

Das 1993 von der Zeitschrift "Science" zum Molekül des Jahres auserkorene p53 Molekül stellt eine zentrale Schaltstelle für das Wachstum von Zellen dar, was unter anderem dadurch offenbar wird, dass in 50 % aller Krebserkrankungen ein nicht-funktionelles p53 gefunden worden ist. Im folgenden Beitrag soll über die sensible und vielschichtige Regulation dieses Wachstumssuppressorproteins berichtet werden.

Das Wachstumssuppressorprotein p53 - Von der Grundlagenforschung bis zur klinischen Anwendung

Mechanismen der Krebsentstehung

Das Wachstum oder die Proliferation von Zellen findet nach Verlassen einer Ruhephase (G_0 -Phase) in Form eines streng regulierten Prozesses statt, in dem die exakte Verdopplung der Erbinformation (DNA - Synthesephase) der eigentlichen Teilung der Zelle in zwei genau gleiche Tochterzellen vorausgeht (Mitosephase). Diese beiden Phasen sind getrennt durch „Zwischenphasen“ (G_1 - und G_2 -Phase), in denen die Bereitstellung der für die Progression benötigten Proteine erfolgt. Nach Beendigung der Mitosephase kann die Zelle in eine neue G_1 -Phase eintreten oder zur Differenzierung in die G_0 -Phase übergehen. (Abb.1)

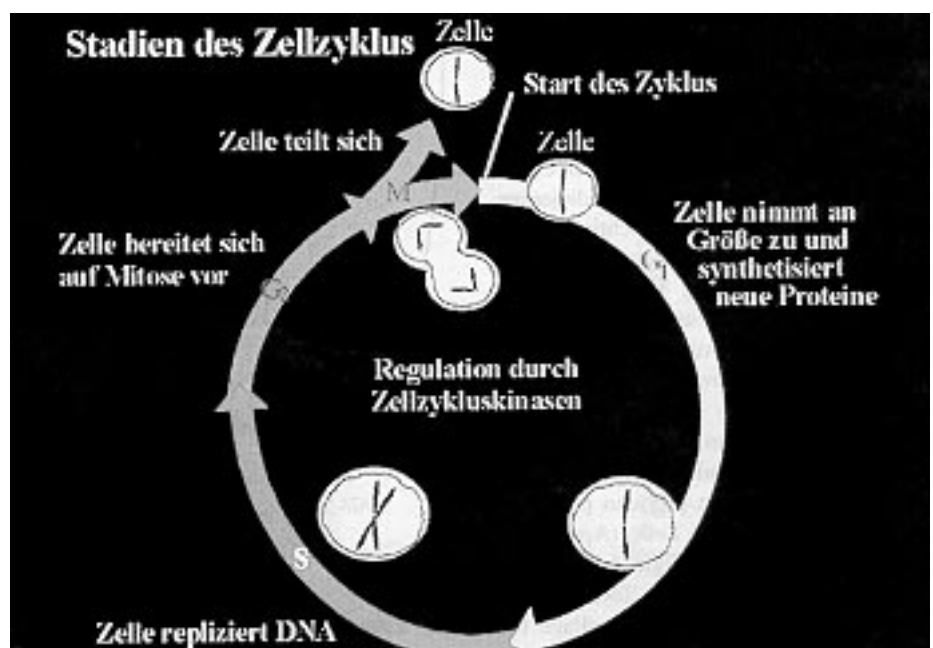
Die Koordination all dieser Prozesse unterliegt einer strengen Überwachung, die sich in Form sog. „check points“ manifestiert, an denen sich die Zelle versichert, ob eine weitere Progression durch den Zellzyklus sinnvoll ist. An zwei Punkten in der G_1 - und der G_2 -Phase wird die Integrität der DNA überprüft. In diesem Zusammenhang wird in der G_2 -Phase auch überprüft, ob die DNA - Synthese (Replikation) vollständig abgelaufen ist. Ein weiterer „check-point“ befindet sich in der M-Phase; hier wird die Funktionsfähigkeit des mechanischen Mitoseapparates (Mitosespindel, Centrosomen) getestet. An diesen Punkten kann im Falle eines negativen Ergebnisses der Zellzyklus unterbrochen werden. Während der Zellzyklus einen autonomen Prozess darstellt, kann er darüber hinaus in positiver oder negativer Weise von exogenen Faktoren beeinflusst werden. In einer normalen Zelle ist das Gleichgewicht zwischen die-

sen wachstumsfördernden und wachstumshemmenden Faktoren ausgewogen. Die Zelle wird wachsen und sich teilen, wenn dies für den Gesamtorganismus erforderlich scheint, sobald die Wachstumsphase (z.B. bei der Organbildung) abgeschlossen ist, wird sie in eine Ruhephase eintreten und sich auf ihre zukünftigen Funktionen spezialisieren. Man bezeichnet diesen Vorgang als Differenzierung. Eine entartete Zelle gehorcht diesen Regulationsmechanismen nicht mehr. Sie teilt sich unbeeinflussbar weiter und befindet sich in einem weitgehend undifferenzierten Stadium. Die Ursache für dieses unregulierte Verhalten sind oft Mutationen in zwei Klassen von Regulatorgenen, den sog. Oncogenen und Wachstumssuppressorgenen.

Oncogene und Wach- stumssuppressorgene

Grundsätzlich gibt es zwei Wege, auf denen Mutationen zu der für Krebs charakteristischen, unkontrollierten Zellteilung führen können. Der erste besteht darin, ein wachstumsstimulierendes Gen zu überaktivieren, so dass das resultierende Genprodukt in der Zelle dauernd (konstitutiv) vorhanden ist und die Zelle zum Wachstum anregt. Alternativ können diese Gene durch Translokationen und Fusion mit anderen Genen zu Proteinen mit völlig neuen Eigenschaften führen. Derartige „gain of function“-Mutationen sind domi-

Abb. 1: Phasen des Zellzyklus. S: DNA - Synthesephase, M: Mitosephase, G_1 , G_2 : Zwischen- („gap“-) Phasen.



nant und es genügt somit, wenn eine der beiden Genkopien in der Zelle verändert ist. Man bezeichnet diese Gene als Oncogene und die dazugehörigen unveränderten Gene als Proto-Oncogene. Zu den Oncogenen gehören z.B. die Gene *myc*, *ras*, *sis* oder *erb-A* und deren Genprodukte. Die zweite Möglichkeit besteht darin, ein wachstumshemmendes Gen zu inaktivieren. Derartige „loss of function“-Mutationen sind rezessiv, und es müssen beide Genkopien der Zelle mutiert werden oder das unveränderte Allel verloren gehen, damit sich die Mutation auswirken kann. Zu den bekanntesten dieser Wachstumssuppressorgene gehören das Retinoblastomgen Rb und p53. In vielen Tumoren hat man Mutationen finden können, die Auswirkungen auf die Funktionalität der entsprechenden Regulatorproteine haben, wobei die Mutationen in Oncogenen oder Wachstumssuppressorgenen nur eine der letzten Ursachen in der multifaktoriellen Genese von Krebs darstellen.

Das Wachstums-suppressorprotein p53 - Ein historischer Überblick

Das Wachstumssuppressorprotein p53 ist ein Beispiel für wiederholte wissenschaftliche Irrtümer. Ursprünglich (1979) wurde p53 im Komplex mit einem viralen Tumorantigen des Affenvirus SV40 entdeckt und man nahm an, dass es ein virales Protein sei. Nachdem geklärt war, dass p53 kein virales Protein ist, erhielt es den Namen NVT (nicht - virales Tumorantigen). Mit dem Begriff Antigen wollte man andeuten, dass dieses Protein in geeigneten Tieren nach Immunisierung eine Immunantwort auslösen kann und dass dann Antikörper gegen p53 gebildet werden. Anfang der 80er Jahre gelang es einigen Arbeitsgruppen, mit p53 Zellen zu transformieren. p53 wurde daher folgerichtig in die Klasse der Onkogene eingeordnet. Dann erfolgte die Lokalisation auf zwei verschiedenen Chromosomenregionen, wovon sich nur diejenige auf Chromosom 17p13.1 als richtig erwies. Gegen Ende der 80er Jahre häuften sich Berichte, die die Vermutung nahelegten, dass p53 wohl eher ein Wachstumssuppressor als ein Onkoprotein ist. Aufgrund vielfältiger Befunde der letzten Jahre wurde p53 mit dem Attribut „Wächter des Genoms“ versehen, u.a. weil Mäuse ohne ein funktionelles p53 in sehr jungem Alter multiple Tumore entwickeln. Ferner reguliert p53 den programmierten Selbstmord einer Zelle (Apoptose), um auf diese Weise geschädigte Zellen daran zu hindern, den Schaden an Tochterzellen weiterzugeben und damit die Grundlage für eine Krebsentstehung zu legen.

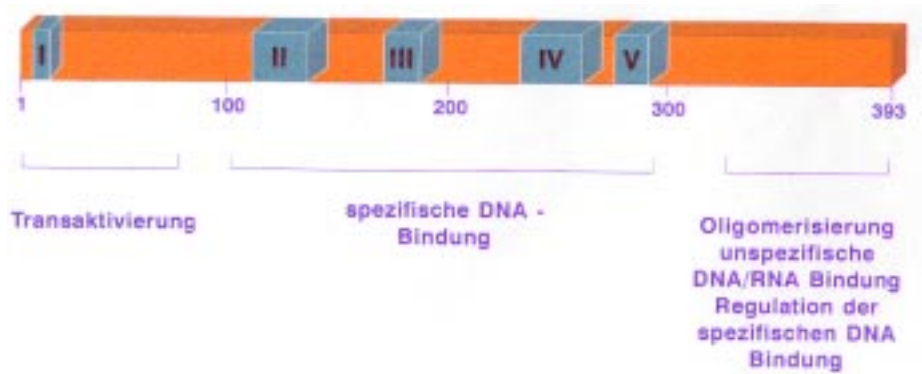
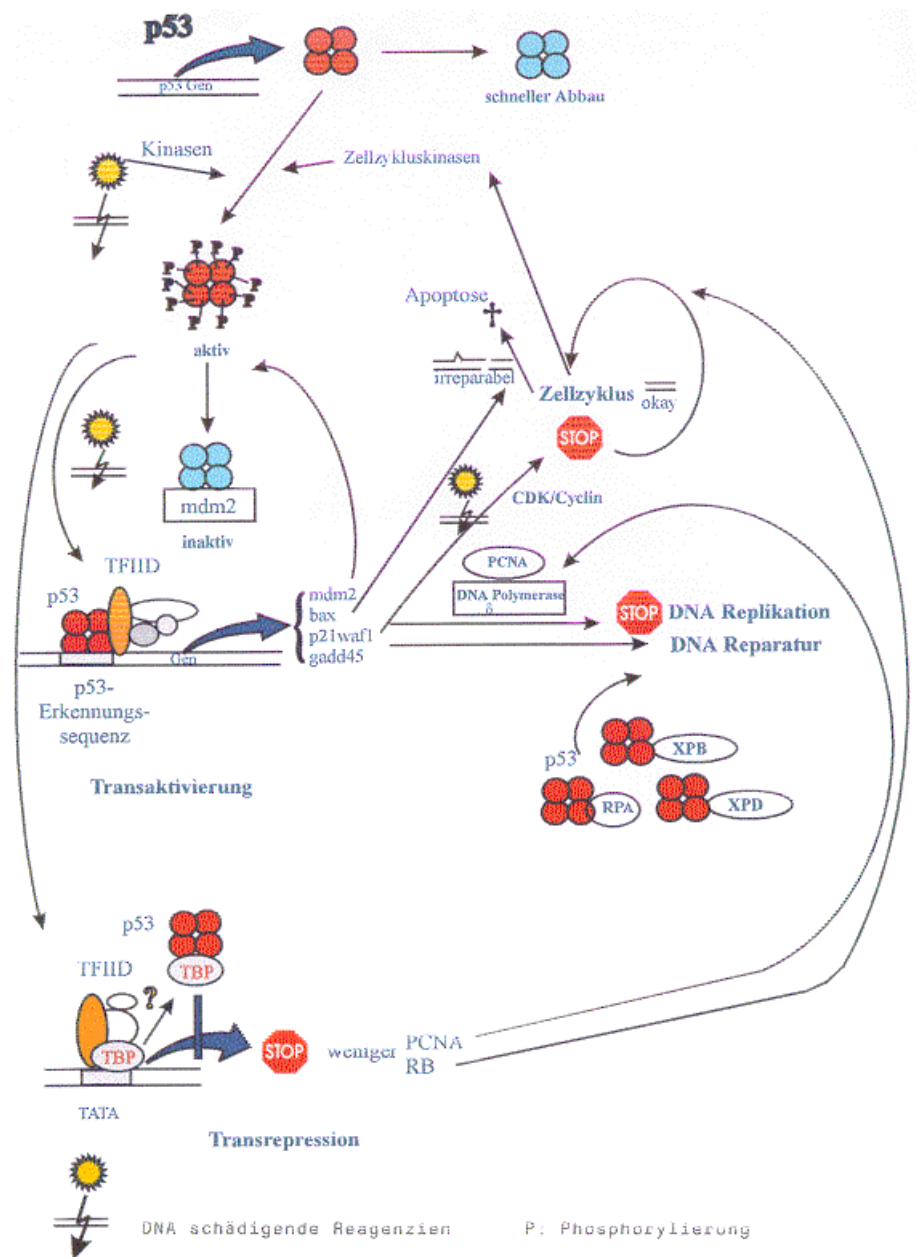


Abb. 2: Funktionelle Domänen auf der Polypeptidkette des p53 Wachstumssuppressors. Eingezeichnet sind ebenfalls die hoch konservierten Regionen (Boxen I - V).

Abb. 3: Überblick über die vielfältigen Aktivitäten von p53, die es im Falle einer Stabilisierung nach DNA - Schädigung in Gang setzt (aus: Dissertation Dr. A. Prowald, Saarbrücken 1997).



Charakterisierung des p53 Proteins

Das humane p53 ist ein Protein aus 393 Aminosäuren, das in der SDS - Gelelektrophorese bei einem Molekulargewicht von 53 kDa läuft. Auf der Polypeptidkette des p53 unterscheidet man verschiedene Domänen, denen man unterschiedliche Funktionen zuordnen kann (Abb. 2). Der N - terminale Bereich zwischen Aminosäuren 1 - 42 hat einen sauren Charakter und zeigt Transaktivierungseigenschaften, d.h. durch Interaktion dieses Bereiches mit der Transkriptionsmaschinerie ist p53 in der Lage, die Transkription bestimmter Gene zu veranlassen. Dazu muß p53 aber zunächst an die entsprechenden Promotoren der abzulesenden Gene binden können. Diese Fähigkeit, an bestimmte Promotorsequenzen binden zu können, beherbergt p53 in seiner zentralen Domäne (AS 102 - 292).

Wie wichtig diese Fähigkeit für die Funktionen von p53 ist, lässt sich daraus ableiten, dass man in vielen Tumoren mit einem funktionsuntüchtigen p53 Mutationen an ausgewählten Aminosäuren in dieser Region findet. Um seine Aktivitäten entfalten zu können, muss p53 als Tetramer vorliegen. Die Oligomerisierungsdomäne, die eine Assoziation von vier einzelnen p53 - Molekülen zu einem aktiven Komplex ermöglicht, liegt zwischen AS 324 - 355. Wichtig für die positive oder negative Regulation der Funktionen von p53 ist schließlich die C - terminale Domäne. Diese Domäne, die einen basischen Charakter hat, ist in der Lage, unspezifisch an DNA und RNA zu binden. Über Modifikationen in dieser Region kann die sequenzspezifische DNA - Bindungsaktivität der zentralen Domäne positiv reguliert werden. Der C - Terminus katalysiert darüber hinaus auch die Verknüpfung von Einzelstrang - DNA oder - RNA zu Doppelsträngen und scheint spezifisch an geschädigte DNA binden zu können. Neben der Einteilung nach funktionellen Domänen, kann man auf der Polypeptidkette auch eine Einteilung nach stark konservierten Einheiten vornehmen. Diese Domänen, die sich beim Vergleich von p53 aus verschiedenen Spezies durch einen starken Homologiegrad auszeichnen, bezeichnet man als Boxen I - V. Gerade in diesen Regionen hat man in p53 aus verschiedenen Tumorarten viele Mutationen finden können.

Das p53 Protein besteht nicht nur aus der nackten Aminosäuresequenz, sondern einige dieser Aminosäuren zeigen diverse Modifikationen. p53 ist ein stark phosphoryliertes Protein, wobei sich die phosphorylierten Aminosäuren im N - und im C - terminalen Bereich konzentrieren. Im C - terminalen Bereich hat man darüber hinaus auch eine Glykosylierung feststellen können. An einer C-termina-



	Phosphorylierung an Aminosäure	Wirkung
CK1	9	?
DNA PK	15,37	?
cdk7/CyclinH	33	?
MAPK, Raf, JNK1	N-Terminus	Stabilisierung des Proteins (?)
cdk1, cdk2	315	Kernlokalisierung (?), Aktivierung der DNA - Bindung
PKC	378	Aktivierung der DNA Bindung
CK2	392	Aktivierung der DNA Bindung

Abb. 4: p53 ist ein Phosphoprotein. Dargestellt sind die Stellen, die von den angegebenen Kinasen phosphoryliert werden können, sowie die mutmaßlichen Effekte dieser Modifikationen.

len Aminosäure ist zudem RNA kovalent gebunden, wobei die Bedeutung dieser RNA - Bindung bislang noch unklar ist. Über diese Modifikationen werden auch einige Funktionen - wie z.B. die der DNA - Bindung - reguliert. p53 besitzt in der Polypeptidkette mehrere Kernlokalisierungssignale, die dafür sorgen, dass p53 in den Kern transportiert wird, wo es seine Aktivitäten entfalten kann. Unter bestimmten Bedingungen kommt p53 aber auch im Cytoplasma oder im Nucleolus von Zellen vor.

Funktionen von p53

Eine zentrale Funktion des p53 ist seine Fähigkeit, an DNA zu binden und über diese Bindung, die Expression zahlreicher Gene zu regulieren (Abb. 3). Die über p53 regulierten Genprodukte sind an Prozessen der Signaltransduktion, der Regulation des Wachstums oder der DNA - Replikation und der DNA - Reparatur beteiligt und in Mechanismen involviert, die den programmierten Selbstmord der Zelle regulieren. Darüber hinaus interagiert p53 mit Proteinen, die wiederum an Prozessen der Regulation der Genexpression beteiligt sind, so dass p53 damit einen indirekten Einfluß auf die DNA - Bindung anderer Proteine hat. Funktionen von p53 lassen sich am besten in geschädigten oder gestressten Zellen nachweisen. Im Normalfall liegt p53 wegen seiner kurzen Halbwertszeit (ca. 20 min) nur in sehr geringen Konzentrationen vor. Im Falle einer DNA Schädigung, bei Verarmung des Nucleotidpools oder bei hypoxischen Zuständen wird p53 stabilisiert und akkumuliert in der Zelle. Das aktivierte p53

kann nun auf verschiedene Art und Weise in den Zellzyklus eingreifen, um die Zelle davor zu bewahren, unter ungünstigen Umständen zu proliferieren oder Schäden weiterzugeben. p53 transaktiviert ein 21 kDa großes Protein, das als WAF1 (wild type p53 activated fragment), CIP1 (cdk inhibitory protein), SDI1 (senescent cell derived inhibitor) oder CAP20 (cdk associated protein) bezeichnet wird. Dieses Protein bindet an verschiedene cdk/Cyclin - Komplexe und inhibiert diese in ihrer Aktivität. Da die cdk für die Progression des Zellzyklus unentbehrlich sind, kommt es zu einem Stillstand im Zellwachstum, zu einem Zellzyklusarrest. p53 ist wahrscheinlich an einem Arrest am G₂/M Übergang, ganz sicher jedoch an einem Arrest am G₁/S - Übergang beteiligt. Am G₂/M - Übergang („Spindel - checkpoint“) kommt es zu einem p53 abhängigen Arrest, wenn der für die Verteilung der Chromosomen notwendige Spindelapparat funktionsuntüchtig ist. Der weit wichtigere Arrest findet jedoch am „DNA - damage“ checkpoint am Übergang von der G₁ - in die S - Phase statt. Durch Inhibition der entsprechenden Kinasen kommt es zu einem G₁ - Arrest, der darauf beruht, dass wegen der fehlenden Kinaseaktivität wichtige Transkriptionsfaktoren durch ein Wachstumssuppressorprotein (Rb) in einer inaktiven Form gehalten werden.

Die Dauer dieses Arrestes kann nun dazu genutzt werden, DNA - Schäden zu reparieren. Auch hier ist p53 involviert, indem es die Synthese einiger Proteine fördert, die für die Reparatur von DNA - Schäden unentbehrlich sind (GADD45) oder durch direkte Bindung des Proteins aktiviert (ERCC 1 - 3). Wenn die Reparatur der DNA fehlschlägt oder der

Schaden für eine Reparatur zu groß ist, kann p53 auch einen anderen Mechanismus in die Wege leiten, um schädliche Konsequenzen für den Gesamtorganismus so klein wie möglich zu halten: die Apoptose, den genetisch kontrollierten Selbstmord der betroffenen Zelle, der ohne entzündliche Nebenreaktionen abläuft. Es gibt Hinweise aus einigen Zelllinien, dass p53 diesen Mechanismus selbstständig vermitteln kann. In einer anderen zellulären Umgebung kann p53 jedoch ein System aus antagonistisch wirkenden Proteinen regulieren. Es unterdrückt die Synthese eines Apoptose - inhibierenden Proteins (bcl-2) und fördert die Transkription eines Apoptose - fördernden Proteins (bax). Indem es so das Gleichgewicht zugunsten des Apoptoseinduktors verschiebt, treibt es die Zelle in den Selbstmord. Durch diese vielfältigen Mechanismen kann p53 auf mehreren Ebenen verhindern, dass Zellen trotz DNA - Schäden weiter wachsen, diese Mutationen an Tochterzellen weitergeben und so die Basis für eine Tumorigenese legen. Aufgrund dieser Fähigkeiten des Wachstumssuppressorproteins p53 wird es seinem Titel „Wächter des Genoms“ mehr als gerecht.

Regulation der Aktivitäten von p53

Aus den oben dargelegten Funktionen von p53 wird ersichtlich, dass dieses Protein sehr sensibel reguliert werden muß. Es muß im Schadensfall sehr schnell aktiviert werden können, muss aber, wenn das zelluläre Geschehen wieder in normalen Bahnen verläuft, auch wieder inaktiviert werden können. Prinzipiell gibt es mehrere Wege, den Aktivitätsstatus eines Proteins zu beeinflussen: post-translationale Modifikationen, Interaktion mit anderen Proteinen sowie unterschiedliche Lokalisationen in der Zelle.

Posttranslationale Modifikationen

p53 stellt ein Phosphoprotein dar (Abb. 4), dessen Phosphorylierungsstatus zellzyklusabhängig reguliert wird. Die Phosphorylierungsstellen liegen in einer N- und einer C-terminalen Domäne; die Enzyme, die die Phosphorylierungen vornehmen, sind größtenteils bekannt. Die Phosphorylierungen im N - terminalen Bereich scheinen an der Stabilisierung des Proteins beteiligt zu sein. Nach DNA - Schädigung werden z.B. sog. SAP - Kinasen (stress - aktivierte Proteinkinasen) aktiviert, die Phosphorylierungen im N-terminalen Bereich des p53 vornehmen und es so stabilisieren. Im C - terminalen Bereich sind drei Phosphorylierungsstellen cha-

rakterisiert. Ser 315 wird von einer cyclinabhängigen Kinase (cdk2 oder cdk1) phosphoryliert, Ser 378 von der Proteinkinase C (PKC) und Ser 392 von der Proteinkinase CK2. Durch alle Phosphorylierungen können die DNA Bindungseigenschaften des p53 günstig beeinflusst werden. Einen ähnlichen Effekt auf die DNA Bindungseigenschaften haben auch andere Modifikationen im C-Terminus oder die Interaktion mit einem p53 - spezifischen Antikörper. Welche von diesen Modifikationen in vivo die DNA Bindung positiv beeinflussen kann, ist bislang noch nicht geklärt. Während Aminosäuren im N - Terminus schnell phosphoryliert und wieder dephosphoryliert werden können, also eine schnelle Veränderung des Aktivitätsstatus ermöglichen, zeichnen sich die C-terminalen Phosphorylierungsstellen eher durch eine langsame „turnover“ - Rate aus.

Interaktion mit zellulären Partnern

p53 interagiert mit einer Reihe zellulärer und viraler Proteine und wird durch diese auch in seinen Aktivitäten stark beeinflusst (Abb.5). p53 ist ursprünglich aufgrund seiner Fähigkeit entdeckt worden, an das Simian Virus 40 T-Antigen zu binden. Durch diese Bindung wird p53 inaktiviert. Daneben gibt es eine Reihe anderer viraler Proteine (wie z.B. Proteine, die von Adenoviren, Epstein-Barr-Viren oder humanen Papillomviren kodiert werden), die p53 binden und inaktivieren können bzw. einem vorzeitigen Abbau zuführen können. Weit wichtiger für das normale Geschehen sind jedoch Interaktionen mit zellulären Partnern. Dazu gehören Proteine



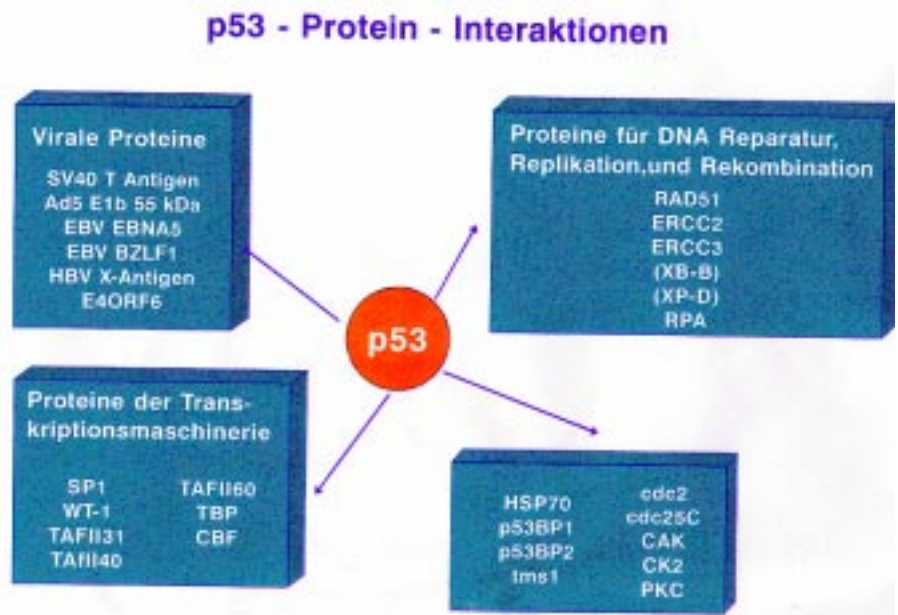
Professor Dr. Mathias MONTENARH, 47 Jahre alt, studierte von 1968 bis 1972 an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Chemie. Er promovierte 1976 in Anorganischer Chemie und wechselte 1977 als wissenschaftlicher Mitarbeiter an die Abteilung Biochemie der Universität Ulm. Von 1980 bis 1986 war er Hochschulassistent am gleichnamigen Institut. 1985 habilitierte er sich für das Fach Biochemie und übernahm 1986 eine C2-Professur für Biochemie an der Universität Ulm. Von 1990 bis 1992 Vertreter einer C-3 Professur am gleichen Institut und seit 1992 Professur für Biochemie in der Fachrichtung Medizinische Biochemie der Universität des Saarlandes.

Arbeitsschwerpunkte: Untersuchungen über Virus-Wirtszellinteraktionen am Beispiel SV40 infizierter Zellen. Signaltransduktionsmechanismen nach Virusinfektionen ruhender Zellen, Protein-Protein-Interaktionen des Wachstumssuppressorproteins p53 mit zellulären Proteinen, Untersuchungen der Regulationsmechanismen der Zellproliferation unter besonderer Berücksichtigung von Proteinkinasen und Phosphatasen, Bedeutung von Autoantikörpern gegen p53 und assoziierter Proteine als prognostischer Faktor bei Tumorerkrankungen.

Mitglied und im Vorstand des Sonderforschungsbereichs 399 "Molekularbiologie der Proliferation", Sprecher des Graduiertenkollegs "Zelluläre Regulation und Wachstum".

der Transkriptionsmaschinerie (z.B. TBP, TAFII60, TAFII40, TAFII31, SP1) oder Proteine, die für DNA - Reparatur (ERCC),

Abb. 5: Zusammenstellung der bislang bekannten Interaktionen von p53 mit viralen und zellulären Proteinen.



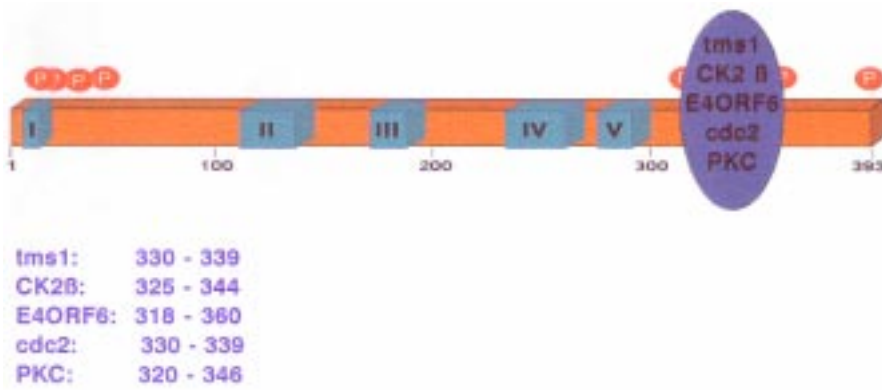


Abb. 6: Eine Multiproteinbindungsdomäne von p53.

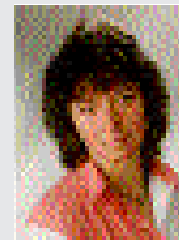
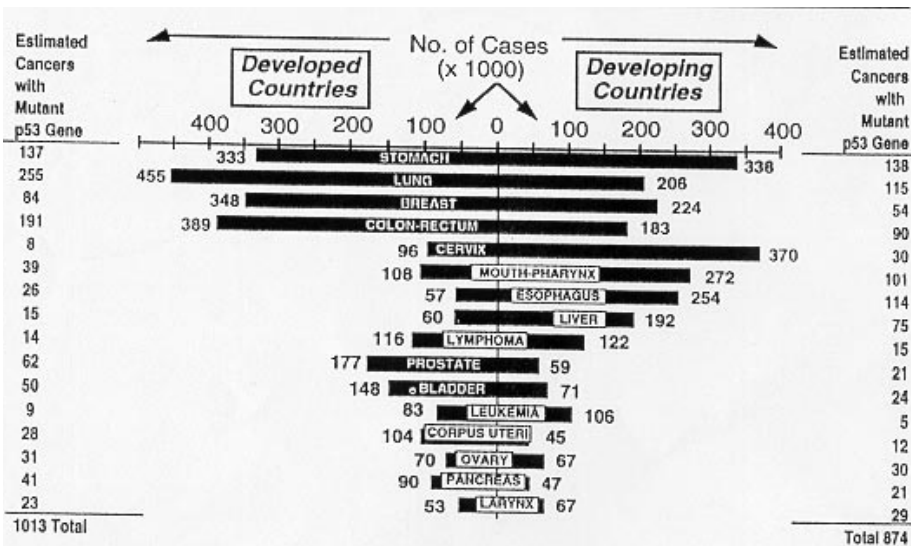
DNA - Replikation (RPA) oder Rekombination (RAD51) verantwortlich sind. Inwieweit die Funktionen dieser Proteine oder die des p53 durch die Bindung beeinflusst werden können, ist bislang noch nicht bekannt. Weit mehr Informationen hat man zur Interaktion des p53 mit dem mdm2 - Protein. mdm2 wird von p53 transaktiviert, bindet an p53 und inaktiviert das p53 durch Blockade seiner Transaktivierungsdomäne. Es gibt neuere Hinweise, dass das mdm2 überdies die schnelle Degradation des p53 fördert. Dieser autoregulatorische Rückkopplungsmechanismus stellt somit eine elegante Möglichkeit der Regulation von Aktivitäten des p53 dar.

Wir beschäftigen uns schon seit einigen Jahren mit der Interaktion von p53 mit einigen zellzyklusrelevanten Molekülen. p53 wird nicht nur von der Proteinkinase CK2 phosphoryliert und in seinen DNA - Bindungseigenschaften beeinflusst, sondern bindet auch an dieses Enzym. Die Proteinkinase CK2 stellt eine ubiquitär vorkommende Ser/Thr - Kinase dar, die aus zwei katalytischen α - und zwei regulatorischen β -Unter-

einheiten besteht. Sie bildet zusammen mit der CK1 eine eigenständige Familie, ist aber wohl aufgrund struktureller und funktioneller Eigenschaften sehr nahe mit den cyclinabhängigen Kinasen (cdk) verwandt. Ihre Aufgabe in der Zelle ist noch weitgehend unentdeckt, sie spielt aber wohl eine nicht zu unterschätzende Rolle für das Wachstum von Zellen. In unserer Arbeitsgruppe wurde vor einigen Jahren herausgefunden, dass p53 aus Säugerzellen zusammen mit einer Kinase coimmunpräzipitiert werden kann. Diese Kinase ist in späteren Experimenten als Proteinkinase CK2 identifiziert worden. Von der Enzym-Substrat-Bindung muss man eine Interaktion zwischen p53 und der regulatorischen Untereinheit unterscheiden, die offenbar Einfluss auf die Funktionen beider Proteine hat. Die Bindungsregionen beider Proteine auf der Polypeptidkette des jeweiligen Bindungspartners sind lokalisiert. Sie liegt auf Seiten der regulatorischen β -Untereinheit zwischen Aminosäuren 70 und 150 und auf Seiten des p53 zwischen Aminosäuren 325 - 344 für die Interaktion mit dem Holoenzym. Für die freie β - Untereinheit - die auch in die-

ser Form in der Zelle vorkommt - scheint sich eine etwas davon unterschiedliche Region herauszukristallisieren. Die Bindung zwischen CK2 und p53 führt zu einer Stimulation der Phosphotransferaseaktivitäten bezüglich des mdm2 - Proteins, wobei wir im Moment die Auswirkung dieser Phosphorylierung auf die oben erwähnte Komplexbildung untersuchen. Auf der anderen Seite werden durch die Bindung von CK2 an p53 die DNA - Bindungseigenschaften des p53 beeinflusst. In Gegenwart des CK2-Holoenzym werden die DNA Bindungseigenschaften positiv beeinflusst, während die freie β - Untereinheit die DNA Bindung von p53 völlig inaktiviert. Diese Beobachtungen, die zunächst in einem DNA „band - shift“ - assay gemacht wurden, konnten mittlerweile auch in Transaktivierungsassays mit Reportergenkonstrukten bestätigt werden. Möglicherweise stellt die Region im C-Terminus von p53 eine Multiprotein-bindungsdomäne dar, denn nicht nur die CK2 β - Untereinheit, sondern auch die p34^{cdc2} - Kinase und möglicherweise auch die cdc25C - Phosphatase können an diese Regionen binden, wobei die Bedeutung dieser Interaktionen in diesen Fällen noch ungeklärt ist (Abb. 6). p53 ist in der Lage, auch an die cdk aktivierende Kinase cdk7/Cyclin H über die regulatorische Untereinheit zu binden, eine Kinase, die neuesten Erkenntnissen zufolge das p53 auch an Ser 33 phosphorylieren kann. Diese vielfältigen Interaktionen stellen vielleicht eine weitere Möglichkeit dar, wie die wachstumssupprimierenden Eigenschaften von p53 reguliert werden können.

Abb. 7: Häufigkeit von Mutationen im p53 Gen in verschiedenen Krebsarten in Industrie- und Entwicklungsländern (aus: C.C. Harris in Carcinogenesis 17: 1187 - 1198 (1996)).



Dr. Claudia GÖTZ, geb. 1963, nahm 1982 das Studium der Biologie an der Universität des Saarlandes auf. Sie schloß das Biologiestudium 1988 mit einer Diplomarbeit über den „Nachweis des Cadmium-bindenden Phosphoglykoproteins Cadmium-My-

cophosphatin in Pilzen mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie“ unter Leitung von Prof. Dr. H.-U. Meisch ab. Von 1988 - 1992 fertigte sie mit einem Stipendium der Graduiertenförderung ihre Doktorarbeit mit dem Titel „Untersuchungen zur Charakterisierung und Trennung von Humanlymphozyten aufgrund unterschiedlicher Sialinsäureausstattung“ in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. H. Faillard, Fachrichtung Pharmazie und Biologische Chemie, an.

Von 1992 bis heute ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin bzw. - seit Nov. 1997 - als Hochschulassistentin in der Fachrichtung Medizinische Biochemie, Homburg, tätig. Die Arbeitsschwerpunkte liegen auf dem Gebiet der Regulation von Proteinkinase CK2 und deren Interaktion mit zellulären Proteinen.

Subzelluläre Lokalisation von p53

p53 ist normalerweise im Zellkern einer Zelle lokalisiert. In einigen Tumorzellen (Mammakarzinom, Neuroblastom, Colonkarzinom und in malignen Melanomen) konnte p53 jedoch überwiegend im Cytoplasma lokalisiert werden. Damit hat dieses p53 keine Gelegenheit mehr, an bestimmte Abschnitte der DNA zu binden und damit die Aktivität von Genen zu regulieren. Dies bedeutet ein Verlust von Wachstumssuppressoreigenschaften und die Zelle kann unkontrolliert wachsen. In Zusammenarbeit mit Mitarbeitern der Urologischen Klinik konnten wir p53 in Prostatakarzinomzellen im Nukleolus nachweisen. Mit zwei unterschiedlichen Antikörpern konnten zwei verschiedene Formen von p53, eine im Nukleolus und eine zweite im Zellkern der gleichen Zelle detektiert werden. Die funktionelle Konsequenz einer nukleolären Lokalisation von p53 ist noch unklar.

Die Rolle von p53 in der Tumordiagnostik

Aus den bisherigen Beschreibungen geht klar hervor, dass p53 eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Zellwachstums spielt. p53 Veränderungen können zu einem veränderten Zellwachstum führen. Es ist daher nicht verwunderlich, dass schon seit einiger Zeit Veränderungen des p53 in humanen Tumorzellen eine große Bedeutung zugeschrieben werden. Mehr als 10000 verschiedene Tumore sehr unterschiedlicher Art wurden auf p53 Mutationen untersucht. Die Häufigkeit solcher Mutationen schwankt von einem Tumortyp zum anderen, sie liegt insgesamt gesehen in

der Größenordnung von etwa 50% in nahezu allen Tumorarten (Abb. 7).

Eine Untersuchung der Beziehungen zwischen dem Vorliegen von p53 Mutation und verschiedenen klinischen Parametern hat ergeben, dass ein Zusammenhang besteht zwischen p53 Mutationen und einer schlechten Prognose z.B. bei Darmtumoren und Brustkrebs. Je nach dem an welcher Stelle im Genom eine bestimmte Mutation auftritt, kann auf die Ursache der Tumorentstehung geschlossen werden. So treten z.B. ganz charakteristische Mutationen bei p53 von Lungenkrebstumoren auf, die eindeutig auf Tabakrauch zurückgeführt werden können. Im Falle von Leberkrebs können charakteristische Mutationen nachgewiesen werden, die auf Aflatoxin B, das Gift eines Schimmelpilzes zurückgeführt werden können. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass p53 Mutationen in der Keimbahn auftreten können und dass diese Mutationen an nachfolgende Generationen weitergegeben werden (Li - Fraumeni - Syndrom). Solche betroffenen Familien zeigen ein gehäuftes Auftreten von Tumoren in nahezu allen Familienmitgliedern in allen Generationen.

Neben einer für den klinischen Routinealltag doch sehr aufwendigen Genanalyse hat sich in der klinischen Praxis die immunhistochemische Analyse der p53 Proteinexpression im Tumorgewebe etabliert. Ein erhöhter Spiegel von p53 im Tumorgewebe weist in vielen Fällen auf das Vorliegen einer Mutation im p53 Gen hin und ist in vielen Fällen eine schlechte Prognose für den weiteren Krankheitsverlauf. Sowohl für die Genanalyse wie auch für die immun-histochemische Analyse des p53 wird Tumor- bzw. Gewebematerial benötigt, was sich in manchen Fällen z.B. zur Untersuchung des postoperativen Krankheits-

verlaufs als schwierig erweist. Daher hat sich eine weitere Diagnose-schiene etabliert, die ohne Tumor und Gewebematerial auskommt. Es zeigt sich seit Jahren zunehmend, dass Patienten mit Tumoren Antikörper gegen Onkoproteine und Wachstumssuppressorproteine entwickeln. So findet man bei zahlreichen Tumorpatienten auch Antikörper gegen p53. Das Auftreten von Antikörpern gegen p53 schwankt bei vielen Tumorerkrankungen sehr stark, wobei die Patienten, die ein mutiertes p53 im Tumormaterial aufweisen, auch häufiger Antikörper gegen p53 haben. Patienten mit Tumoren, bei denen selten Mutationen im p53 Gen auftreten, haben auch seltener Antikörper gegen p53. In allen bekanntesten Fällen ist das Auftreten von p53 Autoantikörpern mit einer schlechten Prognose für den weiteren Krankheitsverlauf verbunden. Es gibt einige wenige Fälle, bei denen p53 Autoantikörper nachgewiesen wurden, lange bevor ein Tumor mit konventionellen Methoden nachgewiesen wurde. Möglicherweise tut sich hier ein neues diagnostisches Potential vor allem für die Untersuchung von Personen auf, die beruflich cancerogenen Substanzen ausgesetzt sind.

Schlussbemerkungen

Das Wachstumssuppressorprotein p53 ist ein sehr aufregendes Molekül, das in der Grundlagenforschung neue Einblicke in die Regulation des Zellwachstums erlaubt. Darüber hinaus spielt das Molekül heute schon in der klinischen Diagnostik eine nicht mehr wegzudenkende Rolle. Dies hat dazu geführt, dass weltweit die Zahl der mit diesem Protein arbeitenden Gruppen explosionsartig zugenommen hat, was sich u. a. in mehr als 2000 Publikationen im Jahr 1997 niedergeschlagen hat.