

# Geniale Abschalter für Brustkrebsgene

## Hemmung des Tumorwachstums durch RNA-Interferenz

**B**rustkrebs ist die häufigste Krebsart bei Frauen und eine ihrer häufigsten Todesursachen. Allein in Deutschland erkranken jährlich zirka 50 000 Frauen neu an Brustkrebs, rund 20 000 Frauen sterben daran <sup>[1]</sup>. Die Suche nach wirkungsvollen Heilbehandlungen gegen Brustkrebskrankungen ist daher seit vielen Jahren Gegenstand intensiver Forschung. In Zukunft könnten die weiter fortschreitenden Kenntnisse des menschlichen Genoms und die Entwicklung neuer molekularer Strategien effizientere Behandlungsmöglichkeiten des Brustkrebses eröffnen.

### Genetische Ursachen für Krebs

Im gesunden Körper ist die Zellvermehrung über viele Schritte kontrolliert. Krebszellen entziehen sich dieser Regulation nach genetischen Schäden (Mutationen) und teilen sich aus diesem Grund ungehemmt. Krebs umfasst daher Erkrankungen, bei denen sich Zellen des Körpers unkontrolliert vermehren. Dadurch bilden sich an der Stelle, an der eine Zelle zur Krebszelle entartet ist, große Anhäufungen von Zellen, die als (Primär-)Tumor bezeichnet werden. Im Zuge der

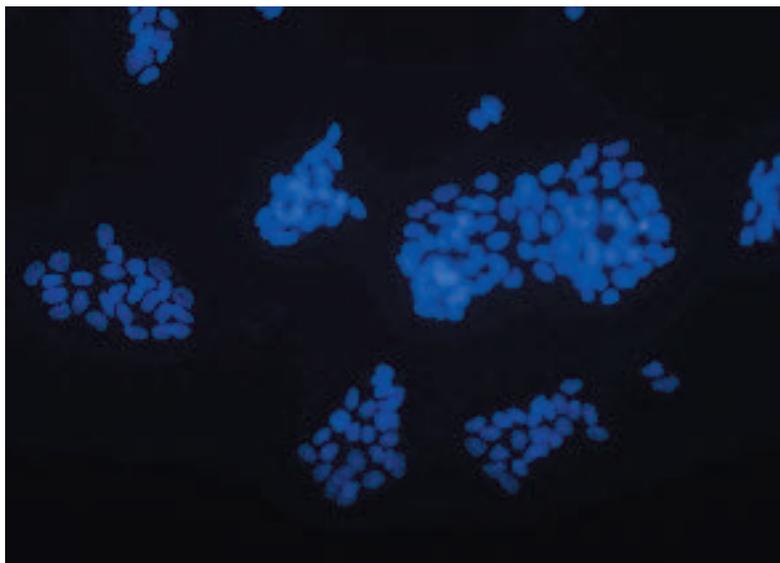
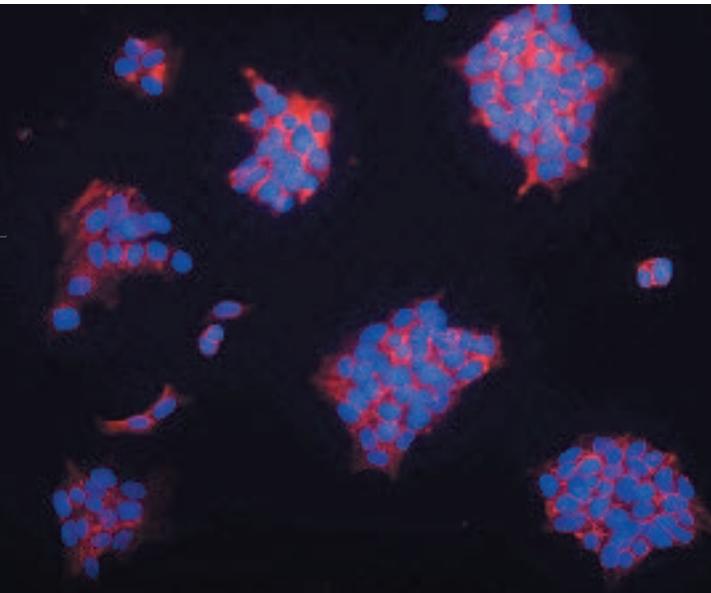
Metastasierung lösen sich entartete Zellen von ihrer Entstehungsstelle und wandern über die Blut- oder Lymphbahn in andere Bereiche des Körpers. Dort angekommen, vermehren sie sich wiederum unkontrolliert und können so im gesamten Körper Metastasen (Sekundärtumore) bilden. Durch das anhaltende Wachstum der Tumoren ist die Funktionsfähigkeit vieler Organe nicht mehr gewährleistet – die Krebserkrankung nimmt ihren lebensbedrohenden Verlauf.

Die genetischen Veränderungen in Krebszellen führen auch dazu, dass diese Zellen von Wachstumsfaktoren unabhängig werden. Wachstumsfaktoren sind Substanzen, die mit Rezeptoren auf der Zelloberfläche in Kontakt treten, um über Signalkaskaden die Zellteilung anzustoßen. Bei Krebszellen ist häufig eine überhöhte Anzahl derartiger Rezeptoren in der Zellmembran nachweisbar. Mit steigender Anzahl der Wachstumsfaktor-Rezeptoren in der Zellmembran nimmt auch die Signalintensität zu, die im Zellinneren ankommt – die Zellteilungsaktivität steigt. Im Vergleich zu normalen Zellen mit einer geringeren Anzahl von Wachstumsfaktor-Rezeptoren können sich Krebszellen daher schon bei einer Konzentration von Wachstumsfaktoren verstärkt vermehren, die bei normalen Zellen lediglich eine langsame Teilung auslöst <sup>[2]</sup>.

### Brustkrebs und der HER2/neu-Rezeptor

Bei 20 bis 30 Prozent aller Brustkrebspatientinnen findet sich auf der Oberfläche der Tumorzellen eine im Vergleich zu normalen Zellen mitunter bis zu hundertfach erhöhte Anzahl des Wachstumsfaktor-Rezeptors HER2/neu (human epidermal growth factor receptor 2) <sup>[3], [4]</sup>. Dies beruht auf Veränderungen in der DNA **2**. Normale Zellen tragen zwei Genkopien des HER2/neu-Rezeptors in der DNA. Durch bisher unbekannte Einflüsse kann die Zahl der Genkopien in der DNA zunehmen. Je mehr Genkopien aber vorhanden sind, desto mehr HER2/neu-Rezeptoren werden gebildet und

**1** In den Zellen von vielen Brusttumoren wird der HER2/neu-Rezeptor (rot) zu stark ausgebildet und ist dadurch mitverantwortlich für die übermäßige Teilung der Zellen. Durch die Behandlung mit HER2/neu-spezifischer siRNA kann die Ausbildung dieses Rezeptors aber vollständig unterbunden werden, so dass die weitere Zellteilung verhindert wird. Die obere Abbildung zeigt unbehandelte Brustkrebszellen mit einer starken Expression des HER2/neu-Rezeptors. Die untere Abbildung zeigt die gleichen Zellen nach Behandlung mit siRNA, die die Ausbildung des HER2/neu-Rezeptors verhindert. In beiden Abbildungen sind die Zellkerne (blau) angefärbt. Nach Behandlung mit HER2/neu-spezifischer siRNA konnten nur noch die Zellkerne angefärbt werden, der HER2/neu-Rezeptor war hingegen nicht mehr nachweisbar.

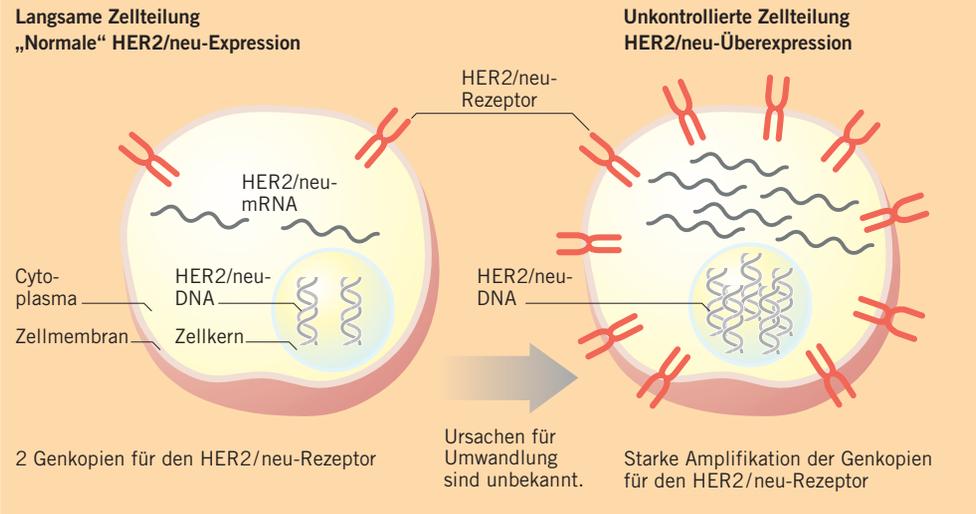


*Herausforderung  
Brustkrebs*

**Leben verlängern  
Lebensqualität erhalten**

**Hand in Hand mit Roche**

**HER2/neu-Expression**



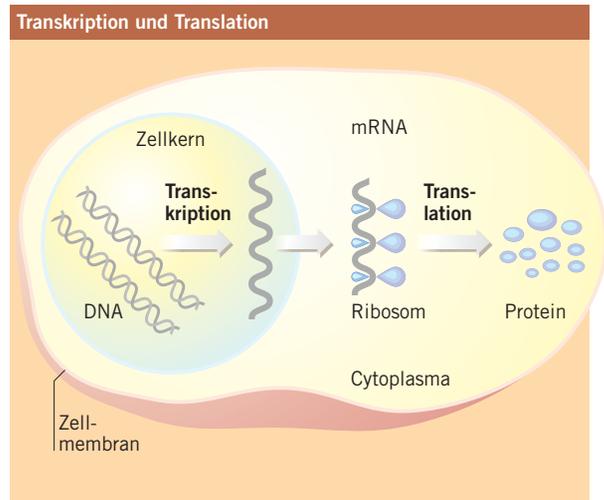
**2** In normalen Zellen (links) sind auf der DNA im Zellkern zwei Genkopien für den HER2/neu-Rezeptor vorhanden. In den mutierten Zellen von vielen Brusttumoren (rechts) ist eine starke Vervielfachung der HER2/neu-Genkopien auf der DNA nachweisbar. Dies führt dazu, dass der HER2/neu-Rezeptor stärker als in normalen Zellen ausgebildet wird. Je mehr HER2/neu-Rezeptoren in der Zellmembran vorhanden sind, desto wahrscheinlicher ist es, dass in den entsprechenden Zellen die Zellteilung angeregt wird. Zellen mit einem erhöhten HER2/neu-Gehalt teilen sich daher auch besonders aggressiv.

desto wahrscheinlicher ist eine krebsartige Anregung der Zellteilung. Hat eine Zelle diese Eigenschaft erst einmal erworben, wird diese auf jede ihrer durch Teilung neu entstehenden Tochterzellen weitergegeben – ein fataler Zirkel. Brustkrebserkrankungen, bei denen die Zellen eine erhöhte Anzahl von HER2/neu-Rezeptoren aufweisen, verlaufen daher sehr aggressiv.

**Bisherige Behandlungsmethoden für Brustkrebs**

Bei der Behandlung von Brustkrebs werden heute sowohl chirurgische Eingriffe als auch Strahlen-, Hormon- und Chemotherapien angewendet. Bei diesen Behandlungsmethoden können aber unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Darüber hinaus sprechen die Patienten, besonders bei weit fortgeschrittenem Krankheitsbild mit Metastasen, schlecht auf die konventionellen Therapien an. Deswegen versucht man bei Brustkrebspatientinnen mit erhöhten Konzentrationen des HER2/neu-Rezeptors in der Zellmembran gezielt auf diese Zellen einzuwirken, um so dem aggressiven Fortschreiten der Krankheit Einhalt zu gebieten. Es ist gelungen, einen humanisierten Antikörper gegen den HER2/neu-Rezeptor herzustellen, der unter der Bezeichnung Herceptin® seit einigen Jahren in der klinischen Anwendung ist. Dieser Antikörper bindet spezifisch an den HER2/neu-Rezeptor. Dadurch wird der Rezeptor zumindest zeitweise inaktiviert, so dass er keine Wachstumssignale mehr vermitteln kann. Darüber hinaus können die Zellen,

**3** Die im Zellkern auf der DNA gespeicherte genetische Information wird bei der Transkription in mRNA umgeschrieben. Bei der anschließenden Translation wird die mRNA außerhalb des Zellkerns von den Ribosomen abgelesen und die Information in ein Protein übersetzt.



an die Herceptin® gebunden hat, vom körpereigenen Immunsystem erkannt und angegriffen werden. Je mehr HER2/neu-Rezeptoren eine Zelle trägt, desto wahrscheinlicher ist es demnach, dass sie von Herceptin® entdeckt wird und unschädlich gemacht werden kann. Die Behandlung mit Herceptin® ist jedoch zum einen sehr kostenintensiv, und zum anderen sprechen nicht alle Patienten auf die Behandlung an, obwohl sie zuviel HER2/neu-Rezeptoren ausbilden. Darüber hinaus treten bei der typischen Kombinationsbehandlung mit Herceptin® und einem Chemotherapeutikum zuweilen erhebliche Nebenwirkungen auf. Außerdem besteht die Möglichkeit, dass HER2/neu-tragende Tumorzellen gegen Herceptin® resistent werden. Somit ist Herceptin® nicht in allen Fällen ein wirksames Therapeutikum, so dass es weiterhin notwendig ist, nach neuen Therapieansätzen zu suchen <sup>15/</sup>.

**Potenzielle Ansätze für neue Behandlungsstrategien: RNA-Interferenz**

Mit der Entdeckung der RNA-Interferenz (RNAi) vor wenigen Jahren könnten sich neue Perspektiven im Kampf gegen Brustkrebs eröffnen. RNAi ist die Reaktion von Zellen auf das Vorhandensein von fremder doppelsträngiger RNA (dsRNA) in der Zelle. Ziel ist es, mit Hilfe der RNAi Genfunktionen in bestimmten Zellen gezielt zu beeinflussen. In der Frankfurter Universitätsfrauenklinik unter der Leitung von Direktor Prof. Dr. Manfred Kaufmann wurden Zellkultur- und Tierexperimente durchgeführt, um zu klären, ob sich mit Hilfe der RNAi die Ausbildung des HER2/neu-Rezeptors verhindern lässt. Dies könnte dazu beitragen, der aggressiven Teilungsrate von Brustkrebszellen mit einer erhöhten HER2/neu-Anzahl wirksam zu begegnen. Sollten die begonnenen Experimente weiterhin erfolg-

reich verlaufen, soll das neue Wirkprinzip in der Klinik bei Tumorpatientinnen angewendet werden.

### Grundlagen der RNAi

Die RNAi blockiert den Informationsfluss von der DNA zum Protein. Normalerweise wird die DNA im Zellkern von einem Proteinkomplex in ein einzelsträngiges RNA-Molekül, die mRNA (messenger RNA), umgeschrieben (Transkription). Durch die mRNA wird die Information der DNA aus dem Zellkern durch die Zellkernmembran in das Zytoplasma zu den Ribosomen transportiert. Dort findet die Translation der mRNA statt, ein Vorgang, bei dem die in der mRNA enthaltene Information in ein Protein übersetzt wird. Transkription und Translation werden als Expression eines Gens bezeichnet **3**.

Die Wirkung der RNAi wird über kurze doppelsträngige RNA-Moleküle vermittelt, die siRNAs (small interfering RNAs) genannt werden und von außen in die Zelle eingebracht werden. In der Zelle werden

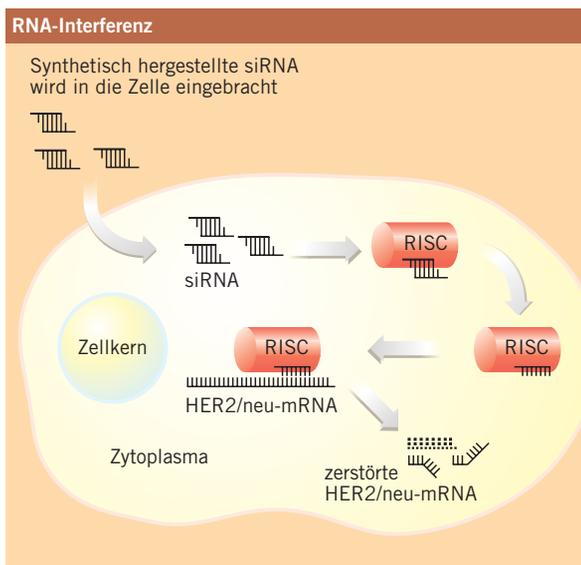
die siRNA-Moleküle von einem Proteinkomplex (RISC) aufgenommen. Im RISC selbst verbleibt nur ein einzelner Strang der siRNA. Der Komplex aus einzelsträngiger siRNA und RISC kann dann in der Zelle mit der Ziel-mRNA, zum Beispiel der HER2/neu-mRNA, in Kontakt treten, wodurch die Spaltung dieser mRNA initiiert wird. Somit kann letztlich auch kein Protein entstehen, so dass die Expression eines bestimmten Gens gehemmt wird **4**. siRNAs wirken streng sequenzspezifisch, das heißt, nur wenn die Sequenz der siRNA komplementär zur Ziel-mRNA ist, wird diese mRNA abgebaut <sup>16</sup>.

### RNAi als mögliche Strategie zur Hemmung von Brustkrebs

In der Arbeitsgruppe »Molekulare Gynäkologie« an der Universitätsfrauenklinik Frankfurt wurde der Einsatz der RNA-Interferenz an menschlichen Brustkrebszelllinien erforscht. Hierbei wurden Zelllinien untersucht, die aus Brusttumoren (Mammakarzinomen) mit einer be-

sonders starken Überexpression des HER2/neu-Rezeptors stammten und daher eine hohe Anzahl dieses Rezeptors aufwiesen. Um die Expression des HER2/neu-Rezeptors in diesen Zelllinien zu unterbinden, wurden synthetisch hergestellte HER2/neu-spezifische siRNA-Moleküle in die Zellen von außen eingebracht. Die siRNAs waren so konzipiert, dass sie im Wege der RNA-Interferenz an die HER2/neu-mRNA binden konnten, um deren Zerstörung zu initiieren **4**.

Mit Hilfe dieser sequenzspezifischen siRNAs konnte die Ausbildung des HER2/neu-Rezeptors in kultivierten Tumorzellen vollständig unterbunden werden **1**. Dabei wurde sowohl die Menge an HER2/neu-mRNA als auch die Menge an HER2/neu-Rezeptoren in der Zellmembran verringert. Da der HER2/neu-Rezeptor ein Wachstumsfaktor-rezeptor ist, reduzierte sich durch die Behandlung auch die Teilungsrate derjenigen Zellen, die eine stark erhöhte Anzahl von HER2/neu-Rezeptoren aufwiesen. Im Ge-



**4** Zunächst werden synthetisch hergestellte doppelsträngige siRNA-Moleküle (small interfering RNA) in die Zelle eingebracht. In der Zelle werden diese vom Proteinkomplex RISC (RNA induced silencing complex) erkannt und ein RNA-Strang gebunden. Der Komplex aus RISC und RNA kann anschließend in der Zelle mit einer spezifischen mRNA in Kontakt treten, wodurch die Zerstörung dieser mRNA initiiert wird. Dieser Vorgang lässt sich durch die gezielte Gestaltung der siRNA genau steuern. Eigentlich dient die mRNA dazu, die auf der DNA im Zellkern gespeicherte Information in das Zytoplasma zu transportieren, wo sie in ein Protein übersetzt wird. Wird aber im Wege der RNA-Interferenz die mRNA eines bestimmten DNA-Abschnitts zerstört, hier die HER2/neu-mRNA, kann das entsprechende Protein nicht mehr gebildet werden. Die Anwendung der RNA-Interferenz ermöglicht es daher, die Ausbildung bestimmter Proteine gezielt zu unterbinden.

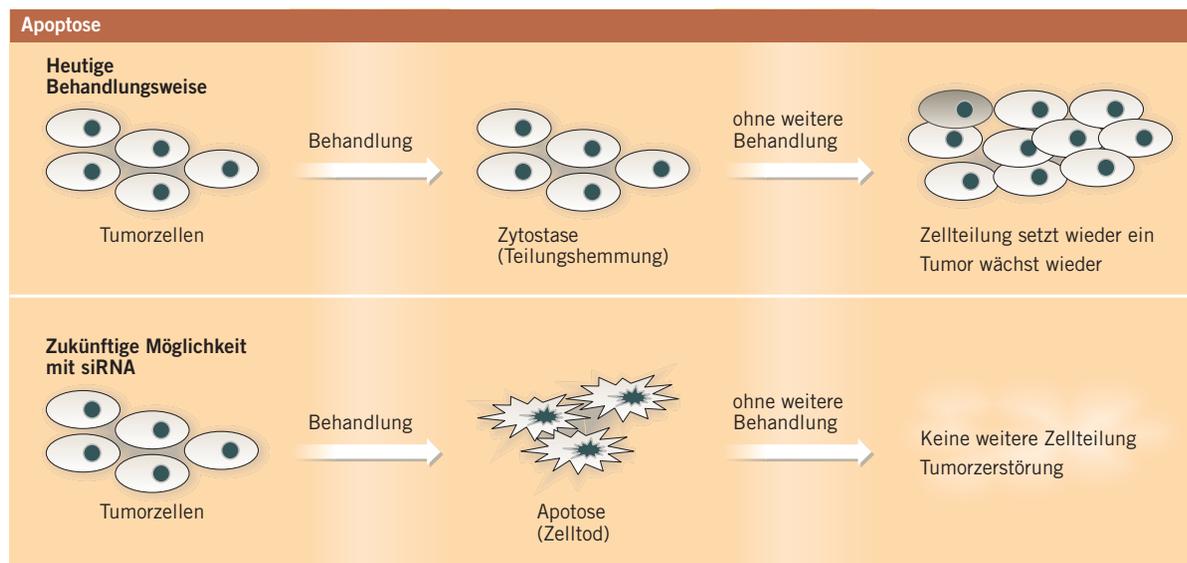
Anzeige



Der Weg bis zur Zulassung eines Arzneimittels ist weit und mitunter beschwerlich. Umso mehr lohnt er sich, wenn am Ende des Weges hochwirksame Medikamente vielen Menschen zu mehr Lebensqualität verhelfen. Als Tochter von Japans größtem Pharmakonzern sind wir in den Therapiefeldern Diabetologie, Gastroenterologie, Kardiologie, Urologie und Gynäkologie mit innovativen Arzneimitteln vertreten. Die Erforschung neuer Wirkstoffe wird auch in Zukunft unseren Weg bestimmen. Wenn Sie mehr über Takeda Pharma erfahren wollen, nutzen Sie die Internetseite [www.takeda.de](http://www.takeda.de). Oder schreiben Sie an [info@takeda.de](mailto:info@takeda.de).

www.takeda.de





5 Die Anwendung der bisher verfügbaren Therapeutika führt meist lediglich zu einer Hemmung der Zellteilung (Zytostase). In diesen Fällen können sich die Tumorzellen daher nach Beendigung der Therapie wieder teilen. Durch die Anwendung von HER2/neu-spezifischer siRNA konnte in den behandelten Zellen das Selbstmordprogramm der Zellen ausgelöst werden. Durch diese so genannte Apoptose zerstören sich Zellen vollständig, so dass selbst nach Ende der Behandlung keine weiteren Zellteilungen stattfinden können und das Tumorstadium nachhaltig gestoppt wird.

gensatz dazu zeigten Zellen, die weniger beziehungsweise kaum HER2/neu-Rezeptoren hatten, keine Veränderung ihres Teilungsverhaltens. Somit beeinflussen die hier eingesetzten siRNA-Moleküle spezifisch die Zellen, die zuviel HER2/neu-Rezeptoren bilden, wie es bei 20 bis 30 Prozent aller Brustkrebspatientinnen der Fall ist <sup>17/</sup>.

Darüber hinaus lösten die HER2/neu-spezifischen siRNAs einen zweiten Effekt in den Zellen aus, die zuviel HER2/neu-Rezeptoren ausbildeten: Die Zellen zerstörten sich selbst <sup>17/</sup>, ein Vorgang, der als Apoptose bezeichnet wird. Die Apoptose ist das genetisch gesteuerte Selbstmordprogramm der Zelle,

das zu ihrer kompletten Selbstzerstörung führt. Das Auslösen der Apoptose in krebsartigen Zellen kann daher das Tumorstadium nachhaltig stoppen und sich damit als klarer Vorteil gegenüber der bis heute verfolgten Behandlung mit dem Antikörper Herceptin® erweisen. Die Behandlung mit Herceptin® wirkt lediglich zytostatisch, wodurch die Zellen also nur für die Dauer der Herceptin®-Behandlung an der Teilung gehindert werden <sup>5/</sup>. Darüber hinaus ist die Herstellung von Herceptin® kostenintensiv. Da Herceptin® nur in der Zeit seiner Verabreichung wirkt, muss die Behandlung über Jahre erfolgen, wodurch sich Kosten in sechsstelliger

Höhe ergeben können. Die Herstellung entsprechender RNA-Moleküle ist schon heute erheblich günstiger.

Doch wie könnte eine siRNA-basierte Therapie aussehen? Derzeit steht die Herstellung von chemisch modifizierten und stabilen siRNA-Molekülen für die intravenöse Anwendung mit lang anhaltender Wirkung im Zentrum der Forschungsaktivitäten. Nanopartikel könnten zudem dazu beitragen, HER2/neu-spezifische siRNA gezielt nur in diejenigen Zellen einzubringen, die zu viele HER2/neu-Rezeptoren aufweisen. Die bisherigen Ergebnisse deuten auf viel versprechende neue Strategien zur Behandlung von Brustkrebs hin. ♦

**Literatur:**

<sup>11/</sup> Goldmann-Posch, O. (2001), Wir brauchen Busenfreunde, die Meilensteine im Kampf gegen Brustkrebs setzen. Akt Onkol 114, Seite 1–2.  
<sup>12/</sup> Hanahan, D. & Weinberg, R. A. (2000), The Hallmarks of Cancer. Cell 100, Seite 57–70.  
<sup>13/</sup> Slamon, D. J. et al. (1987), Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. Science 235, Seite 177–182.  
<sup>14/</sup> Venter, D. J. et al. (1987), Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein in human breast carcinomas: immunohistological assessment correlates with gene amplification. Lancet 328, Seite 69–72.

<sup>15/</sup> Nahta, R., Hortobágyi, G. N. & Esteva, F. (2003), Growth factor receptors in breast cancer: potential for therapeutic intervention. Oncologist 8, Seite 5–17.  
<sup>16/</sup> Hannon, G. J. (2002), RNA interference. Nature 418, Seite 244–251.  
<sup>17/</sup> Faltus, T. et al. (2004), Silencing of the HER2/neu gene

**Die Autoren**

**Prof. Dr. Klaus Strebhardt**, Fachbereich Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften, hat in Frankfurt Biologie studiert und nach einem Aufenthalt an der Medical School der Harvard-Universität promoviert. Von 1986 bis 1998 war er Arbeitsgruppenleiter und zeitweise stellvertretender Direktor am Georg-Speyer-Haus. Seit 1999 leitet er die Arbeitsgruppe Molekulare Gynäkologie in der Frankfurter Universitätsfrauenklinik. **Timo Faltus** hat im Jahr 2003 im Arbeitskreis von Klaus Strebhardt seine Diplomarbeit im Fach Biologie zum Thema »Hemmung der Genexpression krebsrelevanter Gene durch RNA-Interferenz« angefertigt. Während des Biologiestudiums hat er begonnen, Rechtswissenschaften zu studieren und bereitet sich derzeit auf das erste juristische Staatsexamen vor.