Tumorstammzellforschung: Wenige sind mehr …

Eine Werkschau von Christoph Überhuber ist derzeit in der Wiener Privatklinik zu sehen. Christoph Überhuber arbeitet in seiner Eigenschaft als Professor für „Computational Science" an der Technischen Universität Wien mit Heidrun Karlic auch auf wissenschaftlicher Ebene zusammen *(http://www.ueberhuber.at/)*

Stammzellen" haben etwas Zwiellichtiges an sich: Einerseits sind sie die Basis für die Entwicklung aller mehrzelligen Lebewesen und die Quelle der Regeneration unseres Organismus, andererseits werden Stammzellen auch für die Entstehung und Persistenz maligner Erkrankungen verantwortlich gemacht. Bei der Betrachtung von in vitro kultivierten Tumorzellen, die jahrzehntelang nach dem Tod einer Patientin proliferieren, kann sich schon auch der Vergleich mit „Untoten" aufdrängen. Neue Erkenntnisse, denen zufolge sich nicht nur unreife Stammzellen, sondern Zellen jeglichen Differenzierungsgrades in Tumorstammzellen umformen können, sich immer wieder in Nischen verstecken und die raffiniertesten Mechanismen entwikkeln, ihrer Vernichtung zu entkommen, machen die Tumor-Stammzellforschung zu einem der spannendsten Forschungsgebiete unserer Zeit.

In der vorliegenden Ausgabe von SPECTRUM ONKOLOGIE machen wir über 10 Stationen eine abenteuerliche Reise von der „Geisterjagd" im Labor und am Computer bis zu Konzepten, mit denen es immer besser gelingen wird, auch die bösartigsten Erkrankungen erfolgreich zu heilen.

Natürlich kann man mit diesem Themenkreis Bücher füllen – in heutigen Zeiten vielleicht eher E-Books –, die täglich um das eine oder andere Kapitel erweitert werden, aber möglicherweise reichen ja die „Gucklöcher" in diesem Heft schon aus, um einen Einblick in die geheimnisvolle Welt der Tumor-Stammzellforschung zu vermitteln.
Nicht von ungefähr spielt das Blut in der Welt der (Tumor-)Stammzellforscher eine zentrale Rolle: Im Rahmen der Erforschung der blutbildenden Zellen wurden erstmals echte Stammzellen entdeckt, sowohl gutartige, die nach einer Transplantation einen ganzen Organismus gesunden lassen können, als auch bösartige Leukämie-Stammzellen, welche die Macht haben, einen Menschen in kürzester Zeit zu Grunde zu richten.

Das komplexe Nischensystem im trabekulären Knochen dient dabei sowohl als „Geburtsstätte" als auch als mögliches Versteck für maligne (Stamm-)Zellen, die aus diversen Organen einwandern können.
Doch wie wird eine normale Körperzelle zur Tumorstammzelle? Aktuelle Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass uns embryonale Stammzellen am ehesten Aufschluss über die letzten Geheimnisse der Stammzellentstehung geben können. Das ist sicher richtig: Zahlreiche wichtige Entdeckungen wurden und werden mit diesem Modell gemacht. *Alle* Phänomene der Entstehung und Entwicklung von Tumorstammzellen werden uns embryonale Stammzellen jedoch nie erklären, besonders nicht die Mechanismen, die dafür verantwortlich sind, wie sich differenziertere Zellen in Tumorstammzellen verwandeln. In einem Tumor können nämlich älter und/oder jünger aussehende „Zombie"-Zellen herumgeistern. Der Kampf gegen die Biester ist schwierig, aber nicht unmöglich. Besonders viel versprechend ist es, deren Kommunikationssysteme (Signalübertragung) zu unterbrechen. Auch die „Hardware" (Genom) und deren Reparatursysteme, die „Software" (Transkriptom) sowie die diversen Steuerungssysteme im Epigenom sind Angriffsziele sowohl für *„bad guys"* als auch für therapeutische und präventive Wirkstoffe, die uns nicht nur von der pharmazeutischen Industrie, sondern auch von der Natur geliefert werden: Schwefelhaltige Wirkstoffe aus dem Knoblauch helfen also offenbar nicht nur gegen große, sondern auch gegen kleine „Vampire", denn als solche könnte man so manche Tumor- oder Leukämiestammzellen durchaus bezeichnen. Eine effiziente Vernichtung maligner Zellen ist jedoch nach wie vor nur mit starken und – leider auch sehr teuren – Medikamenten möglich, und in vielen Fällen bietet die Transplantation gesunder Stammzellen die einzige Chance auf Heilung.
„Last, but not least" muss aber auf dieser abenteuerlichen Stammzell-Forschungsreise auch an die Opfer, nämlich die Patienten, gedacht werden. Analog wie im interzellulären Raum spielt auch hier die Informationsvermittlung, in diesem Fall zwischen Facharzt/Fachärztin, Hausarzt/Hausärztin und den Patienten mit ihren Angehörigen eine entscheidende Rolle. Seelische Unterstützung und sehr viel Mut sind unverzichtbar für den erfolgreichen Kampf gegen Tumorstammzellen.

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic
Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology, Wien und
Ludwig-Boltzmann-Institut für Leukämieforschung und Hämatologie, Hanusch-Krankenhaus, Wien

FOTO: CHRISTOPH ÜBERHUBER, WIEN

Paradigmenwechsel von der Klonalität zur Tumorstammzelle?

KONTEXT: *Die Identifizierung und Charakterisierung von Tumorstammzellen ermöglicht effizientere Therapien für eine zunehmende Zahl von Krebserkrankungen und Leukämien. Um dieses Ziel zu erreichen, ist es aber notwendig festzustellen, welche Tumoren dem Stammzellmodell folgen und wo dieses Konzept insofern modifiziert werden muss, als zusätzliche Modelle wie jenes der klonalen Evolution einbezogen werden. Systembiologische Analysen integrieren die Ergebnisse verschiedener experimenteller Ansätze, auf denen diese Modelle beruhen. Die Erforschung der genetischen und epigenetischen Heterogenität von Tumor(stamm)zellen ist ein Meilenstein auf dem Weg zu individuell angepassten Therapiekonzepten in der Onkologie.*

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic
Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology, Wien und
Ludwig-Boltzmann-Institut für Leukämieforschung und Hämatologie, Hanusch-Krankenhaus, Wien

Basierend auf dem Modell der klonalen Evolution und der Annahme, dass die meisten Tumorzellen das Potenzial zur Proliferation und Selbsterneuerung haben, war es das Ziel der traditionellen Krebsbehandlung, möglichst viele – idealerweise alle – Tumorzellen zu vernichten. Im Gegensatz müsste es entsprechend der Tumorstammzellhypothese genügen, dass nur wenige Tumorzellen vernichtet werden, nämlich jene Stammzellen (CSC = *cancer stem cells*), welche für das Wachstum, die Selbsterneuerung und die Persistenz einer Krebserkrankung verantwortlich sind. CSC wurden mittlerweile bei den meisten soliden Tumoren und Leukämien aufgrund ihrer Repopulationsfähigkeit in immunsupprimierten Mäusen nachgewiesen. Die therapeutische Konsequenz hat zur Entwicklung von fokussierten Therapiekonzepten geführt, welche auf die gezielte Vernichtung der CSC abzielen, die eine traditionelle Behandlung möglicherweise überstehen, was für den relativ schlechten Therapieerfolg bei vielen aggressiven Krebserkrankungen verantwortlich ist.
Angesichts einer steigenden Zahl von experimentellen Befunden hat das CSC-Konzept in den vergangenen 15 Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Obwohl man ursprünglich angenommen hat, dass nur eine relativ kleine Population von Stammzellen einerseits die Fähigkeit zur Selbsterneuerung hat und andererseits verschiedenste Zellpopulationen innerhalb eines Malignoms hervorbringen kann, haben neuere Publikationen gezeigt, dass diese Zellen – zumindest in einigen Malignomen – gar nicht so selten sein müssen. Kritische Auseinandersetzungen mit der Interpretation diverser CSC-Marker bilden den Nährboden für eine ständige Optimierung des CSC-Modells.
Grundsätzlich gehen beide Modelle von Differenzierungssystemen aus, bei denen –ausgehend von Stammzellen – eine Reihe von Vorstufenzellen entstehen und letztlich ausgereifte Zellen hervorgehen.

Die Tumorstammzellhypothese

Beschreibung des Konzepts: Die CSC-Hypothese beruht auf der bereits vor über hundert Jahren formulierten Annahme, dass eine spezielle Gruppe von Zellen mit Stammzell-Eigenschaften für die Entstehung, Progression und Persistenz eines Malignoms verantwortlich ist (Cohnheim, 1875).
Definitionsgemäß haben diese Zellen die Fähigkeit zur unbegrenzten Selbsterneuerung und Differenzierung, verhalten sich also in vielen Aspekten wie normale adulte Stammzellen. Diese Persistenz und das divergente Entwicklungspotenzial sind die Basis für die Genese verschiedenster Zelltypen einer Neoplasie und damit auch für die Heterogenität, welche besonders bei soliden Tumoren sehr ausgeprägt sein kann. Im Gegensatz zu den Tumorstammzellen können sich andere Zellen aus einem Tumor nicht mehr unbegrenzt selbst erneuern und auch nicht (mehr) in alle verschiedenen Zelltypen eines Tumors differenzieren. Man nimmt an, dass CSC aus normalen Stammzellen oder Vorstufenzellen hervorgehen und als kleine Population innerhalb eines Tumors persistieren. Bei der akuten myeloischen Leukämie ist es schon recht gut dokumentiert, dass es sich bei den Leukämie-Stammzellen (LSC) um Progenitorzellen handelt, die ein abnormales Potenzial zur ständigen Selbsterneuerung entwickelt haben (Goardon et al., 2011). Die Progression eines Tumors resultiert nach dieser Hypothese aus der metastatischen Ausbreitung dieser Zellen, und die Persistenz eines Tumors hängt mit deren Therapieresistenz zusammen (Greaves, 2010).

Unterstützende Beweise: Die Tumorstammzellhypothese wird von zahlreichen biologischen Beobachtungen unterstützt. **Abbildung 1** zeigt in vereinfachter Weise die streng hierarchische Struktur des „klassischen" Tumorstammzellmodells.
Die „klassische" Charakteristik von Tumoren, welche die unbegrenzte Kapazität zur Selbsterneuerung und Proliferation und die phänotypische Heterogenität,

die auch verschiedenste Differenzierungsstadien von nicht teilungsfähigen Zellen inkludiert, kann dadurch erklärt werden, dass Tumoren aus selbsterneuernden, multipotenten und langsam teilenden Zellen hervorgehen. Außerdem wird die Funktionalität normaler Stammzellen wie auch jener von Tumorstammzellen von epigenetischen Mechanismen und durch die Kommunikation mit der zellulären Umgebung (Microenvironment) reguliert. Beide Zelltypen haben viele Eigenschaften bzw. Fähigkeiten gemeinsam, wie die Induktion der Angiogenese, die Resistenz gegen Apoptose und Medikamente sowie die Zellmigration. Dies inkludiert auch für Tumorstammzellen typische Eigenschaften wie die Fähigkeit zur Induktion bzw. zum Nachwachsen sowie zur Metastasierung von Tumoren.

Das Modell der klonalen Evolution

Beschreibung des Konzepts: Das Modell der klonalen Evolution beruht daruf, dass Krebszellen verschiedenste Kombinationen von Mutationen erwerben, wobei sich die aggressivsten Zellen durchsetzen und die Progression des Tumors vorantreiben. Nach diesem Modell bietet eine Serie von Mutationen einer einzelnen malignen Zelle einen Selektionsvorteil gegenüber den angrenzenden normalen Zellen. Im weiteren Verlauf der Krebserkrankung nimmt die genetische Instabilität zu, es entstehen Zellen mit neuen Mutationen und Eigenschaften, die auch eine Resistenz gegen Apoptose implizieren können und zur Metastasierung bzw. zur Therapieresistenz führen.

Unterstützende Beweise: Nowell hat das Konzept der klonalen Evolution bereits 1976 entwickelt. Er hat postuliert, dass Tumoren im Lauf ihrer Progression entdifferenzieren und interpretierte dies als Ursache für die Maximierung der Proliferation und der Invasivität. Dieser Effekt kann durch einen Selektionsdruck innerhalb eines Tumors erzielt werden. Die zunehmende genetische Instabilität der Tumorzellen wird in diesem Kontext als evolutionärer Vorteil gedeutet. Auch die Monoklonalität, die unbegrenzte Kapazität zur Proliferation und die Heterogenität der Zellen, die sich durch verschiedenste morphologische und metabolische Eigenschaften sowie durch ihre spezifische Kommunikation mit dem so genannten Microenvironment auszeichnen, wird in diesem Modell berücksichtigt.
Weiters passt die Entwicklung von therapieresistenten Klonen, wie sie z. B. nach Behandlung mit dem Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib auftreten können, zu diesem Modell. Schließlich weisen Studien zu verschiedensten Tumoren auf genetische Ähnlichkeiten zwischen den Primärtumoren und Metastasen hin, die als das Ergebnis einer klonalen Evolution gedeutet werden könnten.
Wie in **Abbildung 2** gezeigt wird, haben im klonalen Evolutionsmodell alle undifferenzierten Zellen die gleiche tumorigene Kapazität (Nowell, 1976). Mutierte Zellen mit einem Wachstumsvorteil werden selektiert und expandiert, wobei die Zellen der dominanten Population ein ähnliches Potenzial zur Regenerierung des Tumorwachstums aufweisen. Das (sequenzielle) Auftreten genetischer Veränderungen unterstützt dieses Modell.

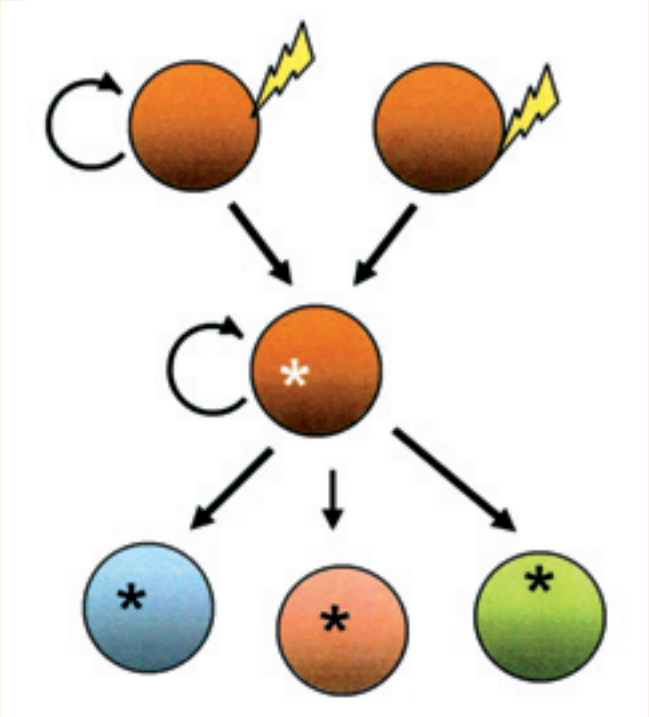


Abb. 1: Streng hierarchische Struktur des „klassischen" Tumorstammzellmodells

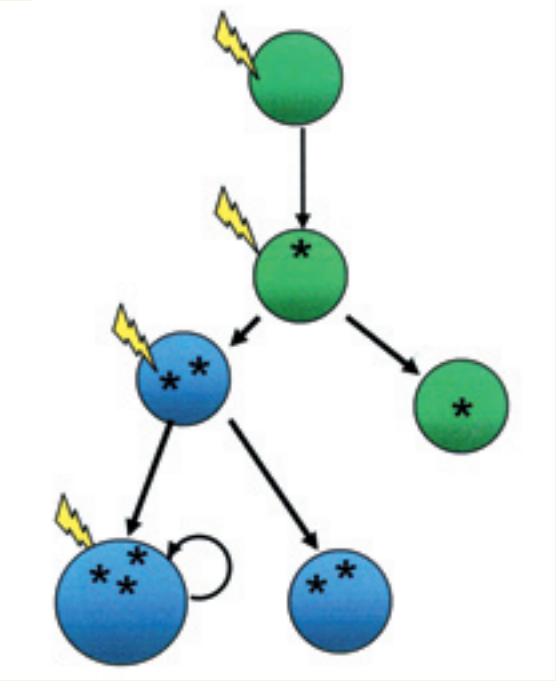


Abb. 2: Im klonalen Evolutionsmodell haben alle undifferenzierten Zellen die gleiche tumorigene Kapazität. Mutierte Zellen mit einem Wachstumsvorteil werden selektiert und expandiert.

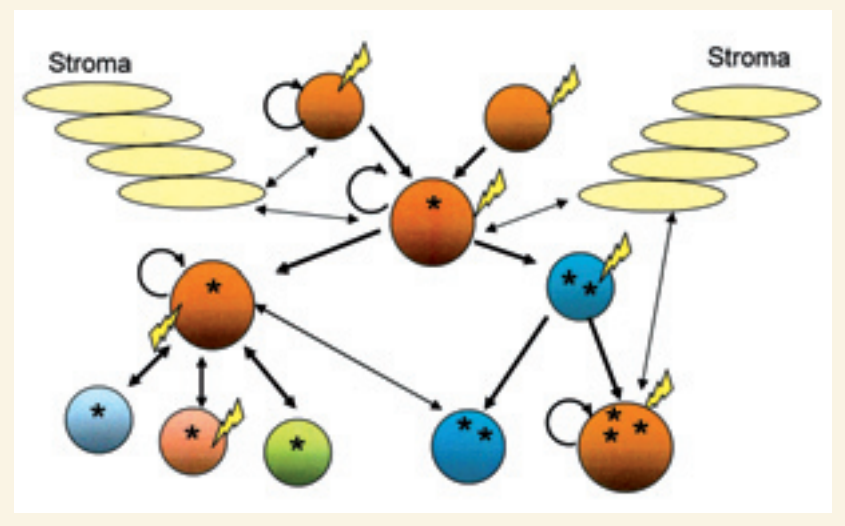


Abb. 3: Das aktuelle Modell berücksichtigt auch die Heterogenität möglicher Tumorstammzellen, deren Wechselwirkung mit dem Stroma und die Möglichkeit, dass sich bei fortgeschrittenen Tumoren auch differenziertere Zellen stammzelltypische Eigenschaften aneignen können.

Grenzen des Modells: Interessanterweise zeigt gerade die von Nowell als klassisches Modell für die klonale Evolution herangezogene Philadelphia-Chromosom-positive CML auch die Grenzen dieses Modells auf. Die Inaktivierung der auf diesem Chromosom kodierten BCR-ABL-Tyrosinkinase mit Imatinib kann nämlich nicht die Leukämie-Stammzellen (LSC) eliminieren, die für einen Relaps der Erkrankung verantwortlich sind.

Vergleich der beiden Konzepte

Gemeinsamkeiten: In gewissen Aspekten stimmen die Stammzellhypothese und das Modell der klonalen Evolution überein, da nach beiden Modellen die Tumoren aus einzelnen Zellen hervorgehen, die eine Reihe von Mutationen und ein unbegrenztes Proliferationspotenzial aufweisen. In beiden Fällen wird die Existenz einer typischen Ursprungszelle („Cell of Origin") postuliert. Weiters berücksichtigen beide Modelle die Bedeutung von Faktoren der unmittelbaren Umgebung („Microenvironment"), die das Aussehen eines Tumors und die klinischen Parameter bestimmen. Außerdem postulieren beide Modelle die Existenz von tumorigenen Zellen mit stammzelltypischen Eigenschaften, die einen selektiven Wachstumsvorteil gegenüber anderen (neoplastischen) Zellen aufweisen.

Unterschiede: Es gibt auch einige grundlegende Unterschiede zwischen der Stammzell-Hypothese und dem Modell der klonalen Evolution:
Zunächst erklären sie die Heterogenität von Tumoren mit verschiedenen Mechanismen: Die Tumorstammzellen zeichnen sich durch ein Programm zur aberranten Differenzierung aus, während beim klonalen Modell eine Vielfalt von Zelltypen durch kompetitive Mechanismen und Selektionsprozesse entsteht. Außerdem unterliegen nach der Stammzellhypothese vor allem die normalen Stamm- und Vorstufenzellen der malignen Transformation, während es im klonalen Evolutionsmodell eigentlich keine normalen Zellen gibt. Drittens beruht die Stammzellhypothese darauf, dass nur eine kleine Population von Zellen – eben die Tumorstammzellen – zur Progression eines Tumors beiträgt, während nach dem klonalen Evolutionsmodell jede Zelle in diesen Prozess involviert sein kann. Nur die Tumorstammzelle hat in diesem Modell das Potenzial, weiter zu mutieren und aggressiver zu werden – ein Vorgang, der nach dem klonalen Evolutionsmodell in jeder Tumorzelle stattfinden kann.
Die Selbsterneuerungskapazität kann daher von unterschiedlichen Zellpopulationen erworben werden: entweder nur von den Tumorstammzellen oder von jeglichem Zelltyp.
Ein anderer Unterschied zwischen den beiden Theorien betrifft die Erklärungsmodelle für Therapieresistenz: Entweder sind nur die Tumorstammzellen therapieresistent oder die Therapie selektiert für entsprechend tolerante Klone.

Welche Daten unterstützen das eine und das andere Modell der Krebsentstehung?

Beispielsweise unterstützen Ergebnisse aus der Brustkrebsforschung verschiedene Aspekte der Tumorstammzellhypothese. Erstens gibt es Hinweise darauf, dass Brustkrebs-Stammzellen (Tumor-CD44$^+$-Zellen) aus normalen Stammzellen hervorgegangen sind, weil sie viele Stammzellmarker exprimieren, die auch auf normalen CD44$^+$-Stammzellen vorkommen, welche üblicherweise gegen Ende einer Schwangerschaft verschwinden. Zweitens können Tumor-CD44$^+$-Zellen der Ausgangspunkt für eine „Hierarchie" von Tumorzellen sein: Die Tumor-CD24-Zellen sind den CD24-Zellen in der normalen Brustdrüse ähnlich und können genetische Veränderungen aufweisen, die man in Tumor-CD44$^+$-Zellen nicht findet. Drittens haben die Tumor-CD44$^+$-Zellen einen ausgeprägteren migratorischen, angiogenen und invasiven Phänotyp, was darauf hinweist, dass diese Tumorstammzellen ein höheres Potenzial zur Metastasierung haben.
Beispiele aus der Hämatologie zeigen, dass CSC nicht unbedingt durch Transformation normaler Stammzellen entstehen müssen, sondern auch aus Vorstufenzellen und differenzierteren Zellen hervorgehen können, die wieder eine Selbsterneuerungskapazität erlangt haben. Eine Konsequenz dieses Modells ergibt sich daher aus den mechanistischen Parallelen zwischen den Selbsterneuerungsprogrammen von normalen Stammzellen und CSC. In vielen Fällen wurde angenommen, dass der maligne Prozess in differenzierteren Zellen initiiert wird: Bei hämatologischen Neoplasien trifft das z. B. auf so genannte Mixed-Lineage-Leukämien zu, bei denen durch verschiedene Gen-Rearrangements stammzelltypische Eigenschaften in differenzierteren Vorstufenzellen induziert werden.

Probleme mit der Identifizierung von Tumorstammzellen

Die Verfahren zur Identifizierung von Tumorstammzellen aus soliden Tumoren

werden nach wie vor kritisch diskutiert: Um Subpopulationen von Zellen zu isolieren, werden die Tumoren üblicherweise mit proteolytischen Enzymen behandelt und dann nach Färbung mit verschiedenen Antikörpern und/oder Hoechst 33342 mittels Flowzytometrie oder mit immunomagnetischen Kügelchen sortiert. Diese Behandlung könnte einen gewissen Selektionsprozess darstellen.

Auch der Nachweis der Tumorigenität durch Injektion in immundefiziente Mäuse muss nicht unbedingt das Verhalten dieser Zellen im Patienten widerspiegeln, allein schon, wenn man die Unterschiede zwischen diesen beiden Spezies berücksichtigt, aber noch mehr, wenn man die Rolle der zellulären Umgebung (Microenvironment) in Betracht zieht, das in aktuellen Modellen immer mehr an Bedeutung gewinnt.

Das bedeutet, dass die identifizierten „Tumorstammzellen" nicht die einzigen tumorigenen Zellen eines Menschen sein müssen und daher auch nur einen kleinen Prozentsatz der Tumorzellen darstellen.

Eine der wichtigsten Annahmen der Tumorstammzellforschung, nämlich dass nur eine kleine Population von Zellen kanzerogen sein muss, könnte daher unrichtig sein. Neuere Daten vom Glioblastom, aber auch vom Melanom (Weinberg et al., 2010) weisen darauf hin, dass ein relativ hoher Anteil der Tumorzellen Stammzellpotenzial haben kann, was dazu geführt hat, dass in aktuelleren Übersichtartikeln der Begriff der „Ursprungszellen" (Cells of Origin) statt dem Stammzellbegriff verwendet wird (Visvader, 2011). Für die Verbesserung diverser Therapiekonzepte ist es daher besonders wichtig, die Biologie jener Neoplasien zu erforschen, bei denen die Eliminierung einer größeren Stammzellpopulation notwendig ist, wobei auch die zelluläre Umgebung (Microenvironment, Stroma) in Betracht gezogen werden muss (Karlic et al., 2010; Valent, 2011).

Die immer größer werdende Menge an epigenetischen Befunden liefert wichtige Indizien dafür, dass die Entstehung von Tumorstammzellen nicht unbedingt mit einer „Evolution" zusammenhängen muss, sondern recht spontan passieren kann (Ehrlich, 2009). Als Ursprungszellen kommen hierbei sowohl unreife als auch differenziertere Zellen in Frage.

Indem man Methylierungsmuster von nichtexprimierten Genen verfolgte, konnte man nachweisen, wie schnell individuelle Stammzellen innerhalb von Krypten des Dickdarms dominant werden können. Mathematische Modelle zeigten, dass die Dynamik der Stammzellen und eine so genannte epigenetische Drift für die unterschiedlichen Methylierungsmuster verantwortlich war (Graham et al., 2011).

Schlussfolgerung

Nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnisse müssen hierarchische bzw. klonale Aspekte des Stammzellmodells in holistischere und dynamischere Modelle integriert werden, bei denen auch die dynamische Umwandelbarkeit verschiedener Phänotypen (= Plastizität) berücksichtigt wird.

Zusammenfassung

Tumoren setzen sich aus morphologisch und physiologisch unterschiedlichen Zelltypen zusammen. Die Entstehung dieser Heterogenität wurde bislang vor allem mit zwei Konzepten erklärt: der Stammzellhypothese, die eine mehr oder weniger große Population von Tumorstammzellen als Wurzel der Entstehung und Persistenz von Malignomen postuliert, und dem älteren Modell der klonalen Evolution, bei dem sich die Neoplasie ausgehend von einer einzelnen Zelle durch Mutations- und Selektionsprozesse entwickelt. Wenn es auch Gemeinsamkeiten zwischen diesen Konzepten gibt, so bestehen doch fundamental verschiedene Ansätze mit unterschiedlichen klinischen Konsequenzen: Es ist sicher wichtig und notwendig, nach einer definierten Stammzelle zu fahnden und diese gezielt zu vernichten – aber reicht das wirklich aus, um zu verhindern, dass aus verbleibenden, differenzierteren Tumorzellen wieder Malignome entstehen?

Nach neueren Publikationen ist Letzteres nicht auszuschließen – es gibt sogar immer mehr Hinweise darauf, dass nach der Eradikation eines Tumors wieder weitere Malignome bzw. Metastasen aus Zellen entstehen können, die aufgrund ihrer phänotypischen „Normalität" nicht als maligne Zellen erkannt und vernichtet werden können. Bei der Entwicklung effizienterer Ansätze zur Therapie und Prävention maligner Erkrankungen müssen daher komplexere Zusammenhänge in Betracht gezogen werden, die beide Konzepte in systemische Modelle integrieren.

FACT-BOX

- *Tumorstammzellhypothese: Definierte Tumorstammzellen (CSC) mit unbegrenzter Selbsterneuerungsfähigkeit sind die Ursache für die Persistenz einer Neoplasie → die gezielte Vernichtung der CSC kann den Tumor vernichten.*
- *Modell der klonalen Evolution: Krebszellen erwerben verschiedenste Kombinationen von Mutationen → die aggressivsten Zellen setzen sich durch → möglichst alle Tumorzellen müssen durch die Therapie vernichtet werden.*
- *Neuere Erkenntnisse unterstützen kombinierte Modelle, inkludieren auch Aspekte der Umwandelbarkeit verschiedenster Zelltypen (Plastizität) und berücksichtigen die Bedeutung der Interaktion mit der zellulären Umgebung.*
- *Das Tumorstammzellmodell wird in systembiologische Modelle integriert.*

Literatur:

- Cohnheim V (1875), Congenitales, quergestreiftes Muskelsarkom der Nieren. Virchows Archiv für Pathologische Anatomie und Physiologie und für Klinische Medizin 65:64–69
- Ehrlich M (2009), DNA hypomethylation in cancer cells. Epigenomics 1:239–259
- Goardon N et al. (2011), Coexistence of LMPP-like and GMP-like leukemia stem cells in acute myeloid leukemia. Cancer Cell 19:138–152
- Graham TA et al. (2011), Use of methylation patterns to determine expansion of stem cell clones in human colon tissue. Gastroenterology 140:1241–1250 e1241–1249
- Greaves M (2010), Cancer stem cells: back to Darwin? Semin Cancer Biol 20:65-70
- Karlic H, Herrmann H, Schulenburg A, Grunt TW et al. (2010); (Tumor stem cell research – basis and challenge for diagnosis and therapy. Wien Klin Wochenschr 122:423–436
- Nowell PC (1976), The clonal evolution of tumor cell populations. Science 194:23–28
- Valent P (2011), Targeting of leukemia-initiating cells to develop curative drug therapies: straightforward but nontrivial concept. Curr Cancer Drug Targets 11:56–71
- Visvader JE (2011), Cells of origin in cancer. Nature 469:314–322
- Weinberg R, Fisher DE, Rich J (2010), Dynamic and transient cancer stem cells nurture melanoma. Nat Med 16:758

Was unterscheidet die Tumorstammzelle von der normalen Stammzelle?

Seit wenigen Jahren hat sich das Konzept der Tumorstammzellen etabliert. Man kann viel über ihre Eigenschaften von den normalen Stammzellen lernen. Zusätzlich ist es wichtig, Unterschiede zwischen beiden Arten von Stammzellen aufzuzeigen, um diese gegebenenfalls therapeutisch auszunutzen.

Dr. Axel Schulenburg
Klinische Abteilung für Onkologie,
Universitätsklinik für Innere Medizin I,
Wien

Jedes Leben höherer Lebensformen, auch wenn wir uns hier nur auf den Menschen beschränken, beginnt mit einer massiven Zellteilung. Diese führt zu einem Wachstum. Zusätzlich erfolgt das Wachstum nach einem genauen dreidimensionalen (Bau-)Plan. Dieser Plan zieht sich über eine vorbestimmte Zeit hin. Beim Menschen nennt sich das einfach Embryogenese. Diese könnte man auch noch in unterschiedliche Wachstumsphasen einteilen. Je nach Wachstumsphase werden unterschiedliche Organe angelegt. In der verbleibenden Zeit bis zur Geburt kommt es zu weiterer Ausreifung und vor allem zum Wachstum des Embryos.

Das alles klingt sehr vertraut. Doch was man tatsächlich darüber weiß – oder bis vor Kurzem darüber wusste –, ist: gar nichts. Fernab allen religiösen oder philosophischen Spekulierens war das Heranwachsen eines Lebewesens oder Menschen ein Rätsel oder Wunder, je nachdem ob man es wissenschaftlich oder philosophisch betrachten möchte. Morphologische Studien hielten sich mit Fehl-, Tot- und Missgeburten auf. Es gab Studien an Vogeleiern, die über Wachstum Aufschluss gaben. Es gab die abenteuerlichsten Theorien, wie zum Beispiel, dass der Mensch von Anfang an schon als kleiner Mensch („Homunkulus") bereits im Mutterleib angelegt wäre und nur noch bis zur Geburt an Größe gewinnen müsste. Jedoch blieben die treibenden Kräfte, die hinter dem Wachstum standen und die die Richtung angeben, verborgen.

Erst in unserer Zeit ist es gelungen, Licht in diese Abläufe zu bringen. Hier sind vor allen Dingen zwei Entdeckungen zu nennen: das eine ist die Entdeckung der für die Organanlegung und Richtung des Wachstums bestimmenden Faktoren. Dies begann mit der Entdeckung der entsprechenden Gene durch Nüsslein-Volhard und Wieschaus[1]. Hierzu wurden Fliegenexperimente herangezogen. Diese Gene sind, wie sich später herausstellte, auch von großer Bedeutung für die Stammzellen im erwachsenen Organismus. Das andere war die zunehmende Einsicht, dass zur Entstehung und im späteren Leben zur Erhaltung von Organen Stammzellen zeitlebens notwendig sind. Hier wurde noch bis vor Kurzem zwischen so genannten Regenerationsgewebe und normalen Organen unterschieden. Zum Regenerationsgewebe gehören die Organe, die ständiges Nachwachsen ihrer Zellen erfordern, die vor allem durch Abnützung oder sich nach Verletzungen schnell wieder neu bilden können müssen. Diese sind vor allem das Blut, die Schleimhäute und die Haut mit ihren Anhangsgebilden. Hier teilen sich die Zellen kontinuierlich und haben einen hohen Turnover, sodass es immer einen hohen Anteil von Zellen gibt, die sich gerade bei der Zellteilung befinden. Daher sind diese Organe sehr empfindlich auf Chemotherapie. Denn Chemotherapie trifft und tötet die Zellen, die sich gerade teilen. Dieser Effekt ist verantwortlich für die nur allzu bekannten und gefürchteten Nebenwirkungen von Chemotherapie wie gastrointestinalen Beschwerden (Schleimhaut), Haarausfall (Haut) und Infektionen (Blut). Mittlerweile weiß man jedoch, dass sich auch in den restlichen Organen, die keiner Abnützung oder normalerweise keinen Verletzungen ausgesetzt sind, sich zeitlebens Stammzellen befinden und auch zeitlebens aktiv an der Organerhaltung und teils auch Neustrukturierung beteiligt sind. Für beides und vor allem auch das Letztere kann ein Organ als Beispiel genannt werden, dass früher immer als Paradebeispiel für das Gegenteil gegolten hat, nämlich das Gehirn. Beim Gehirn ging man wie beim gesamten Nervengewebe davon aus, dass sich keine Zellen mehr teilen und dass es sich auch nicht regenerieren oder neu bilden kann. Im Gegensatz dazu gibt es heute Hinweise darauf, dass sich erstens aktive Stammzellen im Bereich des Hippocampus beim Erwachsenen befinden und zweitens diese Stammzellen und auch das Neuknüpfen von Verbindungen zwischen den Nervenzellen untereinander für das Lernen und Gedächtnis zeitlebens essenziell sind. Eine Mittelstellung zwischen Nervengewebe und Regenerationsgewebe nehmen Organe wie die Leber oder Muskeln ein, die sich bei Bedarf wieder vergrößern können. Ob dies die Arbeit

klassischer Stammzellen ist, bleibt jedoch umstritten. Es könnte sich hier auch um eine reine Vergrößerung von vorhandenen Zellen (Muskel), minderwertigem Ersatzgewebe (Herzmuskel) oder auch nur das Werk von bereits teilweise differenzierten Zellen (Leber) handeln.

Tumorstammzellen

In dieses ganze Konvolut von unterschiedlichen Stammzellen fallen nun auch noch die so genannten Tumorstammzellen. Inwiefern sie noch den klassischen Stammzellen wie den Blutstammzellen oder den Stammzellen bei der Embryogenese entsprechen, ist unklar. Klar hingegen ist ihre Ähnlichkeit. Diese wird durch zwei Entdeckungen verdeutlicht. Zum einen fand sich der im historischen Verlauf erste Hinweis für eine Ähnlichkeit von Tumoren und Stammzellen oder der Embryogenese beim so genannten Teratom. Das ist ein Tumor, der im erwachsenen Körper durch verstreute embryonale Stammzellen entsteht und sich aus unterschiedlichen Gewebsarten zusammensetzen kann. Zweitens begann die Entdeckung von Tumorstammzellen im typischen Regenerationsgewebe des Blutes 1997 durch Bonnet et al.[2]. Die Autoren zeigten, dass sich die akuten myeloischen Leukämien aus unterschiedlichen Zellen mit unterschiedlichen Fähigkeiten und prozentualem Anteil im Sinne einer Hierarchie zusammensetzen. Diese spiegelt die Unterschiede und die Zellhierarchie in der normalen Blutbildung (Hämatopoese) wider. Daher gilt die akute myeloische Leukämie als Paradebeispiel für Tumorstammzellen. In der Folge kam es zu der Entdeckung von Tumorstammzellen in den Tumoren anderer Gewebe. Inwieweit auch sie dem klassischen Modell einer Stammzelle und der Zellhierarchie in Organen entsprechen, ist noch Gegenstand der Forschung. In manchen Tumoren wie dem Melanom gibt es Schwierigkeiten, dieses Modell zu übertragen. Dennoch sprechen inzwischen viele von Tumoren als eine fehlgeleitete Organogenese. Da niemand weiß, weshalb es Tumoren gibt oder welche Funktion sie haben, sollte man sich mit dem Wort Organogenese zurückhalten. Jedoch ist es unbestreitbar, dass Tumorstammzellen und normale Stammzellen viele Ähnlichkeiten besitzen. Das gilt schon grundsätzlich, da auch Tumorstammzellen die für die Definition von Stammzellen erforderlichen Kriterien erfüllen, als da wären:

1. Die Stammzellen sind undifferenzierte Zellen, die sich selbst erneuern können müssen, das heißt, dass mindestens eine Tochterzelle nach einer Zellteilung wieder eine Stammzelle sein muss.
2. Die Stammzelle und ihre Nachkommen entwickeln ein komplettes Organ beziehungsweise einen Tumor sowohl morphologisch als auch mit allen dazu gehörenden Zellen und Funktionen.
3. Die Stammzelle muss dazu fähig sein, über die Balance ihrer Zellteilungsfähigkeiten ein Organ beziehungsweise einen Tumor zeitlebens in allen ihren Aspekten (Morphologie, Zusammensetzung der Zellen und Funktion) zu erhalten.

Für Regenerationsgewebe wie Blut (Leukämie) oder Darm (Dickdarmtumor) scheint das am ehesten zuzutreffen. Zusätzlich zu diesen Ähnlichkeiten zur Organogenese gibt es jedoch auch Ähnlichkeiten, die sich auf den ersten Blick und aus der Morphologie heraus nicht gleich ergeben. Das sind die inneren molekularbiologischen und genetischen Ähnlichkeiten, die normale Stammzellen und Tumorstammzellen aufweisen. Wie oben bereits erwähnt, konnten seit den 1980er Jahren bestimmte Gene und molekularbiologische Signalwege identifiziert werden, die für normale Stammzellen sowohl in der Embryogenese als auch im erwachsenen Körper wichtig sind. Es hat sich herausgestellt, dass diese auch für Tumorstammzellen essenziell sind. Es handelt sich hierbei vor allem um die Signalwege wnt, notch, hedgehog und TGFβ/BMP. Diese spielen je nach Organ eine unterschiedlich wichtige Rolle. Der WNT-Signalweg ist zum Beispiel sehr wichtig bei der Entstehung

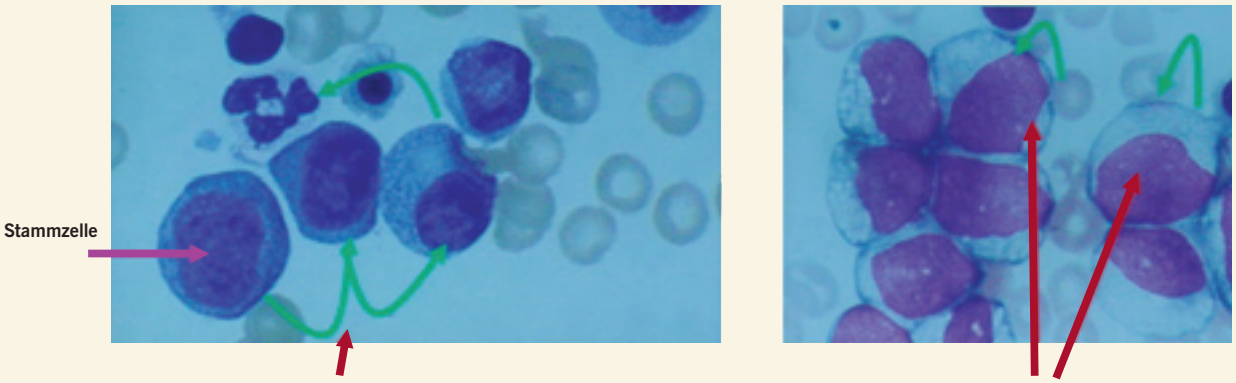


Abb.: Unterschiede zwischen normaler (links) und leukämischer (rechts) Hämatopoese: asymmetrische Teilung einer normalen Stammzelle (Gleichgewicht aus Selbsterneuerung und Differenzierung) und symmetrische Zellteilung (klonale Proliferation unreifer Zellen am Beispiel der AML)

von Dickdarmtumoren. Gerade bei diesem Tumor konnte auch bereits 1988 durch Bert Vogelstein aufgezeigt werden, wie sich der Tumor über eine Reihe von Vorstadien mit den entsprechend mutierten Genen heraus entwickelt[3]. Dies wird auch Adenom-Karzinom-Sequenz genannt. Meist müssen mehrere Signalwege mit unterschiedlichsten Mutationen betroffen sein, damit es zur Entstehung eines Tumors kommt. Darüber hinaus sind Tumorstammzellen der Definition nach natürlich auch pluripotente Zellen, und dies wird ebenfalls genetisch durch dieselben Transkriptionsfaktoren geregelt wie bei normalen Stammzellen. Dies schließt auch die Bildung beziehungsweise Rekrutierung von Bindegewebe oder Gefäßen (Angiogenese) ein. Es gibt Berichte, nach denen sich die Nachkommen der Stammzellen in einem Tumor zu gefäßbildenden Zellen umwandeln können.

Nicht zuletzt ähneln Tumorstammzellen normalen Stammzellen noch in einem Aspekt, der für die Therapie von Tumoren wichtig sein dürfte: Sie haben nämlich mehrere Methoden entwickelt, sich zu schützen oder, anders ausgedrückt: das Überleben des Gesamtorganismus oder Tumors zu sichern. Alle Stammzellen teilen sich nämlich sehr selten. Erst ihre direkten Nachfahren, die so genannten Progenitorzellen, teilen sich dafür sehr schnell und sorgen für die rasche Wiederauffüllung einer – sei es durch Abnützung oder Verletzung entstandenen – Lücke im Zellbestand. Deshalb werden Stammzellen auch durch Chemotherapie seltener getroffen. Mutationen von Zellrezeptoren an der Zelloberfläche können das Eindringen oder die Wirkung von Stoffen (wie Imatinib) behindern. Auch verfügemen Stammzellen über Proteine in ihrer Zellwand, die dafür sorgen, dass schädliche Substanzen schnell wieder herausgepumpt werden. Eines davon (Hoechst 33342) dient sogar als Farbstoff zur Erkennung von Stammzellen in der so genannten Durchflusszytometrie. Einmal in die Zelle gelangt, werden schädliche Stoffe durch spezielle Enzyme auch schneller abgebaut (wie zum Beispiel das Chemotherapeutikum Cyclophosphamid durch das Enzym Aldehyd-Dehydrogenase). Sollte trotz allen Schutzes in Stammzellen ein Schaden angerichtet worden sein, egal ob durch Chemotherapie, moderne gezielte Medikamente oder Bestrahlung, gibt es immer noch Möglichkeiten, um ein Sterben der betroffenen Stammzelle zu verhindern. Denn Stammzellen exprimieren vermehrt antiapoptotische Moleküle. Sie sind relativ resistent gegen oxidativen Stress. Gegen Schaden an der DNA verfügen sie über ausgeprägte Reparaturmechanismen.

INSGESAMT muss man also festhalten, dass Tumorstammzellen mit normalen Stammzellen eine Menge gemeinsam haben. Diese Gemeinsamkeiten scheinen jedoch leider für die Bösartigkeit des jeweiligen Tumors bestimmend zu sein. ■

1 Nüsslein-Volhard C, Wieschaus E, „Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila". Nature 1980(Oct); 287(5785):795–801

2 Bonnet D, Dick JE, Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. Nat Med. 1997(Jul); 3(7):730–737

3 Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL, Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med. 1988 (Sep 1); 319(9):525–32

„Unsterblichkeit“ von Tumorstammzellen?

KONTEXT: *Das Potenzial der langfristigen Selbsterneuerung* (stem cell self renewal) *gilt als eines der wichtigsten Charakteristika von Tumorstammzellen (cancer stem cells, CSC), aber auch von langfristig „in vitro“ kultivierten Tumorzellen, die keinen „klassischen“ Stammzell-Phänotyp (mehr) aufweisen. Eines der extremsten Beispiele für die „Unsterblichkeit“ beziehungsweise die scheinbar unbegrenzte Fähigkeit zur Regeneration derartiger neoplastischer Zellen bieten sicher die HeLa-Zellen, die dank dieser Fähigkeit bereits seit über 60 Jahren nach dem Tod der damals 31-jährigen Patientin kultiviert werden (Skloot 2010). Seit den 50er Jahren des vorigen Jahrhunderts dienten HeLa-Zellen als Modellsystem für über 65.000 wissenschaftliche Publikationen. In den letzten Jahren werden aber in zunehmendem Maße embryonale Stammzellen aus Modellorganismen (vorzugsweise der Maus) herangezogen, aus denen man mit einem Cocktail von Transkriptionsfaktoren Vorstufen für verschiedene Zelltypen erzeugen kann. Der Vorteil dieser Modelle ist, dass man in diesen Systemen die Mechanismen der CSC-Entstehung und Persistenz untersuchen kann (Hyman and Simons, 2011).*

Wenn das CSC-Konzept auch weitgehend anerkannt ist, so bleiben also nach wie vor doch noch viele Fragen offen, auch was die spezifischen Nachweisverfahren derartiger CSC sowie ihre biologischen Eigenschaften betrifft, die als gezielte Ansatzpunkte für Therapien dienen könnten. Auch die zum Teil recht ausgeprägte Heterogenität neoplastischer Stammzellen innerhalb eines Tumors und die Beobachtung, dass nicht alle CSCs-Tumoren induzieren können, war der Anlass für eine kritische Auseinandersetzung mit dieser Thematik im Rahmen der „Year 2011 Working Conference on CSCs“, die vom 2. bis 4. September dieses Jahres in Wien abgehalten worden ist. In der Konferenz wurde auch mehrfach betont, dass die Möglichkeiten der aktuellen Nachweisverfahren begrenzt sind und dass es trotzdem das Ziel der Stammzellforschung bleiben muss, die Erkenntnisse in neuen Therapieverfahren zu nutzen, mit dem Endziel, über eine spezifische Vernichtung der CSC in den PatientInnen bessere kurative Therapieansätze zu entwickeln.

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic[1, 2],
Dr. Harald Herrmann[1, 3],
Univ.-Prof. Dr. Peter Valent[1, 3]
[1] Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology, Wien
[2] Ludwig-Boltzmann-Institut für Leukämieforschung und Hämatologie, Hanusch Krankenhaus, Wien
[3] Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Hämatologie und Hämostaseologie; Medizinische Universität Wien

CSC zeichnen sich durch eine nahezu unbegrenzte Fähigkeit zur Proliferation und Selbsterneuerung aus, die therapeutisch nur schwer überwunden werden kann. Ein Grund dafür ist, dass die Regulation der Zellproliferation durch ein komplexes molekulares Netzwerk gesteuert wird, das unter anderem auf Signaltransduktion und Chromatin-Modifikation sowie epigenetischen Mechanismen basiert. Vor allem die Signaltransduktionsmoleküle sind beliebte Angriffsziele für so genannte zielgerichtete Krebsmedikamente. Weitere wichtige Angriffspunkte bieten bestimmte Oberflächen-Moleküle, vor allem wenn diese vorzugsweise auf Tumorstammzellen oder Leukämie-Stammzellen (LSC) zur Expression kommen.

Im Forschungscluster Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology, LB-CO, wurden vor Kurzem etliche interessante Zielstrukturen in leukämischen Stammzellen entdeckt. Beispielsweise konnte kürzlich im Rahmen von LB-CO-Projekten gezeigt werden, dass leukämische Stammzellen in der akuten und chronischen myeloischen Leukämie (AML, CML) die Targetantigene CD33 und CD52 exprimieren. In der AML wurde vor allem auch untersucht, welche „Heat-Shock-Proteine“ (HSP) in den leukämischen Stammzellen zur Expression kommen, da diese Proteine ganz besonders zum Überleben und zur Resistenz der Stammzellen beitragen. In diesen Studien konnte der LB-CO vor Kurzem zeigen, dass das HSP 32 in den AML-Stammzellen zur Expression kommt und als Überlebensmolekül und Resistenzantigen fungiert.

MYC-Onkogen, BRD4 und JQ1: Ein zentrales Steuerungsmolekül, das kontinuierliches Wachstum und Unsterblichkeit von Tumorzellen vermittelt, ist das Onkogen MYC. Für die Synthese des MYC-Onkoproteins ist eine Anzahl von zum Teil unbekannten Regulatoren verantwortlich, inklusive bestimmter chromatinmodifizierender Moleküle. Bereits im Jahr 1987 konnte mittels In-situ-Hybridisierung nachgewiesen werden, dass sich das humane Papillomavirus 18 bei den bereits erwähnten HeLa-Zellen exakt

in jene Region des Chromosoms 8 eingenistet hat, in der sich das MYC-Onkogen befindet, und auf diese Weise zu einer Aktivierung dieses Gens beiträgt, was wahrscheinlich eine zentrale Rolle für die „Unsterblichkeit“ dieser Zellen spielt (Ambros and Karlic, 1987).
Wissenschaftler in den USA haben gezeigt, dass das chromatinregulierende Protein BRD4 die Synthese von MYC in leukämischen Zellen steuert und deshalb eine viel versprechende Zielstruktur für die Leukämietherapie darstellt. Die Arbeiten an humanen AML-Zellen wurden zum Teil in Kooperation mit dem Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology durchgeführt und im Fachjournal Nature gemeinsam mit einer internationalen Arbeitsgruppe publiziert (Zuber et al., 2011). Die BRD4-blockierende Substanz JQ1, die bereits als Modellsubstanz zur Entwicklung neuer antileukämischer Medikamente gehandelt wird, inaktiviert in diesen Zellen das MYC-Onkogen und löst auf diese Weise in den Leukämiezellen einen Wachstumsstopp und den gerichteten Zelltod (Apoptose) aus (**Abb. 1**). In einem weiteren Schritt ist es nun Mitarbeitern des LB-CO gelungen, nachzuweisen, dass auch die Stammzellen der AML BRD4 exprimieren, und dass JQ1 auch in diesen Zellen die Apoptose auslösen kann.

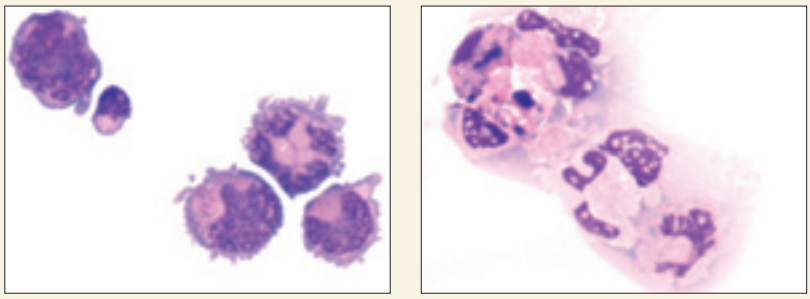


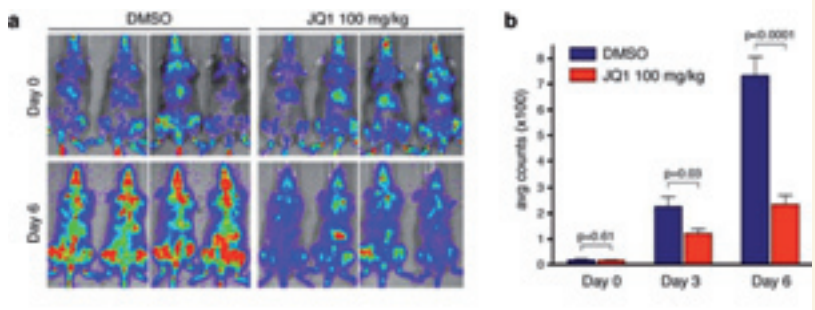
Abb. 1: Induktion von Apoptose (Kernfragmentierung) durch JQ1, den Inhibitor des chromatinregulierenden Proteins BRD4, das eine zentrale Rolle für die Synthese des MYC-Onkoproteins hat.

Zur Bedeutung und Pathogenese der AML

Die akute myeloische Leukämie (AML) ist eine Leukämie, deren Entstehung aus Stammzellen bereits sehr gut dokumentiert ist. Ein Charakteristikum dieser Erkrankung ist die unkontrollierte Proliferation und Anhäufung von Myeloblasten in blutbildenden Geweben. Der klinische Verlauf und die Prognose der AML variiert, je nachdem, welche Gene bzw. welche Zelltypen betroffen sind und welche biologischen Eigenschaften die entstehenden Klone aufweisen. In den meisten Varianten der AML stellt die Komplexität und Heterogenität des „Onkogenoms“ eine besondere Herausforderung für die Entwicklung effizienter Therapiekonzepte dar. Eine interessante Tatsache ist dabei, dass dieselben biologischen Funktionen einer Zelle durch verschiedenste genetische Aberrationen in ähnlicher Weise beeinträchtigt werden können: Ein Beispiel dafür ist die wiederkehrende Störung der normalen Differenzierungsprogramme in den Leukämiestammzellen (LSC), die sich im Gegensatz zu normalen Stammzellen ständig unkontrolliert „selbsterneuern“. Strategien, die darauf abzielen, diesen Selbsterneuerungsprozess zu beenden und auf diese Weise die LSC zu vernichten, sind daher von zentraler Bedeutung für die Entwicklung von effizienteren (kurativen) Therapien der AML.
Angesichts der zentralen Bedeutung epigenetischer Parameter für die Entstehung von Krebserkrankungen wurden systematisch Gene analysiert, die im Inneren des Zellkerns – in der epigenetisch gesteuerten „Maschinerie“ der Genregulation (Chromatin) – eine Rolle spielen.

Entdeckung und Entwicklung von BRD4 als therapeutische Zielstruktur

Zunächst wurde im Tiermodell mittels einer neuen Technologie, der so genannten RNA-Interferenz (RNAi), systematisch nach epigenetischen Schwachstellen der Leukämie gesucht. Durch diesen Screen wurde das Regulatorgen BRD4 als eine viel versprechende Zielstruktur für die Therapie der AML entdeckt. Eine Hemmung von BRD4 mittels RNAi oder dem molekularen Inhibitor JQ1 blockierte die Bindung von BRD4 an wichtige regulatorische Elemente des Chromatins (azetylierte Histone) und induzierte auf diese Weise eine antileukämische Wirkung in allen getesteten AML-Modellen der Maus, in allen untersuchten humanen Leukämie-Zelllinien (n = 8) sowie in primären AML-Zellen (**Abb. 2**). In diesen Modellen bewirkte die BRD4-Hemmung



Wirkung des BRD4-Inhibitors JQ1 nach Transplantation von Leukämiezellen: Die Therapie wurde 4 Tage nach der Transplantation leukämischer Zellen begonnen und zeigte bereits nach 3 Tagen eine signifikante Wirkung gegenüber der DMSO-Kontrolle

modifiziert nach: Zuber J et al., Nature 2011; 478(7370):524–8

Abb. 2: Beispiel der antileukämischen Wirkung von JQ1 im Mausmodell

sowohl den programmierten Zelltod (Apoptose) als auch eine gewisse (oft signifikante) myeloische Differenzierung und unterdrückte somit die wichtigsten Stammzelleigenschaften in diesen Zellen. Einer der wichtigsten Effekte war eine Hemmung der Transkription des MYC-Onkogens, das eine zentrale Rolle für die Persistenz der LSC spielt.

Um die Hemmung von BRD4 als potenziellen therapeutischen Ansatz zur Vernichtung von LSC in der AML zu evaluieren, testeten Mitarbeiter des LB-CO die Wirkung von JQ1 auf primäre AML-Zellen in 17 PatientInnen mit frisch diagnostizierter oder therapieresistenter AML (5 Frauen, 12 Männer, medianes Alter 54 Jahre; Range: 21–80 Jahre). In den primären Zellen der AML konnte bereits mit sehr geringen Mengen JQ1 eine deutliche Wachstumshemmung erzielt werden (IC50 0,05-0,5 μM). Die Anwesenheit von wachstumsstimulierenden Faktoren (Zytokine wie G-CSF, IL-3 oder SCF) spielte dabei keine Rolle. Weiters induzierte JQ1 sehr effizient die Apoptose in den Leukämiezellen der PatientInnen, wobei die Wirkung von JQ1 unabhängig vom Krankheitsstatus (frisch diagnostiziert oder therapieresistent) war.

In einem zweiten Schritt wurde die Wirkung von JQ1 auf AML LSC getestet. Es konnte dabei gezeigt werden, dass JQ1 nicht nur Vorläuferzellen ($CD34^+/CD38^+$), sondern auch unreife Stammzellen ($CD34^+/CD38^-$) der AML in die Apoptose treiben kann. Außerdem induzierte JQ1 in 6 von 7 Patienten/innen eine Ausreifung der Leukämiezellen, womit die Beobachtungen im Tiermodell grundsätzlich bestätigt wurden. Schließlich konnte auch noch gezeigt werden, dass JQ1 synergistisch mit ARA-C, einem effektiven Chemotherapeutikum, das in der AML-Therapie sehr häufig eingesetzt wird, eine Wachstumshemmung in den Leukämiezellen hervorrufen kann.

Zusammenfassend kann daher festgestellt werden, dass man mit der molekularen Hemmung von BRD4 einen ausgeprägten antileukämischen Effekt in zahlreichen AML-Varianten erzielen kann, wobei der Wirkung von JQ1 auf die LSC eine besondere Bedeutung zukommt. Der Nachweis des Brd4 in der (AML) und deren Stammzellen durch das LB-CO ist somit ein möglicher weiterer Schritt zur Optimierung der AML-Therapie. Ein Teil der Forschungsergebnisse wurde vor Kurzem in der Fachzeitschrift „Nature“ publiziert (Zuber et al., 2011), zum Teil sind die Daten zur Publikation eingereicht und werden auf diversen Kongressen präsentiert.

Zelluläre Umgebung von Tumorstammzellen

Systemische Modelle der Kanzerogenese messen der zellulären Umgebung von (potenziellen) Tumorzellen generell eine große Bedeutung für Selektionsprozesse in Richtung „Unsterblichkeit“ bei und beziehen immer mehr Aspekte ein, welche sich aus der intra- und interzellulären molekularen Kommunikation ergeben.

Ein Beispiel dafür findet sich in einer aktuellen Ausgabe der Zeitschrift „Nature“: Die Autoren konnten zeigen, dass der von Hautkrebszellen freigesetzte Wachstumsfaktor VEGF (vascular endothelial growth factor) nicht nur die Blutzufuhr (Angiogenese) zum Tumor stimuliert, sondern in autokriner Manier auch die Selbsterneuerungsfähigkeit der Stammzellen aufrecht erhält. Mit einer Blockade des VEGF könnte man also „zwei Fliegen auf einen Schlag“ treffen, nämlich die Stammzellen parakrin „aushungern“ und gleichzeitig auch autokrin den Sterbeprozess beschleunigen (Beck et al., 2011).

Die immanente Bedeutung der zellulären Umgebung von Tumorstammzellen wird auch dadurch verdeutlicht, dass eine isolierte In-vitro-Kultur dieser Zellen nicht möglich ist. Auch bei der Transplantation von Tumorstammzellen in immunsupprimierte Mäuse müssen Substanzen zugegeben werden, die das so genannte „Homing“ also das Einnisten in diverse Nischen, fördern. Alle diese Befunde machen also deutlich, dass systemische Aspekte bei der Behandlung unbedingt einbezogen werden müssen, wenn man die Tumorstammzellen vernichten will und die Genese neuer Tumorstammzellen aus differenzierteren Tumorzellen oder (normalen) Vorstufenzellen nachhaltig verhindern will. ■

FACT-BOX

Strategien zur ständigen Selbsterneuerung und zum langfristigen Überleben von Tumorstammzellen, möglicherweise aber auch von differenzierteren (Tumor-)Zellen, aus denen unter bestimmten Bedingungen Tumorstammzellen hervorgehen können, sind:

- *Ruhephasen – oft in Kontakt mit der Stammzell-Nische*
- *Das Potenzial zur Veränderung des Phänotyps (Plastizität)*
- *Genetische und epigenetische Veränderungen von Onkogenen und Tumor-Suppressorgenen*
- *Mechanismen zur Entwicklung von Therapieresistenz*

Literatur:
- Ambros PF, Karlic HI, Chromosomal insertion of human papillomavirus 18 sequences in HeLa cells detected by nonisotopic in situ hybridization and reflection contrast microscopy. Hum Genet 1987; 77:251–254
- Beck B, Driessens G et al., A vascular niche and a VEGF-Nrp1 loop regulate the initiation and stemness of skin tumours. Nature 2011; 478:399–403
- Hyman AH, Simons K, The new cell biology: Beyond HeLa cells. Nature 2011; 480:34
- Skloot R, 2010; Die Unsterblichkeit der Henrietta Lacks. irisiana-verlag.
- Zuber J, Shi J et al., Nature 2011; 478(7370):524–8

Tumorpromoter oder Tumorsuppressor?

Bedeutung der Sirtuine in der Prävention und Pathogenese von Krebserkrankungen

KONTEXT: *Basierend auf der Tatsache, dass sowohl die Expression als auch die Aktivität von Sirtuinen bei manchen Krebserkrankungen hoch- und bei anderen herunterreguliert sein können, wird derzeit noch kontrovers diskutiert, ob Sirtuine die Entstehung und Progression von Krebserkrankungen supprimieren oder eher fördern. Deshalb ist momentan noch völlig unklar, in welchem Umfang und unter welchen besonderen Umständen Sirtuin-Aktivatoren bzw. -Inhibitoren bei der Behandlung von altersbedingten Erkrankungen und Krebs eingesetzt werden können. In diesem Übersichtsartikel stellen wir die Highlights der Sirtuin-Forschung zusammen, um die Mechanismen, mit deren Hilfe Sirtuine die Pathogenese der zellulären Malignität beeinflussen, besser zu verstehen.*

PD Dr. med.
Susanne Völter-Mahlknecht

Univ.-Prof. Dr. med. Ulrich Mahlknecht
Abteilung für Innere Medizin,
José-Carreras-Zentrum für
Immuntherapie und Gentherapie,
Universitätsklinikum des Saarlandes,
Homburg/Saar, Deutschland

Die Familie der Sirtuinproteine

Bisher wurden sieben humane Sirtuine (SIRT1–SIRT7) identifiziert. Basierend auf phylogenetischen Analysen werden diese in vier Unterklassen eingeteilt[1]. Das Hauptmerkmal zur Unterscheidung der Sirtuine von den Nicht-Sirtuin-HDAC sind ihre einzigartigen enzymatischen Mechanismen. Die Sirtuine sind NAD^+-abhängige Deacetylasen und ADP-Ribosyltransferasen. Die meisten Sirtuine katalysieren die NAD^+-abhängige Deacetylierung. Während SIRT4 eine NAD+-abhängige Mono-ADP-Ribosyltransferase-Aktivität aufweist, haben SIRT1 und SIRT6 eine ADP-Ribosyltransferase-Aktivität und eine substratspezifische Deacetylase-Aktivität. Für SIRT4 und SIRT7 konnte eine Deacetylase-Aktivität bisher nicht nachgewiesen werden, möglicherweise ist eine solche enzymatische Aktivität nur in Anwesenheit eines spezifischen Substrats möglich, so wie z. B. bei SIRT6. Die enzymatischen Aktivitäten der Sirtuine sind mit vielen zellulären Prozessen assoziiert, wie z. B. mit dem Silencing von Heterochromatin, der Zelldifferenzierung, metabolischen Vorgängen, neuronalen Schutzmechanismen sowie mit zellulärer Apoptose und mit dem Überleben von Zellen, was auf der Fähigkeit der Sirtuine beruht, sowohl Histone als auch multiple Nicht-Histon-Ziele zu deacetylieren. Drei Säuger-Sirtuine konnten innerhalb der Mitochondrien (SIRT3, SIRT4 und SIRT5) lokalisiert werden, während die anderen Sirtuine ihre Funktionen innerhalb des Zytosols (SIRT2), im Zellkern (SIRT1 und SIRT6) oder innerhalb der Nukleolen (SIRT7) ausüben (**Tab.**). Eine Reihe von Signaltransduktionswegen ist mit der Fähigkeit einer Kalorienrestriktion, die Lebensdauer zu verlängern, assoziiert. In diesem Zusammenhang spielen die Sirtuine eine zentrale Rolle, da diese NAD+ als Kofaktor für die enzymatische Aktivität benötigen, was auf ihre Bedeutung bei der energieabhängigen Regulation der Genexpression hinweist. In der Tat konnten Untersuchungen an niederen Organismen (Hefe, Drosophila melanogaster oder Caenorhabditis elegans) zeigen, dass sowohl eine Überexpression wie auch eine gesteigerte Aktivität von SIR2 (Hefe) und ihren Orthologen mit einer verlängerten Lebensdauer einhergeht (**Tab., Abb. 1**).

Die Bedeutung von Sirtuinen für die Karzinogenese

Obwohl eine Kalorienreduktion bei Nagetieren und Primaten scheinbar den effektivsten Weg der Krebsprävention darstellt – was von manchen Autoren als Hinweis auf die tumorsuppressive Wirkung von Sirtuinen gewertet wird –, scheinen einige Sirtuine, wie SIRT1 und SIRT3, das Überleben der Zelle zu verbessern, was für eine tumorfördernde Wirkung sprechen könnte. Steigende Krebsraten korrelieren direkt mit zunehmendem Alter. Die meisten Krebsarten entstehen aus genetischen oder epigenetischen Schäden im Bereich erneuerbarer Gewebsstrukturen, was mit gesteigerter Zellproliferation und Zellüberleben infolge beeinträchtigter Apoptose einhergehen kann. Während eine Degeneration von Organstrukturen in der Regel mit einem Funktionsverlust einhergeht, ist die Karzinogenese mit einer Zunahme von aberranten Funktionen assoziiert[2, 3, 4].

Tab.: Hinweise für eine Beteiligung von Sirtuinproteinen an der Regulation von Lebensdauer und altersbedingten Krankheiten

Sirtuin	Größe	Lokalisierung	Enzymatische Aktivität	Interaktionen	Funktion	Maus-Knock-out-Modelle
SIRT1	82 kD	Kern	Deacetylase	ACS1, AR, AROS, BCL11A, COUP-TF, CTIP2, DBC1, FOXO1, FOXO4, E2F1, eNOS, histones H1, H4, IRS2, KU70, LXR, MEF2, NBS1, NCOR, NF-κB-p65, p300, p53, p73, PGC1a, RB, SMAD7, SUV39H1, TAT, TLE1, TORC2, WRN	Glukoseproduktion, Insulinsekretion, Fettsäuremobilisierung/ -oxidation (Leber/ Skelettmuskel), Cholesterolregulation, Adipokinregulation, Neuroprotektion, Stress. resistenz, Apoptosekontrolle, Zelldifferenzierung, Kalorienreduktion	Sirt1 -/-: die meisten Mäuse sterben perinatal, Retina-, Knochen- und Herzdefekte
SIRT2	42 kD	Zytosol	Deacetylase	FOXO3a, histones H3, H4, HOXA10, 14-3-3 protein, p53, tubulin,	Kontrolle des Zellzyklus, Tubulin-Deacetylierung	Sirt2 -/-: normale Entwicklung
SIRT3	44 kD	Mitochondrien	Deacetylase	AceCS2, GDH complex I	Thermogenese/Stoffwechsel, ATP-Produktion, mitochondriale Fettsäureoxidation	Sirt3 -/-: normale Entwicklung, veränderte AcdCS2-Aktivität, ATP Spiegel und mitochondriale Proteinacetylierung
SIRT4	35 kD	Mitochondrien	ADP-Ribosyltransferase	GDH, IDE, ANT2/3	Insulinsekretion	Sirt4 -/-: erscheinen gesund, gesteigerte mitochondriale GDH- Aktivität
SIRT5	34 kD	Mitochondrien	Deacetylase	CPS1	Regulation des Harnstoffzyklus	Sirt5 -/-: Defekt im Harnstoffzyklus
SIRT6	39 kD	Kern	ADP-Ribosyltransferase	Histone H3, NF-κB	DNA-Reparatur, Telomer-Chromatinstruktur, NF-κB Regulation, Stoffwechsel	Sirt6 -/-: Progeroidsyndrom, schwere Hypoglykämie, Tod binnen 4 Wochen
SIRT7	48kD	Nukleolus	Deacetylase	RNA polymerase I, p53	rDNA-Transkription	Sirt7 -/-: Kardiomyopathie, reduzierte Lebenserwartung,

Sirtuin-1, SIRT1

Der intrazelluläre SIRT1-Spiegel ist bei einer Reihe von Krebszellen deutlich erhöht. SIRT1 bindet und deacetyliert den Androgenrezeptor und unterdrückt den dihydrotestosteroninduzierten Androgen-Rezeptor-Signalweg in humanen Prostata-Krebszellen. Auf der anderen Seite induziert SIRT1 das Silencing von Genen wie auch Wachstum und Apoptose in menschlichen epithelialen Krebszellen. Die Induktion von SIRT1 in einem Beta-Catenin-abhängigen murinen Kolonkarzinom-Modell reduziert signifikant die Tumorbildung bzw. die Proliferation von Tumorzellen und damit die Morbidität der Tiere. Jedoch kann SIRT1 auch die TNFα-induzierte Apoptose stimulieren, was darauf hinweist, dass SIRT1 die Apoptose nicht nur unterdrücken, sondern auch fördern kann.

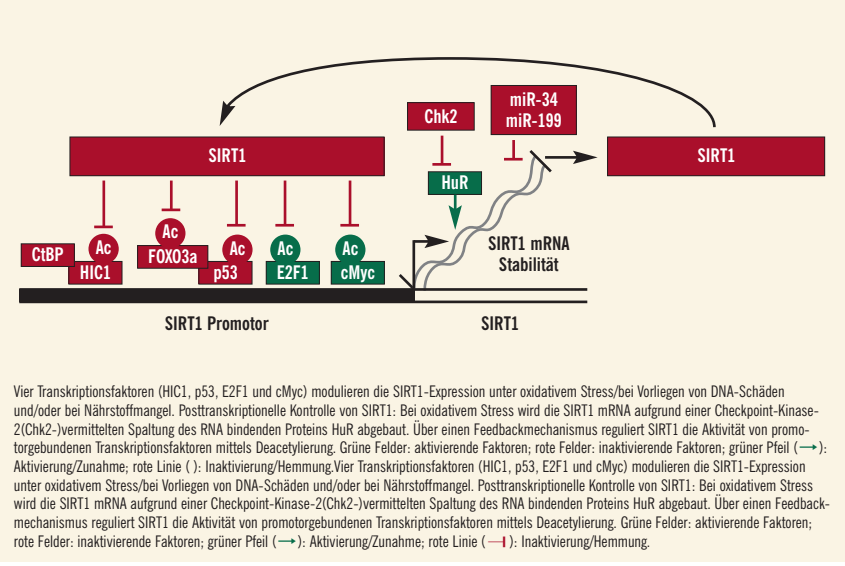
Neben der Deacetylierung von Histonen deacetyliert SIRT1 auch Nicht-Histon-Proteine, wie z. B. verschiedene Transkriptionsfaktoren, die an der Wachstumsregulierung, der Stressantwort und der Apoptose bei der Krebsprogression beteiligt sind. Die Hemmung von SIRT1 geht mit einem Anstieg der H4K16-, H3K9- und H1K26-Acetylierung bei endogenen Promotoren einher und reicht aus, um die Gen-Reexpression in Brust- und Darmkrebs-Tumorzellen zu induzieren. SIRT1 reguliert auch die Bildung von Heterochromatin über eine Deacetylierung von Histon H1K26 und fördert den Verlust von H3K79me2, einem mit transkriptionell aktivem Chromatin assoziierten Marker. Dies sind nur einige Beispiele dafür, wie SIRT1 eventuell mit der Modulation epigenetischer Merkmale von Krebs assoziiert ist.

Beeinflussung von Tumorsuppressoren: Trotz aller positiven Effekte kann die SIRT1-Aktivierung auch nachteilig sein: Die SIRT1-katalysierte Deacetylierung des Tumorsuppressorproteins p53 geht mit einer p53-Inaktivierung einher, was Zellen ermöglicht, die p53-vermittelte Apoptose (**Abb. 1**) zu umgehen. Das ist positiv für normale Zellen, da ihr Überleben gefördert und das Leben verlängert wird. In Tumorzellen ist dieser Effekt jedoch überhaupt nicht erwünscht, da er das Tumorwachstum verstärkt. Auf der anderen Seite reguliert eine Reihe von Tumorsuppressorproteinen, wie z. B. p53, HIC1 *(hypermethylated in cancer*

1) und DBC1, SIRT1 negativ: HIC1 ist eine Zinkfingerprotein, das durch p53 reguliert wird, was wiederum an den SIRT1-Promotor bindet und somit die Sirt1-Transkription unterdrückt. Dementsprechend reguliert die Inaktivierung von HIC1 die Transkription von SIRT1 hoch, wodurch p53 inaktiviert wird, wodurch Zellen die Apoptose nach DNA-Schädigung umgehen können. Interessanterweise scheint HIC1 eine vom Lebensalter abhängige Hypermethylierung in der Promotorregion zu erfahren, was zumindest teilweise die zunehmende Anfälligkeit für Krebs mit zunehmendem Lebensalter erklären könnte. CtBP ist ein Korepressor, der an HIC1 bindet, und diese Bindung von CtBP an HIC1 ist besonders stark im Rahmen der Glykolyse. Deshalb ist bei einer Hemmung der Glykolyse die Bindung des Korepressors CtBP an HIC1 verringert, was wiederum die SIRT1-Expression verstärkt (**Abb. 1**). DBC1 *(deleted in breast cancer)* ist ein weiterer Tumorsuppressor, der die SIRT1-Deacetylase-Aktivität negativ reguliert. Ein DBC1-Knock-down durch siRNA fördert die p53-Deacetylierung, wodurch wiederum Zellen genotoxischen Stress überleben können. DBC1 kann daher die Entwicklung von Brustkrebs durch die Aktivierung von SIRT1 fördern, was dann p53 und/oder andere Tumorsuppressorwege herunterreguliert. cMYC ist ein Protoonkogen, das die Zellproliferation, die Stammzellselbsterneuerung und die Apoptose reguliert. cMYC bindet an den SIRT1-Promotor und induziert die SIRT1-Expression, aber durch einen Feedbackmechanismus, der in der Tat eine zelluläre Transformation vermeiden könnte, deacetyliert SIRT1 cMYC, was die cMYC-Stabilität reduziert und somit eine Tumorsuppression induziert (**Abb. 1**)[5, 6].

SIRT1: Tumorpromoter oder Tumorsuppressor? Tatsächlich scheint die SIRT1-Expression bei den meisten Krebsarten, wie z. B. beim Prostatakarzinom, bei der akuten myeloischen Leukämie, beim nichtmelanozytären Hautkrebs, beim primären Kolonkarzinom und beim Brustkrebs hochreguliert zu sein. Diese Tatsache und die Fähigkeit von SIRT1, eine Reihe von Proteinen, die mit Tumorsuppression und mit der Reparatur von DNA-Schäden assoziiert sind, zu inaktivieren, erklärt, warum SIRT1 vor allem als Tumorpromotor eingestuft wurde. Das SIRT1-vermittelte Silencing von E-Cadherin durch Hypermethylierung einer CpG-Insel auf der Promotor-Ebene ist ein Beispiel dafür, wie SIRT1 zur Karzinogenese in epithelialen Tumoren beitragen kann. Außerdem könnte die Reaktivierung von p53 durch eine SIRT1-Hemmung – anstelle einer Stimulation – die Apoptose von Tumorzellen triggern. Ob erhöhte intrazelluläre SIRT1-Spiegel Ursache oder Folge der Tumorbildung sind, ist derzeit noch ungeklärt. Im Gegenteil: in mehreren neueren Studien konnte gezeigt werden, dass die intrazellulären SIRT1-Spiegel in einigen anderen Krebsarten wie Glioblastomen, Harnblasen-, Prostata-, Mamma-, Ovarial- und Leberkarzinomen im Vergleich zu entsprechendem Normalgewebe reduziert waren und dass ein SIRT1-Mangel in der Tat zu genetischer Instabilität und Tumorgenese führen kann, während die Überexpression von SIRT1 die Krebsentstehung bei Mäusen, die heterozygot für den Tumorsuppressor p53 oder APC sind, dämpft, was auf der anderen Seite ein Hinweis dafür sein kann, dass SIRT1 eher ein Tumorsuppressor als ein Tumorpromotor in diesen Geweben ist. In Übereinstimmung mit aktuellen Publikationen ist SIRT1 wesentlich bei der Reparatur von DNA-Strangbrüchen und somit an der Prävention der Entwicklung zellulärer Malignität in murinen Karzinommodellen beteiligt, und in der Tat versterben Mäuse mit zusätzlichen SIRT1-Kopien nicht früher und entwikkeln nicht häufiger Krebs als die entsprechenden Kontrollmäuse. In murinen Leukämie- und Kolonkarzinommodellen wurde beobachtet, dass SIRT1-transgene Mäuse länger leben. Die Frage, ob SIRT1 in erster Linie als ein Onkogen oder als Tumorsuppressor wirkt, ist noch ungeklärt. Es ist jedoch unbestritten, dass SIRT1 ein entscheidender Regulator im Rahmen der Entstehung maligner Tumoren ist.

Des Weiteren spricht die Apoptoseregulierung beim Mammakarzinom durch SIRT1 für eine direkte positive Wirkung von SIRT1 bei Krebs. In gesunden Zellen wird die SIRT1-Expression durch BRCA1, einen potenten Tumorsuppressor, aufrechterhalten, was wiederum die Expression von Survivin, einem apoptosehemmenden Protein, inhibiert. Wenn BRCA1 durch eine Spontanmutation oder durch eine vererbte Mutation defekt ist, kann die defekte BRCA1 keine ausreichenden SIRT1-Spiegel mehr aufrechterhalten, und infolgedessen wird die Expression von Survivin möglicherweise nicht mehr ausreichend gehemmt, was zu einer Apoptoseresistenz und da-



Vier Transkriptionsfaktoren (HIC1, p53, E2F1 und cMyc) modulieren die SIRT1-Expression unter oxidativem Stress/bei Vorliegen von DNA-Schäden und/oder bei Nährstoffmangel. Posttranskriptionelle Kontrolle von SIRT1: Bei oxidativem Stress wird die SIRT1 mRNA aufgrund einer Checkpoint-Kinase-2(Chk2-)vermittelten Spaltung des RNA bindenden Proteins HuR abgebaut. Über einen Feedbackmechanismus reguliert SIRT1 die Aktivität von promotorgebundenen Transkriptionsfaktoren mittels Deacetylierung. Grüne Felder: aktivierende Faktoren; rote Felder: inaktivierende Faktoren; grüner Pfeil (⟶): Aktivierung/Zunahme; rote Linie ( ): Inaktivierung/Hemmung.Vier Transkriptionsfaktoren (HIC1, p53, E2F1 und cMyc) modulieren die SIRT1-Expression unter oxidativem Stress/bei Vorliegen von DNA-Schäden und/oder bei Nährstoffmangel. Posttranskriptionelle Kontrolle von SIRT1: Bei oxidativem Stress wird die SIRT1 mRNA aufgrund einer Checkpoint-Kinase-2(Chk2-)vermittelten Spaltung des RNA bindenden Proteins HuR abgebaut. Über einen Feedbackmechanismus reguliert SIRT1 die Aktivität von promotorgebundenen Transkriptionsfaktoren mittels Deacetylierung. Grüne Felder: aktivierende Faktoren; rote Felder: inaktivierende Faktoren; grüner Pfeil (⟶): Aktivierung/Zunahme; rote Linie (—|): Inaktivierung/Hemmung.

Abb. 1: Transkriptionelle und posttrankriptionelle Regulationsmechanismen von SIRT1

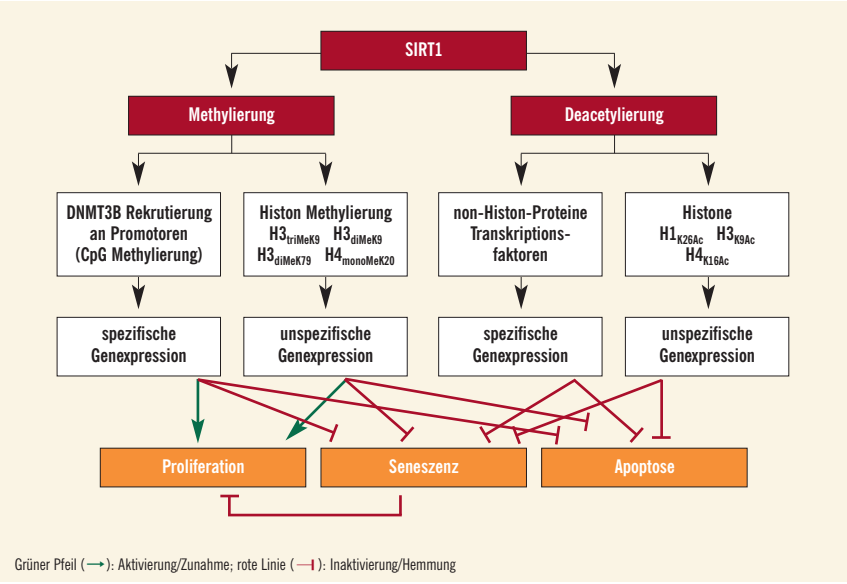


Abb. 2: Im klassischen Modell hemmt SIRT1 die Apoptose von Tumorzellen und zelluläre Seneszenz, während es die Zellproliferation mittels Modulation der Methylierung auf Histon-Ebene und auf Promotorebene (CpG-Inseln) und mittels Deacetylierung von Histon- und Nicht-Histon-Proteinen steigert.

mit zu kontinuierlichem Tumorzellwachstum führt. Zumindest in vitro und in Tiermodellen konnte Resveratrol, das bekanntermaßen die SIRT1-Aktivität erhöht, das Tumorwachstum in BRCA1-defekten Zellen als Folge der reduzierten Survivin-Expression und der anschließenden Apoptose von BRCA1-defizienten Krebszellen stark hemmen.

Neben seiner Aktivität als Deacetylase beeinflusst SIRT1 bekanntermaßen die Promotoren von etlichen fälschlicherweise supprimierten Tumorsuppressorgenen, deren DNA hypermethyliert ist. Dies ist besonders wichtig, wenn ein DNA-Bruch innerhalb einer CpG-Insel initiiert wird, weil SIRT1 dann scheinbar für die vorübergehende Rekrutierung der DNA-Methyltransferase 3B (DNMT3B) und die anschließende Suppression dieser DNA-Region durch Methylierung essenziell ist. Die Lokalisierung von SIRT1 im Bereich von DNA-Brüchen ist für eine effiziente Reparatur solcher DNA-Brüche notwendig: Zellen und Mäuse mit fehlendem SIRT1 sind anfälliger für durch DNA-Schäden induzierte Aneuploidie, und die Effizienz der Reparatur von DNA-Brüchen und die Aufrechterhaltung der Genomstabilität ist um 50 % reduziert. Zellen mit fehlendem SIRT1 sind nicht in der Lage, DNA-Reparaturproteine im Anschluss an DNA-Schäden effektiv zu rekrutieren (**Abb. 2**).

Sirtuin-3, SIRT3

SIRT3 spielt eine wichtige Rolle in der Karzinogenese: SIRT3 aktiviert die Expression von MnSOD (Magnesium-Superoxiddismutase) und der Katalase durch die Förderung der Translokation des zytosolischen FOXO3a in den Zellkern. FOXO3a beeinflusst die Expression des Antioxidans MnSOD, das mitochondriales Superoxid zu H2O2 degradiert und damit die zelluläre Transformation reguliert. Daher führt der Verlust oder eine altersbedingte Expressionsabnahme von SIRT3 zu einer erhöhten Phosphorylierung von FOXO3a, was einen Export aus dem Zellkern induziert und so die onkogene Transformation durch Verbesserung der mitochondrialen ROS fördert, die zu genetischer Instabilität und zur Stabilisierung des hypoxieinduzierbaren Faktors (HIF) führen kann. So fungiert SIRT3 als Tumorsuppressor, und es sind eher die SIRT3-Funktionen im Zellkern bzw. im Zytosol als in den Mitochondrien, die seine Rolle bei der Regulation der antioxidativen Aktivität und zelluläre Transformation vermitteln, und es sollte daher überprüft werden, ob eine Verwendung von NAD^+ die Zellen möglicherweise in die umgekehrte Richtung entlang der Pfade der Tumortransformation lenken kann, in denen SIRT3 entweder fehlt oder reduziert ist. Da erhöhte Mengen an SIRT3-mRNA mit Brust- und Schilddrüsenkrebs in Verbindung gebracht werden, ist es derzeit unklar, in welchem Ausmaß SIRT3 eher als Tumorsuppressor und nicht als Tumorpromotor wirkt.

Schlussfolgerungen und Perspektiven

In erster Linie stellen Sirtuine Suppressoren für einige Krebsarten dar, während sie unter anderen Umständen die Karzinogenese zu fördern scheinen. Es ist derzeit unklar, in welchem Umfang und unter welchen besonderen Umständen Sirtuin-Aktivatoren und/oder -Inhibitoren ihren Platz in der Therapie von altersbedingten Erkrankungen und Krebs finden werden. Während die SIRT1-Expression und -Aktivität unter nichtmalignen Bedingungen durch Tumorsuppressoren unterdrückt wird, kann die SIRT1-Expression und -Aktivität bei vorliegender Überexpression von Onkogenen oder bei reduzierter Aktivität von Tumorsuppressorproteinen erhöht sein, was letztendlich die Seneszenz und Apoptose blokkieren kann. Jedoch kann es auch die Angiogenese induzieren, Zellwachstum stimulieren und mit Chemotherapieresistenz einhergehen. Weitere Untersuchungen hinsichtlich des aufeinander abgestimmten Zusammenspiels der verschiedenen Sirtuine werden daher nicht nur zu einem detaillierteren Verständnis von Alterungsprozessen beitragen, sondern könnten auch zur Entwicklung neuer Strategien in der Therapie von Karzinomen und anderen altersbedingten Erkrankungen führen.

Danksagung
Das vorliegende Manuskript stellt eine gekürzte Version des in englischer Sprache erschienenen Artikels Voelter-Mahlknecht S. and Mahlknecht U., The sirtuins in the pathogenesis of cancer. Clinical Epigenetics 2010; 1(3-4):71–83, dar. Für die freundliche Genehmigung von Springer Science und Business Media bedanken wir uns.

1 Voelter-Mahlknecht S, Mahlknecht U. Cloning, chromosomal characterization and mapping of the NAD-dependent histone deacetylases gene sirtuin 1. Int J Mol Med 2006; 17:59–67
2 Mahlknecht U, Hoelzer D, Histone acetylation modifiers in the pathogenesis of malignant disease. Mol Med 2000; 6:623–44
3 Mahlknecht U, Ottmann OG, Hoelzer D, When the band begins to play: histone acetylation caught in the crossfire of gene control. Mol Carcinog 2000; 27:268–71
4 Mei S, Ho AD, Mahlknecht U. Role of histone deacetylase inhibitors in the treatment of cancer (Review). Int J Oncol 2004; 25:1509–19
5 Zschoernig B, Mahlknecht U, SIRTUIN 1: regulating the regulator. Biochem Biophys Res Commun 2008; 376:251–5
6 Zschoernig B, Mahlknecht U, Carboxy-terminal phosphorylation of SIRT1 by protein kinase CK2. Biochem Biophys Res Commun 2009; 381:372–7

Entstehung von Tumorstammzellen:

Bedeutung von Umweltfaktoren, Ernährung, DNA-Reparatur-Enzymen und Epigenetik

Zellen unseres Körpers sind ständig in Kontakt mit Einflüssen, die DNA-schädigend wirken. UV-Strahlung, ionisierende Strahlung, Entzündungsprozesse, Krankheitserreger, Umweltgifte und Stress im weitesten Sinne rufen DNA-Schäden hervor. Zellen haben hierfür ein enormes Register an Enzymen hervorgebracht, die diese Schäden beheben und somit einer dauerhaften Mutation entgegenwirken.

Olivier Switzeny, BSc
Abteilung für Ernährungswissenschaften,
Zentrum für Ökologie,
Medizinische Universität Wien

Doz. Prof. Alexander Haslberger
Abteilung für Ernährungswissenschaften,
Zentrum für Ökologie,
Medizinische Universität Wien

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic
Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology,
Wien und
Ludwig-Boltzmann-Institut für
Leukämieforschung und Hämatologie,
Hanusch-Krankenhaus, Wien

DNA-Reparatur-Mechanismen

So wie das Immunsystem den Organismus vor schädlichen Einflüssen schützt, können die DNA-Reparatur-Maschinerien viele Arten von Schäden aufspüren und haben sehr unterschiedliche Möglichkeiten zur Wiederstellung der normalen Funktion. Die Stimulation oder Regulierung der DNA-Reparatur kann als Therapie gegen Krankheiten gesehen werden.

In Säugetierzellen ist das Mismatch-Repair-System (MMR-System) für die Korrektur von Fehlern während der DNA-Replikation zuständig. Zusätzlich zur „Proofreading"-Funktion hat sich gezeigt, dass es an der Reparatur oder Beseitigung von oxidativen DNA-Schäden beteiligt ist. Dies beinhaltet auch Chemikalien wie Alkylierungsmittel, Cisplatin und 5-Fluorouracil. MLH1 und MSH2 sind die häufigsten MMR-Proteine, die mit MMR-Mangel in Zusammenhang gebracht werden. MMR-Gene (MSH2, MSH3, MSH6, MLH1, MLH3, PMS1, PMS2) werden durch Hypermethylierung ihres Promoters, also des Steuerungsbereiches der betreffenden Gene inaktiviert.

Die O-6-Methylguanin-DNA-Methyltransferase (MGMT) ist ein „Suicidal DNA Repair"-Protein, das Alkylierungen an der DNA entfernt und damit die Transkription der betroffenen Gene wieder ermöglicht. Das MGMT-Enzym wird dabei alkyliert und kann nicht mehr recycelt werden. Es muss ständig synthetisiert werden.

Eine gesunde Zelle antwortet auf DANN-Schäden mit einer adäquaten Expression von DNA-Repair-Enzymen und befindet sich somit im genotoxischen Gleichgewichtszustand (*steady state*). Wird dieser genotoxische *steady* state gestört, steigt das Krebsrisiko dramatisch an.

Zwei komplementäre Forschungsansätze beschäftigen sich mit möglichen Steuerungsmechanismen von DNA-Reparatur-Enzymen (Hegi et al., 2009). Wege und Möglichkeiten, DNA-Schäden zu vermeiden bzw. eingetretene Schäden zu beheben, sind Ziele molekularer Forschung, pharmazeutischer, kosmetischer Anstrengungen und ein wichtiger Bestandteil von Ernährungsstrategien (**Abb.**). In der Krebstherapie ist das Bestreben groß, eine adjuvante Therapie für alle Krebspatienten anzubieten, die Tumorstammzellen daran hindert, durch Zytostatika hervorgerufene DNA-Schäden zu reparieren. Neue Erkenntnisse aus der epigenetischen Forschung bieten Ansätze über die Beeinflussung epigenetisch wirksamer Enzyme, über Prävention und DNA-Reparatur.

Ernährung und Epigenetik

Epigenetisch wirksame Substanzen und im Speziellen DNA-methylierende Agentien können endogenen Ursprungs sein, wobei insbesondere von Darmbakterien produzierte, aber auch exogen mit der Nahrung zugeführte niedermolekulare Fettsäuren eine Rolle spielen. Ernährungsgewohnheiten und Lebensstil prägen also das Mikrobiom nachhaltig und damit auch die Produktion epigenetisch wirksamer Substanzen (Goncalves et al., 2011).

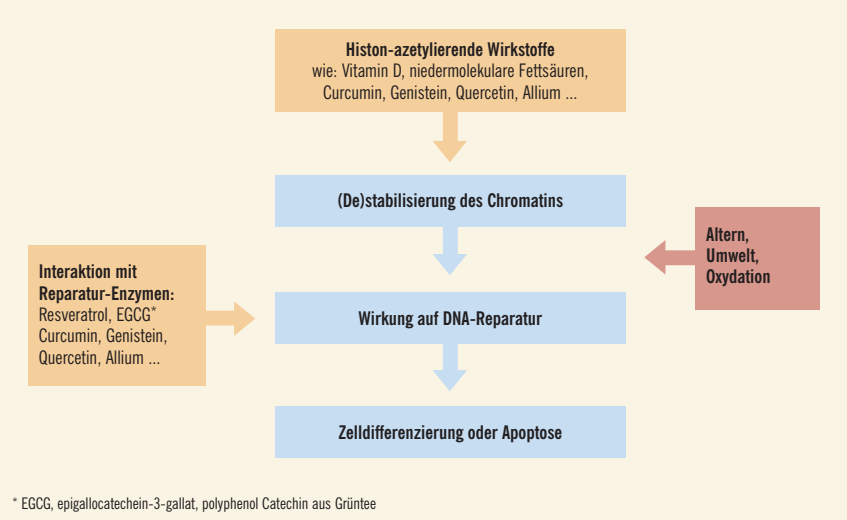


Abb.: Epigenetische Wirksamkeit von Nahrungsbestandteilen

CpG-Methylierungen in der Promotorregion diverser DNA-Reparatur-Gene können die Transkription und somit die Expression dieser Gene inhibieren und damit den genotoxischen *steady state* aus dem Gleichgewicht bringen. Ernährung und Lebensstil spielen an dieser Stelle eine doppelte Funktion, denn einerseits können sie DNA-Schäden beeinflussen und andererseits das Epigenom verändern. Studien haben gezeigt, dass eine Ernährung, die reich an Antioxidanten wie Vitamin C und E sowie Carotinoiden und Flavonoiden ist, die oxidativen DNA-Schäden verringern kann (Collins et al., 2003).

Für die epigenetische Regulation der Genexpression spielen pflanzliche Nahrungsbestandteile wie Polyphenole (z. B. aus roten Früchten), organische Schwefel- und Selenverbindungen (z. B. aus Zwiebelgewächsen) oder Isothiocyanate und Indole (z. B. aus Kohlgewächsen) eine eminente Rolle (Rajendran et al., 2011), aber auch das – vor allem mit Hilfe des Sonnenlichts synthetisierte – Vitamin D (Karlic & Varga, 2011).

Mehrere mit der Nahrung zugeführte Verbindungen sind direkt an der Regulation von DNA-Methylierungen beteiligt. Vitamin B_{12} ist ein Cofaktor in der folatvermittelten Remethylierung von Homocystein zu Methionin. Es wird weiter zu S-Adenosylmethionin aktiviert (SAM), das als Methylspender für die DNA-Methylierung wirkt. SAM wird nach der DNA-Methylierung zu S-Adenosylhomocystein (SAH) umgewandelt. Mit der reversiblen Hydrolyse von SAH zu Homocystein schließt sich der Kreis. Bei erhöhter Homocysteinkonzentration wird diese Reaktion rückgängig gemacht, was zu einer erhöhte Konzentration des potenten SAM-Inhibitors SAH führt. Ein Mangel an Vitamin B_{12} führt zu einer Akkumulation von Serum-Homocystein (Thaler et al., 2009).

Literatur:
- Bingham, SA et al., Dietary fibre in food and protection against colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC): an observational study. Lancet 2003; 361:1496–501
- Collins AR et al., Nutritional modulation of DNA repair in a human intervention study. Carcinogenesis 2003; 24:511–15
- Goncalves P et al., The short-chain fatty acid butyrate is a substrate of breast cancer resistance protein. American Journal of Physiology-Cell Physiology 2011; 301:C984–C994
- Hegi ME et al., Epigenetic deregulation of DNA repair and its potential for therapy. Clin Cancer Res 2009; 15:5026–31
- Karlic H et al., Impact of vitamin D metabolism on clinical epignetics. Clinical Epigenetics 2011; 2:55–61
- Rajendran P et al., Dietary phytochemicals, HDAC inhibition, and DNA damage/repair defects in cancer cells. Clinical Epigenetics 2011; 3:4 (open access online)
- Thaler R, Karlic H, Rust P, Haslberger AG, Epigenetic regulation of human buccal mucosa mitochondrial superoxide dismutase gene expression by diet. Br J Nutr 2009; 101:743–9

FACT-BOX

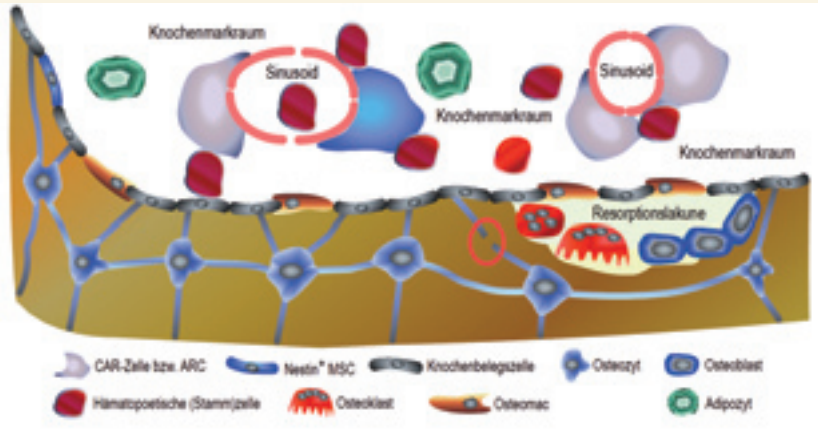
- *Substanzen, die das Erbgut schädigen, sind einerseits ein entscheidender Faktor für die Entstehung von Krebserkrankungen, andererseits reagieren Tumorzellen meist auch empfindlicher auf Schädigungen der DNA und deren Reparaturmechanismen.*
- *Die Epigenetik – vor allem der Methylierungsstatus der DNA und die Stabilität des Chromatins – ist wichtig für die Stabilisierung des Genoms.*
- *Von Darmbakterien produzierte Substanzen wie niedermolekulare Fettsäuren und vor allem pflanzliche Nahrungsbestandteile wie Polyphenole (z. B. aus roten Früchten), organische Schwefel- und Selenverbindungen (z. B. aus Zwiebelgewächsen) oder Isothiocyanate und Indole (z. B. aus Kohlgewächsen), aber auch Vitamin D wirken über (epi)genetische Mechanismen und können einerseits chemopräventiv die Entstehung von Tumorstammzellen verhindern, andererseits als Radio- bzw. Chemosensitizer die Therapie von Krebserkrankungen unterstützen.*

Knochen und Stammzelle

Die beiden Gegenspieler im Knochen sind die knochenaufbauenden Zellen, die Osteoblasten, und die knochenabbauenden Zellen, die Osteoklasten. Die Ersteren differenzieren aus mesenchymalen Stammzellen (MSC), während die Osteoklasten aus hämatopoetischen Stammzellen (HSC) entstehen. Beide Stammzelltypen werden in der Stammzellnische (SCN) gefunden und beeinflussen einander bei der Differenzierung.

Mag. Dr. Franz Varga
Ludwig-Boltzmann-Institut für Osteologie
im Hanusch-Krankenhaus der WGKK und
Unfallkrankenhaus Meidling der AUVA,
1. Medizinische Abteilung,
Hanusch-Krankenhaus, Wien

Als erste Stufe der Differenzierung mesenchymaler Stammzellen werden Osteochondroprogenitorzellen angenommen. Diese Zellen differenzieren einerseits in Osteoblasten und andererseits in die Chondroblastenlinie, welche in Prächondrozyten, proliferierende und **prähypertrophe Chondroblasten** eingeteilt werden. Diese Reihe endet schließlich mit hypertrophen Chondroblasten, die letztlich in Apoptose gehen. Diese Zellen sind für die Bildung des Säulenknorpels verantwortlich und bilden als häufigste Proteine Kollagen II, Kollagen X sowie Osteokalzin. Die beiden letzteren Gene findet man vor allem in hypertrophen Chondroblasten. Die Expression von Osteokalzin, eines osteoblastenspezifisches Gens, ist unter anderem ein Grund, warum für beide Linien eine gemeinsame Vorstufe angenommen wird. Nach der Apoptose wird dieser Bereich mineralisiert, der interessanterweise einen höheren Mineralgehalt als der Knochen aufweist. Später wird der mineralisierte Knorpel resorbiert und in Knochen umgebaut. Dafür wird von manchen Autoren die Mitwirkung von Chondroklasten angenommen.



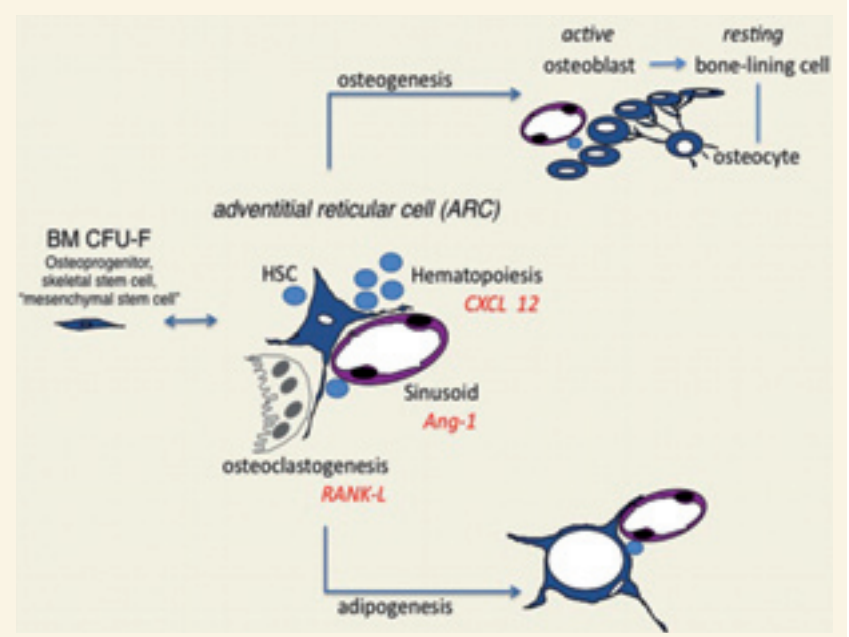
Die mineralisierte Knochenmatrix wird durch eine Lage Knochenbelegszellen vom Knochenmarkraum abgegrenzt. In diese Zelllage eingelagert sind Osteomacs, SNO-Zellen (spindle-shaped N-cadherin$^+$ CD45$^-$ osteoblastic), und Nestin$^+$ MES, die auch mit Neuronen assoziiert sind. Nestin$^+$ MES sind, so wie die CAR-Zellen (Maus) bzw. ARC (Mensch), auch an den Sinusoiden zu finden. Gemeinsam unterstützen diese Zellen die Hämatopoese und Osteoklastogenese. Ob diese Zelltypen Variationen gleicher Zellen sind und ob sich aus diesen Zellen alle anderen mesenchymalen Zellen, die in der Stammzellnische zu finden sind, ableiten, wird zurzeit noch diskutiert.
Ein initiierendes Signal, sei es biochemisch (z. B. PTH) oder mechanisch, wie z. B. Mikrorisse, welche die Canaliculi unterbrechen (roter Kreis), führen zur Induktion von Knochenumbauprozessen. Dabei werden von Osteoblasten oder von Knochenbelegszellen Chemoattraktanten (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein-1*) sezerniert, welche Osteoklastenvorstufen anlocken, die aus dem Knochemarkraum durch die Zelllage aus Knochenbelegszellen migrieren. In der Knochenmatrix differenzieren sie zu Osteoklasten, beginnen mit der Resorption und bilden eine Resorptionslakune. Der Schirm über der Resorptionslakune besteht entweder aus Knochenbelegszellen (Mensch?) oder Osteomacs (Maus?), oder aber aus beiden Zelltypen. Eine Beteiligung dieser Zellen an der Regulation der Knochenumbauprozesse gilt als sicher.

Abb. 1: Schematische Darstellung einer Stammzellnische im trabekulären Knochen mit den propagierten Zelltypen.

Osteochondroprogenitorzellen differenzieren aber auch in **Osteoblasten**, die in Präosteoblasten, synthetisierende (proliferierende) und reife Osteoblasten eingeteilt werden. Letztere differenzieren in der Folge entweder in Osteozyten, die im Knochen eingemauert werden, oder in Knochenbelegszellen *(lining cells)*, welche die Trabekeloberfläche bilden und somit das Knochenmark vom mineralisierten Knochen trennen. Jedem dieser Zelltypen wird bei der Knochenbildung eine definierte Funktion zugeordnet. Während in der Vergangenheit die Auffassung vorherrschte, dass die Zellen dieses Differenzierungsschema durchlaufen müssen, um schließlich ein Osteozyt oder eine Knochenbelegszelle zu werden, wird neuerdings angenommen, dass sich Osteoblasten mit spezifi-

schen Funktionen ausbilden, die ineinander übergehen können, d. h. eine Knochenbelegszelle kann wieder in einen synthetisierenden Osteoblasten differenzieren. Zusätzlich zu den proliferierenden Präosteoblasten, die sich vermehren und mittels Kollagen I und zahlreicher anderer Proteinen die Knochenmatrix aufbauen, wird auch ein mineralisierender Osteoblast benötigt, der in die gebildete Knochenmatrix die Einlagerung von Hydroxyapatit steuert. So kann man davon ausgehen, dass nach der Synthese von Knochenmatrix die Produktion von matrixbildenden Proteinen (u. a. Typ-I-Kollagen) zurückgenommen wird und Gene, die für die Mineralisierung notwendig sind, angeschaltet werden.

Osteozyten entwickeln sich, wie bereits erwähnt, aus Osteoblasten. Während in der Vergangenheit die Meinung vorherrschte, dass die Osteozyten mehr oder weniger wahllos in die Knochenmatrix eingemauert werden, dürfte auch das, wie in biologischen Systemen üblich, ein koordinierter Prozess sein.
Während der Bildung der Knochenmatrix durch Osteoblasten differenzieren diese zu Osteozyten, die in der Knochenmatrix zurückbleiben. Mithilfe von Proteasen (MMP14) wird ein enges Netzwerk von Kanälen (Canaliculi) ausgebildet. Dieses Netzwerk verbindet sowohl die einzelnen Osteozyten untereinander als auch mit den Knochenbelegszellen[1]. Diese Kanäle werden durch Proteinkomplexe (GAP-Junctions, Connexine) gebildet, welche die zytoplasmatischen Kompartimente der verschiedenen Zellen miteinander verbinden. So ermöglicht dieses Netzwerk eine intensive Kommunikation der Zellen untereinander, um einerseits regulatorische Aufgaben wahrzunehmen, die den gesamten Knochenmetabolismus betreffen, dient aber vielmehr auch der Sensorik. Dabei wird die Wahrnehmung mechanischer Einflüsse und (Zer-)Störungen der Struktur des Knochens, durch Änderungen der Druckverteilung oder von Strömungen der Flüssigkeit in den Canaliculi an die Knochenbelegszellen durch dieses System weitergegeben, die dann entweder Resorption oder Neuanbau von Knochenmatrix einleiten. Störungen des Kanalsystems durch Mikrorisse oder apoptotische Osteozyten können so erkannt und in der Folge kann ein Umbau dieses Knochenareals eingeleitet werden. Dass Osteozyten an der Mineralisierung des Knochens beteiligt sind, gilt mittlerweile als gesichert[2].



ARC organisieren das hämatopoetische Mikroenvironment (Nische).

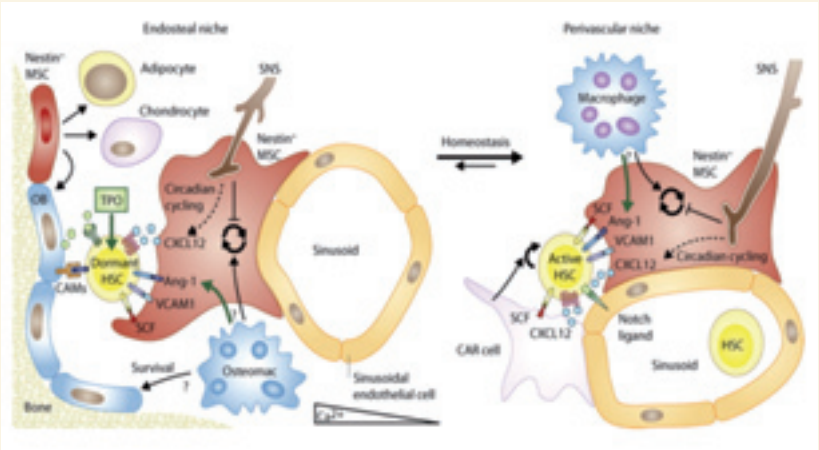
modifiziert nach Bianco P, Blood 2011 May 19;117(20):5281-8

Abb. 2: Mesenchymale Stammzellen differenzieren in ARC (adventitial reticular cells), die Ausgangszellen für knochenbildende Zellen, aber auch für Adipozyten sind.

Während der letzten Jahre wurde die **Bedeutung der Osteozyten** für die Regulierung des gesamten Knochenmetabolismus immer besser definiert. Wie bereits erwähnt, wurden dem Osteozyten als eine seiner ersten Funktionen die Übertragung mechanischer Einflüsse auf den Knochenmetabolismus zugeordnet; dabei ist zu beachten, dass der Knochenumbau in Richtung der Krafteinflüsse, die auf den Knochen einwirken, voranschreitet. Das bedeutet, dass beide, Osteoklasten und Osteoblasten, am rechten Ort zur rechten Zeit aktiviert werden müssen. Osteozyten reagieren wesentlich sensitiver auf Mikroströmungen in den Canaliculi mit Änderungen der intrazellulären Ca^{2+}-Ionen-Konzentrationen und scheinen so für die komplexe Regulation der Osteoblasten und Knochenbelegszellen verantwortlich zu sein. Als „Transmittersubstanzen" der beiden Zelltypen sind vor allem das Stickoxyd NO und Prostaglandine (wieder) im Gespräch. Dabei dürften die beiden lokalen Faktoren das RANK-RANKL-OPG-System deutlich beeinflussen. RANKL (TNFSF11, *tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 11*) interagiert mit RANK (TNFRSF11A, *tumor necrosis factor receptor superfamily, member 11a*), der an der Oberfläche der reifen Osteoklasten und dessen Vorläuferzellen gefunden wird und die Differenzierung und Funktion dieser Zellen reguliert. OPG (Osteoprotegerin, TNFRSF11B), das vornehmlich von Osteoblasten synthetisiert wird, kann diese Interaktion unterbinden und verhindert damit letztlich die Knochenresorption. In einer rezenten Studie werden die Osteozyten als eigentliche Quelle von RANKL beschrieben, welche damit die Regulation der Osteoklastendifferenzierung und deren Funktion übernehmen und dadurch die Knochenresorption steuern[3].
Interessanterweise kann den Osteozyten auch eine endokrine Funktion zugeschrieben werden: Sie erzeugen den fi-

broblastenähnlichen Wachstums¬faktor 23 (FGF23), der in den Parathyreoidea die Synthese des Parathormons unterdrückt und in der Niere die Rückresorption von Phosphat hemmt. Bei machen Tumoren oder bei angeborenen Enzymdefekten kommt es zu erhöhten FGF23-Spiegeln im Blut, die zu verringertem Serumphosphat führen und damit zu einer hypophosphatämischen Osteomalazie. Auch eine Unterdrückung der Vitamin-D-Hydroxylierung in der Niere durch FGF23 wird diskutiert[4].

Knochenbelegszellen *(bone lining cells)* sind an der Oberfläche der mineralisierten Matrix zu finden und grenzen den Knochen zum Knochenmarkraum bzw. zur Stammzellnische ab. Ebenso wie Osteozyten werden auch die Knochenbelegszellen als fortgeschrittener Differenzierungszustand der Osteoblasten betrachtet. Knochenbelegszellen werden durch Mikrorisse im Knochen, wahrscheinlich via Osteozyten, aktiviert und differenzieren in synthetisierende Osteoblasten, die neue Knochenmatrix produzieren. Anschließend gehen diese Zellen wieder in einen ruhenden Zustand, d. h. sie werden wieder Knochenbelegszellen, oder sie wandern in die Knochenmatrix ein und werden zu Osteozyten[5]. Der größte Teil geht aber, wie bereits erwähnt, in Apoptose. Neben diesen Knochenbelegszellen werden noch andere Zelltypen in der Stammzellnische beschrieben, die sich von mesenchymalen Stammzellen ableiten. Eingelagert in die Schicht aus Knochenbelegszellen sind SNO (*spindle-shaped N-cadherin*$^{+}$ *CD45*). Nestin^{+}-mesenchymale Stammzellen werden aber auch an den Gefäßen gefunden, die das Knochenmark versorgen. Diese Zellen, perivaskuläre Nestin+-mesenchymale Stammzellen, ähneln den CAR-Zellen (*CXCL12-abundant reticular*). Diese Zellen synthetisieren CXCL12 (*chemokine C-X-C motif ligand 12*), KITLG (*KIT ligand oder stem cell factor, SCF*), ANGPT1 (Angiopoetin-1, Ang-1), IL7 (Interleukin-7), VCAM1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) und Osteopontin (SPP1, *secreted phosphoprotein 1*), in bedeutenden Mengen[6]. Diese CAR-Zellen, welche in der Maus



ANG-1 = angiopoietin-1; CAR = CXCL12-abundant reticular; HSC = hematopoietic stem cell; MSC = mesenchymal stem cell; OB = osteoblast; OPN = osteopontin; SCF = stem cell factor; SNS = sympathetic nervous system; TPO = thrombopoietin; VCAM1 = vascular cell adhesion molecule 1

modifiziert nach Ehninger, Trumpp, J Exp Med 2011 Mar 14; 208(3):421-8

Abb. 3: Ruhende endostale (links) und aktive perivaskuläre (rechts) Stammzellnische

beschreiben wurden, entsprechen mit großer Wahrscheinlichkeit den ARC (*adventitial reticular cells*) im Menschen. Diese Zellen unterstützen einerseits die Hämatopoese, differenzieren aber andererseits nach Aktivierung in Osteoblastenvorstufen. Parathormon stimuliert die Proliferation dieser Zellen und induziert auch deren Differenzierung zu Osteoblastenvorstufen. Gleichzeitig wird aber auch die Anzahl hämatopoetischer Stammzellen erhöht. Diese Zellen sind auch mit adrenergen Nerven des sympathischen Nervensystems assoziiert, das deren Mobilisierung reguliert und für deren zirkadiane Schwankungen verantwortlich ist.

Diese CAR-Zellen bzw. ARC unterstützen aber nicht nur die Hämatopoese und sind osteogene Vorläuferzellen, sondern können auch in **Adipozyten** differenzieren. Fortschreitendes ektopisches Akkumulieren von Fettzellen im Knochenmark dürfte in einer altersbedingten Dysfunktion der Hämatopoese begründet sein. Ablation der Hämatopoese geht mit einer Umwandlung von rotem Knochenmark in gelbes einher. Obwohl dieser Prozess im Prinzip reversibel ist, wird für die altersbedingte Bildung von Adipozyten eine Dysdifferenzierung diskutiert, die nicht mehr reversibel ist. Damit hätte das alternde Knochenmark eine verminderte Fähigkeit zur Blutbildung und zur Knochenneubildung[7, 8].

Osteoklasten, die hämatopoetischen Ursprungs sind, sind für den Knochenabbau verantwortlich. Sie differenzieren aus frühen myeloischen Vorläuferzellen, die wiederum in der endostealen Nische in Osteoklastenvorläuferzellen (Präosteoklasten) differenzieren. Präosteoklasten, die Rezeptoren, wie z. B. CSF1R (*colony stimulating factor 1 receptor*) für CSF1 (*macrophage colony-stimulating factor 1*) und RANK für RANK-Ligand tragen, sind möglicherweise jene Zellen, welche als knochenspezifische Makrophagen, Osteomacs, bezeichnet werden. Rezente Untersuchungen ordnen Osteomacs eine bedeutende Funktion bei der Erhaltung reifer Osteoblasten zu[9]. CSF1 und RANK sowie andere Faktoren, die von mesenchymalen Zellen erzeugt werden, steuern die weitere Differenzierung dieser Vorstufen in aktive Osteoklasten.
Für diesen Prozess dürfte eine Interaktion mit Osteoblasten notwendig sein. Es wird angenommen, dass Präosteoklasten die Schicht aus Knochenbelegszellen durchwandern und darunter, nach Differenzierung zu aktiven Osteoklasten, mit der Resorption beginnen. Die Hypothese wird auch dadurch unterstützt, dass Osteozyten neuerdings als wesentliche RANKL-Quelle gesehen werden. Die so entstandenen Zellen synthetisieren TRAP (ACP5; *acid phosphatase 5, tartrate resistant*) und werden daher auch als TRAP-positive mononukleäre Zellen bezeichnet. Als nächster Schritt erfolgt eine

– durch RANKL regulierte – Fusion der Präosteoklasten in reife Osteoklasten, multinukleäre Zellen, die nach Aktivierung Knochen resorbieren. Ähnlich wie beim Osteoblasten können je nach Funktion – oder, besser: Fehlfunktion – verschiedene Zelltypen definiert werden. Als Beispiel mögen die Osteoklasten einer Form von Osteopetrose dienen, bei der eine Untereinheit der Protonenpumpe (TCIRG1) fehlt oder mutiert ist, oder auch die Pyknodysostose (Toulouse-Lautrec), die durch Mutationen des Cathepsin-K-Gens (CTSK-Gens) charakterisiert ist. Osteoklasten, die nach Aktivierung eine *„sealing zone"* bilden, die zur Abgrenzung des sauren Milieus innerhalb der Zelle dient, um einerseits das Kollagen zu hydrolysieren bzw. das Knochenmineral zu lösen, können im ersten Fall das saure Milieu nicht erzeugen, und eine große Anzahl schlecht resorbierender Osteoklasten ist die Folge. Im zweiten Fall kommt es aufgrund fehlender Proteolyse zu stark vermindertem Kollagenabbau mit einer normalen Anzahl schlecht resorbierender Osteoklasten[10].

Während in der Vergangenheit sehr bald erkannt wurde, dass die mesenchymalen Zellen des Knochenmarkstromas die Hämatopoese unterstützen, ist die unterstützende Funktion hämatopoetischer Stammzellen für die Bildung der Knochenzelle Resultat rezenter Untersuchungen. Auch wenn man mittlerweile die wesentlichen Komponenten und deren Wechselwirkungen untereinander zu erkennen beginnt, ist noch viel Forschungsarbeit notwendig, um die Vorgänge in der Stammzellnische bei der Hämatopoese und der Knochenbildung, aber auch der Entstehung und Persistenz von malignen Erkrankungen zu verstehen.

FACT-BOX

- *Die Stammzellen, sowohl für die Knochenneubildung als auch für die Resorption, befinden sich in der **Stammzellnische** des trabekulären Knochens.*
- ***Mesenchymale Stammzellen** differenzieren in **CAR**-Zellen (CXCL12-abundant reticular) bzw. ARC (adventitial reticular cells), die wiederum Ausgangszellen für knochenbildende Zellen, aber auch für **Adipozyten** sind.*
- ***Osteoblasten** sind für die Knochenmatrixsynthese und die Mineralisierung des Knochens verantwortlich, während die **Osteozyten** und **Knochenbelegszellen** den Knochenanbau und -abbau regulieren.*
- ***Hämatopoetische Stammzellen** differenzieren über **Präosteoklasten** in multinukleäre **Osteoklasten**, die für den Knochenabbau verantwortlich sind. Hämatopoetischen Ursprungs sind auch die **Osteomacs (osteale Gewebsmakrophagen)**, die an der Steuerung des Knochenumbaus beteiligt sein dürften.*
- *Zellen mesenchymalen und hämatopoetischen Ursprungs interagieren und regulieren den Knochenmetabolismus und die Hämatopoese.*

1 Holmbeck K et al., The metalloproteinase MT1-MMP is required for normal development and maintenance of osteocyte processes in bone. J Cell Sci 2005 Jan 1; 11:147–56
2 Bonewald LF, The amazing osteocyte. J Bone Miner Res 2011 Feb; 26(2):229–38
3 Nakashima T et al., Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. Nat Med. [Research Support, Non-U.S. Gov't] 2011 Oct; 17(10):1231–4.
4 Neve A et al., Osteocytes: Central Conductors of Bone Biology in Normal and Pathological Conditions. Acta Physiol (Oxf). 2011 Nov 20
5 Landry P et al., Apoptosis is coordinately regulated with osteoblast formation during bone healing. Tissue Cell 1997 Aug; 29(4):413–9
6 Nagasawa T et al., Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells. Trends Immunol 2011 Apr 29
7 Ehninger A, Trumpp A, The bone marrow stem cell niche grows up: mesenchymal stem cells and macrophages move in. J Exp Med 2011 Mar 14; 208(3):421–8
8 Bianco P, Bone and the hematopoietic niche: a tale of two stem cells. Blood 2011 May 19; 117(20):5281–8
9 Raggatt LJ et al., Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. J Biol Chem 2010 Aug 13; 285(33):25103–8
10 Henriksen K et al., Osteoclast activity and subtypes as a function of physiology and pathology – implications for future treatments of osteoporosis. Endocr Rev 2011 Feb; 32(1):31–63

Neue Konzepte in der Krebsforschung

Welche Alternativen gibt es zum Stammzellmodell?

Dr. Gerhard Hamilton
Ludwig-Boltzmann-Cluster
Translationale Onkologie, Wien

KONTEXT: *Die Fortschritte der Krebsforschung erfolgen durch die Etablierung neuer Ideen und Konzepte, wie zum Beispiel der Entdeckung der Onkogene, Etablierung der Immuntherapie, Entdeckung der Multidrugresistenz, Tumortherapie durch Inhibition der Neoangiogenese, Induktion der Apoptose als Zelltodmechanismus der Tumorzellen und der zielgerichteten Therapie gegen Wachstumsrezeptoren und Kinasen. Die Stammzellhypothese im engeren Sinne versucht die Erkenntnisse in Bezug auf hämatopoetische pluripotente Stammzellen auf die soliden Krebserkrankungen zu übertragen. Nach ihr erfolgt das Tumorwachstum durch eine begrenzte Anzahl spezieller Zellen, die zur Selbsterneuerung fähig sind, im Gegensatz zu den rasch wachsenden Progenitorzellen und differenzierten Tumorzellen, die die Hauptmasse des Tumors bilden. Das große Interesse an diesem Konzept wird auch durch die Zahl der entsprechenden Publikationen belegt, die vom Jahre 2003 von unter 100 Studien auf dem hämatologischen Sektor auf annähernd 800 Veröffentlichungen im Jahre 2010 über solide Tumoren angestiegen sind. Das Stammzellmodell ist ein hierarchisches Modell, im Gegensatz zum stochastischen, klonalem Modell der malignen Erkrankungen, das auf einer zufälligen Akquisition von Mutationen und klonaler Selektion der am besten angepassten Krebszellen in Bezug auf das Mikroenvironment und die Therapie beruht (**Abb.**). Die Attraktivität der Stammzellhypothese liegt in der Möglichkeit, durch Elimination einer kleinen Subpopulation den Tumor radikal zu treffen und nicht wie im klonalen Modell ständig neu generierte (resistente) Zellvarianten bekämpfen zu müssen. Obwohl viele Stammzellmarker, Isolierungsmethoden, Xenograftmodelle, spezifische Genexpressionsmuster und selektive Wirkstoffe gefunden beziehungsweise entwickelt wurden, ist das Stammzellmodell für Karzinome nach wie vor eine nicht bewiesene Hypothese.*

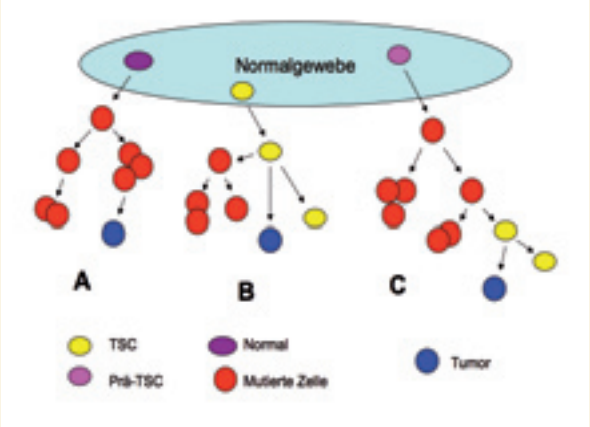
Experimentelle Belege für Stammzellen bei soliden Tumoren

Experimentelle Befunde zur Bestätigung des Stammzellmodells bei Karzinomen kamen von der Isolierung von Tumorzellen aus klinischen Präparaten mittels bestimmter Oberflächenmarker und dem Nachweis der Bildung von Tumoren in immundefizienten Mäusen durch geringe Zellmengen dieser „angereicherten Tumorstammzellen“, im Gegensatz zur verbleibenden restlichen Zellpopulation. Beispiele dafür sind etwa die Beschreibung der $CD44^{+}/CD24^{-/low}$-Brustkrebszellen und der $CD133^{+}$-Gliom- und Kolontumorzellen in den Jahren 2003 bis 2007. Mittlerweile wurden Tumorstammzellen in den meisten weiteren Karzinomen beschrieben. Die beschriebenen Zellmarker eignen sich aber nicht als therapeutische Targets, da sie auch auf normalen Zelltypen vorkommen, variabel und transient exprimiert werden und oft nur die Kombination zweier Antigene eine Population charakterisiert. Der derzeitige Standard für den Nachweis der Tumorstammzellen ist die Initiierung von Tumoren, die alle Eigenschaften des ursprünglichen Tumorgewebes aufweisen, in immundefizienten Mäusen. Die Frequenz der so gebildeten Tumoren hängt vom verwendeten Tiermodell, dem Grad der Immundefizienz und den mitinjizierten Materialien und/oder Normalzellen ab. Die Etablierung von Tumoren durch Stammzellen in den Versuchstieren hat wenig mit der Situation im Patienten gemeinsam, da zahlreiche Wachstumsfaktoren nicht über die Speziesbarriere wirken und damit kein permissives Mikroenvironment vorliegt. Bei optimierten Tiermodellen sind die Tumorstammzellen, wie beim Melanom, keine seltenen Populationen, sondern können bis zu 25 % des Tumors ausmachen, zudem könnten im Verlauf der Anreicherung der möglichen Stammzellen Faktoren entfernt werden, die eine Tumorinitiation supprimieren. Selbst beim syngenen Mausmodell sind die Knochenmarkstammzellen mit 10 % nicht selten. Es werden daher neue Methoden zum Nachweis der Tumorstammzellen benötigt, die für die maligne Proliferation im Patienten relevant sind.

Tumorstammzellen – spezifische Population oder variabler Phänotyp?

Nach der Stammzelltheorie sind die Tumoren hierarchisch aufgebaut, und die Elimination einer kleinen Zellpopulation würde genügen, um das maligne Wachstum zu eliminieren. Die Gruppe von Eric Lander konnte jedoch für zwei Mammakarzinomlinien zeigen, dass Stammzellen keine definierte Population darstellen, sondern einen transienten Zellzustand. Nach der experimentellen Auftrennung von basalen, luminalen und stammzellartigen Subpopulationen zweier Mammakarzinomlinien durch Sorten und getrennter Kultur für sechs Tage wurde anschließend in allen drei Kulturen spontan das ursprüngliche Gleichge-

wicht mit den drei differenzierten Populationen wiederhergestellt. Demzufolge sind aus basal und luminal differenzierten Zellkulturen aus Mammakarzinomen wiederum Stammzellen entstanden. Auch bei den Tiermodellen wurde beobachtet, dass stammzelldepletierte Populationen im Tier Tumoren bilden, nur eben mit zeitlicher Verzögerung. Folglich müsste jede Tumortherapie Wirkstoffe gegen stammzellartige und differenzierte Populationen kombinieren, oder die Regeneration von Tumorstammzellen aus den anderen Tumorzelltypen verhindern. Die weitergehenden Untersuchungen dieser Stammzellen solider Tumoren haben in der Zwischenzeit zu zahlreichen Fragen und einem komplexen Bild der Stellung dieser Zellen in der Onkologie geführt. Zusammenfassend wurden bis heute keine stabilen Stammzellpopulationen, die eine permanente Expression spezifischer Marker aufweisen, definiert, der Nachweis dieser Zellen in immundefizienten xenogenen Versuchstieren ist problematisch und die Bedeutung der so definierten Tumorstammzellen für eine erfolgreiche Therapie der Karzinome nicht geklärt.



Beim stochastischen, klonalen Modell (A) akkumuliert in den Zellen eine Reihe von Mutationen, bis aus jeder dieser transformierten Zellen ein Tumor entstehen kann, der sich wiederum an die Umgebung anpasst. Beim Tumorstammzellmodell (B) entstehen Tumoren nur aus transformierten Stammzellen, die alleinig für die Produktion von Progenitor- und differenzierten Tumorzellen verantwortlich und zur Selbsterneuerung fähig sind. Möglich ist eine Kombination der beiden Modelle (C), nach denen aus mutierten Progenitor- oder differenzierten Zellen wieder stammzellartige Tumorzellen entstehen können.

Abb.: Die Abbildung vergleicht schematisch die verschiedenen Modelle der Tumorentwicklung.

Bedeutung der Stammzellen solider Tumoren für die Therapie

Tumorstammzellen könnten die Quelle aller Zellen eines Primärtumors sein, das kleine Reservoir chemotherapieresistenter Zellen ausmachen, oder sie können Ursprung der Metastasen sein. Bis jetzt existieren keine Befunde, die ein verlängertes Überleben in präklinischen Modellen durch die Elimination von Tumorstammzellen nachweisen würden. In der klinischen Situation erzielt die Chemotherapie oft nur eine Reduktion der Tumormasse, folglich stellen damit die Tumorstammzellen nur einen kleinen Anteil der Tumorzellpopulation, und ihre Elimination hätte auf den weiteren Verlauf des Rezidivs nur geringe Auswirkungen. Auch wenn Tumorstammzellen in einer hypoxischen und azidotischen „Nische" langsam proliferieren und chemoresistenter sind, erfolgt durch die teilweise Reduktion des Tumors keine signifikante Anreicherung. Die selektive Schädigung von Tumorstammzellen hätte wahrscheinlich nur nach einer Ausschaltung aller Progenitor- und differenzierten Tumorzellen eine klinische Bedeutung, wie beim Wiederauftreten eines Mammakarzinoms nach einer jahrelangen Latenzzeit durch eine minimale Resterkrankung. Dabei wäre allerdings zu beachten, dass gemäß der Stammzelltheorie jede einzelne Tumorzelle zu einem Rezidiv führen könnte und daher eine restlose Elimination aller Tumorstammzellen erreicht werden müsste, ein Grad der Effizienz, der selbst in vitro unter optimalen Bedingungen kaum erreicht wird.

FACT-BOX

Die hierarchische Stammzellhypothese ist eine relative neue, attraktive Theorie der Tumorentwicklung, die zu zahlreichen neuen Erkenntnissen geführt hat, aber experimentell nicht bewiesen ist. Sie stellt lediglich eine mögliche Erweiterung des bisherigen klonalen und stochastischen Modells des malignen Wachstums und der Resistenzentwicklung dar. Auch bei Gültigkeit der Stammzellhypothese für solide Tumoren müssten für eine erfolgreiche Therapie sowohl die Masse der rasch proliferierenden Progenitorzellen und differenzierten Zelltypen reduziert wie auch möglichst jede einzelne Tumorstammzelle eliminiert werden.

> *„Like phlogiston, the term ‚stem cell' is a scientific concept."*
>
> *Arthur Lander*

Konklusion

Auch wenn sich das Stammzellkonzept in der derzeitigen Form nicht bestätigt, wurde dadurch der Anstoß gegeben neue Aspekte der Heterogenität der Entwicklung von Tumoren zu entdecken und daraus neue Ziele für die Therapie zu definieren. Die Tumorstammzellhypothese stellt wahrscheinlich nur eine Ergänzung des klonalen stochastischen Modells der Entwicklung von Tumoren dar (**Abb.**). Die Elimination einer kleinen Population von Tumorstammzellen könnte das Resultat der Tumorbehandlung nicht verbessern, wenn die große Menge der rasch proliferierenden Tumormasse nicht berücksichtigt wird. ■

Ausgewählte Literatur:
- Hill RP, Identifying cancer stem cells in solid tumors: Case not proven. Cancer Res 2006; 66(4):1891–1896
- Kern SE, Shibata D, The fuzzy math of solid tumor stem cells: a perspective. Cancer Res. 2007; 67(19):8985–8988
- Kelly PN, Dakic A, Adams JM, Nutt SL, Strasser A, Tumor growth need not be driven by rare cancer stem cells. Science 2007; 317(5836):337
- Tomasson MH, Cancer stem cells: A guide for sceptics. J Cellul Biochem. 2009; 106:745–749
- Rosen JM, Jordan CT, The increasing complexity of the cancer stem cell paradigm. Science 2009; 324(5935):1670–1673
- Rahman M et al., The cancer stem cell hypothesis: failures and pitfalls. Neurosurgery 2011; 68(2):531–545
- Clevers H, The cancer stem cell: premises, promises and challenges. Nature Med 2011; 17(3):313–319
- Gupta BP et al., Stochastic State Transitions Give Rise to Phenotypic Equilibrium in Populations of Cancer Cells. Cell 2011; 146(4):633–644
- Olszewski U, Liedauer R, Ausch C, Thalhammer T, Hamilton G, Overexpression of CYP3A4 in a COLO 205 Colon Cancer Stem Cell Model in vitro. Cancers 2011; 3:1467–1479

Dosisreduzierte Konditionierung, Nabelschnurblut, extrakorporale Photopherese bei GVHD

Neue Konzepte der Stammzelltransplantation

KONTEXT: *Die allogene Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation stellt eine etablierte kurative Therapieoption für ausgewählte Patienten mit hämatologischen und onkologischen Erkrankungen dar. In den vergangenen Jahren wurde Knochenmark in hohem Ausmaß durch Blutstammzellen als Stammzellquelle ersetzt. Dosisreduzierte Konditionierungsregime erlauben die erfolgreiche Therapie älterer und multimorbider Patienten. Eine Separationsmöglichkeit der Graft-versus-Host-Erkrankung vom Graft-versus-Leukämie-Effekt wäre wünschenswert, um die transplantassoziierte Morbidität zu reduzieren und die wirksame Eradizierung maligner Erkrankung sicherzustellen.*

Univ.-Prof. Dr. Hildegard Greinix
Universitätsklinik für Innere Medizin I,
Medizinische Universität Wien

Seit 1978 werden in Österreich Knochenmark- und Blutstammzelltransplantationen (SZT) mit HLA-identen Spendern (allogene SZT) durchgeführt, wobei derzeit akute myeloische und lymphatische Leukämien die Hauptindikation darstellen (**Abb. 1**). Die Gesamtzahl an SZT im Jahr 2010 setzt sich aus 58 % autologen, 12 % allogenen verwandten und 30 % allogenen unverwandten SZT zusammen (**Abb. 2**). Die Dauer bis zur Identifizierung eines passenden unverwandten Spenders lag in den vergangenen Jahren bei durchschnittlich 1,7 Monaten, und für rund 85 Prozent aller Patienten konnte ein unverwandter Spender gefunden werden. In den vergangenen Jahren wurde bei Erwachsenen Knochenmark fast vollständig durch G-CSF-mobilisierte Blutstammzellen ersetzt, während bei kindlichen Patienten ca. 35 % aller allogenen SZT weiterhin mit Knochenmark durchgeführt wurden.

Allogene SZT mit dosisreduzierter Konditionierung

Historisch wurde die Vorbereitung der allogenen SZT mit myeloablativer Chemo-/Radiotherapie durchgeführt, wobei Patienten mit hämatologischen Neoplasien meist eine fraktionierte Ganzkörperbestrahlung von 12 bis 13,2 Gy in Kombination mit hoch dosiertem Cyclophosphamid verabreicht wurde. Seit dem Jahr 1999 können Patienten mit hämatologischen und onkologischen Erkrankungen eine dosisreduzierte Konditionierung im Rahmen der allogenen SZT erhalten. Diese Therapieform ermöglicht damit auch die Durchführung einer SZT bei älteren oder in ihrem Allgemeinbefinden aufgrund von schweren Vorerkrankungen stärker beeinträchtigten Patienten. So wurden in Österreich im Jahr 2010 56 % aller allogenen SZT mit dosisreduzierter Konditionierung durchgeführt (**Abb. 3**). Die Reduktion der Chemo-/Radiotherapie führte zu einer signifikanten Verminderung der Organtoxizitäten und transplantassoziierten Mortalität, und die im Transplantat enthaltenen Immunzellen des Spenders eradizieren neoplastische Erkrankung durch immunmediierte Effekte. Nach temporärer Immundefizienz regenerieren Hämatopoese und Immunsystem vom Spender. Nichtmyeloablative Konditionierungsregime bestehen aus Fludarabin mit niedrig dosierter Ganzkörperbestrahlung mit 2 Gy, dosisreduziert aus Fludarabin-hältigen Kombinationen von Chemotherapeutika mit und ohne niedrig dosierter Ganzkörperbestrahlung.

Akute myeloische Leukämie: Wir führten nichtmyeloablative Stammzelltransplantationen bei 122 Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) in Ko-

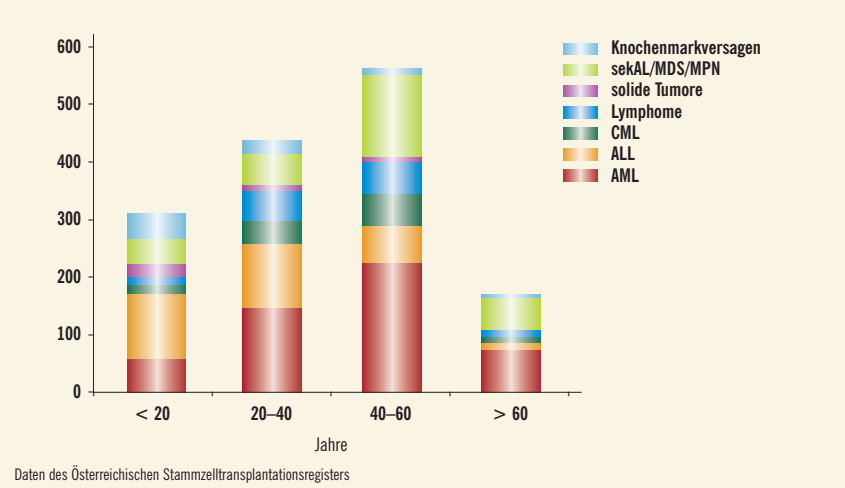


Abb. 1: Allogene SZT 2000–2010 bei Hauptindikationen nach Altersgruppen (n = 1.477)

operation mit einem internationalen Forschungskonsortium durch (Hegenbart et al., JCO 2006). Lang dauernde hämatopoetische Rekonstitution wurde bei 95 % aller Patienten erzielt. Die Zwei-Jahres-Überlebensrate für alle Patienten lag bei 48 % mit krankheitsfreiem Überleben von 44 %. Patienten in erster kompletter Remission (CR) zum Zeitpunkt der allogenen SZT erzielten eine Zwei-Jahres-Überlebensrate von 44 % mit einem verwandten sowie 63 % mit einem unverwandten Spender (**Abb. 4**).

Die Wiener Resultate bei 103 Patienten mit refraktärer AML wurden in Zusammenarbeit mit deutschen SZT-Zentren erarbeitet (Schmid et al., Blood 2006). Nach Verabreichung einer dosisreduzierten Chemo-/Radiotherapie (FLAMSA-Protokoll) und prophylaktischer Gabe von Spenderlymphozyten-Infusionen in eskalierter Dosierung wurde eine 4-Jahres-Überlebensrate von 32 % mit leukämiefreiem Überleben von 30 % bei Patienten mit ansonsten infauster Prognose erzielt. Bei Patienten, die mehr als zwei Kurse an konventionell dosierter Chemotherapie vor SZT erhalten hatten, war das Überleben signifikant schlechter, während Patienten nach Auftreten einer milden bis moderaten akuten Graft-versus-Host-Erkrankung (GVHD) einen signifikanten Überlebensvorteil hatten, womit der hochwirksame Graft-versus-Leukämie-Effekt eindrucksvoll klinisch bewiesen werden konnte (**Abb. 5**).

Multiples Myelom: Kürzlich veröffentlichten wir in Kooperation mit der European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) die Langzeitergebnisse einer prospektiv randomisierten Studie mit 357 Myelompatienten (Björkstrand et al., JCO 2011). Nach autologer gefolgt von allogener SZT mit nichtmyeloablativer Konditionierung waren das progressionsfreie Überleben (35 % versus 18 %, p = 0,001), das Gesamtüberleben (65 % versus 58 %, p = 0,047) und die Rezidivraten (49 % versus 78 %, p = 0,003) nach 60 Monaten signifikant besser als nach autologer SZT alleine.

Derzeit werden weltweit randomisierte Studien bei einzelnen Krankheitsentitäten durchgeführt, um den Stellenwert

Abb. 2: Verhältnis autologe, verwandte und nichtverwandte allogene SZT in Österreich 2000–2010 (n = 4.348)

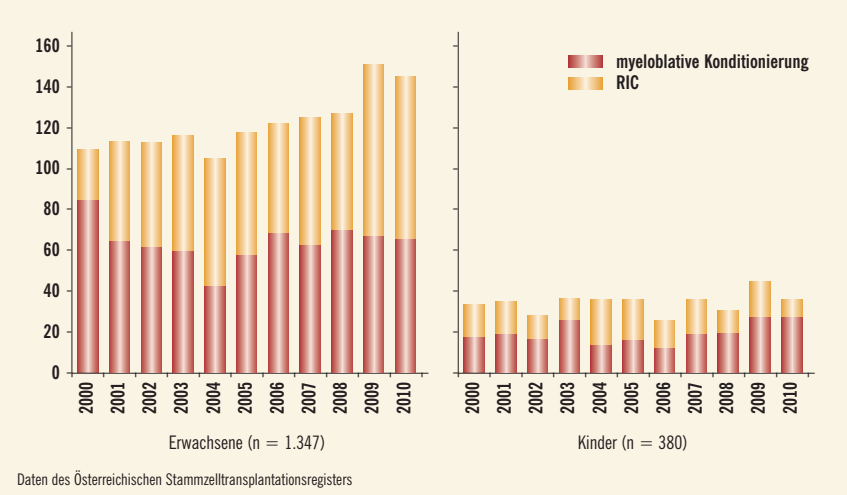


Abb. 3: Entwicklung der allogenen SZT in Österreich nach myeloablativer und dosisreduzierter Konditionierung, Erwachsene – Kinder (n = 1.727)

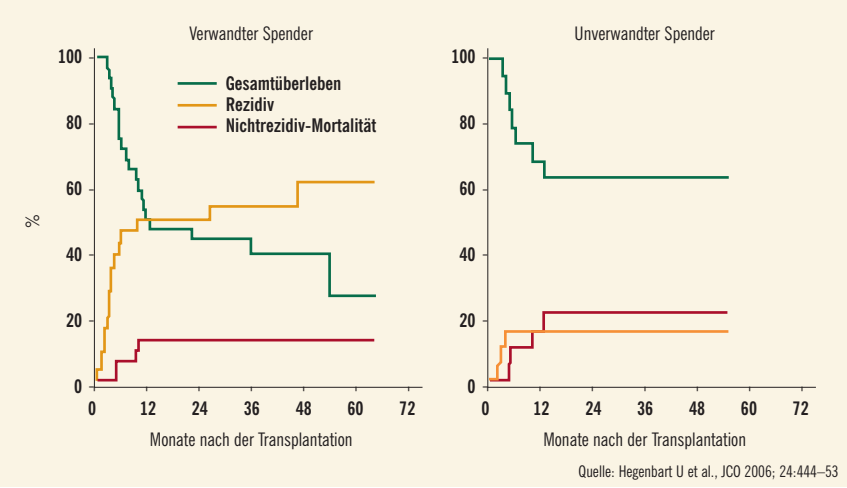


Abb. 4: Nichtmyeloablative Stammzelltransplantation bei AML in 1. Komplettremission

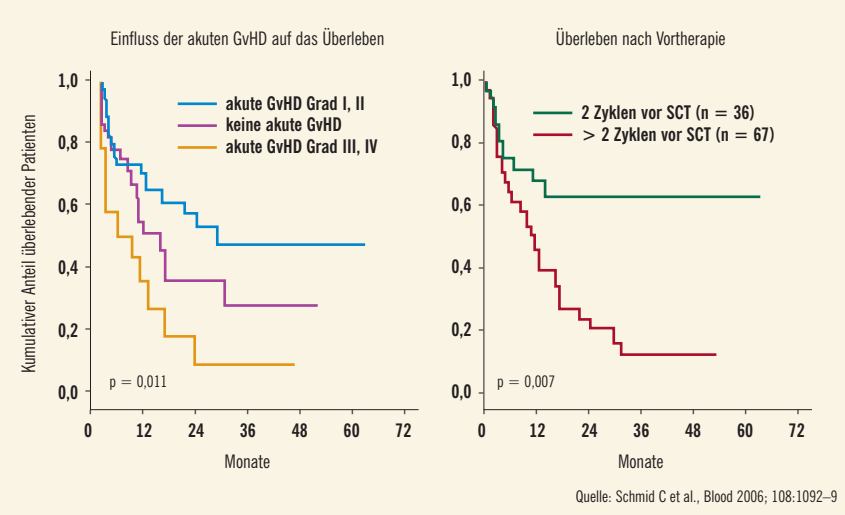


Abb. 5: Überleben von Patienten mit refraktärer AML nach allogener SZT mit FLAMSA-RIC

der dosisreduzierten bzw. nichtmyeloablativen Konditionierung zur allogenen SZT in Hinblick auf Langzeitüberleben und rezidivfreies Überleben evaluieren zu können. Eine signifikante Reduktion der Organtoxizitäten bei gesicherter hämatologischer Rekonstitution mit Erzielen eines kompletten Spenderchimärismus konnte jedoch bereits in vielen Studien eindrucksvoll demonstriert werden.

Allogene SZT mit Nabelschnurblut

Haben Patienten keinen HLA-identen verwandten Stammzellspender zur Verfügung, sollte umgehend nach einem passenden unverwandten Spender in nationalen und internationalen Spenderregistern gesucht werden. Wird in absehbarer Zeit kein unverwandter Spender gefunden, bei dem zumindest 9/10 HLA-Merkmale ident sind, kann die allogene SZT mit allogenem Nabelschnurblut durchgeführt werden. In den vergangenen Jahren konnten durch die Verwendung von zwei Nabelschnurblutpräparaten anstelle von einem der Zeitraum der Aplasie nach SZT sowie das Risiko eines Transplantatversagens deutlich reduziert werden.

Ein Vergleich verschiedenster Stammzellquellen bei 536 Patienten mit hämatologischen Neoplasien ergab, dass der Zeitraum bis zum Erreichen von mehr als 500 Granulozyten/µl im peripheren Blut bei Patienten nach allogener SZT mit zwei Nabelschnurblutpräparaten signifikant länger war als bei Patienten, die einen unverwandten oder verwandten Stammzellspender hatten (26 vs. 19 vs. 16 Tage, $p < 0{,}01$). Das leukämiefreie Überleben nach 5 Jahren war für jeden Spendertyp vergleichbar: 51 % nach zwei Nabelschnurblutpräparaten, 48 % nach HLA-identem unverwandten Spender, 38 % nach HLA-nichtidentem unverwandten Spender und 33 % nach verwandtem Spender (**Abb. 6**). Das Rezidivrisiko war nach Verwendung von zwei Nabelschnurblutpräparaten am niedrigsten (15 % vs. 35 % nach HLA-nichtidentem unverwandten Spender versus 37 % nach HLA-identem unverwandten Spender versus 43 % nach HLA-identem verwandtem Spender). Jedoch war auch die Nichtrezidivmortalität nach allogener SZT mit zwei Nabelschnurblutpräparaten höher (34 % vs. 14 % mit HLA-identem unverwandten Spender versus 24 % mit verwandtem Spender) (Brunstein et al., Blood 2010). Langfristig setzt sich nur ein Nabelschnurblutpräparat in Hinblick auf einen Chimärismus aller Zellreihen durch. Nach vorliegenden Ergebnissen ist der Graft-versus-Leukämie-Effekt nach Verwendung von zwei Nabelschnurblutpräparaten intensiver. Damit stellt die allogene SZT mit zwei Nabelschnurblutpräparaten eine sinnvolle und effiziente Therapieoption dar, wenn kein passender verwandter oder unverwandter Stammzellspender zur Verfügung steht.

Die Auswahl der Nabelschnurblutpräparate für die allogene SZT sollte nach Übereinstimmung der HLA-Merkmale (HLA-A, -B-Antigen und DRB1-Allel) und der vorhandenen Zahl an nukleären Zellen erfolgen, wobei zwischen beiden Nabelschnurblutpräparaten sowie den Präparaten und dem Patienten nicht mehr als zwei Gewebemerkmalsunterschiede bestehen sollten.

Effiziente Prophylaxe und Therapie der Graft-versus-Host Erkrankung

Die GVHD stellt nach wie vor eine schwere Komplikation nach allogener SZT dar und ist mit signifikant erhöhter Morbidität und Mortalität assoziiert. Routinemäßig werden Calcineurininhibitoren wie Zyklosporin A oder Tacrolimus in Kombination mit Methotrexat oder Mycophenolat Mofetil zur Prophylaxe einer GVHD eingesetzt. In einer prospektiv-randomisierten, multizentrischen Phase-III-Studie konnten Finke und Mitarbeiter bei 201 Patienten, die eine myeloablative Konditionierung zur allogenen SZT mit einem HLA-identen unverwandten Spen-

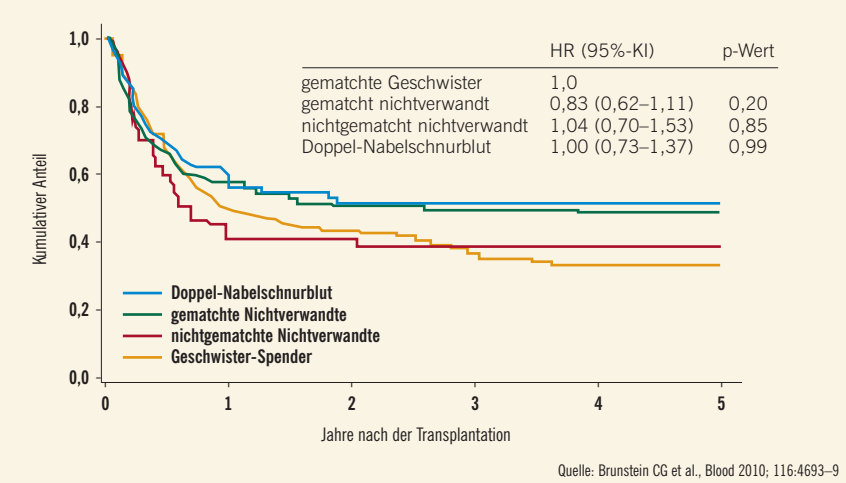


Abb. 6: Leukämifreies Überleben nach Spendertyp

der erhielten, zeigen, dass die zusätzliche Verabreichung von Antithymozytenglobulin (ATG) an den Tagen –3 bis –1 vor SZT zu einer signifikanten Reduktion der akuten GVHD Grad II–IV (33 % vs. 51 %, p = 0,011) sowie zu einer signifikanten Reduktion der chronischen extensiven GVHD (12,2 % vs. 42,6 %, p < 0,0001) führte.

Neue GVDH-Definition: Eine Konsensus-Konferenz der National Institutes of Health (NIH) der USA erarbeitete unter Mitwirkung unserer Studiengruppe neue Definitionen für die akute und chronische GVHD (Filipovich AH et al., BBMT 2005). Insbesondere wird die akute GVHD in klassische, persistierende, rekurrierende und spät auftretende unterschieden. Für die Diagnose einer chronischen GVHD sind definierte Kriterien und klinische Maßnahmen erforderlich, die bereits an vielen SZT-Zentren routinemäßig etabliert sind (Greinix et al., BBMT 2011). Wir konnten kürzlich in einer prospektiven Studie mit 178 konsekutiven Patienten zeigen, dass Patienten mit chronischer GVHD und Thrombozytopenie oder progressivem Beginn ein signifikant schlechteres Überleben haben (Kuzmina et al., Leukemia 2011). Jedoch hatten Patienten mit chronischer GVHD verglichen mit Patienten ohne GVHD auch ein signifikant niedrigeres Rezidivrisiko (13 % vs. 32 %) und ein verbessertes Überleben (83 % vs. 62 %, p = 0,003), womit der potente Graft-versus-Leukämie-Effekt der allogenen SZT eindrucksvoll nachgewiesen werden konnte.

Salvage-Therapie der steroid-refraktären GVHD: Während die anerkannte Erstlinientherapie der akuten GVHD aus Kortison besteht, gibt es aufgrund fehlender Studiendaten keine standardisierte Salvage-Therapie der steroid-refraktären GVHD, die bis zu 60 % aller Patienten betrifft. Der Einsatz von ATG, Antikörpern gegen inflammatorische Zytokine wie Interleukin-2 oder Tumor-Nekrose-Faktor-alpha, mTor-Inhibitoren und Pentostatin bei Patienten mit steroid-refraktärer akuter GVHD ist mit ausgeprägten Nebenwirkungen wie schweren opportunistischen Infektionen, EBV-assoziierten lymphoproliferativen Erkrankungen, Myelosuppression und renaler Toxizität verbunden. Wir führen seit Jahren bei Patienten mit steroid-refraktärer akuter GVHD die extrakorporale Photopherese (ECP) in Kooperation mit der Universitätsklinik für Dermatologie und der Klinischen Abteilung für Transfusionsmedizin durch, auf die 82 % aller Patienten mit akuter GVDH-assoziierter Hautbeteiligung sowie 61 % der Patienten mit akuter GVDH-assoziierter Leber- und Darmbeteiligung komplett ansprachen und ein signifikant verbessertes Überleben nach 4 Jahren (59 % versus 11 %, p < 0,0001) hatten (Greinix et al., Haematologica 2006).
Auch in der Therapie der steroid-refraktären chronischen GVHD hat sich die ECP als sehr effizient und sicher mit geringen Nebenwirkungen herausgestellt, sodass die deutsch-österreichisch-schweizerische Studiengruppe zur chronischen GVHD, der auch wir angehören, die ECP als sehr wirksam in der Zweitlinientherapie der chronischen GVHD einstufte (Wolff et al., BBMT 2011). Es sollten jedoch dringlich weitere prospektive Studien durchgeführt werden, um das Therapieansprechen von Patienten mit GVHD zu verbessern, denn nur dadurch kann deren Langzeitüberleben mit guter Lebensqualität gewährleistet werden.

FACT-BOX

- *Die allogene SZT ist eine kurative Therapieoption für Patienten mit hämatologischen und onkologischen Erkrankungen.*
- *Akute Leukämien stellen derzeit die Hauptindikation für eine allogene SZT dar.*
- *Bei Erwachsenen haben G-CSF-mobilisierte Blutstammzellen Knochenmark als Stammzellquelle weitgehend ersetzt.*
- *Mittels dosisreduzierter oder nichtmyeloablativer Konditionierung konnte die transplantassoziierte Morbidität und Mortalität signifikant reduziert werden.*
- *Bei fehlendem verwandten oder unverwandten Stammzellspender ist die allogene SZT mit zwei Nabelschnurblutpräparaten eine wirksame und sinnvolle Therapieoption.*
- *Die Graft-versus-Host-Erkrankung stellt eine schwere Komplikation der allogenen SZT dar.*
- *Extrakorporale Photopherese ist eine effiziente und sichere Therapie der steroid-refraktären akuten und chronischen GVHD.*
- *Eine Separationsmöglichkeit der Graft-versus-Host-Erkrankung vom Graft-versus-Leukämie-Effekt wäre wünschenswert.*

Zusammenfassung

Die allogene SZT stellt eine wirksame, kurative Therapieoption für Patienten mit ausgewählten hämatologischen und onkologischen Erkrankungen dar. In den vergangenen Jahren konnten entscheidende Fortschritte bei der Reduktion der transplantassoziierten Morbidität und Mortalität durch die Anwendung dosisreduzierter Konditionierungsregime, durch verbesserte Supportivtherapiemaßnahmen und eine verbesserte Spenderauswahl erzielt werden. Die allogene SZT ermöglicht eine effiziente und lang dauernde Eradizierung von neoplastischen Erkrankungen. Eine Separationsmöglichkeit der Graft-versus-Host-Erkrankung vom Graft-versus-Leukämie-Effekt wäre jedoch wünschenswert, um die transplantassoziierte Morbidität weiter zu reduzieren und die wirksame Elimination maligner Erkrankung sicherzustellen.

Literatur:
- Hegenbart U et al., Treatment for acute myelogenous leukemia by low-dose, total-body, irradiation-based conditioning and hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors. J Clin Oncol 2006; 24:444–453
- Schmid C et al., Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. Blood 2006; 108:1092–1099
- Björkstrand B et al., Tandem autologous/reduced-intensity conditioning allogeneic stem-cell transplantation versus autologous transplantation in myeloma: long-term follow-up. J Clin Oncol 2011; 29:3016–3022
- Brunstein CG et al., Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. Blood 2010; 116:4693–4699
- Finke J et al., Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. Lancet Oncol 2009; 10:855–864
- Filipovich AH et al., National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. I. Diagnosis and staging working group report. Biol Blood Marrow Transplant 2005, 11:945–956
- Greinix HT et al., Diagnosis and staging of chronic graft-versus-host disease in the clinical practice. Biol Blood Marrow Transplant 2011; 17:167–175
- Kuzmina Z et al., Significantly worse survival of patients with NIH-defined chronic graft-versus-host disease and thrombocytopenia or progressive onset type: results of a prospective study. Leukemia Sept 16 doi: 10.1038/leu.2011.257 epublished ahead of print.
- Greinix HT et al., The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. Haematologica 2006; 91:405–408
- Wolff D et al., Consensus conference on clinical practice in chronic GVHD: Second-line treatment of chronic graft-versus-host disease. Biol Blood Marrow Transplant 2011; 17:1–17

Etablierte Konzepte und zukünftiges Potenzial

Die gesunde Stammzelle in der Therapie

KONTEXT: *1959 erfolgte die erste erfolgreiche Stammzelltransplantation. Die hämatopoetische Stammzelltransplantation war die erste Stammzelltherapie überhaupt, sie war die erste Immuntherapie für bösartige Erkrankungen sowie ein erstes Beispiel für individualisierte Krebstherapie, also der Beginn einer immer aktueller werdenden „personalisierten Medizin" (Jenq und van den Brink, 2010). Indikation war eine akute myeloische Leukämie (Thomas et al., 1959), Spenderin war die (genetisch idente) Zwillingsschwester der damals zweijährigen Patientin. Die prinzipielle Überlegung beruhte auf erfolgreichen Tierexperimenten, bei denen Knochenmark nach supraletaler Bestrahlung erfolgreich durch Spendermark ersetzt worden war. Seither wurde die Transplantation hämatopoetischer Stammzellen zu einem Routineverfahren weiterentwickelt und stellt für eine Reihe spezifischer Indikationen in der Hämatoonkologie die Therapie der Wahl dar.*

OA Univ.-Doz. Dr. Michael Pfeilstöcker
3. Medizinische Abteilung,
Hanusch-Krankenhaus, Wien

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic
Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology,
Wien und
Ludwig-Boltzmann-Institut für
Leukämieforschung und Hämatologie,
Hanusch-Krankenhaus, Wien

Parallel zur klinischen Entwicklung der Stammzelltransplantation wuchsen auch unsere Erkenntnisse zu den dahinterliegenden Prozessen. Einerseits wurden die immunologischen Effekte aufgeklärt, die zumindest bei der allogenen Stammzelltransplantation den wesentlichen Teil des Therapieerfolgs bewirken, andererseits konnte auch die autologe Stammzelltransplantation weitestgehend optimiert werden und gehört heute zur Primärbehandlung nach Induktionstherapie von Erkrankungen wie dem multiplen Myelom sowie zur Rezidivtherapie von PatientInnen mit malignen Lymphomen. In der **Abbildung** (modifiziert nach Lennard and Jackson, 2000) werden die derzeit gängigen Verfahren der Stammzelltransplantation dargestellt.

Ziel von aktuellen Forschungsanstrengungen ist es, zusätzlich modulierend einzugreifen. Unsere Erkenntnisse zur Biologie der Stammzelle erweitern sich ständig, sodass die Manipulation von Stammzellen zum therapeutischen Einsatz auch ohne komplette Stammzelltransplantation möglich erscheint. Die partielle Transplantation wäre auch ein Einsatzgebiet für pluripotente Stammzellen (iPS), die in Zukunft – ohne die ethischen Probleme embryonaler Stammzellen – für die ergänzende Behandlung degenerativer Erkrankungen eingesetzt werden könnten.

Autologe Stammzelltransplantation

Das Konzept der autologen Transplantation beruht auf der Hochdosistheorie. Diese besagt, dass nach konventioneller Chemotherapie eine Resterkrankung im Körper zurückbleibt und eine Dosissteigerung der Chemotherapie, die allerdings ohne Stammzellgabe zur dauerhaften Insuffizienz der Blutbildung führen würde, eine langfristige Tumorkontrolle ermöglichen kann. Somit macht die Stammzelltransplantation eine Hochdosis-Chemotherapie erst möglich und kann die Heilungschancen bei verschiedenen Krebserkrankungen erhöhen. Bei der autologen Stammzelltransplantation werden patienteneigene Stammzellen entnommen, früher aus Knochenmark, heute meist durch Gewinnung aus peripherem Blut. Die sich daraus ergebende Problematik besteht in der möglichen Kontamination der gewonnenen Stammzellen mit Tumorzellen, aus denen nach Transplantation ein Rezidiv erwachsen kann. Daher werden Stammzellen erst nach einigen Zyklen konventioneller Chemotherapie in Remission entnommen („In-vivo-Purging"). Versuche, Stammzellen ex vivo von Tumorzellen zu trennen („Ex-vivo-Purging"), sind derzeit kein Routineverfahren. Bei Patienten, die unter Erkrankungen mit einer hohen Mitbeteiligung des Knochenmarks leiden, besteht die Gefahr einer hohen Kontaminationsrate der Stammzellen durch Tumorzellen; sie stellen daher keine Indikation zur autologen Transplantation dar und kommen möglicherweise für eine allogene Transplantation in Frage (**Tab.**). Seitens der Toxizität ist die autologe Transplantation bei entsprechender Auswahl der Patienten und dank der Entwicklung moderner supportiver Therapien ein risikoarmes Routineverfahren.

Allogene Stammzelltransplantation

Aus historischer Sicht stammt das Konzept der allogenen Transplantation aus der Überlegung, gesunde Stammzellen zu transplantieren. Die Beobachtung der Abstoßungsreaktion (Graft-versus-Host-Erkrankung) und der dabei ablaufenden Immunprozesse (Graft-versus-Tumor- bzw. -Leukämie-Effekt) zeigten sehr bald, dass der therapeutische Effekt einer allogenen Stammzelltransplantation neben der Zerstörung von Tumorzellen im Rahmen der Konditionierung (klassisch

Hochdosischemotherapie und Ganzkörperbestrahlung) in einer durch die transplantierten Stammzellen mediierten Immuntherapie zur dauerhaften Unterdrükkung der minimalen Resterkrankung beruht. Voraussetzung zur allogenen Transplantation ist die Verfügbarkeit eines HLA-identen Spenders (Geschwisterspender oder Fremdspender), alternativ ist als Quelle auch HLA-identes Nabelschnurblut möglich. Die Toxizität (einschließlich therapiebezogener Mortalität) der klassischen myeloablativen Stammzelltransplantation ist beträchtlich und durch die Hochdosischemotherapie, die für das Engraftment notwendige zusätzliche Immunsuppression sowie die Graft-versus-Host-Erkrankung bedingt. Allerdings stellt diese Therapieform für manche Erkrankungen die einzige Chance auf Heilung dar (**Tab.**). Da aufgrund der genannten Toxizität nur junge gesunde Patienten myeloablativ transplantiert werden können und wie erwähnt der immunologische Prozess wichtiger als der Hochdosischemotherapieeffekt ist, wurden Protokolle mit reduzierter Intensität der Konditionierung entwickelt: RIC (reduced intensity conditioning). Niedrig dosierte Chemotherapie und/oder Bestrahlung zusammen mit Immunsuppressiva ermöglichen ein Engraftment und damit eine immunologische Kontrolle der Erkrankung. Die niedrigere Intensität bedingt allerdings das Vorliegen einer Remission nach konventioneller Therapie vor der Transplantation, und auch bei dieser Modalität kann die Toxizität – wenn auch geringer als bei der klassischen Konditionierung – durch die immunologischen Prozesse beträchlich sein. Für viele Indikationen ist der Stellenwert der RIC-Transplantation noch offen.

Stellenwert der Stammzelltransplantation gegenüber neuen Medikamenten

In der Entwicklung neuer Therapieoptionen in der Medizin werden meist gleichzeitig verschiedene Wege beschritten. Während die Stammzelltransplantation bei einigen Krankheitsentitäten als Standardtherapie etabliert wurde, wurden parallel Medikamente entwickelt, die zielgerichtet pathophysiologische Prozesse angreifen und damit zu einer Heilung oder Krankheitskontrolle führen sollen.
So wurden beispielsweise für das multiple Myelom zielgerichtete Therapien (Proteasomeninhibitoren und IMIDS [immunmodulatory drugs]) entwickelt. Allerdings ist die autologe Stammzelltransplantation weiterhin Standard für junge Myelompatienten, denen diese Prozedur zugemutet werden kann.
Bei der chronisch myeloischen Leukämie wurde die Stammzelltherapie, die bei geeigneten Patienten frühzeitig eingesetzt wurde, von Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) verdrängt und spielt heute nur bei Patienten, die auf TKI nicht ansprechen oder relapsieren, eine Rolle.
Für alle Indikationen gilt, dass eine genaue Abwägung erfolgen muss zwischen der durch die (allogene) Stammzelltransplantation möglichen Heilung, die allerdings mit therapiebezogener Mortalität und Morbidität verbunden ist, und einer meist weniger toxischen Dauermedikation, die jedoch nur in den seltensten Fällen zur Heilung führen kann.
Die Zukunft wird weisen, inwieweit integrative Therapiekonzepte, die beide Modalitäten beinhalten, für den Patienten den größtmöglichen Vorteil bieten können.

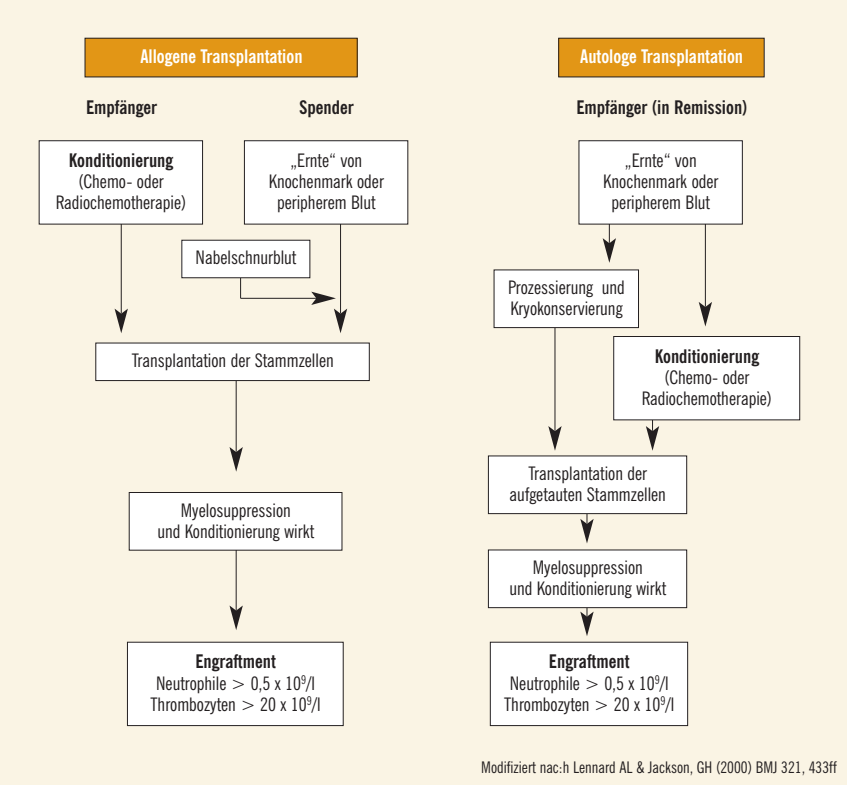


Abb.: Derzeit gängige Verfahren der Stammzelltransplantation

Stammzelltransplantation bei nichtmalignen Erkrankungen

Angeborene Stammzellerkrankungen: Eine weitere Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation stellen angeborene Erkrankungen der blutbildenden Stammzelle dar, wie sie zum Beispiel bei Hämoglobinopathien wie der Thalassämie bestehen können. Hier steht der Ersatz der fehlenden Funktion im Vordergrund. Eine Elimination von Tumorzellen ist ebensowenig erforderlich wie ein Graft-versus-Leukemia-Effekt.

Autoimmunerkrankungen: Einzelbeobachtungen, welche die Remission von gleichzeitig bestehenden nichtmalignen Erkrankungen wie z. B. Autoimmunerkrankungen im Rahmen der allogenen Stammzelltransplantation bei Leukämiepatienten beschreiben, belegen ebenfalls

Tab.: Etablierte und mögliche Indikationen für Blutstammzelltransplantationen

Allogene Transplantationen	AutologeTransplantationen
Schwere aplastische Anämie	Multiples Myelom
Chronische myeloische Leukämie	Akute lymphoblastische Leukämie
Akute myeloische Leukämie	Morbus Hodgkin
Myelodysplastische Syndrome	Non Hodgkin Lymphome
Akute lymphoblastische Leukämie	Solide Tumore wie zB Neuroblastom,
Schwere angeborene Immundefizienz	Keimzelltumore
Hämoglobinopathien	Autoimmunerkrankungen
Angeborene Stoffwechselerkrankungen	Rheumatische Erkrankungen
Multiples Myelom	Amyloidose
Morbus Hodgkin	
Non Hodgkin Lymphome	
Chronisch lymphatische Leukämie	
Andere solide Tumoren	

Die Tabelle enthält Krankheitsentitäten, die für eine Transplantation in Frage kommen. In den meisten Fällen sind nicht nur die Entität, sondern auch zusätzliche spezifische Faktoren für die prinzipielle Indikationsstellung zur Transplantation und die Wahl der Methode Auto oder Allo erforderlich. Dies können Subtypen der Erkrankung oder spezifische Risikofaktoren sein, aber auch der Remissionsstatus oder das Erfordernis des Vorliegens eines chemosensitiven Relapses. Daneben ist naturgemäss auch die Eignung des Patienten für die Prozedur (Alter, Komorbiditäten) zu beachten.

modifiziert nach: Lennard AL & Jackson, GH (2000) BMJ 321, 433ff

das Konzept der Stammzelltransplantation als Immuntherapie. Blutstammzelltransplantationen in rheumatologischen Indikationen werden durchgeführt, die Abwägung zwischen Vorteil und Toxizität ist hier allerdings kritisch zu sehen, möglicherweise könnte die systemische Sklerose eine Indikation darstellen. Derzeit sollte der Einsatz der Transplantation nur in klinischen Studien erfolgen.

Neuere Ansätze

Eine Optimierung der Stammzell-Ernteverfahren, die Möglichkeit der „In-vitro-Kultur“ von Stammzellen im Labor sowie neue Möglichkeiten zum zielgerichteten partiellen Einsatz von Stammzelltransplantationen werden in Zukunft zu einer höheren Sicherheit der Transplantate und zu einer Erweiterung möglicher Indikationen beitragen.
Das gilt auch für sanftere Konditionierungsprotokolle, die älteren PatientInnen mit hämatologischen Erkrankungen oder Tumoren zu Gute kommen. Neue Ansätze zur Immunsuppression werden Transplantationen unbhängiger von HLA-Subtypen machen.
Das gilt auch für verbesserte Mediatoren zur Gentherapie, Tumorvakzine und Agentien zur Radionuklid-Konditionierung.

Gentherapie: Im Rahmen der Gentherapie wird üblicherweise ein defektes durch ein intaktes Gen ersetzt, was prinzipiell nur bei so genannten monogenetischen Erkrankungen sinnvoll ist. Die weltweit erste gentherapeutische Behandlung wurde 1990 bei einem Mädchen mit angeborener SCID (Severe Combined Immune Deficiency) durchgeführt.
In diesem Fall wurde das intakte Gen (CD132) in Blutstammzellen transferiert und dann mittels Stammzelltransplantation eingebracht. Trotz der Notwendigkeit, diese Prozedur aufgrund der begrenzten Lebensdauer der Leukozyten immer wieder zu wiederholen, ist sie stabiler und länger effektiv als die Einbringung von Genen im Zuge einer In-vivo-Gentherapie in differenziertere Zellen. Zu beachten ist allerdings die Toxizität der Konditionierung und die Gefährdung des Patienten durch Viren, die zum Gentransfer eingesetzt werden. Obwohl bereits viele klinische Studien durchgeführt worden sind, handelt es sich hierbei immer noch um experimentelle Ansätze, deren Wirksamkeit und Langzeiteffekte noch zu belegen sind.
Auch Verfahren, die sich damit beschäftigten, Gene einzubringen, die eine therapeutische Funktion erfüllen sollen (z. B. gezielte Freisetzung letaler Genprodukte in Tumorzellen), waren bis jetzt langfristig nicht erfolgreich. Probleme stellten einerseits die Stabilität (= Wirksamkeit) des eingebrachten Gens sowie andererseits mögliche unerwünschte Wirkungen der Prozedur dar. Trotz teilweise erfolgreicher klinischer Studien gibt es daher bislang kein zugelassenes Gentherapie-Protokoll.

Tumorvakzine: Zur Stimulierung des Immunsystems werden Tumorvakzine derzeit z. B. für die Bekämpfung von Non-Hodgkin-Lymphomen getestet. Für die Optimierung der Immuntherapie sind aber noch weitere Forschungsarbeiten notwendig.

Radionuklid-Konditionierung: Bei diesen experimentellen Ansätzen hat man versucht, Radionuklide an Antikörper gegen Stammzellantigene zu koppeln. Man kann damit eine höhere Strahlungsdosis spezifisch fokussieren und systemische Nebeneffekte reduzieren. Für derartige Ansätze sind auch Nanopartikel in Erprobung.

Zukunft: Stammzellen als biologischer Jungbrunnen?

Ausdifferenzierte Körperzellen kann man durch Fusion mit embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) oder auch Eizellen in einen pluripotenten Zustand versetzen und auf diese Weise induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) erzeugen. Ein Pionier auf diesem Forschungsgebiet ist der in den USA forschende Österreicher Thomas Hochedlinger (Wu and Hochedlinger, 2011).
Da nur wenige Gene für die Reprogrammierung von Bindegewebszellen (Fibroblasten) zu pluripotenten Zellen aus verschiedensten Organen wie z. B. Blut, Leber, Gehirn oder Pankreas notwendig

sind, kann man mittlerweile bei der Herstellung von iPS auf ES-Zellen verzichten.

Bei den vier für die iPS-Herstellung notwendigsten Genen (c-MYC, KLF-4, OCT-4 und SOX-2) fehlt interessanterweise das NANOG-Gen, das für die Selbsterneuerung von Tumor-Stammzellen verantwortlich ist. Es wird jedoch in Kombination mit einem weiteren Gen (LIN-28) benötigt, wenn man bei der Reprogrammierung auf das Proto-Onkogen c-MYC verzichten will.

Mit ähnlichen Experimenten konnte die prinzipielle Möglichkeit gezeigt werden, dass durch Veränderung der Expressionsmusters verschiedener Transkriptionsfaktoren der Zelltyp von somatischen Zellen geändert werden kann, was zur Entdeckung der so genannten Transdifferenzierung führte. Mittlerweile ist bekannt, dass derartige Transdifferenzierungen auch in der Natur vorkommen und eine zentrale Rolle bei der Entstehung von Tumor-Stammzellen spielen, wobei es auch durchaus sein kann, dass epitheliale Zellen zu mesenchymalen (Stamm-)Zellen transdifferenzieren und vice versa.

Während also einerseits die Hoffnung auf viele neue Behandlungsoptionen durch verjüngte Zellen, die von den Patienten selbst stammen, genährt wird, muss die biologische Nähe zu grundlegenden Mechanismen der Onkogenese im Auge behalten werden. Die neuen Verfahren der In-vitro-Herstellung von iPS werden auf jeden Fall – ebenso wie die Erfahrungen mit der seit dem Klonschaf Dolly (im Jahr 1997) bekannten Möglichkeit des Klonens mit Hilfe von Eizellen durch Zellkerntransfer – unser Wissen über die Krebsentstehung verbessern. Dies gilt besonders auch für epigenetische Prozesse, die entscheidend bei der Differenzierung, aber auch Trans- oder Entdifferenzierung von Stammzellen bzw. diversen anderen Körperzellen verantwortlich sind (Ohi et al., 2011).

FACT-BOX

- *Gesunde Stammzellen können therapeutisch eingesetzt werden.*
- *Etablierte Therapieverfahren sind die autologe und allogene Blutstammzelltransplantation.*
- *Durch die Transplantation mediierte Immuneffekte haben wesentlichen Anteil am Therapieerfolg.*
- *Gesunde Stammzellen könnten in Zukunft Vehikel für Gen-, Immun- und Vakzintherapien sein.*
- *Denkbare, aber noch nicht etablierte Manipulationsmöglichkeiten von gesunden Stammzellen könnten die Behandlung verschiedenster Erkrankungen revolutionieren.*

Schlussfolgerung

Die Anwendung von Erkenntnissen und Technologien aus der Stammzellforschung in der klinischen Praxis hat sich bei etablierten Methoden wie der Transplantation von hämatopoietischen Stammzellen als für die Patienten sinnvoll erwiesen. Indikationen und Stellenwert gegenüber anderen Methoden sind natürlich regelmäßig zu überprüfen. Die neuen Erkenntnisse aus der Stammzellforschung lassen weitere Therapiegebiete und Anwendungen für die Zukunft erwarten. ■

Literatur:
- Jenq RR, van den Brink MR (2010), Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. Nat Rev Cancer 10:213–221
- Lennard AL, Jackson GH (2000), Stem cell transplantation. BMJ 321:433–437
- Ohi Y, Qin H, Hong C, Blouin L, Polo JM, Guo T et al. (2011), Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPS cells. Nat Cell Biol 13:541–549
- Thomas ED, Ashley CA, Lochte HL, Jr., Jaretzki A, 3rd, Sahler OD, Ferrebee JW (1959), Homografts of bone marrow in dogs after lethal total-body radiation. Blood 14:720–736
- Wu SM, Hochedlinger K (2011), Harnessing the potential of induced pluripotent stem cells for regenerative medicine. Nat Cell Biol 13:497–505

Möglichkeiten und Grenzen

Integrierte, biopsychosoziale Versorgung von Krebspatientinnen durch intensivierte hausärztliche Betreuung

KONTEXT: *Der von uns empfohlene Ansatz zur integrierten Versorgung von Krebspatienten strebt nach einer Balance zwischen erreichbarer Lebensqualität, optimaler onkologischer Therapie bzw. Palliation und Aufrechterhaltung der familiären und sozialen Integration. Diese Balance muss für und mit jedem Krebspatienten immer wieder aufs Neue gesucht werden. Voraussetzung ist ein kompetenter und über den Zustand des Patienten informierter ärztlicher Berater, ein Arzt des Vertrauens. In diesem Beitrag rekapitulieren wir die Rolle des Hausarztes in der integrierten Versorgung von Krebspatienten, wobei wir insbesondere der (behaupteten) patientenzentrierten Arbeitsweise und den Aufgaben in der Patientenschulung und -beratung nachgehen. Unter Heranziehung der wissenschaftlichen Literatur inklusive unserer eigenen Arbeiten versuchen wir zu beantworten, welche Evidenz für die dem Hausarzt unterstellte Bedeutung für die biopsychosoziale Betreuung von Krebspatienten vorliegt, welche Aufgaben dieser wahrnimmt und welche ihm von einer verbesserten integrierten Versorgung übertragen werden sollten. Sowohl die Versorgungsforschung in der Allgemeinmedizin als auch die translationale Onkologie suchen international nach Konzepten zur Verbesserung der Schnittstellen zwischen dem stationären und dem niedergelassenen Bereich. Eine zeitnahe Befundübermittlung seitens der onkologischen Abteilungen zur Ermöglichung einer verbesserten Patientenberatung durch Hausärzte, das Erkennen psychosozialer Aspekte des Krankseins und deren Bearbeitung sowie die vermehrte Einbeziehung des familiären und sozialen Kontexts wären Möglichkeiten, um die biopsychosoziale Versorgung von Krebspatienten zu optimieren.*

Dr. Wolfgang Spiegel
Abteilung für Allgemeinmedizin,
Zentrum für Public Health,
Medizinische Universität Wien,
E-Mail: *wolfgang.spiegel@meduniwien.ac.at*

Univ.-Prof. Dr. Heidrun Karlic
Ludwig-Boltzmann-Cluster Oncology,
Wien und
Ludwig-Boltzmann-Institut für
Leukämieforschung und Hämatologie,
Hanusch-Krankenhaus, Wien

Die translationale Forschung hat die Aufgabe sowohl biomedizinische als auch sozialwissenschaftliche Erkenntnisse der Grundlagenforschung weiterzuentwickeln und sie für die medizinische Versorgung, also für den Menschen, direkt nutzbar zu machen. Ein wichtiges Ziel in der integrierten Versorgung von an Krebs erkrankten Menschen wäre es, biomedizinische und biopsychosoziale Aspekte des Krankseins und der Bemühung um Gesundung zu „integrieren".

Aufgrund der erforderlichen spezifischen medizinischen Kompetenzen ist es in Österreich gängige Praxis, dass bei Diagnosestellung einer malignen neoplastischen Erkrankung eine Fachabteilung die zentrale Behandlungskompetenz des Krebspatienten an sich zieht. Aus anekdotischen Berichten geht hervor, dass den Krebspatienten dabei tendenziell die „Ärzte des Vertrauens" abhanden kommen, da die niedergelassenen Allgemeinärzte häufig vom medizinischen Informationsfluss des onkologischen Teams abgeschnitten sind [Jens R., Klinik, 2002]. Dies würde dazu führen, dass die Hausärzte ihren Krebspatienten nur eingeschränkt beratend zur Seite stehen können. Dabei geht dem Patienten der „Arzt des Vertrauens", zumeist der hausärztlich tätige Allgemeinmediziner, verloren, da dieser nicht laufend informiert und in die weitere Entscheidungsfindung eingebunden ist.

Andererseits haben Krebspatienen, wie von Bauer et al. diskutiert, aufgrund der komplexen Natur ihrer Erkrankung und der großen Erfahrung, die für ihre Behandlung notwendig ist, in vielen Fällen auch ein besonders privilegiertes Vertrauensverhältnis zum behandelnden Onkologen bzw. onkologisch tätigen Fachärzten [Bauer J, Rev Med Suisse, 2005]. In vielen westlichen Ländern bestehen multidisziplinäre onkologische Teams aus Spitalsärzten unterschiedlicher Fachrichtungen – die niedergelassenen Hausärzte *(family physicians)* werden dabei hingegen häufig ausgeschlossen [Gopal R., J Support Oncol, 2005], was insbesondere für Österreich gilt. In den meisten Ländern gibt es Regelungen, die vorschreiben, dass zuweisende Ärzte bzw. jene, die für die Nachsorge zuständig sind, genau über die patientenbezogenen Befunde informiert sein müssen. Wenn auch die wechselseitige Information zwischen den Medizinern eine lange Tradition hat, so zeigt sich doch, dass der Informationsaustausch zwischen den Onkologen und den Hausärzten sowie der Aspekt der Einfühlsamkeit bei der Aufklärung von Krebspatienten in Österreich noch verbesserungsfähig ist[1, 2].

Informationsfluss vom Spital zum niedergelassenen Hausarzt

Eine wichtige Determinante der integrierten Versorgung von Krebspatienten ist die zeitnahe Weiterleitung von im Spital gewonnenen medizinischen Erkenntnissen bezüglich eines bestimmten Patienten (z. B. Krebsart, Stadium, empfohlene Therapie) durch den Onkologen an den Hausarzt. Diese Information erfolgt in Österreich bisweilen ungenügend bzw. nicht zeitnah. Wie in eigenen Arbeiten dokumentiert, ist dies häufig auch die Einschätzung der Krebspatienten: 50,9 % schätzen den Informationsfluss vom Spital zum Hausarzt als „schlecht" oder „sehr schlecht" ein (28,1% als „sehr gut" oder „gut", 21,1% antworteten „weiß nicht"), obwohl der Informationsfluss von der überwiegenden Mehrheit (87,5%) der Krebspatienten als sehr wichtig angesehen wird.[1] Weibliche Krebspatienten in unserer Studienpopulation legten noch mehr Wert auf Information von – und Kommunikation mit – ihrem Hausarzt seitens des Spitals als männliche (92,1 % Frauen vs. 80,2 % Männer) [Lukoschek P, Patient Educ Couns, 2003; Arora NK, Soc Sci Med, 2003; Boudioni M, Br J Cancer, 2001]. Entsprechend den Ergebnissen unserer Studie empfand ein hoher Prozentsatz von Krebspatienten in Wien (64,7 % der Frauen, 58,3 % der Männer) die Art und Weise, wie sie von Ärzten über ihre Krebserkrankung aufgeklärt wurden, als „wenig einfühlsam" oder als „nicht einfühlsam".

Ärztliche Beratung und Aufklärung über die Krebserkrankung

Bezüglich ärztlicher Beratung über die weiterführenden spezifischen medizinischen Maßnahmen zur Krebstherapie geben die in unserer eigenen Studie befragten Patienten allgemein den Krebsspezialisten (Spitalsärzten, gewissen niedergelassenen Fachärzten) den Vorzug[1]. Die einfühlsame Aufklärung bezüglich des Vorliegens einer Krebserkrankung (Übermittlung schlechter Nachrichten) ist eine für alle klinisch tätigen Ärzte wichtige ärztliche Kompetenz, die an die kommunikativen Fähigkeiten hohe Anforderungen stellt. Allerdings zeigten die Ergebnisse unserer Studie, dass es einen erheblichen Unterschied zwischen den an der Betreuung von Krebspatienten beteiligten Ärzten gibt. Wenn die ärztliche Aufklärung vom Hausarzt durchgeführt wurde, beantworten 81,8 % der KrebspatientInnen die Frage „Wie wurde Ihnen die Tatsache ihrer Krebserkrankung mitgeteilt?" mit „sehr einfühlsam" oder mit „einfühlsam" (Auswahlmöglichkeiten: „sehr einfühlsam", „einfühlsam", „wenig einfühlsam", „nicht einfühlsam"), wohingegen sie dies nur in jeweils 41,2 % der Fälle angeben, wenn sie vom Spitalsarzt oder vom niedergelassenen Facharzt informiert wurden.

Weiters bejahten mehr als doppelt so viele Patienten der Hausärzte (im Vergleich zu jenen der Fachärzte) die Frage: „Hat Ihnen der Arzt genug Gelegenheit gegeben, Fragen zu stellen, die für Sie wichtig sind?" Wenn Spitalsärzte das Aufklärungsgespräch mit dem Krebspatienten durchgeführt hatten, bejahten 43,5 % die Frage „Hat Ihnen ihr Arzt im Rahmen des Aufklärungsgesprächs ausreichend Zeit und die Möglichkeit gegeben, die Ihnen wichtigen Fragen anzusprechen?"; beim niedergelassenen Facharzt bejahten diese Frage 44,3 % und beim Hausarzt 81,8 % (alle Unterschiede waren statistisch signifikant).

Wie kann also das Phänomen, dass Krebspatienten Hausärzte als einfühlsamer empfinden als Fachärzte, erklärt werden? Der Unterschied könnte in der vorbestehenden Arzt-Patient-Beziehung oder im unterschiedlichen Stil der Gesprächsführung liegen. Der patientenzentrierte Kommunikationsstil steht bisweilen im Gegensatz zur den praktischen Aufgaben im stationären Bereich, bei dem vorgesehene Arbeitsschritte „abgearbeitet" werden müssen. Neben dem unterschiedlichen Gesprächstil wären auch die beim Hausarzt vorbestehende Arzt-Patient-Beziehung und die Tatsache, dass in Spitalsambulanzen häufig keine Kontinuität des ärztlichen Ansprechpartners gegeben ist, als mögliche Faktoren zu nennen.

Slingsby et al. begründen das Festhalten an einem „definierten" Kommunikationsstil – also einen nicht angepassten Stil, der sich über die Verschiedenheit der Persönlichkeitstypen der Patienten hinwegsetzt, mit der „Gläubigkeit" an eine technische Medizin, die technische Befunde in den Vordergrund stellt [Slingsby B.T., J Gen Intern Med. 2006] Schmid Mast et al. konfrontierten ihre Studienteilnehmer – weibliche Studenten, die sich in die Lage von Patienten versetzen sollten, die schlechte Nachrichten bezüglich ihrer Brustkrebserkrankung vermittelt bekommen – mit drei prototypisch verschiedenen Kommunikationsstilen, nämlich den patienten-, krankheits- oder emotionszentrierten *(patient-, disease- or emotion-centred)* [Schmid Mast M, Patient Educ Couns, 2005]. Sie fanden, dass der patientenzentrierte Kommunikationsstil am einfühlsamsten und am wenigsten dominant war sowie am ehesten ein Gefühl der Hoffnung und Zuversicht vermittelte. Weiters berichteten sie, dass beim patientenzentrierten Stil die Zufriedenheit mit dem Gespräch am höchsten war und dass die Studenten in der Rolle des Patienten am zufriedensten waren und kaum negative Gefühle angaben.

Dowsett et al. identifizierten 11 Verhaltensdimensionen, welche die patienten- oder arztzentrierte Kommunikation charakterisieren [Dowsett S, Psycho-Oncology, 2000]. Anhand von Videos, bei denen Schauspieler den patientenzentrierten oder arztzentrierten Gesprächstil annahmen, konnte gezeigt werden, dass Krebspatienten und ihre Angehörigen die patientenzentrierten Ansätze bevorzugten. Diese beinhalteten eher affektive Verhaltensweisen wie Empathie, Offenheit, Zuversicht und eine größere Einbeziehung der Patienten in Entscheidungsprozesse, wohingegen der arztzentrierte Stil eher aufgabenzentriert war.

Die Ergebnisse unserer Befragung von Krebspatienten bei der Wiener Krebshilfe[2] sind mit den experimentellen Ergebnisse von Schmid Mast et al. und Dowsett et al. gut vereinbar. Die kommunikative und die inhaltliche Schwerpunktsetzung von Allgemeinärzten unterscheiden sich sehr deutlich von jener, die von Fachärzten klinischer Sonderfächer

praktiziert wird. Die Weltorganisation für Allgemeinmedizin (WONCA) gibt in ihrer Definition des Faches Allgemeinmedizin/Hausarztmedizin gewisse Attribute für den Konsultationsstil an *(person-oriented, community-oriented, comprehensive, holistic modelling)*, der in der Hausarztmedizin verwendet wird. Die Ergebnisse der oben rezensierten Befragung von Krebspatienten geben einen Hinweis darauf, dass Hausärzte in Österreich (Wien) beim ärztlichen Gespräch tatsächlich anders vorgehen, was sich in der unterschiedlichen Zufriedenheit von Krebspatienten mit der Beratung ausdrückt.

Weiter- und Fortbildung zur ärztlichen Gesprächsführung mit Krebspatienten

Ein effizientes Gesprächstraining für Allgemeinmediziner wird in Österreich kaum angeboten. Die von der EU vorgeschriebene Weiterbildung von mindestens sechs Monaten in der Allgemeinmedizin (The Council of the European Communities. Council Direktive 93/16/EEC), wo die allgemeinärztliche Gesprächsführung erlernt werden könnte, wird in Österreich weitgehend nicht umgesetzt. Allgemeinmediziner werden in Österreich primär von Fachärzten in Spitälern, nicht aber von jenen, die für die primäre medizinische Versorgung zuständig sind, ausgebildet, weshalb sie spezifische allgemeinärztliche Gesprächsführung durch die Anforderungen der Patientenbetreuung in der Allgemeinpraxis im Sinne von *„learning by doing“* entwickeln – eine Tatsache, die nach einem entsprechenden Angebot an Ausbildungen verlangt , vor allem nach einem entsprechenden Gesprächstraining [Heyrman J., EURACT, 2005]. Ein erweitertes Angebot an entsprechender Weiterbildung und Fortbildung wäre auch für onkologisch tätige Fachärzte wichtig, die sich immer wieder schwierigen kommunikativen Aufgaben mit ihren Patienten stellen müssen.

Spezielle Fähigkeiten der Gesprächsführung mit Bedachtnahme auf Erkenntnisse des Forschungsfeldes „Patient Education“ sind auch für die Kommunikation mit Angehörigen erforderlich, welche – die Einwilligung des Patienten vorausgesetzt – in die Betreuung von Krebspatienten einbezogen werden [Baile WF, J Clin Oncol, 2006], was auch zur Vertrauensbildung beitragen kann [Fallowfield L, J Clin Oncol, 1998].

Farquhar et al. haben in einer qualitativen Studie Interviews mit Allgemeinmedizinern durchgeführt, um den Informationsbedarf zu konkretisieren, wobei 1.) im (prä)diagnostischen Stadium eine genaue Information über die Befunde gefordert wurde und 2.) in der Behandlungsphase, bei der die Allgemeinmediziner bisweilen den Kontakt zu ihren Patienten verlieren, seitens der Patienten ein hoher Bedarf an moralischer Unterstützung und Krisenmanagement besteht [Farquhar MC, Eur J Cancer Care, 2005]. Auch nach Beendigung der onkologischen Behandlung benötigt der Hausarzt aktuelle Informationen seitens der Onkologen (z. B. erforderliche onkologische Kontrolluntersuchungen, Nachuntersuchungsergebnisse), um die onkologische Situation der Patienten bei der hausärztlichen Betreuung einbeziehen zu können.

Krebspatienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium

Krebspatienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium mit infauster Prognose werden häufig wieder in stationären Einrichtungen aufgenommen. Namhafte Onkologen haben in den letzten zwei Jahrzehnten die Etablierung von Stationen zur Palliativbetreuung unterstützt [Bakitas M, JAMA, 2009; Connor SR, J Pain Symptom Manage, 2007]. Diese sollten die Lebensqualität und Menschenwürde der Patienten in den Vordergrund stellen und eine Entlastung der hochspezialisierten akut-onkologischen Stationen ermöglichen. Doch auch bei infauster Prognose sollte die Palliativmedizin nicht ausschließlich als Antithese zur onkologischen Therapie, sondern vielmehr als Komplementierung gesehen werden [Fadul N, Cancer, 2009]. Smeenk et al. haben in den Niederlanden ein Heimpflege-Programm für Menschen mit weit fortgeschrittenen Malignomen entwickelt und konnten in weiterer Folge eine signifikant niedrigere Hospitalisationsrate feststellen [Smeenk FWJM, Patient Educ Couns, 2000]. Wir meinen, dass die Gesundheitssysteme entwickelter Gesellschaften allen Menschen mit fortgeschrittenen Krebserkrankungen ermöglichen sollten, ihren Lebensabend wahlweise in auf pflegerische und medizinische Palliativbetreuung spezialisierten stationären Einrichtungen zu verbringen oder mit optimaler pflegerischer und medizinischer Betreuung in ihrer häuslichen und familiären Umgebung. Zur Gewährleistung des Letzteren ist der Hausarzt unentbehrlich[4] [Neergaard MA, Br J Gen Pract., 2009].

Wahrnehmung der Patienten hinsichtlich der ärztlichen Beratung

Wie ist es zu erklären, dass die Patienten häufig den Eindruck haben, der Hausarzt würde sich intensiver um sie kümmern und mehr Zeit für sie aufwenden, obwohl er doch viel mehr Patienten zu betreuen hat und obwohl für die einzelne Konsultation im Mittel nur wenige Minuten zur Verfügung stehen [Janssen R., Soc Sci Med, 1992]? Eine Erklärung ist sicher der unterschiedliche Zeitaufwand für akut und chronisch kranke Personen [Yawn B, Fam Pract, 2003]. Es gibt allerdings – unseres Wissens – derzeit noch keine Studien über den unterschiedlichen Zeitaufwand, der von Onkologen und Hausärzten für die Beratung von Krebspatienten benötigt wird. Der Prozentsatz von Patienten in unserer Studie, die meinten, dass sie überhaupt keine systematische Information über ihre Krebserkrankung erhalten haben, war bemerkenswert hoch (10,9 %), wenn auch in einer ähnlichen Studie aus Portugal ein noch höherer Prozentsatz gefunden worden war (28 %) [Goncalves F, Palliat Med, 2005].

Es gibt auch eine interessante inverse Korrelation zwischen der Selbstwahrnehmung des Arztes, was seine didaktischen Fähigkeiten betrifft, und dem Verständnis der Patienten: Patienten von Ärzten mit hoher Selbsteinschätzung ihrer Fähigkeiten in der Patientenberatung gaben signifikant größere Probleme beim Verstehen der medizinischen Aufklärung ihrer je-

weiligen Ärzte an [Lukoschek P, Patient Educ Couns, 2003].

Aufklärung über die Krebserkrankung durch den Hausarzt

Wir haben bereits einige Faktoren zusammengefasst, die Hausärzte besonders für die Vermittlung schlechter Nachrichten bezüglich einer Krebserkrankung qualifizieren:

1.) Umfangreiche Evidenz dokumentiert, dass Hausärzte im Vergleich zu vielen klinischen Sonderfächern einen stärker patientenzentrierten Gesprächsstil verwenden [Landstrom B, Scand J Prim Health Care, 2006; Maheux B, CMAJ, 1992], was bei den Patienten zu einer größeren Zufriedenheit, zur geringeren Symptombelastung und zur verbesserten Lebensqualität führt [Little P, BMJ, 2001; Bauman AE, Med J Aust, 2003].

2.) In vielen Fällen haben die PatientInnen eine langjährige Vertrauensbasis und eine Arzt-Patient-Beziehung zu ihren Hausärzten aufgebaut und sind daher eher bereit, psychosoziale Aspekte ihres Krankseins zu besprechen.

3.) Es ist bekannt, dass die Interaktion mit Krebspatienten nicht auf einer Arzt-Patient-Dyade beruht [Janssen R., Soc Sci Med 1992]. Oft wird ein Krebspatient von einer Person begleitet, die mehr Fragen stellt als der Patient selbst [Yawn B, Fam Pract, 2003]. Erfahrung und Wissen ist erforderlich, um eine therapeutische Beziehung zur Familie eines Patienten aufzubauen [Baile WF, J Clin Oncol, 2006]. Hausärzte, die in Nordamerika „Family Physicians“ genannt werden, kennen oft die ganze nähere Familie. Häufig konsultieren mehrere Familienmitglieder gemeinsam, was es für den „Familienmediziner“ erleichtert, systemische Aspekte der Familie und des Krankseins zu verstehen.

4.) Hausärzte spielen auch eine wichtige Rolle beim Entdecken von Krebserkrankungen (Verdacht und Diagnose)[1] sowie bei der häuslichen Pflege [Fuller AF, Prim Care, 1981; Burton RC, J Med Screen, 1998; Schnetler JF, Oral Maxillofac Surg, 1992].

5.) Die Umgebung, in der dem Patienten die Nachricht bezüglich seiner Krebserkrankung vermittelt wird, ist sehr wichtig [Ptacek JT, J Clin Oncol, 2001]. Die Beratung sollte in einer ungestörten Atmosphäre erfolgen [Landstrom B, Scand J Prim Health Care, 2006].

6.) Hausärzte haben eine wichtige Funktion bei der psychosozialen Unterstützung ihrer Patienten [Margalit APA, J Gen Intern Med, 2004]. Wird diese Funktion nicht ausreichend wahrgenommen, wendet sich ein hoher Prozentsatz von Krebspatienten an Heilpraktiker[5] [Eisenberg DM, JAMA 1998 und Altern Ther Health Med, 2005].

Die Hinwendung zu dubiosen Therapien und eine Abwendung von der wissenschaftlichen Medizin ist nicht selten [Spiegel W, European Journal of General Practice, 2007].

Grenzen der Allgemeinmedizin in der Beratung von Krebspatienten

Der Erörterung der Aufgabe der Hausärzte bei der interdisziplinären Betreuung von Krebspatienten müssen die fachlichen und strukturellen Grenzen gegenübergestellt werden: 1.) Die medizinische Expertise der Hausärzte ist „das Häufige und Typische“. Krebserkrankungen sind als Krankheitsgruppe häufig, jedoch sind die meisten Krankheitsentitäten so selten – und ihre Therapie ist so komplex –, dass hier rasch die Grenze der Kompetenz von Hausärzten erreicht ist. Sie sind deshalb bezüglich Behandlungsoptionen und empfehlungen auf die fachliche Mitteilung der auf die onkologische Therapie spezialisierten Ärzte angewiesen und sollten die Grenze ihrer Kompetenz bei der Beratung ihrer Patienten einhalten [Goold SD, JAMA, 2000; Samant RS, Radiother Oncol, 2006].

2.) Obwohl das ärztliche Gespräch eine Kernaufgabe von Hausärzten ist und sie in der Lage sind, ihren Behandlungsstil den psychosozialen Gegebenheiten anzupassen [Deveugele M, Patient Educ Couns, 2004], sollten auch Hausärzte spezielle Schulungen (Fortbildungsmodule) zur ärztlichen Gesprächsführung mit Krebspatienten, zum Überbringen schlechter Nachrichten und zum Umgang mit den Gefühlen der Patienten erhalten [Sargeant J, J Cancer Educ, 2005].

3.) Jeder Arzt muss sich die Frage stellen, ob er für die Patientenberatung bei Entscheidungen am Ende des Lebens ausreichend kompetent ist. Gerade die besondere Arzt-Patient-Beziehung mit langjährigen Patienten kann dazu führen, dass aufgrund eines „Nahfehlers“ therapeutische Möglichkeiten überschätzt werden [Danis M, Crit Care Med., 1988].

4.) Onkologen und Hausärzte könnten unterschiedlicher Ansicht sein, was die Therapieziele betrifft (z. B. palliative Chemotherapie vs. Erhaltung der Lebensqualität). Anders als in der Palliativmedizin meint der Begriff „palliativ“ im Zusammenhang mit Chemotherapie eine lebensverlängernde Absicht [de Kort SJ, Eur J Cancer, 2006].

5.) Berührungsängste, Territorialverhalten und Vorurteile zwischen ärztlichen Fachrichtungen können die optimale integrierte Versorgung von Krebspatienten beeinträchtigen. Allgemeinärzte sollten sich nicht scheuen, bei Unklarheiten eine persönliche (telefonische) Rücksprache mit den behandelnden Onkologen zu suchen. Andererseits besteht bei anerkannten (und oft auch berühmten) Krebsspezialisten bisweilen die Haltung, Allgemeinärzte wären die „Omega-Tiere“ der ärztlichen Rangordnung und ihr Beitrag zur Patientenbetreuung wäre grundsätzlich entbehrlich.

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Der von uns empfohlene Ansatz zur integrierten Versorgung von KrebspatientInnen strebt nach einer Balance zwischen optimal erreichbarer Lebensqualität, optimaler onkologischer Therapie bzw. Palliation und bestmöglicher Aufrechterhaltung der familiären und sozialen Integration. Diese Balance muss für und mit jedem Krebspatienten vom Onkologen, aber auch vom Hausarzt, der von den Krebspatienten um Rat gefragt wird, immer wieder aufs Neue gesucht werden. Eine solche integrierte, biopsychosoziale Versorgung von Krebspatienten erfordert Beiträge auf Ebene der hausärztlichen

Betreuung und somit die zeitgerechte Übermittlung von onkologischen Arztbriefen inklusive Stellungnahme zum empfohlenen weiteren Prozedere. Krebspatienten in Österreich beurteilen das ärztliche Aufklärungsgespräch bezüglich ihrer Krebserkrankung abhängig von der fachlichen Qualifikation bzw. Spezialisierung des aufklärenden Arztes in unterschiedlichem Ausmaß als einfühlsam und zeitlich ausreichend. Bezüglich ärztlicher Beratung über die weiterführenden spezifischen medizinischen Maßnahmen zur Krebstherapie geben die betroffenen Patienten allgemein den Krebsspezialisten (Spitalsärzte, gewisse niedergelassene Fachärzte) den Vorzug. Die Krebspatienten in Österreich messen der Übermittlung ärztlicher Informationen über ihre Krebserkrankung durch den Spitalsarzt an den niedergelassenen Hausarzt große Bedeutung bei und erachten diesen Austausch an Information überwiegend als „eher schlecht" oder „sehr schlecht". Da entsprechend unseren Ergebnissen den niedergelassenen Ärzten große Bedeutung beim Erkennen von Krebserkrankungen und in der extramuralen Betreuung von Krebspatienten zukommt, sollten Maßnahmen gesetzt werden, welche die rechtzeitige Befundübermittlung seitens des Spitals an die behandelnden Hausärzte begünstigen.

Häufig erhalten Allgemeinmediziner schriftliche Befunde bezüglich der Art und des Stadiums einer Krebserkrankung – auch was Therapieempfehlungen betrifft – nicht rechtzeitig[1] [Maheux B, CMAJ, 1992], was auch das Vertrauensverhältnis der Patienten zu den Ärzten belasten kann [Little P, BMJ, 2001]. Berührungsängste, ärztliche Kompetenzfragen, der Faktor „Zeit" und die Frage der Honorierung spielen eine zentrale Rolle. Revierverhalten und Vorurteile zwischen ärztlichen Fachrichtungen einerseits und zwischen Spitalsärzten und niedergelassenen Ärzten andererseits sind wesentliche Gestaltungsfaktoren dieses Übels. Durch die mangelhafte Information bzw. die mangelnde Einbeziehung des Hausarztes kann dieser seine Funktion als für den Patienten wichtiger medizinischer Berater nicht oder nur sehr eingeschränkt ausfüllen. Es entstehen psychosozial nachteilige Effekte und Qualitätsverluste an den Schnittstellen der medizinischen Leistungserbringung.

Um solchen Situation vorzubeugen, sollte das gegenseitige Konsultationsprinzip eingeführt werden (telefonisches oder persönliches Konzil). Die Gesundheitspolitik wäre aufgerufen, durch organisatorische Anreize und eine motivierende Honorierung für Ärzte den Informationsaustausch zwischen den Ärzten über den gemeinsamen Patienten zu verbessern. ■

Ausgewählte Literatur:

1 Spiegel W, Zidek T, Karlic H, Maier M, Vutuc C, Isak K, Micksche M, Cancer patients' perception of information exchange between hospital based physicians and their general practitioners. Journal of Evaluation in Clinical Practice 2010; 16:1309–1313

2 Spiegel W, Zidek T, Maier M, Vutuc C, Isak K, Karlic H, Micksche M, Breaking bad news to cancer patients: survey and analysis. Psycho-Oncology 2009; 18:179–186

3 Spiegel W, Pichlhöfer O, Haoula D, Schneider B, Maier M, Specialty selection and relative job satisfaction of family physicians and medical specialists in Austria. Croatian Medical Journal 2008; 48:375–383

4 Kamenski G, Fink W, Maier M, Pichler I, Zehetmayer S. Characteristics and trends in required home care by GPs in Austria: diseases and functional status of patients. BMC Family Practice 2006; 7:55

5 Spiegel W, Zidek T, Vutuc C, et al: Complementary therapies in cancer patients: prevalence and patients' motives. Wien Klin Wochenschr 2003; 115:705–709