

Driver Mutations und Genetische Prädisposition

Können sowohl Protoonkogenen als auch Tumorsuppressorgen zu Driver-Mutationen werden?

Ja, wenn ein Tumorsuppressorgen durch eine Mutation inaktiviert wird kann das genauso die Entstehung von Krebs vorantreiben wie wenn ein Protoonkogen aktiviert wird. Bei der Unterscheidung von Driver und Passenger Mutationen geht es darum welche Mutationen ursächlich für die unkontrollierte Vermehrung der Zellen ist und nicht ob die Mutation in einem Protoonkogen oder einem Tumorsuppressorgen liegt.

Wie viele Mutationen hat eine Krebsart durchschnittlich im Vergleich zu der gesunden Zelle?

Die Anzahl der Mutationen die notwendig und ausreichen sind um einen Tumor zu verursachen schwankt anscheinend zwischen eins und einem Duzend. Hinzu kommen aber oft noch viele Tausende Passengermutationen, die in keinem kausalen Zusammenhang zu der Krankheit stehen. Die Mutationen entstehen entweder durch eine erhöhte Mutationsrate in den Krebszellen (Mutatorphenotype) oder durch die jahrelange mutagenetischer Aktivität (UV-Strahlung und Zigarettenrauch) der die Vorläuferzellen ausgesetzt waren. Eine guter Einstieg in dieses Thema ist der folgende Blog Eintrag. <https://thedarwincancerblog.com/2015/10/26/how-many-mutations-does-it-take/>

Sind genotypische SNPs dafür verantwortlich, wie anfällig eine bestimmte Person für Krebs ist oder eben nicht? Oder wo liegen die Genotypischen Ursachen, die zu höherer Anfälligkeit führen? Wie gut weiss man darüber Bescheid?

Es gibt in der Tat eine ganze Anzahl von genetischen Variationen welche das Krebsrisiko erhöhen selbst aber keine Driver Mutationen für die Entstehung von Krebs sind. Mit anderen Worten man kann diese Variationen in seinem Genom tragen ohne jemals an Krebs zu erkranken.

Viele dieser das Krebsrisiko erhöhenden Variationen wurden in GWAS Studien gefunden in denen der Genotyp der gesunden Zellen von Krebspatienten und Gesunden untersucht wurde. Ein sehr berühmtes Beispiel für mit einem erhöhten Krebsrisiko assoziierten genetischen Variationen sind Variationen im BRCA1 Gen, die mit einem stark erhöhten Brustkrebsrisiko einhergehen.

Eines der Kennzeichen von Tumorzellen ist nach Douglas Hanahan und Robert A. Weinberg die Instabilität des Genoms und dadurch die erhöhte Anfälligkeit auf weitere Mutationen. Wie ist dies aber dem Krebs von Nutzen, wenn man annimmt, dass Mutationen ja auch der Zellteilung schaden können und weiteres Wachstum verhindern?

Die hohe Mutationsrate von Tumorzellen erlaubt es diesen Zellen sich relativ schnell von ihren normalen Eigenschaften weg zu entwickeln. Durch diese hohen Mutationsraten entstehen sicherlich auch viele Mutationen die für die einzelne so mutierte Zelle tödlich sind. Diese Zellen sterben ab. Zellen in denen Mutationen ein besonders aggressives Wachstum ermöglichen breiten sich hingegen besonders schnell aus. Auf diese Weise entsteht das genetische Mosaik welches Tumore auszeichnet.

Welche Eigenschaften hat eine Driver Mutation? Kann man voraussagen welche *de novo* Mutation grosses Potenzial hat sich in eine Driver Mutation zu entwickeln?

Driver Mutationen sind all solche Mutationen die direkt, oder indirekt ein unkontrolliertes Wachstum einer Zelle ermöglichen. Es gibt im Prinzip zwei Möglichkeiten zur Vorhersage der „Gefährlichkeit“ einer Mutation. Der erste Ansatz ist mechanistisch. Basierend auf der Kenntnis der Mechanismen welche das Zellwachstum regulieren kann man Gene identifizieren, deren Inaktivierung (z.B. DNA-Reparaturgene) oder Hyperaktivierung (z.B. Wachstumshormonrezeptoren) zu unkontrolliertem Zellwachstum führen würde. Basierend auf der Kenntnis der korrespondierenden Gen- und Proteinstrukturen kann man dann versuchen vorherzusagen ob eine bestimmte Mutation zu so einer Inaktivierung bzw. Hyperaktivierung führen kann.

Der zweite Ansatz ist statistisch. Man sequenziert das Genom der Tumorzellen einer grossen Anzahl von verschiedenen Patienten (siehe das the cancer genome atlas TCGA Projekt) und schaut dann ob bestimmte Mutationen gehäuft auftreten. Bei Driver Mutationen, sollte eine solche Häufung zu beobachten sein, weil sie den Tumor ja verursachen. Passenger Mutationen treten hingegen eher zufällig auf und sollten keine Häufung zeigen. Beide Ansätze funktionieren bisher nur bedingt.

Krebs und das Immunsystem

Vorläuferzellen für potentielle Tumore (die möglicherweise bereits einige Mutationen aufweisen und sich anders verhalten als gesunde Zellen) sind ja auch bei gesunden Menschen vorhanden, werden jedoch vom Immunsystem erfolgreich unterdrückt. Wieso richten sich nicht mehr Ansätze der Krebsbekämpfung nach der Prävention, bzw. wie solche Zellen frühzeitig erkannt und bekämpft werden können (bspw. über Ausnutzung/engineering des Immunsystems)?

Sie haben völlig recht, in den Körpern von gesunden Menschen entstehen auch ständig Mutationen und so auch Krebsvorläuferzellen. Diese werden aber vom Körper erkannt und durch das Immunsystem entfernt. Eine Förderung dieser eigenen Schutzmechanismen ist also eine mögliche Alternative zu den klassischen Krebstherapien. Wie in der Vorlesung besprochen ist dies zur Zeit in der Tat eine der aktivsten und vielversprechendsten Forschungsrichtungen in der Krebsforschung.

Eines der Hallmarks of Cancer lautet: Dem Tumor nützliche entzündliche Prozessen in dessen Umgebung (tumor promoting inflammation). Was ist damit genau gemeint? Wie genau sind Entzündungsprozesse für einen Tumor nützlich?

Eines der erweiterten Merkmale von Krebs ist: „Dem Tumor nützliche entzündliche Prozesse in dessen Umgebung“; wie nützt die Entzündung dem Tumor? Wird dadurch nicht das Immunsystem dazu angeregt, den Tumor zu bekämpfen?

Für einen Einstieg in diesen Themenbereich empfehle ich folgenden Reviewartikel:
<http://www.nature.com/nature/journal/v420/n6917/full/nature01322.html>

Trageted / personalized Treatment

Man hat ja heutzutage die Möglichkeit einen Stammbaum von Krebszellen in einem Organismus herzustellen. Wären es möglich dieses Wissen zu verwenden um lokal geeignete Medikamente einzusetzen anstelle der klassischen Chemotherapie die den ganzen Organismus beschädigt?

Ja genau das ist das Ziel der personalisierten und zielgerichteten Krebstherapie, basierend auf dem Genotyp der Krebszellen eine massgeschneiderte Therapie zu entwickeln. Für bestimmte Drivermutationen und die aus ihnen resultierenden Krebsarten gelingt dies schon ganz gut. Aber biss man basierend auf den Sequenzdaten einer Tumorbiopsie eine perfekt wirkende und nebenwirkungsfreie Therapie für alle Krebsarten hat ist es sicherlich noch ein langer Weg.

Wie oft werden Genomsequenzierungen bei Tumorkranken heutzutage tatsächlich durchgeführt?

Die Sequenzierung von Tumorgenomen ist definitiv in der Klinik angekommen, wird aber noch nicht routine mässig durchgeführt. Eine Studie zu Brustkrebs (Gingras et al. Scientific Reports 2016) kommt zu dem Schluss, dass bei ca. 5% der Patienten eine Genomsequenzierung durchgeführt wird. Die gezielte Sequenzierung von einigen Duzend Genen (sogenannten Cancer Panels) deren Mutation in vielen Krebsarten auftaucht kommt hingegen deutlich häufiger zum Einsatz.

Auf der letzten Seite im Skript steht, dass es zu Unstimmigkeiten zwischen dem Cancer Genome Project und dem Cancer Cell Line Encyclopedia Project kam in Bezug auf die Bestimmung der Medikamentendosis. Ich würde gerne mehr darüber wissen, wieso es zu dieser Unstimmigkeit kommen konnte, bzw. was bedeutet diese Aussage? Hat bei manchen Patienten eine kleinere Medikamentendosis Wirkung gezeigt oder sind die Resultate einfach aufgrund einer anderen Herangehensweise ans Problem nicht vergleichbar?

Wie genau war die Bestimmung der minimalen Medikamentendosis bei den Screenings von personalisierten Krebstherapien eine Fehlerquelle? Wurde in der realen Therapie dann zu wenig hoch dosiert, zu hoch, oder was war das Problem?

Könnten sie evtl in der Vorlesung nochmals erläutern, welche Fehlerquellen für diese mangelnde Reproduzierbarkeit der Resultate aus den Studien für personalisierte Krebstherapie verantwortlich sind?

Für weiterführende Information zu diesen drei Fragen empfehle ich den Artikel von John Quackenbusch und Kollegen. (Haibe-Kains et al. Nature:504 pp. 389 (2013)).

Es gibt in der Krebstherapie auch Ansätze die Chemotherapie spezifischer zu machen, indem man die Therapeutika an Antikörper koppelt. Das Medikament ist so hochkonzentriert nur bei Krebszellen vorhanden (zumindest in der Theorie). Was verspricht dieser Ansatz für Möglichkeiten? Ist die Oberflächendiversität von Krebszellen geeignet für einen solchen Einsatz (also weder zu hoch noch zu wenig unterscheidbar von gesunden Zellen)?

Ja, diese Ansätze gibt es. Aber wie Sie schon richtig bemerken funktionieren Sie nur dann, wenn die Veränderungen in der Zelle auch an deren Oberfläche erkennbar sind. Vielleicht ist dies einer der Gründe warum dieser Ansatz, der schon in den 80ern und 90ern propagiert wurde, nur langsam den Weg in die Kliniken findet.

Ist die Chance nicht sehr hoch, dass bei einer targeted therapy die Krebszellen wegen der genetischen Instabilität sehr schnell das Medikament umgehen können?

Ja genau das ist ein Problem. Aus diesem Grund verwendet man daher gezielte Krebstherapien häufig in Kombination mit traditionellen Chemotherapien welche ganz allgemein schnell wachsende Zellen tötet.

Wirkt zielgerichtete Krebstherapie also nur, wenn die Eigenschaft des Tumors, die für das unkontrollierte Wachstum verantwortlich ist, unterdrückt wird? Bei Akkumulation solcher Mutationen, könnte man da auch eine Kombination von solchen Zielgerichteten Krebstherapien einsetzen?

Bei der zielgerichteten Krebstherapie gibt es zwei Strategien. Die erste ist die Krebszellen zu töten aber die anderen Zellen unbehelligt zu lassen. Bei dieser Strategie ist es egal ob die Therapie bei der Drivermutation ansetzt oder eine andere Eigenschaft nutzt, die nur den Krebszellen zu eigen ist. Die zweite Strategie ist die Krebszellen mit einem Medikament zu behandeln, so dass sie sich wie gesunde Zellen verhalten und den Körper nicht schädigen. In diesem Fall targeted man spezifisch die Drivermutation. Ein berühmtes Beispiel für die zweite Strategie ist das Medikament Gleevec welches gezielt eine durch eine Genfusionsmutation entstandene Tyrosin Kinase inhibiert und so das unkontrollierte Wachstum dieser Zellen unterdrückt.

„Erbix ist in Patienten mit EGFR-exprimierenden Kolorektalkarzinomen sehr effektiv, aber nur in solchen die keine Mutation im K-Ras Gen besitzen. Bei vergleichbaren Tumoren die in der Lunge auftreten ist Erbitux hingegen nicht aktiv, selbst wenn diese Tumore keine K-Ras Mutation aufweisen.“ Welche Version ist korrekt? Ist Erbitux effektiv, wenn K-Ras ist mutiert, oder nicht?

Beides ist korrekt. Erbitux ist effektiv in Kolorektalkarzinomen, wenn diese eine normale Version des K-Ras Protein's exprimieren. In anderen Tumortypen (z.B. in der Lunge) wirkt dieses Medikament hingegen nicht, obwohl dort die selbe Drivermutation vorliegt und auch funktionales K-Ras exprimieren wird. Dies zeigt, dass die Effizienz einer getargeten Therapie stark von dem Kontext abhängen kann in dem sich der Tumor befindet.

Inwieweit ist Chemotherapie auch personalisiert? Zytostatika werden meines Wissens nach auch fast für jeden Patienten neu angemischt.

Ja Sie haben recht. Zytostatika Therapie ist auch jeweils auf die Krebsart und den Patienten zugeschnitten und in diesem Sinne auch personalisiert. So werden z.B. Faktoren wie Körpergewicht, genetische Veranlagung welche die Abbaugeschwindigkeit der Medikamente beeinflusst etc. bei der Dosierung der Medikamente in Betracht gezogen. Klassische Zytostatika wirken aber nicht spezifisch auf Krebszellen und schon gar nicht spezifisch auf bestimmte Krebszellen, sondern töten alle sich schnell teilenden Zellen. In diesem Sinne ist klassische Chemotherapie also das komplette Gegenteil einer zielgerichteten und personalisierten Therapie.

Andere Themen

Wir haben gelernt, dass bei Krebszellen das Genom oft erheblich umgestaltet wird, auch durch Duplikationen von grossen Chromosomensegmenten und Translokationen. Diese werden ja in einer klassischen Resequenzierung nicht erfasst. Lässt sich bereits abschätzen, wie gross der Effekt solcher Veränderungen sind?

Das stimmt so nicht ganz. Strukturellen Veränderungen des Genoms können auch mit Resequenzierungsdaten erfasst werden, aber Sie haben recht, dass diese Erfassung mit second-Generation Methoden nicht ganz trivial ist. Bei Krebspatienten bei denen man strukturelle Mutationen vermutet setzt man daher oft zusätzlich zur Sequenzierung Hochdurchsatz Mappingmethoden wie die BioNano Technologie (siehe Unterlagen aus der Bioanalytik Vorlesung) ein. Die „Grösse“ einer Mutation hat dabei einen relativ geringen Einfluss darauf wie schwerwiegend der Phänotyp wird. Eine einzige Punktmutation, z.B. in einem Tumorsuppressorgen, kann wesentlich schwerwiegendere Folgen haben als die Translokation eines mehrere Millionen Basen langen Chromosomenabschnitts.

Irgendwann müssen neue Medikamente/Methoden am lebenden Menschen getestet werden - können sich dann Krebskranke quasi freiwillig melden oder wie wird das gehandhabt? Und wie sieht das ganze rechtlich aus?

Neue Medikamente werden in der Regel zunächst an Patienten getestet, die eine sehr schlechte Prognose haben. Man sucht für erste Tests also nach Patienten, die so krank sind, dass sie sehr bald sterben würden, die aber durch das neue Medikament vielleicht doch noch eine neue Chance hätten. Diese Patienten melden sich für solche Tests freiwillig und die Tests finden nur nach Bewilligung durch eine Ethikkommission und unter Beaufsichtigung durch sogenannte Trial Monitoring Organisationen statt. Nur wenn diese ersten Tests erfolgreich waren und keine schlimmen Nebenwirkungen aufgetreten sind, werden diese Studien ausgedehnt. Rechtlich problematisch wird das Ganze dann, wenn Patienten durch falsche Informationen oder nicht erlaubte Anreize zur Teilnahme an diesen Studien bewegt werden.

Gibt es schon klinische Erfolge der Krebsbehandlung mit CRISPR/Cas, respektive gibt es fundamentale Probleme, welche die Krebsbehandlung mit dieser Methode erschweren?

Das grundlegende Problem einer Krebstherapie mittels CRISPR/Cas besteht darin, dass man alle Krebszellen treffen muss um den Krebs erfolgreich zu bekämpfen. Man müsste also die sgRNA und das Cas9 Gen gezielt in alle Krebszellen einschleusen. Dies ist derzeit technisch noch nicht wirklich gelöst.

Wieso sind Menschen so anfällig für Krebs? Wieso hat die Evolution nicht gegen Störungen des Zellzykluses selektioniert? Kann es auch zur gegenteiligen Störung kommen, dass nämlich sich Zellen nicht zu viel, sondern zu wenig teilen? z.B. durch gain-of-function der Tumorsuppressorgene.

Selektion basiert auf der Verringerung der Chancen von Individuen ihre Genvarianten an Nachfahren weiterzugeben und findet in der Regel über hunderte Generationen statt. Da Krebs vornehmlich in einem Alter auftritt in dem die Reproduktion bereits lange abgeschlossen ist und auch in einem Alter in dem, historisch gesehen, die meisten Menschen ohnehin schon lange tot waren, würde man auch keinen starken selektiven Effekt auf Genvarianten erwarten welche Krebs zulassen.

Die „gegenteilige Störung“ wäre die Seneszenz der Zellen, die ja der natürliche Endpunkt des Zelllebens ist. Eine Zelle die sich nicht mehr teilt verursacht ja eigentlich auch keine Probleme, vorausgesetzt es gibt Nachbarzellen die weiterhin normal funktionieren und die diese Funktion übernehmen können.

Was bedeutet genau, dass die Genomsequenzen als auch die Genexpressionsdaten sehr konsistent seien? Haben Sie die gleiche Basenpaarabfolge? Sind nicht viele Tumore unterschiedlich im Genom? Oder bezeichnet man diese kleinen Unterschiede zwischen gleichen Tumoren als konsistent?

In den beiden Studien gab es Überschneidungen zwischen den Patientengruppen. Die Tumore einiger Patienten wurden also in beiden Studien untersucht. Für diese Proben kann man die Resultate der beiden Studien miteinander vergleichen. Dabei stellte sich heraus, dass die Genotyp- und Expressionsdaten, die für denselben Tumor bestimmt wurden, über die beiden Studien hinweg gut miteinander übereinstimmten.

Wird jeder benigne Tumor ein maligner Tumor über die Zeit?

Nein.

Wie hoch sind in etwa die Kosten für die Bestimmung des genauen Krebstypen inkl. der Organoidkulturen? Und wird dies von der Krankenkasse bezahlt?

Gegenwärtig ist die Nutzung von Organoidkulturen zur Bestimmung der besten Medikamente noch im Stadium der klinischen Forschung. Die Kosten werden also im Augenblick durch Forschungsfördermittel abgedeckt.

Die Diskussion um Kostenrückerstattungen durch Krankenkassen hat aber bereits begonnen. Die Herausforderung liegt hier, wie in anderen stark personalisierten Behandlungen auch, darin den Beweis zu erbringen, dass diese Behandlungsmethoden effektiv sind. Traditionell findet diese Beweisführung über grosse klinische Studien statt, in denen alle Patienten mit der exakt gleichen Methode behandelt werden. So kann man dann einen statistischen Zusammenhang zwischen der Behandlung und einem positiven Effekt der Behandlung „beweisen“. Bei personalisierten Behandlungsmethoden ist diese statistische Beweisführung aber, *per definitionem*, nicht möglich.

Warum kann man Krebszellen wie im Quiz vorgeschlagen nicht mit crispr cas manipulieren?

Kann man machen, das Problem ist aber, dass man alle Krebszellen in einem Körper erreichen und diese dann auch alle erfolgreich modifizieren muss, und dies ist mit der gegenwärtigen Technologie noch nicht möglich.