



ZUSAMMENHÄNGE VERSTEHEN – KRANKHEITEN BESIEGEN

NGFN-PLUS UND NGFN-TRANSFER
IM PROGRAMM DER MEDIZINISCHEN GENOMFORSCHUNG

NGFN-PLUS UND NGFN-TRANSFER

NGFN Geschäftsstelle

c/o DKFZ - Deutsches Krebsforschungszentrum
Im Neuenheimer Feld 280, V025, 69120 Heidelberg, Deutschland

www.ngfn.de

GEFÖRDERT VOM



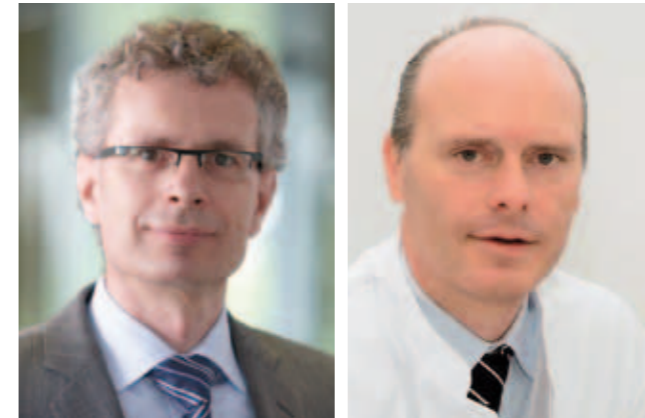
Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

NGFN-PLUS UND NGFN-TRANSFER IM PROGRAMM DER MEDIZINISCHEN GENOMFORSCHUNG



ZUSAMMENHÄNGE VERSTEHEN –
KRANKHEITEN BESIEGEN

VORWORT



Liebe Leserinnen und Leser!

Die Struktur eines deutschlandweiten Forschungsnetzes bietet beste Voraussetzungen, komplexe Krankheiten mit vielschichtigen Ursachen wie z. B. Krebs, Herz-Kreislauf- oder Neurologische Erkrankungen zu untersuchen. So basiert die einzigartige Zusammenarbeit in NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung auf der engen Kommunikation zwischen medizinischen Experten verschiedenster Disziplinen, Molekularwissenschaftlern, Informatikern und industriellen Kooperationspartnern. Diese direkte und fachübergreifende Vernetzung von Klinik, Akademie und Industrie ermöglicht die Gewinnung international anerkannter Erkenntnisse auf höchstem Niveau. Durch die nachhaltige Förderung der krankheitsorientierten Genomforschung im NGFN konnte ein Netzwerk entstehen, dem es gelungen ist, bereits für eine Vielzahl von Krankheiten entscheidende Gene und Mechanismen zu identifizieren.

Schnellstmöglich sollen die Erkenntnisse aus der Forschung im NGFN der Bevölkerung Nutzen bringen. Dabei streben die Wissenschaftler des NGFN an, Krankheiten noch früher zu erkennen, sicherer abzugrenzen und den Krankheitsverlauf genauer vorherzusagen. Gleichzeitig führen das Aufdecken krankheitsrelevanter Gene und die Untersuchung ihrer Funktionen zu einem umfassenderen Verständnis der molekularen Zusammenhänge und schaffen so die Grundlage für eine Verbesserung der medizinischen Möglichkeiten. Dies wird eine auf den einzelnen Patienten ideal zugeschnittene Behandlung ermöglichen sowie eine Verbesserung der Therapie durch die Entwicklung neuer Medikamente und Behandlungsverfahren erreichen. Im Mittelpunkt der Aktivitäten im NGFN stehen daher immer die Patientinnen und Patienten, denen die Erkenntnisse der medizinischen Genomforschung des NGFN zugutekommen.

Wir freuen uns, Ihnen im Rahmen dieser Broschüre einen aktuellen Einblick in die Forschung des NGFN bieten zu können, und laden Sie dazu ein, aus erster Hand mehr über die spannenden Erfolge der Verbünde und Allianzen zu erfahren.

Viel Freude mit dieser Broschüre wünschen Ihnen

PD Dr. Stefan Wiemann

Prof. Dr. Markus Nöthen

Sprecher des Projektkomitees von NGFN-Plus und NGFN-Transfer
im Programm der Medizinischen Genomforschung

INHALT

MEDIZINISCHE GENOMFORSCHUNG: ZUSAMMENHÄNGE VERSTEHEN – KRANKHEITEN BESIEGEN 8	Pankreaskrebs Neue Strategien im Kampf gegen das Pankreaskarzinom32	Atherogenomics Der Arterienverkalkung gegensteuern, um Herzinfarkte zu verhindern.....58	NGFN-TRANSFER: VON DER FORSCHUNG ZUR ANWENDUNG 83
INTERNATIONALE PROJEKTE IM PROGRAMM DER MEDIZINISCHEN GENOMFORSCHUNG..... 12	Mutanom Krebs mit systembiologischem Ansatz kontern.....34	Adipositas Wenn Gene dick machen.....60	Brustkrebssignaturen Brustkrebsrückfälle verhindern, aber unnötige Therapiebelastung vermeiden84
ZAHLEN, DATEN UND FAKTEN AUS NGFN-PLUS UND NGFN-TRANSFER 13	Krebsgene Krebsgene lassen Signalwege außer Kontrolle geraten36	INFEKTION / ENTZÜNDUNG 62	Proteinanalyse von FFPE Geweben Neue Technologien in Routineprozessen sollen individuelle Krebstherapien ermöglichen85
WUSSTEN SIE SCHON ...?..... 16	NEUROLOGISCHE ERKRANKUNGEN 38	RNomics in Infektionen RNA als Schlüssel zu Infektionskrankheiten64	Herzkrankungen bei Niereninsuffizienz Hoffnung auf verbesserte Therapien für Nieren- und Herzpatienten86
NGFN-PLUS: VOM GEN ZUR FUNKTION 17	Parkinson Ein GAU im Zellkraftwerk als Ursache für die Parkinson-Krankheit40	Herpesinfektionen Die Tricks der Viren am Beispiel von Herpes aufdecken66	Herzinsuffizienztherapie Lockvögel im Einsatz gegen die Herzschwäche87
KREBSERKRANKUNGEN 18	Alzheimer Alzheimer-Demenz: Fortschritt gegen das Vergessen42	UMWELTBEDINGTE ERKRANKUNGEN 68	Stoffwechselprofile bei Herzinsuffizienz Herzinsuffizienz-Früherkennung über Stoffwechselprofile88
Leukämie Leukämierückfälle durch optimierte Therapien im Voraus verhindern20	Neurodegeneration Proteinablagerungen sorgen für Störfälle im Gehirn.....44	Genomnetz Umweltbedingte Erkrankungen Verschiedene Krankheiten an gemeinsamer Wurzel packen70	Malaria Ein Mückenstich mit lebensgefährlichen Folgen.....89
Hirntumor Gliome: Noch sind diese Hirntumoren nur schwer zu bezwingen.....22	Mentale Retardierung Genetische Grundlagen kognitiver Behinderungen aufdecken46	KRANKHEITSÜBERGREIFENDE STRATEGIEN 72	Subgenomfraktionierung für die individuelle Sequenzierung Genetische Krankheits Hintergründe schneller und besser diagnostizieren90
Neuroblastom Mit springenden Genen dem Neuroblastom auf den Fersen24	Depression und Schizophrenie Wenn Gene die Psyche beeinflussen48	Deutsche Mausklintik Die Klinik für die Maus.....74	Amplifizierungsmethoden für Biobanken Rares Ausgangsmaterial qualitativ hochwertig vervielfältigen91
Prostatakrebs Molekulare Marker für die Therapieentscheidung beim Prostatakarzinom26	Epilepsie und Migräne Zwei Anfallsleiden auf einen Streich verstehen und bekämpfen.....50	MHC-Haplotypen-Sequenzierung MHC: Der Komplex, der komplexe Erkrankungen besser verstehen lässt76	PERSONENVERZEICHNIS 92
Darmkrebs Erbliches Darmkrebsrisiko: Auf der Suche nach Lösungen28	Genetik der Alkoholsucht Molekulare Mechanismen der Sucht durchbrechen52	DiGtoP: Von Krankheitsgenen zu Proteinsignalwegen Funktionen krankheitsrelevanter Genvarianten aufdecken78	STICHWORTVERZEICHNIS 93
Dickdarmkrebs Im Hochdurchsatz Darmkrebs verstehen lernen30	HERZ-KREISLAUF- / STOFFWECHSEL- ERKRANKUNGEN 54	Zelluläre Systemgenomik Das System Zelle verstehen, um Krankheiten zu heilen80	IMPRESSUM 95
	Genetik der Herzschwäche Schwache Herzen rechtzeitig behandeln56	KENNEN SIE SCHON ...? 82	

MEDIZINISCHE GENOMFORSCHUNG: ZUSAMMENHÄNGE VERSTEHEN – KRANKHEITEN BESIEGEN



Wie kaum ein anderes wissenschaftliches Feld hat die medizinische Genomforschung unser Verständnis für die Ursachen von wichtigen Volkskrankheiten verändert. Durch den demographischen Wandel wächst die Bedeutung der Volkskrankheiten für unser Gesundheitswesen, denn immer mehr Menschen sind betroffen. Die **medizinische Genomforschung** nimmt daher zu Recht eine **herausragende Stellung in der medizinischen Forschung** ein. Spitzentechnologien und systematische Forschungsansätze führten zu einem dynamischen Wissensgewinn. Die strukturelle und funktionelle Analyse des menschlichen Genoms **bietet einzigartige Möglichkeiten**, die Funktionen und Beiträge genetischer Faktoren sowie den Einfluss umweltbedingter Faktoren auf die Krankheitsentstehung zu verstehen. Schon heute beruhen verbesserte Methoden in der Prävention, Diagnose und Therapie bei nicht wenigen Krankheiten auf Kenntnissen der molekularen Ursachen.

Die menschliche DNA (Desoxyribonukleinsäure), also jene Erbsubstanz, die aufgewickelt im Kern jeder einzelnen Zelle steckt, **beinhaltet den Code unseres Lebens**. Ihre besondere Helix-Struktur entsteht durch die Verdrillung zweier entgegengesetzt zueinanderpassender Stränge. Sie bestehen aus fast identischen Grundbausteinen, die sich nur an einer entscheidenden Stelle unterscheiden: Jeder Baustein trägt eine der **vier DNA-Basen**, die mit den Buchstaben A, T, C und G abgekürzt werden. Die Abfolge von je drei Basen (z. B. AGT) bildet ein Code-Wort und verschlüsselt so die Erbinformation. Entschlüsselt man diesen Code, erkennt man, dass jedes Drei-Buchstaben-Wort für eine von insgesamt 20 Aminosäuren steht, welche die Bausteine der Proteine darstellen. Weniger als 1,5 % des **etwa drei Milliarden Basenpaare** umfassenden menschlichen Genoms scheinen dabei Gene im engeren Sinne zu sein, von denen der Mensch circa 23.000 besitzt.

Das Nationale Genomforschungsnetz (NGFN)



Nationales
Genomforschungsnetz

Das BMBF hat die Bedeutung der Genomforschung schon vor vielen Jahren erkannt und den Aufbau einer international anerkannten und wettbewerbsfähigen Genomforschungslandschaft in Deutschland maßgeblich unterstützt.

Deutschland war im Rahmen des **Deutschen Humangenomprojekts** (DHGP 1995-2004) an der Sequenzierung des menschlichen Genoms direkt beteiligt. Untersucht wurde

damals ein **Referenzgenom**, das einen **beispielhaften Charakter** hat und somit die enorme Anzahl an genetischen Unterschieden und Variationen zwischen den verschiedenen Menschen nicht berücksichtigen kann. Die Kenntnis von Gen- oder Proteinsequenzen hat als die entscheidende Basis weiterer Genomforschung großen Wert.

Im Zuge der Entschlüsselung des humanen Genoms konnten fundamentale Erkenntnisse gewonnen werden, die teilweise auch **medizinische Relevanz** hatten. Dazu zählte die Entdeckung bestimmter Gene bzw. Genvarianten, die die Entstehung von Krankheiten begünstigen können.

Im Jahr 2001 startete noch vor dem Abschluss des Humangenomprojekts mit dem **Nationalen Genomforschungsnetz** (NGFN) ein neues biomedizinisches Großprojekt. Das NGFN wird durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert und fokussiert auf die **Erforschung der genetischen Ursachen häufig vorkommender Krankheiten**.

Damit kommt dem NGFN eine große **gesundheitspolitische Bedeutung** zu, denn unter vielen der untersuchten Krankheiten wie Krebs und Herz-Kreislauf-Erkrankungen leidet ein großer Prozentsatz der Bevölkerung und hierdurch werden letztlich auch enorme Kosten im Gesundheitssystem verursacht. Es ist Ziel des NGFN, die Forschungserfolge rasch den Patienten zugutekommen zu lassen.

Bereits in den ersten beiden Förderphasen gelang es NGFN-Forschern, wichtige Gene und Mechanismen zu identifizieren, die für eine Vielzahl von Krankheiten relevant sind. So schlugen sich die beachtlichen **Erfolge des NGFN** von 2001 bis 2008 in 2.800 wissenschaftlichen Veröffentlichungen, mehr als 80 Patentanmeldungen und der Beteiligung an 60 Projekten der Europäischen Union nieder.

NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung

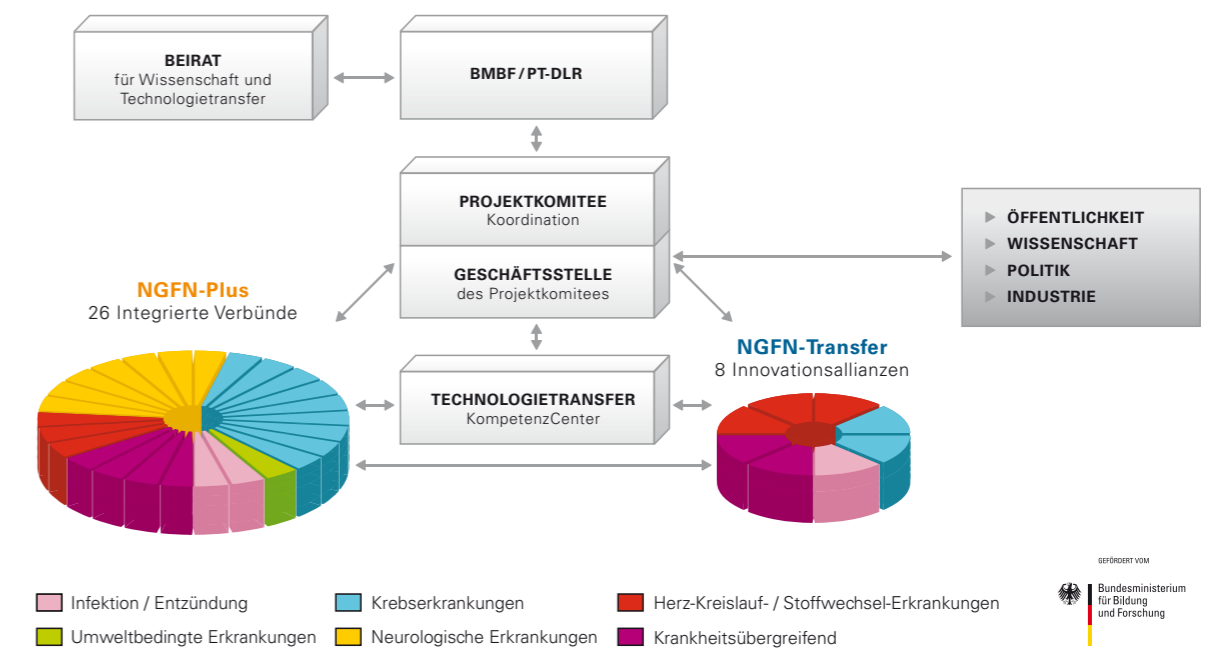
Seit 2008 befindet sich das NGFN mit dem **Programm der Medizinischen Genomforschung** in der dritten Förderphase. Für einen Zeitraum von drei Jahren stellt das BMBF eine Fördersumme von 153 Millionen Euro zur Verfügung, um das Verständnis molekularbiologischer und pathophysiologischer Prozesse von Volkskrankheiten zu erweitern und neue Therapieansätze zu schaffen. Das Programm ist dabei in zwei Maßnahmen untergliedert.

In **NGFN-Plus** werden die **Ursachen gesellschaftlich wichtiger Erkrankungen** untersucht. Grundlagenforscher und klinisch-medizinische Experten arbeiten gemeinsam daran, die Krankheits Hintergründe genauer zu verstehen, um Ansatzpunkte für **Verbesserungen in Diagnostik und Therapie** zu schaffen.

Das Ziel von **NGFN-Transfer** ist die Übertragung neuester wissenschaftlicher Ergebnisse in die **medizinische Nutzung**. Hier arbeiten forschende Unternehmen, Hochschulen und außeruniversitäre Einrichtungen gemeinsam daran, zum Wohle des Patienten schnellstens neue Erkenntnisse in die **Entwicklung von Medikamenten und Diagnostika** umzusetzen.

Auch die dritte Förderphase des NGFN hat bereits **zahlreiche Erfolge** vorzuweisen. Aus der bisherigen zweijährigen Laufzeit sind schon mehr als 800 wissenschaftliche Veröffentlichungen und 19 Patentanmeldungen hervorgegangen.

Struktur von NGFN-Plus und NGFN-Transfer

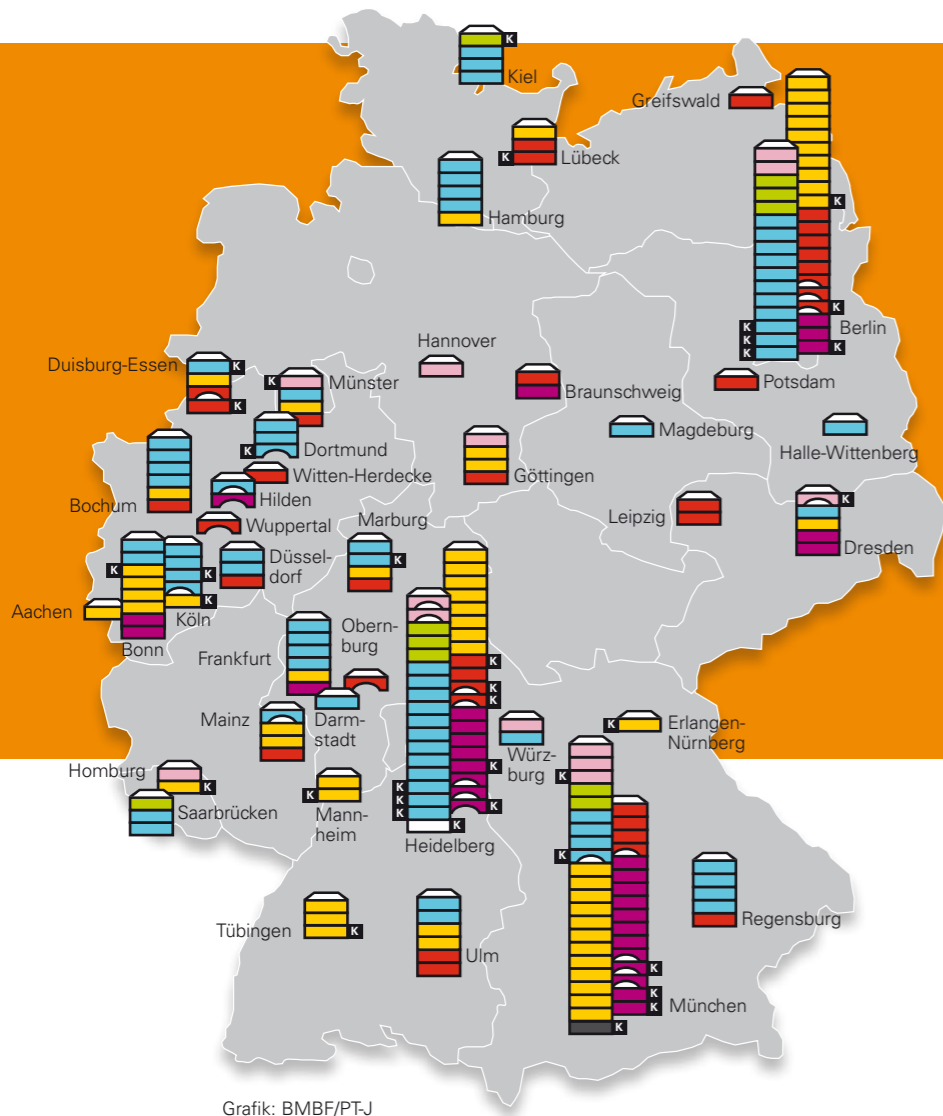


Die fachliche und organisatorische Projektumsetzung des Programms erfolgt im Auftrag des **Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF)** über den **Projektträger** im Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt (**PT-DLR**).

Die Steuerung von NGFN-Plus und NGFN-Transfer wird auf einer internen und einer externen Ebene umgesetzt, wodurch eine effiziente Koordination gewährleistet ist. Als externes Beratungsgremium dient dem BMBF und dem PT-DLR der **Beirat für Wissenschaft und Technologietransfer**. Hier beobachten und beurteilen internationale Wissenschaftsexperten aus Akademie und Industrie die Entwicklung des Programms.

Die interne Selbststeuerung wird durch das **Projektkomitee** ausgeführt, dessen Funktion mit der eines Vorstands vergleichbar ist. Insgesamt zwölf Verbundkoordinatoren aus NGFN-Plus und NGFN-Transfer stimmen hier die Forschungsaktivitäten ab und überprüfen intern den Verlauf der zahlreichen Projekte. Das Gremium wird bei der Erfüllung seiner Aufgaben von der **Geschäftsstelle** unterstützt, die als Informationsschnittstelle auch die Darstellung des NGFN nach außen im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit koordiniert.

Da die Forschung im NGFN direkt auf eine Umsetzung zur Verbesserung von Diagnostik und Therapie abzielt, steht den Wissenschaftlern mit dem **KompetenzCenter Technologietransfer (KTT)** ein zentraler Ansprechpartner für Schutzrechtfragen zur Verfügung und ist damit ein wichtiges Bindeglied zwischen Forschung und Wirtschaft.



Grafik: BMBF/PT-J

Forschungsschwerpunkte

- | | |
|---|-------------------------------------|
| Infektion / Entzündung | NGFN-Plus Standort |
| Umweltbedingte Erkrankungen | NGFN-Plus Koordinationsstelle |
| Krebserkrankungen | NGFN-Transfer Standort |
| Neurologische Erkrankungen | NGFN-Transfer Koordinationsstelle |
| Herz-Kreislauf- / Stoffwechsel-Erkrankungen | NGFN Geschäftsstelle |
| Krankheitsübergreifend | KompetenzCenter Technologietransfer |

Standorte von NGFN-Plus und NGFN-Transfer

Die Wissenschaftler von NGFN-Plus und NGFN-Transfer forschen an Einrichtungen, die über **ganz Deutschland verteilt** sind. Mehr als 35 deutsche **Universitäten** und **Universitätskliniken**, vier **Helmholtz-Zentren**, acht **Max-Planck-Institute**, vier Institute der **Leibniz-Gemeinschaft** und mehrere **weitere Forschungseinrichtungen** sind beteiligt.

Im Rahmen des NGFN arbeiten zudem die Wissenschaftler aus Universitäten und anderen Forschungseinrichtungen eng mit zehn **Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft** zusammen.

Die **starke Vernetzung der Standorte** durch gemeinsame Projekte der kooperierenden Wissenschaftler erlaubt die Vorteile der verschiedenen Einrichtungen optimal zu nutzen. Durch die **enge Zusammenarbeit der Experten**, die aus unterschiedlichen Fachrichtungen kommen, entstehen wissenschaftliche Ergebnisse und Erkenntnisse, die höchste Anforderungen erfüllen.



Qualitätsmanagement im NGFN

Die Qualität experimenteller Verfahren, der Datenanalyse und der Interpretation der Ergebnisse ist von **fundamentaler Bedeutung** für stichhaltige Forschungsergebnisse.

Die Verwendung **neuster Technologien** und **standardisierter Protokolle** gewährleistet über ein **zentrales Qualitätsmanagement** eine hohe und gleichbleibende Qualität der Daten und deren Bewertung. Diese hohen Maßstäbe gestatten es, die im NGFN erarbeiteten Erkenntnisse im internationalen Umfeld auszutauschen und zu verwerten. Die hohe Bedeutung, die dem Qualitätsmanagement im NGFN zugemessen wird, ist nicht zuletzt daran erkennbar, dass es innerhalb des Netzwerks zahlreiche Projekte gibt, die sich gezielt mit **Qualitätsverbesserung und -gewährleistung** beschäftigen, sowie mehrere **Qualitätsbeauftragte**. Standardprotokolle stellen die NGFN-Wissenschaftler über das NGFN-Intranet zur Verfügung, um die Vergleichbarkeit der Analysen sicherzustellen.

Durch das Qualitätsmanagement wird unter anderem gewährleistet, dass der **Umgang mit Patientendaten** beispielsweise durch eine dezentrale Datenlagerung und Pseudonymisierung der Namen absolut vertraulich und sicher gehandhabt wird. Das Qualitätsmanagement hat einen großen Teil zu den bisherigen Erfolgen des NGFN beigetragen und wird auch zukünftig gewährleisten, dass die wissenschaftlichen Ergebnisse aus NGFN-Plus und NGFN-Transfer **höchsten internationalen Ansprüchen entsprechen**.

Ethische, rechtliche und soziale Aspekte im NGFN

Der enorme Fortschritt in den modernen Lebenswissenschaften eröffnet Möglichkeiten für Innovationen, die unser gesellschaftliches Leben nachhaltig verändern können. Dies trifft besonders auf die biomedizinische Forschung zu, zu der auch die krankheitsbezogene Humangenomforschung des NGFN gehört. Die moderne biomedizinische Forschung wird deshalb durch eine eigenständige Forschung begleitet, die ethische, rechtliche und soziale Auswirkungen abwägt und Handlungsoptionen entwickelt, die einen **verantwortungsvollen Umgang mit Innovationen** ermöglichen sollen. In Deutschland und weltweit existieren zahlreiche spezielle Forschungsprogramme, die diese Forschung ermöglichen.

Was konkrete biomedizinische Forschungsprojekte angeht, wird bereits vor ihrem Beginn durch etablierte, verbindliche Mechanismen sichergestellt, dass diese nach ethischen Grundprinzipien durchgeführt werden. Eine prominente Rolle spielen hierbei die **Ethik-Kommissionen**, die jede Projektidee bewerten. Nur Projekte, die ein positives Votum von einer solchen Kommission erhalten, bekommen grünes Licht für den Start. Somit ist auch für Projekte des NGFN sicher gestellt, dass die geltenden ethischen und rechtlichen Vorgaben erfüllt werden.



Prof. em. Dr. med. Jens Reich, Genforscher und Mitglied des Deutschen Ethikrats, berichtete im großen Abendvortrag auf der NGFN-Jahrestagung 2009 über neuste Aspekte zu ethischen Fragen der medizinischen Forschung.

Weitere aktuelle Informationen über NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung stehen Ihnen im Internet zur Verfügung unter www.ngfn.de

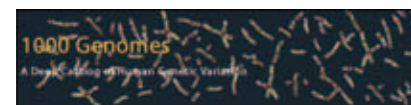
INTERNATIONALE PROJEKTE IM PROGRAMM DER MEDIZINISCHEN GENOMFORSCHUNG

Genomik und Pathophysiologie von Herz-Kreislauf- und metabolischen Erkrankungen



Gemeinsam mit der französischen *Agence Nationale de la Recherche* (ANR) fördert das BMBWF die Zusammenarbeit deutscher und französischer Forscher und Unternehmen, um gemeinsam **Fortschritte bei Diagnose und Therapie der wichtigsten Herz-Kreislauf-Erkrankungen** sowie der Stoffwechsel-Erkrankungen **Diabetes** und **Adipositas** zu erreichen. Vorteile der Zusammenarbeit beider Länder sind unter anderem die deutlich erhöhte Gruppengröße der Patienten- und Kontrollkollektive sowie die sich ergänzenden Expertisen einschlägig qualifizierter Arbeitsgruppen, die hier zusammengeführt werden. Durch das gemeinsame Projekt sollen vorhandene Ergebnisse aus genomweiten Assoziationsstudien (GWAS, siehe Erklärung Seite 16) vertieft und die Funktion bereits identifizierter Gene aufgeklärt werden, um eine schnelle Umsetzung in die klinische und kommerzielle Anwendung zu ermöglichen. Mehrere Verbundkoordinatoren und Teilprojektleiter aus dem NGFN sind von deutscher Seite z. B. mit Projekten über koronare Herzerkrankungen, den plötzlichen Herztod, die erbliche dilatative Kardiomyopathie und die früh eintretende Fettleibigkeit an dieser wichtigen binationalen Forschungsinitiative beteiligt.

1000 Genome Projekt



Bei dem 2008 begonnenen **1000 Genome Projekt** handelt es sich um eine internationale Zusammenarbeit, die das Ziel verfolgt, einen **detaillierten Katalog genetischer Variationen des Menschen** zu erstellen und damit der Wissenschaft eine hochwertige Grundlage für krankheitsorientierte Genomprojekte verfügbar zu machen. Zu diesem Zweck werden die Genome von Personen mit unterschiedlicher ethnischer Abstammung anonym sequenziert. Im Vordergrund steht die **Entdeckung genetischer Varianten**, die mit einer Häufigkeit von mindestens einem Prozent in den untersuchten Populationen vorkommen. Solche Kataloge helfen Forschern, den Einfluss bestimmter genetischer Veränderungen auf verschiedene Erkrankungen besser einschätzen zu können. Damit können auch Aussagen über das individuelle Risiko einzelner Patienten für bestimmte Erkrankungen getroffen bzw. ihre Reaktion auf bestimmte Medikamente besser vorhergesagt werden. An der Finanzierung sind unter anderem das *Wellcome Trust Sanger Institute* (England), das *Beijing Genomics Institute Shenzhen* (China), das *National Human Genome Research Institute* (USA) sowie das BMBWF beteiligt. Für den deutschen Beitrag zum 1000 Genome Projekt stehen dem Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik in Berlin insgesamt 6,9 Millionen Euro zur Verfügung. Hier ist NGFN-Verbundkoordinator Prof. Dr. Hans Lehrach als einer von nur zwei europäischen Partnern in das Projekt involviert.

International Cancer Genome Consortium (ICGC)



Ebenfalls 2008 startete das **Internationale Krebsgenom-Konsortium (ICGC)** mit einem sehr ehrgeizigen biomedizinischen Forschungsvorhaben: im Rahmen des ICGC sollen mindestens fünfzig Tumorarten möglichst umfassend molekular analysiert werden. Im Fokus stehen klinisch sowie gesellschaftlich relevante Krebsarten, die weltweit bedeutend sind. Mehr als **25.000 Krebsgenome sollen systematisch untersucht werden**, um die wichtigsten krebserzeugenden Mutationen zu benennen. Für Krankheitsvorhersage und Behandlung wird so der Weg geebnet, indem beispielsweise Tumormarker identifiziert werden, die als Angriffspunkte für therapeutische Antikörper dienen könnten. Das ICGC untersucht die Tumormoleküle auf **Genom- und Transkriptomebene** sowie im Hinblick auf **epigenetische Veränderungen**. Für die deutsche Beteiligung am ICGC stellen BMBWF und Deutsche Krebshilfe gemeinsam rund 30 Millionen Euro zur Verfügung. NGFN-Verbundkoordinator Prof. Dr. Peter Lichter ist seit Ende 2009 auch Koordinator des ICGC-Projekts **PedBrain**, in dem die molekulargenetischen Ursachen der beiden häufigsten **Hirntumoren bei Kindern** untersucht werden. Im Juni 2010 wurde die Teilnahme Deutschlands am ICGC noch erweitert durch das Projekt **Prostatakrebs**, als dessen Sprecher NGFN-Verbundkoordinator PD Dr. Holger Süttmann fungiert, sowie durch den Beitrag zum Thema **Maligne Lymphome** mit Prof. Dr. Reiner Siebert als Koordinator, der zudem als Projektleiter innerhalb des Verbunds Dickdarmkrebs in NGFN-Plus aktiv ist.

ZAHLEN, DATEN UND FAKTEN AUS NGFN-PLUS UND NGFN-TRANSFER

Die Publikationsleistung belegt die wissenschaftlichen Erfolge des NGFN

Die **Veröffentlichung von Forschungsergebnissen** ist ein wichtiger Bestandteil der wissenschaftlichen Arbeit. Hierdurch wird das erworbene Wissen mit anderen Forschern geteilt und kann daher auch von diesen für das Auffinden neuer Wege der Krankheitsbekämpfung genutzt werden. Damit spiegelt die Anzahl der Veröffentlichungen den wissenschaftlichen Erfolg der Forschungsarbeit wider.

Bereits im ersten Halbjahr der Förderung von NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung ab Juli 2008 wurden 135 Artikel veröffentlicht. Im Jahr 2009 konnte diese Anzahl mit 395 Beiträgen fast verdreifacht werden. Für das Jahr 2010 ist sogar mit einer noch größeren Anzahl an Veröffentlichungen zu rechnen, da allein im ersten Halbjahr dieses Jahres 296 Arbeiten publiziert wurden.



Das NGFN ist weltweit ganz vorne mit dabei

Von den insgesamt über 800 Publikationen, die im Rahmen von NGFN-Plus und NGFN-Transfer veröffentlicht wurden, sind **55 Artikel in 4 der 10 hochrangigsten wissenschaftlichen Zeitschriften** erschienen. Der Rang einer Fachzeitschrift wird nach einem international verwendeten Kriterium, dem *Impact Factor*, bemessen. Dieser Faktor gibt an, wie häufig die in einem Fachjournal veröffentlichten Artikel in anderen Fachjournalen zitiert werden. Er gilt damit als Maß für das Ansehen, das das jeweilige Magazin in der Wissenschaftswelt genießt.

Rang	Wissenschaftliche Zeitschrift	Anzahl Publikationen		
		2008	2009	2010
3	<i>New England Journal of Medicine</i>	-	1	1
6	<i>Physiological Reviews</i>	-	1	-
8	<i>Nature</i>	2	4	3
9	<i>Nature Genetics</i>	12	17	14
Summe der einzelnen Jahre		14	23	18
Anteil an der Gesamtpublikation		10,4 %	5,8 %	6,1 %
Gesamtsumme		55		

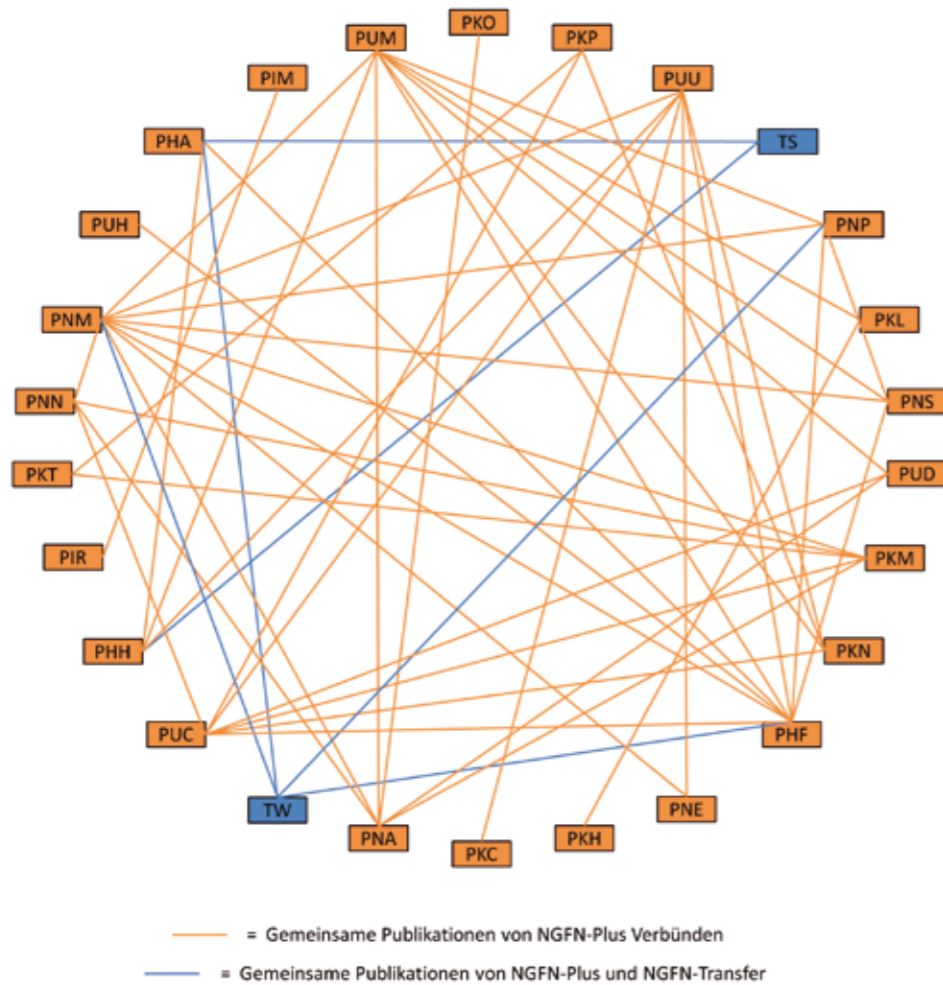
Von der Forschung schnellstmöglich zur Anwendung

Neben den Fachartikeln sind Patente ein wichtiger Indikator für die Relevanz der Forschung in einer späteren Nutzenanwendung. Um eine wirtschaftliche Verwertung der Forschungsergebnisse aus dem NGFN für die Zukunft sicherzustellen, wurden in den letzten zwei Jahren **bereits 19 neue Patente** beantragt.

Gemeinsame Erfolge durch Vernetzung

Ein großes wissenschaftliches Netzwerk wie das NGFN zeichnet sich unter anderem dadurch aus, dass sich die verschiedenen Forschergruppen, die in den Verbänden und Allianzen unterschiedliche Fragestellungen bearbeiten, untereinander austauschen und **wissenschaftliche Kooperationen** eingehen. Eine solche Vernetzung spielt in der modernen Wissenschaft eine immer wichtigere Rolle, da die komplexen Fragestellungen in der Gesundheitsforschung nicht durch ein einziges Labor gelöst werden können.

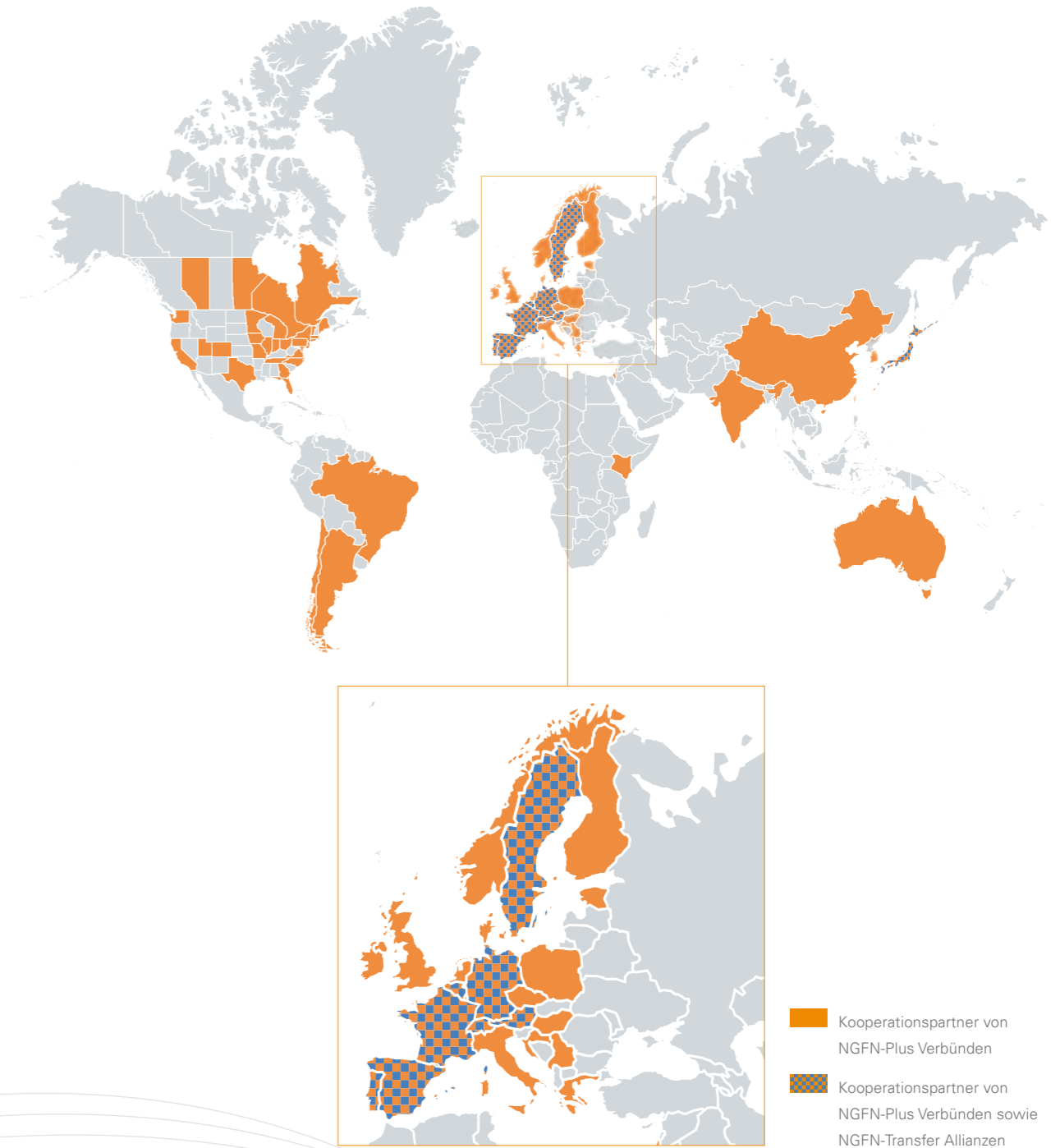
Ein messbares Kriterium für diese NGFN-interne Vernetzung ist die Anzahl an gemeinsamen wissenschaftlichen Veröffentlichungen. In untenstehender Grafik ist dementsprechend das **Netz dargestellt, das sich aus gemeinsamen Publikationen verschiedener Verbände und Allianzen ergibt**. Dabei kooperieren Forscher nicht nur in dem Bereich NGFN-Plus intensiv miteinander, sondern auch mit Wissenschaftlern des Programmteils NGFN-Transfer, was in der Grafik gesondert farblich kenntlich gemacht ist.



Legende der Verbände und Allianzen

PHA: Atherogenomics	PKN: Neuroblastom	PNS: Genetik der Alkoholsucht
PHF: Adipositas	PKO: Krebsgene	PUC: Zelluläre Systemgenomik
PHH: Herzversagen	PKP: Prostatakrebs	PUD: DiGtoP
PIM: Herpesinfektionen	PKT: Darmkrebs	PUH: MHC-Haplotypen-Sequenzierung
PIR: RNomics in Infektionen	PNA: Alzheimer	PUM: Deutsche Mausklunik
PKC: Dickdarmkrebs	PNE: Epilepsie und Migräne	PUU: Umweltbedingte Erkrankungen
PKH: Hirntumor	PNM: Depression und Schizophrenie	TS: Subgenomfraktionierung
PKL: Leukämie	PNN: Neurodegeneration	TW: Amplifizierungsmethoden
PKM: Mutanom	PNP: Parkinson	

Das nationale Netz ist auch international aktiv



Die wissenschaftliche Arbeit im Rahmen von NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung erfreut sich sowohl national als auch international großer Anerkennung. Dies wird durch die **Zusammenarbeit mit Forschergruppen in der ganzen Welt** deutlich, die zu einer intensiven externen Vernetzung des NGFN geführt haben.

Forscher des NGFN sind allein in Deutschland an 489 Kooperationen mit 264 unterschiedlichen externen Partnern beteiligt. Über Deutschland hinaus sind es sogar 717 Verbindungen zu 372 verschiedenen Forschergruppen in 34 Ländern. Bei 43 dieser internationalen Kooperationen handelt es sich um Beteiligungen an 15 unterschiedlichen EU-Projekten.

WUSSTEN SIE SCHON ...?

... was sich hinter dem Begriff „Next-Generation Sequencing“ verbirgt?

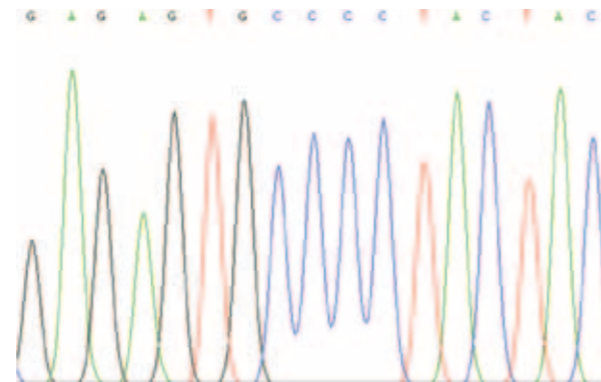
Etwa 30 Jahre lang beherrschte für das Entziffern des DNA-Codes die sogenannte **Sanger-Sequenzierung** (benannt nach dem Nobelpreisträger Fred Sanger) den Markt. Inzwischen haben neuste Technologien jedoch zu einer Revolution geführt.

Die aktuellen **Next-Generation Sequencing**-Geräte können mit geringem personellen Aufwand innerhalb von 24 Stunden so viele Daten erzeugen wie zuvor hunderte von „Sanger-Typ Kapillar“-Sequenzierern. Dabei verbergen sich hinter dem Begriff **Next-Generation Sequencing** verschiedene Methoden.

Die **Pyrosequenzierung** macht sich beispielsweise ein Enzym (Luziferase) zunutze, das auslesbare Lichtimpulse erzeugt, und wird oft zur sogenannten *de novo*-Sequenzierung bisher völlig unbekannter DNA verwendet. Eine andere Methode nutzt die **Brücken-Amplifikation**, bei der sehr viele kurze Stücke der Erbsubstanz auf einer Platte

aufgebracht und gleichzeitig Base für Base entschlüsselt werden. Diese Methode vermag hohe Datenmengen zu erzeugen und ist besonders hilfreich, wenn bereits eine Referenzsequenz zur Einordnung der Sequenzabschnitte vorhanden ist. **Ligationsbasierte Methoden** sind wiederum ideal geeignet, um gezielt nach bereits bekannten Sequenzen (z. B. Genvarianten, die ein Krankheitsrisiko bedeuten können) zu suchen.

Durch diese Innovationen wird hochparalleles und schnellstes Arbeiten zu immer günstigeren Preisen möglich, während die Prozesse stetig verbessert und weitere Technologien entwickelt werden.



... was „GWAS“ sind?

Die Abkürzung GWAS steht für den Begriff **genomweite Assoziationsstudien**. Diese sollen helfen, die genetischen Hintergründe von Krankheiten zu ermitteln. Meist tragen zu solchen Studien zwei Gruppen von Teilnehmern bei. Die **Patientengruppe** beinhaltet Menschen, die unter einer bestimmten Erkrankung leiden, wohingegen für die **Kontrollgruppe** „gesunde“ Personen ausgewählt werden, die eben nicht die untersuchte Krankheit haben. Nun werden die genetischen Eigenschaften (nicht die gesamte Erbinformation, aber die relevanten Genbereiche) aller Teilnehmer ermittelt und miteinander verglichen. **Genvarianten**, die besonders häufig bei den Patienten auftreten, haben mit großer Wahrscheinlichkeit etwas mit den **Mechanismen der Krankheitsentstehung** zu tun, sind also krankheitsassoziiert. Für die Analyse der immensen Datenmengen sind ausgefeilte informatische Auswertungsprogramme und große Computerkapazitäten erforderlich. Forscher aus dem NGFN konnten mit Hilfe von GWAS bereits für eine Vielzahl von Krankheiten zeigen, dass deren Entstehung durch bestimmte Genvarianten begünstigt wird. Solche **Kandidatengene** werden dann funktionell charakterisiert, um ihr Potential als therapeutische oder diagnostische Angriffspunkte auszuloten, was idealerweise zu einem neuen Medikament oder Testverfahren führt.

Weitere Begriffserklärungen finden Sie auf Seite 82 unter „Kennen Sie schon ...?“

NGFN-PLUS: VOM GEN ZUR FUNKTION

Das Programm der Medizinischen Genomforschung umfasst die beiden Förderschwerpunkte NGFN-Plus und NGFN-Transfer. In NGFN-Plus sind 26 sogenannte **„Integrierte Verbünde der Medizinischen Genomforschung“** zusammengefasst, um das grundlegende Verständnis molekularbiologischer und krankheitsrelevanter Prozesse unter klinischer Ausrichtung zu erweitern und so neue Ansatzpunkte für Diagnose und Therapie von Volkskrankheiten zu schaffen.

Krankheitsursachen entschlüsseln, Patienten heilen

In den interdisziplinären Verbänden arbeiten renommierte Molekularwissenschaftler, Kliniker, Informatiker und Experten weiterer Fachrichtungen gemeinsam an der Erforschung der Ursachen häufiger und volkswirtschaftlich wichtiger Erkrankungen. Beispielsweise wird hinterfragt, warum derselbe Wirkstoff den einen Patienten heilt, einen anderen aber nicht. Durch die Aufklärung der ursächlichen Hintergründe sollen zukünftig präzisere Vorhersagen möglich und Therapien passgenau auf den Patienten zugeschnitten werden.

Neuste Methoden führen zum Ziel

Neben der Suche nach krankheitsassoziierten Genvarianten auf Ebene des Genoms unter Einsatz neuester Sequenzieretechnologien, werden Transkriptom- und Proteomanalysen durchgeführt sowie epigenetische und umweltbedingte Einflüsse berücksichtigt. Das BMBF stellt für den Zeitraum von 2008 bis 2011 etwa 141 Millionen Euro für die Forschung in NGFN-Plus zur Verfügung.

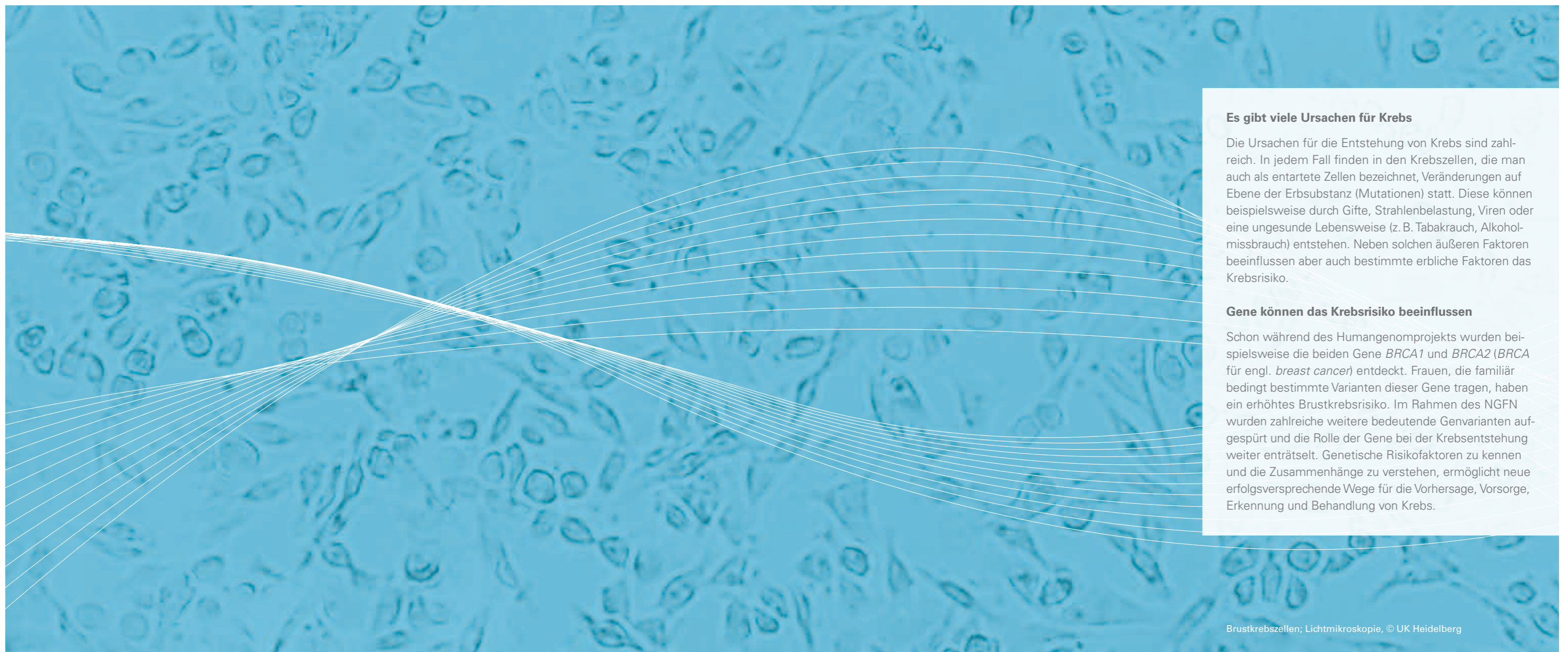
Die Verbünde in NGFN-Plus arbeiten an folgenden Forschungsschwerpunkten:

- Krebserkrankungen
- Neurologische Erkrankungen
- Herz-Kreislauf- / Stoffwechsel-Erkrankungen
- Infektion / Entzündung
- Umweltbedingte Erkrankungen
- Krankheitsübergreifende Strategien

KREBSERKRANKUNGEN

Krebs ist unkontrolliertes Zellwachstum

Der Sammelbegriff Krebs umfasst verschiedenste Erkrankungen, denen eine unkontrollierte Vermehrung von Zellen zugrunde liegt. Alle Organe können prinzipiell betroffen sein, was eine Ursache dafür ist, dass unterschiedliche Krebserkrankungen oftmals völlig unterschiedliche Erscheinungsformen und Symptome aufweisen. Manche bösartige Tumoren – insbesondere bei fortgeschrittener Erkrankung – können zudem streuen, also zu Tochtergeschwülsten (Metastasen) in anderen Organen führen.



Es gibt viele Ursachen für Krebs

Die Ursachen für die Entstehung von Krebs sind zahlreich. In jedem Fall finden in den Krebszellen, die man auch als entartete Zellen bezeichnet, Veränderungen auf Ebene der Erbsubstanz (Mutationen) statt. Diese können beispielsweise durch Gifte, Strahlenbelastung, Viren oder eine ungesunde Lebensweise (z. B. Tabakrauch, Alkoholmissbrauch) entstehen. Neben solchen äußeren Faktoren beeinflussen aber auch bestimmte erbliche Faktoren das Krebsrisiko.

Gene können das Krebsrisiko beeinflussen

Schon während des Humangenomprojekts wurden beispielsweise die beiden Gene *BRCA1* und *BRCA2* (*BRCA* für engl. *breast cancer*) entdeckt. Frauen, die familiär bedingt bestimmte Varianten dieser Gene tragen, haben ein erhöhtes Brustkrebsrisiko. Im Rahmen des NGFN wurden zahlreiche weitere bedeutende Genvarianten aufgespürt und die Rolle der Gene bei der Krebsentstehung weiter enträtselt. Genetische Risikofaktoren zu kennen und die Zusammenhänge zu verstehen, ermöglicht neue erfolgsversprechende Wege für die Vorhersage, Vorsorge, Erkennung und Behandlung von Krebs.

Brustkrebszellen; Lichtmikroskopie, © UK Heidelberg



Prof. Dr. med. Christian Hagemeier, PhD
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Koordinator des NGFN-Verbunds
Akute Leukämien

Leukämierückfälle durch optimierte Therapien im Voraus verhindern

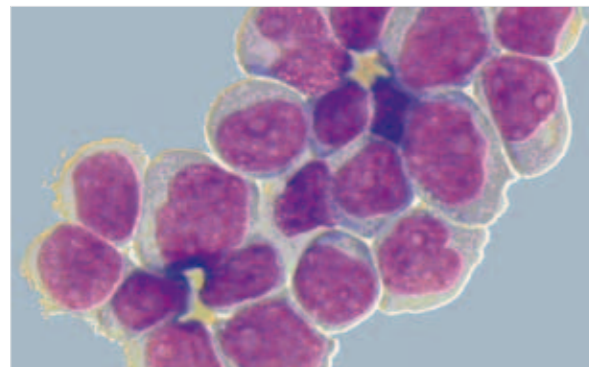
Leukämie wird umgangssprachlich auch Blutkrebs genannt, weil sich bei dieser Erkrankung die weißen Blutkörperchen unkontrolliert vermehren. Akute Leukämien sind durch einen sehr raschen Krankheitsverlauf gekennzeichnet. Daher ist es wichtig, die Krebszellen schnell und restlos zu vernichten, damit es nicht zu schwer behandelbaren Rückfällen kommt. Neue Biomarker sollen den Therapieerfolg kontrollieren, um Krebszellen, die der Behandlung widerstehen, zukünftig gezielter attackieren zu können.

Genomforschung im Dienste der Klinik

Nach der Entschlüsselung des menschlichen Erbgutes steht die biomedizinische Wissenschaft vor der Herausforderung, die auf diesem Wege gewonnene Information zum Wohle des Patienten zu nutzen.

Was sind die krankheitsspezifischen Unterschiede zwischen gesund und krank auf molekularer Ebene und welche der gefundenen Unterschiede sind von wirklicher Relevanz für diagnostische, prognostische oder therapeutische Entscheidungen im Klinikalltag?

Wie können wir zu einem verbesserten Verständnis der Entstehung von Erkrankungen und der Entwicklung von Therapieresistenz gelangen und wie können wir dies nutzen, um neue, rationale Behandlungsstrategien zu entwickeln?



Ein Nest leukämischer Blasten im Knochenmarkausstrich eines Patienten. (© Prof. W.-D. Ludwig, Berlin)

Akute Leukämien – Modellsysteme der Tumorforschung

Diese Fragen in Bezug auf akute Leukämien anzugehen, steht im Zentrum unseres Verbundes. Akute Leukämien können dabei als besonders geeignetes Modell für Krebserkrankungen verstanden werden, von dem sich Erkenntnisse prinzipieller Art für die Tumorforschung im Allgemeinen ableiten lassen. Fünf Punkte sind hier hervorzuheben:

1. Verfügbarkeit isolierten Tumormaterials:

Akute myeloische und lymphoblastische Leukämien (AML bzw. ALL) bieten als Tumorerkrankung der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) eine ausgezeichnete Möglichkeit, erkrankte Zellen zur Analyse in großer Reinheit zu gewinnen.

2. Umfassende klinische Studien und Datenbanken:

Akute Leukämien werden wie kaum eine zweite Tumorerkrankung in Deutschland von umfassenden klinischen Studien begleitet, die weltweit als Goldstandard gelten. Sie sind Triebfeder des innovativen klinischen Managements und koppeln alle wichtigen Krankheitsinformationen mit qualitativ hochwertigem Probenmaterial. So sind in diesem Netzwerk über 80 % aller Patienten mit akuten Leukämien in Deutschland erfasst und mit klinischen Daten und Tumormaterial abgebildet.

3. Ein molekulares Grundverständnis der Erkrankung:

Viele AML und ALL Subformen werden durch spezifische Chromosomenbrüche charakterisiert, an deren Schnittstelle es zur Umlagerung und Neuverbindung von Genen (tumorspezifische Fusionsgene) kommt. Diese Fusionsgene haben in der Vergangenheit nicht nur das Verständnis von tumorverursachenden Genen (Onkogenen) mitgeprägt, sondern zentrieren auch für die Zukunft den Blick auf solche molekularen Schaltsysteme der Zelle, in die diese Onkogene destabilisierend eingreifen und die offensichtlich an der Transformation einer gesunden Zelle hin zur Krebszelle maßgeblich beteiligt sind.

4. Die Erkenntnis der Existenz von Tumorstammzellen:

Es konnte anhand von AML gezeigt werden, dass sich die Tumormasse stetig aus der Existenz zahlenmäßig seltener Tumorstammzellen regeneriert. Dies ist nicht nur für die Pathogenese von besonderer Bedeutung, sondern impliziert auch, dass neben der Tumormasse vor allem die Tumorstammzellen therapiert werden müssen und molekulare Marker benötigt werden, die Tumorstammzellen zu identifizieren und zu quantifizieren helfen.

5. Vielschichtigkeit scheinbar gleicher Tumorarten:

Mit der steigenden Zahl erkannter molekularer Defekte erhöht sich auch die Zahl sinnvollerweise zu unterscheidender Subformen akuter Leukämien. Eine stetig detaillierter werdende molekulare Diagnostik führt absehbar dazu, Therapien fortschreitend individueller an die Patienten anzupassen.



Steffi Prieskorn, Dr. Matthias Truss und Uschi Luz bei der Besprechung und Auswertung wissenschaftlicher Ergebnisse.

Schwerpunkte und Entwicklungen des Verbundes

Vor diesem Hintergrund kooperieren im Verbund Akute Leukämien 14 Projekte in drei inhaltlich definierten Bereichen, die um die zentralen klinischen Studien sowie die Schwerpunkte der Daten- und Materialbanken, der verfügbaren Mausmodelle sowie der Bioinformatik angesiedelt sind. Sie werden von einem Lenkungsgremium als Managementeinheit abgestimmt.

Die Strategie und Erfolge des Verbundes

Im Konsortium werden etablierte und neue Hochdurchsatztechnologien (*Next-Generation Sequencing*, *ChIP on Chip*, *microRNA* und *mRNA* Expressionsanalysen, *mCGH*) eingesetzt und adaptiert, um individuelle Leukämien und insbesondere solche ohne anderweitig auffälligen Genotyp molekular zu charakterisieren und Prinzipien der Krankheitsentstehung aufzudecken. Die Zusammenarbeit zwischen Projektpartnern garantiert dabei die erforderliche Qualität und Quantität an Probenmaterial und klinischen Daten sowie die Einhaltung methodischer Qualitätsstandards (SOPs).

Unsere Erkenntnisse wurden in renommierten Fachzeitschriften veröffentlicht. Sie beschreiben Gensignaturen und Veränderungen in molekularen Signalwegen mit diagnostischem und prognostischem Wert bei der AML und ALL im Kindes- sowie Erwachsenenalter. Beispielsweise konnte das Oberflächenmolekül CD11b als potentieller neuer Prognosemarker bei der ALL identifiziert werden.¹ Gemeinsam mit anderen molekularen Parametern könnte ein CD11b-Nachweis zukünftig helfen, das Rückfallrisiko für den Patienten besser vorherzusagen und die Therapie rechtzeitig anzupassen.

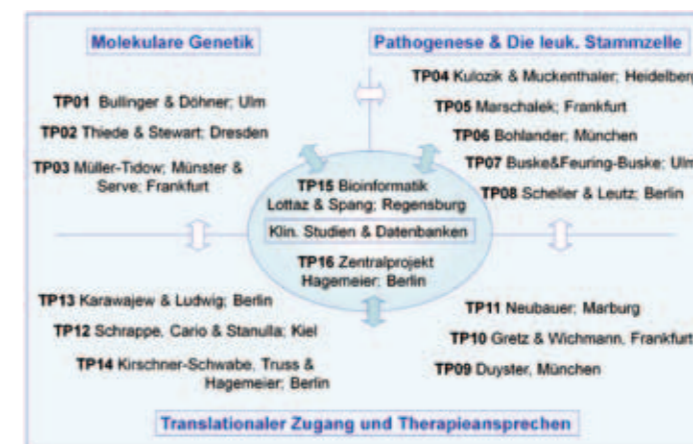
Neben dem Genom ist zunehmend auch das Epigenom in den Fokus der Leukämieforschung gerückt. Unter dem Epigenom versteht man den als Chromatin bezeichneten Komplex aus DNA (Genom) und umgebenden Proteinen samt seiner vererbaren Modulationen. Leukämien werden ganz wesentlich durch Veränderungen des Epigenoms charakterisiert und leukämische Onkogene bewirken selbst funktionsrelevante Veränderungen am Epigenom. So konnte z. B. eine bestimmte Histonmethylierung als Vorhersagefaktor für die Überlebenswahrscheinlichkeit von AML Patienten identifiziert werden.²

Weitere Erfolge haben sich in der Erforschung der Therapieresistenz ergeben. So konnten einerseits neue molekulare Marker und Mechanismen der Therapieresistenz identifiziert, andererseits aber auch Strukturgrundlagen leukämierrelevanter Onkoproteine aufgeklärt und daraus resultierende rationale Therapieansätze verfolgt werden. Auf diesem Weg führen Fragen aus der Klinik über Erkenntnisse aus den Forschungszentren zurück in die klinische Erprobung und Anwendung, die vor allem in späteren Projektphasen von industriellen Kooperationen profitiert.

REFERENZEN

- Rhein P, et al. (2010) *Blood* 115, 3763-3771; doi: 10.1182/blood-2009-10-247585
- Müller-Tidow C, et al. (2010) *Blood* 116, 3564-3571; doi: 10.1182/blood-2009-09-240978

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0870-01GS0882, 01GS08188



Kooperationsmodell. Die Teilprojekte (TP) des Konsortiums konzentrieren sich auf drei Schwerpunkte von besonderer Relevanz: die molekulare Genetik akuter Leukämien, ihre Pathogenese und Biologie leukämischer Stammzellen sowie translationale Aspekte und therapeutisches Ansprechen.



Prof. Dr. Peter Lichter
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Koordinator des NGFN-Verbunds BTN (*Brain Tumor Network*)

Gliome: Noch sind diese Hirntumoren nur schwer zu bezwingen

Das menschliche Gehirn ist ein komplexes Organ, das aus vielen verschiedenen Zellarten aufgebaut ist. Wie in anderen Organen kommt es auch hier zu Krebserkrankungen, sogenannten primären Hirntumoren. Zu Ihnen gehört die Gruppe der Gliome, die ihren Ursprung in Zellen der Neuroglia haben. Diese Neuroglia besteht aus Zellen, die als Stützgerüst der Nervenzellen (Neuronen) dienen und diese elektrisch voneinander isolieren. Außerdem regeln sie den Stofftransport innerhalb des Gehirns.

Hirntumoren als Herausforderung

Mit jährlich rund 8.000 Neuerkrankungen in Deutschland sind primäre Hirntumoren, die also nicht sekundäre Tochtergeschwülste eines anderen Krebsherdes sind, eher selten. Sie machen nur etwa zwei Prozent aller Krebserkrankungen aus. Trotzdem sind sie eine große Herausforderung für die onkologische Forschung: Viele Gliome, welche etwa die Hälfte der primären Hirntumoren darstellen, sind in ihrem Wachstum nur sehr schlecht vom umgebenden gesunden Hirngewebe abzugrenzen. Einzelne Tumorzellen wandern in benachbartes Gewebe ein, so dass selbst in Fällen, in denen eine chirurgische Entfernung der Geschwulst möglich ist, der Tumor nicht vollständig beseitigt werden kann. Die wandernden Zellen bilden gleichsam den Keim für ein Wiederauftreten des Tumors, den Krankheitsrückfall, auch Rezidiv genannt. Dies gilt besonders für den häufigsten und zudem aggressivsten unter den primären Hirntumoren, das Glioblastom. Die Folgen dieser Erkrankung sind schwerwiegend und besonders im Falle des Glioblastoms und anderer höhergradiger Gliome gibt es nur sehr unzureichende Behandlungsmöglichkeiten.

Die Strategie des Verbundes *Brain Tumor Network*

Um die Krankheitsmechanismen zu identifizieren und die Diagnose, Verlaufsbeurteilung und Therapie primärer Hirntumoren weiter zu verbessern, analysieren die im Verbund *Brain Tumor Network* (BTN) vernetzten Arbeitsgruppen diese Tumoren systematisch auf vielen molekularen Ebenen.

So wird etwa bei verschiedenen Hirntumoren untersucht, ob bestimmte Bereiche der DNA vervielfältigt oder verlorengegangen sind, welche Abschnitte des Erbguts durch Methylierung stillgelegt sind (Epigenetik), welche Gene in RNA umgeschrieben und welche RNAs in Proteine übersetzt werden. Auch die Gene für regulatorische microRNAs sowie die Rolle der Hypoxie (Unterversorgung mit Sauerstoff) in der Tumorentwicklung

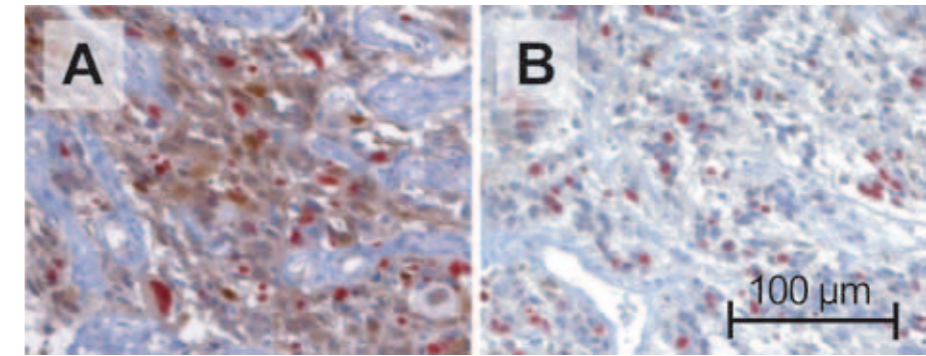
werden systematisch unter die Lupe genommen. Die Isolation und Charakterisierung von Tumorstammzellen aus Glioblastomen ist ein weiteres der hochaktuellen Forschungsthemen, das in einer Kooperation mehrerer Arbeitsgruppen des BTN erforscht wird.

Die *Glioma Core Collection* – eine Sammlung mit Potential

Eine zentrale Rolle innerhalb des Verbundes BTN nimmt die *Glioma Core Collection* ein. Es handelt sich hierbei um eine Sammlung, die rund 140 Tumorgewebeproben umfasst, die mit den modernsten genomischen Hochdurchsatz-Analyseverfahren systematisch und umfassend untersucht werden. Basierend auf diesen Analysen wurden Kandidatengene identifiziert, die gegenwärtig in Zellkultur und in Mausmodellen funktionell charakterisiert werden. In einigen Fällen konnten die gewonnenen Erkenntnisse bereits in präklinischen Untersuchungen erfolgreich umgesetzt werden.



Sorgfältige Kontrolle eines Tumorgewebe-Schnittes durch die BTN-Technikerinnen Stephanie Rieger und Andrea Wittmann.



Die Expression des *Fatty Acid-Binding Protein 5* (FABP5; braun) unterscheidet Glioblastome von Patienten mit sehr ungünstiger (A) und sehr guter Prognose (B). Besonders viel FABP5 lässt sich in Gewebereichen mit hoher Zellteilungsrate (rot) nachweisen.

Entscheidende Mutationen der Tumorentstehung wurden entdeckt

In einer Untersuchung des Erbguts von Gliomen des Kindes konnten Forscher des BTN eine häufig auftretende Mutation im BRAF-Gen feststellen. BRAF, das während der Embryonalentwicklung eine wichtige Rolle spielt, weil es Wachstum und Vermehrung der Zellen mit vorantreibt, erfüllt in ausgereiften Zellen keine Funktion mehr und wird daher stillgelegt. Durch die identifizierte Mutation wird diese Blockade aufgehoben und ein Tumor kann entstehen. Die Wirksamkeit von BRAF-Inhibitoren, die für den Einsatz in anderen Tumorarten bereits entwickelt wurden, soll jetzt in einer breit angelegten klinischen Studie getestet werden.

Viele Gliome, welche etwa die Hälfte der primären Hirntumoren darstellen, sind in ihrem Wachstum nur sehr schlecht vom umgebenden gesunden Hirngewebe abzugrenzen.

Auf Basis der umfangreichen Analysen der Tumoren der *Glioma Core Collection* gelang es Wissenschaftlern des BTN, zwei große Gruppen von Gliomen mit charakteristischen Gen-Expressionsmustern zu unterscheiden. Dies deutet darauf hin, dass die Entwicklung der Tumoren in den beiden Patientengruppen, die sehr unterschiedliche Krankheitsverläufe und Prognosen aufweisen, größtenteils über getrennte Mechanismen verläuft. Interessanterweise zeigte sich auch eine enge Verknüpfung zwischen diesen prognostischen Gruppen und der kürzlich beschriebenen IDH1-Mutation, welche in fast allen Tumoren der Patientengruppe mit besserer Prognose, aber bei keinem Patienten innerhalb der Gruppe mit schlechter Prognose zu finden war. Dies belegt, dass die IDH1-Mutation in der Tumorentstehung eines großen Teils von Gliomen wahrscheinlich eine ursächliche Rolle spielt.

Retinolsäure-Transporter als prädiktive Marker zur besseren Therapieentscheidung

Einen möglichen Schlüssel zur Aufklärung der molekularen Unterschiede in Gliomen, die für das Überleben des Patienten relevant sein können, lieferte eine weitere Studie des BTN, in der Tumoren von Patienten mit besonders ungünstiger und besonders guter Prognose verglichen wurden. Dabei zeigte sich, dass zwischen den Patientengruppen erhebliche Unterschiede in der Aktivität des Retinolsäure-Signalweges bestehen. Dies wird ausgelöst durch die verschiedenen Mengenverhältnisse von zwei Proteinen, FABP5 (*Fatty Acid-Binding Protein 5*) und CRABP2 (*Cellular Retinoic Acid-Binding Protein 2*), die für den Transport des Signalmoleküls Retinolsäure in den Zellkern verantwortlich sind. In Patienten mit sehr schlechter Prognose führt ein Überschuss an FABP5 zur Aktivierung eines Genregulations-Programms, das ein schnelles und aggressives Wachstum der Tumorzellen ermöglicht, während bei guter Prognose ein relativer CRABP2-Überschuss zur Einleitung von Differenzierungsvorgängen führt. Aus diesem Grund würde eine therapeutische Anwendung von Retinolsäure, wie sie bei manchen kindlichen Leukämien praktiziert wird, bei vielen Glioblastompatienten aufgrund der hohen Expression von FABP5 das Tumorstadium möglicherweise nicht hemmen, sondern fördern.

Zusammenfassung

Die Ergebnisse, die die Mitglieder des Verbundes BTN erzielt haben, sind wichtige Schritte auf dem Weg von der Grundlagenforschung hin zur klinischen Anwendung. In mehreren der Studien wurden genetische Marker entdeckt, auf die nun die Entwicklung neuer diagnostischer oder therapeutischer Verfahren aufbauen kann. Unsere Ergebnisse zeigen auch, mit welcher Sorgfalt die Anwendung einzelner Verfahren für unterschiedliche Patientengruppen abgestimmt werden muss.



Prof. Dr. med. Angelika Eggert
 Universitäts-Kinderklinik Essen
 Koordinatorin des NGFN-Verbunds
 ENGINE (*Extended Neuroblastoma
 Genome Interaction Network*)

Mit springenden Genen dem Neuroblastom auf den Fersen

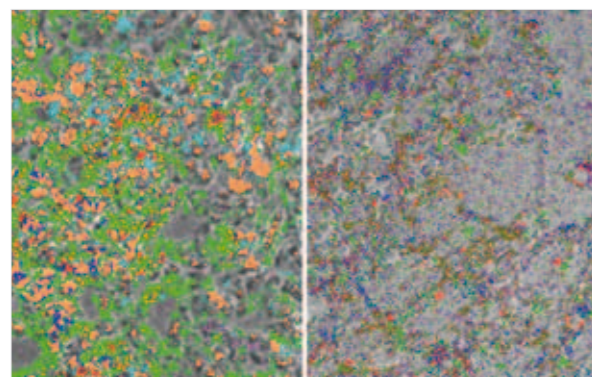
Die Tumorerkrankung Neuroblastom zeichnet sich durch extrem unterschiedliche Verlaufsformen aus. Die meist sehr jungen Patienten haben insbesondere bei fortgeschrittenen Stadien schlechte Heilungschancen. Gleichzeitig hat das Neuroblastom die höchste Spontanheilungsrate aller Tumorerkrankungen überhaupt. Über die Identifizierung einer präzisen Diagnostik und maßgeschneiderter Therapien soll die Behandlung optimiert werden. Die Entdeckung von Neuroblastom-Krebsstammzellen ist nur einer der bereits erreichten Erfolge.

Frau Prof. Dr. Eggert, Sie erforschen gemeinsam mit Ihren Verbundpartnern die Krebserkrankung Neuroblastom. Was genau ist ein Neuroblastom und wie viele Menschen betrifft diese Erkrankung in Deutschland?

Das Neuroblastom ist ein bösartiger Tumor des Kindesalters, der aus unreifen Zellen des sympathischen Nervensystems hervorgeht. In Deutschland gibt es jährlich etwa 150 Neuerkrankungen, das sind 8 % aller Krebserkrankungen bei Kindern, wobei fast 90 % der Patienten unter fünf Jahren alt sind.

Warum haben Sie sich gerade für das Neuroblastom als Untersuchungsobjekt entschieden?

So früh wie dieser Tumor auftritt, können bei seiner Entstehung Umweltfaktoren keine große Rolle spielen und die Anzahl genetischer Veränderungen ist eher klein. Letztere sind daher aus onkologischer Sicht wichtig und wohl auch bei anderen Krebserkrankungen von Bedeutung. Zudem ist das Neuroblastom schwierig zu behandeln: manchmal reicht eine milde Chemotherapie für eine Heilung trotz Metastasierung, in anderen Fällen stirbt der Patient trotz Hochdosistherapie an einem Rückfall. Wegen der erheblichen Nebenwirkungen sollte im ersten Fall ein



Histologische Schnitte zweier unterschiedlich verlaufener Neuroblastome in einer mikroskopischen Toponom-Analyse. Die Farben entsprechen hochdimensionalen Protein-Clustern, wovon bei dem gutartigen Verlauf (links) mehr als 30.000, bei dem tödlichen Verlauf (rechts) nur etwa 3.000 gefunden wurden.

Zuviel an Chemotherapie vermieden werden, im zweiten Fall erhöht ein Zuwenig das Risiko für einen tödlichen Verlauf.

Was ist der Hintergrund des Verbunds ENGINE (*Extended Neuroblastoma Genome Interaction Network*)?

Die Ursprünge reichen zurück ins Jahr 2004, als sich bereits in der zweiten NGFN-Förderphase Arbeitsgruppen zusammengefunden haben, die auf den Gebieten der „omics“-Technologien, Molekularbiologie, Bioinformatik und klinischen Studien in Deutschland führend sind.

Hinzu kamen international anerkannte Forscher, die über die Deutsche Neuroblastom-Studie seit über 20 Jahren vernetzt sind. Internationale Kooperationen bestehen mit Spanien, Italien, Belgien, Holland, Frankreich, England, Irland, Israel, Japan und den USA. Ein EU-Konsortium einiger NGFN-Partner arbeitet an anderen embryonalen Tumoren (*E.E.T.-Pipeline*). Darüber hinaus gibt es zahlreiche weitere internationale Zusammenarbeiten mit akademischen Institutionen und pharmazeutischen Unternehmen.

Wie kann die Genomforschung helfen, das Verständnis der Erkrankung Neuroblastom zu verbessern?

In einem unserer Projekte werden beispielsweise *Common Fragile Sites* identifiziert: Stellen in der DNA mit hohem Risiko für nicht-zufällige Schäden, deren Auftreten mit Krebs und anderen Erkrankungen assoziiert ist. Ein anderes Projekt identifiziert Neuroblastom-verursachende Gene mit Hilfe von Transposons. Das sind DNA-Abschnitte, die sich in beliebige Stellen des Genoms einbringen können. Bildet sich nach einem solchen „Sprung“ ein Neuroblastom, dann hat das Transposon eine genetische Struktur gestört, die hieran beteiligt war.

Welche Bedeutung haben dabei Modellorganismen?

Die eben beschriebenen Untersuchungen mit Transposons werden in einem Mausmodell vorgenommen, bei dem ein für das „Springen“ notwendiges Enzym gezielt in den Zellen gebildet wird, aus denen das Neuroblastom

entsteht. Ebenso werden Mäuse untersucht, bei denen für die Neuroblastom-Entstehung wichtige microRNAs ausgeschaltet wurden, kleine RNA-Moleküle, die an der Genregulation maßgeblich beteiligt sind.

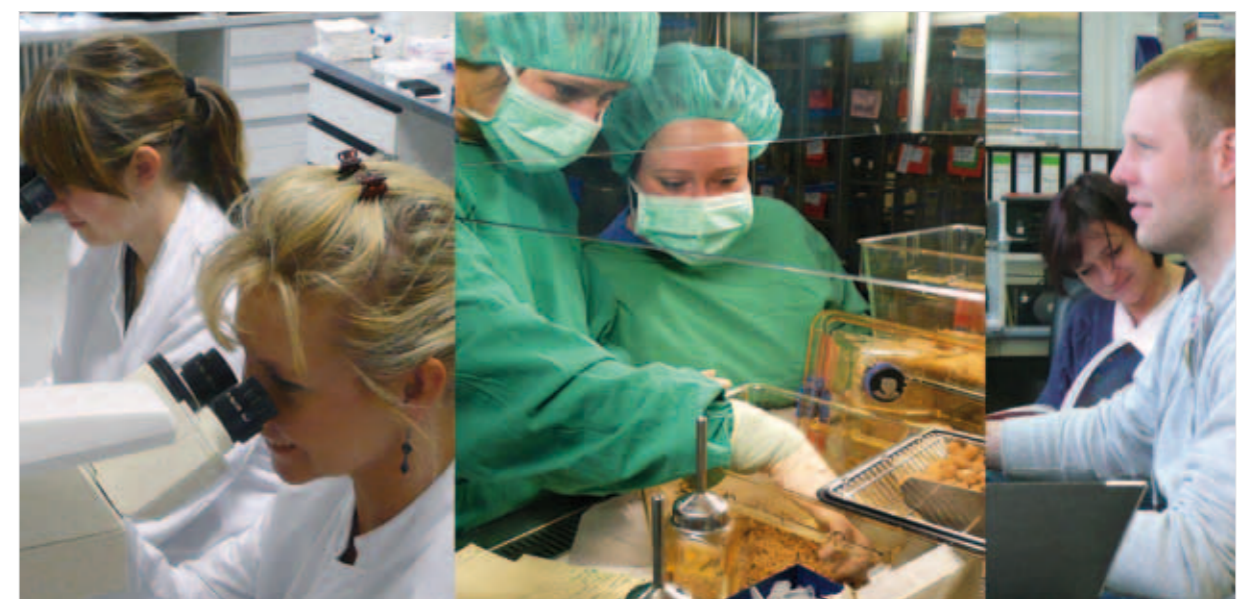
Spielen beim Neuroblastom auch Krebsstammzellen eine Rolle?

Ja, offenbar. Wir konnten zeigen, dass Neuroblastome Zellen enthalten, die sich unbegrenzt vermehren können, neurale Stammzellmarker aufweisen und im Tiermodell Tumoren auslösen. Daher kann ein Neuroblastom nur dann erfolgreich behandelt werden, wenn alle Tumorstammzellen beseitigt werden. Da sich diese ausgesprochen selten teilen, entgehen sie häufig einer konventionellen Chemo- und Strahlentherapie.

„Das Neuroblastom ist schwierig zu behandeln: manchmal reicht eine milde Chemotherapie für eine Heilung trotz Metastasierung, in anderen Fällen stirbt der Patient trotz Hochdosistherapie an einem Rückfall.“

Welche weiteren Untersuchungen laufen derzeit, die zu einer Verbesserung der Diagnose oder Behandlung des Neuroblastoms führen sollen?

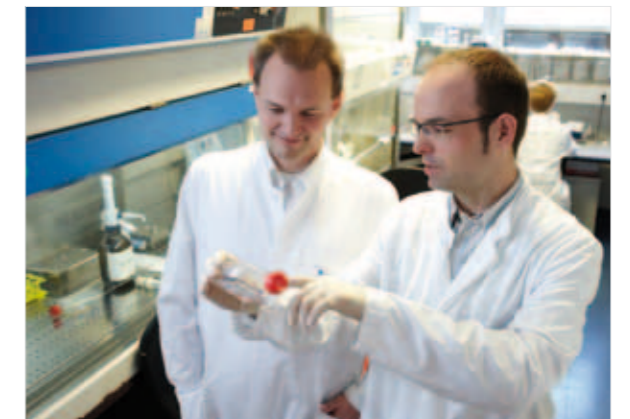
Als wichtigen Punkt möchte ich die Analyse des sogenannten Toponom (siehe Abbildung links) anführen. Bei vielen Erkrankungen treten bestimmte Proteine gemeinsam an bestimmten Stellen in einer Zelle auf. Für die in der Therapie problematischen MYCN-amplifizierten Neuroblastome konnten bereits Strukturen nachgewiesen werden, die für die Therapie interessant sein dürften.



Technische Assistenten im Dienste der Neuroblastomforschung in Essen: Melanie Baumann (links und Mitte), Sabine Dreesmann (links), Natalie Solomentsew (Mitte), Sebastian Vogt und Anja Rieb (rechts).

Unter anderem streben Sie eine genetische Impfung als Behandlungsmethode an. Was verbirgt sich hinter diesem Begriff?

Genetische Impfung bedeutet, dass die Verabreichung genetischen Materials aus Krankheitserregern oder Tumoren dafür sorgt, dass das Immunsystem eines Patienten aktiviert wird. Spezifische Antikörper und zytotoxische T-Zellen führen dann zur Immunität. Beim Neuroblastom haben sich MYCN und XIAP als vielversprechend erwiesen und wurden im Tiermodell als DNA-Impfstoffe erfolgreich getestet.



Dr. Johannes Schulte und PD Dr. Alexander Schramm interessieren sich für die Rolle von microRNAs bei der Entstehung von Neuroblastomen.

Gibt es bereits konkrete Erfolge aus dem Verbund Neuroblastom?

Hierzu gehört die Validierung einer Neuroblastom-spezifischen Diagnostik-Plattform. Die Expressionen bestimmter Gene werden auf einem sogenannten CHIP simultan untersucht und verbessern die Voraussage des klinischen Verlaufes sowie die Risikoabschätzung in bestimmten Patientengruppen.



© Deutsches Krebsforschungszentrum

PD Dr. Holger Sültmann

Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Koordinator des NGFN-Verbunds Prostatakrebs

Molekulare Marker für die Therapieentscheidung beim Prostatakarzinom

Fast jeder zehnte Mann erkrankt in seinem Leben an Prostatakrebs. Das Tumorstadium kann äußerst aggressiv, aber auch sehr langsam fortschreiten, wobei insbesondere in letzterem Fall eine genaue Abwägung von Nutzen und Nebenwirkungen einer Therapie anzustreben ist, um die Lebensqualität des Betroffenen nicht unnötig zu verringern. Mit Hochdruck wird daher an der Entdeckung neuer Prognosemarker gearbeitet, die den Krankheitsverlauf genauer vorhersagen und darauf zugeschnittene Behandlungen erlauben sollen.

Prostatakrebs – eine häufige Erkrankung

Prostatakrebs ist die häufigste Krebsart bei Männern und die zweithäufigste tumorbedingte Todesursache. Weltweit wird bei ca. 680.000 Männern jährlich ein Prostatakarzinom neu diagnostiziert; etwa 120.000 Menschen sterben daran.

Die gegenwärtig verfügbaren Methoden, insbesondere der bekannte Bluttest für das prostata-spezifische Antigen (abgekürzt PSA), erlauben keine zuverlässige Diagnose und keine Vorhersage des klinischen Verlaufs der Erkrankung vor einer Therapie. Die Folge ist häufig eine „Übertherapie“, die mit Nebenwirkungen wie Inkontinenz und Impotenz verbunden sein kann. Ziel muss es daher sein, unnötige Therapien zu vermeiden.

Da durch die Alterung der Bevölkerung in den kommenden Jahrzehnten die Zahl der Prostatakarzinom-Diagnosen erheblich zunehmen wird, ist die Unterscheidung zwischen Männern, die höchstwahrscheinlich kein therapiebedürftiges Prostatakarzinom entwickeln werden, von denen, die eine Therapie brauchen, von großer Bedeutung.

Forschungsverbund gegen Prostatakrebs

Ziel des Forschungsverbundes Prostatakrebs ist es, neue Methoden für ein verbessertes klinisches Management des Prostatakarzinoms zu entwickeln. Hierfür wurden die Expertisen international renommierter Partnergruppen der Genomforschung, Urologie, Onkologie und Pathologie zusammengeführt, um ein besseres Verständnis der Ursachen und der Konsequenzen dieser Krebserkrankung zu erlangen.

Erfahrene Ärzte und Wissenschaftler des Universitätskrankenhauses Hamburg-Eppendorf, der Universität Hamburg, am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg sowie dem Max-Planck-Institut in Berlin und der Firma QIAGEN arbeiten gemeinsam an der umfassenden

klinischen, histologischen und molekularen Charakterisierung des Prostatakarzinoms.

Mit Hilfe neuer Hochdurchsatztechnologien aus der Genomforschung werden molekulare Veränderungen aufgedeckt, die mit den unterschiedlichen Verläufen dieser Krebserkrankung einhergehen. Die enge Partnerschaft zwischen Forschung, Klinik und Industrie soll gewährleisten, dass vielversprechende Forschungsergebnisse in der Zukunft möglichst rasch und effizient zum Nutzen der Patienten eingesetzt werden können.

Molekulare Veränderungen beim Prostatakrebs und klinische Anwendungen

Die Basis der molekularen Analysen am Prostatakarzinom sind umfassende experimentelle Forschungsarbeiten, wie z. B. die Untersuchung der Krebszellen auf Veränderungen des Genoms (DNA), der aktiven funktionellen Gene (RNA und microRNA) und der Proteine.

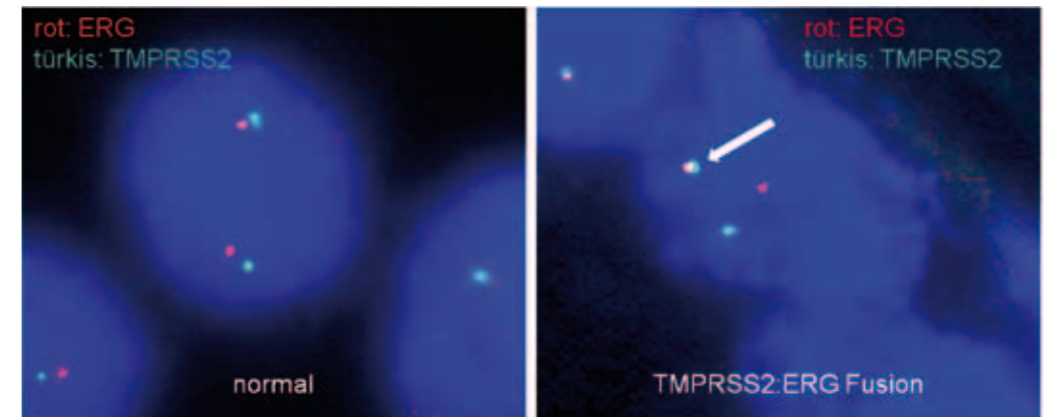
Eine große Zahl von Prostatakarzinomen zeigt genomische Veränderungen wie beispielsweise das Fusionsgen TMPRSS2-ERG (siehe Abbildung), das in gesunden Zellen nicht vorkommt und mit einer veränderten Genfunktion einhergeht.



Im gemeinsamen Gespräch über aktuelle Forschungsergebnisse im Labor am DKFZ: Dr. Ruprecht Kuner, Jan Brase und Jenny Metzger.

Die Fluoreszenz-Farbstoff-basierte Detektion (FISH) von spezifischen Veränderungen im Genom von Krebszellen wird von Dr. Ronald Simon in der Martini-Klinik in Hamburg routinemäßig durchgeführt und mit den klinisch wichtigen Aspekten der Tumorerkrankung verglichen. Solche spezifischen Moleküle können sowohl vielversprechende neue diagnostische Marker als auch potentielle therapeutische Angriffspunkte sein.

Die in den beschriebenen *Screening*-Methoden identifizierten Krebsmarker werden anschließend auf Gewebemicroarrays analysiert. Die Arrays enthalten histologische Präparate von kleinen Tumorstanzen, die eine parallele Untersuchung vieler hundert Patientenproben auf einem Objektträger erlauben. Mit diesen Analysen lässt sich die tumor-zellspezifische Aktivität dieser Marker sowie ihr Nutzen für die Beantwortung klinischer Fragestellungen ermitteln.³



Das Fusionsgen TMPRSS2-ERG kann in 40-60 % aller Prostatakrebsfälle nachgewiesen werden. Die an getrennten Genorten (links) liegenden DNA-Abschnitte werden mit unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert. In den Krebszellen (rechts) spiegelt die häufige Überlagerung der beiden Signale die Fusion beider Gene wider (siehe Pfeil). (Foto: Dr. Pierre Tennstedt, UKE Hamburg)

Die Forscher im Verbund Prostatakrebs haben mittels Hochdurchsatztechnologien Veränderungen in den Tumoren auf unterschiedlichen molekularen Ebenen zusammengetragen und ausgewertet. Dabei wurde eine Vielzahl neuer potenzieller Krebsmarker identifiziert, die nun in größeren Validierungsstudien bestätigt werden müssen.

Ziel des Forschungsverbundes Prostatakrebs ist es, neue Methoden für ein verbessertes klinisches Management des Prostatakarzinoms zu entwickeln.

Verschiedene Studien zielen auf die klinisch relevanten Fragestellungen, wie die verbesserte Diagnose und die auf den Patienten bezogene individuelle Einschätzung des Therapiebedarfs.

Beispielsweise hat Jan Brase, Doktorand am DKFZ, kurze, stabile RNA-Moleküle (microRNA) in Serumproben von Krebspatienten analysiert, um nicht-invasive Biomarker für eine verbesserte Therapieentscheidung zu finden.¹

Eine weitere fortgeschrittene Studie nutzt die etablierte methodische Plattform eines industriellen Kooperationspartners, um die Anwendung bereits identifizierter Biomarker in einer großen Zahl von Biopsieproben zu testen. Dadurch soll eine gesicherte Krankheitsdiagnose dem Patienten unnötige weitere Eingriffe ersparen.²

Ausblick

Nach der Identifizierung von Prostatakrebs-relevanten Genen und Proteinen werden detaillierte funktionelle Analysen in Zelllinien und Tiermodellen (Maus) durchgeführt. Damit werden die qualitativen und quantitativen Daten zu den Genen und Genprodukten besser in den Kontext der Tumorentwicklung und Tumorprogression gebracht.

Die Integration von unterschiedlichen molekularen Datensätzen aus einem Tumorkollektiv und den funktionellen Daten relevanter Gene aus den Tumormodellen ermöglicht die Konstruktion biologischer Netzwerke und die Datenmodellierung mit dem Ziel, die Diagnose- und Therapiestrategien für jede Patientengruppe zu optimieren.

REFERENZEN

1. Brase JC, Johannes M, Schlomm T, Fälth M, Haese A, Steuber T, Beissbarth T, Kuner R, Sültmann H (2010) *Int J Cancer* 5, Epub; doi:10.1002/ijc.25376
2. Schlomm T, Hellwinkel OJC, ... Graefen M, Huland H, Poustka A, Sültmann H (2009) *European Urology* 5(4), 885-90; doi:10.1016/j.eururo.2008.04.1053.
3. Minner S, Jessen B, Stiedenroth L, ... Huland H, Sauter G, Schlomm T (2010) *Clin Cancer Res* 16(5), 1553-60; doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2546

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0890-01GS0893, 01GS08180, 01GS08189



Prof. Dr. Bernhard G. Herrmann
Max-Planck-Institut für molekulare Genetik Berlin, Koordinator des NGFN-Verbunds Darmkrebs (Modifikatoren der Tumorbildung)

Erbliches Darmkrebsrisiko: Auf der Suche nach Lösungen

Unsere Lebensweise hat einen direkten Einfluss auf das individuelle Krebsrisiko, z. B. im Falle von Darmkrebs. Dennoch kennt praktisch jeder jemanden, der an Krebs erkrankt ist, obwohl er durchaus einen gesunden Lebensstil pflegte und umgekehrt. So ist uns ein Teil des Krebsrisikos sprichwörtlich in die Wiege gelegt. Modifikatoren zu finden, die die Krebsbildung unterdrücken, ist ein erfolgsversprechender Ansatz, um Krebsentstehung im Detail zu erfassen und präventiv eingreifen zu können.

Krebs gehört in den industrialisierten Ländern zu den häufigsten Todesursachen. In Deutschland stirbt etwa jeder Vierte an Krebs. Die Krebsforschung hat in den vergangenen Dekaden eine Vielzahl von genetischen Veränderungen (Mutationen) aufgezeigt, die zur Krebsbildung führen oder den Krankheitsverlauf des Patienten beeinflussen können.

Zudem wurden Risikofaktoren entdeckt, die das individuelle Krebsrisiko erheblich erhöhen. So sind beispielsweise Rauchen oder häufiger Sonnenbrand als Risikofaktoren für Lungen- bzw. Hautkrebs allgemein bekannt. Eine gesunde Lebensweise kann das Krebsrisiko verringern. Es gibt aber einen Risikofaktor, den der Mensch nicht kontrollieren kann: die genetische Ausstattung, die ihm von den Eltern vererbt wurde.

Das eigene Genom ist ein bedeutender Krebsrisikofaktor

Seit einiger Zeit ist bekannt, dass unterschiedliche ethnische Gruppen, die unter sehr ähnlichen Bedingungen leben und sich ähnlich ernähren, dennoch unterschiedliche Häufigkeiten von Krebserkrankungen aufweisen. Dieser Befund lässt sich plausibel damit erklären, dass sich verschiedene ethnische Gruppen genetisch unterscheiden. Aber auch innerhalb einer ethnischen Gruppe gibt es erhebliche genetische Unterschiede, und nur ein Teil der Individuen einer solchen Gruppe entwickelt im Laufe des Lebens ein Krebsleiden, während ein anderer Teil davor geschützt zu sein scheint.

Man kennt heute lediglich eine kleine Anzahl familiärer Risikofaktoren, die durch Genmutationen bedingt sind und das individuelle Krebsrisiko dramatisch erhöhen. Leider kann die Forschung noch keine Aussagen darüber machen, welche Gene oder Genkombinationen das Krebsrisiko reduzieren oder den individuellen Verlauf der Krankheit günstig beeinflussen.

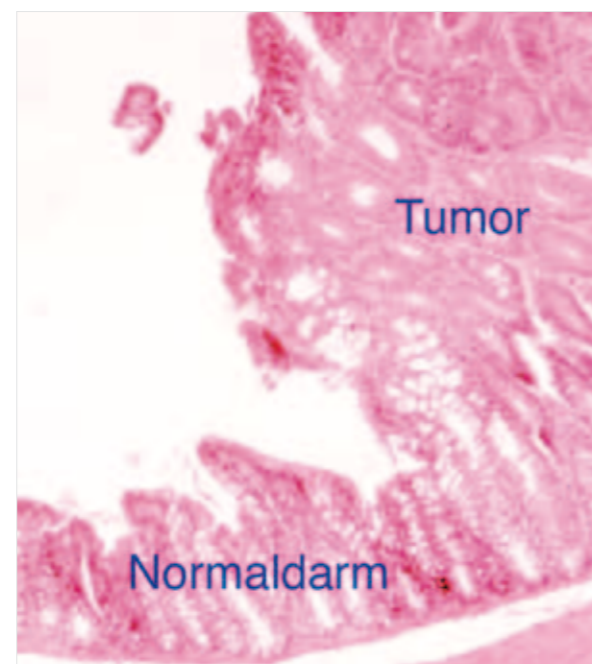
Die Suche nach diesen Genen gleicht der Suche nach

der Nadel im Heuhaufen, da jeder Mensch eine einzigartige Kombination von Genvarianten in sich trägt, von denen vermutlich einige das Krebsrisiko im Zusammenspiel beeinflussen.

Es gibt Genvarianten, die das Krebsrisiko erheblich senken

Fünf Arbeitsgruppen am Max-Planck-Institut für molekulare Genetik in Berlin und eine Gruppe an der Universität des Saarlandes arbeiten im Verbund Modifikatoren der intestinalen Tumorbildung und -progression eng zusammen, um die Frage zu beantworten, durch welche Gene das Krebsrisiko gesenkt wird.

Modifikatoren sind Varianten des gleichen Gens und zwischen Individuen unterschiedlich ausgeprägt. Sie lösen allein kein Krankheitsbild aus, können aber darauf



Histologischer Schnitt durch den Darmtumor einer Maus.

Einfluss nehmen. Genvarianten sind zu tausenden im Genom vorhanden. Sie sind in ihrer Kombination verantwortlich für unsere individuellen Eigenschaften und Fähigkeiten und für die Einzigartigkeit jedes einzelnen Menschen.

Um die Wirkung von solchen Genvarianten auf die Krebsbildung untersuchen zu können, verwenden wir Mäuse, die genetisch identisch sind und eine Mutation tragen, die bei der Maus (und auch beim Menschen) Darmkrebs auslöst.

Da diese Mäuse genetisch identisch sind, bekommen sie alle Darmkrebs mit ähnlichem Verlauf. Um Genvarianten zu finden, die die Darmkrebsbildung in diesen Mäusen verringern oder unterdrücken, wird nun ein Chromosom dieses Stamms gegen das entsprechende Chromosom eines entfernt verwandten Stamms ausgetauscht. Alle neuen Genvarianten in solchen Mäusen liegen dann auf dem ausgetauschten Chromosom. Falls die Tumorbildung so verringert wird, wissen wir, dass das ausgetauschte Chromosom eine den Tumor unterdrückende Genvariante trägt.

Der Verbund hat bereits mehrere Chromosomen entdeckt, die die Tumorbildung hemmen können. Nun gilt es herauszufinden, welche Gene diese Wirkung erzielen. Die Identifizierung und Isolierung dieser Gene wird uns dabei helfen zu verstehen, durch welche molekula-

Wir wollen die Frage beantworten, welche epigenetischen Kontrollprozesse mit der Darmkrebsbildung bei der Maus und beim Menschen einhergehen. Welche Gene werden dabei an- bzw. abgeschaltet? Wie wirken sich diese Änderungen im Regelnetzwerk auf die Krebsbildung aus und welche Gene sind daran ursächlich beteiligt? Können wir in diesen Veränderungen Muster

Eine gesunde Lebensweise kann das Krebsrisiko verringern. Es gibt aber einen Risikofaktor, den der Mensch nicht kontrollieren kann: die genetische Ausstattung, die ihm von den Eltern vererbt wurde.

erkennen, die für die Krebsdiagnostik verwertbar sind? Können wir epigenetische Biomarker entwickeln, die eine zuverlässige Vorhersage ermöglichen, wie das Krebsleiden verlaufen wird?

Die Untersuchung dieser Fragen erfordert den Einsatz neuer Sequenziertechnologien, die genomweite Analysen ermöglichen sowie die Entwicklung bioinformatischer Verfahren zur Auswertung solcher Datensätze. Unser Verbund leistet auch auf diesem Gebiet Pionierarbeit.



Dr. Markus Morkel, Dr. Alexandra Farrall, Dr. Dr. Michal-Ruth Schweiger und Dr. Christina Grimm erforschen gemeinsam, aber mit verschiedenen Methoden, genetische Ursachen von Krebs.

ren Mechanismen die Krebsbildung unterdrückt werden kann, selbst wenn eine krebsauslösende Mutation vorhanden ist. Dieses Wissen könnte in weiterer Zukunft dann auch die Entwicklung krebsvorbeugender Medikamente ermöglichen.

Nicht nur das Genom, auch das Epigenom beeinflusst die Krebsentwicklung

Das Genom wird während der Krebsentstehung chemisch modifiziert, ohne dass dabei die Basenabfolge verändert wird. Solche epigenetischen Modifikationen tragen wesentlich zur Steuerung der Genaktivität bei.

Die gestellten Fragen beinhalten Ziele, die immer mehr zum Gegenstand moderner Ansätze der Krebsfrühdia- gnose und Krebstherapie werden. Mit unserer Arbeit wollen wir einen Beitrag dazu leisten, die Krebsdiagnostik zu verbessern und auf lange Sicht einen Weg zur Krebs- prophylaxe zu eröffnen.

REFERENZEN

Boerno ST, Grimm C, Lehrach H und Schweiger M-R (2010) *Epigenomics* 2, 199-207; doi: 10.2217/epi.09.50

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08111-01GS08112



Prof. Dr. Kari Hemminki
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Koordinator des NGFN-Verbunds CCN

Im Hochdurchsatz Darmkrebs verstehen lernen

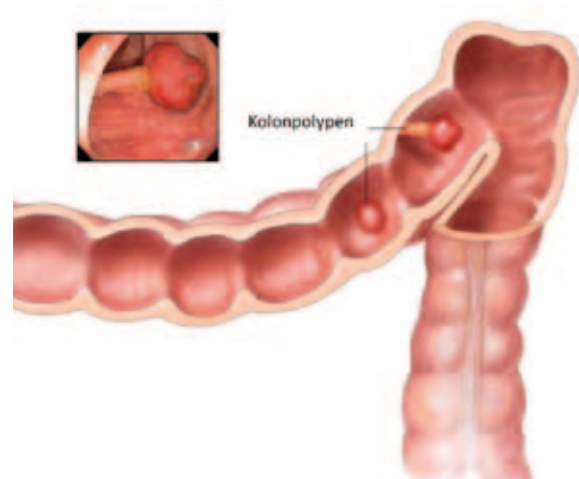
Darmkrebs ist bei Frauen und Männern die zweithäufigste Krebsart in Deutschland. Zahlreiche Faktoren beeinflussen das Risiko, an Darmkrebs zu erkranken, darunter beispielsweise das Verhalten im Hinblick auf Ernährung, Alkoholkonsum und körperliche Aktivität. Gleichzeitig sind klare genetische Ursachen bekannt. Weitere Risikogene zu entdecken, öffnet die Tür zu einem besseren Verständnis der Erkrankung in ihrer Gesamtheit und trägt damit zur Suche nach besseren Behandlungsmöglichkeiten bei.

Was passiert bei der Entstehung von Darmkrebs?

Unter Krebs versteht man eine bösartige Zellneubildung beziehungsweise das Auftreten von Tumoren, die durch Veränderungen in körpereigenen Zellen entstehen. Die Veränderungen betreffen die Erbinformation dieser Zellen, finden also auf Ebene der DNA statt.

Als kolorektales Karzinom werden Krebserkrankungen des Dickdarms (Kolonkarzinom) sowie des Enddarms (Rektumkarzinom) bezeichnet. Im Laufe ihres Lebens erkranken in Deutschland 6 von 100 Menschen an Darmkrebs. Die Ursachen für die Entstehung von Darmkrebs sind noch nicht vollständig geklärt.

Darmkrebs ist ein somatischer Evolutionsprozess, entsteht also durch Vorgänge in einzelnen Körperzellen, in denen sich im Laufe des Lebens eines Menschen



Darmkrebserkrankungen entstehen aus gutartigen Vorformen; sogenannten Polypen oder Adenomen. Es dauert in der Regel viele Jahre, bis sich aus einem Polypen ein Darmkrebs entwickelt. Ursache der Entartung sind Genveränderungen (Mutationen) an den Schleimhautzellen der Darmwand.

genetische Veränderungen ansammeln. Gleichzeitig geht dieser Prozess von einem Keimbahnrisiko aus, die erbten genetischen Grundlagen spielen also eine direkte Rolle beim Voranschreiten der genetischen Veränderung der Körperzellen.

In dem Prozess, der über mehrere Jahre hinweg verläuft, entwickelt sich aus zunächst gutartigen Darmpolypen (Adenomen) der letztlich bösartige Krebs (Karzinom). Etwa 5 % der Darmkrebspatienten haben sogenannte erbliche monogenetische Formen von Dickdarmkrebs, wie HNPCC (für engl. *hereditary non-polyposis colorectal cancer*) oder FAP (Familiäre Adenomatöse Polyposis). In diesen Fällen ist der Defekt eines einzigen Genes die Ursache.

Bei der Hauptzahl der Darmkrebsfälle scheinen hingegen mehrere Genvarianten, die das Risiko beeinflussen, involviert zu sein. Betrachtet man das Auftreten von Darmkrebs in Untersuchungen, die Lebensalter und familiäre Hintergründe berücksichtigen, so zeigt sich ein gut dokumentiertes altersabhängiges familiäres *Clustering*, das auf die Existenz von erblichen Risikovarianten hindeutet, welche kürzlich in neuen genomweiten Studien entdeckt wurden.

Der Verbund *Colorectal Cancer Network* (CCN)

Das *Colorectal Cancer Network* konzentriert sich auf die genomische Untersuchung der Signatur sowohl der Keimbahn als auch der somatischen DNA sowie auf deren funktionelle Auswirkungen auf nicht-syndromatische kolorektale Karzinome.

Umfassende Charakterisierung der Risikogene im systembiologischen Ansatz

Mit Hilfe von Genotypisierungsstudien wurde im Großmaßstab das Erbgut von über 5.000 Patienten innerhalb des *Colorectal Cancer Network*-Konsortiums auf der Suche nach Erbanlagen analysiert, die das Risiko für das

kolorektale Karzinom erhöhen.^{1,2,3} Der Fokus lag insbesondere auf sogenannten SNPs (Einzelnukleotid-Polymorphismen, siehe Seite 82) sowie CNVs (Genkopiezahl-Varianten).

Die identifizierten Risikovarianten werden in einem populationsspezifischen Probenstet evaluiert, das eine Schätzung der Gen-Umwelt und Gen-Gen-Wechselbeziehungen erlaubt. Allerdings ist von vielen der neu entdeckten genetischen Varianten die Funktion nicht bekannt.

Das Bestreben ist es daher auch, die funktionell relevanten und möglicherweise seltenen Varianten durch vollständige Sequenzierung der entsprechenden DNA-Regionen der betroffenen Individuen zu identifizieren. Bei der Suche nach somatischen Mutationen werden klinisch homogene Sets von Proben kolorektaler Karzinome mittels Anwendung von neuen Technologien für die Untersuchung des gesamten Erbguts umfassend charakterisiert.

Es dauert in der Regel viele Jahre, bis sich aus einem Polypen ein Darmkrebs entwickelt.

Außerdem stehen eine Gewebebank mit frischen gefrorenen Tumorproben und zusätzlich in Paraffinblöcken eingebettetes Gewebe für die weiterführende Analyse der Ereignisse zur Verfügung. Ein funktionelles und systembiologisches Programm soll bei der Entwicklung eines integrierten Modells zur Erforschung der Krankheitsursachen (Ätiologie) und -entwicklung (Pathogenese) helfen. Sowohl die Gruppen der genetischen Epidemiologie als auch der Systembiologie sind an der Modellierung beteiligt.

Neue Ansätze zur Verbesserung der Therapie

Viele krebsassoziierte Gene wurden ursprünglich in Familienstudien identifiziert und später in vielen Fällen als ebenfalls in sporadischen Tumoren mutiert nachgewiesen, also bei Krebsfällen, die scheinbar spontan und ohne erbliche Vorbelastung auftreten. Das bedeutet, dass die Erforschung von Risikogenvarianten nicht nur im Hinblick auf Prognose und Diagnose eines einzelnen Menschen sinnvoll ist, sondern generelle Mechanismen der Darmkrebsentstehung offenlegt.

So konnte beispielsweise unter Mitwirkung von Wissenschaftlern aus dem Verbund CCN die Bedeutung eines Transkriptionsfaktors namens Nrf2 (für engl. *nuclear factor E2-related factor 2*) bei der Entstehung kolorektaler Karzinome gezeigt werden, dessen gezielte Blockade möglicherweise zur Antikrebstherapie genutzt werden könnte.⁴

Weiterhin entdeckten CCN-Wissenschaftler kürzlich sieben darmkrebsrelevante Varianten von Genen, die im MAP (*mitogen-activated protein*)-Kinase-Signalweg eine Rolle spielen. Dieser Signalweg ist an der Regulation grundlegender Prozesse beteiligt, darunter Zellvermehrung und programmierter Zelltod. Die CCN-Wissen-



Pipettier-Roboter für präzise Hochdurchsatzeinsätze in der täglichen Laborarbeit.

schaftler konnten nun zeigen, dass das Kolonkarzinom-Risiko einer Person steigt, je mehr dieser sieben Genvarianten sie trägt. Solche Erkenntnisse ermöglichen, das individuelle erbliche Darmkrebsrisiko eines Menschen zukünftig noch besser abzuschätzen.⁵

Vernetzt schneller Ziele erreichen

Die jetzige Netzwerkstruktur des NGFN erlaubt das arbeitsgruppenübergreifende Testen weiterer familiärer Kandidatengene auf somatische Mutationen und *vice versa*. Darüber hinaus sehen wir einen gegenseitigen Nutzen für die Entdeckung von Genen und die funktionellen Tests der Systembiologie, wobei die identifizierten Varianten auf funktionelle Effekte getestet werden können und umgekehrt.

Bei der Hauptzahl der Darmkrebsfälle scheinen mehrere Genvarianten, die das Risiko beeinflussen, involviert zu sein.

Interdisziplinäre Forschung ermöglicht einen Austausch von wichtigen Ergebnissen zwischen unterschiedlichen Arbeitsgruppen. Unsere Forschungsergebnisse sollen helfen, Einblicke in das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Gene und vielfältigen Umweltfaktoren insgesamt zu gewinnen. Anhand dieses Musters wollen die NGFN-Wissenschaftler die molekularen Hintergründe der Krankheit verstehen und so die Voraussetzung für neue therapeutische Ansätze schaffen.

REFERENZEN

- Tomlinson IP et al. (2008) *Nature Genetics* 40, 623-630; doi:10.1038/ng.111
- Houlston RS et al. (2008) *Nature Genetics* 40, 1426-1435; doi: 10.1038/ng.262
- Tenesa A et al. (2008) *Nature Genetics* 40, 631-637; doi: 10.1038/ng.133
- Arlt A et al. (2009) *Oncogene* 45, 3983-3996; doi:10.1038/nc.2009.264
- Lascorz J et al. (2010) *Carcinogenesis*, im Druck; doi: 10.1093/carcin/bgq146

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08181-01GS08183



Prof. Dr. Thomas M. Gress
Philipps-Universität Marburg
Koordinator des NGFN-Verbunds
Pankreaskrebs (PaCa-Net)

Neue Strategien im Kampf gegen das Pankreaskarzinom

Die Diagnose Bauchspeicheldrüsenkrebs bedeutet trotz des allgemeinen medizinischen Fortschritts immer noch ein hohes Sterblichkeitsrisiko für Betroffene. Um zukünftig bessere Therapieerfolge zu erreichen, ist eine detaillierte Ursachenforschung unerlässlich. Ermutigende Erfolge sind bereits zu vermelden. So wurde ein Protein als möglicher Angriffspunkt ausgemacht, dessen gezielte Ausschaltung über neue Medikamente Hoffnungen weckt. Nach möglichen Wirkstoffen wird intensiv gefahndet.

Die aktuellen Behandlungsmöglichkeiten bei Bauchspeicheldrüsenkrebs sind unbefriedigend

Nahezu jeder Patient mit einem Pankreaskarzinom (also einem bösartigen Tumor der Bauchspeicheldrüse) verstirbt innerhalb des ersten Jahres nach Diagnosestellung, so dass das Pankreaskarzinom die viert- bis fünfthäufigste krebsbedingte Todesursache in der westlichen Welt darstellt. Konventionelle Verfahren zur Diagnose und Behandlung sind zum jetzigen Zeitpunkt unbefriedigend.

Das Humangenomprojekt und weiterführende Forschungen haben Wissen und Technologien erzeugt, welche das größte Potential haben, zum Verständnis der molekularen Pathogenese im Pankreas beizutragen und Zielgene zu liefern, die sich als entscheidende Angriffspunkte im Hinblick auf eine Verbesserung des klinischen Verlaufs herausstellen können. Dennoch haben aus der Vielzahl bereits durchgeführter Hochdurchsatzuntersuchungen von Pankreastumoren und deren Vorläuferstadien bisher nur wenige daraus entwickelte molekulare Ansätze die Ebene präklinischer oder klinischer Anwendungen erreicht.

Die Tatsache, dass der Tumor aufgrund der speziellen anatomischen Lokalisation und seiner besonderen histologischen Zusammensetzung im Menschen sehr schwer zu untersuchen ist, der Mangel an einer ausreichenden Zahl gut charakterisierter klinischer Ressourcen und insbesondere die eingeschränkte Verfügbarkeit aussagekräftiger experimenteller Modellsysteme der Erkrankung waren bisher limitierende Faktoren.

Der Verbund Pankreaskarzinom (PaCa-Net)

Der PaCa-Net-Verbund vereint deutsche Exzellenzzentren für Pankreaskarzinomforschung mit Genomprojektgruppen und der Industrie, um einen integrierten Ansatz für eine effiziente Charakterisierung und Nutzung von Genomprojekt-Kandidatengen zu ermöglichen. Das

Arbeitsprogramm wird auf mehreren Forschungsebenen durchgeführt und ist in mehrere Teilprojekte untergliedert.

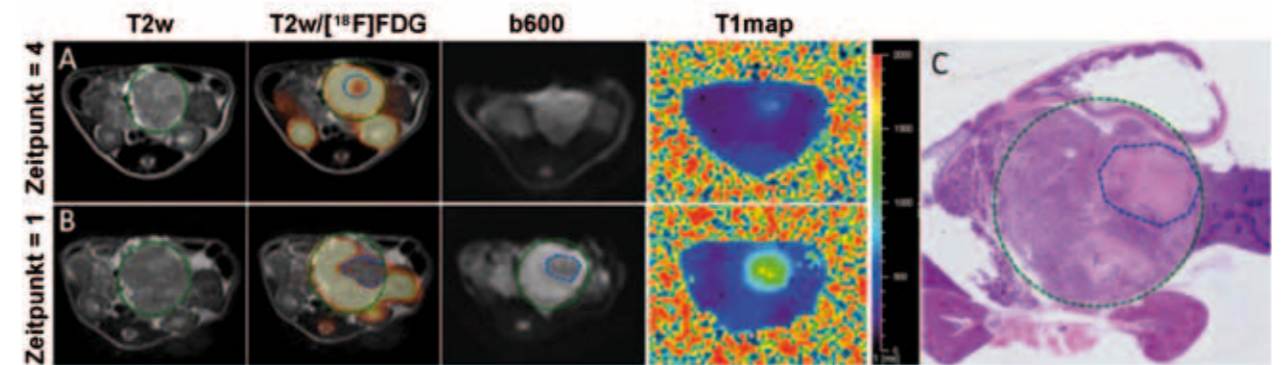
Plattformprojekte als zentrale Schnittstellen

Wesentliches Element und unabdingbare Voraussetzung für den Erfolg des PaCa-Net-Projektes ist die zentrale und standardisierte Schaffung von klinischen und experimentellen Ressourcen, die im Rahmen von zwei sogenannten Plattformprojekten dem gesamten Verbund zur Verfügung gestellt werden.



PD Dr. Malte Buchholz arbeitet u. a. mit Zellkulturen, um die molekulare Pathogenese beim Pankreaskarzinom aufzuklären.

Dazu gehören z. B. genetische Mausmodelle, die zum ersten Mal den vielschrittigen Prozess der Krebsentstehung im Pankreas adäquat modellieren, samt neu entwickelter, nicht-invasiver Methoden der Tumorbildgebung, die erstmals das direkte Nachverfolgen des Effekts von genetischen Veränderungen oder pharmakologischen Behandlungen in diesen und anderen Mausmodellen ermöglichen (siehe Abbildung). Daneben wurden u. a. bislang mehr als 1.600 Gewebeschnitte von humanen Pankreasgeweben angefertigt, von denen 700 bereits



Tumorstadium im transgenen Tiermodell im Zeitverlauf.
Links: Kombination verschiedener bildgebender Verfahren zur Darstellung des gleichen Tumors (grün eingekreister Bereich) zum Zeitpunkt 0 (obere Zeile; A) und nach 4 Wochen (untere Zeile; B). Blau eingekreist: Zunehmend unterversorgtes Areal im Tumor (Zentralnekrose).
Rechts: Histologisches Bild des Tumors nach Explantation (C). (Abbildung von PD Dr. J. Siveke, TU München)

pathologisch klassifiziert und in die zentrale Biobank des Konsortiums eingepflegt wurden. Die Anzahl der unterschiedlichen Bioproben (Blut, Serum, Urin, Feinnadelbiopsien etc.), die im Konsortium zur molekularen Analyse bereitstehen, ist bereits auf mehr als 700 angewachsen.

Das Humangenomprojekt und weiterführende Forschungen haben Wissen und Technologien erzeugt, welche das größte Potential haben, zum Verständnis der molekularen Pathogenese im Pankreas beizutragen und Zielgene zu liefern, die sich als entscheidende Angriffspunkte im Hinblick auf eine Verbesserung des klinischen Verlaufs herausstellen können.

Neue diagnostische und therapeutische Ansätze

Die Charakterisierung neuer Zielgene im Pankreaskarzinom sowie die Entwicklung daraus abgeleiteter neuer molekular-zielgerichteter Ansätze zur Diagnostik und Therapie dieser verheerenden Erkrankung erfolgt in zwei komplementären strukturellen Ansätzen.

Zum einen werden in einem hochgradig koordinierten zentralen Experimentierstrang unter Beteiligung aller Experten des Konsortiums neue Kandidatengene und -proteine zur genaueren Untersuchung ausgewählt und unter Ausnutzung der in den einzelnen Arbeitsgruppen vorhandenen Expertisen gemeinsam experimentell charakterisiert.

Zum anderen werden vor-charakterisierte Kandidaten auf unterschiedlichen Ebenen der experimentellen, präklinischen und klinischen Entwicklung in einzelnen Teilprojekten weitergehend untersucht.

Beispiele aktueller wissenschaftlicher Erfolge des Projekts

Die im Rahmen dieser Studien bereits erzielten wissenschaftlichen Erfolge reichen von der Entwicklung neuer Methoden, z. B. für Zell-basierte Hochdurchsatzuntersuchungen in der Langzeit-Mikroskopie,¹ über die detaillierte Aufklärung neuer funktioneller Rollen einzelner Kandidatengene bzw. spezialisierter Zelltypen in Pankreastumoren^{2,3} bis zur erfolgreichen Etablierung neuer molekularer Marker, die die Art des Tumors bzw. das Patientenüberleben vorhersagen.⁴

Mit der Proteinkinase D2 (PRKD2) wurde darüber hinaus ein potentiell therapeutisch beeinflussbarer Schlüsselregulator der Blutgefäßbildung im Tumor identifiziert, gegen den im Rahmen des zentralen Wirkstoff-Screening-Programms des Konsortiums derzeit im Hochdurchsatzverfahren pharmakologisch wirksame Substanzen getestet werden.⁵

Weitere Informationen im Internet

Für weitergehende Informationen zur Zusammensetzung des Konsortiums sowie zu Zielsetzung und Fortschritten des PaCa-Net-Projektes besuchen Sie bitte die Projekt-Homepage unter <http://www.ngfn-pacenet.de>.

REFERENZEN

- Huth J, Buchholz M, Kraus JM, Schmucker M, von Wichert G, Krndjija D, Seufferlein T, et al. (2010) *BMC. Cell Biol.* 11; 24; doi:10.1186/14712121-11-24
- Erkan M, Weis N, Pan Z, Schwager C, Samkharadze T, Jiang X, et al. (2010) *Mol. Cancer* 9, 88; doi:10.1186/1476-4598-9-88
- Mazur PK, Einwachter H, Lee M, Sipos B, Nakhai H, Rad R, et al. (2010) *PNAS*; im Druck
- Heller A, Zornig I, Müller T, Giordadze K, Frei C, Giese T, et al. (2010) *Cancer Immunol. Immunother.* 59, 1389-1400; doi:10.1007/s00262-010-0870-9
- Azoitei N, Pusapati GV, Kleger A, Möller P, Küfer R, Genze F, et al. (2010) *GUT*; im Druck

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08113-01GS08118, 01GS08178, 01GS08179, 01GS08209



PD Dr. Bodo M.H. Lange
Prof. Dr. Hans Lehrach
 Max-Planck-Institut für molekulare Genetik Berlin, Koordinatoren des NGFN-Verbunds Mutanom

Krebs mit systembiologischem Ansatz kontern

Die Systembiologie stellt biologische Organismen in ihrer vollen Komplexität in den Mittelpunkt. Dabei wird angestrebt, alle Vorgänge von der Ebene des Genoms über die Wechselwirkungen zwischen Proteinen, Zellen und Geweben bis hin zum Gesamtorganismus zu erfassen. Bei Erkrankungen wie Krebs, die ein komplexes genetisches Profil aufweisen, sollen durch systembiologische Modelle zukünftig Vorhersagen möglich werden, wie sich krankheitsrelevante Prozesse medikamentös besser beeinflussen lassen.

Hintergrund

Krebs ist eine der Haupttodesursachen in Europa mit ca. 1,7 Millionen Todesfällen pro Jahr. Trotz enormer Entwicklungskosten stehen uns noch immer keine Medikamente zur Verfügung, die eine wirklich effektive und weitgehend nebenwirkungsfreie Behandlung von Krebs erlauben.¹

Einer der Gründe dafür liegt in den komplexen Ursachen der Krebsentstehung, die durch eine Akkumulation von Änderungen genetischer wie auch epigenetischer Art im Genom verursacht werden.^{2,3} Kombinationen dieser Veränderungen ergeben verschiedenste Krebs- und Patientenspezifische genomische Profile, die die Aggressivität und chemotherapeutische Resistenz des Tumors bestimmen.

Es werden daher neue Ansätze benötigt, um Daten aus Genomikstudien für den einzelnen Patienten nutzbar zu machen. Eine neue Möglichkeit besteht darin, die komplexen Krankheitsprozesse durch einen systembiologischen Ansatz mathematisch zu modellieren,⁴ um in der Zukunft genauere Vorhersagen in Bezug auf eine effektive Behandlung und den Krankheitsverlauf machen zu können. Weiterhin spielen technologische Fortschritte bei Sequenzierungsmethoden zur Identifizierung von krebsrelevanten Veränderungen im Genom eine große Rolle.



Dr. Dr. Michal-Ruth Schweiger ist Leiterin des Teilprojektes Mutationsanalyse.

Der Verbund Mutanom verfolgt einen solchen systembiologischen Ansatz. Mutanom untersucht die funktionelle Konsequenz tumorrelevanter Mutationen und entwickelt aus den Ergebnissen ein Modell zur Erarbeitung von neuen Strategien zur Diagnose und Behandlung, die individuelle genetische Profile von Tumoren mit einbeziehen.

Ziele des Mutanom Projektes

Mutanom ist ein Konsortium aus Gruppen mit Expertise auf den Gebieten der Systembiologie (Max-Planck Institut für molekulare Genetik Berlin - MPIMG), der öffentlichen Gesundheitssysteme (*European Centre for Public Health Genomics* - ECPHG), der Tumorbiologie (Deutsches Krebsforschungszentrum - DKFZ, Universitätsmedizin Berlin - Charité) und der Proteomikforschung (Cellzome AG, MPIMG, DKFZ, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin - MDC). Klinische Partner kommen aus Deutschland und dem europäischen Ausland. Das Netzwerk hat folgende Ziele:

- 1) Identifizierung von tumorrelevanten Mutationen
- 2) Funktionelle Charakterisierung der Mutationen in Zelllinien und im Mausmodell
- 3) Bestimmung von zellulären Parametern nach Expression des normalen und des mutierten Proteins in genetisch identischen Zelllinien
- 4) Modellierung von aus Experimenten gewonnenen quantitativen Parametern
- 5) Überführung des neu erstellten Modells und der Methodik in die klinische Anwendung
- 6) Identifizierung neuer Zielstrukturen für eine medikamentöse Therapie

Ergebnisse

In dem Projekt konnten durch die Anwendung neuester Technologien zur Hochdurchsatzsequenzierung neue Mutationen und Gene identifiziert werden, die bei der Krebsentstehung eine Rolle spielen. Die Anwendung

von Zellkulturmodellen mit verschiedenen genetischen Profilen, die Zustände z. B. bei Brustkrebs repräsentieren, ermöglichte eine ausführliche funktionelle Charakterisierung von Onkogenen (Krebsgenen) und Tumorsuppressoren (Gene, bei deren Funktionsausfall die Tumorbildung gefördert wird).

So konnten für das Tumorsuppressor-Protein p53 und das Onkogen PI3K, die beide in einem weiten Spektrum von Tumoren mutagenisiert sind, Interaktionen von wichtigen Signalmolekülen nur mit den mutanten Varianten beider Proteine identifiziert werden. Dieses überraschende Ergebnis deutet darauf hin, dass der Zugewinn von neuen Protein-Protein-Interaktionen durch Mutationen wichtige krebsrelevante Signaltransduktionswege beeinflusst. Dabei könnten solche Änderungen den Krebszellen im Vergleich zu normalen Zellen einen Wachstumsvorteil bringen.

Damit wurden bereits mehrere mögliche molekulare Ziele für diagnostische und therapeutische Ansätze identifiziert, die in das systembiologische Modell des Mutanom Projektes einfließen. Mit Hilfe des entwickelten

Modellierungssystems ist es bereits jetzt möglich, individuelle Mutationsprofile zu simulieren, um Vorschläge für die gezielte Behandlung, z.B. mittels Kinasen-Inhibitoren, zu machen, die dann experimentell validiert werden können.

Mutanom untersucht die funktionelle Konsequenz tumorrelevanter Mutationen und entwickelt aus den Ergebnissen ein Modell zur Erarbeitung von neuen Strategien zur Diagnose und Behandlung, die individuelle genetische Profile von Tumoren mit einbeziehen.

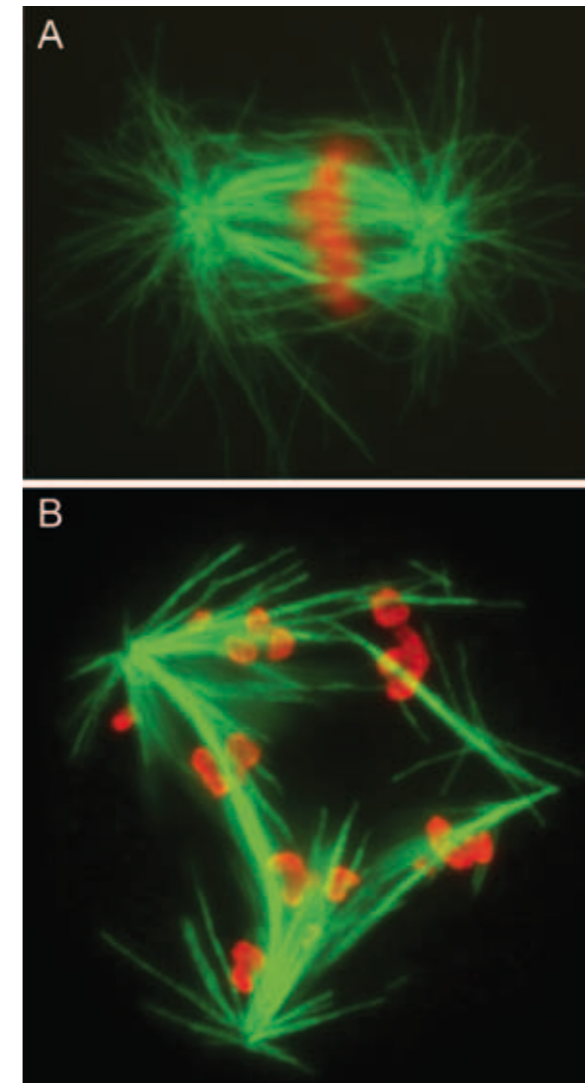
Transfer gewonnener Erkenntnisse und Ausblick

Relevante neue technische und wissenschaftliche Ergebnisse können nur zu einer Anwendung in der Klinik kommen, wenn solche Methoden auch eine Anerkennung im öffentlichen Gesundheitssystem erreichen. Unter anderem wird durch Einbeziehung Genom-basierter Informationen die Möglichkeit gegeben sein, Präventions- und Behandlungsprogramme gezielt auf darauf ansprechende Patienten auszurichten.⁵

So ist denkbar, dass in einem ersten Ansatzpunkt bereits bekannte Medikamente besser kombiniert werden, um entsprechend der genetischen Konstellation von Tumor und Patient ihre Wirkung zu erhöhen. Für die weitere Entwicklung in der Individualmedizin spielen neue Sequenzierungstechnologien eine große Rolle. Weiterentwicklungen werden in der Zukunft ermöglichen, diese Analysen zu vertretbaren Kosten in wenigen Stunden durchzuführen.

Es ist wahrscheinlich, dass sich die Modellierung der gewonnenen Daten zur Vorhersage von Krankheitsverläufen in der Zukunft zu einem wichtigen Instrument in der Gesundheitsversorgung entwickeln wird.

www.mutanom.org

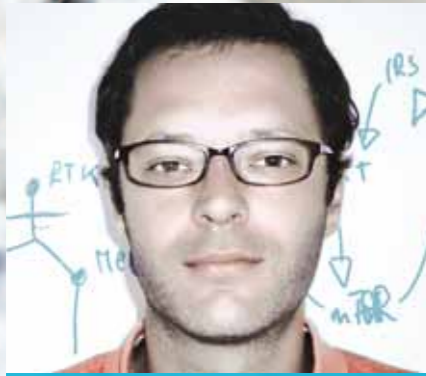


(A) In normalen Zellen werden die Chromosomen (rot) durch die mitotische Spindel (grün) gleich verteilt. (B) Inaktivierung eines Tumorsuppressors führt hier zu einer abnormalen Verteilung der Chromosomen und resultiert u. U. in Zelltod oder in der Ansammlung von weiteren krebsrelevanten Eigenschaften.

REFERENZEN

1. Rothenberg ML, Carbone DP und Johnson DH (2003) *Nat Rev Cancer* 3, 303-309; doi: 10.1038/nrc1047, nrc1047
2. Hanahan D und Weinberg RA (2000) *Cell* 100, 57-70; doi: S0092-8674(00)81683-9
3. Stratton MR, Campbell PJ und Futreal PA (2009) *Nature* 458, 719-724, doi: 10.1038/nature07943
4. Daskalaki A, Wierling C und Herwig R (2009) Computational tools and resources for systems biology approaches in cancer. In *Computational Biology - Issues and Applications in Oncology* Buchbeitrag, Springer, 227-242; doi: 10.1007/978-1-4419-0811-7
5. Gonzalez-Angulo AM, Hennessy BT und Mills GB (2010) *J Clin Oncol* 28, 2777-2783; doi: 10.1200/JCO.2009.27.0777

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08105-01GS08110



PD Dr. Roman Thomas
Max-Planck-Institut für neurologische Forschung Köln
Koordinator des NGFN-Verbunds
Krebsgene

Krebsgene lassen Signalwege außer Kontrolle geraten

Praktisch alle Abläufe in unseren Körperzellen werden über zahlreiche ineinander greifende Signalwege auf Proteinebene bestimmt. Da die Abfolge der Aminosäuren, aus denen jedes Protein besteht, im zugehörigen Gen festgelegt ist, können Mutationen auf der Ebene des Genoms die Regulationsmechanismen der Zelle direkt beeinflussen. Bestimmte mutierte Gene, die zu Tumorwachstum führen, bezeichnet man als Krebsgene. Zumeist kodieren sie für Proteine, die direkt an der Signalweiterleitung beteiligt sind.

Hintergrund der Krebsentstehung

Krebs ist eine Erkrankung des Genoms. In einzelnen Zellen entstehen genetische Veränderungen (Mutationen), die zu einer gestörten Signalübertragung innerhalb der Zellen oder zwischen Zellen und damit zum Verlust der Wachstumskontrolle führen. Diese Tumorzellen zeigen dann ein verstärktes, unkontrolliertes Wachstum. Die genetischen Veränderungen in den Tumorzellen sind nicht umkehrbar, so dass die Signalübertragung, anders als bei chronischen Erkrankungen, permanent gestört ist, sozusagen im Genom der betroffenen Zellen fixiert.

Zielsetzung des Verbundes Krebsgene

Ziel unseres Verbundes ist es, die Abhängigkeiten der Signalwege von den Mutationen, die zu einer Störung dieser Signalübertragung führen, zu ermitteln. Entscheidend hierfür ist neben der Verfügbarkeit adäquater Modellsysteme Expertise im Bereich computergestützter Datenanalyse (*Computational Biology*) und im Bereich der molekularen Vorgänge der Signalübertragung. Die Entwicklung von Hemmstoffen, welche die genetisch fixierten Störungen der Signalübertragung aufheben und dadurch den Zelltod der Tumorzellen auslösen, ist in den letzten Jahren enorm fortgeschritten. Ein gezielter Einsatz dieser Hemmstoffe bei Patienten, deren Krebszellen charakteristische genetische Veränderungen aufweisen, bewirkt einen Rückgang des Tumors und eine rückfallfreie Überlebensverlängerung.

Ergebnisse im Verbund geben Aufschluss über die molekularen Abläufe bei Krebs

Im letzten Jahr gelang innerhalb des Verbundes Krebsgene der Nachweis, dass Tumoren mit veränderten Rezeptor-Tyrosinkinase (RTK)-Genen, einer wichtigen Gruppe von Signalübertragungsmolekülen, in besonderer Weise vom PI3 (Phosphoinositid-3)-Kinase-Signalweg abhängig sind. Ein bedeutender Vertreter dieser Rezeptor-

Tyrosinkinasen ist das EGFR (epidermaler Wachstumsfaktorrezeptor)-Gen. Nach bisheriger Ansicht sind verschiedene Signalwege am Verlust der Wachstumskontrolle beteiligt.

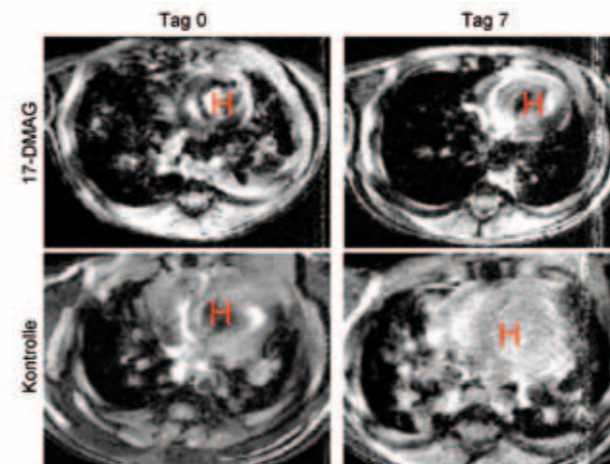
Im Unterschied dazu konnte in unserem Verbund gezeigt werden, dass Tumoren mit Veränderungen in RTK-Genen nur wenig von anderen Signalwegen wie z. B. dem MAP (*mitogen-activated protein*)-Kinase-Weg abhängen und daher durch spezifische Hemmstoffe gegen den PI3-Kinase-Signalweg effektiv im Wachstum gehemmt bzw. abgetötet werden können. Im Gegensatz dazu zeigte sich für Tumorzellen mit einer Mutation im KRAS-Gen, das für ein kleines Protein mit „Schalterfunktion“ in Signaltransduktionskaskaden kodiert, ein gegenteiliges Bild: die Hemmung des MAP-Kinase-Weges löste hier zuverlässig den Zelltod aus, während die Hemmung des PI3-Kinase-Signalweges kaum einen Einfluss auf das Wachstum der Tumorzellen hatte.

Beide Signalwege sind miteinander über gegenläufige Hemmschleifen verbunden, d. h. hemmt man z. B. den PI3-Kinase-Signalweg, so führt dies zu einer Aktivierung des MAP-Kinase-Signalweges und umgekehrt. Daher war der Einsatz einer Kombination von zwei Hemmstoffen gegen beide Signalwege besonders effektiv.¹ Gegen beide Signalwege befinden sich bereits potente Hemmstoffe in klinischer Erprobung. Dieses experimentell entdeckte Konzept ermöglicht einen noch gezielteren Einsatz dieser Medikamentenkandidaten und wird bereits in einer klinischen Studie in den USA getestet.

Interessant in diesem Zusammenhang ist die ebenfalls in diesem Verbund gemachte Entdeckung, dass das erbliche Noonan-Syndrom, das durch erhebliche Knochen- und Entwicklungsstörungen gekennzeichnet ist, auch mit Mutationen in einem RAS-Gen (hier NRAS) einhergeht.² Also spielt die gestörte Signalübertragung in Verbindung mit RAS-Genen eine Rolle sowohl bei solchen erblichen Syndromen als auch bei Tumorerkrankungen.

Mausmodelle können helfen, krebsauslösende Vorgänge besser zu verstehen

In einem Mausmodell wurde zudem gezeigt, dass Lungenzellen, die Mutationen in KRAS aufweisen, durch eine Hemmung von Hsp90 (Hitzeschockprotein 90) im Wachstum beeinträchtigt werden können.¹ Die untersuchten Tiere wiesen eine genetische Veränderung im KRAS-Gen auf, die zu der Entwicklung eines Lungentumors führte (siehe Abbildung). Eine Behandlung der Mäuse mit 17-DMAG bewirkte eine deutlich Abnahme des Tumorwachstums im Vergleich zu den mit einem Scheinpräparat behandelten Kontrollen.³ Der Wirkstoff 17-DMAG übt eine hemmende Wirkung auf Hsp90 aus, das für die korrekte Faltung zahlreicher Proteine verantwortlich ist.



Die Magnetresonanztomographie (MRT) zeigt Brustquerschnitte von Mäusen mit Lungentumoren vor bzw. nach der Behandlung mit dem Wirkstoff 17-DMAG (siehe Text). An Tag 7 sieht man eine deutliche Verringerung der Tumormasse (helle Bereiche um H = Herz) im Vergleich zu dem mit einem Scheinpräparat behandelten Tier (Kontrolle).

Tumorproben von Patienten werden auf krebsauslösende Mutationen hin untersucht

Die Etablierung der weltweit größten Sammlung klinisch annotierter Lungentumore im Rahmen des *Clinical Lung Cancer Genome Project* (CLCGP) mit über 1.800 Tumoren beinhaltet auch die Sammlung, die im Rahmen des Verbundes Krebsgene aufgebaut wurde. Aufgrund der großen Anzahl genomischer Daten aus diesem Probenatz wie z. B. der Analyse von mehr als 400 Proben auf Kopienzahlveränderungen im Genom bzw. mehr als 800 Proben, die auf krebsauslösende Mutationen untersucht wurden, konnten bereits erste Ergebnisse erzielt werden. So wurde in diesem unvergleichlich großen Probenatz die starke Erhöhung der Kopienzahl des FGFR1 (Fibroblasten Wachstumsfaktor Rezeptor 1)-Gens in 10 % einer histologischen Unterklasse von Lungentumoren entdeckt. Darauf aufbauend konnte durch Analyse einer Zellliniensammlung und in *in vivo*-Modellen gezeigt werden, dass jene Tumoren im Wachstum gestoppt werden bzw. schrumpfen können, wenn FGFR1 in der Signalübertragung gehemmt wird. FGFR1 Hemmstoffe sind bereits in der klinischen Entwicklung, so dass eine Erprobung auch an Patienten mit Lungentumoren, die diese Vermehrung des FGFR1-Gens aufweisen, sinnvoll und schnell umsetzbar wäre. Mitentscheidend für diese Entdeckungen waren Weiterentwicklungen im Bereich der *Computational Biology*,

wie sie in diesem Verbund stattgefunden haben.^{4,5} Für die Entwicklung neuer Wirkstoffe konnten ebenfalls neue Verfahren erarbeitet werden. Eines dieser Verfahren ermöglicht die gezielte Suche nach Wirkstoffen, die in einer neuartigen Weise an die Zielmoleküle binden, sogenannte allosterische Inhibitoren.⁶ Es wird nun bereits eingesetzt für die Suche nach neuartigen allosterischen Verbindungen zur Hemmung von Eiweißen, die durch ganz bestimmte Mutationen in Tumorzellen aktiviert sind. Die Suche nach neuen Wirkstoffen, ein zentrales Element dieses Verbundes, ist somit deutlich erleichtert worden.

Schließlich müssen alle diese Entwicklungen in klinischen Studien überprüft werden. Hier konnte in unserem Verbund in einem multidisziplinären Team jüngst eine Studie abgeschlossen werden, bei der die molekulare Analyse von Tumoren Hand in Hand ging mit einem neuen Verfahren zur Bildgebung. Diese integrierten Ansätze sind nun ebenfalls Bestandteil der klinischen Prüfung von FGFR Inhibitoren bei Patienten mit FGFR1-amplifizierten Lungentumoren.

Expertise im Verbund

Verschiedenste Expertisen werden in diesem kollaborativen Netzwerk gebündelt, ausgehend von Krebsgenomanalysen über die Erfassung und Prozessierung der immensen entstehenden Datenmengen, welche die Erstellung von rechnergestützten Ansätzen für komplexe Datenanalyse erfordern,⁷ erfolgen zudem Untersuchungen an den gestörten Signalwegen innerhalb von Zelllinien.

Komplexe chemische Synthesen zur Herstellung neuer Hemmstoffe werden ebenfalls durchgeführt. Diese können im weiteren Verlauf⁸ zur Testung an ausgewählten Patientengruppen mit charakteristischen genomischen Veränderungen benutzt werden und im optimalen Fall zu einem neuen Medikament führen.

Zusammenfassend haben wir in diesem Verbund mehrere Kernplattformen etabliert, die synergistisch bereits zu relevanten Erkenntnissen über genetisch fixierte Veränderungen in der Signalwegübertragung humaner Tumorerkrankungen geführt haben.

REFERENZEN

- Sos ML, Fischer S, Ullrich R, ... Wong KK, Pao W, Thomas RK (2009) *Proc Natl Acad Sci USA* 106(43):18351-6; doi: 10.1073/pnas.0907325106
- Cirstea IC, ... Wittinghofer A, Ahmadian MR, ... Zenker M (2010) *Nat Genet* 42, 27-29; doi:10.1038/ng.497
- Sos ML, Michel K, Zander T, ... Meyerson M, Wong KK, Thomas RK (2009) *J Clin Invest* 119 (6): 1727-40; doi: 10.1172/JCI37127.
- Altmann A, Tolosi L, Sander O, Lengauer T (2010) *Bioinformatics* 26(10), 1340-1347; doi:10.1093/bioinformatics/btq134
- Netzer C, Rahnenführer J (2010) *International Journal of Computational Bioscience*, im Druck
- Simard JR, ... Rauh D (2009) *Nat Chem Biol* 5(6):394-6; doi:10.1038/nchembio.162
- Peifer M, Weiss J, Sos ML, ... Rauh D, Rahnenführer J, Thomas RK (2010) *PLoS One* 5, e8919; doi: 10.1371/journal.pone.008919
- Sos ML, Rode HB, Heynck S, ... Greulich H, Thomas RK, Rauh D (2010) *Cancer Res* 70, 868-74; doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-3106

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08100-01GS08104, 01GS08119

NEUROLOGISCHE ERKRANKUNGEN

Neurologische Erkrankungen sind oft komplex

Neurologische Erkrankungen können sowohl das zentrale Nervensystem (also Gehirn und/oder Rückenmark) als auch das sogenannte periphere Nervensystem (z. B. Nerven, die zu den Muskeln, der Haut oder den inneren Organen bzw. von ihnen weg führen) betreffen. Mögliche Folgen sind Schmerzen, Unruhe, Koordinationsstörungen und vieles mehr. Bestimmte neurologische Erkrankungen des Gehirns verursachen zudem psychische Beeinträchtigungen wie beispielsweise Bewusstseinsstörungen oder Depressionen bei den Betroffenen.

Risikogene kennen heißt Angriffspunkte aufdecken

Bereits 1993 wurde mit einer Variante des Gens *ApoE* (Apolipoprotein E) ein erster wichtiger genetischer Risikofaktor für die Alzheimer-Krankheit identifiziert. Unter der Beteiligung von Wissenschaftlern aus dem NGFN konnten unter anderem zwei weitere relevante Genvarianten entdeckt werden, die ein erhöhtes Alzheimer-Risiko bewirken. Gelänge es, diese Risikovarianten der Gene *CLU* (Clustrin) und *PICALM* (für engl. *phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein*) stillzulegen, so könnte man mehr als zehn Prozent der zukünftigen Alzheimer-Patienten schützen. Dieses Beispiel zeigt, dass durch die Identifizierung neuer Risikogenvarianten nicht nur eine verbesserte Prognose möglich wird, sondern auch neue Ziele für eine medizinische Behandlung aufgedeckt werden können.

Auch zahlreiche andere wichtige neurologische Erkrankungen wurden von NGFN-Forschern erfolgreich untersucht. Beispielsweise wurde eine Genvariante entdeckt, die eine bestimmte Form der Epilepsie auslöst, die insbesondere Kinder betrifft. Die Epilepsie ist eine der häufigsten neurologischen Erkrankungen in Deutschland. Zwischen fünf und zehn Personen pro 1.000 Einwohner sind betroffen.

Schädel; Magnetresonanztomographie, © KK Recklinghausen



Prof. Dr. Thomas Gasser
Hertie-Institut für klinische Hirnforschung Tübingen, Koordinator des NGFN-Verbunds Parkinson

Ein GAU im Zellkraftwerk als Ursache für die Parkinson-Krankheit

Die Parkinson-Krankheit, im Volksmund Schüttellähmung, gehört zu den häufigsten Erkrankungen des Nervensystems. Betroffen ist jene Schaltzentrale im Gehirn, die für unsere Bewegungen zuständig ist. Zwar sind die Ursachen der Krankheitsentstehung weitgehend unklar, doch scheinen wichtige Zellbestandteile namens Mitochondrien von großer Bedeutung zu sein. Die derzeit noch unheilbare Krankheit wird immer besser verstanden und damit die entscheidende Grundlage für zukünftige Therapien gelegt.

Mitochondrien sind die Kraftwerke der Zelle. Sie decken vor allem in Nervenzellen den enormen Energiebedarf des Gehirns.

In der inneren mitochondrialen Membran läuft eine der gefährlichsten biochemischen Reaktionen ab, eine höchst kontrollierte Form der Knallgasreaktion. Die kleinste Unregelmässigkeit führt zu katastrophalen Folgen für die Zelle, bis hin zu einer tödlichen Energiekrise. Im schleichenden Verlauf der häufigen neurodegenerativen Krankheiten sammeln sich auch toxische Abfallprodukte an in Form von freien Sauerstoffradikalen. Diese führen zu Schädigungen des einzigartigen mitochondrialen Erbguts, zu spröden biologischen Membranen und zu kaputten Eiweissmolekülen.

Gerade bei der Parkinson-Krankheit gibt es unmittelbare Bezüge zur Regulation von Mitochondrien-Funktion, -Form und -Umsatz. Diese werden intensiv im Verbund Parkinson an mehreren Standorten (Tübingen, München, Lübeck) untersucht. Diese hochvernetzte Forschung führte bereits zu entscheidenden neuen Erkenntnissen zur Molekulargenetik der Parkinson-Krankheit.

Ausgehend von revolutionären Ergebnissen in Fliegenmodellen im Jahr 2006 konnte die wichtige Rolle der



Prof. Dr. Philipp Kahle erforscht die Bedeutung von PINK1 und Parkin in Mitochondrien.

beiden Parkinson-relevanten Proteine PINK1 und Parkin für Mitochondrien in Säugerzellen dokumentiert und mechanistisch aufgeklärt werden.

Am Münchner Lehrstuhl von Prof. Haass gelang das gezielte Zerstören von PINK1 und Parkin Boten-Ribonukleinsäure (RNA) durch das kürzlich entwickelte Verfahren der RNA-Interferenz in Säugerzellen, was zu einer Zerstückelung der Mitochondrien führte.^{1,2} Mit Hilfe von Frankfurter und Tübinger klinisch-genetischen Gruppen konnte dies auch direkt in Zellen von Patienten, die Mutationen im PINK1-Gen trugen, bestätigt werden.¹ Den Lübecker Kollegen gelang der gleiche Nachweis mit Zellen von Patienten, bei denen das Parkin-Gen verändert war.³

Die PINK1-Parkin-Schiene reguliert aber nicht nur die Form, sondern auch den Abbau geschädigter Mitochondrien. Die Tübinger Arbeitsgruppe um Dr. Springer und Prof. Kahle konnte in einer Reihe durchdachter Experimente einen völlig neuen Mechanismus aufzeigen.

Gesamthaft ist die Erforschung der mitochondrialen Pathophysiologie ein Schlüssel zu den molekularen und zellulären Mechanismen verschiedener neurodegenerativer Krankheiten.

Wenn in Zellen experimentell aufgrund einer Zugabe von Giften das mitochondriale Membranpotential zusammenbricht, vollführt PINK1-Parkin eine Abwehr-Reaktion über neuartige Ubiquitylierungen bestimmter mitochondrialer Oberflächenproteine.⁴

So werden geschädigte Mitochondrien dem Selbstverdauungssystem (Autophagie) der Zelle kenntlich und unschädlich gemacht. Parkinson-assoziierte PINK1- und Parkin-Mutationen beeinträchtigen diese Funktion.



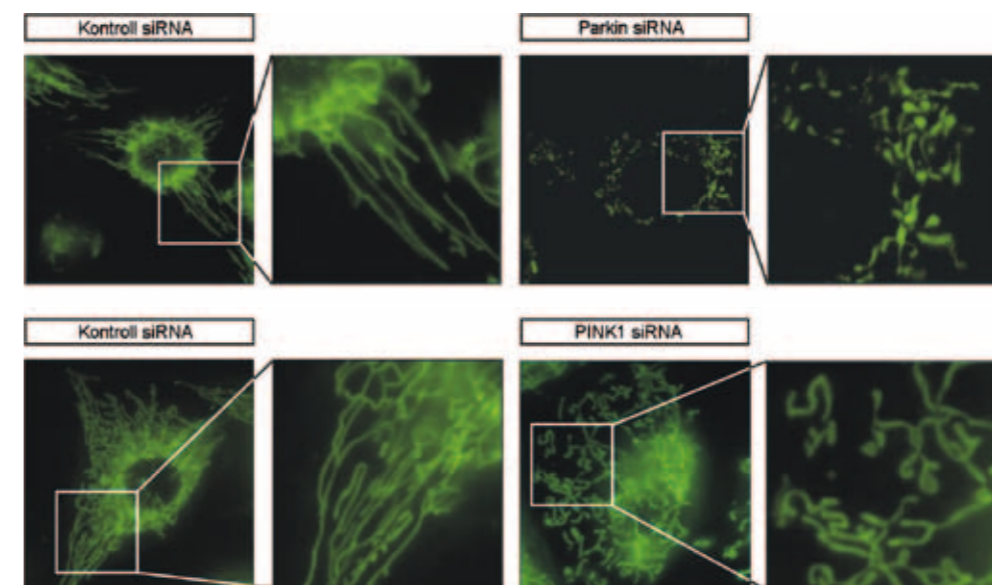
Dr. Guido Krebiehl und Emmy Rannikko, hier bei Analysen auf Proteinebene.

Ein Verlust dieser eminenten Rolle durch genetische Aberrationen oder vielleicht auch durch Umweltgifte trägt zur Pathogenese der Parkinson-Krankheit bei.

Darüber hinaus spielt auch ein weiteres, in Tübingen von der AG um Dr. Krebiehl und Prof. Krüger entdecktes und mit der Parkinson-Krankheit assoziiertes mitochondriales Gen (Omi/HtrA2) eine Rolle bei der Regulation der Form und Funktion von Mitochondrien.

Gerade bei der Parkinson-Krankheit gibt es unmittelbare Bezüge zur Regulation von Mitochondrien-Funktion, -Form und -Umsatz.

So konnte kürzlich gezeigt werden, dass das Fehlen von Omi/HtrA2 abnorme Mitochondrien verursacht, deren Formänderung zu Veränderungen des mitochondrialen Elongationsfaktors OPA1 führt,⁵ welches wiederum genetisch an degenerative Blindheit gekoppelt ist.



Der Funktionsverlust von Parkin und PINK1 hat deutliche Veränderungen der mitochondrialen Gestalt zur Folge. In humanen Zellen wurde die Bildung der Proteine Parkin bzw. PINK1 mittels RNA-Interferenz gehemmt und anschließend die Mitochondrien durch einen Farbstoff grün angefärbt. In Kontrollzellen mit normalen Mengen an Parkin oder PINK1 zeigt sich ein Netzwerk an schlauchförmigen Mitochondrien, während Zellen mit Mangel an Parkin oder PINK1 durch fragmentierte Mitochondrien charakterisiert sind.

Gesamthaft ist die Erforschung der mitochondrialen Pathophysiologie ein Schlüssel zu den molekularen und zellulären Mechanismen verschiedener neurodegenerativer Krankheiten. Neue Erkenntnisse aus dem Verbund Parkinson deuten auf neue Kandidatengene.

Die Bedeutung dieser molekular-genetischen Arbeiten beschränkt sich nicht nur auf die relativ seltenen, familiären Formen der Parkinson-Krankheit. Es gibt auch zunehmende Hinweise, dass die klassischen krankheitsverursachenden Gene auch genetische Risikofaktoren für die sporadische Form sind, der keine familiäre Vorbelastung zugrunde liegt. Unsere neuen Erkenntnisse versprechen somit neuartige therapeutische Ansätze für die nach wie vor unheilbare, tragisch häufige Parkinson-Krankheit.

REFERENZEN

- Exner N, Treske B, Paquet D, Holmström K, Schiesling C, Gispert S, Carballo-Carbajal I, Berg D, Hoepken HH, Gasser T, Krüger R, Winklhofer KF, Vogel F, Reichert AS, Auburger G, Kahle PJ, Schmid B und Haass C (2007) *J Neurosci* 27, 12413-12418; doi:10.1523/JNEUROSCI.0719-07.2007
- Lutz AK, Exner N, Fett ME, Schlehe JS, Kloos K, Lammermann K, Brunner B, Kurz-Drexler A, Vogel F, Reichert AS, Bouman L, Vogt-Weisenhorn D, Wurst W, Tatzelt J, Haass C und Winklhofer KF (2009) *J Biol Chem* 284, 22938-22951; doi: 10.1074/jbc.M808515200
- Rakovic A, Grünwald A, Seibler P, Ramirez A, Kock N, Orolicki S, Lohmann K und Klein C (2010) *Hum. Mol. Genet.*; doi:10.1093/hmg/ddq215
- Geisler S, Holmstrom KM, Skujat D, Fiesel FC, Rothfuss OC, Kahle PJ und Springer W (2010) *Nat. Cell Biol.* 12, 119-131; doi:10.1038/ncb2012
- Kieper N, Holmström KM, Ciceri D, Fiesel FC, Wolburg H, Ziviani E, Whitworth AJ, Martins LM, Kahle PJ und Krüger R (2010) *Exp. Cell Res.* 316, 1213-1224; doi:10.1016/j.yexcr.2010.01.005

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08134-01GS08143, 01GS08174, 01GS08190



Prof. Dr. med. Matthias Riemenschneider
Universität des Saarlandes, Koordinator des NGFN-Verbunds Alzheimer

Alzheimer-Demenz: Fortschritt gegen das Vergessen

Die Alzheimer-Krankheit ist eine Alterserkrankung, die schwere neuronale Schäden verursacht. Je fortgeschrittener die Symptomatik, desto stärker sind die Patienten auf Unterstützung angewiesen. Typische Kennzeichen sind Störungen des Gedächtnisses, des Denk- und Urteilsvermögens sowie Persönlichkeitsveränderungen. Nun konnten zahlreiche neue Ansätze zur Verbesserung der Therapie bzw. als vorbeugende Maßnahmen zur Verhinderung des derzeit noch unheilbaren Leidens auf den Weg gebracht werden.

Die Alzheimer-Krankheit

Die Alzheimer-Krankheit (AK) ist die häufigste neurodegenerative Erkrankung, die zur Entwicklung einer Demenz führt. Zwei auffällige Veränderungen im Gehirn – die Ablagerung von beta-Amyloid-Peptiden zu sogenannten Plaques und die Bildung von Neurofibrillen in den Nervenzellen – führen zu einem langsamen Absterben von Nervenzellen. Infolge dieses Verlustes an Nervenzellen kommt es zu den bekannten Symptomen der AK wie z. B. nachlassende Lern- und Gedächtnisleistungen und Orientierungsstörungen.

Die Häufigkeit der Erkrankung nimmt mit dem Alter zu, während bei den über 65-Jährigen etwa 5 % betroffen sind, erkranken bis zu 40 % bei den über 85-Jährigen. In Deutschland leiden derzeit etwa 1 Million Personen unter der AK. Aufgrund der zukünftigen demographischen Entwicklung wird sich die Zahl der Patienten in den kommenden Jahrzehnten sogar verdoppeln.

Zur Lösung dieses Dilemmas ist es daher notwendig, die der Erkrankung zugrunde liegenden biologischen Mechanismen zu verstehen und die erworbenen Kenntnisse konsequent zur Entwicklung von neuen therapeutischen Interventionen zu nutzen.



Automatisierung im Labor, Vorbereitung genetischer Untersuchungen mittels Pipettier-Roboter (Thomas Feulner, Cynthia Schiller).

Das primäre wissenschaftliche Ziel dieses Forschungsverbundes liegt daher in der Untersuchung und Aufklärung der Pathomechanismen, die mit der Entwicklung der AK assoziiert sind, um ein umfassendes Verständnis der genetischen Faktoren und biologischen Prozesse auf molekularer, zellulärer und tierexperimenteller Ebene zu erlangen. Nur über diesen Ansatz wird es möglich sein, in absehbarer Zukunft neue therapeutische Interventionen, aber auch verbesserte diagnostische Verfahren zu entwickeln und in die unmittelbare klinische Anwendung umzusetzen.

Die Alzheimer-Krankheit ist die häufigste neurodegenerative Erkrankung, die zur Entwicklung einer Demenz führt.

Der Verbund Alzheimer

Der Verbund Alzheimer besteht aus insgesamt zehn Teilprojekten (TP), davon neun wissenschaftliche TP und ein wissenschaftliches Koordinations-Büro.

Zu den wissenschaftlichen TP gehören zwei genetische TP, die sich mit der Sammlung und klinischen Charakterisierung von Patienten (TP1: Prof. Dr. M. Riemenschneider, Univ. d. Saarlandes, Homburg), der Identifikation von genetischen/epigenetischen Faktoren bei sporadischen und familiären Formen der AK (Prof. Dr. M. Riemenschneider, TP2: Dr. L. Bertram/Dr. S. Krobitsch, MPI molekulare Genetik, Berlin) mit Hilfe genomweiter Ansätze beschäftigen.

Die funktionelle Charakterisierung der identifizierten Gene erfolgt auf molekularer, zellulärer und tierexperimenteller Ebene in Kooperation mit den jeweiligen Verbundpartnern. Die molekularbiologisch-funktionell orientierten Teilprojekte untersuchen und charakterisieren Proteine, Enzyme und zelluläre Regelkreise, die für die Entstehung der AK eine zentrale Rolle spielen. Im Fokus

liegen hierbei insbesondere die Funktionsaufklärung des Amyloid-Vorläuferproteins (TP4: Prof. Dr. U. Müller, Univ. Heidelberg) sowie die Untersuchung der Amyloid-Vorläuferprotein-Prozessierung und deren Modulation durch die Alpha-Sekretase (TP6: Dr. K. Endres, Univ. Mainz), der Beta-Sekretase (TP3a: Prof. Dr. C. Haass, LMU München und TP3b: Dr. A. Garratt, MDC, Berlin) sowie der Gamma-Sekretase und deren Regulation über Lipide/Sphingolipide (TP5: Prof. Dr. T. Hartmann, Univ. d. Saarlandes, Homburg).

Die Erforschung der Pathomechanismen, die zur zerebralen Amyloid-Angiopathie (Ablagerung von Beta-Amyloid in den Wänden der Blutgefäße) führen und dem hiermit verbundenen Risiko von zerebralen Blutungen, ist für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze von essentieller Bedeutung (TP7: Prof. Dr. M. Jucker, Hertie-Institut, Tübingen).

Im Teilprojekt 8 von Prof. Dr. E. Wanker (MDC, Berlin) wird unter Verwendung von Hochdurchsatzverfahren nach Modulatoren der Alzheimer-Pathogenese gesucht und die Identifikation von Protein-Protein-Interaktionen verfolgt. Die Generierung von Tiermodellen, tierexperimentelle Untersuchungen zur Funktion neu identifizierter Gene auf molekularer und verhaltensbiologischer Ebene sowie die Charakterisierung von Interaktionspartnern und biologischen Regelkreisen erfolgen im Teilprojekt 9 von Prof. Dr. W. Wurst (Helmholtz Zentrum, München).

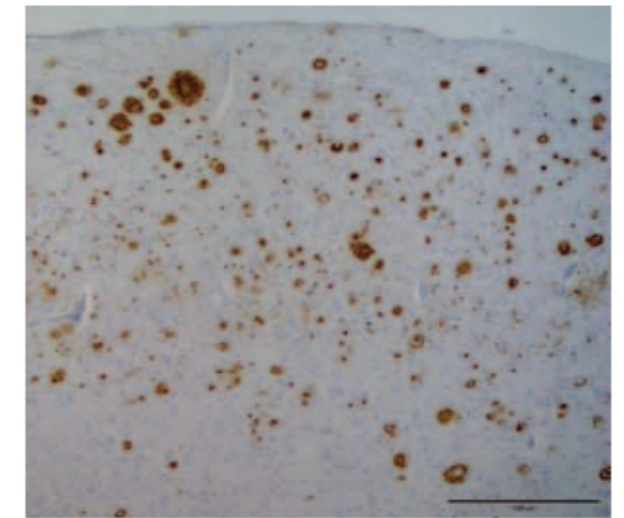


Laborbesprechung von Mitarbeitern der Arbeitsgruppen Riemenschneider und Hartmann (Dr. Marcus Grimm, Thomas Feulner, Sven Grösgen, Dr. Manuel Mayhaus, Verena Burg).

Ergebnisse

Durch die enge Zusammenarbeit konnten bereits zahlreiche neue genetische Mechanismen und Risikofaktoren identifiziert, wie auch deren Einfluss auf die Entstehung der Erkrankung detailliert untersucht werden. Besondere Highlights des Verbundes stellen die Identifikation und Aufklärung der Rolle von Lipiden und Sphingolipiden (wichtige Bestandteile der Zellmembran) bei der Entstehung der AK dar, deren Modulation durch Omega-3 Fettsäuren im Rahmen von präventiv therapeutischen Ansätzen derzeit klinisch erprobt wird (TP1 und TP5).

Weiter konnten bedeutende Ergebnisse zur Funktion und Regulation der beiden wichtigen Enzyme, Alpha-



Humaner Hirngewebschnitt mit typischen Amyloid-Plaques, die braun angefärbt sind.

(TP6) und Beta-Sekretase (TP3a,b) sowie zu deren physiologischen Substraten gewonnen werden. Beide Ansätze bilden die Basis für zukünftige, aber auch derzeit laufende therapeutische Ansätze (TP6).

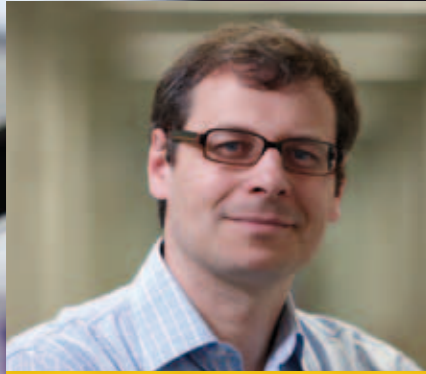
Ebenfalls von therapeutischer Bedeutung ist die Identifikation eines Inhaltsstoffes aus dem Grünen Tee, der die Fibrillenbildung der beta-Amyloid-Peptide und somit möglicherweise den beta-Amyloid vermittelten Nerven-zelluntergang verhindern kann (TP8).

Infolge eines langsamen Absterbens der Nervenzellen kommt es zu den bekannten Symptomen wie nachlassende Lern- und Gedächtnisleistungen und Orientierungsstörungen.

Wichtige Erkenntnisse zur Funktion des Amyloid-Vorläuferproteins (APP) und einem diesem sehr ähnlichen Protein (APPLP2) und deren Bedeutung für Lern- und Gedächtnisprozesse konnte erstmals sehr detailliert im Rahmen des TP4 identifiziert werden.

Ebenso von großem Interesse sind die Ergebnisse aus TP7, welche auf ein verbessertes Verständnis der Mechanismen abzielen, die zu der Ablagerung von beta-Amyloid in kleinen zerebralen Blutgefäßen führen. Risse dieser Gefäße und Blutungen stellen schwerwiegende Komplikationen aktueller therapeutischer Ansätze bei der AK dar, wie z. B. der Impfung.

Im TP9 wurden erfolgreich mehrere Tiermodelle zu den neu identifizierten Risikogenen bei sporadischen Formen der AK generiert. Anhand dieser Modelle werden derzeit die Funktion und mögliche therapeutische Interventionen eingehend untersucht.



Prof. Dr. Erich E. Wanker
Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin, Koordinator des NGFN-Verbunds NeuroNet (Netzwerke neurodegenerativer Erkrankungen)

Proteinablagerungen sorgen für Störfälle im Gehirn

Es gibt verschiedene Gründe, aus denen sich Proteine ansammeln und zu zellschädigenden Aggregaten werden können. Sind Nervenzellen von solchen Vorgängen betroffen, so kann dies zu Störungen in den komplizierten neuronalen Abläufen führen und gravierende Auswirkungen haben. Derartige Prozesse sind Ursache mehrerer neurodegenerativer Erkrankungen. Dies macht den Ansatz, die biologischen Netzwerke der relevanten Proteine krankheitsübergreifend zu untersuchen, besonders vielversprechend.

Herr Prof. Wanker, was ist der Grundgedanke hinter dem Verbund NeuroNet?

Der Grundgedanke ist, dass neurodegenerative Erkrankungen auffällige Gemeinsamkeiten aufweisen, sowohl was die Symptome betrifft, als auch was die Prozesse angeht, die im Gehirn gestört sind.

Können Sie dafür ein Beispiel anführen?

Patienten mit Parkinson, Chorea Huntington, ALS – also der Amyotrophen Lateralsklerose – oder Ataxien leiden alle unter Bewegungsstörungen und zunehmenden kognitiven Störungen.

Im Gehirngewebe kommt es bei allen diesen Erkrankungen zur Ablagerung von fehlgefalteten Proteinen. Bei allen gibt es auch Hinweise, dass das Ubiquitin-Proteasom-System gestört ist.



Dr. Eike Spruth und Prof. Dr. Josef Priller betreuen zahlreiche Patienten mit neurodegenerativen Erkrankungen und sind wichtige klinische Partner des Verbunds.

Was bedeutet das?

Dieses System ist das Entsorgungssystem für Proteine, die in der Zelle nicht mehr gebraucht werden. Etwa, weil sie ihre Funktion erfüllt haben oder auch, weil sie durch eine Fehlfaltung nicht funktionell sind. Ein weiteres Beispiel wäre, dass bei allen neurodegenerativen Krankheiten das Chaperon-System aus dem

Gleichgewicht gerät, also das System, das den Proteinen hilft, ihre korrekte und damit funktionelle Faltung einzunehmen.

Könnte man sagen, das Qualitätskontrollsystem der Zelle bei der Herstellung, beim Einsatz und bei der Entsorgung der Genprodukte ist gestört?

Richtig. Der Hauptrisikofaktor für das Auftreten von neurodegenerativen Prozessen ist jedoch Alterung.

Neurodegeneration: Fehlerhafte Proteine überfordern die zellulären Entsorgungssysteme

Wie müssen wir uns das vorstellen und warum passiert das?

Beim Altern verringert sich die Effizienz aller Prozesse in der Zelle. Alle zellulären Abläufe werden von Proteinen gesteuert.

Es gibt Hinweise, dass Proteine mit dem Älterwerden nicht mehr so effizient und korrekt produziert werden. Die Genexpression scheint sich zu verringern und fehleranfälliger zu werden. Vereinfacht gesagt, kommt es also zu einer Art Ermüdung der Prozesse. Was aber auf molekularer Ebene genau passiert, kann die Forschung noch nicht restlos beantworten.

Wo setzt nun der Verbund NeuroNet an?

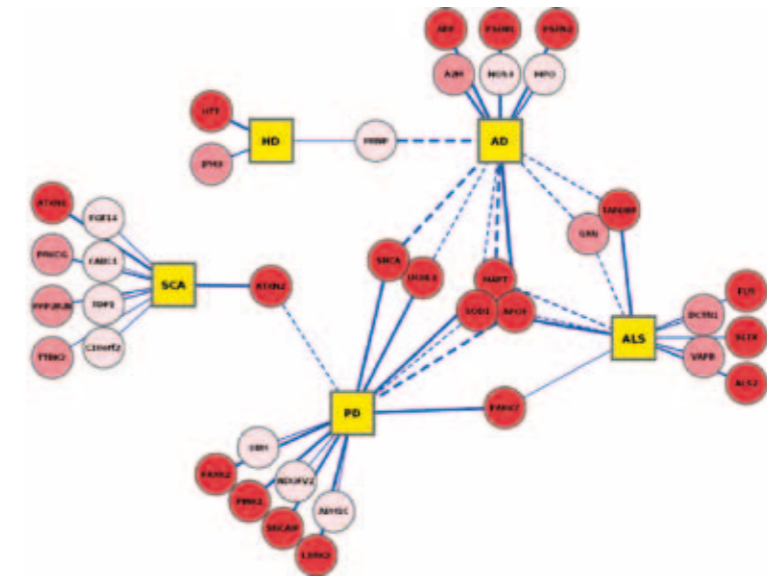
NeuroNet will mit Hilfe eines netzwerkbiologischen Ansatzes die Gemeinsamkeiten und Unterschiede verschiedener neurodegenerativer Krankheiten identifizieren, um über diesen Vergleich die molekularen Mechanismen dahinter verstehen zu lernen.

Was muss man sich unter Netzwerkbiologie vorstellen?

Die Netzwerkbiologie interessiert sich für die Zusammenhänge zwischen vielen Komponenten biologischer

Systeme, anstatt diese Komponenten einzeln zu untersuchen. Wir testen also systematisch, welche Interaktionspartner die Proteine haben, die bei neurodegenerativen Erkrankungen eine zentrale Rolle spielen. Wir stellen z. B. ein Netzwerk aller Proteine her, die zur Protein-Entsorgung der Zelle gehören. Traditionell würde man einzelne Komponenten im Detail untersuchen und weniger die Zusammenhänge zwischen den Komponenten.

Alle Verbundpartner haben dann mit den verschiedenen Techniken, die ihnen zur Verfügung stehen, die Interaktionspartner dieser Proteine identifiziert. Die Bioinformatiker im Projekt integrieren und analysieren diese Interaktionsdaten und zeichnen ein Netzwerk der Zusammenhänge. Die NeuroNet-Forscher, die auf Signalwege spezialisiert sind, führen Störungen herbei, um zu sehen, wie sich die Zusammenhänge zwischen den Proteinen



Verschiedene neurodegenerative Leiden stehen unter dem Einfluss ähnlicher molekularer Zusammenhänge. Die NeuroNet-Forscher zeichnen Netzwerke, die zeigen, dass Alzheimer (AD), Parkinson (PD), Huntington (HD), Amyotrophe Lateralsklerose (ALS) und Ataxie (SCA) über Proteine miteinander verbunden sind. (© M. Andrade-Navarro, MDC)

NeuroNet: Ein Verbund erforscht biologische Netzwerke

Das bringt uns zur Struktur von NeuroNet: Wie wurde der Verbund organisiert, um sicherzustellen, dass man zuletzt tatsächlich relevante Gemeinsamkeiten zwischen den neurodegenerativen Erkrankungen erkennen kann?

Die Beteiligten haben zuerst gemeinsam die wichtigsten Proteine, also man könnte sagen die wichtigsten Akteure, definiert, die bei den zu Anfang genannten Erkrankungen eine zentrale Rolle spielen.



NeuroNet-Technikerin Dana Rotte überprüft den Roboter, der systematisch die Wechselwirkungen zwischen tausenden von Proteinen untersucht.

verändern und beeinflussen lassen. Die klinischen Forscher im Projekt haben aus Blut von Patienten Zelllinien hergestellt, die diese Proteine produzieren. Sie werden mit Zelllinien von Gesunden verglichen.

Im Arbeitsablauf von NeuroNet sieht das so aus: Zuerst stellen wir ein dichtes Proteinnetzwerk mit verschiedenen Methoden her. Dann bringen wir in Zellmodellen diese Netzwerke durcheinander. Daran können wir ablesen, welche Zusammenhänge für das Entstehen der Neurodegeneration wichtig sind.

Das Endziel von NeuroNet ist es, neue Zielstrukturen für Medikamente zu finden, also eine Antwort auf die Frage: Welchen Proteinzusammenhang sollen wir mit Wirkstoffen ansteuern, um neurodegenerativen Prozessen entgegenzuwirken?

REFERENZEN

Bieschke J, Russ J, Friedrich R, Ehrnhoefer D, Wobst H, Neugebauer K, und Wanker, EE (2009) *PNAS* 107(17), 7710-7715; doi:10.1073/pnas.0910723107
Venkatesan K, Rual J-F, Vazquez A, Stelzl U, ... Wanker EE, Barabási A-L, and Vidal M (2009) *Nature Methods* 6(1), 83-90; doi:10.1038/nmeth.1280
Palidwor GA, Shcherbinin S, Huska MR, Rakso T, Stelzl U, Arumughan A, Foulle R, Porras P, Sanchez-Pulido L, Wanker EE, and Andrade-Navarro MA (2009) *PLoS Comput. Biol.* 5(3), e1000304; doi:10.1371/journal.pcbi.1000304

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0844, 01GS08169-01GS08173



Prof. Dr. med. André Reis
Universität Erlangen-Nürnberg
Koordinator des NGFN-Verbunds
MRNET

Genetische Grundlagen kognitiver Behinderungen aufdecken

Als kognitive Fähigkeiten bezeichnet man Vorgänge wie Wahrnehmen und Erkennen, Lernen und Denken, Urteilen und Vorstellungsvermögen. Die medizinischen Möglichkeiten, die zur Behandlung der vorwiegend genetischen Ursachen zur Verfügung stehen, sind derzeit noch gering. Dies soll sich durch neue umfassende genetische Studien ändern, da neue Erkenntnisse zeigen, dass kognitive Defekte durch die medikamentöse Beeinflussung der defekten Signalkaskade einer ursächlichen Therapie zugänglich sind.

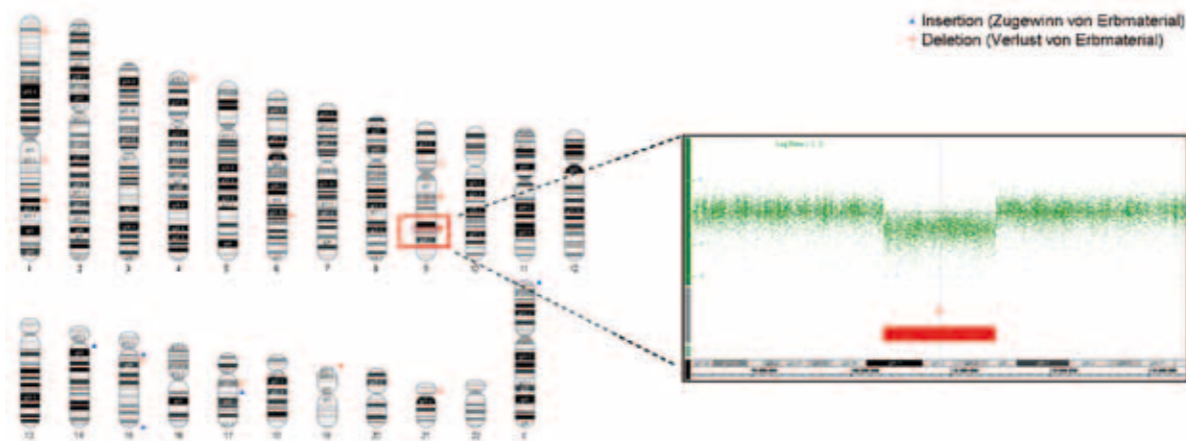
Mentale Retardierung (MR) oder geistige Behinderung ist definiert als substantielle Beeinträchtigung der kognitiven und adaptiven Fähigkeiten vor dem 18. Lebensjahr. Sie betrifft etwa 2-3 % der Bevölkerung und gehört zu den großen ungelösten Problemen in der Medizin. Die wissenschaftlichen Fortschritte der letzten Jahre haben gezeigt, dass genetische Faktoren, d.h. Chromosomenstörungen und Einzelgendefekte, bei der Entstehung der MR eine wesentliche Rolle spielen.

Der Forschungsverbund *German Mental Retardation Network* (MRNET) widmet sich seit April 2008 erstmals der systematischen Erforschung der genetischen Grundlagen von MR. Das MRNET vereint klinisch-genetische Expertise mit einer systematischen Genomanalyse und funktionellen Analysen. Hierzu kooperieren Forscher und Ärzte an sieben deutschen Universitäten, einem Institut der Max-Planck-Gesellschaft, einem Forschungszentrum der Helmholtz-Gemeinschaft sowie der Universität Nijmegen (Niederlande).

Ziel ist nicht nur die Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten für die Betroffenen und deren Familien, sondern auch ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge bei Denk- und Lernvorgängen als Voraussetzung für die Entwicklung wirksamer Therapien.

Klinische Genetik, Genomanalyse und kognitive Funktion

In einer multizentrischen Studie wurden bereits über 2.200 Patienten aus ganz Deutschland zusammengeführt und systematisch klinisch und genetisch nach einem einheitlichen Verfahren untersucht, so dass Zentrenübergreifende Vergleiche möglich sind. Eine wesentliche Strategie des Projektes basiert auf der Genomanalyse mittels moderner *Microarray*-Verfahren (siehe Seite 82), welche den Nachweis kleinster Zugewinne oder Verluste von genetischem Material erlauben (siehe Abbildung).



Molekulares Karyogramm einer Patientin mit Mentaler Retardierung. Rote bzw. blaue Pfeile markieren chromosomale Regionen, in denen Verluste oder Zugewinne von Erbmaterial festgestellt wurden. Die Abweichung der Punkte von der Grundlinie nach unten (rot eingekästelt) zeigt eine große Deletion (Verlust von genetischem Material) auf dem Chromosom 9.

Bei etwa 15 % der Patienten werden so neu entstandene submikroskopische Veränderungen der Chromosomen nachgewiesen. Die gezielte Analyse der von diesen genomischen Aberrationen betroffenen Gene führte bereits zur Entdeckung mehrerer MR-Gene.^{1,3,4}

Die wissenschaftlichen Fortschritte der letzten Jahre haben gezeigt, dass genetische Faktoren, d.h. Chromosomenstörungen und Einzelgendefekte, bei der Entstehung der Mentalen Retardierung eine wesentliche Rolle spielen.

Bei Familien mit mehreren betroffenen Kindern können Kandidatengene über die Bestimmung des Genortes durch den Vergleich genetischer Marker innerhalb der Familie (Kopplungsanalyse) ermittelt werden. Bisher wurden Kopplungsanalysen an über 90 Familien durchgeführt, jeweils gekoppelte Genorte lokalisiert und mehrere autosomal rezessive MR-Gene neu identifiziert. Außerdem wird bei einem Teil der Patienten eine Komplettssequenzierung von großen Teilen des Genoms mit Hilfe hochmoderner Sequenzierungstechnologien durchgeführt. Erste Erfolge wurden bereits bei der Sequenzierung des X-Chromosoms bei Familien mit geschlechtsgebunden vererbter MR erzielt.²



Dr. Arif Keci beim Vorbereiten einer Genomanalyse mittels *Microarray*.

Die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen den jeweiligen Gendefekten und der Symptomatik der Patienten ermöglicht es, die medizinische Bedeutung dieser neuen Krankheitsentitäten zu erkennen und deren Verlauf zu verstehen. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse haben einen unmittelbaren Nutzen für den klinischen Alltag und dienen der Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten und des therapeutischen Verständnisses. Für die Patienten entsteht dabei auch ein unmittelbarer

Nutzen, da entsprechend der jeweiligen Diagnose mögliche Komplikationen antizipiert und diesen entsprechend durch Vorsorgeuntersuchungen vorgebeugt werden kann. Für die Angehörigen erlaubt diese genauere Kenntnis über die Ursache einer geistigen Behinderung eine bessere Verarbeitung der Lebenssituation und auch Klarheit darüber, ob es sich um ein zufällig neu entstandenes Ereignis oder eine vererbte Erkrankung handelt.

Neben der Aufklärung der Ursachen (Ätiologie) zielt MRNET auch auf das Verständnis der molekularen Vorgänge (Pathogenese) der Erkrankung. Die Funktion der identifizierten Kandidatengene und der jeweiligen Signalwege werden sowohl in zellbiologischen Ansätzen als auch im Tiermodell untersucht, insbesondere in der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*. Erste Beispiele der erfolgreichen Analyse neuer Gene liegen bereits vor,³ weitere Kandidatengene werden derzeit detailliert auf ihre Funktion in der Fliege untersucht. Diese Erkenntnisse sind auch die Grundlage für die Erforschung neuer therapeutischer Strategien.

Ausblick

Die Zusammenführung von klinisch-genetischer Expertise mit neusten Techniken der Genomforschung und der Zellbiologie erlaubt einen Quantensprung in der Aufklärung der genetischen Ursachen und der Entschlüsselung der Pathogenese der MR. Diese Erkenntnisse verbessern bereits kurzfristig Diagnostik und Beratung betroffener Familien. Darüber hinaus besteht Hoffnung, dass langfristig therapeutische Interventionen bei MR möglich sein werden.

Bereits zuvor konnte z. B. durch eine medikamentöse Therapie im Tiermodell des Fragilen X-Syndroms, einer der häufigsten mit MR assoziierten Syndrome, die Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten und des Verhaltens erreicht werden. Demzufolge werden derzeit medikamentöse Therapie-Studien auch an Menschen mit Fragilem X-Syndrom durchgeführt. Es ist zu erwarten, dass diese Ansätze zukünftig auch auf andere genetisch bedingte Ursachen der MR übertragen werden. MRNET hofft, hierzu einen Beitrag leisten zu können.

Aktuelle Informationen über MRNET sind im Internet unter www.german-mrnet.de erhältlich.

REFERENZEN

- Berkel S, Marshall CR, Weiss B, Howe J, Roeth R, Moog U et al. (2010) *Nature Genetics* 42, 489-491; doi: 10.1038/ng.589
- Hu H, Wrogemann K, Kalscheuer V, Tzschach A, Richard H, Haas SA et al. (2009) *HUGO J.* 3, 41-49; doi: 10.1007/s11568-010-9137-y
- Zweier C, de Jong EK, Zweier M, Orrico A, Ousager LB, Collins AL et al. (2009) *Am J Hum Genet.* 85, 655-666; doi: 10.1016/j.ajhg.2009.10.004
- Zweier M, Gregor A, Zweier C, Engels H, Sticht H, Wohlleber E et al. (2010) *Hum Mutat.* 31, 722-733; doi: 10.1002/humu.21253

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08160-01GS08168



Prof. Dr. med. Markus M. Nöthen
 Universitätsklinikum Bonn
 Koordinator des NGFN-Verbunds
 MoodS

Wenn Gene die Psyche beeinflussen

Bei psychischen Erkrankungen können nachweislich erbliche Veranlagungen einen starken Beitrag zur Entstehung leisten. Zwar lindert diese Erkenntnis das Leiden der Betroffenen nicht unmittelbar, doch liegt darin eine Chance, die molekularen Krankheits Hintergründe aufzuklären. Genvarianten, die in direktem Zusammenhang mit der Erkrankung stehen, also krankheitsassoziiert sind, zeigen auf, welche Mechanismen, z. B. Stoffwechselwege, eine Rolle spielen. Dies ist ein wichtiger Schritt auf dem Weg zu einer ursächlichen Behandlung.

Neuropsychiatrische Störungen zählen weltweit zu den Hauptursachen krankheitsbedingter Beeinträchtigung. Ihr Verlauf ist ganz überwiegend chronisch, also sich langsam entwickelnd bzw. lang andauernd, oder rezidivierend, das heißt durch Rückfälle gekennzeichnet. Zudem sind neuropsychiatrische Störungen mit einer erhöhten Sterblichkeit verbunden.

Der Verbund **MoodS** (abgeleitet von *Systematic Investigation of the Molecular Causes of Major Mood Disorders and Schizophrenia*) hat mit seinen 13 wissenschaftlichen Teilprojekten die systematische Aufklärung der ursächlichen Faktoren zum Ziel. Basierend auf der Kenntnis der biologischen Ursachen sollte es in Zukunft möglich sein, neue Medikamente zur effizienten Behandlung der Krankheiten zu entwickeln.

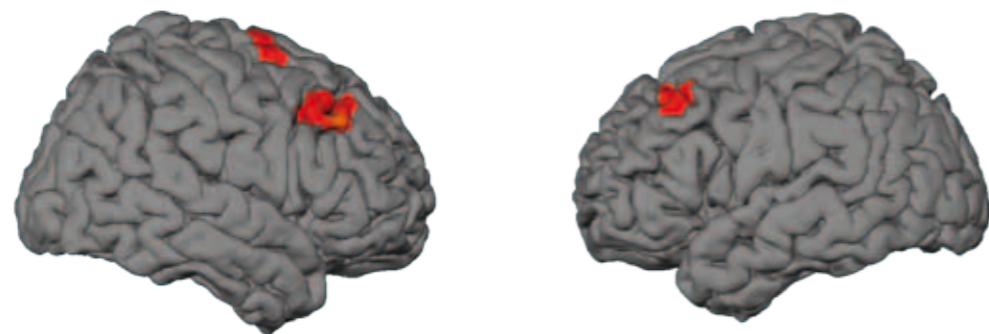
Im Zentrum von MoodS stehen genetische Untersuchungen, die mit dem Ziel durchgeführt werden, die verantwortlichen Gene auf molekularer Ebene zu identifizieren,

die zu drei der häufigsten neuropsychiatrischen Störungen beitragen: der **Depression**, Bipolar affektiven Störungen (auch **manisch-depressive Erkrankung** genannt) und der **Schizophrenie**.

MoodS baut dabei auf langjährige Vorarbeiten der beteiligten Wissenschaftler auf. So wurden in den vergangenen Jahren eine große Zahl von Patienten detailliert durch klinische Befragung und aufwändige Testverfahren untersucht sowie erste molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt.

In MoodS werden die genetischen Untersuchungen ausgedehnt mit dem Ziel, systematisch die ursächlichen Gene zu identifizieren. Dazu wird mit neuesten molekularen Verfahren (sogenannten **SNP-Arrays**, siehe Seite 82) die Variabilität des gesamten menschlichen Genoms in den Blick genommen.

Für die drei untersuchten Krankheiten liegen mittlerweile genomweite Daten von jeweils mehr als 1.500 Patienten vor. Zur weiteren Verbesserung der Aussagekraft sind



Bereiche mit geänderter Hirnfunktion (rot) bei gesunden Personen, die eine Risikovariante für Schizophrenie im Gen **ZNF804A** tragen. (aus: Esslinger, Walter, Kirsch et al. 2009) Bestimmte Bereiche des Gehirns werden bei gesunden Personen normalerweise gleichzeitig aktiviert, sie sind also funktionell gekoppelt. Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass bei Patienten mit einer manifesten Schizophrenie diese funktionelle Kopplung reduziert ist. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass bei gesunden Personen mit **ZNF804A**-Risikovariante in den hier rot markierten Bereichen eine ähnliche Reduzierung der Kopplung vorliegt wie bei schizophrenen Patienten. Diese Untersuchungen ermöglichen damit einen ersten Einblick in die Auswirkungen der **ZNF804A**-Risikovariante auf die Hirnfunktion.

internationale Meta- und Mega-Analysen von großer Bedeutung. Zum Erfolg dieser kollaborativen Bemühungen leisten MoodS-Arbeitsgruppen zentrale Beiträge.^{1,2}

Für die Auswertung der genomweiten Assoziationsdaten (siehe Seite 16) werden im Netzwerk neue statistische Verfahren entwickelt und angewendet. Damit können z. B. Effekte nachgewiesen werden, die sich aus dem Zusammenspiel mehrerer Genen ergeben – sogenannte **Gen-Gen Interaktionen**.³ Ein anderes Ziel ist die Einbeziehung von Informationen über biologische Zusammenhänge in die statistische Analyse. Mit Hilfe solcher bioinformatischer Verfahren versucht man u. a. das Problem des multiplen Testens bei genomweiten Assoziationsuntersuchungen in den Griff zu bekommen und damit die Aussagekraft der Untersuchungen zusätzlich zu verbessern.

Während die genomweiten Assoziationsuntersuchungen auf die Identifizierung von **häufigen genetischen Risikovarianten** abzielen, stellen sich auch zunehmend **seltene Varianten** als relevant für die Entstehung neuropsychiatrischer Krankheiten heraus. Also Genvarianten, die nur ein geringer Prozentsatz der Betroffenen trägt, die aber funktionell bedeutend sein können (siehe Abbildung links).

Einen ersten genomweiten Einblick erlauben die Daten der SNP-Arrays, durch die sich strukturelle genomische Aberrationen (*copy number variants*) detektieren lassen (siehe Foto). Insbesondere bei der Schizophrenie konnte gezeigt werden, dass eine Reihe von *copy number variants*, die in ganz unterschiedlichen chromosomalen Regionen liegen, ein stark erhöhtes Risiko für die Erkrankung bewirken.^{4,5} In einer der assoziierten *copy number variants* ist das verantwortliche Gen bereits identifiziert (*Neurexin 1*)⁶, in anderen Regionen wird es zusätzlicher experimenteller Arbeiten bedürfen, um die krankheitsrelevanten Gene zu ermitteln.



Prof. Dr. Sven Cichon demonstriert im Forschungszentrum Life&Brain der Uni Bonn die Hochdurchsatzgenotypisierung.

Aus **klinischer Sicht** ist es wichtig, den möglichen Einfluss von krankheitsassoziierten Genen auf die klinische Ausprägung, den Krankheitsverlauf, das Ansprechen auf Medikamente und die langfristige Prognose zu untersuchen. Für solche Studien wird in MoodS eine diagnoseübergreifende Datenbank mit detaillierten krankheitsbezogenen Daten einer großen Zahl von Patienten als zentrale Forschungsressource etabliert.



Strategien zur Identifizierung von Krankheitsgenen und zur Aufklärung ihrer Wirkmechanismen, die an der Ausprägung von Depression, Bipolar affektiven Störungen und Schizophrenie beteiligt sind.

Die genetischen Befunde bilden auch den Ausgangspunkt für Untersuchungen zur **Pathophysiologie der Krankheiten**. Dazu werden sich ergänzende methodische Ansätze verfolgt (siehe Schema). Auf der experimentellen Ebene werden Interaktionspartner der Krankheitsgene identifiziert und Einflüsse auf die Gen-Expression nachgewiesen. Untersuchungen an Tieren als Modellorganismen und systembiologische Ansätze ermöglichen eine detaillierte Funktionsaufklärung. Die Bedeutung der krankheitsassoziierten Gene für Gehirnmorphologie und -funktion wird durch die Anwendung bildgebender Verfahren untersucht. Mit letzterem Ansatz konnte erstmalig ein funktioneller Effekt einer durch genomweite Assoziationsuntersuchungen bei neuropsychiatrischen Krankheiten identifizierten Risikovariante gezeigt werden.^{7,8}

Der Verbund MoodS konnte bereits in den beiden ersten Förderjahren große Fortschritte im Verständnis der biologischen Ursachen neuropsychiatrischer Krankheiten erzielen. In den nächsten Jahren sollte es gelingen, über die Identifizierung einzelner Ursachen hinaus ein umfassendes Verständnis der biologischen Zusammenhänge zu gewinnen.

REFERENZEN

1. Psychiatric GWAS Consortium Coordinating Committee, et al. (2009) *Am J Psychiatry* 166: 540-556; doi:10.1176/appi.ajp.2008.08091354
2. Stefansson H, et al. (2009) *Nature* 460: 744-747; doi:10.1038/nature08186
3. Steffens M, et al. (2010) *Hum Hered* 69: 268-284; doi:10.1159/000295896
4. Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, et al. (2008) *Nature* 455: 232-236; doi:10.1038/nature07229
5. McCarthy SE, et al. (2009) *Nat Genet* 41: 1223-1227; doi:10.1038/ng.474
6. Rujescu D, et al. (2009) *Hum Mol Genet* 18: 988-996; doi:10.1093/hmg/ddn351
7. O'Donovan MC, et al. (2008) *Nat Genet* 40: 1053-1055; doi:10.1038/ng.201
8. Esslinger C, et al. (2009) *Science* 324: 605; doi:10.1126/science.1167768

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08144-01GS08151



© KaPe Schmidt/MedizinFotoKöln
Prof. Dr. Christian Kubisch
 Universität Ulm
 Koordinator des NGFN-Verbunds
 EMINet

Zwei Anfallsleiden auf einen Streich verstehen und bekämpfen

Epilepsie und Migräne sind zwei Erkrankungen, von denen Betroffene in Abständen wiederholt heimgesucht werden. Dabei scheinen die genetischen Hintergründe beider Erkrankungen ähnlicher Natur zu sein, so dass eine parallele Erforschung Erkenntnisse bündelt, die sich gegenseitig ergänzen können. Das komplexe Zusammenspiel der Nervenzellen im Gehirn kann nur durch vielseitige Forschungsansätze von der Zellkultur über Mausmodelle bis hin zur direkten Suche nach Ursachen bei Patienten ergründet werden.

Ziel des Verbunds EMINet (*Epilepsy and Migraine Integrated Network*)

Das Hauptziel dieses Konsortiums ist es, die Grundlagen zweier eng mit einander verwandter neurologischer Erkrankungen – Epilepsie und Migräne – zu verstehen. Beide gehören zu den häufigsten Erkrankungen des Gehirns – mit ungefähr 40 Millionen betroffenen Patienten allein in Europa – und zeigen eine Reihe von grundlegenden Gemeinsamkeiten:

- **Periodisches Auftreten:** Ein Hauptsymptom beider Erkrankungen ist das plötzliche bzw. episodische Auftreten von epileptischen Anfällen bzw. Kopfschmerzattacken.
- **Epidemiologische Komorbidität:** Beide Erkrankungen treten bei Betroffenen häufiger kombiniert auf, als das zufällig zu erwarten wäre.

Auf Molekular- und Zellebene bestehen ebenfalls einige Parallelen:

- **Ähnliche kausale Genmutationen bei monogenen Formen:** Bei Formen von Epilepsie und Migräne, die durch eine Mutation in einem einzelnen Gen verursacht werden, betreffen diese häufig dieselben Klassen von Genen oder sogar dieselben Gene.
- **Gestörte Erregbarkeit von Nervenzellen als gemeinsamer Krankheitsmechanismus:** Bei Epilepsie wie auch bei Migräne basieren die Hauptsymptome auf einer gestörten Erregbarkeit von Nervenzellen. Insbesondere betreffen viele ursächliche Genmutationen für monogene Formen Ionenkanal-Gene, die die Erregbarkeit von Nervenzellen modifizieren.
- **Ähnlichkeiten bei der Pharmakotherapie:** Eine Reihe derzeit verfügbarer Medikamente zeigt Wirksamkeit sowohl bei Epilepsie wie auch bei Migräne.

Aufgrund ihrer Häufigkeit und der durch sie verursachten ausgeprägten persönlichen Beeinträchtigungen und

Belastungen haben sowohl Migräne als auch Epilepsie erhebliche sozioökonomische Konsequenzen. Bei beiden Erkrankungen ist daher die Aufklärung von Krankheitsmechanismen mit der Entwicklung neuer Therapiestrategien von zentraler Bedeutung.

In EMINet wird versucht, dieses Ziel zu erreichen, indem die Analyse von großen und gut charakterisierten Patientenkollektiven mittels genetischer Methoden mit einer detaillierten Analyse der zellulären Krankheitsmechanismen in Modellsystemen verbunden wird.



Christina Albus und Milan Pabst bereiten eine elektro-physiologische Ableitung von Nervenzellen vor.

Analyse der genetischen Grundlagen von Migräne und Epilepsie: Identifikation von krankheitsassoziierten Genvarianten

Seit 2007 werden genomweite Assoziationsanalysen (siehe Seite 16) benutzt, um krankheitsrelevante Genvarianten zu identifizieren. Dies hat bereits zur Entdeckung von Genen geführt, die signifikant an der Krankheitsentstehung mitwirken.

Allerdings haben diese Studien auch gezeigt, dass die so identifizierten Krankheitsgene nur für einen relativ kleinen Anteil (in den meisten Fällen deutlich unter 10 %) der Erblichkeit verantwortlich sind. Parallel untersucht EMINet deshalb auch die Möglichkeit, dass bei einzelnen Patienten im Vergleich zur Gesamtgruppe der Betroffenen relativ selten auftretende Genvarianten einen großen Einfluss auf die Krankheitsentstehung besitzen.

Die Tatsache, dass Krankheiten wie Epilepsie und Migräne in Bezug auf ihre genetische Ursache äußerst heterogen sind, ist von großer Bedeutung, da sich das Wissen um unterschiedliche Ursachen in der Zukunft möglicherweise in unterschiedlichen Therapien niederschlagen könnte. Für die genetischen Analysen kann das Konsortium auf große und klinisch gut charakterisierte Patientenkollektive zurückgreifen. Weiterhin kollaboriert EMINet eng mit den zwei größten europäischen genetischen Konsortien zu Epilepsie (EPICURE) und Migräne (IHGC).

Bei Epilepsie wie auch bei Migräne basieren die Hauptsymptome auf einer gestörten Erregbarkeit von Nervenzellen. Insbesondere betreffen viele ursächliche Genmutationen für seltene monogene Formen Ionenkanal-Gene, die die Erregbarkeit von Nervenzellen modifizieren.

Wie führen genetische Veränderungen zu einem Krankheitsphänotyp?

Die Frage, wie eine Genmutation z. B. in einem Ionenkanal-Gen einen komplexen Krankheitsphänotyp erzeugt, ist besonders bei Hirnerkrankungen nicht leicht zu beantworten. Genetische Veränderungen führen häufig zur Bildung eines Proteins mit veränderter Funktion in Nervenzellen.

Das Gehirn besteht jedoch aus einem Netzwerk von mehr als 30 verschiedenen Nervenzelltypen, die miteinander durch $\sim 10^{15}$ (eine Billion!) chemische Synapsen verbunden sind. Verschiedene Nervenzellen bilden hierbei unterschiedliche Kombinationen von Ionenkanälen, die ihnen ihre charakteristischen Eigenschaften verleihen. Entsprechend kann die genetische Veränderung eines einzelnen Ionenkanals auf der Ebene einer Zelle oder eines Netzwerkes komplexe Auswirkungen haben.

In dem Konsortium wird diese Frage daher mit Methoden auf verschiedenen Ebenen angegangen.

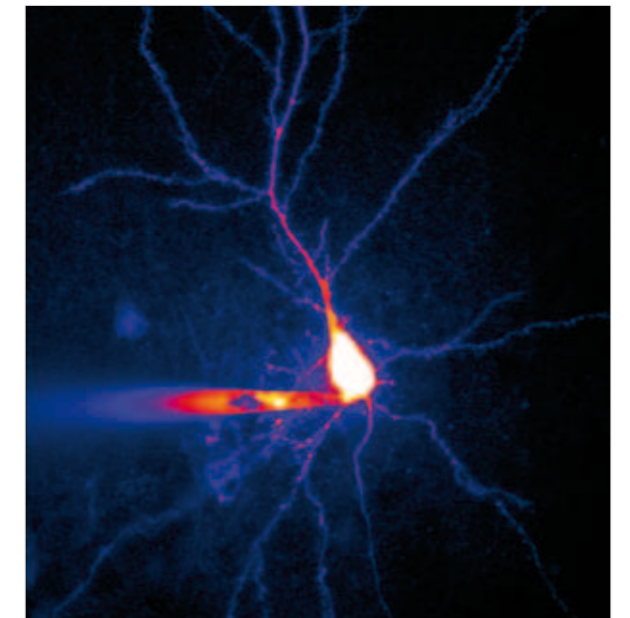
- **Ebene des Ionenkanal-Proteins:** Die Auswirkung einer Mutation in einem Ionenkanal-Gen auf die Funktion des zugehörigen Ionenkanals wird in zellulären Expressionssystemen untersucht.
- **Ebene der individuellen Nervenzelle:** Hier wird untersucht, inwiefern die Präsenz mutierter Ionenkanäle in Nervenzellen zu veränderter Erregbarkeit führt.

Neben Nervenzellen, in denen der mutierte Ionenkanal exprimiert wird, entwickelt EMINet auch Mausmodelle für menschliche Epilepsien oder Migräneformen, die humane krankheitsrelevante Mutationen tragen, in denen die Einflüsse auf neuronale Erregbarkeit in nativen Nervenzellen direkt überprüft werden können.

- **Ebene des Netzwerks:** Innerhalb des komplexen neuronalen Netzwerks beobachtet man wiederkehrende Motive der Verschaltung von erregenden und hemmenden Nervenzellen. Im Konsortium versuchen die beteiligten Wissenschaftler zu klären, inwiefern Mutationen bestimmte Nervenzelltypen in solchen Mikroverschaltungen betreffen und wie dies die Funktion dieser Schaltkreise beeinflusst.
- **In vivo-Ebene:** Die im Konsortium generierten Tiermodelle für menschliche Epilepsien oder Migräne erlauben auch eine detaillierte Untersuchung von potenziellen Krankheitsmechanismen *in vivo*. Tiermodelle ermöglichen zudem eine erste Überprüfung therapeutischer Strategien.

Was bereits erreicht wurde

Den Wissenschaftlern aus dem Verbund EMINet gelang es in den ersten zwei Jahren des Projektes, eine Reihe von bisher unbekannt genen Veränderungen bei Epilepsie und Migräne zu identifizieren. Weiterhin wurde die Generierung und Charakterisierung von Mausmodellen humaner Epilepsien und Migräne wesentlich vorangetrieben. EMINet ist es außerdem gelungen, erste vielversprechende Ergebnisse zu grundlegenden Mechanismen der Therapieresistenz von Epilepsiepatienten zu generieren.



Lebende Nervenzelle im Hirnschnittpräparat einer Maus, die über eine Messelektrode (links im Bild) mit einem fluoreszierenden Farbstoff gefüllt wurde. (Abbildung zur Verfügung gestellt von R. Krueppel).

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08120-01GS08124



Prof. Dr. Rainer Spanagel
Zentralinstitut für Seelische Gesundheit (ZI) Mannheim/Heidelberg
Koordinator des NGFN-Verbunds
Genetik der Alkoholsucht

Molekulare Mechanismen der Sucht durchbrechen

Ob Alkohol oder harte Drogen, Suchtkreisläufe lassen sich nur schwer durchbrechen. Der Grund für das stetige Verlangen nach dem Rauschmittel sind molekulare Veränderungen im Gehirn. Nach dem Entzug nicht rückfällig zu werden, ist für Alkoholabhängige besonders schwierig, da uns die Gesellschaftsdroge Alkohol praktisch überall umgibt. Neue Medikamente sollen die Fehlprogrammierung der Nervenzellen auf die Droge wieder löschen und Suchtkranke dadurch beim Überwinden ihrer Abhängigkeit unterstützen.

Alkoholismus und Drogenmissbrauch sind gesellschaftliche Probleme ersten Ranges

Alkoholismus ist eine der häufigsten psychiatrischen Erkrankungen mit enormen gesundheitlichen und sozio-ökonomischen Auswirkungen auf unsere Bevölkerung. Man schätzt, dass von allen Faktoren, die zur globalen Krankheitslast beitragen, Alkohol weltweit für 3,2 % aller Todesfälle verantwortlich ist. Zudem entstehen durch Alkoholmissbrauch enorme Kosten. Diese kommen beispielsweise durch Arbeitsausfall, Unfälle, die auf Trunkenheit zurückgehen, und die medizinische Versorgung der an Folgeschäden des Alkoholmissbrauchs leidenden Patienten zustande. Alleine in Deutschland belaufen sich die jährlichen Kosten auf ca. 35 Milliarden Euro.

Der Forschungsansatz des Verbundes Genetik der Alkoholsucht

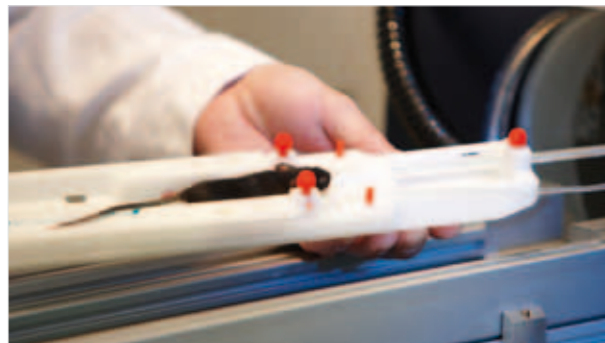
Genetische Ursachen spielen bei der Entwicklung von Alkoholismus eine entscheidende Rolle. Die Faustregel besagt, dass mindestens die Hälfte aller Risikofaktoren bei der Entwicklung einer Alkoholsucht auf genetische Ursachen zurückzuführen ist. In letzter Konsequenz ist jedoch abhängiges Verhalten das Ergebnis der genetischen Ausstattung eines Individuums in Kombination mit zahlreichen Umweltfaktoren im zeitlichen Verlauf. In diesem Zusammenhang spricht man von einer Gen x (mal) Umwelt

Interaktion. Diese führt zu einer großen klinischen Heterogenität („Uneinheitlichkeit“), sowohl in Bezug auf die Symptomatik und die Schwere der Sucht als auch auf die Wirksamkeit einer Behandlung.

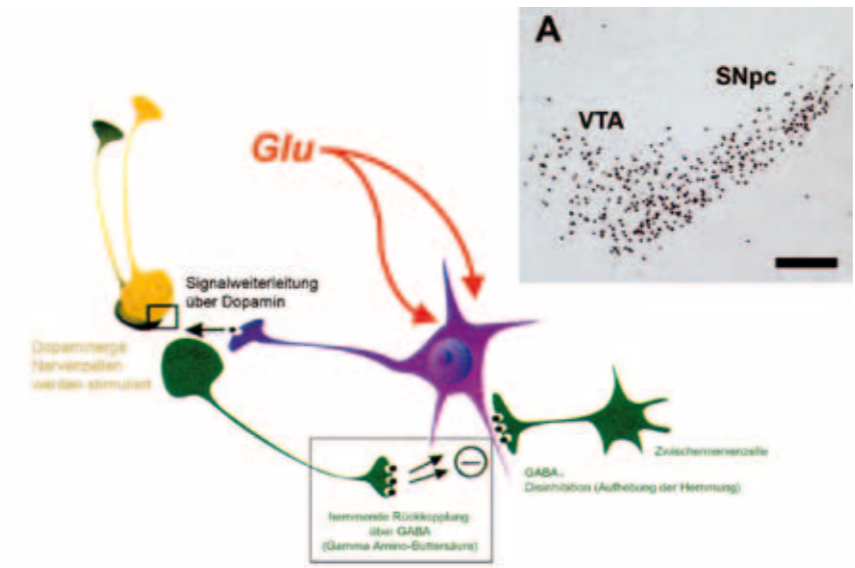
Das Ziel von unserem Forschungsverbund ist die Gen x Umwelt Interaktionen in einem systembiologischen Ansatz zu untersuchen. Hierzu wurden in unserem Verbund 15 Teilprojekte in Mannheim/Heidelberg, Bonn und Berlin zusammengefasst. Mit Hilfe von genomweiten Assoziationsuntersuchungen (siehe Seite 16) werden Kandidatengene identifiziert, die anschließend im Tiermodell funktionell untersucht werden. In den letzten Jahren hat die genetische Alkoholforschung, nicht zuletzt dank der großzügigen Unterstützung im Rahmen des NGFN, enorme Fortschritte verzeichnet und so werden heute die durch Alkohol hervorgerufenen Organschädigungen und die Alkoholsucht besser verstanden.

Alkoholismus ist älter als die Menschheit

Wissenschaftler unseres Forschungsverbundes konnten erstmals in langjähriger Feldforschung nachweisen, dass ein regelmäßiger hoher Alkoholkonsum schon sehr früh in der Evolution der Primaten vorkam. Wir entdeckten Alkohol konsumierende Spitzhörnchen, die in Malaysia beheimatet sind und die zu den engsten lebenden Verwandten der Primaten (zu denen der Mensch zählt) gehören. Diese



In einem 9.4T Hochfeldmagnetscanner lässt sich das Gehirn einer immobilisierten süchtigen Maus untersuchen.



Drogenvermittelte synaptische Plastizität findet an glutamatergen (Glu) Synapsen auf Dopaminneurone des Belohnungssystems statt. Der Bildausschnitt (A) zeigt einen Gehirngewebeschnitt einer Maus aus dem kompakten Bereich der Schwarzen Substanz des Gehirns (SNpc = substantia nigra pars compacta) bzw. dem ventralen Tegmentum (VTA). Bei diesem genetisch veränderten Tier wurden Untereinheiten von ionotropen Glutamatrezeptoren gezielt in den glutamatergen Nervenzellen des mesolimbischen Systems ausgeschaltet.

Tiere kommen in ihrer Ökologie und ihrem Verhalten unseren gemeinsamen Ahnen, die vor mehr als 55 Millionen Jahren gelebt haben, sehr nahe. In einer Feldstation im Regenwald von Malaysia konnten wir beobachten, dass das Spitzhörnchen die Nächte damit verbringt, vergorenen Nektar der Bertampalme zu konsumieren. Diese Palme produziert aktiv Alkohol mit dem höchsten Alkoholgehalt, der jemals in einem natürlichen Nahrungsbestandteil gefunden wurde. Der Alkoholnektar ist die Hauptnahrungsquelle dieser Tiere. Da die Bertampalme über das ganze Jahr hinweg blüht, wird der Alkoholkonsum der Tiere chronisch. Verglichen mit dem Menschen müssten die Tiere bei ihrem Nektarkonsum häufig betrunken sein. In einem Lebensraum mit Raubfeinden sind durch Alkohol eingeschränkte Sinne jedoch ein tödliches Risiko. Trotzdem überleben die Spitzhörnchen in diesem eng umschriebenen Ökosystem seit Jahrmillionen. Der Grund hierfür liegt in einer erhöhten metabolischen Toleranz, sprich die Tiere können Alkohol besser als der Mensch verstoffwechseln.¹ Diese Beobachtungen an Spitzhörnchen in der freien Wildbahn unterstützen die Übertragbarkeit von tierversperimentellen Befunden auf den Menschen und können einen einmaligen Beitrag zum Verständnis der genetischen Evolution von exzessivem Alkoholkonsum leisten.

Genetische und molekulare Ursachen der Alkoholsucht und medikamentöse Behandlung

Unserem Forschungsverbund ist es gelungen, weltweit die erste genomweite Assoziationsstudie für Alkoholabhängigkeit durchzuführen.² Diese genetischen Datensätze haben uns geholfen, ein besseres molekulares Verständnis von Suchtprozessen zu gewinnen und einen maßgeschneiderten medikamentösen Therapieansatz zu entwickeln.³

Typisches Verhaltensmuster der Sucht ist die andauernde Suche nach der Droge oder ein Rückfall nach einer Abstinenzphase. Uns ist nun der Nachweis gelungen, dass hierfür durch die Droge ausgelöste molekulare Veränderungen an glutamatergen (vom Botenstoff Glutamat akti-

vierten) Nervenzellen im mesolimbischen System (auch Belohnungssystem genannt) direkt verantwortlich sind.⁴ Exzessiver Alkohol- bzw. Drogenkonsum hinterlässt nachweisbare Spuren im Gehirn (siehe Abbildung): In Bereichen des mesolimbischen Systems, dessen Nervenzellen nach Aktivierung durch Glutamat den Botenstoff Dopamin produzieren, bewirken Drogen molekulare Umbauprozesse an den Synapsen (Kontaktstellen zwischen Nervenzellen). Als Reaktion auf die Droge werden in den Glutamatrezeptoren der Nervenzellen Protein-Untereinheiten ausgetauscht. Das hat zur Folge, dass die veränderte Synapse verstärkt Nervensignale übertragen kann – ein Phänomen, das als „drogenvermittelte synaptische Plastizität“ bezeichnet wird. Dieser „Umbau“ im Gehirn bewirkt das Verlangen des Süchtigen, das Suchterlebnis immer wieder herbeizuführen.

Wir haben bei Mäusen selektiv in Dopamin produzierenden Nervenzellen des Belohnungssystems genau diejenigen Eiweiß-Komponenten genetisch entfernt, die unter dem Einfluss von Drogen in die Rezeptor-Komplexe eingebaut werden. Tiere, bei denen selektiv eine bestimmte Protein-Untereinheit des NMDA Rezeptors (durch Glutamat aktivierbarer Ionenkanal in der Zellmembran) ausgeschaltet wurde, zeigten keinen Rückfall mehr. Diese neuen Erkenntnisse werden bereits zur Medikamentenentwicklung genutzt und eine neue Substanz, die indirekt die Aktivität des NMDA Rezeptors moduliert, wird derzeit von uns klinisch geprüft.⁵

REFERENZEN

1. Wiens F, et al. (2008) *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 10426-10431; doi: 10.1073/pnas.0801628105
2. Treutlein J, et al. (2009) *Arch Gen Psychiatry* 66, 773-784
3. Kiefer F, et al. (2010) *Pharmacogenomics*, im Druck; doi: 10.1038/tpj.2010.51
4. Engblom D, et al. (2008) *Neuron* 59, 497-508; doi:10.1016/j.neuron.2008.07.0105.
5. Vengeliene V, et al. (2010) *Biol Psychiatry*, im Druck

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS08152-01GS08159, 01GS08191

HERZ-KREISLAUF-/STOFFWECHSEL-ERKRANKUNGEN

Herz-Kreislauf- und Stoffwechsel-Erkrankungen sind weit verbreitet

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems (Herzschwäche, Bluthochdruck u. v. m.) und des Stoffwechsels (z. B. Diabetes, Fettleibigkeit) gehören zu den häufigsten Krankheiten der westlichen Welt. Neben zahlreichen äußeren Ursachen (z. B. Bewegungsmangel, ungünstige Ernährung) wird die Wahrscheinlichkeit, dass eine bestimmte Person an Herz-Kreislauf- oder Stoffwechsel-Störungen erkrankt, auch durch genetische Faktoren beeinflusst.



Herz-Kreislauf-Erkrankungen als häufigste Todesursache

Unter dem Begriff Herz-Kreislauf-Erkrankung werden verschiedenste Krankheiten von A wie Aneurysma (Gefäß-erweiterung einer Arterie) bis V wie Vorhofflimmern (eine Herzrhythmusstörung) zusammengefasst. Gemeinsam betrachtet stellen sie in Deutschland die häufigste Todesursache dar. Damit ist die Erforschung der Herz-Kreislauf-Erkrankungen nicht zuletzt volkswirtschaftlich hochgradig relevant, zumal durch die Verschiebung der Alterspyramide auch in den kommenden Jahren und Jahrzehnten die Zahl der Betroffenen weiter steigen wird. Von 2009 bis Anfang 2010 wurde zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen eine Vielzahl an Fachartikeln von Wissenschaftlern aus NGFN-Plus und NGFN-Transfer in hochrangigen Fachzeitschriften veröffentlicht. Darunter allein acht Publikationen in Spezialisierungen der bekannten Zeitschrift *Nature*. Dies ist nur ein Beleg für die Erfolge des Programms der Medizinischen Genomforschung.

Stoffwechsel-Erkrankungen

Die 2008 veröffentlichte Nationale Verzehrsstudie II, die im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz durchgeführt wurde, ergab, dass schätzungsweise jeder fünfte Bundesbürger stark übergewichtig (adipös) ist. Jeder zweite in Deutschland wird als moderat übergewichtig eingestuft. Sowohl für die Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen als auch von Stoffwechsel-Erkrankungen ist nachgewiesen, dass Fettleibigkeit einen Risikofaktor darstellt. Erfolge im Kampf gegen die Fettleibigkeit wirken sich also in vielerlei Hinsicht positiv aus. Dies zeigte sich auch in der Entdeckung durch NGFN-Wissenschaftler, dass eine natürliche Mutation in dem Gen *Tbc1d1* trotz fettreicher Kost schlank bleiben lässt und vor Diabetes schützt.

Modell: Herz mit Gefäßsystem



Prof. Dr. med. Hugo A. Katus
 Universitätsklinikum Heidelberg
 Koordinator des NGFN-Verbunds
 Genetik der Herzschwäche

Schwache Herzen rechtzeitig behandeln

Das Herz schlägt im Leben eines Menschen etwa 2,5 Milliarden Mal und pumpt dabei circa 250 Millionen Liter Blut durch den Körper. Verschiedene Erkrankungen können dazu führen, dass sich Herzkammern und Herzvorhöfe erweitern, wodurch die Pumpkraft beeinträchtigt wird. Für den Betroffenen kann eine chronische Herzschwäche zunächst un bemerkt bleiben, da sich zur Kompensation z.B. der Herzschlag beschleunigt oder der Herzmuskel verdickt. Doch vermag gerade eine frühe Erkennung, die Heilungschancen maßgeblich zu verbessern.

Ein schlappes Herz ist lebensgefährlich

Die Herzschwäche oder Herzinsuffizienz ist eine schwere Erkrankung des Herzmuskels. Ihr Kennzeichen ist die Unfähigkeit des Herzens, die inneren Organe und Muskeln sowie auch den Herzmuskel selbst ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen. Typische Krankheitssymptome sind Atemnot bei körperlicher Anstrengung sowie Ödeme. Diese Wasseransammlungen treten – je nach Typ der Herzschwäche – z. B. in der Lunge oder in den Beinen bzw. dem Bauchraum auf, weil durch veränderte Blutströme vermehrt Flüssigkeit aus den Kapillargefäßen in das umliegende Gewebe austritt. Als dritthäufigste Einzelerkrankung steht die Herzinsuffizienz noch vor den häufigsten Krebserkrankungen und ist der häufigste Grund für eine Einweisung ins Krankenhaus in der westlichen Welt. Trotz dieser epidemiologischen Bedeutung wird aufgrund mangelnder Frühdiagnostik nur ein Drittel der Patienten in frühen Stadien korrekt diagnostiziert, was die Heilungschancen mindert. In den letzten Jahren mehren sich die Erkenntnisse, dass die Herzinsuffizienz in hohem Maße auf genetische Ursachen zurückzuführen ist, wobei neben veränderten

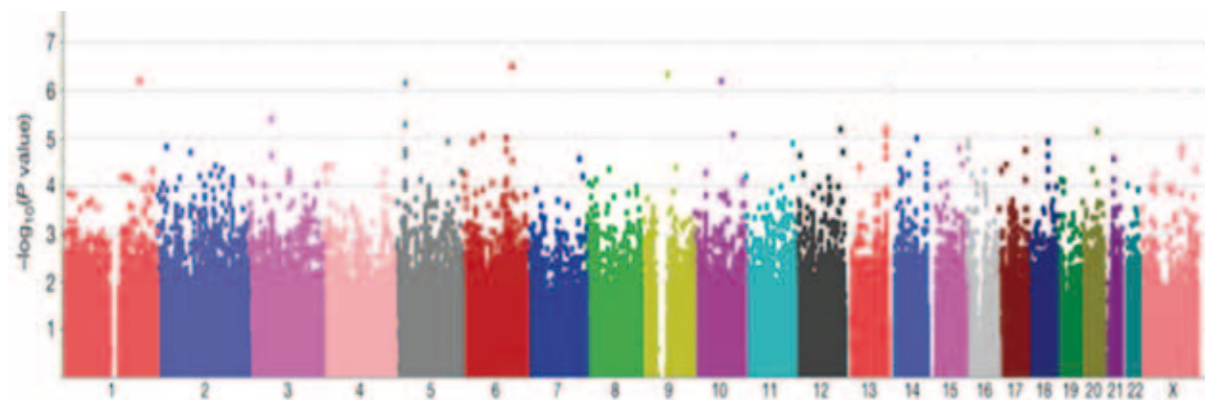
Schlüsselgenen auch eine Vielzahl von „modifizierenden“ Genen die Schwere und den klinischen Verlauf der Krankheit beeinflussen.

Die Herzinsuffizienz ist der häufigste Grund für eine Einweisung ins Krankenhaus in der westlichen Welt.

Das Netzwerk gegen Herzschwäche

In dem Verbund Genetik der Herzinsuffizienz mit der Zentrale in Heidelberg und weiteren Partnern in Kiel, Berlin, Münster, München und Göttingen werden die ursächlichen Gene bei großen, klinisch exzellent untersuchten Patientenkohorten erforscht. Dazu wird das Erbgut dieser Patienten sowie gesunder Kontrollpersonen auf Veränderungen hin untersucht, die dann mit statistischen Verfahren auf Zusammenhänge mit der Krankheit geprüft werden.

Das interdisziplinäre Netzwerk analysiert die Ergebnisse aus genomweiten Assoziationsstudien (siehe Seite 16)



Das Bild zeigt beispielhaft einen so genannten „Manhattan-Plot“ mit Darstellung von etwa einer Million menschlicher genomischer Varianten und ihrem Zusammenhang mit der Herzschwäche. Jede farbige Säule stellt ein Chromosom dar. Je höher die Punkte liegen, umso stärker ist der Einfluss der genetischen Variante auf die Krankheit.



Verminderung der Nexilin-Funktion im Zebrafish und auch beim Menschen führt zur Destabilisierung wichtiger Strukturen der Herzmuskelzellen und dadurch zu schwerer Beeinträchtigung der Kontraktionskraft des Herzmuskels. Die Abbildung zeigt links einen gesunden Zebrafischembryo und rechts einen Fisch mit experimentell hervorgerufenem Nexilin-Mangel und dadurch verursachter Herzschwäche.

von vier Unterkategorien der Herzinsuffizienz an insgesamt 6.000 Patienten:

- Dilatative Kardiomyopathie: häufigste Form der Herzmuskelerkrankung mit Erweiterung der Herzkammern und -vorhöfe
- Linksventrikuläre Hypertrophie: Vergrößerung der Herzmuskulatur im Bereich der linken Herzkammer
- Diastolische Dysfunktion: Erhöhter Füllungswiderstand der Herzkammer
- Vorhofflimmern: Herzrhythmusstörung mit ungeordneter Tätigkeit der Herzvorhöfe

Zusätzlich werden in weiteren Teilprojekten die gefundenen genetischen Marker und Gene bei Tiermodellen wie Zebrafisch und Maus auf ihre funktionelle Relevanz getestet. Weitere Projekte erforschen molekulare Signalwege, die letztlich durch die genetischen Veränderungen beeinflusst werden und die Krankheit bedingen. Aus diesen Signalwegen wird auch versucht, neue Zielstrukturen für innovative Therapiekonzepte zu identifizieren. Das gesamte Netzwerk wird unterstützt von mehreren Serviceprojekten, die allen Partnern zur Verfügung stehen, z. B. Genetische Epidemiologie und Bioinformatik, welche die hochkomplexen und umfangreichen genetischen und molekularen Daten generieren und mit Hilfe hochmoderner Computersysteme auswerten. Das zentrale Koordinationsprojekt verwaltet alle wissenschaftlichen und administrativen Belange des Netzwerkes und dient als Kommunikationsplattform für interne und externe Angelegenheiten.

Früherkennung bedingt bessere Heilungschancen

In der Zukunft hoffen wir, aufgrund der Forschungsarbeiten Patienten mit einem genetischen Risiko frühzeitig zu identifizieren und bewährten, bereits jetzt verfügbaren Therapien zuführen zu können. Hierdurch kann der Krankheitsausbruch verzögert oder abgemildert werden. Darüber hinaus ist es das Ziel, die etablierten klinischen Vorhersagemöglichkeiten durch genetische Analysen der „Modifikatoren-Gene“ erweitern zu können und somit präzisere Vorhersagen des klinischen Verlaufs und des individuellen Risikos vornehmen zu können.

Nexilin – Ein Schlüsselmolekül der Herzkraft

Ein Beispiel für die bisherigen Erfolge des Verbunds Genetik der Herzinsuffizienz ist die Identifizierung des

Schlüsselproteins Nexilin. Am Zebrafisch-Modell gelang der Nachweis, dass ein Herzmuskel ohne Nexilin den enormen Kräften, die bei jedem Herzschlag auf die Muskelfasern einwirken, nicht standhalten kann. Seine Rolle erfüllt das Nexilin im gesunden Herzmuskel, indem es die sogenannten Z-Scheiben stabilisiert. Diese Z-Scheiben sind Strukturelemente des Muskels und dienen den Aktin- und Myosinfilamenten als Verankerung. Die Muskelkontraktion findet durch Verkürzung dieser Aktin- und Myosinfilamente statt, indem sie sich ineinander verschieben. Die Z-Scheiben von Zebrafischen, bei denen das Nexilin genetisch verändert war oder fehlte, waren nicht fest genug, um die beweglichen Muskelemente stabilisieren zu können. Sie zerrissen, wodurch die Muskeln an Kraft verloren. Der besondere Vorteil des Zebrafischmodells ist die Transparenz der Fischembryonen, die eine Beurteilung der Organe im lebendigen Tier ermöglicht (siehe Abbildung).

Das Kennzeichen der Herzinsuffizienz ist die Unfähigkeit des Herzens, die inneren Organe und Muskeln sowie auch den Herzmuskel selbst ausreichend mit Sauerstoff zu versorgen.

Um die Rolle von Nexilin bei Patienten mit Herzschwäche zu bewerten, wurden Herzinsuffizienzpatienten untersucht. Es ließen sich bei 9 von 1.000 Studienteilnehmern Mutationen im Nexilin-Gen nachweisen. Tatsächlich spielt das Nexilin also nicht nur im Modellsystem Zebrafisch, sondern auch im Menschen eine Rolle bei der Entstehung von Herzmuskelerkrankungen. Diese Nexilin-Dilatative-Kardiomyopathie war zuvor unbekannt, so dass es gleichzeitig gelang, eine neuartige Form der Herzmuskelerweiterung zu beschreiben und deren Krankheitsmechanismus zu definieren.

REFERENZEN

- Hassel D, Dahme T, Erdmann J, Meder B, ... , Katus HA, Rottbauer W (2009) *Nature Medicine* 15:1281-1288; doi:10.1038/nm.2037
 Friedrichs F, Zugck C, ... , Frey N, Rottbauer W, Katus HA, Stoll M. (2009) *Genome Res* 19:395-403; doi: 10.1101/gr.076653.108

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0836-01GS0842



Prof. Dr. Heribert Schunkert
 Universität zu Lübeck
 Koordinator des NGFN-Verbunds
 Atherogenomics

Der Arterienverkalkung gegensteuern, um Herzinfarkte zu verhindern

Falsche Ernährungsgewohnheiten und mangelnde Bewegung tragen zur Entstehung des Volksleidens Arterienverkalkung bei. Doch ist das Erkrankungsrisiko nicht bei jedem Menschen gleichhoch. Kleine Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs, siehe Seite 82) führen zu Genvarianten, die wiederum die Wahrscheinlichkeit, eine Atherosklerose zu entwickeln, deutlich erhöhen können. Eine frühzeitige Risikoerkennung kann gezieltes Gegensteuern ermöglichen und damit gravierende Folgen wie den Herzinfarkt verhindern.

Frau Prof. Erdmann, was ist das zentrale Ziel von Atherogenomics?

Ziel unseres Projektes ist die Identifizierung und die funktionelle Charakterisierung von Genvarianten, die zur Entstehung der Atherosklerose beitragen. Im Rahmen von NGFN-Plus sollen auf diesem Wege neue mechanistische Einsichten in die molekulare Pathogenese dieser großen Volkskrankheit gewonnen werden. Zudem werden die Entwicklung neuer Gen-basierter diagnostischer Werkzeuge und die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien angestrebt. Die Koordination von *Atherogenomics* liegt in Lübeck (Prof. H. Schunkert, Prof. J. Erdmann). Partner sind die Universität Regensburg (Prof. C. Hengstenberg), die Universität Mainz (Prof. S. Blankenberg), die Universität Ulm (Prof. W. Koenig), die Universität Leipzig (Prof. J. Thiery), die EUROIMMUN AG (Dr. U. Steller) und das Helmholtz Zentrum München (Prof. T. Meitinger und Frau Prof. A. Peters).

Herr Prof. Schunkert, die Atherosklerose, umgangssprachlich auch Arterienverkalkung genannt, ist eine weitverbreitete Erkrankung. Wie gefährlich ist sie wirklich?

Die Atherosklerose ist eine Erkrankung der Arterien, bei der es zu Ablagerung von Lipiden, Blutzellen, Proteinen und Kalk an den Innenwänden von Blutgefäßen kommt. Dies führt zur pathologischen Wucherung von Bindegewebe und einer Verhärtung und Verdickung der Gefäßwände und letztendlich zu einer Einengung des Gefäßlumens. Aus der so entstehenden Durchblutungsstörung resultiert eine Unterversorgung des umliegenden Gewebes speziell mit Sauerstoff.

Kommt es zu kleinen Einrissen der Gefäßinnenwand, bilden sich in den betroffenen Herzkranzgefäßen Gerinnsel, hieraus entsteht dann der Herzinfarkt. Weltweit sterben pro Jahr 17 Millionen Menschen an den Folgen der Atherosklerose, in Deutschland alleine 61.000 Menschen im Jahr. Damit stehen Erkrankungen

des Herz-Kreislaufsystems an erster Stelle der Todesursachen in Deutschland!

Inwieweit haben die Erbanlagen Einfluss auf das individuelle Risiko eines Menschen, einen Herzinfarkt zu erleiden?

Im Falle des Herzinfarktes ist anzunehmen, dass verschiedene genetische Faktoren im Zusammenspiel mit Umweltfaktoren in einem schleichenden Prozess zur Manifestation der Erkrankung führen.



Dr. Zouhair Aherrahrou und Prof. Dr. Jeanette Erdmann untersuchen die genetischen Ursachen der Atherosklerose.

Aktuelle Ergebnisse von *Atherogenomics* und den internationalen Projekten *Cardiogenics* und *CARDIoGRAM*, die auch in Lübeck koordiniert werden, besagen, dass die genetischen Einflüsse weit unterschätzt worden sind.

Wie lassen sich solche Risikovarianten von Genen aufspüren?

Aktuell sind genomweite Assoziationsstudien die Methode der Wahl, hierbei werden genetische Marker bei Erkrankten und gesunden Kontrollen auf sogenannten SNP-Chips untersucht.

Ein SNP-Chip enthält kurze Oligonukleotid-Sonden (kurze DNA-Stücke), die an spezielle Sequenzen der DNA

binden, falls diese im Genom der untersuchten Person vorkommen. Zunächst erfolgt eine Typisierung mit 500.000 bis 1 Millionen SNPs bei unverwandten Herzinfarkt-Patienten und gesunden Probanden. Die aussichtsreichsten SNPs werden anschließend in einer größeren unabhängigen Stichprobe überprüft.

Das Ziel bei diesen Untersuchungen ist, genetische Varianten zu entdecken, die mit der betreffenden Erkrankung assoziiert sind. In den vergangenen drei Jahren hat die Anwendung dieser Methode zu einer explosionsartigen Identifikation etlicher bislang unbekannter Gene bzw. Genregionen für verschiedene komplexe Erkrankungen geführt wie z. B. Diabetes, Bluthochdruck, Adipositas, *Restless-Legs-Syndrom* und eben auch dem Herzinfarkt, wobei *Atherogenomics* hierbei maßgeblich beteiligt war. Unser Verbund konnte mittels genomweiter Assoziationsstudien für die Herzinfarktgenetik einen ganz entscheidenden Beitrag zur Identifizierung neuer Genvarianten leisten. Tatsächlich sind die Partner in *Atherogenomics* maßgeblich an der Identifizierung von 11 der bislang 12 identifizierten Herzinfarkt-Gene beteiligt gewesen.

„Die Atherosklerose ist eine Erkrankung der Arterien, bei der es zu Ablagerung von Lipiden, Blutzellen, Proteinen und Kalk an den Innenwänden von Blutgefäßen kommt.“

Welche wissenschaftlichen Ergebnisse konnten Sie bereits gewinnen und was sind Ihre langfristigen Ziele?

Für die Zukunft ist es wichtig, für diese Genvarianten die zugrunde liegenden Pathomechanismen aufzuklären. So konnten wir zeigen, dass für die Genregionen auf den Chromosomen 1 (*SORT1*) und Chromosom 19

(*LDLR*) neben der Assoziation zur Atherosklerose auch eine Assoziation zu einem sogenannten intermediären Phänotyp, in diesen Fällen dem LDL (*low density lipoprotein*)-Cholesterinspiegel, nachgewiesen werden kann. Im Falle der *LDLR* (*low density lipoprotein receptor*)-Genvariante führt hier das seltene Allel zeitlebens zu einer Senkung des LDL-Cholesterins und in der Folge zu einem geringeren Infarktisiko.

Interessant war aber auch, dass die meisten Herzinfarkt-Gene über noch unbekannte Mechanismen zum Herzinfarkt führen. Die Kombination von genomweiten SNP-Studien mit genomweiten Expressionsstudien kann hier den Weg zu neuen molekularen Netzwerken und damit Signalwegen auf dem Weg zur Atherosklerose aufzeigen.

Wie können diese Erkenntnisse den Patienten helfen?

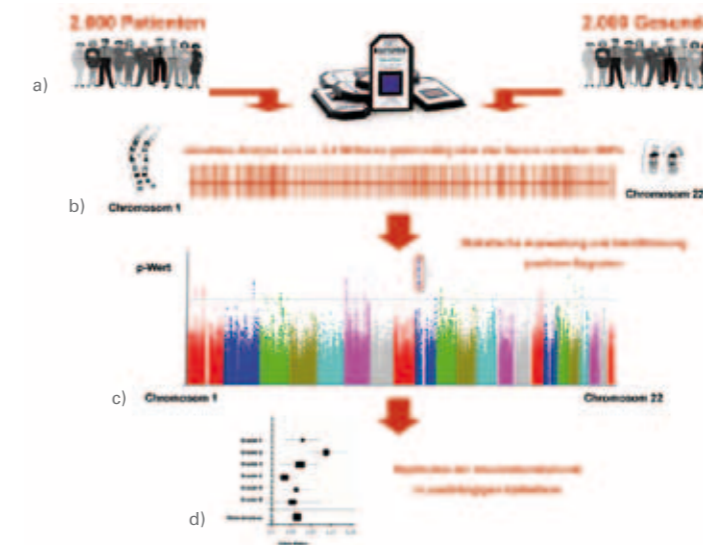
Familiäre Vorbelastungen sind seit langer Zeit als ein bedeutender Risikofaktor für die Entstehung eines Herzinfarktes bekannt. Es ist aber anzunehmen, dass über das bloße Erfassen einer belastenden Familienanamnese hinaus, die Identifizierung der zugrunde liegenden Gendefekte und die Kenntnis der pathogenen Mechanismen die Risikovorhersage entscheidend verbessert.

Die Hoffnung der Zukunft ist, dass die erweiterte Kenntnis von den Genen und Genvarianten zu Verbesserungen bezüglich der Diagnose und Behandlung der Atherosklerose führt.

REFERENZEN

Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. (2007) *N Engl J Med*. 357(5), 443-453; doi:10.1056/NEJMoa072366
 Erdmann J, Grosshennig A, Braund PS, König IR, Hengstenberg C, Hall AS, et al. (2009) *Nature Genetics* 41(3), 280-282; doi:10.1038/ng.307
 Samani NJ, Tomaszewski M, Schunkert H (2010) *Lancet* 375(9725) 1497-1498; doi:10.1016/S0140-6736(10)60599-5

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0831-01GS0835, 01GS0843



Schematische Darstellung der Durchführung einer genomweiten Assoziationsstudie (siehe Seite 16)

a) Ausgangspunkt: großes Patienten- & Kontroll-Kollektiv; b) DNA der Probanden wird mit Hilfe bekannter SNPs genotypisiert; c) Ermittlung der Assoziation bestimmter SNPs mit der Erkrankung durch eine statistische Auswertung; d) Validierung der Befunde.



Prof. Dr. Johannes Hebebrand
Universität Duisburg-Essen
Koordinator des NGFN-Verbunds
Adipositas

Wenn Gene dick machen

Adipositas ist ein großes gesellschaftliches Problem in den westlichen Industrienationen. Starkes Übergewicht begünstigt zahlreiche schwerwiegende Folgeerkrankungen und führt oftmals auch zu sozialen Hindernissen. Die Empfehlung, abwechslungsreich und maßvoll zu essen sowie Sport zu treiben, ist generell sinnvoll. Doch reagieren nicht alle Menschen in gleichem Maße auf eine Umstellung des Lebens- und Ernährungsstils. Hieran sind erbliche Faktoren nachweislich beteiligt.

Was haben Gene mit dem Körpergewicht zu tun?

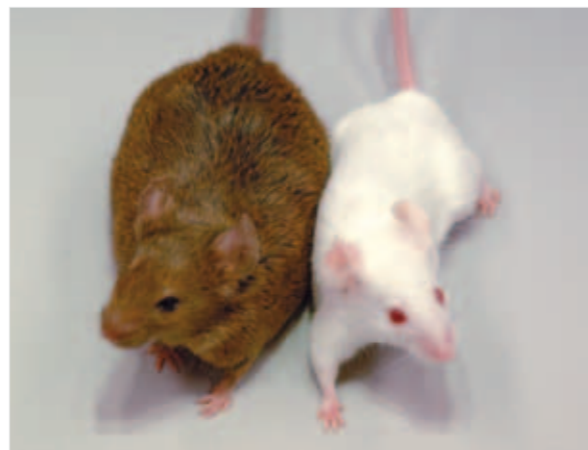
Viele zehntausende von Jahren war der Mensch darauf eingestellt, gegen Nahrungsmangel anzukämpfen. Es drohten immer wieder Perioden, in denen Nahrung rar war. Solche Phasen überlebten am besten die Menschen, die in guten Zeiten große Mengen Nahrung vertilgen konnten und die in der Lage waren, möglichst viel Energie in Form von Fett zu speichern.

In Ausnahmefällen hat dies wohl schon damals zu Übergewicht geführt – darauf lassen kleine, runde 25.000 Jahre alte Tonfiguren wie die Venus von Willendorf schließen. Deren Körperform stellte, weil sie Wohlstand vermuten ließ und weibliche Fruchtbarkeit verhieß, ein erstrebenswertes Ideal dar. Schlechte Futterverwerter hingegen, die für Notzeiten keinen Speck ansetzen, hatten meist weniger Nachkommen, da bei starkem Untergewicht die Fruchtbarkeit nachlässt.

Diese natürliche Auslese begünstigte über Jahrtausende eine genetische Neigung zum Übergewicht. Die sogenannten „knausrigen Gene“ (*thrifty genotype*) veranlassen den Körper dazu, Reserven für Hungerperioden anzulegen; allerdings gibt es in der westlichen Welt heute nur noch fette Jahre.

Genuntersuchungen am Menschen zeigen, dass das Körpergewicht polygen bedingt ist, d. h. dass viele Gene beteiligt sind und jedes Gen nur einen sehr kleinen Anteil des Übergewichtes bei begünstigenden Umweltbedingungen erklärt. So entscheidet eine einzelne Genvariante im Durchschnitt über 100-500 Gramm Gewichtsunterschied. Sehr selten gibt es auch Hauptgeneffekte, die eine große Auswirkung auf das Gewicht haben.

Die Erforschung dieser Gene hat sich der Verbund Molekulare Mechanismen der Adipositas zur Aufgabe gemacht. Unter der Leitung von Prof. Dr. Johannes Hebebrand (Universität Duisburg-Essen) haben sich dazu 19 Arbeitsgruppen zusammengeschlossen. Ziel des Ver-



Die *New Zealand Obese*-Maus (links) mit ausgeprägter Veranlagung zu Adipositas und Typ-2-Diabetes mit einer schlanken *Swiss Jim Lambert*-Maus (rechts), deren Phänotyp durch eine natürlich vorkommende Mutation im *Tbc1d1*-Gen bestimmt wird (siehe Forschungshighlight 2).

bunds ist die Identifizierung von Genen und Genvarianten, die zu Adipositas (Fettleibigkeit) prädisponieren und deren anschließende Charakterisierung.

Forschungshighlight 1: Zwei neue Adipositasgene

Eine Kooperation von neun Partnern aus dem Adipositasnetz sowie 13 Partnern weltweit identifizierte zwei neue Adipositasgene (*TNKS/MSRA* und *SDCCAG8*). Dazu wurden von den Arbeitsgruppen um Prof. Dr. Johannes Hebebrand und Dr. André Scherag (Essen) mehr als zwei Millionen genetische Varianten bei über 2.000 extrem adipösen Kindern und Jugendlichen und schlanken Kontrollpersonen (genomweite Assoziationsstudie) deutscher und französischer Herkunft analysiert. Die Varianten, die man häufiger bei den adipösen Probanden nachweisen konnte, wurden im Anschluss bei über 35.000 Personen nachuntersucht. Dabei konnten die beiden oben genannten Gene identifiziert und bereits bekannte Adipositasgene (*FTO*, *TMEM18* und *MC4R*) bestätigt werden. Während eines der neuen Gene nur

für frühmanifeste Adipositas relevant ist, zeigt das zweite neue Gen sowohl in Adipositas-spezifischen als auch epidemiologischen Kollektiven unterschiedlichen Alters eine Assoziation zu Adipositas.¹

Die sogenannten „knausrigen Gene“ (*thrifty genotype*) veranlassen den Körper dazu, Reserven für Hungerperioden anzulegen; allerdings gibt es in der westlichen Welt heute nur noch fette Jahre.

Forschungshighlight 2: Das Gen, das vor Adipositas schützt

Das Wissenschaftlerteam um PD Dr. Hadi Al-Hasani und Prof. Dr. Hans-Georg Joost (DIfE, Potsdam) verglich das Erbgut zweier sehr unterschiedlicher Mausstämme: Während die *New Zealand obese*-Mäuse bei fettreicher Diät schnell an Gewicht zunehmen, bleiben die *Swiss Jim Lambert*-Mäuse schlank. Die Forscher identifizierten eine natürliche Mutation im *Tbc1d1*-Gen, die die Mäuse trotz fettreicher Kost schlank bleiben lässt und zudem vor Altersdiabetes schützt. Die Mutation, die das *Tbc1d1*-Gen ausschaltet, bewirkt eine gesteigerte Fettaufnahme in die Skelettmuskulatur und kurbelt gleichzeitig die Fettverbrennung an.²

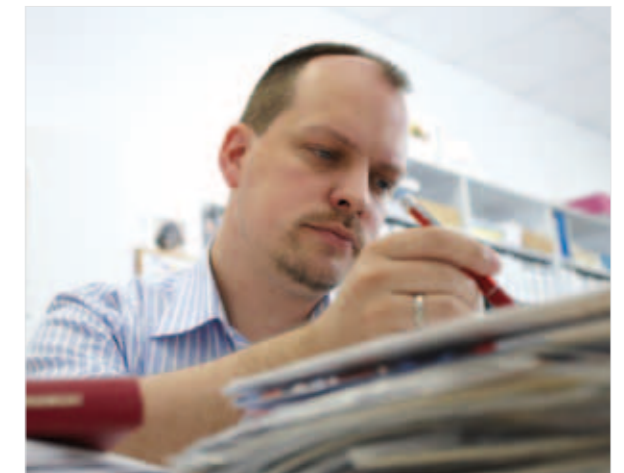
Forschungshighlight 3: Das Adipositasgen, das schlank macht

Aus Humanstudien geht hervor, dass verschiedene Varianten des *FTO*-Gens einen direkten Einfluss auf das Körpergewicht haben. Das Wissenschaftlerteam um Prof. Dr. Ulrich Ruther (Düsseldorf) hat das *FTO*-Gen bei Mäusen ausgeschaltet. Das führte dazu, dass die Tiere kleiner und schlanker waren als ihre Artgenossen, obwohl sie im Verhältnis sogar mehr aßen und sich weniger



Ziel ist die Identifizierung und Charakterisierung von Adipositasgenen (PD Dr. Anke Hinney, Essen).

bewegten. Ursächlich hierfür ist ein vermehrter Energiebedarf. Erhöhte Adrenalin-Blutwerte zeigten, dass eine systematische Aktivierung des sympathischen Nervensystems vorliegt. Damit konnte gezeigt werden, dass *FTO* einen direkten Einfluss auf den Energiehaushalt ausübt.³



Genomweite Untersuchungen zur Identifizierung von Adipositasgenen erfordern die Entwicklung, die Implementierung und den Einsatz neuer biostatistischer und bioinformatischer Algorithmen (Dr. André Scherag, Essen).

Forschungshighlight 4: Nicht jeder profitiert vom Abnehmen

Für die Probanden eines unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Thomas Reinehr (Datteln) durchgeführten einjährigen ambulanten Interventionsprogramms zur Gewichtsreduktion konnte gezeigt werden, dass Kinder und Jugendliche mit funktionsrelevanten *MC4R*-Mutationen ihr Gewicht reduzieren, im Vergleich zu anderen Teilnehmern nach einem Jahr den Gewichtsverlust aber schlechter halten können.⁴

Forschungshighlight 5: Gigantische Studie identifiziert weitere Adipositasgene mit kleinen Effekten

Eine internationale Kooperation, die sich den treffenden Namen GIANT (das steht für: *Genetic Investigation of ANthropometric Traits*) gegeben hat, konnte mittels der Erfassung von gut 2,8 Millionen genetischen Varianten an insgesamt 123.865 Personen europäischer Herkunft zunächst 42 Adipositas-Genvarianten identifizieren. Für die Bestätigung wurden 125.931 weitere Individuen herangezogen. Insgesamt sind die Daten von ca. 33.000 Personen von den Partnern aus dem Adipositasnetz beigetragen worden. Es wurden 18 neue Adipositasgene identifiziert, die jeweils einen kleinen Effekt (ca. 100-200 Gramm) auf das Körpergewicht haben.⁵

REFERENZEN

- Scherag A et al. (2010) *PLoS Genet* 22, e1000916; doi: 10.1371/journal.pgen.1000916.
- Chadt A et al. (2008) *Nat Genet* 40,1354-9; doi:10.1038/ng.244
- Fischer J et al. (2009) *Nature* 16, 894-8; doi:10.1038/nature07848
- Reinehr T et al. (2009) *Obesity* 17:382-9; doi:10.1038/oby.2008.422
- Speliotes et al. *Nat Genet*, im Druck

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0820-01GS0830, 01GS08195-01GS08197

INFEKTION / ENTZÜNDUNG

Infektionskrankheiten fordern das Immunsystem heraus

Sowohl bei einer Infektion als auch bei entzündlichen Prozessen ist das Immunsystem von entscheidender Bedeutung. Man spricht dann von einer Infektion, wenn es Erregern gelingt, in den Organismus einzudringen oder sich an ihm festzusetzen. Der Mensch ist hier den Attacken verschiedenster Angreifer ausgesetzt, darunter Bakterien, Viren und Pilzen. Auch parasitäre Infektionen sind möglich, z. B. durch einzellige Organismen, wie bei Malaria und der afrikanischen Schlafkrankheit, oder durch Tiere, wie etwa Würmer.

Unbemerkt oder tödlich – es kommt auf den Erreger an

Infektionskrankheiten sind so verschieden wie ihre Auslöser. Einige Krankheitserreger beeinträchtigen das Leben ihrer menschlichen Wirte kaum, andere verursachen schwere Krankheiten und führen mitunter sogar zum Tode. Manchmal (z. B. im Falle des *Herpes simplex* Virus) trägt der Großteil der Bevölkerung das Virus unbemerkt in sich und es führt nur dann zu Symptomen, wenn das Immunsystem geschwächt ist und das Virus daher vorübergehend die Oberhand gewinnen kann. Andere Infektionskrankheiten (z. B. AIDS, Malaria, Typhus) sind lebensbedrohlich und trotz Behandlung mitunter tödlich. Impfungen können vor einer Infektion schützen, sind aber bislang nicht gegen alle Pathogene verfügbar.

Welche Gene sind relevant in diesem Wettstreit?

Oft ist das Zusammenspiel zwischen Angreifer und Wirt hochgradig komplex. Einerseits die genauen Vorgänge in beispielsweise von Viren befallenen Zellen zu kennen und andererseits die Strategien der Krankheitserreger zu verstehen, kann es letztlich erlauben, in das komplizierte Wechselspiel einzugreifen und so Infektionskrankheiten erfolgreich zu bekämpfen. Das Wissen, welche Gene hier bei Wirt und Erreger die entscheidenden Rollen spielen, kann ein Meilenstein im Kampf gegen Infektionskrankheiten sein.

Humane Papillomviren; Elektronenmikroskopie,
© Hanswalter Zentgraf, Deutsches Krebsforschungszentrum



Prof. Dr. Jürgen Brosius
 Universität Münster
 Koordinator des NGFN-Verbunds
RNomics bei Infektionskrankheiten

RNA als Schlüssel zu Infektionskrankheiten

Insbesondere bei bakteriellen Infektionskrankheiten ist die zunehmende Resistenzbildung der Keime gegen Antibiotika ein stetig wachsendes medizinisches Problem. Daher werden alternative Behandlungsmöglichkeiten erforscht. Aktuelle Erkenntnisse über die vielfältigen Funktionen von RNA zeigen, dass modulierend wirkende RNAs zum einen therapeutische Angriffspunkte sein, darüber hinaus aber auch selbst als Medikament Verwendung finden können. Das Potential der *RNomics* ist noch lange nicht erschöpft.

Die „evolutionäre“ Hierarchie der zellulären Makromoleküle – RNA ganz oben

In modernen Zellen spielen drei Typen von Makromolekülen die wichtigsten funktionalen, strukturellen und informatorischen Rollen: die chemisch verwandten Nucleinsäuren DNA und RNA sowie Proteine. Lange herrschte die Meinung vor, dass die DNA Träger der Erbinformation und die RNA lediglich der Informationsübermittler sei. Tatsächlich dient RNA an Ribosomen als Schablone zur Anfertigung von Proteinen. Doch untermauern jüngste Forschungsergebnisse, nach denen RNA-Moleküle genau wie Proteine auch enzymatische Reaktionen ausführen können, die These, dass die ursprünglichsten zellulären Formen lediglich RNA als multifunktionales Makromolekül hatten. RNA-Makromoleküle waren einst, wie heute noch bei einigen Viren (z. B. HIV oder Influenza), Träger der genetischen Information und konnten gleichzeitig lebensrelevante chemische Reaktionen katalysieren – die DNA hat erst später die Rolle der Informationsspeicherung übernommen.

Vor etwa einem Jahrzehnt wurde klar, dass es nicht nur wenige, auf eine geringe Zahl von Funktionen spezial-

isierte RNAs gibt, sondern dass Zellen und Gewebe eine erstaunliche Vielzahl von RNA-Molekülen beherbergen;¹ darunter auch nahezu tausend verschiedene microRNAs (miRNAs), die an vielen wichtigen Regulationsprozessen der Zelle beteiligt sind. Nicht nur fehlende oder veränderte Proteine, sondern auch RNA-Moleküle können Ursachen genetischer Erkrankungen sein. Das Fehlen von RNA-Molekülen, die wir in unserem Labor bearbeiten, kann zu Erkrankungen im Menschen und der Labormaus führen, z. B. äußert sich ein Verlust von Genen, die eine kleine hirnspezifische RNA kodieren, in einer neurogenetischen Erkrankung, dem Prader-Willi-Syndrom.²

Interessanterweise kann RNA nicht nur als Zielmolekül für kleine Pharmasubstanzen auserkoren werden, sondern in Form kurzer synthetischer RNAs selbst therapeutisch eingesetzt werden.

RNAs als Zielmoleküle von Therapien

Die große Vielfalt von funktionalen RNA-Molekülen ist schon bei Einzellern einschließlich Bakterien sehr komplex. Erst seit weniger als einem dreiviertel Jahrhundert konnten die verheerenden Auswirkungen bakterieller Infektionen durch die Entwicklung von Antibiotika kontrolliert werden. Das Problem ist die zunehmende Resistenz der Krankheitserreger. Interessanterweise sind die Zielstrukturen von Antibiotika häufig RNA-Moleküle im Komplex mit Proteinen, sogenannte Ribonukleoproteinpartikel (RNP). Das vielleicht bekannteste ist das Ribosom, die zelluläre Eiweißfabrik. Durch strukturelle Unterschiede inaktivieren die meisten Antibiotika lediglich bakterielle RNP, so dass die Wirtszellen weitgehend verschont bleiben. Neue Antibiotika



Dr. Timofey Rozhdestvensky bei der Kultur von Viren infizierter Wirtszellen.

zu entwickeln, die in die Funktionsmechanismen der RNP eingreifen und dadurch das Wachstum von Krankheitserregern und Parasiten blockieren oder verlangsamen, ist ein erfolgsversprechender Forschungsansatz.

Unser Konsortium (mit den Verbundpartnern Prof. Dr. Jörg Vogel/Würzburg, Prof. Dr. Thomas Rudel/Würzburg, Dr. Richard Reinhardt/Köln und Prof. Dr. Lutz Walter/Göttingen) hat es sich daher zur Aufgabe gemacht, im Hinblick auf Erreger mit besonderer Bedeutung für die Gesundheit der Weltbevölkerung den oben genannten Ansatz der experimentellen *RNomics* einzusetzen. Dies umfasst die Identifikation und Charakterisierung aller RNAs eines Organismus. Eingeschlossen sind dabei sowohl Bakterien wie Salmonellen (z. B. Lebensmittelvergiftungen), Vibrio (Cholera), Helicobacter (Magengeschwüre), Chlamydien (Erkrankungen der Schleimhäute) als auch einzellige Parasiten mit Zellkern wie Plasmodium (Malaria-Erreger), Giardia (Darmerkrankungen), Toxoplasma (Unterdrückung des Immunsystems) sowie Viren (AIDS). Durch vergleichende und funktionelle Studien können wir dann Kandidaten identifizieren, die für das Überleben der jeweiligen Organismen wichtig sind. Bei Helicobacter, Chlamydien und Plasmodium haben wir schon solche RNA-Kandidaten entdeckt.^{3,4,5}

Interessanterweise kann RNA dann nicht nur als Zielmolekül für kleine Pharmasubstanzen auserkoren werden, sondern in Form kurzer synthetischer RNAs selbst therapeutisch eingesetzt werden. Dies beruht auf dem Konzept, dass die zumeist als Einzelstrang vorliegende RNA ebenso wie DNA Doppelstränge bilden kann. Wählt man in einer funktional essenziellen RNA einen Abschnitt aus und stellt ein passendes Gegenstück her, kann dies zur Blockade der Ziel-RNA führen und so die Vermehrung des Krankheitserregers im Wirtorganismus negativ beeinflussen (etwa wie bei einem durch eine Parkkralle inaktivierten Fahrzeug).

Modulation der Genexpression des Wirtes

Weitere Ansatzpunkte sind nicht nur die vom Krankheitserreger produzierten RNAs, sondern auch RNAs der Wirtszelle, die durch die Infektion in unterschiedlicher Menge produziert werden. Dies kann aus zwei Gründen geschehen:

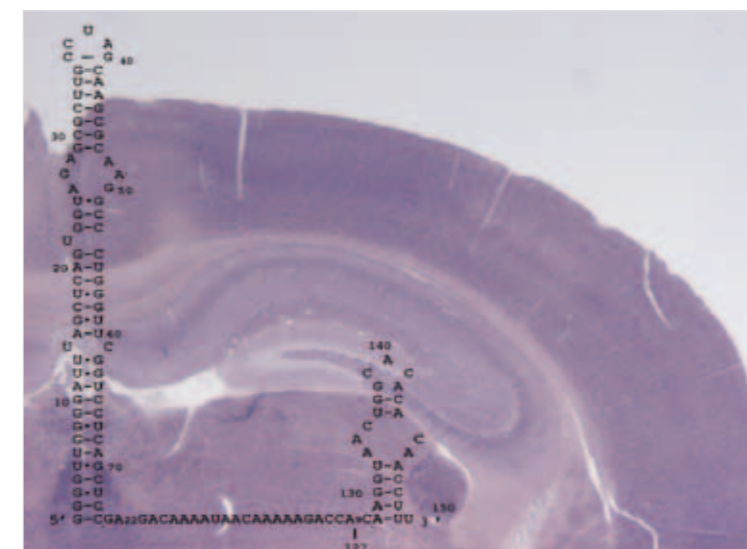
- 1) Der Krankheitserreger programmiert den Wirt zu einer Änderung der Expression von einigen Wirtsgenen um, was dazu führt, dass die Infektion erleichtert wird.
- 2) Die Wirtszelle reagiert auf die Infektion durch Änderung der Expression von einigen Wirtsgenen, um die Infektion effizienter zu bekämpfen.

Auch diese Veränderungen der Wirtsexpression können wir durch unseren experimentellen *RNomics* Ansatz erfassen. Ziel ist, diese Veränderungen durch Therapeutika zu beeinflussen, d. h. jenen Genprodukten, die den Erreger begünstigen, entgegenzuwirken und andere Genprodukte, die die Abwehr der Wirtszelle begünstigen, zu stimulieren.

REFERENZEN

1. Hüttenhofer A, Brosius J (2003) In: *Frontiers in Computational Genomics Volume 3*, pp. 217-2402 2
2. Skryabin BV, Gubar L, Seeger B, Pfeiffer J, Handel S, Robeck T et al. (2007) *PLoS Genet.* 3, 2529-2539; doi:10.1371/journal.pgen.00302353
3. Sharma CM, Hoffmann S, Darfeuille F, Reignier J, Findeiss S, Sittka A et al. (2010) *Nature* 464, 250-255; doi:10.1038/nature08756
4. Albrecht M, Sharma CM, Reinhardt R, Vogel J, Rudel T (2010) *Nucleic Acids Res.* 38, 868-877; doi:10.1093/nar/gkp1032
5. Raabe CA, Sanchez CP, Randau G, Robeck T, Skryabin BV, Chinni SV et al. (2010) *Nucleic Acids Res.* 38, 608-617; doi:10.1093/nar/gkp895

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0805-01GS0808, 01GS08200



Beispiel einer hirnspezifischen RNA (je dunkler die Hirnregionen, desto mehr Expression), die sich durch Komplementarität in doppelsträngige und in einzelsträngige Teilschnitte faltet. Letztere könnten Zielregionen für synthetische RNA-Schnipsel sein, die mit Funktionen der RNA intervenieren.



Prof. Dr. Dr. Jürgen Haas
Ludwig-Maximilians Universität München, Koordinator des NGFN-Verbunds Herpesvirus-Infektionen

Die Tricks der Viren am Beispiel von Herpes aufdecken

Mehr als 90 % aller Menschen sind mit dem *Herpes simplex* Virus Typ 1 infiziert. Bemerkbar macht sich die Infektion, die ein Leben lang bestehen bleibt, unter anderem sobald die typischen Lippenbläschen auftreten. Doch können sich die nicht immer harmlosen Herpesviren auch von einer nützlichen Seite zeigen: Sie lassen sich beispielhaft als Modell verwenden, um die manipulativen Mechanismen aufzudecken, mit denen Viren ihre Wirtszellen austricksen. Kleine RNAs spielen bei diesen Vorgängen eine große Rolle.

Die Rolle von miRNAs in der Pathogenese von Herpesvirus-Infektionen

MicroRNAs (miRNAs) sind kurze RNA-Moleküle mit einer Länge von etwa 21 Nukleotiden, die an der Regulation sehr vieler zellulärer Prozesse beteiligt sind und die auch bei einer Reihe von Erkrankungen des Menschen eine Rolle spielen. Sie binden an Boten-RNAs (mRNAs) und führen entweder zu deren Abbau oder zu einem Stopp der Proteinsynthese. Auf diese Weise vermindern sie die Expression ihrer Zielgene.

Seit mehreren Jahren wissen wir, dass auch Krankheitserreger miRNAs exprimieren können und damit aktiv den Wirtsorganismus beeinflussen. Dazu gehören z. B. Herpesviren, aber auch andere DNA-Viren, Bakterien und Parasiten. Bis auf eine einzige bisher bekannte Ausnahme (*Varizella Zoster* Virus) wurden bei allen untersuchten Herpesviren Gene gefunden, die für miRNAs kodieren.

Herpesviren können sehr viele unterschiedliche Spezies befallen. Beim Menschen sind derzeit acht humanpathogene Vertreter bekannt, welche für viele unterschiedliche Erkrankungen verantwortlich sind. Das Spektrum



Dr. Diana Lieber und Dr. Lars Dölken interessieren sich für die genauen Vorgänge, die in virusinfizierten Zellen ablaufen.

reicht dabei von harmlosen Kindererkrankungen bis hin zu tödlichen Infektionen und Tumoren.

Die wohl wichtigste Eigenschaft von Herpesviren besteht darin, dass sie nach der Primärinfektion symptomfrei im Körper verbleiben (Viruslatenz) und zu einem späteren Zeitpunkt, z. B. unter Immunsuppression, wieder reaktivieren und zu Symptomen führen können.

Da Herpesviren nicht aus dem Körper entfernt werden können und sehr weit verbreitet sind, ist weltweit praktisch jeder Erwachsene mit mindestens einem, in der Regel aber mehreren Herpesviren infiziert. MiRNAs könnten für Herpesviren deshalb eine besondere Rolle spielen, weil sie im Gegensatz zu den Proteinen des Erregers keine Immunantwort des Wirts auslösen. Dies könnte für die lebenslange Latenz im Wirt von besonderem Vorteil für die Viren sein.

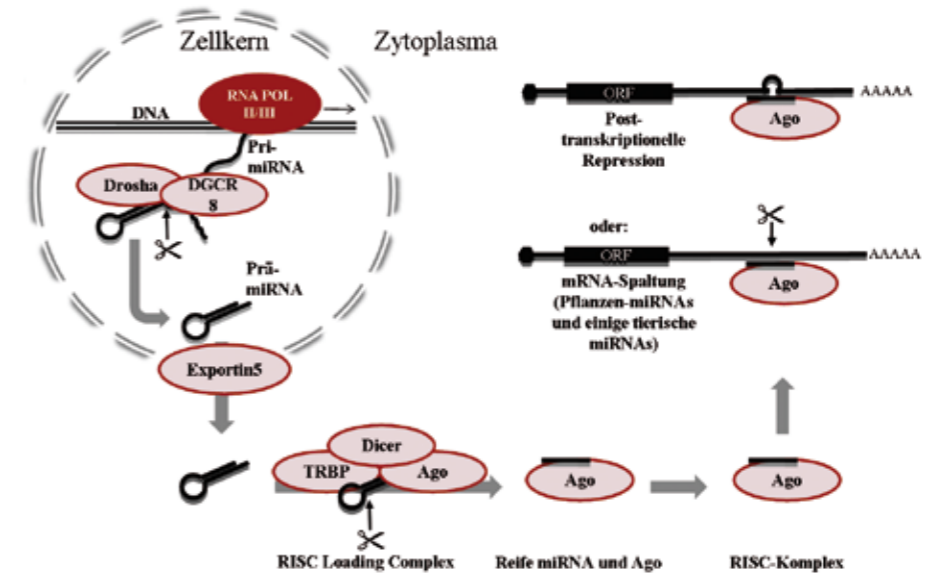
Der Verbund MiRNAs bei Herpesvirus-Infektionen

Der multidisziplinäre Verbund untersucht die Rolle von zellulären und viralen miRNAs in der Pathogenese von Infektionskrankheiten exemplarisch anhand von Herpesviren. Von besonderem Interesse sind dabei die Mechanismen, durch welche herpesvirale und zelluläre miRNAs den Verlauf der Infektion beeinflussen.

Die wichtigsten Ziele des Konsortiums sind
1) die Aufklärung der Rolle von herpesviralen und zellulären miRNAs bei der Replikation und in der Pathogenese,
2) die Identifizierung der beteiligten viralen und zellulären miRNAs und ihrer Zielgene und schließlich
3) die Klärung der Frage, ob die Blockade von miRNAs für therapeutische Zwecke genutzt werden kann.

Der Verbund besteht aus sieben Arbeitsgruppen, die an der Ludwig-Maximilians-Universität München (Prof. J. Haas, Dr. L. Dölken, Prof. K. Förstemann, Prof. R. Zimmer), der Universität des Saarlandes in Homburg (Prof. F. Grässer), der Universität Regensburg (Prof. G. Meister) und dem Helmholtz Zentrum in München (PD Dr. H. Adler) ange-

siedelt sind. Die Arbeitsgruppen kommen aus experimentellen (Biologie, Biochemie, Medizin) und theoretischen Disziplinen (Bioinformatik), arbeiten sowohl im Bereich der Grundlagenwissenschaften als auch der angewandten medizinischen Forschung und verwenden Hochdurchsatzverfahren, biochemische und genetische Verfahren, Tiermodelle und entwicklungsbiologische Ansätze.



Biosynthese und Wirkungsweise von miRNAs. Prä-miRNAs werden im Zellkern aus einer sich ausbildenden RNA-Haarnadelstruktur herausgeschnitten und ins Zytoplasma exportiert. Dort werden sie weiterprozessiert und landen schließlich im RISC-Komplex, in dem sie ihre Ziel-mRNA erkennen und ihre Wirkung entfalten (mRNA-Spaltung bzw. Unterdrückung der Proteinherstellung).

Durch diese methodische Vielfalt können *in vitro*-Laborergebnisse schnell auf ihre biologische Relevanz in Tiermodellen und hinsichtlich ihrer medizinischen Verwertbarkeit anhand von Patientenuntersuchungen getestet werden.

Das Spektrum der durch Herpesviren verursachten Erkrankungen reicht von harmlosen Kindererkrankungen bis hin zu tödlichen Infektionen und Tumoren.

Zielgene der miRNAs aufdecken

Eine zentrale Fragestellung des Forschungsverbunds ist die Identifikation von Zielgenen, die durch herpesvirale miRNAs reguliert werden. Aufgrund der Tatsache, dass miRNAs und ihre Zielgene nur in sehr kurzen Bereichen von 6 oder 7 Nukleotiden vollständig komplementär sind, sind bioinformatische Voraussagen über miRNA-Zielgen-Wechselwirkungen sehr schwierig. Außerdem inhibieren miRNAs die Expression ihrer Zielgene meist nur etwa 2 bis 4-fach, weshalb die Veränderungen nur schwer nachweisbar sind. Erschwerend kommt hinzu, dass miRNAs in der Regel nicht einzelne, sondern eine Vielzahl von Zielgenen regulieren.

Um trotz dieser Schwierigkeiten vernünftige Aussagen über virale und zelluläre miRNAs und die von ihnen regulierten Gene machen zu können, entwickelte der Forschungsverbund eine Reihe von Kerntechnologien, die inzwischen für mehrere herpesvirale Erreger angewandt wurden. MiRNAs wirken auf ihre Zielgene durch die sogenannten RISC-Komplexe (siehe Schema), die neben miRNA und Ziel-mRNA auch zelluläre Argonaute Proteine

enthalten. Mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern gegen diese Argonaute Proteine konnten RISC-Komplexe angereichert und die darin enthaltenen mRNAs mittels *Microarray*-Analysen identifiziert werden (RISC-IP, RISC-Chip). Auf diese Weise konnte z. B. in humanen B-Lymphozyten eine sehr große Anzahl von Zielgenen von viralen miRNAs des Epstein Barr Virus (EBV) und des Kaposi Sarkom assoziierten Herpesvirus (KSHV) sowie von zellulären miRNAs identifiziert werden.¹

Anhand einer weiteren, neu etablierten Methode können die Halbwertszeiten aller mRNAs einer Zelle gleichzeitig bestimmt werden. Mittels dieser Technologie wurde zum ersten Mal experimentell bestätigt, dass die in RISC-Komplexen gebundenen mRNAs tatsächlich eine verkürzte Halbwertszeit besitzen. Anhand der vorhandenen Tiermodelle soll nun unter anderem untersucht werden, ob mittels miRNA-Hemmstoffen (sogenannter Antagomirs) der Infektionsverlauf von Herpesvirus-Infektionen beeinflusst werden kann.²

REFERENZEN

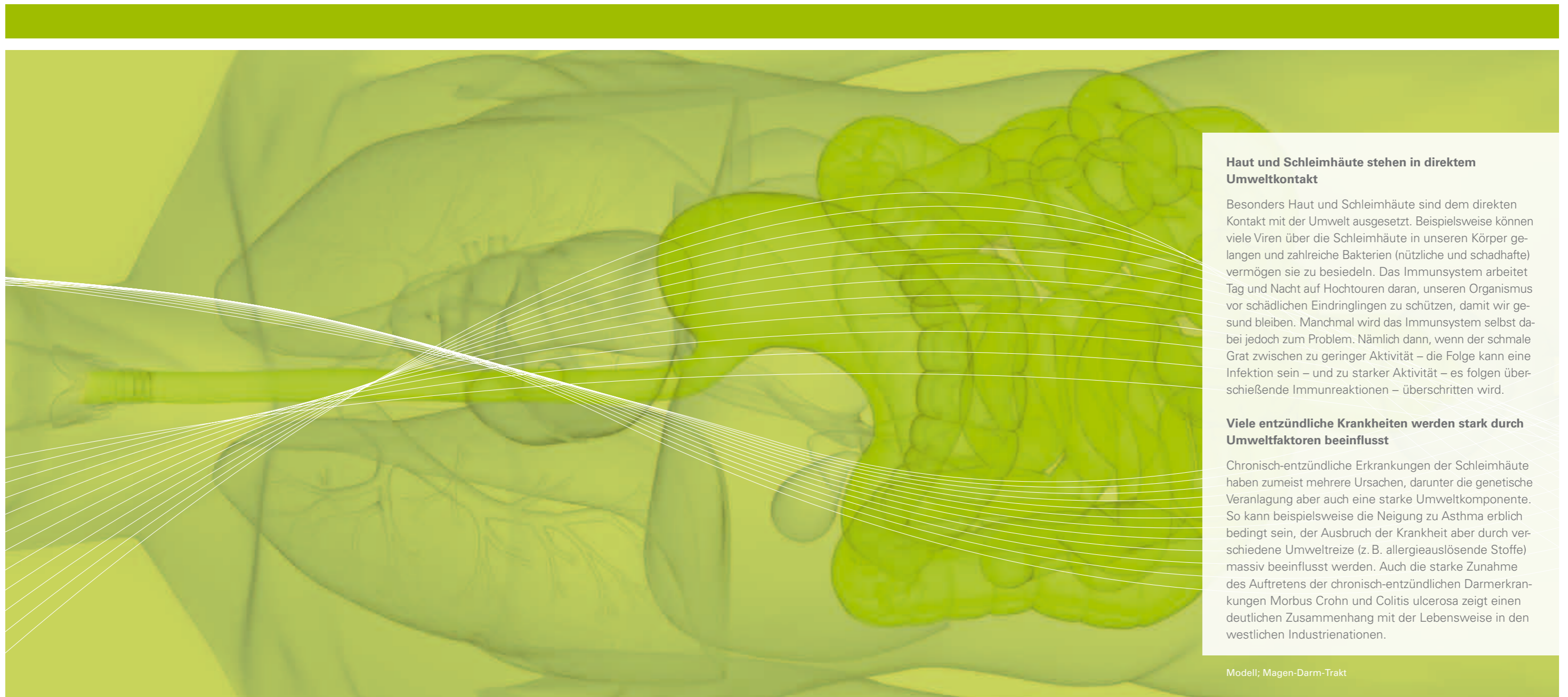
1. Dölken L, Malterer G, Erhard F, Kothe S, Friedel CC, Suffert G, et al. (2010) *Cell Host Microbe* 7(4), 324-334; doi:10.1016/j.chom.2010.03.008
 2. Dölken L und Haas J (2008) *Future Microbiol* 3(6), 585-588; doi: 10.2217/17460913.3.6.585

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0801-01GS0804

UMWELTBEDINGTE ERKRANKUNGEN

Die meisten Erkrankungen haben eine umweltbedingte Komponente

Tagtäglich ist der menschliche Organismus einer Vielzahl von Umwelteinflüssen ausgesetzt. Mit der Nahrung beispielsweise nehmen wir ein Gemisch verschiedenster Substanzen auf, von denen viele lebenswichtig sind (wie Proteine, Fette, Kohlenhydrate, Vitamine), einige eine schädliche Wirkung haben können (z. B. Pestizide in Obst und Gemüse, Schwermetalle in Meeresfrüchten) und anderen ein positiver Einfluss zugeschrieben wird (Polyphenole in Rotwein, Flavonoide in grünem Tee, etc.). Doch die Ernährung ist nur einer von vielen Umweltfaktoren. Auch Stress, Lärm, Smog und vieles weitere können uns und unsere Gesundheit beeinflussen.



Haut und Schleimhäute stehen in direktem Umweltkontakt

Besonders Haut und Schleimhäute sind dem direkten Kontakt mit der Umwelt ausgesetzt. Beispielsweise können viele Viren über die Schleimhäute in unseren Körper gelangen und zahlreiche Bakterien (nützliche und schadhafte) vermögen sie zu besiedeln. Das Immunsystem arbeitet Tag und Nacht auf Hochtouren daran, unseren Organismus vor schädlichen Eindringlingen zu schützen, damit wir gesund bleiben. Manchmal wird das Immunsystem selbst dabei jedoch zum Problem. Nämlich dann, wenn der schmale Grat zwischen zu geringer Aktivität – die Folge kann eine Infektion sein – und zu starker Aktivität – es folgen überschießende Immunreaktionen – überschritten wird.

Viele entzündliche Krankheiten werden stark durch Umweltfaktoren beeinflusst

Chronisch-entzündliche Erkrankungen der Schleimhäute haben zumeist mehrere Ursachen, darunter die genetische Veranlagung aber auch eine starke Umweltkomponente. So kann beispielsweise die Neigung zu Asthma erblich bedingt sein, der Ausbruch der Krankheit aber durch verschiedene Umweltreize (z. B. allergieauslösende Stoffe) massiv beeinflusst werden. Auch die starke Zunahme des Auftretens der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen Morbus Crohn und Colitis ulcerosa zeigt einen deutlichen Zusammenhang mit der Lebensweise in den westlichen Industrienationen.

Modell: Magen-Darm-Trakt



Prof. Dr. Stefan Schreiber
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Koordinator des NGFN-Verbunds
Genomnetz Umweltbedingte Erkrankungen

Verschiedene Krankheiten an gemeinsamer Wurzel packen

Krankheiten, die auf den ersten Blick völlig andersartig sind, können grundlegende Gemeinsamkeiten im Hinblick auf die Ursachen aufweisen, selbst wenn verschiedene Organe betroffen sind. Der Grund liegt in gemeinsamen Krankheitsgenen, wie unter anderem für die Schuppenflechte und eine Form der chronischen Darmentzündung gezeigt werden konnte. Dieses Wissen ist von entscheidendem Wert für die Entwicklung neuartiger Therapien, die krankheitsübergreifend ursächliche Prozesse regulieren sollen.

Herr Prof. Schreiber, was ist der Tätigkeitsfokus des Verbunds Umweltbedingte Erkrankungen?

Die meisten Projekte des Umweltnetzes fokussieren auf die genetische Epidemiologie von entzündlichen Erkrankungen der Barriereorgane – z. B. der Haut und Schleimhaut. Die Epidemiologie untersucht die Häufigkeit sowie Ursachen und Folgen beispielsweise bestimmter Erkrankungen auf Ebene der Bevölkerung, wobei wir stellvertretende Personengruppen, sogenannte Kohorten, betrachten.

Eine der wesentlichen Startvoraussetzungen des Umweltnetzes war, dass die verschiedenen Erkrankungen simultan bearbeitet werden. Das war möglich, da die entsprechenden technologischen Innovationen, um Kohorten-Studien in systematisch-genetisch epidemiologische Untersuchungen überführen zu können, in etwa gleichzeitig geschaffen wurden.

Dadurch sind die Projekte des Umweltnetzes sehr synchron und benutzen sämtliche genomweiten Assoziations-

studien (siehe Seite 16) als Ausgangspunkt für die weitere genetisch-epidemiologische Analyse. Diesem zugeordnet sind eine Reihe von qualitätssichernden und technologienentwickelnden Projekten sowie zwei Projekte, in denen eine Übersetzung in die Krankheitspathophysiologie erfolgt.

Wo sehen Sie die bislang größten Erfolge des Projekts?

Das Umweltnetz hat durch seine Arbeit die Anfangshypothese, dass Erkrankungen von Barriereorganen über die Organsysteme hinaus in Berührung stehende, gemeinsame Krankheitsursachen besitzen, bestätigt.

Vor drei Jahren hätten die meisten Forscher noch Gemeinsamkeiten z. B. zwischen Morbus Crohn und Lepra oder Tuberkulose und Sarkoidose weit von sich gewiesen. Heute wissen wir, dass es gemeinsame Krankheitsgene gibt und die Schnittmenge deutlich größer ist als



Qualitätsmanagement und Technologieentwicklung im Umweltnetz durch Prof. Dr. Sylvia Hofmann (rechts, hier mit Susan Ehlers).

angenommen. So sind etliche der Krankheitsgene für die Psoriasis, also die Schuppenflechte, und Morbus Crohn, einer chronisch-entzündlichen Darmerkrankung, identisch.

Inwiefern lassen sich diese Erfolge in der Fachwelt bemessen?

Das Umweltnetz hat eine ganze Reihe wissenschaftlicher Publikationen herausgegeben. Dazu gehören für jedes der im Umweltnetz bearbeiteten Krankheitsgebiete die entsprechenden Arbeiten im renommierten Fachmagazin *Nature Genetics*, die einen tiefen Einblick in die Architektur der jeweiligen Krankheit bieten.

Worin liegt die Bedeutung dieser Arbeiten für die Entwicklungen neuer Therapien?

Die Erkenntnis, dass Erkrankungen von Barriereorganen in diesem Maße überlappen, hat sicher einen Einfluss auf die Entwicklung neuer Therapien. Gerade innovative Therapien, die an Stoffwechselwegen angreifen und die in der Krankheitsystematik mehrerer Erkrankungen von Barriereorganen gleichzeitig verankert sind, sollten daher indikationsübergreifend entwickelt werden.

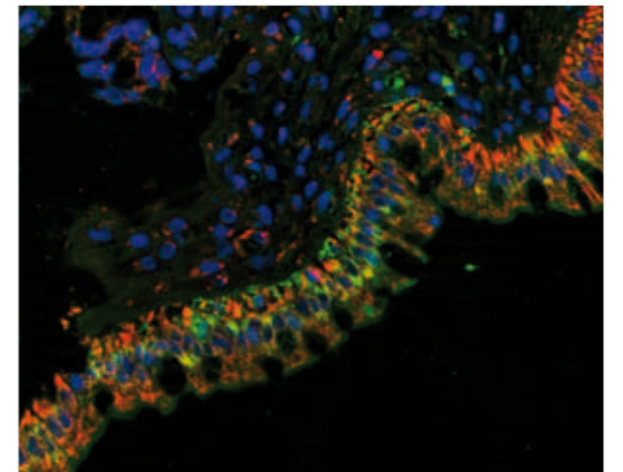
Dieses erfordert ein Umdenken sowohl auf der Ebene der Arzneimittelhersteller als auch der Zulassungsbehörden. Insbesondere ergibt sich aber auch aus diesen Erkenntnissen die Möglichkeit, neue Biomarker zu entwickeln. Diese können helfen, innovative Therapien ganz anders als heute zu dirigieren und Subpopulation von Patienten, die auf die Therapie ansprechen könnten, im Vorhinein zu definieren.

„Das Umweltnetz hat durch seine Arbeit die Anfangshypothese, dass Erkrankungen von Barriereorganen über die Organsysteme hinaus in Berührung stehende, gemeinsame Krankheitsursachen besitzen, bestätigt.“

Was halten Sie für die wesentliche Translationsebene Ihrer Forschung?

Ich glaube, die Erkenntnis, dass wir jetzt die wirklichen Krankheitsursachen für viele der von uns untersuchten Erkrankungen kennen, wird in zehn bis zwanzig Jahren zu gänzlich neuen Therapien führen. Wir haben doch erkannt, dass viele der Stoffwechselwege, die wir vorher angegangen sind und die wir ausschließlich aus den Tiermodellen abgeleitet haben, zwar mitunter zu einigermaßen wirksamen Medikamenten geführt haben, aber doch nicht immer ursächlich sind.

Die wirklich ursächlichen Therapien können jetzt entwickelt werden. Dieses wird jedoch erfahrungsgemäß etwa eine Generation dauern, die üblicherweise zwischen der Identifikation des *Targets*, also jenes Moleküls, auf das die Therapie abzielt, und der wirklichen Verfügbarkeit eines Medikamentes liegt.



Die mikroskopische Aufnahme zeigt einen Ausschnitt aus dem Darm eines Morbus Crohn Patienten. In den Epithelzellen sind die Krankheitsgene NOD2 (grün) und CARD8 (rot) besonders stark vorhanden. Sie wirken dem Eindringen von Krankheitserregern entgegen und versuchen so, die Entzündung zu stoppen.

Welche wichtigen technologischen Herausforderungen gilt es für den Verbund noch zu meistern?

Wir wollen tiefer in die genetische Epidemiologie unserer Erkrankungen einsteigen. Dazu eignet sich das Instrument der genomweiten Assoziationsstudie trotz großer Metaanalysen, also der Betrachtung verschiedener Einzelanalysen in einem Gesamtkontext, nur bedingt. Das liegt daran, dass die Algorithmen zur Bewertung der Daten zu einem Verlust der statistischen Aussagekraft führen, aber auch an Limitationen in der Methode selbst.

Wir glauben, dass die nächste technologische Revolution die breite Anwendung der Sequenzierung ist. In den nächsten Jahren erwarten wir jedoch, dass die Kosten für die Sequenzierung des menschlichen Genoms ganz erheblich fallen werden, so dass es möglich sein wird, auch tausende von Patienten vergleichend zu sequenzieren. Wir werden daher mit der Sequenzierung das erleben, was wir bereits mit den genomweiten Assoziationsstudien im Bereich der Genotypisierung als gewaltigen Schub nach vorne gesehen haben.



Mit modernsten Hochdurchsatztechnologien konnten einige Forscher des Verbundes unter Leitung von Prof. Dr. Andre Franke mehrere für Psoriasis und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen verantwortliche Krankheitsgene identifizieren.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0809-01GS0812, 01GS0814-01GS0818

KRANKHEITSÜBERGREIFENDE STRATEGIEN

Im Netzwerk krankheitsübergreifend agieren

Forschung an verschiedensten Krankheitsgebieten in einem gemeinsamen Netzwerk zu betreiben, bietet zahlreiche Vorteile. Insbesondere können durch krankheitsübergreifende Projekte Ebenen geschaffen werden, die Experten diverser Fachrichtungen miteinander verbinden. Die Optimierung von Technologien und Methoden spielt hier eine entscheidende Rolle, damit das gesamte Forschungsnetz qualitativ und quantitativ auf höchstem Niveau arbeiten kann.



Technologien optimieren und den Zusammenhängen auf den Grund gehen

In der Genomforschung gegen einzelne Erkrankungen fokussiert vorzugehen, gleichzeitig aber die großen Zusammenhänge im Blick zu behalten, ist eine erfolgreiche Strategie. Sie wird den realen Bedingungen gerecht, denn auch die Gene entfalten ihre Wirkung erst im Zusammenspiel untereinander. Um die genetischen Hintergründe von Krankheiten zu verstehen, braucht man Experten, die bestens mit den Krankheiten vertraut sind und all ihre Erfahrung und ihr Fachwissen in die Forschung einbringen. In NGFN-Plus bearbeiten mehrere Verbände solche Querschnittsthemen, wie etwa den Zusammenhang von Krankheitsgenen und das Zusammenspiel ihrer Proteinprodukte in der Zelle, im Organ und im Modellsystem.



Prof. Dr. Hrabě de Angelis
Helmholtz Zentrum München
Koordinator der NGFN-Allianz GMC
(German Mouse Clinic)

Die Klinik für die Maus

Mäuse gehören zu den am häufigsten verwendeten Modellorganismen in der biomedizinischen Forschung. Wir verdanken ihnen wertvolle Erkenntnisse, die unsere medizinischen Möglichkeiten bedeutend verbessert haben. Meist interessieren sich Forscher ganz besonders für bestimmte Themengebiete und können nicht den gesamten Organismus untersuchen. In der Deutschen Mauslinik ist eine umfassende Begutachtung von Nasen- bis Schwanzspitze garantiert. So umfassend werden menschliche Patienten nur selten untersucht.

Wie eine kranke Maus Menschen helfen kann

Die Wissenschaftler der Deutschen Mauslinik sind eines ganz sicher nicht: oberflächlich. Zwar beginnen sie die Untersuchung der kleinen Nager ganz unscheinbar mit Wiegen und Zählen der Zehen und Finger, doch werden in den nächsten Wochen mehr als 550 Parameter aus 14 Krankheitsbereichen erhoben.

Um das hochgesteckte Ziel der personalisierten Medizin zu erreichen, muss ein Krankheitsbild systemisch und mit allen verfügbaren Mitteln erforscht werden.

Das Spektrum reicht von Allergieneigung über Verhalten bis zu Knochendichtemessungen und zeigt die Besonderheit der Deutschen Mauslinik. „Unter einem Dach arbeiten hier Spezialistinnen und Spezialisten unterschiedlichster Fachgebiete eng zusammen, um zu entschlüsseln, was den Mäusen fehlt“, erklärt Professor Martin Hrabě de Angelis, Direktor der Deutschen Mauslinik am Helmholtz Zentrum München. Hier geht es jedoch nicht um Haustiere mit niedlichen Namen wie Speedy, sondern um Tiere, die Veränderungen in ihren Genen tragen. „Inzwischen ist bekannt, dass die meisten Gene in verschiedenen Organsystemen und Prozessen eine Rolle spielen. Um alle Funktionen oder Wirkweisen eines Gens zu verstehen, ist dieser systemische Ansatz notwendig. So lernen wir vielfältige neue Dinge über bekannte Krankheiten“, erläutert Hrabě de Angelis das Vorgehen.

Wie bei der Maus, so beim Menschen?

Die Maus mit dem Namen UmodA227T trägt eine Mutation im Uromodulin-Gen. Uromodulin ist ein Protein im Urin und schützt vor Harnwegsinfekten und der Bildung von Nierensteinen. Ist das Gen beim Menschen oder bei

der Maus defekt, entsteht die Uromodulin-Speicherkrankheit, die unter anderem mit erhöhten Mengen an Harnsäure im Blut – ein Risikofaktor für die Entstehung von Gicht – und Niereninsuffizienz einhergeht. Durch die systemische und umfassende Untersuchung der Mäuse in der Mauslinik wurde entdeckt, dass der Gendefekt auch Auswirkungen auf den Energie- und Knochenstoffwechsel hat. Dieses bisher unbekannte Phänomen könnte für die Behandlung von Patienten eine wichtige Rolle spielen.

Doch wie gut sind die Ergebnisse der Mäuse auf den Menschen übertragbar? Die genetische Information von Mäusen und Menschen ähnelt sich bekanntlich zu 95 %. „Natürlich gibt es auch Unterschiede zwischen den Organismen. Das macht aber nichts, solange man sich der Situation bewusst ist und Erkenntnisse richtig deutet“, erklärt Hrabě de Angelis. „Nicht alles muss exakt gleich ablaufen, um nutzbar zu sein. Es ist auch interessant zu verstehen, wie die Natur verschiedene Lösungen für das gleiche Problem entwickelt hat. Daraus kann man wiederum für den Menschen lernen, welche Wege für Therapien man noch gehen könnte, welche Moleküle eingesetzt werden könnten“, gibt er weiter zu bedenken.

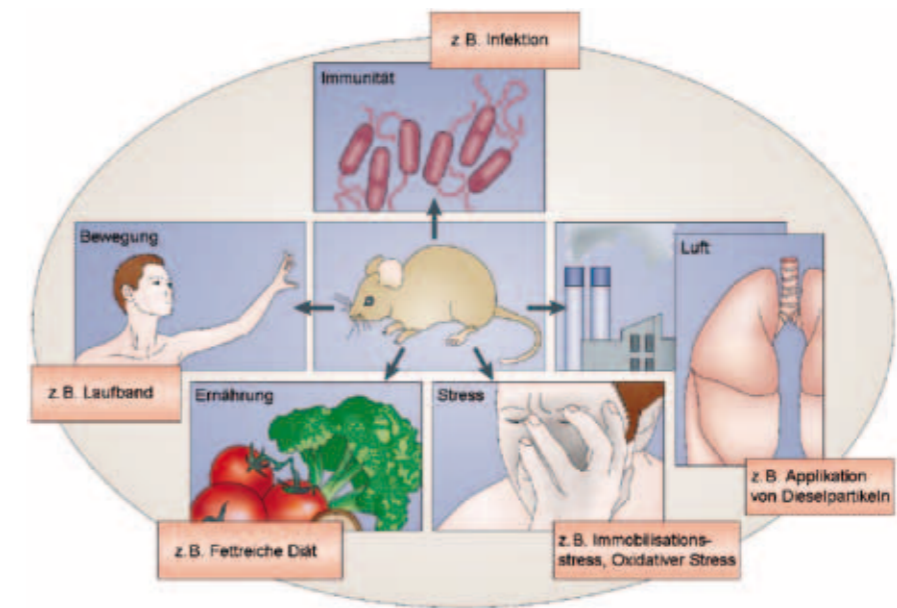


Mit dem „modified hole board“ lässt sich Verhalten wie Ängstlichkeit messen und vergleichen (Aufnahme von Bernd Müller).

Gene und Umwelt – ein komplexes Zusammenspiel

Für die Entstehung vieler Krankheiten spielt die genetische Konstitution eines Menschen eine entscheidende Rolle. Doch auch die Umwelt hat einen enormen Einfluss auf das Geschehen im Körper. Deswegen untersuchen die Wissenschaftler der Mauslinik auch den Faktor Umwelt in Kombination mit dem Faktor Gen. Die Auswirkungen von Ernährung, Bewegung, Infektionen, Stress und der Atemluft (z. B. Feinstaub) auf den Zustand der genetisch veränderten Mäuse sind von besonderem Interesse.

Ziel ist die individualisierte Medizin. Daher lassen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus NGFN-Plus sowie aus der ganzen Welt interessante Mausmodelle in der Mauslinik auf „Herz und Nieren“ prüfen. Die große Nachfrage zeigt, dass der Bedarf nach dieser Art der Analyse groß ist, und die Ergebnisse zeigen, dass der eingeschlagene Weg richtig ist: mehr als 100 Mauslinien haben die Mauslinik bisher durchlaufen und bei mehr als 90 % wurden vorher unbekannte Veränderungen entdeckt. Um den größtmöglichen Nutzen für die Erforschung von



Mit standardisierten Tests der Gen-Umwelt Plattformen für Bewegung, Infektion, Stress, Inhalation von Partikeln und fettreicher Ernährung wird untersucht, welchen Einfluss diese Umweltfaktoren bei der Ausprägung genetisch bedingter Krankheitssymptome haben.

Im Zusammenhang mit Volkskrankheiten wie Diabetes und Übergewicht wird auch der Einfluss der Ernährung untersucht. Erhalten gesunde Mäuse entweder normales Futter, sehr fetthaltiges Futter oder die so genannte Cafeteria Diät, so werden die Mäuse, welche die fettreiche Nahrung erhielten, erwartungsgemäß am dicksten. Doch besonders fällt die Cafeteria Gruppe auf, die eine den Ernährungsgewohnheiten der Industrienationen nachempfundene Nahrung mit einer Kombination aus viel Zucker und viel Fett („Fast Food“) bekam: ihr Zustand ähnelt dem des metabolischen Syndroms beim Menschen. Dieser Begriff umschreibt ein Paket an Risikofaktoren (u. a. Diabetes mellitus, Bluthochdruck, Insulinresistenz, Adipositas), das die Entstehung von koronaren Herzkrankungen stark begünstigt.

Die Mauslinik, individualisierte Therapie und das NGFN

„Das Ziel der Deutschen Mauslinik ist es, Mausmodelle für menschliche Erkrankungen auf systemische Effekte zu untersuchen. Langfristig wollen wir die molekularen Abläufe, die zu einer Krankheit führen, verstehen und dadurch die Therapiemöglichkeiten für Patienten verbessern.“

menschlichen Krankheiten zu erzielen, wurde das Konzept der Deutschen - weltweit ersten - Mauslinik europaweit implementiert.

Ergänzt wird dieser Ansatz durch das Europäische Maus Mutanten Archiv (EMMA), dessen Direktor Professor Hrabě de Angelis ist. Hier werden Mauslinien mit verändertem Genmaterial in Form von Spermien oder Embryonen eingefroren, um zu einem späteren Zeitpunkt darauf zurückgreifen zu können. „So stellen wir sicher, dass interessante Mausmodelle nicht verloren gehen, und die Anzahl an Versuchstieren möglichst gering gehalten wird.“

„Um das hochgesteckte Ziel der personalisierten Medizin zu erreichen, muss ein Krankheitsbild systemisch und mit allen verfügbaren Mitteln erforscht werden. Das bedeutet epidemiologische Studien, Studien an Gesunden und Erkrankten, im Tiermodell, an Zellsystemen und durch die Analyse der molekularen Bausteine. In NGFN-Plus und NGFN-Transfer ist eine Struktur gegeben, mit der das möglich ist. Wir sollten sie auch weiterhin nutzen!“



Dr. Margret Hoehe

Max-Planck-Institut für molekulare Genetik Berlin, Koordinatorin des NGFN-Verbunds MHC-Haplotypen-Sequenzierung

MHC: Der Komplex, der komplexe Erkrankungen besser verstehen lässt

Die Zellen unseres Immunsystems bekämpfen Infektionen, indem sie Krankheitserreger als fremd erkennen und eliminieren. Gleichzeitig dürfen gesunde körpereigene Zellen nicht fälschlich attackiert werden. Maßgeblich an dieser feinen Regulation beteiligt ist eine Fülle von hochvariablen Genen im MHC-Komplex. Die MHC-Genregion ist medizinisch besonders interessant, weil sich hier mehr krankheitsrelevante Gene befinden als in jeder anderen Region des Genoms.

Frau Dr. Hoehe, warum ist die Untersuchung der MHC-Region so wichtig?

Der *Major Histocompatibility Complex*, kurz MHC, des Menschen ist mit einer Fülle von komplexen Krankheiten verknüpft. Die außergewöhnlich hohe Dichte an Genen, die bei Entzündungs-, Infektions- und Autoimmunerkrankungen sowie bei Immunerkennungs- und Abwehrmechanismen eine wichtige Rolle spielen, erklärt seine Bedeutung als eine der wichtigsten genomischen Regionen für die Krankheitsursachenforschung.

Zu häufigen MHC-assoziierten Erkrankungen, die auch von verschiedenen Verbänden im NGFN untersucht werden, zählen z. B. Morbus Crohn, Schuppenflechte, Sarkoidose, Primär Sklerosierende Cholangitis, Schizophrenie, Krebs, Diabetes Typ 1, Alzheimer-Krankheit, Multiple Sklerose, Asthma und Rheumatoide Arthritis.

Worin liegt die ganz besondere Herausforderung?

Der Genbereich des MHC stellt eine der genetisch komplexesten Regionen des menschlichen Genoms dar. Er ist von Mensch zu Mensch äußerst verschieden und gilt deshalb auch als „genetischer Personalausweis“. Dies stellt eine große Herausforderung für molekulargenetische Un-

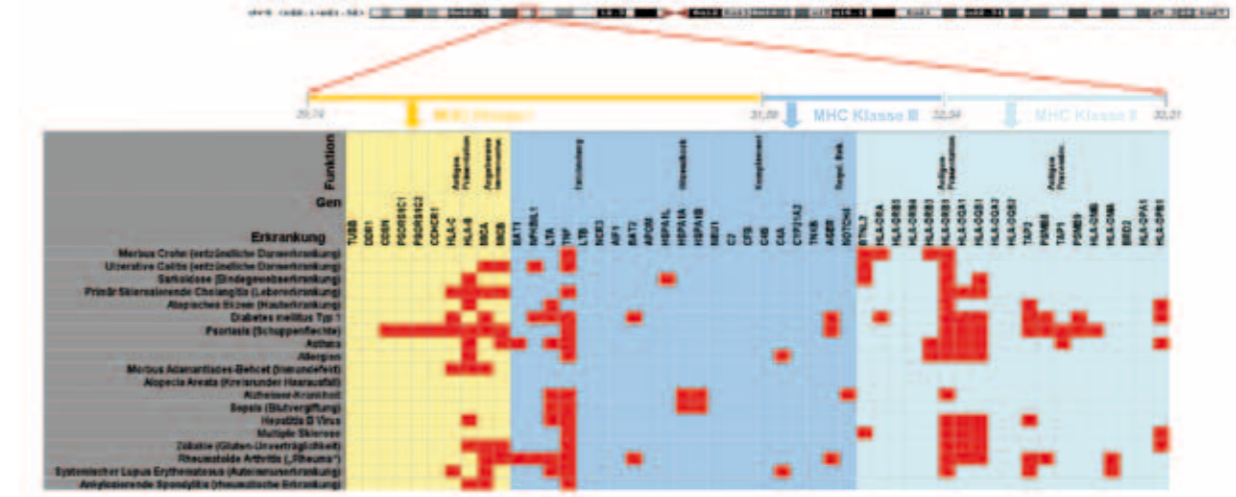


Vorbereitung eines *Next-Generation Sequenzierlaufs*: Sven Stengel bei der Bestückung eines Glaträgers mit DNA-beladenen *Beads* für die hochparallele Sequenzierung von bis zu 700 Millionen unterschiedlichen DNA-Spezies zur gleichen Zeit.

tersuchungen der MHC-DNA-Sequenzen dar. Mittels der von uns im Rahmen des NGFN etablierten weltweit einzigartigen „Haploiden Referenzressource“ in Kombination mit der neuesten *Next-Generation Sequenzier*technologie kann diese Komplexität nun erstmals aufgelöst werden: durch eine getrennte Sequenzierung und Analyse des mütterlichen und väterlichen Chromosoms der MHC-Region als den entscheidenden Schritt.

Warum ist es wichtig, die beiden Chromosomen eines Menschen getrennt zu betrachten?

Das menschliche Genom ist von Natur aus diploid. Das bedeutet, dass jeder Mensch einen doppelten Chromosomensatz besitzt, da er je einen haploiden (d. h. einfachen) Chromosomensatz von der Mutter sowie vom Vater vererbt bekommt. Somit trägt ein Mensch auch jedes Gen und jede genomische Region in zweifacher Ausführung. Da es eine immense Zahl an Genvarianten gibt, unterscheidet sich die Sequenz der mütterlichen und der väterlichen Ausführung eines jeweiligen Chromosoms. Dabei kann es von Bedeutung sein, ob bestimmte Risiko-varianten auf demselben Chromosom angeordnet sind oder nicht. Folgendes stark vereinfachte Beispiel soll die Problematik verdeutlichen: Zwei variable Positionen kommen in einem Gen vor: An der ersten Position A („normale“ Variante) und a (Risiko-variante), an der zweiten Position die Varianten B („normale“ Variante) und b (Risiko-variante). Mit den herkömmlichen Sequenzierungsmethoden ließe sich nun feststellen, dass eine Person z. B. den Genotyp AaBb hat, also jeweils beide Varianten. Die Wahrscheinlichkeit, tatsächlich zu erkranken, könnte aber dadurch beeinflusst werden, ob die beiden Krankheits-varianten a und b im selben Gen (ab) und damit auf demselben Chromosom angeordnet sind oder nicht. In ersterem Falle trüge das andere Gen auf dem zweiten Chromosom die „normalen“ Varianten A und B (AB) und wäre damit intakt. Im zweiten Falle wären gewissermaßen beide Gene geschädigt, eines mit Risiko-variante a (aB), das andere mit Risiko-variante b (Ab).



MHC: Genomische Region von großer Bedeutung für komplexe Erkrankungen: In der ca. 4 Millionen Basenpaare umfassenden MHC-Region befindet sich eine Vielzahl möglicher Krankheitsgene. Rot markiert sind spezifische Genorte für Krankheiten, die beispielsweise im NGFN und in internationalen Genomnetzen untersucht werden.

Für unterschiedlich variable Ausführungen von Genen und genomischen Regionen verwenden wir den Begriff „molekulare Haplotypen“. Nur die Kenntnis der Gensequenz auf Ebene des einzelnen Chromosoms erlaubt letztlich, gesicherte Beziehungen zwischen Sequenz, Struktur, Funktion und Regulation von Genen herzustellen. Und nur auf dieser Basis können schließlich die spezifischen bedeutsamen Krankheitsvarianten, einzeln oder in Kombinationen vorliegend, in Genen und genomischen Bereichen von Interesse identifiziert werden.

Eine Auflösung molekularer Haplotypensequenzen war mit den gebräuchlichen Sequenzieretechnologien bisher nicht möglich, denn diese lesen eine „Mitur beider Chromosomen“ aus. Auch statistische Methoden können dies auf Basis des Einzelindividuums nicht ausreichend leisten. Insgesamt ist uns nun gelungen, mit unserem MHC-Haplotypen-Sequenzierungsprojekt einen generell gültigen, methodisch und konzeptionell innovativen Ansatz zur Identifizierung von krankheitsverursachenden genetischen Veränderungen zu entwickeln. Die differenzierte Betrachtung molekularer Haplotypen und nachfolgender Kaskaden – Gensequenzen, Proteine, Stoffwechselwege – ist ein unverzichtbarer Schritt im Verständnis einer naturgemäß „haploidbasierten“ Biologie und damit ein wichtiger Ausgangspunkt für die Krankheitsursachenforschung.

Wie ist diese einzigartige Herangehensweise entstanden?

Unser Ansatz zur Sequenzierung molekularer Haplotypen ist durch das optimale Zusammenspiel und die zielgerichtete Bündelung einmaliger Ressourcen, Expertisen und Technologien erstmalig realisierbar geworden. Die wichtigsten Komponenten sind:

1. die „Haploide Referenzressource“ von 100 Individuen einer deutschen Populationskohorte (PopGen), deren Genom in Form molekularer Haplotypen in 100 Fosmidbibliotheken enthalten ist;
2. die projektspezifische *Next-Generation Sequencing* Plattform, die pro Lauf 100 Gigabasen – das entspricht 30 menschlichen Genomen – gene-

rieren kann; 3. eine projektspezifische Bioinformatik-Pipeline zur effektiven Auswertung der Datenmengen im Terabyte-Bereich. Diese drei Voraussetzungen ermöglichen es uns nun, die MHC-Region in ihre beiden molekularen Haplotypen aufzulösen.

Welches sind Ihre bisher wichtigsten Ergebnisse?

Wir haben inzwischen eine Fülle von MHC-Sequenzen erstellt und ausgewertet. Die hohe Qualität der Daten spiegelt sich auch in den Ergebnissen wider: im Durchschnitt wurden 13.269 SNPs auf einem individuellen molekularen MHC-Haplotypen identifiziert, 12 % davon sind als neu, d. h. nicht in wichtigen Datenbanken präsent, einzustufen. Bisher konnten wir für 145 krankheitsassoziierte Gene in der MHC-Region und 8.341 Gene genomweit SNPs und strukturelle Varianten nachweisen. Darüber hinaus können wir die strukturellen Varianten der molekularen Haplotypen auf neue Weise darstellen. Entsprechend unseres methodischen Ansatzes konnten wir erstmals für mehr als 20.000 Gene genomweit die molekularen Haplotypen bestimmen und erste Beziehungen zu möglichen zugrunde liegenden Krankheitsvarianten und -mechanismen herstellen.

Was erhoffen Sie sich für die Zukunft?

Bisher kennt man den Weg von der genetischen Variante zum Phänotyp für weniger als 3 % aller Erkrankungen. Unsere Forschung wird hier wesentliche Erkenntnisfortschritte bringen, indem wir nicht nur die molekularen Haplotypen einer beliebigen genomischen Region, sondern auch die gesamten individuellen haploiden Genome eines Menschen aufschlüsseln können. Dies ist jüngst zum Top-Thema der internationalen Genomforschung avanciert. Es ist abzusehen, dass die neu aufkeimende Forschung in Richtung haploidbasierte Biologie das Potential hat, die Krankheitsursachenforschung und letztlich auch das Gebiet der personalisierten Medizin zu revolutionieren.



Prof. Dr. Wolfgang Wurst
Helmholtz Zentrum München
Koordinator des NGFN-Verbunds
DiGtoP (Ko-Koordinator: Prof. Dr.
Francis Stewart)

Funktionen krankheitsrelevanter Genvarianten aufdecken

Immer mehr Genvarianten, die einen Einfluss auf die Entstehung von Krankheiten haben, werden entdeckt. Diese Erkenntnisse lassen sich teilweise direkt in eine Abschätzung erblich bedingter Erkrankungsrisiken umsetzen. Um jedoch therapeutisch gegensteuern zu können, ist ein Verständnis des genauen Beitrags solcher Genvarianten zur Krankheitsentstehung ausschlaggebend. Hier sind umfassende Untersuchungen auf Proteinebene vonnöten, durch die therapie-relevante Signalwege identifiziert werden können.



Hintergrund

Durch die Entschlüsselung des menschlichen Genoms und die anschließende Suche nach genetischen Veränderungen (Mutationen) innerhalb des Genoms sind in den vergangenen Jahren verschiedenste Gene mit der Entstehung zahlreicher humaner Krankheiten in Verbindung gebracht worden. Die einfache Zuordnung von Genen zu einer Erkrankung ist jedoch nicht ausreichend, um die Krankheits Hintergründe auf molekularer Ebene zu verstehen und um effektive, neue Therapien zur Bekämpfung dieser Krankheiten zu entwickeln. Hierzu müssen auch die Funktionen dieser Gene und deren Einbindung in die biologischen Prozesse der Zellen und der Organe bekannt sein. Deshalb besteht eine große wissenschaftliche Herausforderung darin, die noch unbekannt Funktionen von Proteinen, die von krankheitsassoziierten Genen kodiert werden, zu bestimmen.

From Disease Genes to Protein Pathways - DiGtoP

Die Analyse des Proteoms (Gesamtheit der Funktion und Interaktion von Proteinen) wird dazu beitragen, diese Funktionen zu bestimmen und dadurch die Grundlagen krankheitsbedingter Vorgänge zu ergründen. Obwohl das Proteom - je nach zellulärem Kontext und physiologischen Bedingungen - eine hochdynamische Einheit darstellt, **liegt dem Proteom ein stabiler Kern von Protein-Interaktionen zugrunde, der genau bestimmt werden kann.**

Gemeinsames Ziel der DiGtoP-Forscher ist es daher, anhand vergleichender Studien des Proteoms in Mensch und Maus grundlegende molekulare Mechanismen, die zur Entstehung bestimmter Krankheiten führen, aufzuklären und dadurch die Grundlagen zur Entwicklung neuer und innovativer Therapien zu legen. Hierfür bedienen sich die Wissenschaftler der neusten Methoden der

Genomik und Proteomik, welche sie zum Teil selbst im Rahmen von DiGtoP entwickelt haben. Der Verbund erforscht übergreifend in Zusammenarbeit mit weiteren Verbänden aus dem NGFN verschiedenste Krankheitsbilder. Dabei liegt der Schwerpunkt auf den großen Volkskrankheiten wie Alzheimer- und Parkinson-Krankheit, Diabetes (im Zusammenhang mit Adipositas), Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Krebs.

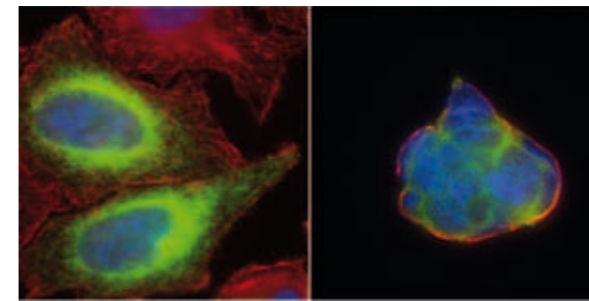
Das Netzwerk: Technologien und Ziele

Um das gemeinsame Ziel zu erreichen, arbeiten in DiGtoP neun sich in der technologischen Ausrichtung ergänzende Arbeitsgruppen aus unterschiedlichen Fachbereichen von sieben Instituten zusammen (Näheres unter www.digtop.de). Basierend auf Vorschlägen assoziierter NGFN-Plus-Verbände wurde eine Liste von etwa 500 krankheitsrelevanten Genen erstellt. Durch den DiGtoP-Lenkungsausschuss wird diese Liste priorisiert.

Die so zur Analyse ausgewählten Gene/Proteine werden mit einem Fluoreszenzmarker gekoppelt und u. a. in humane und murine embryonale Stammzellen (ES-Zellen) sowie HeLa-Zellen (menschliche Tumor-Zelllinie) einge-



Wissenschaftler des DiGtoP-Verbundes (Dr. Nilima Prakash und Dr. Ralf Kühn) bei der Kultur embryonaler Stammzellen der Maus.



Zelluläre Verteilung (grün) der fluoreszenzmarkierten Proteine Presenelin (PSEN1, Alzheimer-assoziiertes Gen, links) in humanen Tumorzellen (HeLa) und GSK3beta (Depression- und Krebs-assoziiertes Gen, rechts) in embryonalen Maus-Stammzellen (blau = DNA; rot = alpha-Tubulin/Zellskelett). (Aufnahme: Dr. Ina Poser/Prof. Dr. Anthony Hyman)

bracht. Diese Markierung erlaubt die Bestimmung der Lage und der Bewegung eines Proteins in lebenden Zellen von Maus und Mensch, eine unerlässliche Information zur Bestimmung der Funktion dieses Proteins. Die Protein-Interaktionspartner werden durch Massenspektrometrie identifiziert und Modelle ihrer Vernetzungen (Interaktionen) anhand umfangreicher bioinformatischer Methoden erstellt.

Für ausgewählte Proteine werden die identifizierten Interaktionen und somit die Funktionen durch RNAi-Knock-down überprüft. Das bedeutet, interferierende RNA (RNAi) blockiert die Übersetzung des betreffenden Gens in RNA und damit in Protein. Darüber hinaus wird für eine bestimmte Anzahl von Genen/Proteinen die vorhergesagte Proteinfunktion im lebenden Organismus (am Beispiel der Maus) analysiert.

Um effizient die Proteininteraktionspartner *in vitro* und *in vivo* zu bestimmen, wurden von diesem Forschungsverbund eine Reihe neuer Technologien entwickelt. So wurden in den Labors des Netzwerkes neue Hochdurchsatzmethoden für Proteinmarkierung, *in vitro* Bildgebung, Massenspektrometrie und genomweite RNA-Interferenz

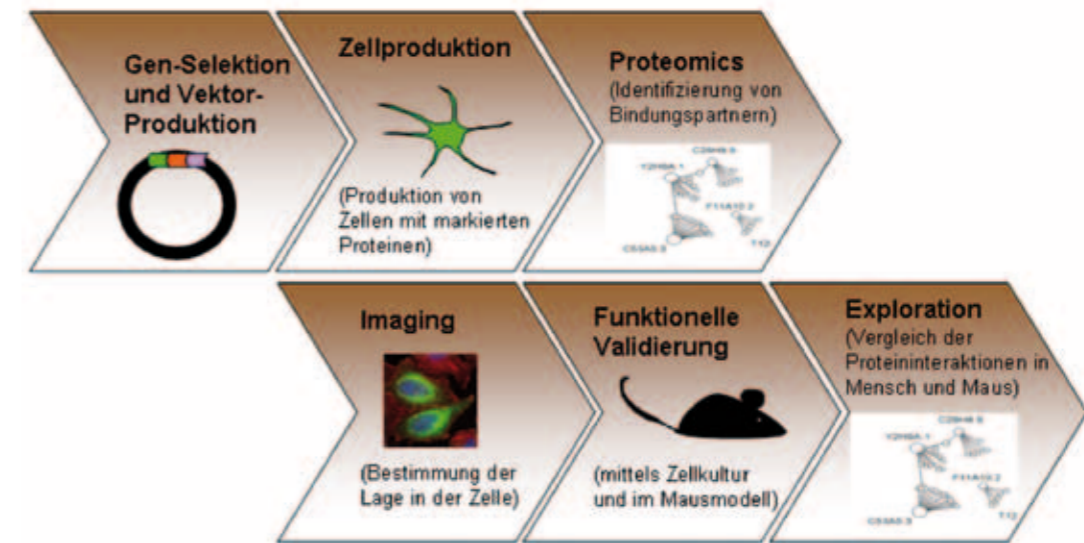
(RNAi) erarbeitet. Außerdem sind die Wissenschaftler des DiGtoP-Verbundes weltweit mit führend in der Genfunktionsbestimmung in embryonalen Stammzellen aus Mäusen und Menschen.

Dem Verbund gelang bereits ein erster Erfolg in der Entdeckung neuer Proteine, die, wenn verändert, zu der Erkrankung „Spastische Spinalparalyse“ führen. Diese bisher unbekannt Proteine konnten neuen Protein-komplexen zugeordnet werden, welche für die Reparatur unserer Erbsubstanz mitverantwortlich sind. Durch diesen Befund wurde zum ersten Mal die Entstehung dieser neurodegenerativen Krankheit mit Defekten in der DNA-Reparatur in Verbindung gebracht. Dieser Erfolg bestätigt die ursprüngliche Arbeitshypothese von DiGtoP, dass die Protein-Interaktionsanalyse dazu beitragen wird, die molekularen Mechanismen der Krankheitsentstehung aufzuklären, wodurch in Zukunft neue Therapieansätze entwickelt werden können.

Der Verbund DiGtoP erforscht übergreifend in Zusammenarbeit mit weiteren Verbänden aus dem NGFN verschiedenste Krankheitsbilder.

Die neuen Ergebnisse, Technologien und das Material des DiGtoP-Verbundes werden dem Nationalen Genomforschungszentrum und der internationalen wissenschaftlichen Gemeinschaft über das eigene Web-Portal (www.digtop.de) zur Verfügung gestellt, um zum internationalen Fortschritt hinsichtlich funktioneller Gen/Protein-Zuordnungen bei krankheitsrelevanten Genen und zur Therapieentwicklung beizutragen.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0856-01GS0862



Schema des DiGtoP Arbeitsablaufes.



PD Dr. Stefan Wiemann
Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Koordinator des NGFN-Verbunds CSG (Cellular Systems Genomics)

Das System Zelle verstehen, um Krankheiten zu heilen

Die Vorgänge, die permanent in jeder einzelnen unserer Körperzellen ablaufen, sind hochgradig komplex. Im Krankheitsfall Krebs finden im System Zelle entscheidende Veränderungen statt, die beispielsweise zu einer unkontrollierten Teilung führen. Hieran sind verschiedene Signalwege und -netzwerke beteiligt. Deren Zusammenspiel durch systematische Analysen und Modelle aufzuklären, ist ein wichtiger Schritt im Hinblick auf bessere Therapien und eine individuelle Behandlung der Betroffenen.

Mathematische Modelle sagen zelluläre Prozesse voraus und werden experimentell überprüft

Der Verbund *Cellular Systems Genomics* (CSG) ist ein Zusammenschluss von Wissenschaftlern aus Grundlagenforschung und Klinik mit dem Hauptziel, Mechanismen in der Entwicklung von Brustkrebs zu untersuchen und besser zu verstehen. Hierdurch sollen neue Therapiemöglichkeiten aufgedeckt werden, um Brustkrebspatientinnen zukünftig besser helfen zu können. Zu diesem Zweck werden, basierend auf experimentellen Daten, mathematische Modelle hergestellt, mit denen die der Krebsentstehung zugrunde liegenden Prozesse sowie die beteiligten Gene vorhergesagt werden können. Diese Modelle werden anschließend in weiteren Experimenten sowie mit Hilfe von Patientenproben überprüft, um ihre Aussagekraft gewährleisten zu können. Gleichzeitig stellt der Verbund u. a. den Kooperationspartnern im NGFN krankheitsübergreifend Ressourcen für die systematische Analyse zur Verfügung, um z. B. Informationen über die Auswirkungen von einer gesteigerten oder verminderten Funktion von Genen zu erhalten.



Prof. Dr. Andreas Schneeweiss und Studienschwester Monika Fischer sind die klinischen Verbundpartner.

Neue Biomarker im Kampf gegen aggressiven Brustkrebs

Ein weiteres wichtiges Ziel des Verbundes ist, spezifische Brustkrebs-Biomarker zu identifizieren. Diese sollen Rückschlüsse auf die Mechanismen erlauben, die für das Tumorgeschehen verantwortlich sind und damit die Therapie beeinflussen können. Unser Schwerpunkt liegt dabei auf der Untersuchung der aggressivsten Brustkrebsarten, darunter Tumoren, deren Zellen besonders hohe Mengen des Rezeptors HER2/neu tragen (siehe Schema). In der Therapie werden bereits spezifische Antikörper gegen das Molekül eingesetzt, doch bilden die Krebszellen teilweise Resistenzen. Es gilt daher, die Ursachen solcher Resistenzen aufzudecken, um diese letztlich zu überwinden und so zum anhaltenden Erfolg der Therapie beizutragen.

Das Wissen um die Verschaltung von relevanten Prozessen in Krebszellen und um die Wirkung von einzelnen und kombinierten Maßnahmen zu deren Unterdrückung ist Grundlage einer verbesserten Behandlung.

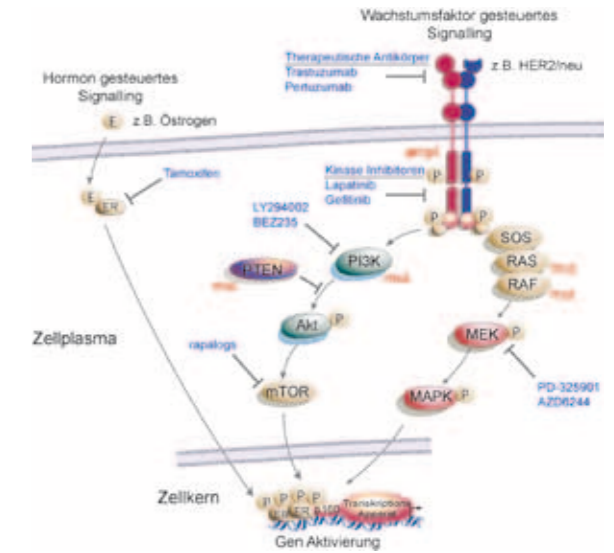
Die komplexen Zusammenhänge analysieren und interpretieren, um gezielt eingreifen zu können

Wachstumsfaktoren und deren Rezeptoren spielen in der Entwicklung, der Therapie und auch der Resistenzbildung von Brustkrebs entscheidende Rollen. Insbesondere Gene aus der Familie der Epidermalen Wachstumsfaktoren, die in der Plasmamembran von Tumorzellen nur darauf warten aktiviert zu werden, senden ankommende Signale ins Zellinnere weiter und stoßen Reaktionen an, an deren Ende häufig Zellwachstum steht (siehe Schema).

Therapeutika (blaue Schrift) wurden entwickelt, die an verschiedenen Molekülen der Signalkaskaden angreifen und so die Weitergabe der Signale stoppen sollen. Die Therapieerfolge sind aber auch vom Zustand der jeweils aktiven Moleküle abhängig. So sind Mutationen (mut.) und Genvervielfältigungen (ampl.) bekannt, die dazu führen, dass sich bestimmte Medikamente nicht mehr anlagern können. Zudem „merken“ Tumorzellen, wenn einzelne Signalwege blockiert sind und versuchen alternative Prozesse in Gang zu setzen, um sich trotzdem weiter zu teilen.

Das Wissen um die Verschaltung von relevanten Prozessen in Krebszellen und um die Wirkung von einzelnen und kombinierten Maßnahmen zu deren Unterdrückung ist daher Grundlage einer verbesserten Behandlung.

Die modernen Technologien der Genom- und Proteomforschung, die im Verbund CSG zum Einsatz kommen, um die zellulären Prozesse im Brustkrebs aufzudecken, wurden in einem Übersichtsartikel der Fachwelt vorgestellt.¹ Die zellulären Prozesse werden sowohl qualitativ als auch quantitativ erfasst und über die Zeit verfolgt. Insbesondere die Auswertung und Darstellung der Daten stellen dabei neue Herausforderungen dar, die im Verbund mit Hilfe neuer bioinformatischer Entwicklungen angegangen werden.² So können Prozesse auch zeitaufgelöst dargestellt und interpretiert werden.



Wachstumsfaktoren und Hormone beeinflussen entscheidend die Entwicklung von Brustkrebs. Diese Faktoren binden an Rezeptoren, die in der Zellmembran von Tumorzellen vorliegen und regulieren so das Tumorstadium. Wir untersuchen Mechanismen und mögliche Angriffspunkte, um dieses Wachstum zu verhindern.

regulierende RNA-Moleküle (microRNAs = miRNAs), welche die Menge der in den Zellen vorhandenen Proteine sehr fein regulieren können. Wissenschaftlern im Verbund CSG gelang es kürzlich, solche miRNAs zu identifizieren, die in der Metastasierung von Brustkrebs wirken.³ MiRNAs der miR-200 Familie scheinen dabei gewisse Schutzwirkungen zu entfalten, denn eine erhöhte Expression führt hier zum Stopp des Tumorstadiums. Damit sind diese miRNAs auch aus therapeutischer Sicht interessant. Derzeit wird im Verbund auch an dieser miRNA Familie erforscht, ob sie sich für die Diagnose oder gar für die Therapie eignet.

Von der Zelle in die Klinik

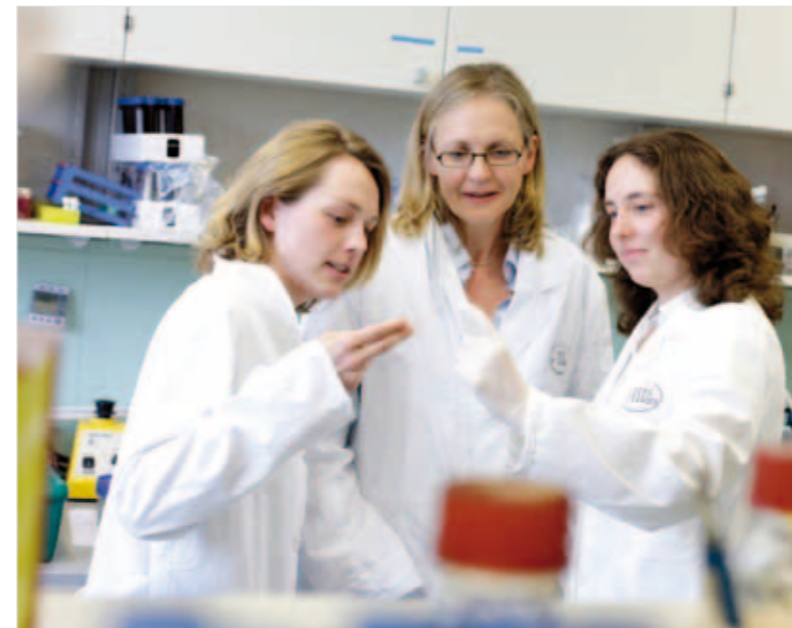
Obwohl mit Hilfe zellulärer Systeme wichtige Erkenntnisse zur Entwicklung von Krebs gewonnen werden, muss die Relevanz dieser Informationen stets an realen Tumoren überprüft werden. Folgerichtig werden Studien durchgeführt, in denen zum einen die Gültigkeit von Mechanismen auch im unmittelbaren Tumorgeschehen untersucht und zum anderen identifizierte Biomarker auf deren Verwendbarkeit in der Unterscheidung von Tumor-Subtypen getestet werden.

REFERENZEN

- Sahin O und Wiemann S (2009) *FEBS Lett.* 583, 1766-1771; doi:10.1016/j.febslet.2009.03.031
- Bender C et al. (2010) *Bioinformatics*, im Druck
- Uhlmann S et al. (2010) *Oncogene*; doi:10.1038/onc.2010.201

Informationen zum Brustkrebs erhalten Sie auch beim Krebsinformationsdienst (KID) des Deutschen Krebsforschungszentrums: <http://www.krebsinformationsdienst.de/tumorarten/brustkrebs/index.php>

BMBF-Förderkennzeichen: 01GS0864-01GS0867

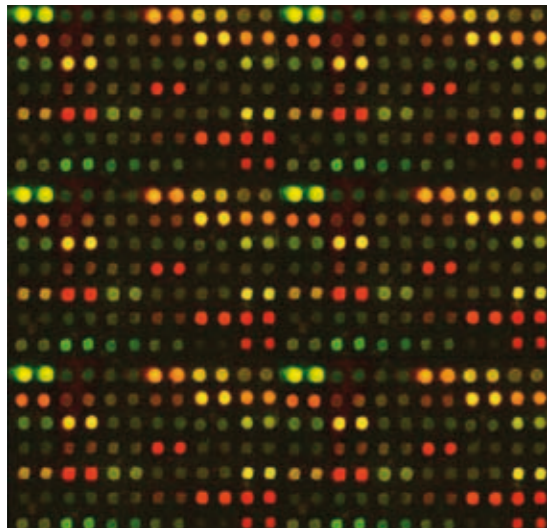


Dr. Ulrike Korf (Mitte) untersucht mit ihren Mitarbeiterinnen Dr. Frauke Henjes (links) und Johanna Sonntag (rechts) zelluläre Zusammenhänge auf Proteinebene.

MicroRNAs als Angriffspunkte bei Brustkrebs

Leben ist ein komplexer „Zustand“, in dessen Aufrechterhaltung ein erheblicher Aufwand insbesondere in die Feinregulierung von Prozessen gesteckt werden muss. Verschiebungen in diesen Regulationsprozessen können z. B. zu Krebs führen. Diese Feinregulierung, die im Körper und auch in Tumorzellen auf verschiedenen Ebenen abläuft, ist ein zentrales Thema im Verbund. Eine wichtige Rolle spielen kleine

KENNEN SIE SCHON ...?



... die Methode „Microarray“?

Wie Computerchips, so enthalten auch Genchips, wie **Microarrays** umgangssprachlich auch genannt werden, maximale Information auf minimalem Raum. Im Falle der DNA-Microarrays sind auf einer Trägersubstanz Stücke von Erbinformation befestigt. Jeder dieser Erbinformationsabschnitte, die beispielsweise auch verschiedene Genvarianten sein können, ist in Form winziger Punkte nebeneinander aufgereiht. Nach dem Aufbringen von Erbinformationsproben auf den Chip – diese stammen z. B. von Patienten – wird ausgewertet, welche Bereiche übereinstimmen. So kann ermittelt werden, welche Genvarianten ein Patient trägt oder welche Gene wie stark abgelesen werden. Diese Kenntnis erlaubt etwa, eine Therapie an die Bedürfnisse des Patienten anzupassen.

... den Unterschied zwischen einer „Genanalyse“ und einer „Expressionsanalyse“?

Bei der **Genanalyse** wird ermittelt, welche Gene und Genvarianten beispielsweise ein Patient besitzt. Hier zeigt sich, ob er möglicherweise bestimmte genetische Varianten trägt, die etwa das Risiko, eine bestimmte Erkrankung zu bekommen, erhöhen oder verringern. Die **Expressionsanalyse** hingegen misst die Aktivität der Gene. Es wird also deutlich, welche Gene wie stark in Produkte übersetzt werden. Dabei sind auch Vergleiche zwischen verschiedenen Geweben möglich, beispielsweise zwischen Tumor- und gesundem Gewebe, die behandlungsrelevante Rückschlüsse zulassen.

... den Begriff „SNP“ (sprich: Snip)?

Bei SNPs (engl. **Single Nucleotide Polymorphisms**) handelt es sich um Austausch einzelner Basen in der DNA. Die winzigen SNPs machen in ihrer Gesamtheit den Hauptteil der genetischen Unterschiede zwischen den verschiedenen Individuen aus. Da SNPs auch innerhalb von Genbereichen vorkommen, können sie auch zu verschiedenen Varianten eines einzelnen Gens führen. Auf diese Weise können sie z. B. unser Aussehen mitbestimmen. Manchmal verursachen sie sogar Krankheiten oder beeinflussen zumindest die Wahrscheinlichkeit, eine bestimmte Erkrankung zu bekommen, was sie für die Forschung besonders interessant macht.



NGFN-TRANSFER: VON DER FORSCHUNG ZUR ANWENDUNG

Während in NGFN-Plus das grundlegende molekularbiologische Verständnis der Krankheitsentstehung erforscht wird, um neue therapeutische Angriffspunkte zu entdecken, wird in NGFN-Transfer besonders das Erarbeiten aktuellster Erkenntnisse vorangetrieben, die für die Weiterleitung in die Anwendung geeignet sind. In NGFN-Transfer arbeiten Wissenschaftler aus Hochschulen, außeruniversitären Einrichtungen und forschenden Unternehmen in acht „**Innovationsallianzen der Medizinischen Genomforschung**“ zusammen.

Erkenntnisse schnell dem Patienten nutzbar machen

Die Verwertbarkeit der Forschungsdaten für Diagnostik und Therapie steht bei NGFN-Transfer im Vordergrund, um marktrelevante Innovationen für die medizinische Nutzenanwendung zu schaffen.

Industrie und Forschung vernetzen

Für drei Jahre fördert das BMBF NGFN-Transfer mit etwa 12 Millionen Euro. Voraussetzung für die Förderung der einzelnen Projekte war dabei, dass sich die Industriepartner maßgeblich an der Steuerung, Umsetzung und Finanzierung der Projekte beteiligen.

Die Allianzen in NGFN-Transfer fokussieren auf folgende Forschungsschwerpunkte:

- Krebserkrankungen
- Herz-Kreislauf-Erkrankungen
- Infektion / Entzündung
- Krankheitsübergreifende Strategien

BRUSTKREBSSIGNATUREN



Univ.-Prof. Dr. Jan G. Hengstler
Leibniz Institut Dortmund
Koordinator der NGFN-Allianz
Breast Cancer Kit

Brustkrebsrückfälle verhindern, aber unnötige Therapiebelastung vermeiden

Wird Brustkrebs noch vor dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen operativ entfernt, so sind damit die meisten Patientinnen geheilt, denn nur bei einem Drittel ist ohne anschließende Chemotherapie ein Rückfall zu erwarten. Bessere Vorhersagemöglichkeiten sollen zukünftig passgenaue Behandlungen ermöglichen.

Allianz Breast Cancer Kit

Die Allianz *Breast Cancer Kit* im Rahmen von NGFN-Transfer hat den Fokus auf die Aufklärung spezifischer RNA-Expressionsprofile bei Brustkrebs-Patientinnen gelegt. Bei verschiedenen Patientengruppen sollen Aussagen über die Vorhersagbarkeit des Ansprechens auf Krebsmedikamente gemacht werden.

Hierzu wird die grundlagenorientierte Forschung (Leibniz Institut Dortmund) mit dem klinischen Aspekt (Uniklinik Mainz) in Einklang gebracht. Auf langfristige Sicht sollen die Ergebnisse durch den wirtschaftlich-anwendungsorientierten Partner der Allianz zur Umsetzung kommen.

Identifikation von biologischen Motiven („Metagenen“)

Die Diagnose Krebs ist meistens der Beginn einer langen Leidensgeschichte. Die nachfolgende Therapie stellt für die jeweiligen Betroffenen oft eine erhebliche Belastung dar. Da jeder Patient unterschiedlich auf die Chemotherapie reagiert, wäre es von Vorteil, wenn die Medikamentengabe individuell angepasst werden könnte.

Um Genexpressionsstudien durchzuführen, ist ein erster wichtiger Schritt das Zusammenstellen geeigneter Patientengruppen, sogenannter Kohorten. Im folgenden Beispiel handelte es sich um eine Sammlung von 200 tiefgefrorenen Mammakarzinomen (Brustkrebstumoren) aus der Mainzer Uniklinik, für die Patientinnen ohne Lymphknotenbefall ausgewählt wurden.

Das Ergebnis der Expressionsstudien zeigte, dass Brustkrebs keine einheitliche Erkrankung ist, sondern verschiedene Ausprägungsformen existieren. Durch die „Clusteranalyse“, eine Standardauswertung für *Gene-array*-Daten, wurden biologische Motive („Metagenen“) gefunden. Solche Gene, die zu einem bestimmten biologischen Motiv gehören, können Grundlage einer genaueren Vorhersage des Krankheitsverlaufs sein.

Auf diese Weise haben wir alle in der Clusteranalyse identifizierten Metagenen untersucht und gefunden, dass

für die Prognose der Patientinnen drei Metagenen ganz entscheidend sind: das Proliferations-, das Immunzell- und das Östrogenrezeptor-Metagen.¹

Diese Daten verraten, ob eine Chemotherapie sinnvoll ist oder wahrscheinlich nur eine unnötige Belastung darstellt.



Dr. Wiebke Schormann untersucht mikroskopisch die Lokalisation bestimmter Proteine in den Zellen.

Zukunftsperspektive der Allianz

Eines unserer nächsten Ziele besteht darin, mit dieser Technik eine weitere Kohorte an Patientinnen, deren Ansprechen auf bestimmte Krebsmedikamente bekannt ist, zu untersuchen. Diese neuen Daten sollen klären, welche Wirkstoffe bei welcher Patientin die größten Behandlungserfolge erzielen.

REFERENZEN

1. Petry IB, Fieber E, Schmidt M, Gehrmann M, Gebhard S, Hermes M et al. (2010) *Clin Cancer Res* 16, 451-460; doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1617

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0814-01GR0816

PROTEINANALYSE VON FFPE GEWEBEN

Neue Technologien in Routineprozessen sollen individuelle Krebstherapien ermöglichen

Um Gewebeproben auf Bösartigkeit zu untersuchen, werden sie routinemäßig in Wachs aufgenommen. Dies ermöglicht, Gewebeschnitte für eine histologische Beurteilung anzufertigen, erschwert aber die Verwendbarkeit des Materials für molekulare Analysen enorm. Neue Methoden sollen letzteres ändern.



Prof. Dr. Karl-Friedrich Becker
Technische Universität München
Koordinator der NGFN-Allianz
FFPE Gewebe (Proteinanalyse von
Formalin-fixiertem Brustkrebsgewebe)

Krebsdiagnostik

Die Diagnose „Krebs“ wird durch Pathologen an einer Gewebeprobe gestellt. Dazu wird das Gewebe mit Formalin fixiert und anschließend in ein Paraffinwachsblöckchen eingebettet. Man spricht dann von sogenannten Formalinfixierten und Paraffin-eingebetteten (FFPE) Gewebeproben.

Proteinuntersuchungen klinischer Gewebeproben

Die etablierte Fixierungstechnik mittels Formalin ermöglicht eine sichere histologische Beurteilung, ob ein Gewebe gesund oder krank ist. Die Extraktion und damit quantitative Untersuchung von Proteinen aus FFPE Geweben zur molekularen Charakterisierung galt lange Zeit als unmöglich.

Warum reagieren Menschen mit demselben Krankheitsbild unterschiedlich auf das gleiche Medikament?

Unsere Allianz – ein Verbundprojekt der Technischen Universität München und der Firma QIAGEN GmbH (Hilden) – hat diese neuen Herausforderungen angenommen und ein Verfahren erarbeitet, mit dem es möglich ist, Protein-Biomarker unversehrt aus FFPE Proben zu gewinnen und für nachfolgende quantitative Analysen, z.B. *Proteinarrays*, bereitzustellen.



Die Ergebnisse unserer Allianz werden gemeinsam diskutiert.



Die molekulare Analyse klinischer Gewebeproben wird für die richtige Therapieentscheidung bei der Diagnose „Krebs“ immer bedeutsamer.

Gezielte Krebstherapien durch molekulare Gewebeanalysen

Die Standardtherapien für Krebs sind für jeden behandelten Patienten fast gleich. Doch jeder Mensch reagiert anders. Warum reagieren Menschen mit demselben Krankheitsbild unterschiedlich auf das gleiche Medikament? Warum zeigt ein Wirkstoff bei einigen Patienten den gewünschten Effekt und bei anderen Nebenwirkungen? Die personalisierte Medizin entwickelt Biomarker für die Gewebediagnostik, mit der die Erfolge gezielter Behandlungen von Krebspatienten vorhersehbar werden.

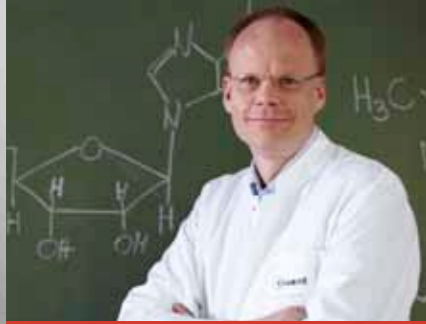
Mit unserer Technologie können nun Krankheitsmarker in Tumorgeweben für die personalisierte Therapie exakter als bisher bestimmt werden, ohne den klinischen Ablauf wesentlich ändern zu müssen. Bei unserem Vorhaben konzentrieren wir uns zunächst auf die Bestimmung von Regulatoren für Wachstumssignale und Invasionsmarker bei Brustkrebs.

REFERENZEN

- Berg D, Hipp S, Malinowsky K, Böllner C, Becker KF (2010) *Eur J Cancer* 46, 47-55; doi:10.1016/j.ejca.2009.10.016

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0805-01GR0806

HERZERKRANKUNGEN BEI NIERENINSUFFIZIENZ



Univ.-Prof. Dr. J. Jankowski
Charité - Universitätsmedizin Berlin
Koordinator der NGFN-Allianz NT^{CVD}
(*New Tools cardiovascular diseases*)

Hoffnung auf verbesserte Therapien für Nieren- und Herzpatienten

Erkrankungen des Herzens und des Gefäßsystems sind die häufigste Todesursache bei Patienten mit schweren dauerhaften Nierenerkrankungen, da der Krankheitsverlauf bei ihnen beschleunigt ist. Neue Forschungsergebnisse sollen Nierenpatienten, aber auch nierengesunden Herzpatienten zugutekommen.

Herr Prof. Dr. Jankowski, welche Bedeutung haben chronische Nierenerkrankungen in Deutschland und inwiefern sind sie ein Risikofaktor für Herzerkrankungen?

In Deutschland leiden derzeit über zwei Millionen Menschen an chronischem Nierenversagen. Von ihnen müssen ca. 68.000 regelmäßig zur maschinellen Blutwäsche, der Dialyse. Als Folge der Nierenschwäche entwickeln zudem viele der Patienten schwere Herzerkrankungen und versterben daran. Bei ihnen schreitet die Herzerkrankung besonders rasch voran, weil die Nieren herzscheidende Stoffe nicht über den Urin ausschwasmen können.

Was für einen Ansatz verfolgt die NGFN-Allianz NT^{CVD} und wer sind die Partner, die sich dort zusammengefunden haben?

Im Rahmen des Zusammenschlusses werden Substanzen analysiert, die sich im Blut von Dialysepatienten anreichern. Über Zellkulturmodelle und *Bioassays* wird geprüft, welche dieser Stoffe kardiovaskuläre Erkrankungen verursachen. Die klinische Bedeutung der betreffenden Mediatoren wird zudem in einer umfangreichen dreijährigen klinischen Studie untersucht.

„Bei Dialyse-Patienten schreiten Herzerkrankungen besonders rasch voran, weil die Nieren herzscheidende Stoffe nicht über den Urin ausschwasmen können.“

Für diesen Ansatz brauchen wir umfassende Patientendaten, eine ausgefeilte Analytik, verlässliche *Bioassay*-Systeme sowie die Expertise zur Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze und haben daher ein Konsortium aufgestellt, das sowohl akademische Kliniken und Institute wie auch Industriepartner umfasst. Dazu gehören das Universitätsklinikum Essen, die Universitätsklinik Charité, das Berliner MPI für Genetik sowie als Industriepartner Bayer-Schering-Pharma und ExcorLab.

Worin liegt der „Transfer“-Gedanke der Allianz?

Den akademischen Partnern der Universitätskliniken obliegt die detaillierte Charakterisierung der Erkrankung, da diese Partner Zugriff auf die entsprechenden Patientenproben und die dazu nötige Expertise haben. Nach der Identifikation krankheitsbedeutsamer Substanzen gilt es, diese durch eine verbesserte Dialyse zu entfernen oder durch neuartige Medikamente die Bildung der Substanzen zu verhindern. Daher gehören der Allianz NT^{CVD} ein Unternehmen aus dem Bereich der Dialyseentwicklung und ein pharmazeutisches Unternehmen an.



Teilprojekt-Leiterin Frau Dr. Biochem. Vera Jankowski bei der Bedienung eines LC-ESI-Massenspektrometers.

Gibt es schon konkrete Erfolge zu vermelden?

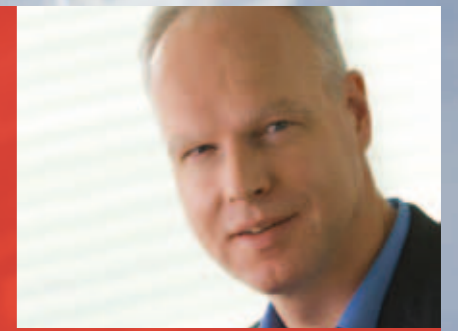
Als herausragenden Erfolg der Zusammenarbeit möchte ich die Isolierung und Identifizierung eines Peptids nennen, das potente kardiovaskuläre Eigenschaften hat. Aufgrund der offenbar hohen Bedeutung des Peptids wurde es von dem Industriepartner Bayer-Schering-Pharma zur Patentierung angemeldet sowie drei weitere Patentanmeldungen vorbereitet. Wegen der aktuellen Patentlage ist es mir jedoch leider nicht möglich, genauer auf dieses Peptid einzugehen.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0807-01GR0811

HERZINSUFFIZIENZTHERAPIE

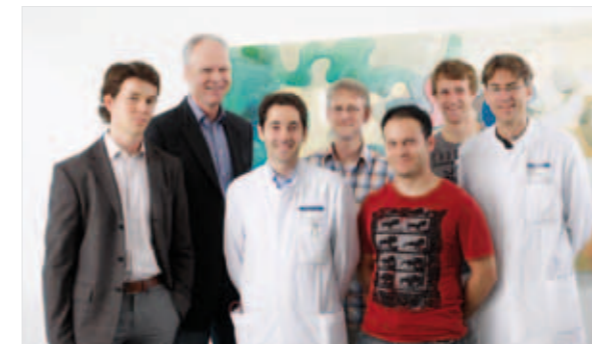
Lockvögel im Einsatz gegen die Herzschwäche

Bei einer Herzinsuffizienz ist die Pumpleistung des Herzens geschwächt. Am Fortschreiten der Krankheit sind DNA-bindende Proteine beteiligt, die die Aktivität entscheidender Gene steuern. Eine neuartige Therapie soll diese schädlichen Kontrollfaktoren abfangen, bevor sie ihre Wirkung entfalten.



Prof. Dr. Markus Hecker
Universität Heidelberg
Koordinator der NGFN-Allianz
Herzinsuffizienztherapie

Früher stellten Jäger Modelle von Enten auf, um Vogelschwärme anzulocken. Auch Moleküle kann man mit einem Lockvogel, englisch *Decoy*, hereinlegen. Das Team um Markus Hecker aus Heidelberg nutzt dies aus, um Wirkstoffe für die Behandlung der Herzinsuffizienz („Herzschwäche“) zu entwickeln, die oft zu einem tödlichen Herzversagen führt.



Wollen mit DNA-Stückchen schwache Herzen stärken: Die Wissenschaftler des Heidelberger Teams Dr. Victor Ciocotisan, Prof. Dr. Markus Hecker, PD Dr. Raffi Bekeredjian, PD Dr. Andreas Wagner, Martin Vogel, Dr. Andreas Jungmann und PD Dr. Oliver Müller (von links).

Therapeutische Täuschungsmanöver

Mit fortschreitender Krankheit verändert sich der überlastete Herzmuskel, weil bestimmte Gene aktiviert und deshalb an diesen negativen Prozessen beteiligte Proteine verstärkt produziert werden. Die Gene werden über Transkriptionsfaktoren gesteuert, die an Kontrollregionen binden. Kurze, faktorspezifische *Decoy*-DNA-Stücke verhindern dies: Sie ähneln Abschnitten dieser Kontrollregionen, binden an ihrer Stelle an die Transkriptionsfaktoren und machen sie unwirksam.

Bei Patienten mit entzündlichen Hauterkrankungen schalten diese *Decoy*-ODN (Oligodesoxynukleotide) einzelne Gene tatsächlich ab. Die Gruppe von Markus Hecker konnte dies auch für kultivierte Herzmuskelzellen der Ratte zeigen.

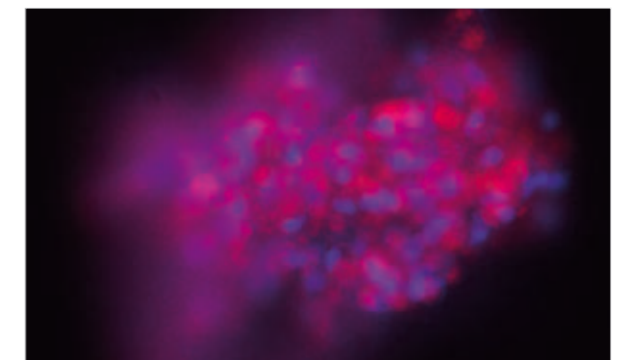
Anders als bei anderen Zelltypen mussten sie aber Hilfsmittel einsetzen, um die DNA-Stücke einzuschleusen.

„Das war für uns unerwartet. Beim Patienten geht diese

Technik zur Transfektion natürlich nicht“, so Hecker. „Wir suchen daher Methoden, um diese Nukleinsäuren systemisch, aber zellspezifisch verabreichen zu können.“ Die Transfektion von Herzmuskelzellen mit Mikro-Bläschen ist eine davon. Im Mikroskop zeigt sich, dass diese Technik die *Decoy*-ODN effektiv in die Zellen einbringt, und erste Ergebnisse belegen, dass die gewünschten Zielgene tatsächlich weniger aktiv sind.

Mit Pumpen zu höherem Blutdruck

Auch Tiermodelle stehen den Forschern zur Verfügung. Mäusen wird eine Minipumpe eingepflanzt, die kontrolliert das blutdrucksteigernde Gewebshormon Angiotensin II freisetzt. Diese Tiere entwickeln eine beginnende Herzinsuffizienz und sind somit ein ideales System, um verschiedene Therapieansätze *in vivo* zu testen. Zum Ende des Projekts soll der vielversprechendste Wirkstoffkandidat bzw. Ansatz daraufhin getestet werden, wie effektiv er in die Herzmuskelzellen aufgenommen wird bzw. ob er unerwünschte Nebenwirkungen hat. „Ob die verbleibende Projektzeit hierfür ausreicht, wird man sehen“, betont Markus Hecker vorsichtig. Nach den anfänglichen Verzögerungen stimmen ihn die jüngsten Erfolge aber zuversichtlich.



Kugelige Aggregate aus Herzmuskelzellen der Ratte werden mit der Mikro-Bläschen-Methode transfiziert. Die *Decoy*-ODN (rot) dringen dabei auch in tieferliegende Zellen ein (Zellkern: blau).

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0821-01GR0822

STOFFWECHSELPROFILE BEI HERZINSUFFIZIENZ



Prof. Dr. med. Hugo A. Katus
Universitätsklinikum Heidelberg
Koordinator der NGFN-Allianz
Metabolomische Signaturen der
Herzinsuffizienz

Herzinsuffizienz-Früherkennung über Stoffwechselprofile

Noch ist die Früherkennung einer Herzschwäche klinisch unzureichend, so dass Therapien oft erst bei bereits bestehender Schädigung des Herzens angewandt werden können. Die neuartige Herangehensweise, Stoffwechselprofile zur Früherkennung zu nutzen, soll zukünftig deutlich frühere Diagnosen ermöglichen.

Die Herzschwäche oder Herzinsuffizienz ist eine schwere Erkrankung des Herzmuskels (siehe Seite 56/57). In fortgeschrittenen Stadien der Herzschwäche sterben jährlich etwa 20 % der Patienten, was etwa der Prognose schwerer Tumorerkrankungen entspricht. Ein großes Problem in der Behandlung der Herzschwäche ist die Tatsache, dass das Herz in der Lage ist, über längere Zeit eine beginnende Schwäche der Kontraktionskraft über komplizierte Anpassungsprozesse auszugleichen. Der Patient nimmt dauerhaft erst dann Symptome der Herzschwäche wahr, wenn die Kompensationsmechanismen des Herz-Kreislauf-Systems bereits überfordert sind, wobei in diesem Stadium der Krankheitsprozess in der Regel bereits erheblich fortgeschritten ist. In diesem Zustand kann die Herzschwäche meist nicht mehr rückgängig gemacht, sondern im besten Falle eine weitere Verschlechterung der Herzfunktion mit modernen Medikamenten und gezielter Bewegungstherapie verlangsamt werden.

Das Ziel der Forschung ist daher, die Herzschwäche bereits zu erkennen, bevor merkbare Symptome auftreten und somit durch frühzeitige Therapie mit verfügbaren Medikamenten und einer Anpassung des Lebenswandels die Herzfunktion möglichst lange zu erhalten. Im Idealfall würden Risikopatienten bereits in einem Stadium identifiziert, in dem mit den aktuell verfügbaren klinischen Diagnosemethoden noch keinerlei Krankheitszeichen festgestellt werden können. Die existierenden Diagnosemethoden für die Herzschwäche beruhen z. B. auf bildgebenden Verfahren wie der Ultraschalluntersuchung oder der Magnetresonanztomographie (MRT). Darüber hinaus versuchen die Ärzte durch Bestimmung bestimmter, krankheitsspezifischer Signalmoleküle („Biomarker“) wie BNP oder NT-proBNP Zusatzinformationen über den Zustand des Herzens zu bekommen. Diese Labormethoden erlauben bislang jedoch nur vergleichsweise ungenaue Diagnosen und wenig Aussagen über den zu erwartenden Verlauf der Erkrankung. In der Allianz Metabolomische Signaturen der Herzinsuffizienz wird daher ein gänzlich neuer Weg eingeschlagen, um die Herzinsuffizienz bereits früher als

bisher diagnostizieren zu können und um Zusatzinformationen über die Prognose der individuellen Erkrankung zu gewinnen. Der Gedanke ist dabei, dass eine beginnende Herzschwäche sich schon sehr frühzeitig in zahlreichen Veränderungen des Stoffwechsels abbilden sollte. Diese Veränderungen werden in Form sogenannter „Metaboliten“ präzise im Blut und Urin erfasst. Die Messtechnik und Expertise in der Bioinformatik sowie Datenauswertung stellt der industrielle Partner, die metanomics GmbH in Berlin mit einer Analytikplattform von mehr als 70 Massenspektrometern, zur Verfügung. Dabei werden nicht, wie in der Diagnostik bisher üblich, einzelne Biomarker erfasst, sondern Profile („Signaturen“) von bis zu mehreren hundert Metaboliten. Aus den komplexen Veränderungen können Rückschlüsse auf die Krankheit gezogen werden. In der Zukunft wollen wir ein klinisch einsetzbares Analyseverfahren zur Verfügung stellen, welches die Herzinsuffizienz sehr früh nachweist und zusätzliche Informationen über die Prognose des Patienten bereit stellt.



Analysetechnik bei der Firma metanomics GmbH in Berlin mit automatisierter Probenverarbeitung. (© metanomics GmbH)

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0812-01GR0813

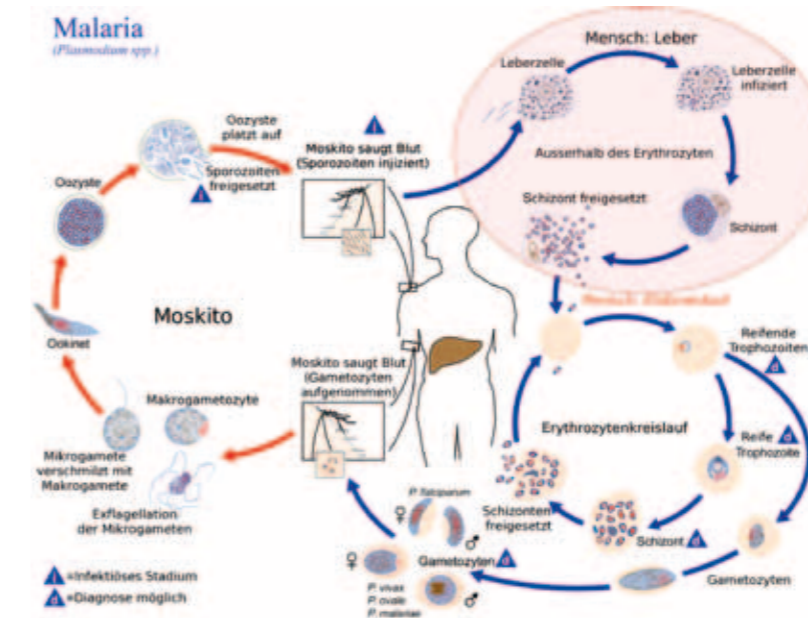
MALARIA

Ein Mückenstich mit lebensgefährlichen Folgen

Malaria ist eine tropische Infektionskrankheit, die durch einzellige parasitäre Organismen hervorgerufen wird. Durch das spezifische Blockieren von Genprodukten in der Wirtszelle im Großmaßstab gelang es bereits, für den Erreger essentielle Proteine mit Potential als therapeutische Angriffspunkte aufzudecken.



Dr. Birte Sönnichsen
Cenix BioScience GmbH, Dresden
Koordinatorin der NGFN-Allianz
Malaria



Malaria Infektionszyklus: Das erste Infektionsstadium des Malaria-Erregers Plasmodium findet in den Leberzellen des Menschen statt. Hier sucht die Allianz neue Prophylaxe-Ansätze. (Abbildung modifiziert nach © DPDx: CDC website for laboratory identification of parasites)

Malaria ist eine der weltweit bedeutendsten Krankheiten, von der große Teile der ärmsten Weltbevölkerung betroffen sind. Jedes Jahr werden ca. 600 Mio. neue klinische Fälle gezählt, von denen mindestens 1 Mio. tödlich verlaufen, tragsicherweise hauptsächlich bei Kindern. Unter den Erregern treten zunehmend Resistenzen gegen die bestehenden Wirkstoffe auf und trotz vieler Anstrengungen gibt es noch keinen Impfstoff.

Bei der Infektion werden durch den Biss der Mücke Sporozysten des Parasiten injiziert, die zunächst zur Leber wandern. Dort verläuft ein Entwicklungszyklus ohne Symptome, währenddessen sich bis zu 30.000 neue Parasiten ausbilden. Die infizierte Leberzelle platzt und die Parasiten gelangen in die Blutbahn, wo sie die roten Blutkörperchen (Erythrozyten) befallen und den symptomatischen Verlauf der Krankheit erzeugen (siehe Schema).

Einer der Ansätze der Allianz Malaria fokussiert vorwiegend auf das Leberstadium, in dem noch keine Symptome auftreten. Die Cenix Screening-Plattform beruht auf einem Mikroskopie-basierten Infektions-Assay in Leberzellen, in dem wir tausende von Genen oder Wirkstoffkandidaten auf ihre Wirkung im Infektions- und Entwicklungsprozess des Parasiten testen können. Dabei suchen wir mit Hilfe der RNA-Interferenz (RNAi)-Methode Proteine in den Wirtszellen, die für den Parasiten essentiell sind, nicht aber für die Funktion der Leberzellen, und identifizieren so neue Angriffspunkte für Wirkstoffe.

Zusammen mit Dr. Maria Mota (IMM Lissabon, Portugal) hat Cenix mittels dieser Technologie den Scavenger Rezeptor ScarB1 identifiziert, für den bereits chemische Inhibitoren vorhanden sind. Ein Aspekt des Projekts beschäftigt sich mit der Weiterentwicklung dieser Wirkstoffkandidaten.

Noch bessere Ansatzpunkte würden Wirtspoteine darstellen, die sowohl im Leber- als auch im Blutstadium essentiell für den Parasiten sind. Diesen Ansatz verfolgt Cenix zusammen mit dem Labor von Prof. Dr. Kai Matuschewski am MPI für Infektionsbiologie in Berlin. Hier werden zusätzlich die entsprechenden Bindungspartner auf der Zelloberfläche der Parasiten ermittelt.

Alle Wirkstoffkandidaten werden in Dr. Friedrich Frischknechts Labor in Heidelberg in detaillierten Mikroskopie-Assays näher charakterisiert, damit nur wirklich gut validierte Kandidaten in Tierexperimenten weiter verfolgt werden.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0819, 01GR0820, 01GR0824

SUBGENOMFRAKTIONIERUNG FÜR DIE INDIVIDUELLE SEQUENZIERUNG



Dr. med. Benjamin Meder
Universitätsklinikum Heidelberg
Koordinator der NGFN-Allianz
Subgenomfraktionierung

Genetische Krankheitshintergründe schneller und besser diagnostizieren

Die Erkennung genetischer Krankheitshintergründe ist noch immer eine große Herausforderung. Neue Sequenzieretechnologien sollen nun die Diagnostik entscheidend verbessern, um genetische Ursachen von Erkrankungen bei betroffenen Patienten schnell, umfassend und kostengünstig zu identifizieren.

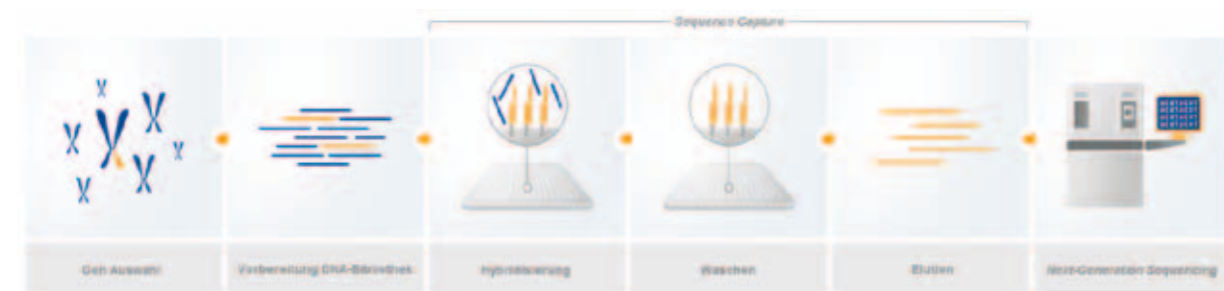
Sowohl Krebs- als auch Herz-Kreislauf-Erkrankungen stehen in Anbetracht ihrer Häufigkeit und den im fortgeschrittenen Stadium oft unzureichenden therapeutischen Möglichkeiten im Fokus der Öffentlichkeit. Trotz der bisherigen wissenschaftlichen Fortschritte sind die genetischen und epigenetischen Ursachen beider Erkrankungen noch immer unzureichend verstanden.

Die Allianz *Subgenome Fractionation for High Throughput Sequencing* verfolgt das Ziel, die genetischen Faktoren beider Erkrankungen besser zu beleuchten und deren Diagnostik nachhaltig zu verbessern. In mehreren Teilprojekten werden daher folgende Schwerpunkte bearbeitet:

In einem ersten Schritt entwickelte das Konsortium unter Führung der Heidelberger Firma Febit GmbH ein Verfahren zur selektiven Auswahl bestimmter Abschnitte der menschlichen DNA. Hierdurch können diejenigen Be-

reichte (z. B. Gene) des Genoms angereichert werden, die für die weiterführenden Fragestellungen von Interesse sind.

Nach Anreicherung über sogenannte *Capture-Microarrays* (siehe Abbildung) erfolgt eine Analyse der Erbsequenz mittels *Next-Generation Sequencing*, was eine hochparallele Sequenzierung von DNA ermöglicht und ein Vielfaches an Sequenzinformation bisheriger Verfahren liefert.



Targeted Next-Generation Sequencing: Definierte Bereiche der Erbinformation werden über das sogenannte *Sequence Capture* Verfahren gezielt eingefangen, somit angereichert und anschließend sequenziert. (© Febit)

Dieses Verfahren wurde bislang erfolgreich bei mehr als 100 Patienten getestet und lieferte neue Einblicke in die Genetik erblicher Herzmuskelerkrankungen. Durch die Entwicklung dieser innovativen Technologien innerhalb unserer Allianz werden in naher Zukunft neue fortschrittliche diagnostische Verfahren für Ärzte und ihre Patienten zur Verfügung stehen.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0801-01GR0804, 01GR0823

AMPLIFIZIERUNGSMETHODEN FÜR BIOBANKEN

Rares Ausgangsmaterial qualitativ hochwertig vervielfältigen

Große Biobanken, die Patientenmaterial zu Forschungszwecken enthalten, sind sehr wertvoll, um genetische Krankheitsursachen zu untersuchen. Doch stehen oft nur begrenzte Probenmengen zur Verfügung. Umso wichtiger sind verlässliche Methoden zur Vervielfältigung und zur Qualitätsprüfung des Materials.



Prof. Dr. Dr. H.-Erich Wichmann
Helmholtz Zentrum München
Dr. Christian Korfhage
QIAGEN GmbH, Hilden
Koordinatoren der NGFN-Allianz
WGAWTA Biobanken

Die Allianz *Whole genome and transcriptome amplification in large biobanks* verfolgt zwei Ziele. Für den Einsatz in großen Biobankprojekten sollen

1) Testsysteme zur Qualitätsstandardisierung von Ausgangs- und Endmaterial der Gesamt-Genom-Amplifikation (WGA = *Whole genome amplification*) und der Transkriptom-Amplifikation (WTA = *Whole transcriptome amplification*) entwickelt und

2) neue Methoden der DNA-Amplifikation aus Blutplasma, Blutserum und aus Paraffin-eingebetteten Proben erarbeitet werden.

WGA und WTA werden verwendet, um von den in Biobanken zur Verfügung stehenden oft sehr geringen Mengen an DNA oder RNA Vervielfältigungen (Amplifikate) für spätere Analysen zu erzeugen. Wichtig hierbei ist, dass die jeweiligen Nukleinsäuren in qualitativ gutem Zustand sind und genügend Material in die Vermeh-

rungsprozedur eingesetzt wird. Andernfalls kann es zu Ungleichgewichten in der Reaktion kommen, die das Endergebnis verfälschen.

Es ist uns gelungen, ein einfaches Testsystem zu entwickeln, mit dem sich WGA-Reaktionen hinsichtlich Qualität und/oder Quantität der zu amplifizierenden DNA, Qualität der dann amplifizierten DNA sowie der Kontrolle des Amplifikationsprozesses standardisieren lassen.

Zur Validierung des Testsystems wurde seine Funktionalität in verschiedenen Laboren überprüft. Dabei konnten mit jeweils einheitlichen Ergebnissen die für die Reaktion eingesetzte Ausgangsmenge und der Fragmentierungsgrad (ein Maß für das Zerschneiden der DNA in kleinere Teile) der genomischen DNA bestimmt werden. Mit Hilfe des Testsystems ließ sich außerdem bestätigen, dass die Reaktion als solche wie gewünscht funktioniert.

In einem weiteren Schritt wurde das System an Material der KORA-Biobank getestet und mit Hilfe von SNP-Genotypisierung (siehe Seite 82) überprüft. Die Ergebnisse des Tests und die Resultate der Genotypisierung waren hoch korreliert. Das erste Ziel des Projekts, die standardisierte Implementation von Gesamtgenom-Amplifikation (WGA) in Hochdurchsatzmethoden für große Biobanken, ist damit bereits erreicht.

Zur Validierung des Testsystems wurde seine Funktionalität in verschiedenen Laboren überprüft.

Im Rahmen von Kooperationen mit wissenschaftlichen Konsortien, insbesondere dem *Public Population Project in Genomics* (P3G) und dem EU-Projekt *Biobanking and Biomaterial Research Infrastructure* (BBMRI), werden die Ergebnisse aus der Methodenentwicklung und der Implementation nationalen und internationalen Organisationen im Feld der Biobanken zur Verfügung gestellt.

BMBF-Förderkennzeichen: 01GR0817, 01GR0818



Dr. Norman Klopp und PD Dr. Thomas Illig werden in ihrer Arbeit durch mehrere wissenschaftlich-technische Mitarbeiter/innen unterstützt, hier im Bild Franziska Scharl und Nadine Lindemann.

PERSONENVERZEICHNIS

A der, Heiko.....	66	Hrabě de Angelis, Martin.....	74	Riester, Stephanie.....	22
Aherrahrou, Zouhair.....	58			Rotte, Dana.....	45
Albus, Christina.....	50	I llig, Thomas.....	91	Rozhdestvensky, Timofey.....	64
Al-Hasani, Hadi.....	61			Rudel, Thomas.....	65
		J ankowski, Joachim.....	86	Rüther, Ulrich.....	61
B aumann, Melanie.....	25	Jankowski, Vera.....	86		
Becker, Karl-Friedrich.....	85	Joost, Hans-Georg.....	61	S charfenberger-Schmeer,	
Bekeredjian, Raffi.....	87	Jucker, Mathias.....	43	Maren.....	90
Bertram, Lars.....	42	Jungmann, Andreas.....	87	Scharl, Franziska.....	91
Blankenberg, Stefan.....	58			Scherag, André.....	60
Brase, Jan.....	26	K ahle, Philipp.....	40	Schiller, Cynthia.....	42
Brosius, Jürgen.....	64	Katus, Hugo.....	56, 88	Schneeweiss, Andreas.....	80
Buchholz, Malte.....	32	Klopp, Norman.....	91	Schormann, Wiebke.....	84
Burg, Verena.....	43	Koenig, Wolfgang.....	58	Schramm, Alexander.....	25
		Korf, Ulrike.....	81	Schreiber, Stefan.....	70
C ichon, Sven.....	49	Korfhage, Christian.....	91	Schulte, Johannes.....	25
Ciocotisan, Victor.....	87	Krebiehl, Guido.....	41	Schunkert, Heribert.....	58
		Krobtsch, Sylvia.....	42	Schweiger, Michal-Ruth.....	29, 34
D ölken, Lars.....	66	Krüger, Rejko.....	41	Siebert, Reiner.....	12
Dreesmann, Sabine.....	25	Kubisch, Christian.....	50	Simon, Ronald.....	27
		Kühn, Ralf.....	78	Solomentsew, Natalie.....	25
E ggert, Angelika.....	24	Kuner, Ruprecht.....	26	Sönnichsen, Birte.....	89
Ehlers, Susan.....	70			Sonntag, Johanna.....	81
Ekici, Arif.....	47	L ange, Bodo.....	34	Spanagel, Rainer.....	52
Endres, Kristina.....	43	Lehrach, Hans.....	12, 34	Springer, Wolfdieter.....	40
Erdmann, Jeanette.....	58	Lichter, Peter.....	12, 22	Spruth, Eike.....	44
		Lieber, Diana.....	66	Steller, Ulf.....	58
F arrall, Alexandra.....	29	Lindemann, Nadine.....	91	Stengel, Sven.....	76
Feulner, Thomas.....	42	Luz, Uschi.....	21	Stewart, Francis.....	78
Fischer, Monika.....	80			Strom, Tim.....	90
Förstemann, Klaus.....	66	M atuschewski, Kai.....	89	Sültmann, Holger.....	12, 26
Franke, Andre.....	71	Mayhaus, Manuel.....	43		
Frischknecht, Friedrich.....	89	Meder, Benjamin.....	90	T hiery, Joachim.....	58
		Meister, Gunther.....	66	Thomas, Roman.....	36
G arratt, Alistair.....	43	Meitinger, Thomas.....	58	Truss, Matthias.....	21
Gasser, Thomas.....	40	Metzger, Jenny.....	26		
Grässer, Friedrich.....	66	Morkel, Markus.....	29	V ogel, Jörg.....	65
Gress, Thomas.....	32	Morkel, Markus.....	29	Vogel, Martin.....	87
Grimm, Christina.....	29	Mota, Maria.....	89	Vogt, Sebastian.....	25
Grimm, Marcus.....	43	Müller, Oliver.....	87		
Grösgen, Sven.....	43	Müller, Ulrike.....	43	W agner, Andreas.....	87
				Walter, Lutz.....	65
H aas, Jürgen.....	66	N öthen, Markus.....	5, 48	Wanker, Erich.....	43, 44
Haass, Christian.....	40, 43			Wichmann, H.-Erich.....	91
Hagemeier, Christian.....	20	P abst, Milan.....	50	Wiemann, Stefan.....	5, 80
Hartmann, Tobias.....	43	Peters, Annette.....	58	Wittmann, Andrea.....	22
Hebebrand, Johannes.....	60	Pfeufer, Arne.....	90	Wurst, Wolfgang.....	43, 78
Hecker, Markus.....	87	Prakash, Nilima.....	78		
Hemminki, Kari.....	30	Priekorn, Steffi.....	21	Z immer, Ralf.....	66
Hengstenberg, Christian.....	58	Priller, Josef.....	44		
Hengstler, Jan Georg.....	84				
Henjes, Frauke.....	1, 3, 81	R annikko, Emmy.....	41		
Herrmann, Bernhard.....	28	Reinehr, Thomas.....	61		
Hinney, Anke.....	61	Reinhardt, Richard.....	65		
Hoehe, Margret.....	76	Reis, André.....	46		
Hofmann, Sylvia.....	70	Rieb, Anja.....	25		
		Riemenschneider, Matthias.....	42		

STICHWORTVERZEICHNIS

A denom.....	30	Clusteranalyse.....	84	FTO.....	60
Adipositas.....	12, 55, 59, 60, 75, 78	Colitis ulcerosa.....	69	G amma-Sekretase.....	43
AIDS.....	63, 65	<i>Common Fragile Sites</i>	24	Gewebe-Microarrays.....	27
Akute lymphoblastische		<i>Computational Biology</i>	36	Giardia.....	65
Leukämie.....	21	<i>Copy Number Variants</i>	49	Gicht.....	74
Akute myeloische Leukämie.....	21	CRABP2.....	23	Glioblastom.....	22
Alkohol.....	19, 30, 52	chronisch-entzündliche		Gliom.....	22
ALL.....	21	Darmerkrankungen.....	69, 71	Glutamat.....	53
Alpha-Sekretase.....	43				
ALS.....	44	D armkrebs.....	28, 30	h aploid.....	76
Alzheimer-		<i>Decoy-Oligodesoxynukleotide</i>	87	Haplotypen.....	76
Krankheit.....	39, 42, 45, 76, 78	Demenz.....	42	HeLa-Zellen.....	78
AML.....	21	Depression.....	38, 48	Helicobacter.....	65
Amplifikate.....	91	Deutsche Mauslinik.....	74	HER2/neu.....	80
Amyloid-Angiopathie.....	43	Diabetes.....	12, 54, 59, 60, 75, 76, 78	<i>hereditary non-polyposis</i>	
Amyloid-Plaques.....	43	Dialyse.....	86	<i>colorectal cancer</i>	30
Amyotrophen Lateralsklerose.....	44	Diastolische Dysfunktion.....	57	<i>Herpes simplex Virus</i>	63, 66
Anfallsleiden.....	50	Dickdarmkrebs.....	30	Herzinfarkt.....	58
Antagomirs.....	67	DiGtoP.....	78	Herzinsuffizienz.....	56, 87, 88
Antibiotika.....	64	Dilatative Kardiomyopathie.....	12, 57	Herzrhythmusstörung.....	55, 57
APP.....	43	diploid.....	76	Herzschwäche.....	54, 56, 87, 88
APPLP2.....	43	DMAG (17-DMAG).....	37	Herzversagen.....	87
Argonaute Protein.....	67	DNA-Impfstoffe.....	25	Hirntumor.....	12, 22
Arterienverkalkung.....	58	Dopamin.....	53	Hitzeschockprotein.....	37
Arteriosklerose		drogenvermittelte synaptische		HIV.....	64
(s. Atherosklerose).....	58	Plastizität.....	53	Hsp.....	37
Asthma.....	69, 76	<i>Drosophila melanogaster</i>	47	HtrA2.....	41
Ataxien.....	44	Dysfunktion.....	57	Hypertrophie.....	57
Atherosklerose.....	58	E BV.....	67	Hypoxie.....	22
Ätiologie.....	31, 47	EGFR.....	36	I DH1.....	23
Autophagie.....	40	elektrophysiologische Ableitung...	50	Immune-Metagen.....	84
		embryonale Stammzellen.....	78	Infektionen.....	62, 64, 66, 69, 75
B auchspeicheldrüsenkrebs.....	32	Epidermaler		Ionenkanal.....	50, 53
Belohnungssystem.....	53	Wachstumsfaktor.....	36, 80		
Bertampalme.....	53	Epi-		K aposi Sarkom assoziiertes	
beta-Amyloid-Peptide.....	42	genetik...12, 17, 22, 24, 29, 34, 42, 90		Herpesvirus.....	67
Beta-Sekretase.....	43	Epigenom.....	21, 29	Kardiomyopathie.....	12, 57
Biobanken.....	91	Epilepsie.....	39, 50	Kardiovaskulär.....	86
Bipolar affektive Störungen.....	48	Epstein Barr Virus.....	67	Karyogramm.....	46
Bluthochdruck.....	54, 59, 75	Erythrozyten.....	89	kognitive Fähigkeiten.....	46
Blutkörperchen.....	20, 89	F ABP5.....	23	kognitive Störungen.....	44, 46
Blutkrebs.....	20	Familiäre Adenomatöse		Kohorte.....	56, 70, 77, 84
BRAF.....	23	Polyposis.....	30	Kolonkarzinom.....	30
Brustkrebs.....	19, 35, 80, 84, 85	Fast Food.....	75	Kopplungsanalyse.....	47
		<i>Fatty Acid-Binding Protein 5</i>	23	KORA.....	91
C afeteria Diät.....	75	Fettleibigkeit.....	54, 60	KRAS.....	36
<i>Capture-Microarray</i>	90	FFPE Gewebe.....	85	Krebsgene.....	35, 36
CD11b.....	21	FGFR.....	37	Krebsstammzellen.....	20, 22, 24
<i>Cellular Retinoic Acid-Binding</i>		Fibroblasten Wachstumsfaktor		KSHV.....	67
<i>Protein 2</i>	23	Rezeptor.....	37		
Chaperon-System.....	44	Formalin.....	85	L atenz.....	66
Chemotherapie.....	24, 34, 84	Fosmidbibliothek.....	77	LDL.....	59
Chlamydien.....	65	Fragiles X-Syndrom.....	47	Lepra.....	70
Cholera.....	65	Fragmentierungsgrad.....	91	Leukämie.....	20
Cholesterin.....	59				
Chorea Huntington.....	44				

Leukozyten	20
Linksventrikuläre Hypertrophie.....	57
<i>low density lipoprotein</i>	59
M agengeschwüre	65
<i>Major Histocompatibility</i>	
<i>Complex</i>	76
Malaria	65, 89
Manhattan-Plot	56
MAP.....	31, 36
Mausklinik.....	74
MC4R	60
Mentale Retardierung.....	46
mesolimbisches System.....	53
Metabolisches Syndrom.....	75
Metabolomische Signaturen.....	88
Metabolit	88
Metagene	84
MHC	76
microRNA...20,22, 25, 26, 64, 66, 81	
Migräne	50
miR-200.....	81
Mitochondrien.....	40
<i>mitogen-activated protein</i>	31, 36
Modifikatoren	28, 57
molekulare Haplotypen.....	77
Morbus Crohn.....	69, 70, 76
MSRA	60
Multiple Sklerose.....	76
Mutanom	34
MYCN	25
N ekrose.....	33
Nervenzellen... 22, 40, 42, 44, 50, 52	
Netzwerkbiologie.....	44
Neurexin 1	49
Neuroblastom	24
Neurodegeneration.....	44
Neuroglia	22
Neurone.....	22, 53
Neuropsychiatrische Störungen....	48
Nexilin	57
<i>New Zealand Obese-Maus</i>	60
Niereninsuffizienz	74, 86
NMDA Rezeptor.....	53
Noonan-Syndrom.....	36
NRAS	36
Nrf2.....	31
<i>nuclear factor E2-related</i>	
<i>factor 2</i>	31
O edem	56
Omega-3 Fettsäuren.....	43
Omi.....	41
OPA1	41
Östrogenrezeptor-Metagen	84
p 53	35
Pankreaskarzinom.....	32
Paraffin.....	31, 85, 91
Parasiten	62, 65, 66, 89
Parkin.....	40
Parkinson-Krankheit.....	40, 44, 78
Phosphoinositid-3	36
PI3	36
PINK1.....	40
Plasmodium.....	65, 89
Polypen	30
PopGen.....	77
Primär Sklerosierende	
Cholangitis.....	76
primärer Tumor.....	22
PRKD2	33
Proliferations-Metagen	84
Prostatakrebs	12, 26
Prostata-spezifisches Antigen.....	26
Proteinanalyse	85
Proteinkinase D2	33
Proteom.....	17, 34, 78, 81
PSA.....	26
Psoriasis	71
Psychische Erkrankungen	48
R AS	36
Rediziv	22, 48
Rektumkarzinom.....	30
<i>Restless-Legs-Syndrom</i>	59
Rezeptor-Tyrosinkinase	36
Rheumatoide Arthritis.....	76
Ribonukleoproteinpartikel	64
Ribosom	64
RISC-Komplex.....	67
RNA-Expressionsprofile.....	84
RNA-Interferenz.....	40, 79, 89
rote Blutkörperchen	89
RTK.....	36
S almonellen	65
Sarkoidose	70, 76
Sauerstoffradikale	40
ScarB1	89
<i>Scavenger</i> Rezeptor.....	89
Schizophrenie	48, 76
Schuppenflechte.....	70, 76
Schüttellähmung.....	40
schwarze Substanz.....	53
SDCCAG8	60
Sekretase	43
sekundärer Tumor	22
<i>Sequence Capture</i>	90
Signatur	21, 30, 84, 88
SORT1	59
Spastische Spinalparalyse.....	79
Sphingolipide	43
Spitzhörnchen	52
Sporozoit.....	89
Stammzellen.....	20, 22, 24, 78
Subgenomfraktionierung	90
<i>Substantia nigra</i>	53
Sucht.....	52
<i>Swiss Jim Lambert-Maus</i>	60
Synapsen	51, 53
synaptische Plastizität	53
Systembiologie	30, 34, 49, 52
Systemgenomik.....	80
T argeted Next-Generation	
<i>Sequencing</i>	90
Tbc1d1	55, 60
<i>thrifty genotype</i>	60
TMEM18.....	60
TMPRSS2-ERG	26
TNKS.....	60
Toponom.....	24
Toxoplasma.....	65
Transkriptionsfaktor	31, 87
Transposon	24
Tuberkulose	70
Tumorbildung.....	32
Tumorstammzellen	20, 22, 25
Tumorsuppressor.....	35
Ü bergewicht.....	55, 60, 75
Ubiquitin-Proteasom-System	44
Ubiquitinylierung.....	40
Uromodulin-Speicherkrankheit.....	74
V arizella Zoster Virus.....	66
ventrales Tegmentum	53
Vibrio.....	65
Viren	62, 64, 66, 69
Vorhofflimmern	55, 57
W achstumsfaktoren	36, 80
weiße Blutkörperchen	20
X IAP	25
Z NF804A.....	48
Z-Scheiben.....	57

IMPRESSUM

Herausgeber

NGFN Geschäftsstelle
c/o DKFZ - Deutsches
Krebsforschungszentrum
Dr. Silke Argo
Dr. Anke Bentmann
Dr. Nikolai Stankiewicz
Lena Gebauer-Hötzel
Im Neuenheimer Feld 280, V025
69120 Heidelberg
<http://www.ngfn.de>

Bestellungen bitte an

NGFN Geschäftsstelle
c/o DKFZ - Deutsches
Krebsforschungszentrum
Frau Lena Gebauer-Hötzel
Im Neuenheimer Feld 280, V025
69120 Heidelberg
l.gebauer-hoetzel@dkfz.de

Layout

Der Punkt GmbH
Agentur für Medien
www.derpunkt.de

Fotografie

Peter Sonnabend
www.no-comment.de

Mit Ausnahme der folgenden Fotografien, deren Bildrechte bei den jeweiligen Autoren liegen (sofern hier oder am Bild nicht anders angegeben): S. 5 (MN), S. 8 (© Fotolia - Falko Matte #1628245), S. 11 (JR, © NGFN), S. 16 (© Fotolia - foule iMAGINE #1753167), S. 17 (© NGFN), S. 22 (PL), S. 24 (AE), S. 25 (MB, SD, NS, SV, AR), S. 26 (HS, Fotograf: Tobias Schwerdt), S. 30, S. 31, S. 32 (TG), S. 34 (BL + HL), S. 36, S. 42 (MR), S. 48, S. 52 (RS), S. 54/55 (© Fotolia - Sebastian Kaulitzki #8075468, bearbeitet), S. 56/57, S. 58 (HS), S. 60, S. 66 (JH), S. 68/69 (© Fotolia - Sebastian Kaulitzki #15626850, bearbeitet), S. 70 (SS), S. 74, S. 78 (WW), S. 82 (© NGFN), S. 83 (© NGFN), S. 84 (JH), S. 85, S. 87 (MH), S. 88, S. 89, S. 90, S. 91 (EW + CK)

Abbildungen/Grafiken

Soweit nicht anders angegeben, liegen die Bildrechte bei den jeweiligen Autoren bzw. dem NGFN.

Druck

Stober GmbH
www.stober.de

2010

Die diesem Bericht zugrunde liegenden Vorhaben werden mit Mitteln des BMBF unter den auf den jeweiligen Verbund- bzw. Allianzseiten genannten Förderkennzeichen gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den jeweiligen Autoren.



Das Herausgeberteam bei der Pressearbeit (3. v. l. Dr. Anke Bentmann, 5. v. l. Dr. Silke Argo, 7. v. l. Lena Gebauer-Hötzel, 9. v. l. Dr. Nikolai Stankiewicz).