

## Epigenetische Inhibitoren als Behandlungsoption für (Cisplatin-resistente) Keimzelltumoren

Melanie R. Müller, Aaron Burmeister, Margaretha A. Skowron, Daniel Nettersheim

Die epigenetische Landschaft rückt seit einigen Jahren in den Fokus der Tumorforschung. Auch bei den Keimzelltumoren des Mannes wurden immer mehr Studien zum Epigenom durchgeführt. Im Folgenden wird diskutiert, inwiefern sich die Modulation der epigenetischen Landschaft mit epigenetischen Inhibitoren, sogenannten „Epi-Drugs“ als Therapieansatz in Keimzelltumoren eignet.

Typ-II Keimzelltumoren (KZT) sind die häufigsten malignen Tumoren junger Männer im Alter von 17 bis 45 Jahren, wobei vorrangig in westlichen Ländern die Inzidenz steigt [1]. KZT entstehen aus einer Vorläuferläsion (GCNIS, „germ cell neoplasia *in situ*“), deren Ursprung in einer (epi)genetischen Aberration einer primordialen Keimzelle vermutet wird [2]. Generell können KZT in Seminome und Nichtseminome unterschieden werden. Die Seminome ähneln stark den primordialen Keimzellen, während die embryonalen Karzinome (EC), als Teil der Nichtseminome, eine pluripotente Stammzellpopulation darstellen. EC können in alle drei Keimblätter (Teratom), aber auch in extraembryonale Gewebe (Chorionkarzi-

nom, Dottersacktumor) differenzieren [1]. Die Standardtherapie von KZT besteht aus einer Orchiektomie, gefolgt von Radiotherapie oder Cisplatin-basierter Chemotherapie und hat mit einer Heilungschance von etwa 95 % eine hohe Erfolgsrate [3]. Diese Standardtherapie induziert jedoch starke Nebenwirkungen, wie zum Beispiel verminderte Fertilität, Oto- und Nephrotoxizität, sowie maligne Sekundärläsionen. Darüber hinaus führt die mögliche Entwicklung von Cisplatin-Resistenz-Mechanismen zu einem Versagen der Chemotherapie und somit dann häufig zu einem tödlichen Verlauf [4]. Folglich sind neue Erkenntnisse zu alternativen Therapieoptionen für die Behandlung von KZT-Patienten notwendig.

### Die epigenetische Landschaft in KZT

Warum sind Epi-Drugs ein vielversprechender Therapieansatz in KZT? Diese Tumoren weisen eine relativ niedrige Mutationslast im Vergleich zu anderen Tumorarten inklusive urologischer Malignitäten auf (► Abb. 1) [5]. Da Genmutationen als Treiber der KZT-Pathogenese daher unwahrscheinlich sind, stellt eine veränderte Epigenetik eine alternative Erklärung für die Entartung der primordialen Keimzelle dar [1, 6].

### Was ist die Epigenetik?

Die Epigenetik beschreibt Veränderungen der Genaktivität, die nicht auf Mutationen der DNA-Sequenz basieren [8]. Diese Prozesse umfassen unter anderem die Regu-

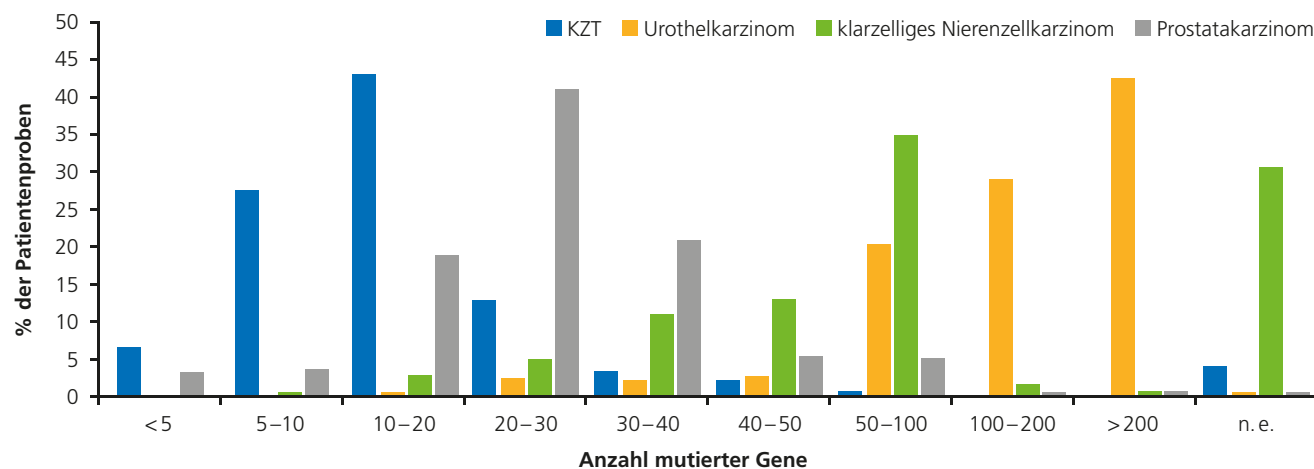


Abb. 1: KZT haben im Vergleich zu anderen urologischen Tumoren eine geringere Mutationslast. Die gezeigten Daten stammen aus der TCGA-Studie (The Cancer Genome Atlas) [5, 7] und wurden über das Online-Tool cBioPortal ([www.cbioportal.org](http://www.cbioportal.org)) analysiert. Die Anzahl mutierter Gene bezieht sich dabei nur auf annotierte Gene. n. e. = nicht ermittelt.

a

Enzymklasse	Gen	Enzymklasse	Gen
Teil der aktiven DNA-Demethylierung – ADD (Eraser)	<i>TDG</i>	Histondemethylase – HDM (Eraser)	<i>HR</i>
	<i>TET1/2</i>		<i>JARID2</i>
DNA-Methyltransferase – DNMT (Writer)	<i>DNMT1</i>		<i>JMJD1C</i>
	<i>DNMT3A/B</i>		<i>JMJD6</i>
Proteine die methylierte DNA erkennen – PMDN (Reader)	<i>DNMT3L</i>		<i>KDM1A/B</i>
	<i>MBD1-4</i>		<i>KDM2A/B</i>
Histondeacetylase – HDAC (Eraser)	<i>HDAC1-11</i>		<i>KDM3A/B</i>
	<i>SIRT1-3,6,7</i>		<i>KDM4A/B/C/D</i>
Histonacetyl-transferase – HAT (Writer)	<i>CDY1</i>		<i>KDM5A/B/C/D</i>
	<i>CREBBP</i>		<i>KDM6A/B</i>
	<i>EP300</i>		<i>KDM7A</i>
	<i>HAT1</i>		<i>UTY</i>
	<i>KAT2A/B</i>		<i>ASH1L</i>
	<i>KAT5/7/8</i>		<i>CARM1</i>
	<i>KAT6A/B</i>	<i>DOT1L</i>	
Proteine die acetylierte Histone erkennen – PAH (Reader)	<i>BAZ2A</i>	<i>EHMT1</i>	
	<i>BRD2-4/IT (BET)</i>	<i>EHMT2</i>	
	<i>BRD7/9</i>	<i>KMT2A/B/C/D</i>	
Histonmethyltransferase – HMT (Writer)		<i>KMT5A/B/C</i>	
		<i>NSD1-3</i>	
		<i>PRDM2/9</i>	
		<i>PRMT1/2/5-8</i>	
		<i>SETDB1/2</i>	
		<i>SETMAR</i>	
		<i>SMYD1-5</i>	
		<i>SUV39H1/2</i>	
		<i>EZH1/2</i>	
		<i>BPTF</i>	
		<i>CBX1-3/5/7</i>	
		<i>CDYL</i>	
		<i>KMT2E</i>	
		<i>L3MBTL1</i>	
	<i>L3MBTL2</i>		
	<i>SPIN1</i>		
	<i>TP53BP1</i>		
	<i>ZMYND11</i>		
		Proteine die methylierte Histone erkennen – PMH (Reader)	

■ DNA-Methylierung ■ Histonacetylierung ■ Histonmethylierung

b

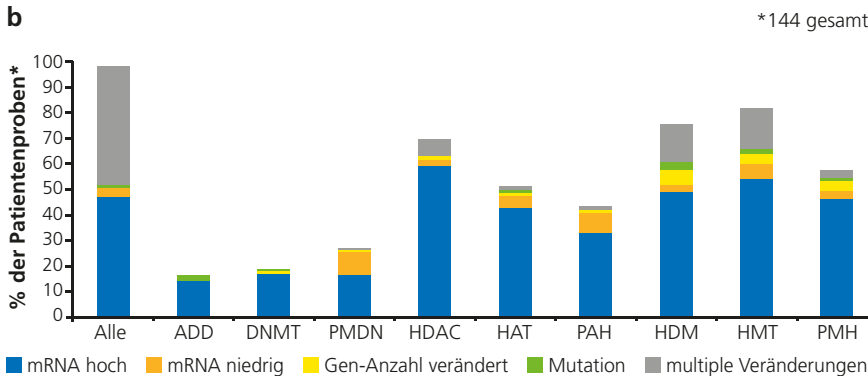


Abb. 2: a) Epigenetische Modifikatoren und bekannte Vertreter der verschiedenen Enzymklassen. b) Veränderungen des Expressionsprofils epigenetischer Interaktoren (aus a) in KZT. Die hier gezeigten Daten stammen aus der TCGA-Studie zu KZT [5] und wurden über das Online-Tool cBioPortal analysiert. „Multiple Veränderungen“ sind indiziert, wenn mehrere der zuvor genannten Veränderungen gleichzeitig auftreten.

lierung der DNA durch Methylierung und der Histone durch Acetylierung oder Methylierung [9]. Die epigenetische Genexpressionsregulation wird von unterschiedlichen Enzymen, die in drei Klassen unterteilt werden können, reguliert (► Abb. 2a). Die epigenetischen „Writer“ umfassen Enzyme, die die Übertragung von Modifikationen an Histonen oder DNA katalysieren. Die sogenannten „Eraser“ stellen die Antagonisten der Writer dar und katalysieren die Entfernung der Modifikationen. Die „Reader“ stellen die dritte Enzymklasse dar, die den epigenetischen „Code“ interpretieren und für die Zelle in Handlungsanweisungen übersetzen, wie z. B. das Erkennen von Histonacetylierungen und die Rekrutierung der Transkriptionsmaschinerie [9].

**Epigenetische Modifikationen in KZT**

Die KZT-Subtypen unterscheiden sich deutlich in ihrem DNA-Methylierungsstatus. So ist die DNA der Seminome nur sehr gering methyliert (Hypomethylierung), die DNA der Nichtseminome dagegen stark methyliert (Hypermethylierung) [5, 10]. Auch die globalen Mengen der Histonmodifikationen weisen Unterschiede zwischen Seminomen und Nichtseminomen auf. In Seminomen liegen höhere Mengen an Histon-H3-Lysin9-Dimethylierung (H3K9me2), H3K4me1, H2AR3me2 und H4R3me2 vor; EC weisen dagegen höhere Mengen an H3K4me2/3 auf [11, 12]. Zusätzlich können bivalente Histonmodifikationen in KZT vermehrt nachgewiesen werden [13]. Hierbei handelt es sich um das gleichzeitige Auftreten von Transkription-aktivierenden H3K4me3- und -reprimierenden H3K27me3-Modifikationen. Diese bivalenten Modifikationen spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation der Pluri-

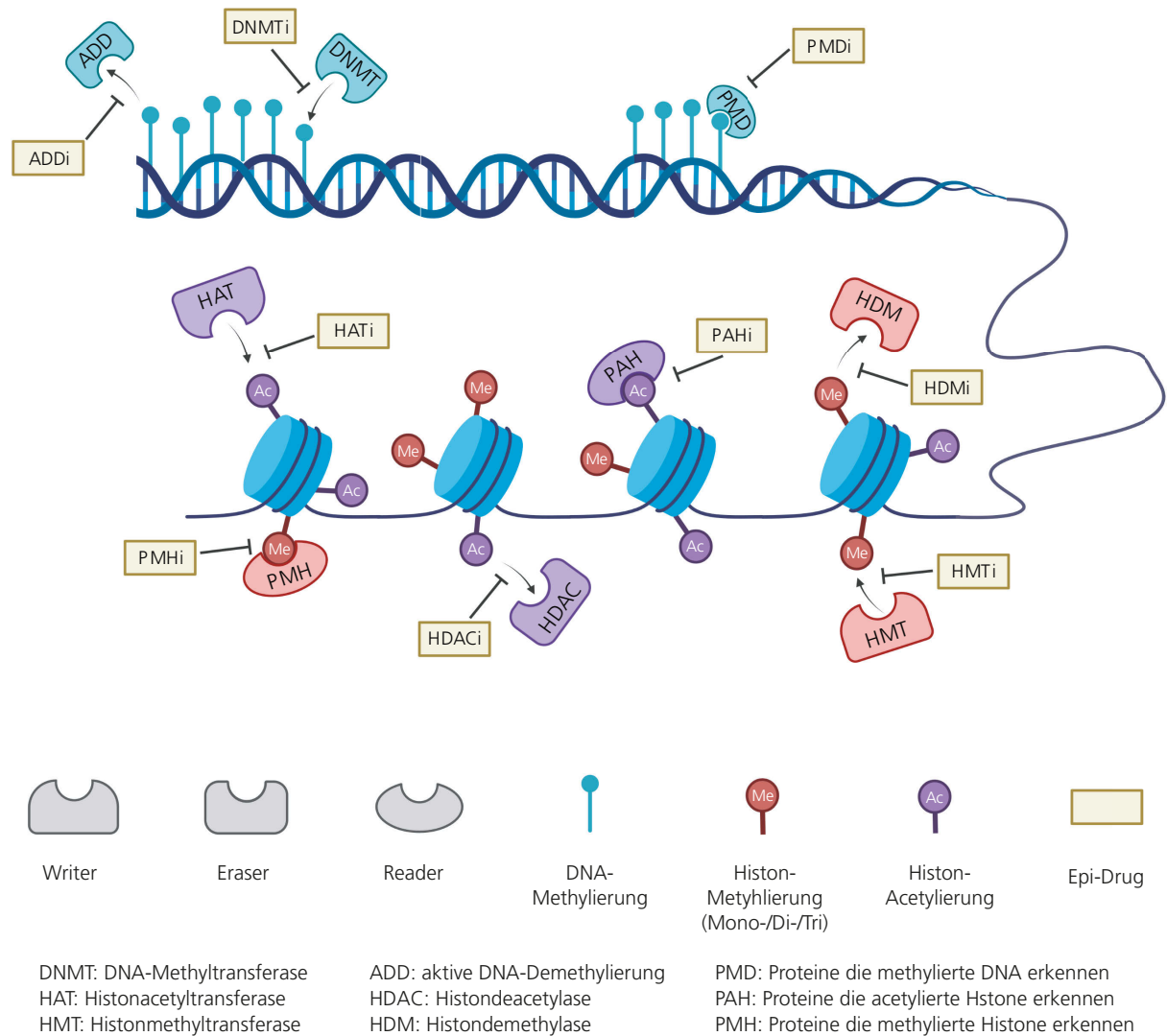


Abb. 3: Ansatzpunkte der epigenetischen Therapie. Diese Abbildung wurde mit BioRender erstellt.

potenz und der Zelltyp-spezifischen Differenzierung [14]. Durch die Entartung der epigenetischen Landschaft können die Expressionsdynamiken verschiedener Gene fehlgeleitet werden, so auch die der epigenetischen Regulatoren selbst [15]. So weisen epigenetische Regulatoren in KZT eine stärkere Expression als in nicht karzinogenem Gewebe auf (► Abb. 2b, S. 35). Die epigenetische Maschine der KZT ist somit ein Ansatzpunkt für pharmakologische Therapieoptionen (► Abb. 3), die in dieses instabile Regulationsnetz eingreifen und durch weitere Stö-

rung der Transkription zum Zelltod durch Apoptose oder zu einem Zellzyklusarrest führen können [3, 16].

### Epi-Drugs als Therapieoption in KZT

Als eine der ersten Epi-Drugs wurden DNA-Methyltransferase-Inhibitoren (DNMTi, i für Inhibitor) in präklinischen Studien in KZT untersucht [17]. Hier kamen vor allem synthetische Nucleoside wie 5-Azacytidin oder 5-Aza-desoxycytidin (Decitabin) zum Einsatz und zeigten eine Sensitivierung für Cisplatin [17, 18]. Beide DNMTi sind als „Orphan Drugs“ (Arzneimittel für selte-

ne Erkrankungen) von der US-Behörde für Lebens- und Arzneimittel (FDA) und der europäischen Arzneimittelagentur (EMA) bereits zugelassen. Die aktive DNA-Demethylierung (ADD) als Therapieziel ist noch unerforscht, da noch keine Inhibitoren entwickelt wurden. In KZT könnte die Inhibition der TET-Enzyme (als Teil der ADD) jedoch eine vielversprechende Strategie sein, da diese unter der Kontrolle von Pluripotenzgenen (*SOX17/SOX2*, *POU5F1*, *NANOG*) vermutet werden, welche u. a. in Seminomen und EC exprimiert werden [3, 10, 20]. Ein Ein-

griff in diese Wechselwirkung könnte also den Pluripotenzsignalen in Seminomen und EC entgegenwirken und die Zellen in eine Differenzierung treiben.

Weitere vielversprechende Ziele der epigenetischen Inhibition in KZT sind die Histondeacetylasen (HDAC). Die von der FDA für die Behandlung von T-Zell-Lymphomen und multiplen Myelomen zugelassenen HDACi Romidepsin, Belinostat und Panobinostat senken die Zellviabilität von Tumorzelllinien durch Zellzyklusarrest [21, 22]. Auch Cisplatin-resistente KZT-Zelllinien lösten nach der Behandlung mit HDACi Apoptose aus und erste *in vivo*-Experimente reduzierten das Tumorwachstum [21]. Derzeit wird ermittelt, ob HDACi effektiv in Kombinationstherapien (z. B. mit Cisplatin) genutzt werden können [22].

Auch Histonacetyltransferasen (HAT) stellen in anderen Tumorentitäten wie dem Neuroblastom ein vielversprechendes Therapieziel zur Inhibition des Zellwachstums dar, bislang wurde dies jedoch in KZT nicht getestet [23, 24]. Zuletzt bilden die Bromodomain-and-extra-terminal-domain-containing-(BET)-Proteine (BRD1–4) als epigenetische Reader ein valides Ziel für die pharmakologische Inhibition, z. B. mittels JQ1 (gegen BRD2 und 4). Die Inhibition der Zellviabilität durch BETi als Therapieoption wurde bereits in diversen Tumorentitäten (Glioblastom, Brust-, Lungen-, Prostata-, und Kolonkarzinom) evaluiert [25]. Auch in KZT-Zellen führte die JQ1 Behandlung zur Induktion von Apoptose und einem Zellzyklusarrest in der G1/G0-Phase, während Fibroblasten nicht beeinflusst wurden. Erste *in vivo*-Experimente konnten eine Minderung des Tumorwachstums bestätigen [26].

Bei der Histonmethylierung werden Histondemethylasen (HDM) als ein wichtiger Faktor während der Entartung der Keimzellen vermutet, experimentelle Studien hierzu fehlen jedoch [27]. Erste Versuche mit HDMi (JIB-04, PBIT) und HMTi (Histonmethyltransferase) (Chaetocin, GSK343) erwiesen sich als geeigneter Therapieansatz in der Behandlung von KZT-Zelllinien [28]. *In vivo*-Versuche müssen den Erfolg dieser Inhibitorclassen in KZT jedoch noch bestätigen. Tazemetostat (Tazverik, gegen EZH2) wurde als erster HMTi im Jahr 2020 von der FDA zur Behandlung von epitheloiden Sarkomen zugelassen, ebenfalls eine Erkrankung junger Erwachsener [29]. Die PRMT5-Inhibitoren PF-06939999, AMG 193, JNJ-64619178 befinden sich bereits in klinischen Studien zur Behandlung anderer solider Tumore (u. a. der Blase und Lunge) und könnten auch in KZT Potenzial zeigen [28, 30, 31]. Zu den PMHi (Reader der Histonmethylierung) gibt es in KZT derzeit noch keine Studien, der TP53BP1-Inhibitor UNC2170 wäre aufgrund der hohen Expression von *TP53BP1* aber ein geeigneter Kandidat [28, 32].

### Fazit

In einer aktuellen Studie wurden epigenetische Inhibitoren verschiedener Enzymklassen in KZT-Zellen getestet und miteinander verglichen [28]. Hier zeigte sich der HDACi Quisinostat am effektivsten in der Reduktion der Zellviabilität, dennoch führten auch die Behandlungen mit dem HDMi JIB-04, den HMTi Chaetocin und GSK343, sowie den PAHi (Reader Histonacetylierung) MZ-1 und LP99 zu einer Apoptose-Induktion bzw. einem Zellzyklusarrest. Dies bestätigt die Theorie, dass KZT generell anfällig für epigenetische Inhibitoren jeglicher Art sind. Die getesteten Substanzen wirkten dabei auch in den Cisplatin-

resistenten Zelllinien effektiv. Die Weiterentwicklung bestehender Agenzien zu spezifischeren Inhibitoren mit besseren pharmakokinetischen Profilen sowie die Entwicklung neuer Inhibitoren gegen bisher nicht abgedeckte Ziele bieten eine interessante Perspektive für die Zukunft. Dies könnte neue Wege zur Behandlung von Patienten mit refraktären und Cisplatin-resistenten Tumoren bieten. ■



Literatur unter  
[www.uroforum.de](http://www.uroforum.de)

**Korrespondenzadresse:**  
Univ.-Prof. Dr. Daniel Nettersheim  
Universitätsklinikum Düsseldorf  
Klinik für Urologie  
Urologisches Forschungslabor  
Translationale UroOnkologie  
Universitätsstraße 1  
40225 Düsseldorf

Melanie Müller,  
M.Sc.



Aaron Burmeister,  
M.Sc.

