

Der PI3K/AKT/mTOR Signalweg spielt eine wichtige Rolle in der Genese der Vestibularisschwannome sowie im Hinblick auf zukünftige Pharmakotherapie.

Prof. Dr. med. Marcos Tatagiba, Dr. med. Isabel Gugel, Klinik für Neurochirurgie, Uniklinik Tübingen

Vestibularisschwannome, auch im gängigen Jargon als Akustikusneurinome bekannt, stellen die häufigste Tumorentität des Kleinhirnbrückenwinkels dar. Es handelt sich um histologisch gutartige Tumore die von den Schwannzellen des vestibulären Anteils des Hör- und Gleichgewichtsnerven (VIII. Hirnnerven, N. vestibulocochlearis) ausgehen. Die klinische Symptomatik entsteht durch die Kompression der umliegenden Strukturen und bewegt sich insbesondere im oto-neurologischen Bereich mit Schwindel, Gleichgewichtsstörungen, Hörverlust sowie Tinnitus- und Hörsturzsymptomatik und kann in entsprechendem Ausmaß auch zum Tode führen. Die Kategorisierung erfolgt in einseitig sporadische, beidseitig Neurofibromatose Typ 2 assoziierte und zystische Vestibularisschwannome. Letztere stellen eine schnell und aggressiv wachsende Untergruppe der sporadischen Form dar, die neben den soliden Tumoranteilen zystische Komponenten enthält. Die Neurofibromatose Typ 2 ist ein hereditäres Tumorsyndrom welches neben den charakteristischen bilateralen Vestibularisschwannomen noch andere klinische Manifestationen (weitere gutartige Hirntumore, spinale Tumore, sowie Haut- und Augenmanifestationen) mit sich bringt und typischerweise schon in jungen Jahren auftritt. Die Behandlungsstrategie besteht in der Operation, der Bestrahlung oder der abwartenden Haltung abhängig von Tumorgröße, klinischer Symptomatik, Alter und Wunsch des Patienten.

Die genetischen Entstehungsmechanismen sind uns bis zum jetzigen Zeitpunkt noch gänzlich unbekannt. In der Mehrheit der Fälle wird eine Mutation im NF 2 Gen (benannt nach der Neurofibromatose Typ 2) als Ursache ausfindig gemacht, welche erblich oder de novo bedingt sein kann. Daraus resultiert ein Verlust des NF2 Proteins Merlin (auch Neurofibromin oder Schwannomin genannt), welches im gesunden Zustand den Zellzyklus kontrolliert oder den Zelltod auslöst und somit ein unkontrolliertes Wachstum der Zelle verhindert.

Da sich insbesondere in den sporadischen Vestibularisschwannomen eine NF2 Mutation nicht immer nachweisen lässt, müssen andere genetische Entstehungsmechanismen mitunter für die Genese eine Rolle spielen. Die Gesamtheit der RNA-Moleküle, als Kopie der aktiven exprimierten Gene (Transkriptom) in Vestibularisschwannomen ist noch nicht vollständig erforscht. In den letzten Jahren traten zunehmend neue Methoden der molekularen Genetik in den Vordergrund, die es ermöglichten eine Vielzahl von Genen unterschiedlicher Expressionsstärke in einem Versuchsschritt nachzuweisen. Hierbei können unterschiedlich exprimierte und aktivierte Gene des Tumors dadurch detektiert werden, als dass sie mit gesundem Kontrollgewebe verglichen werden.

Für die bisherigen Studien auf diesem Gebiet dienten Blut, gesundes Hirngewebe oder andere sensible Nerven aus Amputationsoperationen als Kontrollgewebe um die tumorspezifische Unterschiede aufzuzeigen. Die Ergebnisse waren jedoch nicht zielführend aufgrund der zu starken molekularen Heterogenität zwischen Tumor- und Kontrollgewebe.

In der vorliegenden Studie erfolgte der direkte molekulargenetische Vergleich des Transkriptoms zwischen sporadischen VS und gesundem Gleichgewichtsnerv, welcher im Rahmen von

routinemäßigen Autopsien nach ethischen Richtlinien in der hiesigen Neuropathologie entnommen wurde. Mit dieser Technik konnten erstmals sehr spezifische molekulargenetische Besonderheiten der Vestibularisschwannome nachgewiesen werden.

In unserer Klinik werden jährlich **ca. 250** Vestibularisschwannome jeglicher Genese (sporadische, NF2 assoziierte, zystische sowie vorbestrahlte Vestibularisschwannome) erfolgreich operiert. Dies bietet eine außerordentliche Möglichkeit entsprechenden Fallzahlen für ein valides Projekt aufzubringen.

Ziel war es die genetischen Unterschiede zwischen Tumor- und Kontrollgewebe aufzuzeigen und mit Hilfe von neuen Analysemethoden in einen funktionellen Zusammenhang zu bringen und neue Erkenntnisse für die Behandlung der Tumore zu gewinnen.

Für die Studie wurden 49 Proben an sporadischen Vestibularisschwannomen ausgewählt, die im Rahmen der Routineoperation und nach zuvor erteiltem schriftlichem Einverständnis der Patienten entnommen wurden. Verglichen wurden diese mit 7 Proben an gesundem Gleichgewichtsnerv (N. vestibularis). Es erfolgte eine globale Untersuchung der Genexpression zwischen dem Tumor- und dem Kontrollgewebe mit Hilfe einer cDNA Microarray (Affymetrix Human Genome U219 Array Plate), welche auf der Basis von isolierten und hybridisierten RNA-Molekülen, einen Überblick über die verschiedenen Genaktivitäten/ Expressionsniveaus zwischen den beiden Gruppen gibt. Anschließend wurden diese Rohdaten mit Hilfe bioinformatischer (Ingenuity Pathway Analysis) und statistischer (Clustering Analysis, ANOVA) Software analysiert. Ferner wurden Vestibularisschwannom-Zelllinien kultiviert, die mit pharmakologischen Inhibitoren der Moleküle aus dem resultierenden Signalwegs in vitro behandelt wurden.

Ca. 4000 differentiell exprimierte Gene zwischen dem Tumor- und Kontrollgewebe wurden aufgefunden, die mithilfe von Netzwerk- und Signalweganalysen in einen funktionellen Zusammenhang gebracht werden konnten. Daraus resultierte, dass der PI3K/AKT/mTOR Signalweg eine wichtige Rolle in der Tumorgenese spielt, welcher zudem als pharmakologisches Ziel zukünftiger medikamentöser Behandlungen genutzt werden kann. Die Tumorzelllinien wurden mit den bereits existierenden pharmakologischen Hemmstoffen BEZ235 und PKI-587 der Signalwegmoleküle PI3K und mTOR in vitro behandelt. Unter der Pharmakotherapie zeigten sich eine verminderte Lebensfähigkeit und ein vermehrter Zelluntergang der Tumorzellen. Somit könnten durch Hemmstoffe des Signalwegs neue medikamentöse Therapiestrategien im Bereich der Vestibularisschwannome geschaffen werden.

Die vorliegende Studie leistet einen wichtigen Beitrag zur Grundlagenforschung um für an Vestibularisschwannom erkrankte Patienten relevante pharmakologische Therapien abzuleiten. Daran angeknüpft laufen in unserem Labor bereits pharmakologische Studien an Primärkulturen von Vestibularisschwannomen sowie Studien die die genetischen Unterschiede nicht nur innerhalb des Transkriptom sondern auch innerhalb des Genoms und Proteoms näher beleuchten. Hierzu bietet sich in Tübingen die Möglichkeit von zahlreichen Kooperationsprojekten innerhalb des Exzellenzclusters der Neurowissenschaften mit Anatomischen Institut, Neuropathologie, Hertie Institut und Neurochirurgie Tübingen.