprotein in seiner Funktion zu blockieren. Entdeckt wurde es übrigens im Verbundprojekt »Pathologische Genprodukte und ihre Wirkmechanismen«, das durch die Deutsche Krebshilfe e. V. gefördert wird. Bei diesem Verbundprojekt suchen neun Arbeitsgruppen aus Frankfurt, Mainz, Marburg und Essen nach den tumorauslösenden Mechanismen der häufigsten Leukämie-Erkrankungen.

Häufigkeit der verschiedenen Leukämien in Prozent. ALL = Akute Lymphatische Leukämie, AML = Akute Myeloische Leukämie; CLL = Chronische Lymphatische Leukämie, CML = Chronische Myeloische Leukämie.

Leukämie durch gestörte Kommunikation

Am Zentrum der Inneren Medizin, Medizinische Klinik II, untersuchen wir (Arbeitsgruppe von Prof. Hubert Serve) als Koordinatoren eines weiteren bundesweiten Forschungsverbands mit dem Titel »Onkogene Netzwerke in der Pathogenese der AML« die Signalübertragung in leukämischen Blas-





4 Chromosomale Translokation t(4;11)(q21;q23). Rechts ist die Struktur der beiden Chromosomen 4 und 11 zu sehen, sowie die beiden davon abgeleiteten Chromosomen nach der Translokation der(4) und der(11). Der Austausch findet zwischen dem MLL-Gen auf Chromosom 11 und dem AF4-Gen auf Chromosom 4 statt. Durch den kreuzweisen Austausch bleibt die Summe der Gene erhalten, allerdings entstehen an den Fusionsstellen Fusionsgene (AF4-MLL und MLL-AF4). Sie enthalten den Bauplan für gleichnamige Fusionsproteine, die eine Leukämie auslösen und aufrechterhalten. Links ist der Karyotyp von Zellen mit dieser Translokation zu sehen.

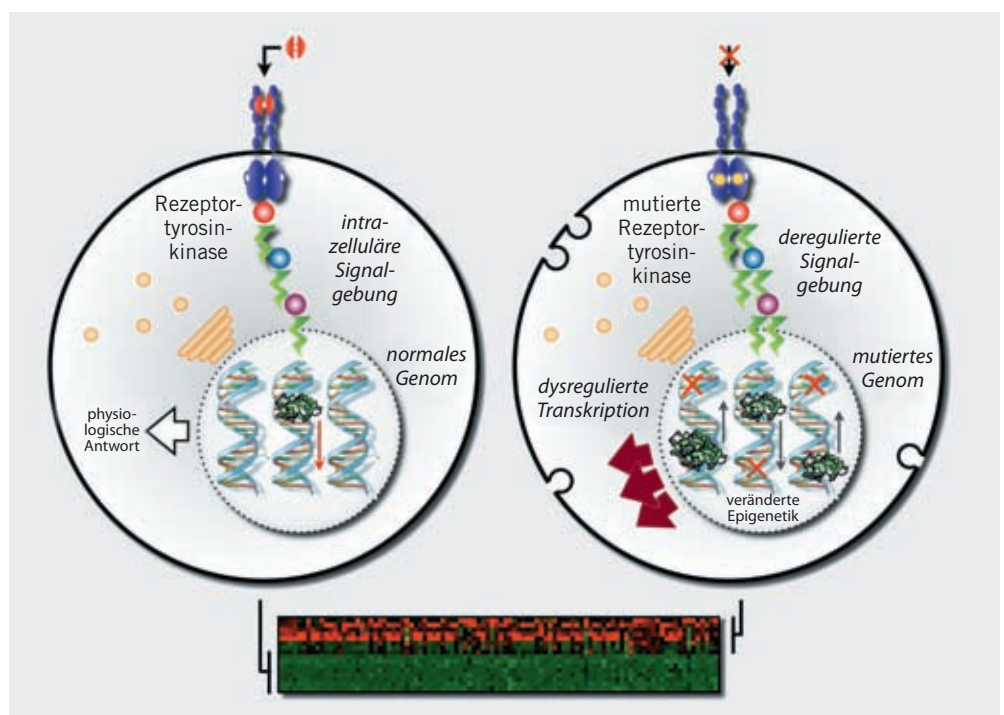
ten. Auch dieser Verbund wird von der Deutschen Krebshilfe großzügig gefördert. Wichtige Protagonisten der Signalübertragung sind die sogenannten Kinasen. Sie funktionieren in der Signalkette wie Schalter, die in Sekundenschnelle Signale von der Zelloberfläche in die Zelle weitergeben können. Kinasen können durch balancierte Translokationen oder andere Mutationen so gestört werden, dass sie sozusagen kurzgeschlossen werden. 5 Zusammen mit den erwähnten epigenetischen Veränderungen spielen sie dann eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Leukämie. Dass den Signalwegen so viel Interesse entgegengebracht wird, hat mit dem erstaunlichen Erfolg von Imatinib bei der Chronischen Myeloischen Leukämie zu tun. Bei dieser Leukämie kommen durch Translokation zwei Gene nebeneinander zu liegen, die das pathologische BCR-ABL

Gen bilden. In diesem neuen Genprodukt ist die Kinase ABL enthalten, die durch die neue Umgebung nicht mehr als Schalter, sondern als unkontrollierter Teilungsstimulator der leukämischen Zellen funktioniert. Imatinib wurde entwickelt, um die Aktivität von BCR-ABL zu hemmen. 6 Es ist eine niedermolekulare Verbindung, die als Tablette eingenommen werden kann. Der Erfolg ist, dass heute über 95 Prozent der Patienten mit dieser Erkrankung über lange Jahre krankheits- und symptomfrei leben können, während vor Einführung von Imatinib nach zehn Jahren die meisten Patienten (>90 Prozent) mit dieser Erkrankung verstorben waren. Frankfurter Wissenschaftler unter Führung von Dr. Oliver Ottmann an der Medizinischen Klinik II waren weltweit führend daran beteiligt, zu zeigen, dass nicht nur CML-Patienten, sondern auch Patienten mit BCR-ABL-positiver Akuter Lymphatischer Leukämie von Imatinib profitieren. Das Beispiel von Imatinib zeigt, dass es möglich ist, spezifische und wenig toxische Therapien zu entwickeln, wenn man die molekularen Ursachen der Leukämie kennt. Man nennt das »proof of concept«.

Neues Zielmolekül für die Therapie: FLT3

Schon seit den frühen 1990er Jahren, also lange vor dem Mut machenden »proof of concept« von Imatinib, haben wir versucht, die Akute Myeloische Leukämie (AML) mit Kinase-Inhibitoren zu behandeln. Wir gehörten zu den Ersten, die zu dieser Zeit erkannten, dass Kinase-Mutationen in der AML häufig und für die Pathogenese von Bedeutung sind. Gegen die Kinasen, die bei der AML aktiv sind, ist Imatinib leider unwirksam. Auch wissen wir noch nicht, wie die aktivierten Kinasen in das Schicksal der Knochenmarkszellen eingreifen. Daher suchen wir nach Wirkstoffen und interessanten Zielmolekülen. Mehrere FLT3-Inhibitoren werden bereits in klinischen Studien geprüft, einige unter unserer Leitung. Wir sind zuversichtlich, dass in Zukunft auch die AML mit kleinen Molekülen und einer Kombination aus Chemotherapie und Kno-

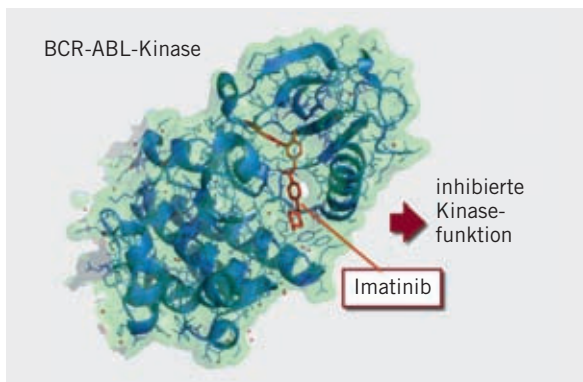
5 Kommunikation in einer normalen und einer Tumorzelle. Links ist die Signalübertragung in der normalen Zelle zu sehen. Ein Protein auf der Oberfläche (eine Rezeptortyrosinkinase) empfängt ein Signal und leitet es an die Eiweiße im Kern weiter, die für das Ablesen der Gene zuständig sind. Die Folge ist eine physiologische Reaktion. Rechts ist die Situation in der Tumorzelle dargestellt. Es sind etwa 15 bis 20 Mutationen nötig, um aus einer normalen Zelle eine Krebszelle zu machen. Mutiert sind die Rezeptortyrosinkinase (gelbe Punkte) in den intrazellulär liegenden, blau dargestellten Kinasedomänen und andere Gene innerhalb der Erbsubstanz (rote Kreuze). Außerdem gibt es ein Überangebot an speziellen Eiweißen im Kern. Diese Mutationen führen dazu, dass das Ablesen der Gene aus dem Gleichgewicht gerät (dysregulierte Transkription).



chenmarktransplantation viel häufiger geheilt werden kann, als das bisher der Fall ist.

Erfolg durch Zusammenarbeit

Der Schwerpunkt für Lymphom- und Leukämieforschung profitiert besonders von der engen Zusammenarbeit zwischen Medizinern und Naturwissenschaftlern. Ein Herzstück dieser Zusammenarbeit ist das Loewe-Schwerpunktprojekt OSF (Onkogene Signaltransduktion Frankfurt; Projektträger Land Hessen). Es führt Frankfurter Krebsforscher unter einem Dach zusammen. Die gemeinsame Forschung an hämatologischen und soliden Tumoren soll die Suche nach neuen krebsauslösenden Prinzipien in den Tumorzellen vereinfachen und spezifische Tumorthapien schneller in die Klinik bringen. Für eine schnelle Umsetzung steht auch das »Universitäre Centrum für Tumorerkrankungen Frankfurt (UCT)«. Das UCT ist ein Konsortium aus allen Krebsforschern der Medizinischen Fakultät und eines von zehn »comprehensive cancer centers« in Deutsch-



3 Fusionsprotein des Philadelphia-Chromosoms. Bei der Chronischen Myeloischen Leukämie kommen zwei Gene durch Translokation nebeneinander zu liegen, die die pathologische BCR-ABL Kinase bilden. Die Kinase wird durch den Wirkstoff Imatinib gehemmt. Zu sehen ist die dreidimensionale Struktur von Wirkstoff und Kinasedomäne.

land. Es wird ebenfalls von der Deutschen Krebshilfe unterstützt. Neben der Förderung der patientenorientierten Krebsforschung soll das Zentrum alle vor Ort vorhandenen Expertisen bündeln, einschließlich der in den Krankenhäusern und Praxen der Region vorhandenen. Ziel ist es, dass alle Einrichtungen nach den gleichen Behandlungsleitlinien und mit der gleichen Qualitätssicherung arbeiten. Das sicher ehrgeizigste Projekt ist ein regionales klinisches Krebsregister. Damit soll nachvollzogen werden können, wie und vor allem mit welchem Ergebnis Patienten der Region behandelt werden. Anhand der Registerdaten soll überlegt werden, welche Behandlungsstrategien für die Patienten am besten sind. Das kann auch heißen, dass man ihnen die Teilnahme an einer klinischen Studie anbietet. Mit der Förderung des UCT hat die Universität bereits ein Gütesiegel von hoher Sichtbarkeit erhalten. Nun sollen aus diesen gebündelten Aktivitäten neue Forschungsverbände initiiert werden. In der einmaligen Kombination aus erfolgreichen Neuberufungen, der klinischen Expertise in der Behandlung von Tumorkranken, der Expertise in der Wirkstoffherstellung, dem Georg-Speyer-Haus sowie der umliegenden pharmazeutischen Industrie macht sich Frankfurt daran, eine Hochburg für die Krebsforschung und -therapie zu werden. ♦

Wissenswertes zu Blut

- Blut ist unser einziges flüssiges Organ.
- In einem Tropfen Blut sind fünf Millionen rote, aber nur 9000 weiße Blutkörperchen enthalten.
- Das Blut eines Erwachsenen enthält 30 Billionen rote Blutkörperchen. Aufgespannt nehmen sie eine Fläche von 2500 m² ein.
- Die größten Blutzellen sind die zu den weißen Blutkörperchen gehörenden Monozyten, die kleinsten die für die Gerinnung zuständigen Blutplättchen.
- Das Knochenmark bildet jeden Tag 260 bis 400 Milliarden neue Blutzellen.
- Das Blutgefäßsystem des Menschen hat eine Länge von 96 000 Kilometern.
- Blut macht etwa 8 Prozent des Körpergewichts aus. Erwachsene haben fünf bis sechs Liter Blut.
- Ein Blutverlust von mehr als 30 Prozent ist lebensgefährlich, von 50 Prozent tödlich.

Die Autoren



Prof. Dr. Rolf Marschalek, 49, studierte Biologie an der Universität Erlangen/Nürnberg. Nach seiner Promotion (1989) arbeitete er als Postdoktorand am Institut für Biochemie der Universität Erlangen/Nürnberg; von 1992 bis 2000 war er an der gleichen Universität wissenschaftlicher Assistent am Lehrstuhl für Genetik. 2000 folgte er dem Ruf an die Goethe-Universität, wo er die Professur für Pharmazeutische Biologie innehat. 2001 wurde er Direktor des Instituts für Pharmazeutische Biologie; 2003 wurde er einer der Direktoren des Zentrums für Arzneimittelforschung, Entwicklung und Sicherheit (ZAFES) an der Goethe-Universität, und seit 2004 ist er Direktor des Diagnostikzentrums für Akute Leukämie (DCAL).



Prof. Dr. Hubert Serve, 48, studierte an der Universität Heidelberg. Nach der Promotion (1988) war er Assistenzarzt für Innere Medizin an den Kliniken der Technischen Universität München und der Universität Ulm. Von 1991 bis 1994 führte ihn ein Forschungsaufenthalt an das Sloan-Kettering Institute in New York. 1994 bis 1997 war er Assistenzarzt am University Hospital Benjamin Franklin der Freien Universität Berlin. Von 1997 bis 2007 arbeitete er als Oberarzt für Hämatologie und Onkologie an der Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universität Münster. 2007 folgte er einem Ruf an die Goethe-Universität als Direktor der Medizinischen Klinik II für Hämatologie, Onkologie, Rheumatologie, Infektiologie und HIV. Seit 2008 ist er wissenschaftlicher Direktor des Universitären Centrum für Tumorerkrankungen (UCT). Hubert Serve ist Mitglied des wissenschaftlichen Beirats der Deutschen Krebshilfe und Sprecher des Loewe-Schwerpunktprojekts »Onkogene Signaltransduktion Frankfurt«.

Rolf.marschalek@em.uni-frankfurt.de
serve@em.uni-frankfurt.de
web.uni-frankfurt.de/fb14/dcal
www.translocations.uni-frankfurt.de
www.uct-frankfurt.de
www.kompetenznetz-leukaemie.de
atlasgeneticsoncology.org/