

Träger des «Otto Naegeli-Preises» 2022

Thalidomid – Teufelszeug und Wundermittel?!

Nicolas H. Thomä, PhD

Molekularbiologie, Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research, Basel

Das Editorial zu diesem Artikel finden Sie auf S. 376–377 in dieser Ausgabe.

Einleitung

Das Molekül Thalidomid, auch unter dem Namen Contergan® oder Softenon® bekannt, wurde als Mittel gegen Übelkeit von der Firma Grünenthal im Jahre 1957 auf den Markt gebracht. Ursprünglich als Antibiotikum entwickelt, zeigte Thalidomid keine solche Aktivität. Auf der Suche nach Anwendungsbereichen fiel auf, dass Thalidomid bei einer Mehrzahl von Probandinnen und Probanden zu Schläfrigkeit führte. Während dieser sedierende Effekt sich nicht in Maus- oder Rattenexperimenten reproduzieren liess, zeigten diese Versuche jedoch, dass sehr hohe Konzentrationen von Thalidomid von den Tieren toleriert wurden. Das wiederum führte dazu, dass Grünenthal Thalidomid als Barbiturat vermarktete. Als Schlafmittel, das sich durch seine angebliche Sicherheit auch bei höheren Dosen auszeichnete und auch von schwangeren Frauen gegen Übelkeit genommen werden sollte. Das hatte fatale Folgen: Thalidomid, wenn mehrmals eingenommen, führte oftmals zu einer peripheren Neuropathie. Und schlimmer, Thalidomid im ersten Trimester der Schwangerschaft verabreicht, verursachte Fehlgeburten und Fehlbildungen, besonders bei der Entwicklung der Extremitäten des Embryos. Diese weitreichenden Geburtsdefekte, auch als Phokomelie bezeichnet, führten erst 1961 dazu, dass Thalidomid vom Markt genommen wurde. Zu diesem Zeitpunkt gab es mehr als ~10 000 Thalidomid-induzierte Fehlbildungen weltweit. Die Hälfte der betroffenen Individuen verstarb im Kindesalter.



Nicolas H. Thomä

Thalidomid, ein transformatives Therapeutikum für das Multiple Myelom

Obwohl Thalidomid eine der grössten medizinischen Katastrophen der Neuzeit verursachte, ist es heute zu einem wichtigen Baustein in der Krebstherapie geworden. Der Wirkmechanismus dieses Medikaments hat sich zudem als wegweisend für eine neue Generation von Therapeutika herausgestellt. Der Weg von Thali-

Otto Naegeli-Preis für die medizinische Forschung



Der «Otto Naegeli-Preis für die medizinische Forschung» wurde 1960 zum Andenken an den 1938 verstorbenen grossen Wissenschaftler und Lehrer für In-

nerne Medizin an der Universität Zürich, Professor Otto Naegeli, geschaffen. Der Preis gilt als einer der bedeutendsten wissenschaftlichen Preise der Schweiz. Er geniesst hohe internationale Anerkennung.

Der «Otto Naegeli-Preis» bezweckt die Förderung der medizinischen Forschung (biomedizinische Grundlagenforschung und klinische Forschung) und wird in der Regel alle zwei Jahre an Forschende in der Schweiz verliehen. Die Preissumme beträgt zurzeit 200 000 CHF. Mit dem Preis sollen auch jüngere Forschende zu weiteren Leistungen angeregt werden.

domid zurück in die Klinik führte über verschiedene Umwege. Im Jahre 1964 erwies sich Thalidomid als effektives Therapeutikum für Lepra-Erkrankte, die nach Sedierung mit Thalidomid Linderung bei einer Immunkomplikation von Lepra («Lepra-Knotenrose», auch Erythema nodosum leprosum [ENL]) erfuhren. Der Effekt von Thalidomid als Inhibitor von Tumornekrosefaktor-(TNF)- α führte daraufhin zu einem gesteigerten Interesse in der HIV/AIDS-Forschung und zu der Erkenntnis, dass Thalidomid auch die Bildung neuer Blutgefässe (Angiogenese) inhibiert. Der enge Zusammenhang von Angiogenese kombiniert mit der Notwendigkeit, Tumoren mit Blut zu versorgen, hatte wiederum die Suche nach Anwendungen in der Onkologie zur Folge. 1997 zeigte Thalidomid dann Wirkung in der Therapie des Multiplen Myeloms, besonders als Therapeutikum für das refraktäre Multiple Myelom, eine Krankheit, für die es zu diesem Zeitpunkt keine Therapie gab und die sonst innerhalb von Monaten zum Tode führte. Thalidomid und seine Derivate sind heute die erste Wahl in der Therapie des Multiplen Myeloms und des Chromosom-5qminus myelodysplastischen Syndroms (5qMDS). Diese Substanzklasse ist damit zu einem der wichtigsten Medikamente in der Blutkrebstherapie und zu einem der meistverkauften Krebstherapeutika weltweit geworden.

Umprogrammierung der zellulären Funktion der Degradationsmaschinerie

In den letzten sechzig Jahren haben sich diverse Theorien mit den möglichen molekularen Wirkmechanismen von Thalidomid beschäftigt. Der Durchbruch im Verständnis der Wirkungsweise begann 2010, angestoßen durch Arbeiten, die zeigten, dass Thalidomid an ein bis dato wenig charakterisiertes Protein mit dem Namen Cereblon (CRBN) bindet. CRBN ist Teil einer Ubiquitin-E3-Ligase. Diese Art von Enzym markiert Proteine, unter anderem, für den Verdau durch zelluläre Proteasen. Der Beitrag meiner Arbeitsgruppe waren die strukturelle Aufklärung der CRBN enthaltenen Ubiquitin-Ligase gebunden an Thalidomid und dessen Derivate sowie der molekulare Wirkungsmechanismus und die Regulation dieses Enzyms (Abb. 1).

Anhand dieser Daten war es möglich CRBN, Thalidomid und den Derivaten der zweiten Generation Pomalyst® und Revlimid® eine konkrete Rolle zuzuweisen. Die Strukturen zeigten, dass CRBN als Substratrezeptor fungiert und somit dasjenige Protein ist, das Proteinsubstrate an die Ligase heranführt, die dann für die Degradation markiert werden. Wie wir vorher gezeigt hatten, passierte Letzteres bei dieser Art von Cullin-4-Ligasen in der Regel vergleichsweise unspezifisch, sodass Proteine in der direkten Nähe von Substratrezeptoren durch Ubiquitin modifiziert und vom Proteasom abgebaut werden konnten.

Die überwältigende Mehrzahl von Therapeutika agiert als Inhibitoren, welche die enzymatische Funktion von Proteinen einschränken. Es ist wahrscheinlich, dass auch Thalidomid die Ligase davon abhält, ihr biologisches Substrat zu binden. Die Wirkungsweise von Tha-

lidomid in der Krebstherapie ist jedoch mit aller Wahrscheinlichkeit eine gänzlich andere. Wie die Arbeiten von meiner Gruppe und anderen zeigen, agiert Thalidomid als eine Art molekularer Kleber (engl.: «molecular glue»), der andere Proteine an die Oberfläche der Ubiquitin-Ligase klebt. Diese angeklebten Proteine werden dann ubiquitiniert und verdaut. Die Wirkung des Medikaments besteht daher darin, mithilfe von CRBN bestimmte Proteine in der Zelle abzubauen. In der Therapie des Multiplen Myeloms sind das die Transkriptionsfaktoren IKAROS und AIOLOS. Krebszellen sind auf die proliferierenden Eigenschaften dieser Transkriptionsfaktoren angewiesen. Die Wirksamkeit dieser Therapeutika in 5qMDS beruht jedoch wahrscheinlich auf dem Abbau eines anderen Proteins, der Casein-Kinase-alpha (CK1α), deren Degradation dann den Zelltod auslöst.

Thalidomid ist damit das erste international zugelassene Therapeutikum, das als molekularer Kleber und durch Degradation eines Zielproteins wirkt. Wie das im Detail funktioniert, wurde wiederum durch unsere Strukturaufklärung dieser Komplexe deutlich. Proteine, die von Thalidomid gebunden, an die CRBN-E3-Ligase rekrutiert und dann abgebaut werden, haben eine Art «Thalidomid-Degradations-Signatur». Diese Abfolge von Aminosäuren wird als Signal zur Degradation jedoch nur erkannt, wenn sowohl die Ligase, das Zielprotein als auch das Medikament in der Zelle vorhanden sind. Was dabei überraschend war ist, dass das Thalidomid, oder allgemeiner die niedermolekularen Kleber-Verbindungen, die Spezifität des zellulären Proteinabbaus umprogrammieren. Die Spezifität der Ligase für IKAROS, AIOLOS, CK1α etc. ist nur sichtbar, wenn Thalidomid oder dessen Derivate anwesend sind. Die biologischen Substrate der CRBN-Ligase sind jedoch andere Proteine.

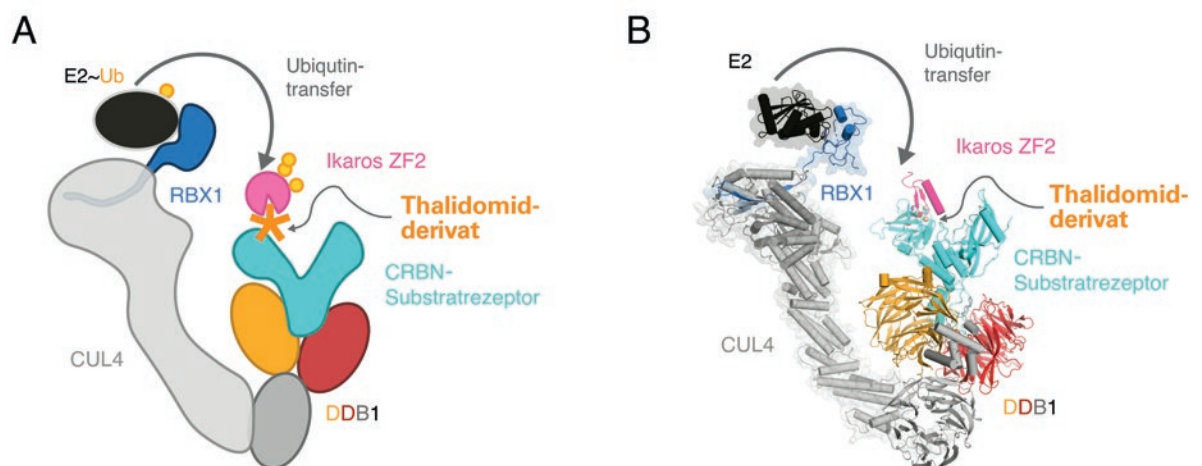


Abbildung 1: A) Schematische Darstellung; B) Strukturmodell. Das Neosubstrat, in diesem Fall Ikaros ZF2 (magenta), wird mithilfe des Thalidomidderivats (orange) an den CRBN-Substratrezeptor (hellblau) gebunden. Das Neosubstrat ist damit direkt gegenüber von RBX1 positioniert, was wiederum das Ubiquitin-konjugierende Enzym (E2) bindet. Der Ubiquitintransfer findet direkt zwischen E2 und dem Neosubstrat statt.

CRBN: Cereblon; CUL4: Cullin 4; DDB1: DNA damage-binding protein 1; RBX1: RING-box protein 1.

Eine neue Klasse von Therapeutika

In der Biologie ging man vorher davon aus, dass ein Substrat und ein Rezeptor wie Schlüssel und Schloss zusammenpassen. In Abwesenheit von Thalidomid passt der Schlüssel zwar ins Schloss (Zielproteine und die Ligase haben eine niedrig affine Bindung), jedoch öffnet der Schlüssel den Weg zur Degradation nur, wenn der richtige niedrigmolekulare Kleber auch anwesend ist. IKAROS, AIOLOS und CK1 α sind somit mehr oder weniger zufällige Neosubstrate, die nur mithilfe einer externen, niedermolekularen Verbindung degradiert werden. So ein Mechanismus wurde vorher für das Pflanzenhormon Auxin beschrieben. Dass ein zugelassenes und äusserst erfolgreiches Krebsmedikament bereits auf diese Art und Weise wirkt, war bis dahin jedoch ohne Präzedenz.

Das Wissen um den molekularen Mechanismus erlaubt es nun, diese Art von Therapeutika gezielt zu entwickeln. Wir konnten zeigen, dass verschiedene Klassen von Proteinen eine «Thalidomid-Degradations-Signatur» haben, eine prinzipielle Veranlagung, mithilfe von Thalidomid degradiert werden zu können. Zu einer solcher Klasse gehören Kinasen (Proteine, die anderen Proteine modifizieren und damit Signale in der Zelle weiterleiten können) und eine weitere wichtige Klasse von Proteinen, die mithilfe von Thalidomid und seinen Derivaten abgebaut werden können, die sogenannten Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren. Diese sind Proteine, die Gene an- respektive ausschalten, das heisst regulieren können. Transkriptionsfaktoren haben wichtige Funktionen während der embryonalen Entwicklung im Mutterleib. Ihre Deregulation kann aber auch Krebs und andere Krankheiten verursachen, wenn Transkriptionsfaktoren zum Beispiel hyperaktiv sind oder Fehlfunktionen aufweisen. Für diese Klasse von Proteinen gab es bis dato keine guten, einheitlichen Therapieansätze. Interessanterweise eröffneten Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren auch die Grundlage, auf der Thalidomid in der Therapie des Multiplem Myeloms basiert, nämlich durch den Abbau von IKAROS und AIOLOS. Es ist wahrscheinlich auch der Grund, warum Thalidomid zu Fehlbildungen geführt hat. So haben auch andere Transkriptionsfaktoren eine «Thalidomid-Degradations-Signatur». SALL4, zum Beispiel, das von Thalidomid abgebaut wird. SALL4 ist wichtig für die Entwicklung der Extremitäten in der embryonalen Phase. Patientinnen und Patienten mit Okihiro-Syndrom (engl.: «Duane-radial ray syndrome») und auch Holt-Oram-Syndrom haben Mutationen in SALL4, die zu Entwicklungsstörungen an den Gliedmassen führen. Das Erscheinungsbild dieser genetischen Krankheiten ist ähnlich, jedoch nicht identisch, der Thali-

domid-induzierten Phokomelie und wurde daher bei Betroffenen auch fälschlicherweise als Phokomelie diagnostiziert.

Weitere Untersuchungen von Thalidomid zeigten ein polypharmakologisches Verhalten, bei dem neben dem Hauptzielprotein immer weitere Proteine verdaut wurden. Ausserdem konnten wir zeigen, dass während hunderte Proteine zwar an den Komplex von Thalidomid und der E3-Ligase in der Zelle gebunden wurden, jedoch nur eine kleine Anzahl der besten Bindungspartner wirklich ubiquitiniert und degradiert wurden. Wir konnten zeigen, dass kleine Unterschiede in der chemischen Komposition des Thalidomidgerüsts ausreichen, um einige dieser gebunden Proteine in Proteine umzuwandeln, die dann auch abgebaut werden konnten. Oftmals werden Krankheiten auch durch ein Überangebot an bestimmten Proteinen ausgelöst, zum Beispiel durch Amplifikationen oder Überexpression von bestimmten Proteinen.

Da die «Thalidomid-Degradations-Signatur» in mehr als ~2500 Proteinen enthalten ist, eröffnet sich ein enormes Potential, diese Proteine zu degradieren. Die meisten dieser Proteine sind Zinkfinger-Transkriptionsfaktoren, wichtige Regulatoren der Zellhomöostase für die es keine Therapeutika gab. Basierend auf dem strukturellen und biochemischen Verständnis des Mechanismus, ist es nun möglich, diese Proteine in diversen Krankheitsbildern anzugehen. Neue Beispiele der Versatilität dieses Ansatzes erscheinen jetzt regelmässig in wissenschaftlichen Publikationen als auch in der Patentenliteratur und sind die Basis für neue Firmengründungen.

Nicht nur Thalidomid programmiert Proteininteraktionen um

Das Binden von Medikamenten an Proteine verändert die Oberflächeneigenschaften dieser Proteine und generiert damit Möglichkeiten, mit anderen Proteinen zu interagieren. Unsere weiterführenden Studien haben gezeigt, dass andere Medikamente auch solche «Nebenwirkungen» haben: Proteine können plötzlich und unerwartet mit anderen Proteinen interagieren, wenn sie ein solches niedermolekulares Molekül an ihrer Oberfläche binden (Abb. 2). Diese Erkenntnis macht es nun möglich, neuartige Medikamente zu entwickeln, die solche Eigenschaften gezielt für neue Anwendungen nutzen. Dies macht es auch leichter, unerwünschte Nebeneffekte von Medikamenten zu verstehen und zu minimieren.

Schlussfolgerung und Ausblick

Das Verständnis, dass man durch niedermolekulare Verbindungen den Abbau von Proteinen induzieren

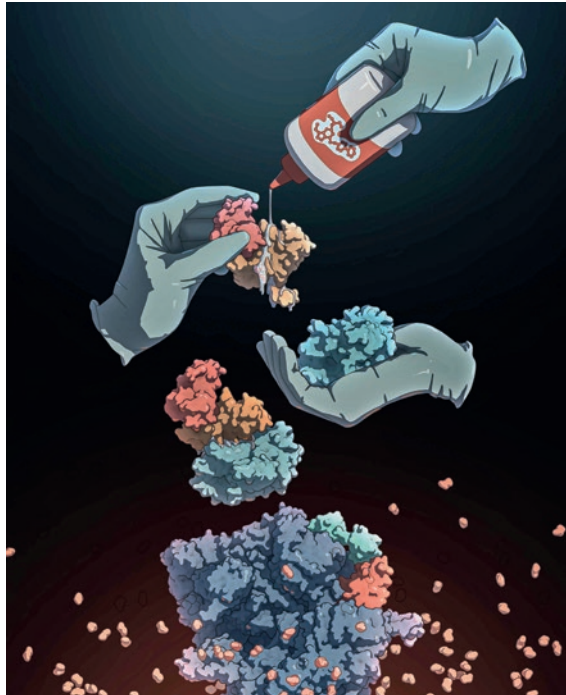


Abbildung 2: Niedrigmolekulare Verbindungen agieren als molekularer Kleber, der Proteine zusammenbringt. Falls ein Protein an bestimmte Ubiquitin-Ligasen «geklebt» wird, kann das zur Ubiquitinierung und zum Verdau durch das Proteasom führen (unten, dunkelblau). Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Digizyme™, Brookline, MA, USA.

Korrespondenz:
Nicolas H. Thomä, PhD
Molekularbiologie
Friedrich Miescher Institute
for Biomedical Research
Maulbeerstrasse 66
CH-4058 Basel
nicolas.thoma[at]fmi.ch

kann, ist ein wichtiger Teil einer neuen, potentiell transformativen Strategie in der Entwicklung von synthetischen Molekülen geworden: dem gezielten medikamentösen Abbau von Proteinen (engl.: «targeted protein degradation»).

Unsere Arbeit an Thalidomid bildet die Basis von weitreichenden Bemühungen in der pharmazeutischen Industrie und diversen Biotechnologieunternehmen, diesen Wirkmechanismus nutzbar zu machen.

Die Historie zu Thalidomid ist voll von unerwarteten Ereignissen, von der extremen Teratogenität, zum Therapieansatz für verschiedene Blutkrebssubtypen, bei denen jeweils andere Proteine das Degradationsziel im Multiplem Myelom oder 5qMDS sind, zu einem Mechanismus, bei dem das Therapeutikum nicht einen Prozess inhibiert, sondern zwei Proteine zusammenbringt, die normalerweise nicht oder nur schwach binden, bis zu einem Beweis, dass eine solche niedrigmolekulare Substanz zu veritablen Medikamenten führen kann. Von alledem, was wir jetzt wissen, kann es gut sein, dass dieser Mechanismus in der Zukunft noch weitere Überraschungen für uns bereithält.

Verdankung

Ich danke dem Schweizerischen Nationalfonds, der Schweizerischen Krebsliga und dem European Research Council für die Unterstützung der hier beschriebenen Projekte während vieler Jahre. Zudem danke ich meinem Team und meinen Kollegen, besonders Dirk Schübeler, Benjamin Ebert und Eric Fischer, für die Zusammenarbeit. Vielen Dank auch an Mira Schütz-Stoffregen für die Hilfe bei der Anfertigung dieses Artikels.

Disclosure Statement

Der Autor hat deklariert, Unterstützung vom Schweizerischen Nationalfonds, der Schweizerischen Krebsliga und dem European Research Council für die hier beschriebenen Projekte erhalten zu haben. Ausserdem gibt er Zuschüsse von Novartis, der Novartis Research Foundation und von Monte Rosa Therapeutics an. Der Autor sitzt dem Scientific Advisory Board von Monte Rosa Therapeutics vor.