

## Lymphdrüsenkrebs – Fehlfunktion eines Genregulators

*Projektleiter*

Prof. Dr. Ralf Küppers

Institut für Zellbiologie

(Tumorforschung)

Universitätsklinikum Essen

**Das Hodgkin-Lymphom ist eine der häufigsten Formen von Lymphdrüsenkrebs (Lymphomen) der westlichen Welt, und betrifft relativ häufig auch junge Erwachsene. Eine zentrale Rolle für das Überleben der Tumorzellen des Hodgkin-Lymphoms spielt die deregulierte Aktivität eines wichtigen Genregulators, des Transkriptionsfaktors NF $\kappa$ B. In diesem von der Stiftung geförderten Projekt untersucht ein Forscherteam um Prof. Ralf Küppers aus Essen und Prof. Reiner Siebert aus Kiel gemeinsam, ob es genetische Ursachen für die unkontrollierte NF $\kappa$ B-Aktivität gibt.**



Das Hodgkin-Lymphom ist eine sehr ungewöhnliche Krebserkrankung, da die eigentlichen malignen Tumorzellen, die Hodgkin- und Reed/Sternberg (HRS)-Zellen genannt werden, meist weniger als 1% der Zellen im Tumorgewebe ausmachen. Dies erschwert ihre Untersuchung sehr. Beim Hodgkin-Lymphom werden eine klassische Form und eine lymphozytenprädominante Form unterschieden, wobei etwa 95% der Fälle klassische Hodgkin-Lymphome repräsentieren. Durch Verbesserungen in der Behandlung können heute fast 90% der Patienten langfristig geheilt werden. Allerdings stellt die hohe Rate therapieassoziiertes Zweitneoplasien ein beachtliches klinisches Problem dar.

Der Transkriptionsfaktor NF $\kappa$ B ist normalerweise nur kurzzeitig in Zellen aktiv und fördert das Überleben der Zellen. In den Krebszellen des klassischen Hodgkin-Lymphoms ist der Faktor aber ständig und sehr stark aktiv und schützt die Tumorzellen daher vor Zelltod, was ihre Eliminierung erschwert. Die molekularen Ursachen dieser deregulierten NF $\kappa$ B-Aktivität konnten bislang nur in einem Teil der Fälle identifiziert werden. Im Rahmen des von der Stiftung geförderten Projektes konnten die Forscherteams in Essen und Kiel

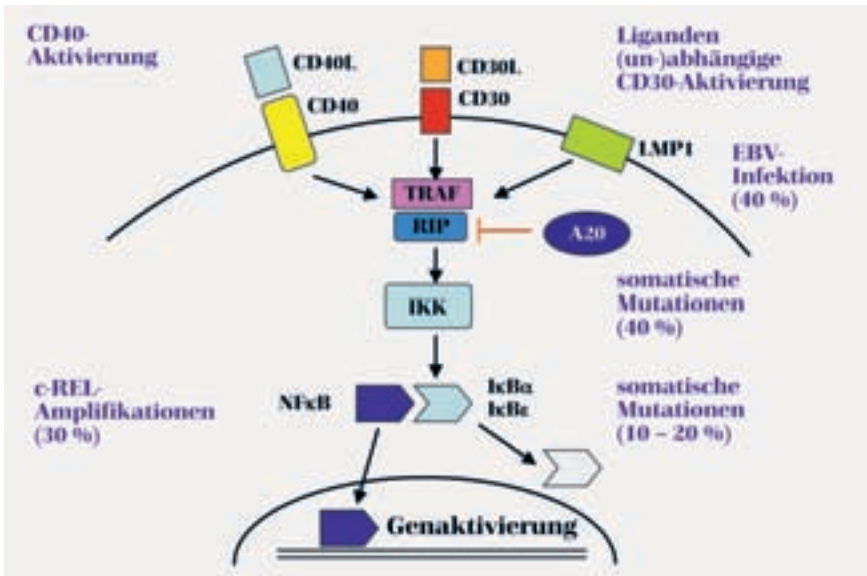


Abbildung 1: Der Signalweg des Transkriptionsfaktors NFκB und seine Störung im Hodgkin-Lymphom. Normalerweise wird der NFκB-Signalweg nur kurzzeitig aktiviert, wenn Rezeptoren (wie z. B. die Moleküle CD30 und CD40) auf der Zelloberfläche von Zellen durch Bindung ihrer Liganden stimuliert werden. Dann geben die Rezeptoren das Signal über einen Komplex aus TRAF- und RIP-Faktoren an sogenannte IKK-Kinasen weiter. Diese Enzyme veranlassen den Abbau von negativen Regulatoren des NFκB-Signalweges, der Inhibitoren IκBα und IκBε. Dadurch

wird der eigentliche NFκB-Transkriptionsfaktor freigesetzt und kann nun in den Zellkern wandern und dort die Ausprägung zahlreicher Gene veranlassen, die für das Überleben und die Vermehrung der Zellen wichtig sind. Ein weiterer negativer Regulator des Signalweges ist das Protein A20, welches die Signalvermittlung von RIP an die IKK-Kinasen hemmt. Im Hodgkin-Lymphom ist der NFκB-Signalweg ständig aktiv. Dies ist teilweise durch Aktivierung der Rezeptoren CD30 und CD40 bedingt, teilweise durch zusätzliche Genkopien des NFκB-Faktors c-Rel, teilweise durch inaktivierende

Mutationen in den negativen Regulatoren IκBα und IκBε und teilweise durch das latente Membranprotein 1 (LMP1) von EBV, das in EBV-infizierten HRS-Zellen ausgeprägt wird. Wir konnten im Rahmen des von der Wilhelm Sander-Stiftung geförderten Projektes zeigen, dass etwa 40% der Fälle des klassischen Hodgkin-Lymphoms inaktivierende Mutationen im A20-Gen tragen.

Hinweise darauf finden, dass ein bestimmter hemmender Faktor für NFκB-Aktivität in einem Teil der Fälle des klassischen Hodgkin-Lymphoms häufig durch Mutationen (Genschäden) inaktiviert ist. Dabei hat sich die Zusammenarbeit der Gruppen aus der Humangenetik in Kiel (R. Siebert) und der Zellbiologie in Essen (R. Küppers), unter weiterer Beteiligung des Pathologen Prof. M.-L. Hansmann aus Frankfurt, als besonders effizient erwiesen. In diesem Team konnten sowohl chromosomale Schäden am A20-Gen als auch kleine Genveränderungen im Gen in den HRS-Tumorzellen, die einzeln mithilfe einer laserbasierten Vorrichtung an einem Mikroskop aus Gewebeschnitten isoliert wurden, aufgedeckt werden. Unter 40 untersuchten Lymphomen fanden sich inaktivierende A20-Mutationen in etwa 40% der Fälle. Interessanterweise waren fast alle Fälle mit A20-Mutationen negativ für das Epstein-Barr-Virus (EBV). Dieses Virus findet sich in den HRS-Zellen in etwa 40% der Hodgkin-Lymphome, und es gibt Hinweise darauf, dass ein Gen des Virus, welches in den virus-tragenden HRS-Zellen ausgeprägt wird, ebenfalls zur starken NFκB-Aktivität der HRS-Zellen beiträgt. Insgesamt hatten 70% der EBV-negativen Lymphomfälle inaktivierende A20-Mutationen. Diese signifikante inverse Korrelation zwischen A20-Mutationen und EBV deutet darauf hin, dass es sich hierbei um alternative Mechanismen in der Entstehung des Hodgkin-Lymphoms handelt.

Um die Bedeutung der A20-Mutationen für die Entstehung des Hodgkin-Lymphoms zu klären, haben wir untersucht, welche Konsequenzen eine Ausprägung des normalen A20-Genes in A20-defizienten Hodgkin-Zellen hat. Wir haben dazu Zelllinien, die von HRS-Zellen abstammen, und die ebenfalls einen Gendefekt für A20 tragen, mit einem normalen A20-Gen versehen. Wir konnten zeigen, dass durch die Ausprägung von A20 die Aktivität von NFκB wie erwartet vermindert wird und dass das Überleben der Zellen eingeschränkt ist. Durch diese Befunde wurde A20 von uns als ein neues an der Krebsentstehung beteiligtes Gen identifiziert.

Da eine andere Lymphomform, das sogenannte primär mediastinale B-Zell-Lymphom, zahlreiche Ähnlichkeiten zum klassischen Hodgkin-Lymphom aufweist und ebenfalls eine starke NFκB-Aktivität zeigt, haben wir ebenfalls Tumorzellen dieses Lymphoms auf Mutationen im A20-Gen untersucht. Tatsächlich konnten wir auch hier in etwa 30% der Fälle inaktivierende Mutationen finden, sodass A20 nicht nur im klassischen Hodgkin-Lymphom eine wichtige Rolle bei der Krebsentstehung spielt.

Wir haben kürzlich im Rahmen eines anderen Projektes nachgewiesen, dass auch die Tumorzellen des lymphozytenprädominanten Hodgkin-Lymphoms eine starke NFκB-Aktivität zeigen. Es stellte sich daher die Frage, ob die

Ursachen der deregulierten NF $\kappa$ B-Aktivität in den beiden Formen des Hodgkin-Lymphoms gleich sind. Wir haben dazu isolierte Tumorzellen von zehn Fällen des lymphozytenprädominanten Hodgkin-Lymphoms auf Mutationen in den NF $\kappa$ B-Inhibitoren I $\kappa$ B $\alpha$  und A20 untersucht, aber keine klar inaktivierenden Mutationen gefunden. Dieser Befund ist für die Abgrenzung des klassischen und lymphozytenprädominanten Hodgkin-Lymphoms von Bedeutung, denn er zeigt, dass die genetischen Ursachen der Lymphomentstehung in den beiden Formen des Hodgkin-Lymphoms unterschiedlich sind.

Da der NF $\kappa$ B-Signalweg durch zahlreiche weitere Faktoren reguliert wird, haben wir weitere Kandidaten im Auge, die möglicherweise ebenfalls durch Genfehler an der starken NF $\kappa$ B-Aktivität und damit an der Entstehung des Hodgkin-Lymphoms beteiligt sein könnten. Dies sind zentrale Fragen des nun laufenden Projektes.

In Anbetracht der Tatsache, dass die deregulierte NF $\kappa$ B-Aktivität in HRS-Zellen ein zentrales transformierendes Ereignis darstellt, werden die Analysen wichtige neue Einblicke in die Entstehung des Hodgkin-Lymphoms geben. Dies hat potenziell auch klinische Bedeutung, denn einige Krebserkrankungen werden bereits mit Hemmstoffen für NF $\kappa$ B behandelt und für die Wirksamkeit solcher neuer Therapeutika ist es wichtig zu verstehen, durch welche Mechanismen die NF $\kappa$ B-Deregulierung bedingt ist.