

Früherkennung von Asbest-verursachten Lungen- und Pleuratumoren

Entwicklung von neuen epigenetischen Biomarkern im Rahmen der Sekundärprävention



Georg Johnen, Thomas Behrens, Thomas Brüning

Minimal-invasive Methoden zur Früherkennung von beruflich bedingten Tumoren bieten eine Chance, die Therapiemöglichkeiten und damit den Therapieerfolg zu verbessern. Dies gilt insbesondere für die nachgehende Vorsorge von Versicherten, die in der Vergangenheit gegenüber krebserzeugenden Gefahrstoffen exponiert waren. Aus einem mit Mitteln der Forschungsförderung der DGUV mitunterstütztem Projekt liegen nun erste vielversprechend Ergebnisse zu neuen Biomarkern aus der Ebene der Epigenetik (DNA-Methylierung) vor. Diese könnten nach entsprechender Validierung potenziell für die Früherkennung von beruflich bedingten Lungentumoren und Pleuramesotheliomen eingesetzt werden.

Nach Berechnungen des Robert Koch Instituts wurden für 2014 ungefähr 56.000 Lungenkrebs-Neuerkrankungen in Deutschland vorhergesagt (RKI 2013). Lungenkrebs gehört damit zu den häufigsten Krebserkrankungen in Deutschland. Auch im Bereich der beruflich bedingten Krebserkrankungen dominieren die Tumoren der Atemwege. Zu den Ursachen zählt insbesondere eine Exposition gegenüber Asbest (Cassidy et al. 2006). Im Jahr 2014 wurde bei etwa 800 Beschäftigten eine Berufskrankheit (BK 4104, 4114) im Zusammenhang mit einem asbestbedingten Lungentumor neu anerkannt. Auch die Zahl der beruflich bedingten, durch Asbest verursachten Mesotheliome (BK 4105) ist aktuell mit rund 1.000 pro Jahr neu anerkannten Berufskrankheiten weiterhin auf einem sehr hohen Niveau (DGUV-Statistiken für die Praxis 2014).

Früherkennung hilft tumorbedingte Mortalität zu reduzieren

Für die arbeitsmedizinische Vorsorge betroffener Risikokollektive ist es essentiell, durch regelmäßige Untersuchungen mit geeigneten diagnostischen Methoden eine Früherkennung von Lungen- und Pleuratumoren zu ermöglichen. Ziel ist dabei, die Tumoren in einem so frühen Entwicklungsstadium zu diagnostizieren, dass die

Behandlungschancen optimiert und die tumorbedingte Mortalität reduziert wird. Im Rahmen eines erweiterten Vorsorgeangebotes kann bei Versicherten mit einem besonders erhöhten Risiko für die Entstehung eines bösartigen Lungentumors bereits die hochauflösende Niedrig-Dosis-Computer-Tomographie (LD-HRCT) im Rahmen der Tumorfrüherkennung zum Einsatz kommen. Aufgrund verschiedener offener Fragen und der mit der Untersuchung verbundenen zusätzlichen Strahlenbelastung kann die LD-HRCT-Untersuchung derzeit allerdings nur für bestimmte Hochrisikogruppen empfohlen werden (Hagemeyer et al. 2012, Wiethage et al. 2014). Die Analyse von Biomarkern, zum Beispiel auf Basis nicht- oder minimalinvasiv gewonnener Speichel- oder Blutproben, könnte hier zukünftig eine wichtige Ergänzung zu radiologischen Verfahren darstellen.

Eignung von Biomarkern für die Früherkennung

Biomarker sind natürliche, körpereigene Stoffe, die bei einer Erkrankung verändert werden bzw. in erhöhten oder erniedrigten Mengen im Körper nachweisbar sind. Hierzu zählen beispielsweise Moleküle wie Proteine oder Nukleinsäuren (DNA, RNA). Für ihren Nachweis können in der Regel einfache Testverfahren entwickelt

werden. Die Eignung von Biomarkern für die Früherkennung beruflich bedingter Krebserkrankungen wird über ein dreistufiges Verfahren ermittelt (Abb. 1). In der ersten Phase (Entdeckungs- oder „Discovery“-Phase) werden durch Vergleich von Proben Erkrankter mit Proben von gesunden Kontrollen neue Biomarker-Kandidaten entdeckt. In der zweiten Phase erfolgt dann die Verifizierung der ersten Ergebnisse mit unabhängigen Messverfahren und mit einer unabhängigen Gruppe von Erkrankten und Kontrollen. Dabei sollten die Marker für die praktische Anwendung optimaler Weise in leicht zugänglichen Körperflüssigkeiten nachweisbar und einfach anzuwenden sein. Erfolgreich verifizierte Biomarker müssen abschließend in der dritten Phase in einer prospektiven Studie mit zu Studienbeginn gesunden Probanden validiert werden. Hier wird dann getestet, ob sie in der Lage sind, Frühstadien von beruflich bedingten Krebserkrankungen mit ausreichender Spezifität und Sensitivität zu erkennen. Für diese Validierungsphase ist eine Biobank mit Proben eines Hochrisikokollektivs, in dem entsprechende Erkrankungen gehäuft auftreten, entscheidend.

DGUV fördert Projekt zu proteinanalytischen Verfahren

Das von der DGUV unterstützte Projekt „Entwicklung proteinanalytischer Verfahren zur Identifikation von Kandidatenmarkern zur Unterstützung der (Früh-)Diagnose asbestassoziierter Lungen- und Pleuratumoren“ setzt in der Biomarker-Entwicklung der Phasen 1 und 2 an. Ziel ist die Entdeckung und Verifizierung von neuen Markern für die Anwendung bei der Früherkennung von Lungenbeziehungsweise Pleuratumoren. In der ersten Förderstufe lag der Schwerpunkt des Projektes auf der ersten Phase, der Entdeckung neuer Marker, und fokussierte auf die Ebene der Proteine und der Epigenetik sowie die Etablierung biospektroskopischer Nachweisverfahren.

Die Projektumsetzung erfolgte durch das vom Land NRW geförderte Forschungskonsortium PURE (Protein research Unit Ruhr within Europe), an dem auch das IPA und Forschungsgruppen der Ruhr Universität Bochum beteiligt sind, in Kooperation mit der Ruhrlandklinik und dem Universitätsklinikum Essen.

Projekt liefert vielversprechende Hinweise auf neue Biomarker

Unter Koordination des Wissenschaftlich-Epidemiologischen Studienzentrums (WESZ) von PURE konnten im Rahmen des Projektes rund 900 Patienten mit verschiedenen Lungentumoren bzw. Mesotheliomen sowie nicht an Krebs erkrankte Kontrollprobanden aus der Allgemeinbevölkerung rekrutiert werden. Neben vielfältigen Biomaterialien wurden dabei auch umfangreiche Interviewdaten gewonnen, qualitätsgesichert aufbereitet und in eine Biobank aufgenommen.

Die Analyse der Proben erfolgte auf verschiedenen methodischen Plattformen mit molekularbiologischen und biophotonischen Ansätzen. Die jetzt abgeschlossenen Untersuchungen ergeben dabei zahlreiche vielversprechende Hinweise auf neue Biomarker für den Einsatz in der Früherkennung von Lungen- und Pleuratumoren.

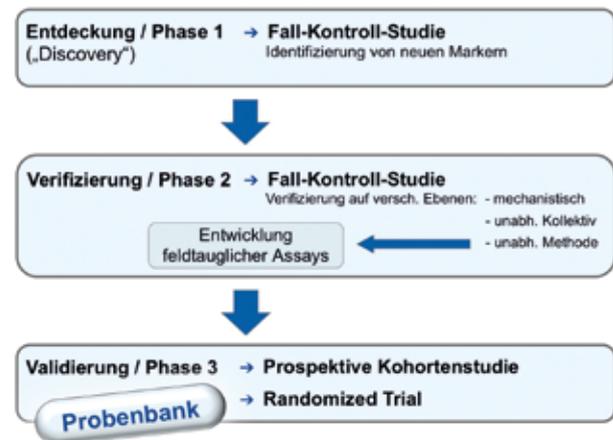


Abbildung 1: Die drei Phasen der Biomarker-Entwicklung

Die Bedeutung der Epigenetik

Ein molekularbiologischer Ansatz für die Entwicklung von Biomarkern ist die Epigenetik. Sie befasst sich mit der Regulation von Genen und Proteinen, die bei Krebs charakteristisch verändert sein können. Hierbei spielt unter anderem die DNA-Methylierung eine wichtige Rolle. Die DNA-Methylierung ist eine biochemische Modifizierung der Erbsubstanz DNA, die nicht die Abfolge der Basen, also den genetischen Code, betrifft. Vielmehr reguliert sie die Ein- und Ausschaltung von Genen (Johnen et al. 2013). Die DNA-Methylierung ist aufgrund ihrer Robustheit und guten Nachweisbarkeit grundsätzlich sehr gut geeignet, als Quelle feldfähiger Biomarker zu dienen. Das am IPA etablierte moderne Verfahren des MBD-Seq (Methylation Binding Domain Sequencing) beruht auf einer DNA-Sequenzierungs-Methode der nächsten Generation (next generation sequencing) und erlaubt dadurch einen sehr hohen Durchsatz an (epi)genetischen Informationen. Die Methode ermöglicht die schnelle Analyse des gesamten Genoms eines Tumors, um durch Krebs veränderte Methylierungsstellen zu detektieren. Im Rahmen des Projektes konnten so in Proben von Lungentumor-Patienten über 800 Biomarker-Kandidaten identifiziert werden. In weiterführenden Schritten wurden zudem bereits sechs der neuen Biomarker-Kandidaten mit einer unabhängigen Methode verifiziert und in Plasma- und Speichelproben von Tumorpatienten bestimmt. Dabei zeigte sich, dass die Methylierungsmarker insbesondere in den einfach zu gewinnenden Speichelproben von Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungentumoren gut nachzuweisen sind. In der Gruppe von Patienten mit kleinzelligen Tumoren erwiesen sich dagegen Plasmaproben als besser geeignet. In einem ähnlichen Ansatz wurden auch in Geweben von Mesotheliompatienten zahlreiche veränderte Methylierungsstellen gefunden.

Verifizierung der Biomarker-Entwicklung

Mit dem erfolgreichen Abschluss der Discovery-Phase in der ersten Förderphase kann sich nun die geplante zweite Phase zur Verifizierung der Biomarker-Entwicklung anschließen. Diese soll mit unabhängigen Methoden an einem unabhängigen Patienten-Kollektiv durchgeführt werden. Die neuen Marker aus verschiedenen

Beruflich bedingte Krebserkrankungen durch Asbest

BK 4104: Lungenkrebs oder Kehlkopfkrebs

- in Verbindung mit Asbeststaublungerkrankung (Asbestose),
- in Verbindung mit durch Asbeststaub verursachten Erkrankungen der Pleura oder
- bei Nachweis der Einwirkung einer kumulativen Asbestfaserstaub-Dosis am Arbeitsplatz von mindestens 25 Faserjahren

BK 4105: Durch Asbest verursachtes Mesotheliom des Rippenfells, des Bauchfells oder des Perikards

BK 4114: Lungenkrebs durch das Zusammenwirken von Asbestfaserstaub und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen bei Nachweis der Einwirkung einer kumulativen Dosis, die einer Verursachungswahrscheinlichkeit von mindestens 50 Prozent nach der Anlage 2 entspricht

molekularen Ebenen (Epigenetik, Proteine etc.) können hierbei in Multimarker-Panels zusammengestellt werden, um die Empfindlichkeit der Tumordiagnostik noch zu verbessern. So lassen sich durch den interdisziplinären Ansatz Synergien für die Verbesserung der Biomarker-Performance nutzen.

Sobald sich Multimarker-Panels in leicht zugänglichen Körperflüssigkeiten wie Blut und Speichel nachweisen lassen, können diese in der dritten Phase in einer prospektiven Studie validiert werden. Hier bietet sich beispielsweise die MoMar-Studie des IPA an. Nach



Das am IPA etablierte MBD Sequencing ermöglicht die schnelle Analyse des gesamten Genoms eines Tumors, um durch Krebs veränderte Methylierungsstellen zu erkennen.

erfolgreicher Validierung könnten dann für die arbeitsmedizinische Vorsorge einfache und für die Versicherten nicht belastende Marker-Tests für die Sekundärprävention zur Verfügung gestellt werden. Diese Tests können dann z. B. auch radiologische Verfahren wie die LD-HRCT-Untersuchung sinnvoll ergänzen.

Die Fortführung des Projektes mit der Verifizierung neu identifizierter Marker stellt einen großen Schritt in Richtung der Anwendung von Biomarkern in der arbeitsmedizinischen Praxis dar.

Dieser Beitrag ist gleichlautend auch in der Zeitschrift DGVU-Forum (Ausgabe 12/2015) erschienen.

Beitrag als PDF



Die Autoren
Prof. Dr. Thomas Behrens
Prof. Dr. Thomas Brüning, Dr. Georg Johnen
 IPA

Literatur

1. RKI: Krebs in Deutschland 2009/2010. Häufigkeiten und Trends. 9. Ausgabe. Robert Koch Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg), Berlin, 2013
2. Cassidy A, Myles JP, Liloglou T, Duffy SW, Field JK: Defining high-risk individuals in a population-based molecular-epidemiological study of lung cancer, *Int J Oncol* 2006; 28: 1295-1301
3. Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung: DGVU-Statistiken für die Praxis 2014. Berlin, 2015
4. Hagemeyer O, Behrens T, Johnen G, Merget R, Pallapies D, Taeger D, Wiethage T, Brüning T: Krebsfrüherkennung verspricht bessere Heilungschancen. Bedeutung der Low-Dose-Mehrzeilen-Volumen-HRCT in der Lungenkrebsfrüherkennung. *IPA-Journal* 2012; 02: 12-16
5. Wiethage T, Harth V, Duell M, Mannes E, Hagemeyer O, Taeger D, Johnen G, Brüning T: Erweitertes Vorsorgeangebot für asbestverursachte Erkrankungen - Low-Dose HRCT-Untersuchung zur Früherkennung von Lungentumoren, *IPA-Journal* 2014; 02: 12-16
6. Johnen G, Rozynek P, Brüning T: Epigenetik und Biomarker – Welche Rolle können epigenetische Marker bei der Sekundärprävention spielen? *IPA-Journal* 2013; 03/2013: 20-23