

## Neue Wege in der Therapie der zystischen Fibrose?

Die zystische Fibrose (CF, OMIM [1] Einträge Nr. 219700 und 602421) ist das häufigste letale Erbleiden des Kindes- und Jugendalters. Diese monogenische Erkrankung wird durch Mutationen im sogenannten «cystic fibrosis transmembrane conductance regulator» (CFTR)-Gen verursacht. CFTR ist ein transmembranäres Protein, welches Chloridionen transportiert und daneben andere Chloridtransporter reguliert. Es ist in Epithelzellen des Respirations-, Gastrointestinal- und Genitaltraktes sowie der ekkrinen Schweißdrüsen exprimiert. Defekter

Chloridtransport verändert die Salz- und Wasserzusammensetzung der respiratorischen und intestinalen Sekrete und führt zur Bildung eines «eingedickten» Schleims; die Folgen davon sind chronische respiratorische Infekte mit konsekutiver Parenchymdestruktion (Bronchiektasen), exokrine und endokrine Pankreasinsuffizienz, chronische Pankreatitis, biliäre Zirrhose, Mekoniumileus und männliche Infertilität. Über 800 CFTR-Mutationen sind mittlerweile bekannt, aber in etwa  $\frac{2}{3}$  aller betroffener Allele findet man die sogenannte  $\Delta F508$ -

### Abbildung 1.

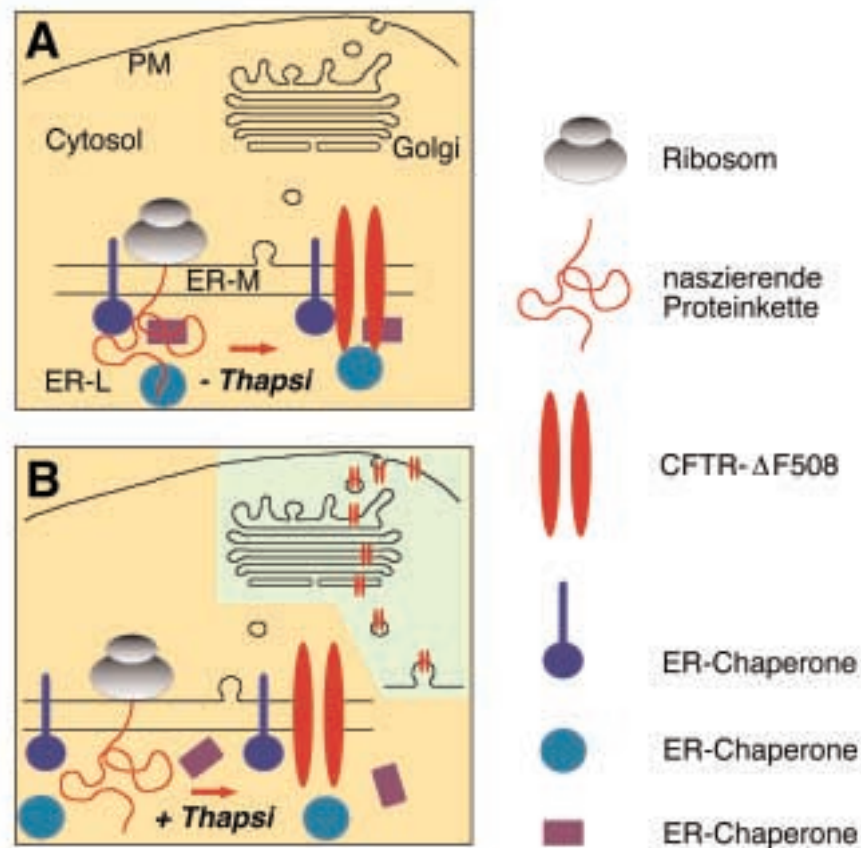
Wirkung von Thapsigargin auf den Membrantransport von CFTR- $\Delta F508$ .

PM: apikale Plasmamembran; ER-M: ER-Membran; ER-L: ER-Lumen.

**a. Qualitätskontrolle der Proteinfaltung durch ER-Chaperones.** Am Ribosom wird CFTR- $\Delta F508$  ins ER-Lumen hinein synthetisiert. In kalziumabhängiger Weise assoziiert das naszierende Protein mit membranständigen und lumenalen ER-Chaperone-Molekülen. Aufgrund der Mutation kann CFTR- $\Delta F508$  seine korrekte dreidimensionale Konformation nicht einnehmen; der Weitertransport zum Golgi-Apparat wird durch die persistierende Interaktion mit den Chaperones verhindert, und CFTR- $\Delta F508$  wird rasch durch das zytosolische Proteasom abgebaut (nicht dargestellt).

**b. Thapsigargin verhindert die ER-Qualitätskontrolle und erlaubt den Einbau von CFTR- $\Delta F508$  in die apikale Plasmamembran.**

Die Substanz bewirkt einen Abfall der ER-luminalen Kalzium-Konzentration. Die durch das ER zu bewerkstellende Qualitätskontrolle wird dadurch ineffizient; die fehlende Assoziation mit den Chaperones erlaubt den Weitertransport von CFTR- $\Delta F508$  von der ER-Membran über den Golgi-Apparat zur Plasmamembran (im grünen Feld verkleinert dargestellt). Dort ist das mutierte Protein funktionell aktiv.



Mutation (Deletion des Phenylalaninrestes an Position 508 im CFTR-Molekül). Nun weiss man aus vielen Studien, dass CFTR- $\Delta$ F508 aufgrund seiner fehlerhaften dreidimensionalen Struktur gar nie in die apikale Zellmembran, wo es eigentlich hingehört, eingebaut wird. Stattdessen wird das Molekül im endoplasmatischen Retikulum (ER) retiniert und rasch abgebaut. Dieses Zellorganell dient für alle sekretorischen Proteine einer Qualitätskontrolle, die nur korrekt gefaltete Moleküle passieren lässt (Abb. 1a). Den Dienst als Ordnungshüter im ER versieht eine Maschinerie von Proteinen, den sogenannten ER-Chaperones, welche mit dem naszierenden Protein assoziieren und es erst aus dieser Interaktion entlassen, wenn es die richtige Konformation eingenommen hat. Gelingt es nun in Zellkultur durch verschiedene experimentelle Tricks, CFTR- $\Delta$ F508 den ER-Chaperones zu «entreissen», so wird es wie das Wildtyp-Protein zur Zellmembran transportiert und in diese inseriert; dort funktioniert es trotz der Mutation als Chloridtransporter. Die funktionelle Kapazität von CFTR- $\Delta$ F508 bleibt also weitgehend erhalten; der Phänotyp der CF resultiert aus einem Transportdefekt. Diese Einsicht liegt der kürzlich publizierten Arbeit einer Forschungsgruppe der Yale-Universität zugrunde [2]. Da die Interaktion der ER-Chaperones mit den zu faltenden Proteinen von einer hohen Kalziumkonzentration im ER-Lumen abhängt, wurde der ER-Calciumpumpenblocker Thapsigargin eingesetzt. In Experimenten mit verschiedenen Zelllinien aus dem Respirationstrakt, die CFTR- $\Delta$ F508 exprimie-

ren, konnte nach Thapsigarginzugabe im Gegensatz zu unbehandelten Zellen elektro- und biochemisch wieder ein aktiver Chloridkanal bzw. eine Erhöhung der Chloridpermeabilität nachgewiesen werden (Abb. 1b). Mittels Immunfluoreszenz- und Westernblot-Experimenten wurde CFTR- $\Delta$ F508 in Thapsigargin-behandelten Zellen in der apikalen Zellmembran nachgewiesen. Homozygoten CFTR- $\Delta$ F508-Mäusen wurde Thapsigargin über ein bis zwei Wochen während mehreren Stunden täglich in Aerosolform zur Inhalation angeboten. Diese Tiere zeigten im Nasenepithel wieder eine erniedrigte Membranpotential-Differenz ähnlich Wildtyp-Kontrollen, während die unbehandelten CF-Mäuse deutlich höhere Werte aufwiesen. Auch im lebenden Organismus konnte also ein funktioneller Effekt der Therapie nachgewiesen werden. Natürlich ist damit über einen langfristigen Benefiz hinsichtlich der klinisch relevanten Parameter noch gar nichts ausgesagt. Thapsigargin wurde jedenfalls von den behandelten Mäusen ohne erkennbare Nebenwirkungen toleriert und die inhalative Darreichungsform ist klinisch gut praktikabel. Da die pulmonalen Komplikationen der CF prognostisch am bedeutsamsten sind, wird das Potential der hier demonstrierten Behandlung als gross eingeschätzt. Dies ist um so ermutigender, als der somatische Gensatz als andere kausale Therapiestrategie die erhofften Erfolge bisher nicht aufweisen konnte.

*J. Rutishauser, Basel*

1 Online Mendelian Inheritance in Man: [www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/)  
2 Egan ME, et al. Calcium pump inhibitors induce functional surface expression of  $\Delta$ F508-CFTR protein in cystic fibrosis epithelial cells. *Nature Medicine* 2002;8:485-92.