

Kleine Moleküle werden erwachsen

Gastkommentar

Warum sollte man micro-RNAs bestimmen, wo doch in den Proteinbiomarkern bereits so viel Information steckt? Mindestens drei Gründe sprechen dafür: Als Nukleinsäuren kann man sie mit hoher Sensitivität und Spezifität quantifizieren; mit Multiplexverfahren (Microarrays, Sequenzierung, qPCR) lassen sich mehrere Marker gleichzeitig erfassen; und schließlich sind miRNAs im Blut sehr stabil. Das alles macht sie als neue Biomarkerklasse interessant.

Doch ihr diagnostischer Einsatz steht noch am Anfang, und so kann man auch leicht drei Gegenargumente anführen: Die Analytik benötigt im Vergleich zu Proteinmarkern wie Troponin oder CRP Stunden statt Minuten; es gibt bislang keinen Konsens zur Qualitätskontrolle und Normalisierung der Ergebnisse; und der Zusatznutzen der neuen Marker wurde bislang nur unzureichend belegt.

In diesem Kontext verdient die erste prospektive Studie zum Thema *miRNA* und *Herzinfarkttrisiko*^[1] Erwähnung. Sie zeigte an 820 Teilnehmern aus Bruneck in Südtirol, dass der *Framingham Risk Score* durch Hereinnahme von miR-126, -197 und -223 um bemerkenswerte 15 Prozent verbessert wird – stärker als beispielsweise durch CRP. Und zudem wurde der Zusammenhang zwischen Ischämie und Anstieg der genannten Marker experimentell untermauert. Dies ist die Messlatte für künftige miRNA-Biomarker, damit die „kleinen Hoffnungsträger“ bald erwachsen werden können.

Prof. Dr. Stefan Engelhardt

Institut für Pharmakologie und Toxikologie

Technische Universität München (TUM)

[1] Zampetaki et al. J Am Coll Cardiol 2012; 60:290-299

Werkzeuge für Forschung, Diagnostik und Therapie

Hoffnungsträger micro-RNA

Kleine RNA-Moleküle regulieren einen Großteil unserer Gene. Das machen sich nicht nur Grundlagenforscher zunutze; auch Therapeuten und Diagnostiker haben die micro-RNAs als zukunftsträchtiges Aufgabenfeld entdeckt.

Zum Jahreswechsel verlegen viele Zeitschriften Sonderhefte mit einem Rückblick auf das alte Jahr. Der *Economist* dagegen bietet unter dem Titel *The World in 2014* einen Ausblick auf 2014, und es ist schon bemerkenswert, dass darin neben Barack Obama auch eine vielfach unterschätzte Klasse von Biomolekülen zu Ehren kommt. Unter dem Titel *Juwels in the Junk* (Juwelen im Abfall) stellt das US-Magazin die Ribonukleinsäure (RNA) als „Molekül des Jahres 2014“ vor. Die Autoren bezeichnen die DNA als Molekül des letzten Jahrhunderts und prophezeien, dass die RNA ihr in Kürze den Rang ablaufen wird.

Genetischer Schrott

Im Jahr 2001, nach dem Abschluss des *Human Genome Projects*, war die Überraschung bekanntlich groß, dass der Mensch nur gut 20.000 Gene besitzt und – schlimmer noch – dass weniger als fünf Prozent seiner DNA in Proteine übersetzt werden. Der weitaus überwiegende Anteil wurde als „genetischer Schrott“ abgetan; man vermutete, dass sie nutzlose Überbleibsel aus unserer molekularen Entwicklungsgeschichte seien.

Aber im Laufe der folgenden Jahre wurde immer klarer, dass dieser Schrott erhebliche funktionelle Bedeutung hat: Er wird nämlich nahezu komplett in RNA umgeschrieben. Diesen energieaufwendigen Prozess würde sich keine Zelle leisten, wenn er nicht sinnvoll wäre.

Neben den drei seit Langem bekannten Klassen mRNA (*messenger*), rRNA (*ribosomal*) und tRNA (*transfer*) kamen rasch immer neue RNA-Spezies ans Licht. Dazu zählen lincRNA (*long intergenic non-coding*), piRNA (*piwi-interacting*), siRNA (*small interfering*) und miRNA (*micro*). Nach aktuellem Stand vermutet man neben den gut 20.000 Startsequenzen für proteinkodierende mRNA weitere 140.000 für die Bildung von RNAs aller Art. Es scheint so, als würden RNAs die Zelle regieren, indem sie sie regulieren.

RNA-Interferenz

Von der für die medizinische Diagnostik wohl wichtigsten Gruppe, den micro-RNAs, kennt man derzeit knapp 3.000 verschiedene Spezies, und durch die neuen Hochleistungs-Sequenziergeräte (*Next Generation Sequencing*) werden Jahr für Jahr mehr davon entdeckt. Man geht davon aus, dass diese Klasse kurzkettiger RNAs mit 21 bis 23 Nukleotiden mehr als die Hälfte aller proteinkodierenden Gene reguliert.

Ein als RNA-Interferenz bezeichneter Vorgang wurde 1998 von den amerikanischen Biochemikern Andrew Fire und Craig Mello detailliert beschrieben; dafür bekamen sie bereits acht Jahre später den Nobelpreis für Medizin. Im Kern besagen ihre Arbeiten, dass miRNAs Gene „zum Schweigen bringen“ können (*gene silencing*), indem sie an mRNA binden. Dadurch behindern sie die Proteinbildung

und beschleunigen den mRNA-Abbau. Die Bildung der miRNA aus langkettigen Vorläufermolekülen ist weitgehend aufgeklärt, aber die Regulation der Mechanismen, die zur gezielten Abschaltung von Genen führen, sind noch Gegenstand der Forschung.

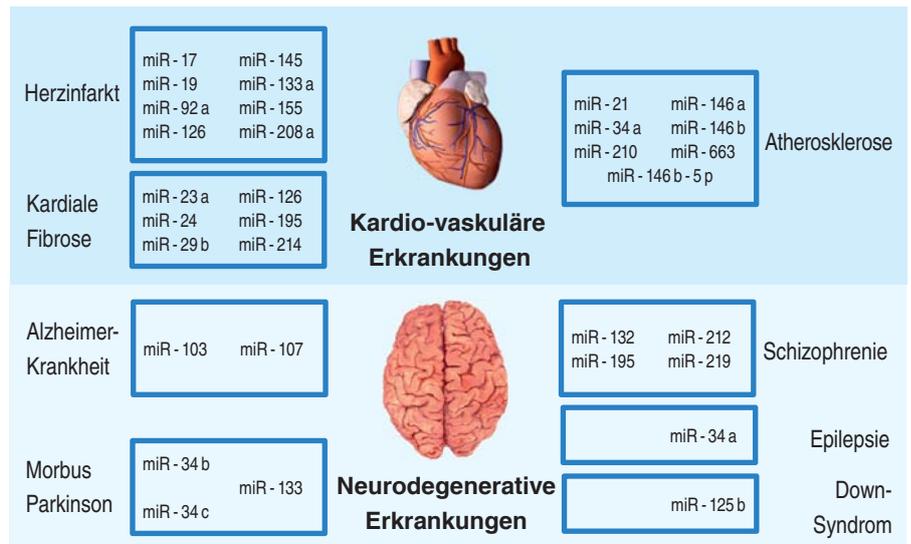
Die Natur würfelt

Ein Enzym namens *Dicer* (auf Deutsch „Zerwürfler“) arbeitet nach dem Zufallsprinzip: Es zerschneidet die langen Vorläufer der miRNA an beliebigen Stellen, was die enorme Vielfalt der micro-RNAs erklärt. Jede dieser Sequenzen bindet an verschiedene mRNAs, und umgekehrt gibt es auf jeder mRNA unterschiedliche miRNA-Bindungsstellen. Bei rund 50.000 mRNA- und 3.000 miRNA-Sequenzen kann man sich leicht ausmalen, wie kompliziert die Regulation der Proteinsynthese auf dieser Ebene ist.

Also womöglich alles nur Zufall wie im Glücksspiel? Das scheint nicht der Fall zu sein, denn man kann mithilfe definierter miRNAs *Knock-out*-Experimente durchführen, die zu ähnlich guten Resultaten führen wie die gezielte Ausschaltung von Genen in transfizierten Zelllinien oder Tieren. Und es gibt auch miRNA-Mutationen, die definierte Krankheiten wie zum Beispiel progressive Schwerhörigkeit auslösen.

Im Anfang war die Therapie

Deshalb standen für die Medizin therapeutische Einsatzgebiete von Anbeginn im Fokus des Interesses – ganz im Gegensatz zu den monoklonalen Antikörpern, die bereits über Jahrzehnte die Diagnostik beherrscht hatten, ehe erste Therapeutika zugelassen wurden. Hoffnungsträger sind die kleinen Moleküle vor allem in der Krebstherapie, wo man zwei verschiedene Ansätze verfolgt: Einerseits kennt man miRNAs mit antionkogener Wirkung und entwickelt andererseits miRNA-Antagonisten, die eine überhöhte Expression onkogener miRNAs normalisieren sollen.



Neue Biomarker für Herz und Hirn: Erkrankungen, bei denen miRNAs eine Unter- oder Überexpression aufweisen (modifiziert nach Srinivasan et al. *Theranostics* 2013; 3:930-942).

Mustererkennung

Unter www.mirbase.org sind derzeit fast 2.000 *precursors* und über 2.500 *mature miRNAs* mit Sequenzdaten, mRNA-Zielen und (patho-) physiologischen Informationen hinterlegt, die man diagnostisch nutzen kann. Bereits 2008 präsentierte eine israelische Arbeitsgruppe in *Nature Biotechnology* einen Entscheidungsbaum, der Metastasen unbekanntem Ursprungs (CUP = *cancer of unknown primary*) allein aufgrund von miRNA-Mustern dem richtigen Primärtumor zuordnet. Auch für Stoffwechselerkrankungen wurden diagnostisch interessante miRNA-Muster herausgearbeitet, zum Beispiel miR-15a, miR-126 und miR-223 beim Diabetes mellitus. Zelluläre Biomarker für kardiale und neurodegenerative Erkrankungen sind in der Abbildung oben zusammengestellt. Überschneidungen zwischen verwandten und weniger verwandten Erkrankungen machen die Sache spannend.

Im peripheren Blut tritt miRNA in Leukozyten, Thrombozyten und zirkulierenden Tumorzellen, in Exosomen, *Apoptotic Bodies* und diversen anderen Mikropartikeln sowie frei im Plasma auf. Deshalb hat die Labormedizin die miRNAs als attraktives Betätigungsfeld entdeckt.

Seit man mit Hochdurchsatztechniken in einem Analysengang alle im Blut vorkommenden miRNA-Sequenzen bestimmen kann, ist ein regelrechter Run auf krankheitsspezifische „Signaturen“ entstanden. Beim Herzinfarkt steigen beispielsweise miR-133a und miR-499, bei Sepsis verschiedene miR-4772-Spezies an.

Auch Liquor, Aszites, Stuhl, Speichel und Urin eignen sich als Untersuchungsmaterial. So findet man bei der Autoimmunerkrankung SLE erhöhte Konzentrationen von miR-146a und miR-155 im Urin, die mit der Krankheitsaktivität (zum Beispiel der Proteinurie) korrelieren; dies könnte für das Staging und Therapie-monitoring interessant sein.

Kurz zusammengefasst kann man den miRNAs also trotz vieler offener Fragen wohl schon heute erhebliche praktische Bedeutung für die Labormedizin der Zukunft attestieren. 🌸



Prof. Dr. Rudolf Gruber
synlab Nürnberg
rudolf.gruber@synlab.com