

# Molekulare Medizin

Barbara C. Biedermann

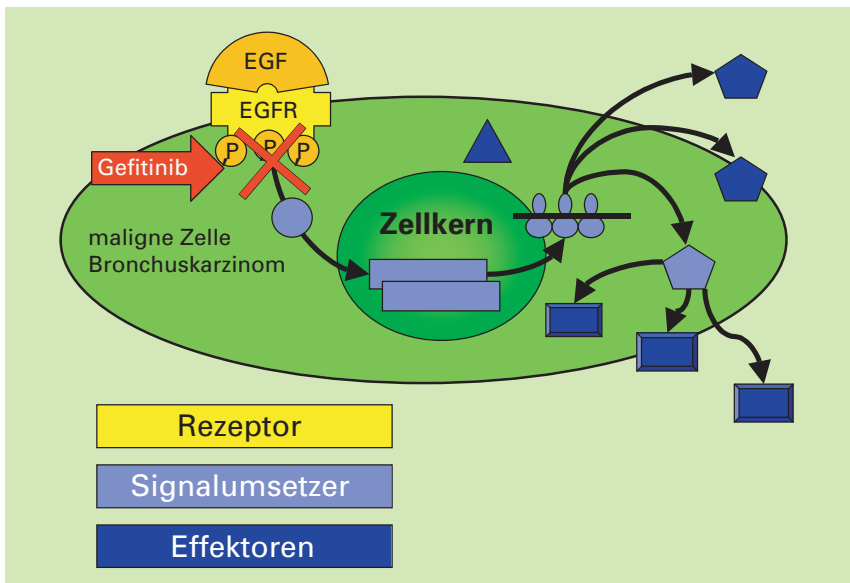
## Molekulare Physiologie und Medizin: «Human Genome Version 2.0»

Sie erinnern sich: Es ist noch nicht lange her, dass die Sequenz des menschlichen Genoms in zwei renommierten, wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlicht wurde. Die damalige Entwurfsversion umfasste 90% der Genomsequenz, enthielt 150 000 Lücken, und die Fehlerrate in der Nukleotidabfolge betrug 1 pro 10 000 Basen. Das Human-Genome-Projekt hielt die Fachwelt jedoch weiterhin in Atem. Es vergingen nur weitere drei Jahre, bis jetzt die praktisch vollständige Sequenz-Version des menschlichen Genoms zur Publikation vorgelegt wurde [1]. Diese Feinarbeit wurde durch das «International Human Genome Sequencing Consortium» an 20 Forschungszentren in 6 Ländern durchgeführt. Sie benötigte praktisch den gleichen Aufwand an Enthusiasmus und Material wie die erste Phase der Entwurfsarbeit, welche jedoch noch etwa viermal länger dauerte. Die aktuelle Ausgabe des menschlichen Genoms beschreibt mit 2 851 330 913 Nukleotiden 99% des euchromatischen Genoms, enthält nur noch 341 Lücken und ist zehnmal genauer als der Entwurf, d.h., die Fehlerrate beträgt nur noch 1 pro 100 000 Basen. Erst drei Genome: jenes der Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*), des Rundwurms (*Caenorhabditis elegans*) und der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*), wurden mit diesem hohen Präzisionsanspruch entschlüsselt. Sogenannte STS «sequence tagged sites», das sind über den ganzen Chromosomensatz verteilte Sequenzlandmarken (quasi Triangulations- oder Vermessungspunkte), bilden die Grundlage für die Kartographierung des menschlichen Genoms. Die Genomsequenz, die zwischen den einzelnen STS liegt, wird durch die systematische, bibliotheksartige Sammlung von klonierten Chromosomenfragmenten («artificial chromosomes») abgedeckt. Die heute noch fehlenden Stellen in der menschlichen Genomsequenz enthalten besonders viele Segmentduplikationen, welche die korrekte Aneinanderreihung der überlappenden, einzeln klonierten Chromosomenfragmente wegen der oft fehlenden Eindeutigkeit naturgemäss erschwert. So liegen beispielsweise 25% der Y-chromosomalen DNA in Form von Duplikationen vor. Der längste, solchermassen duplizierte DNA-Block umfasst 1 450 000 Basen und repetiert sich mit einer Genauigkeit von 99,97%. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, dass 5,3% des menschlichen Genoms (verglichen mit anderen

Genomen ist das sehr viel) in Form von repetitiven Sequenzduplikationen vorliegen. Dies hat Vor- und Nachteile. Im Bereich solcher Abschnitte kommt es besonders leicht zu Rearrangements und Deletionen. Das wiederum sind molekulare Ereignisse, die in der Medizin (wie z.B. bei der Tumorentstehung durch Chromosomenast Translokationen) einen hohen Stellenwert haben. Im Gegensatz zu diesen eher nachteiligen Eigenschaften ermöglichen aber Genvervielfachungen (im Rahmen von Sequenzduplikationen) erst die ungestörte DNA-Veränderung durch Mutation im duplizierten Gen. Dieser Prozess schafft also auch die Voraussetzungen für die Entwicklung neuer, unter einem entsprechenden Selektionsdruck vorteilhafter Gen-Funktionen und ist Voraussetzung für Evolution. Von den Autoren wird hier der Begriff der «Gen-Geburt» verwendet. Immerhin 1187 von den heute geschätzten 20 000 Genen des Menschen sind durch diesen Vorgang erst in der rezenteren Menschheitsgeschichte entstanden. Viele von diesen «neu geborenen» Genen spielen bei immunologischen Prozessen, beim Riechvermögen und bei der Fortpflanzung eine Rolle. Der Gen-Geburt wird der Gen-Tod gegenübergestellt. Nur 37 Gene sind in letzter Zeit (durch Funktionsverlust-Mutationen) aus dem menschlichen Genrepertoire verschwunden. Dass 10 davon wiederum am olfaktorischen System angreifen, zeigt, dass in unserer Entwicklungsgeschichte vermutlich nicht immer das Gleiche zum Himmel stank. Mit dieser bemerkenswerten Arbeit steht der Medizin nun eine wesentlich genauere Orientierungshilfe zur molekularen Kartographierung von Krankheiten zur Verfügung.

## Molekulare Medizin: «Vom Giesskannenprinzip zur individualisierten Therapie»

Wenn der unterschiedliche Verlauf von auf den ersten Blick gleichen Krankheiten bis hin zur molekularen Ursache verstanden und der Diagnose zugänglich gemacht wird, gelingt der gezielte Einsatz eines entsprechend wirksamen Heilmittels. Die «number needed to treat» wird klein. So geschehen bei der Behandlung von Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchuskarzinom mit Gefitinib, einem Tyrosinkinase-Hemmer (analog wirksam wie das berühmte STI571 oder Glivec®). Die klinische Prüfung dieses Medikamentes, welches die Aktivierung des EGFR



**Abbildung 1.**


Gefitinib ist, ähnlich wie Glivec®, ein Tyrosinkinase-Hemmer. Es verhindert durch gezielte Bindung an die Tyrosinkinasedomäne des «epithelial growth factor receptor» die Autophosphorylierung des intrazellulär gelegenen Rezeptoranteils an bestimmten Tyrosinresten. In den Tumorzellen der nicht kleinzelligen Bronchuskarzinome ist EGFR oft überexprimiert. Gefitinib wirkt jedoch nur bei jenen Tumoren gut, bei denen durch eine Mutation die Tyrosinkinasedomäne konstitutiv aktiviert wird.

Korrespondenz:  
PD Dr. med.

Barbara C. Biedermann  
Medizinische Universitätsklinik  
Kantonsspital  
CH-4101 Bruderholz  
[barbara.biedermann@unibas.ch](mailto:barbara.biedermann@unibas.ch)

#### Literatur

- 1 Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004;431:931–45.
- 2 Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129–39.

(«epithelial growth factor receptor») durch Auto-phosphorylierung verhindert (Abb. 1 )<sup>1</sup>), verlief zunächst enttäuschend. Remissionsrate und Überleben der betroffenen Patienten waren nicht besser als bei den mit Placebo Behandelten. Eine kleine Untergruppe von Patienten profitierte jedoch ausgesprochen gut von der Therapie mit dem Verum-Präparat. Die molekulare Charakterisierung des EGFR bei diesen Patienten zeigte, dass sie allesamt aktivierende Mutationen an der Tyrosinkinase-Domäne, d.h. am Angriffspunkt des Medikamentes Gefitinib, hatten [2, 3]. Die Autoren schlagen vor, Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchuskarzinom auf das Vorliegen dieser Mutationen im Tumorgewebe zu untersuchen, um ihnen das gut verträgliche Medikament nicht vorzuenthalten. Wie lange wird es wohl noch dauern, bis wir Patienten mit Diabetes mellitus, Osteoporose oder Depression so gezielt behandeln können?

- 3 Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497–500.

# Médecine moléculaire

Barbara C. Biedermann

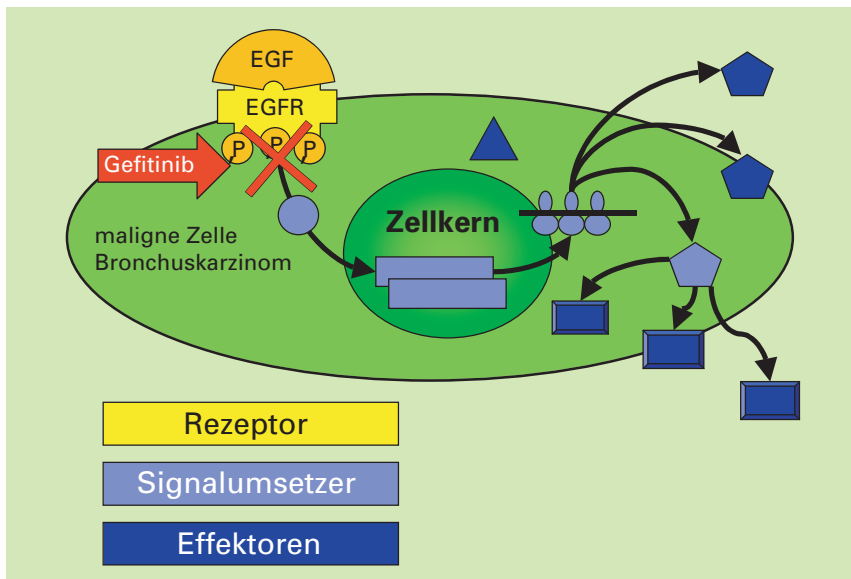
## Physiologie moléculaire: «Human Genome Version 2.0»

Vous souvenez-vous? Il n'y a pas si longtemps, la séquence du génome humain a été publiée en qualité d'ébauche dans deux revues spécialisées de renom. La version ébauche d'autrefois cernait 90% de la séquence génomique, contenait 150 000 lacunes et le taux d'erreur dans la suite des nucléotides était de 1 pour 10 000 bases. Le projet Human Genome continuait pourtant à tenir en haleine le monde scientifique. Il n'a fallu que trois années de plus pour que, maintenant, la version pratiquement complète de la séquence du génome humain soit soumise à publication [1]. Ce travail délicat a été exécuté par l'«International Human Genome Sequencing Consortium» dans 20 centres de recherches établis dans 6 pays différents. Il a nécessité le même enthousiasme et pratiquement le même investissement matériel que la première phase du travail d'ébauche, qui a pourtant duré environ quatre fois plus longtemps. La version actuelle du génome humain décrit 99% du génome euchromatique avec 2 851 330 913 nucléotides, ne contient plus que 341 lacunes et est dix fois plus exact que l'ébauche, c'est-à-dire que le taux d'erreur n'est plus que de 1 pour 100 000 bases. Seuls trois génomes ont été décodés avec une pareille exigence de précision; à savoir celui d'une petite brassicacae (*Arabidopsis thaliana*), d'un ver rond (*Caenorhabditis elegans*) et de la mouche des fruits (*Drosophila melanogaster*). Les indices de séquence répartis tout le long de la série chromosomique, dits STS «*sequence tagged sites*», quasi des points de triangulation ou de mensuration, forment la base de la cartographie du génome humain. La séquence de génome qui se trouve entre les différents STS est mise à jour par le recueil systématique, semblable à une bibliothèque, de fragments chromosomiques clonés («*artificial chromosomes*»). Les lieux qui manquent encore aujourd'hui dans la séquence du génome humain contiennent principalement de nombreuses duplications de segments, qui rendent difficile le rangement correct contigu des fragments chromosomiques de transition clonés isolément, en raison du fréquent manque d'univocité quant à la nature. Ainsi par exemple, 25% du DNA chromosomique Y se trouve sous forme de duplications. Le bloc de DNA dupliqué le plus long comprend 1 450 000 bases et se répète avec une exactitude de 99,97%. C'est ici l'occasion de dire que 5,3% du génome humain (c'est une très

grande proportion en comparaison avec d'autres génomes) se présente sous forme de duplications répétitives de séquences. Ceci a des avantages et des désavantages. Au niveau de telles tranches, les délétions et les réarrangements surviennent facilement. Il s'agit là d'événements moléculaires qui ont une grande importance en médecine (comme par exemple pour l'apparition des tumeurs à la faveur de translocations de branches chromosomiques). Mais au contraire de ces propriétés plutôt désavantageuses, les multiplications de gènes (dans le cadre de duplications de séquences) rendent possible la modification sans heurt du DNA par mutation au niveau du gène dupliqué. Ce processus crée aussi les conditions de base pour le développement de nouvelles fonctions géniques avantageuses sous une pression de sélection correspondante, donc représente la condition nécessaire de l'évolution. Les auteurs emploient ici l'expression «naissance génique». Toujours est-il que sur les quelque 20 000 gènes supputés de l'être humain, 1187 sont nés de ce processus seulement dans la plus récente ère de l'histoire de l'humanité. Bon nombre de ces gènes «nouveau-nés» ont joué un rôle dans les processus immunologiques, l'odorat et la reproduction. La naissance génique s'oppose à la mort génique. Seuls 37 gènes ont récemment disparus (par perte de fonction-mutations) du répertoire génique de l'être humain. Le fait que 10 d'entre eux se rapportent à nouveau au système olfactif, montre l'importance des odeurs dans l'histoire de notre développement. Avec cet important travail, la médecine dispose à présent d'une aide à l'orientation beaucoup plus exacte pour la cartographie des maladies.

## Médecine moléculaire: «du principe de l'arrosoir au traitement individualisé»

Lorsque l'évolution différente de maladies à première vue identiques peut être appréhendée jusque dans sa cause moléculaire, dont le diagnostic est ainsi rendu accessible, l'usage ciblé d'un agent thérapeutique correspondant devient efficace. Le «number needed to treat» devient petit. Ainsi en est-il advenu du traitement du cancer bronchique avec le gefitinib, un inhibiteur de la tyrosine-kinase (dont l'efficacité est analogue à celle du célèbre STI571 ou Glivec®). La mise à l'épreuve clinique de ce médicament, qui empêche l'activation de l'EGFR (epithelial growth



**Figure 1.**

Comme le Glivec®, le gefitinib est un inhibiteur de la tyrosine-kinase. Par liaison ciblée au domaine tyrosine-kinase de l'«epithelial growth factor receptor», il empêche l'autophosphorylation de la portion intracellulaire du récepteur, au niveau de certains restes tyrosine déterminés. L'EGFR est fréquemment sur-exprimé dans les cellules tumorales des carcinomes bronchiques. Cependant, le gefitinib n'agit bien que sur les tumeurs dans lesquelles les domaines tyrosine-kinase sont constitutionnellement activés par une mutation.

Correspondance:  
 PD Dr Barbara C. Biedermann  
 Medizinische Universitätsklinik  
 Kantonsspital  
 CH-4101 Bruderholz  
[barbara.biedermann@unibas.ch](mailto:barbara.biedermann@unibas.ch)

#### Références

- 1 Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 2004;431:931-45.
- 2 Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350:2129-39.

factor receptor) par autophosphorylation, se déroula d'abord d'une manière déroutante. Les taux de rémission et de survie obtenus avec cette substance n'étaient pas meilleurs qu'avec le placebo. Pourtant, un petit sous-groupe de patients profitèrent exceptionnellement bien du traitement avec la substance étudiée. La caractérisation moléculaire de l'EGFR chez ces patients montra qu'ils avaient tous des mutations activantes sur le domaine tyrosinekinase, c'est-à-dire au point d'attaque du médicament gefitinib [2, 3]. Les auteurs proposèrent de rechercher la présence de ces mutations dans le tissu tumoral des patients atteints de cancer bronchique, afin de ne pas manquer de donner, le cas échéant, ce médicament bien supporté et extrêmement efficace. Combien de temps faudra-t-il encore jusqu'à ce que nous puissions offrir un traitement aussi ciblé aux patients atteints de diabète sucré, d'ostéoporose ou de dépression?

*Traduction Dr B. Croisier*

- 3 Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-500.