

Persönliche PDF-Datei für

Anita Y. Voigt, Georg Zeller, Peer Bork

Mit den besten Grüßen vom Georg Thieme Verlag

www.thieme.de

Mikrobielle Biomarker zur Krebsfrüherkennung

TumorDiagn u Ther 2018; 39: 55–62

Nur für den persönlichen Gebrauch bestimmt.
Keine kommerzielle Nutzung, keine Einstellung
in Repositorien.

Verlag und Copyright:

© 2018 by
Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstraße 14
70469 Stuttgart
ISSN 0722-219X

Nachdruck nur
mit Genehmigung
des Verlags

 **Thieme**

Mikrobielle Biomarker zur Krebsfrüherkennung

Microbial Biomarkers for Early Cancer Detection

Autoren

Anita Y. Voigt, Georg Zeller, Peer Bork

Institut

Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL)

Schlüsselwörter

mikrobielle Biomarker, Mikrobiom, Metagenomik, Darmkrebs

Key words

microbial biomarker, microbiome, metagenomics, colon cancer

Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-124940>

TumorDiagn u Ther 2018; 39: 55–62

© Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart · New York

ISSN 0722-219X

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Peer Bork

Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL),

Meyerhofstr. 1, 69117 Heidelberg

bork@embl.de

ZUSAMMENFASSUNG

Im Bereich Krebsfrüherkennung zeigt sich schon heute das Potenzial der Mikrobiomforschung für klinische Anwendungen. Auch wenn die zugrunde liegenden Mechanismen und Ursachen bisher weitgehend unbekannt sind, kann die krankheitsbedingte Veränderung des Mikrobioms als Angriffspunkt

zur Erforschung neuartiger diagnostischer und prognostischer Tests genutzt werden. Dies trifft insbesondere auf Dickdarmkrebs zu, wo sich bereits konkrete Möglichkeiten für den klinischen Einsatz abzeichnen. In diesem Artikel fassen wir die Fortschritte der letzten Jahre aber auch Schwierigkeiten in der Entwicklung mikrobieller Biomarker für die Krebsfrüherkennung zusammen.

ABSTRACT

The human microbiome – the vast amount of microbes that colonize our body – play an important role in maintaining our health. Changes in microbiome composition have been linked to multiple diseases including cancer. Although mechanisms and causalities of these associations still have to be uncovered, microbiome alterations across various stages of disease can be utilized for novel diagnostic and prognostic tests. Research on biomarkers extracted from the gut microbiome has in particular focused on colorectal cancer, where clinical use is already on the horizon. For example, multiple microbial taxonomic markers such as *Fusobacterium nucleatum* and other oral pathogens have been identified in human feces with potential for non-invasive diagnostics and prognostics. The article summarizes the recent developments, but also limitations and challenges for the development of microbiome-based biomarkers for cancer early detection.

Das Mikrobiom und seine Bedeutung für den Menschen

Mikroorganismen (Bakterien, Archäen und einzellige Eukaryoten, wie z. B. Pilze) aber auch Viren besiedeln praktisch jeden Winkel unserer Welt – der menschliche Körper bildet da keine Ausnahme. Die Zusammensetzung und Diversität der verschiedenen Arten im Mikrobiom variiert je nach besiedeltem Organsystem und ist an die jeweilige Umgebung hervorragend angepasst. Der Darm beheimatet die wohl am meisten studierten Mikrobengemeinschaften und wird im Folgenden als Beispiel herangezogen.

Merke

Die Schleimhaut des Dickdarms ist die Kontaktfläche zu einem sehr komplexen Ökosystem, das mehr mikrobielle als menschliche Zellen enthält [1] und in dessen kollektivem Genom

(dem sogenannten Metagenom) eine bis zu 100-mal größere Vielfalt an Genfunktionen kodiert ist als im menschlichen Genom [2].

Obwohl die Mikrobiomforschung erst am Anfang steht, macht sie große Hoffnungen auf Verbesserung von Gesundheit und Wohlbefinden z. B. durch Krankheitsfrüherkennung und gezielte Veränderungen des Mikrobioms.

Die Artenvielfalt des Mikrobioms

Das Mikrobiom ist von Mensch zu Mensch erstaunlich verschieden, also charakteristisch für jedes Individuum – selbst eineiige Zwillinge haben ein unterschiedliches Darmmikrobiom (z. B. [3, 4]). Selbst beim Vorhandensein der gleichen Mikrobenarten sind einzelne Stämme genetisch unterschiedlich [5]. Das Darmbakterium *E. coli* kommt zum Beispiel bei vielen Menschen vor, aber jeder hat seine

► **Tab. 1** Mikrobielle Biomarker mit diagnostischer, prognostischer und funktioneller Relevanz für Darmkrebs und Darmkrebsvorstufen (Adenome).

	Studie	krebsassoziierte Mikroben	Zusammenhang mit Darmkrebs
Diagnostik, Prognostik und Subklassifikation ¹	Zeller et al. [19]	Fusobacterium nucleatum Porphyromonas asaccharolytica, Peptostreptococcus stomatis	polymikrobielle Erkennung von kolorektalen Karzinomen
	Yu et al. [31]	Fusobacterium nucleatum Peptostreptococcus stomatis Parvimonas micra Solobacterium moorei	polymikrobielle Erkennung von kolorektalen Karzinomen und gezielter Gennachweis mittels qPCR
	Feng et al. [30]	orale anaerobe Bakterien Bacteroides	polymikrobielle Erkennung von kolorektalen Karzinomen, Assoziation mit Life-Style-Risikofaktoren
	Baxter et al. [32]	Porphyromonas asaccharolytica Peptostreptococcus stomatis Parvimonas micra Fusobacterium nucleatum	polymikrobielle Erkennung von kolorektalen Karzinomen und Adenomen in Kombination mit FIT
mechanistische Studien ²	Mima et al. [41] Flanagan et al. [16] Ito et al. [42]	Fusobacterium nucleatum	Assoziation mit erhöhter Sterblichkeitsrate, Assoziation mit fortgeschrittenen kolorektalen Karzinomen und MSI sowie CIMP
	Yu et al. [43]	Fusobacterium nucleatum	Anreicherung in proximalen Adenomen, Anreicherung in hyperplastischen und sessil serratierten Adenomen, Anreicherung in Lymphknoten mit Metastasen
	Mima et al. [44]	Fusobacterium nucleatum	negative Korrelation mit CD3+ T Zelldichte in kolorektalen Karzinomen, Anreicherung in Tumoren mit MSI und CIMP
	Kostic et al. [17] Rubinstein et al. [20]	Fusobacterium nucleatum	entzündungsfördernd, Zellinvasion und Stimulation der Zellteilung, Anreicherung in kolorektalen Adenomen
	Goodwin et al. [45]	Bacteroides fragilis	Stimulation chronischer Entzündung
	Arthur et al. [21] Cuevas-Ramos et al. [22]	Colibactin-positives Escherichia coli	Stimulation von Entzündungen und Schädigung der DNS

CIMP: CpG-Insel-Methylierungs-Phänotyp, MSI: hochgradige Mikrosatelliteninstabilität, FIT: fäkaler Immunchemie-Test.

¹ Eingeschlossen wurden Studien mit einer Fallzahl >30 pro Patientengruppe (Kontrollen, Adenome, Karzinome), die über mikrobielle Biomarker berichten.

² Bisher nur im Tiermodell oder in Zellkultur gezeigt.

eigenen Varianten [5], die teilweise spezifisch auf Umwelteinflüsse wie Nahrung oder Arzneimittel reagieren.

Medizinische Anwendungen der Mikrobiomforschung

Da das Wissen um die Individualität noch unvollständig ist, zielen praktische medizinische Anwendungen der Mikrobiomforschung erst einmal auf gemeinsame krankheitsassoziierte Veränderungen des Mikrobioms ab. In der Tat hat man bei vielen Krankheiten konsistente und spezifische Veränderungen festgestellt (► **Tab. 1, 2**). Einige Arten, die sich in der Häufigkeit verändern, werden derzeit für die Verwendung als mögliche Biomarker für diagnostische und prognostische Zwecke getestet. Dies setzt jedoch eine robuste und reproduzierbare Bestandsaufnahme der Mikroben voraus. Zu diesem Zweck wurden verschiedene Methoden entwickelt und vergleichend getestet: bisher ist keine perfekt und so müssen Vor- und Nachteile abgewogen und stets der rapiden Entwicklung der Forschung angeglichen werden.

Methoden der Mikrobiomforschung

Die Mikrobiomforschung wurde vor einigen Jahren durch neuartige Sequenzier- und Analysetechnologien revolutioniert. Diese Technologien erlauben es Forschern, die DNS (Erbgut) direkt aus einer (Stuhl- oder Gewebe-) Probe zu isolieren, zu sequenzieren, und die mikrobielle DNA von menschlicher DNS abzugrenzen und zu analysieren.

Bestandsaufnahme des Mikrobioms basierend auf dem Erbgut

Studien, die das Erbgut einer mikrobiellen Population mittels Sequenzierung untersuchen, haben den Vorteil, dass keine Kultivierung im Labor nötig ist. Dadurch umgehen sie das Problem, dass die meisten Mikroorganismen unter Laborbedingungen kaum oder nicht kultivierbar sind.

► **Tab.2** Weitere Beispiele für Krebserkrankungen inkl. Vorstufen und assoziierte Mikroorganismen mit bisher unbestimmtem diagnostischen Potenzial.

Krebserkrankung	krebsassoziierte Mikroben	Beispielliteratur
Hautkrebs	Staphylococcus aureus	[14]
Bauchspeicheldrüsenkrebs	orale Bakterien wie z. B. Porphyromonas gingivalis	[12]
Kopf-und Halskrebs	Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium	[46]
Brustkrebs	Bacillus, Enterobacteriaceae, Staphylococcus	[47]
Gallenblasenkrebs	Salmonella thypi	[48]
Lungenkrebs	Chlamydia pneumoniae	[49]
Magenkrebs	Helicobacter pylori	[50]

16S rRNS-Sequenzierung

Sie ist derzeit noch die am weitesten verbreitete Methode, bei der meist nur einige variable Regionen des 16S rRNS-Gens analysiert werden.

Vorteile dieser Methode sind

- die geringen Kosten,
- ausgereifte Analysemethoden
- und Referenzdatenbanken zur taxonomischen Bestimmung der Mikroben.

Nachteile sind u. a. Probleme mit der Quantifizierung, die taxonomische Auflösung (diese liegt zwischen Art und Gattung) und fehlende funktionelle oder genetische Informationen.

Metagenomik

Die Metagenomik (Sequenzierung der Gesamtheit der DNS) ist um einiges teurer, aber nicht mit den genannten Nachteilen behaftet. Um so die DNS aller Organismen und Viren in einer Probe zu identifizieren, werden derzeit z. B. bei einer Stuhlprobe 30 Millionen DNS-Stücke entschlüsselt und zusammengesetzt. Daraus können Gene und deren Funktionen katalogisiert und den jeweiligen Mikrobenarten zugeordnet werden.

Funktionelle Charakterisierung des Mikrobioms

Obwohl man aus metagenomischen Daten schon viel über die Funktionen der Mikroben vorhersagen kann, liefert die Entschlüsselung anderer Biomoleküle wichtige Zusatzinformationen.

Metatranskriptomik

Diese Methodik quantifiziert die Gesamtheit der RNS (Ribonukleinsäuren) zu ähnlichen Preisen wie Metagenomik, generiert allerdings weniger Daten. Sie liefert aber wertvolle Informationen über die Genexpression, d. h. man kann zwischen Bakterien, die aktiv den Darm besiedeln, und nicht lebensfähigen Nahrungsbestandteilen bakterieller Natur unterscheiden.

Metaproteomik und Metabolomik

Diese Verfahren sind ähnlich teuer und haben zurzeit ein noch sehr begrenztes Molekülidentifizierungsspektrum. So können oft

nur wenige Tausend Proteine (Metaproteomik) oder einige hundert Metabolite (Metabolomik) gemessen und bestimmt werden, verglichen mit Millionen von mikrobiellen Genen (Metagenomik). Verbesserungen dieser Methoden bergen aber ein großes Potenzial für zukünftige Forschung.

Gezielter Nachweis von Mikroben

Neben den genannten Technologien zur Bestandsaufnahme der komplexen Mikrobiomzusammensetzung kommen aber auch klassische Nachweisverfahren der Mikrobiologie zum Einsatz. So lassen sich beispielsweise mittels quantitativer PCR (qPCR) gezielt bestimmte Mikroorganismen nachweisen (und quantifizieren), was die Kosten bei gezielten Tests erheblich senken kann.

Limitierungen für den klinischen Einsatz

Trotz der enormen Fortschritte sollte bedacht werden, dass für den klinischen Einsatz noch einige Hürden überwunden werden müssen. Allgemein anwendbare Prinzipien sind nur schwer zu erkennen. Dies liegt an der hohen interindividuellen Varianz des Mikrobioms und an den externen Einflüssen, denen es unterliegt (Lebensstil inkl. Ernährung oder Medikamenteneinnahme).

Cave

Umwelteinflüsse sind in ihrer komplexen Wirkung auf das Mikrobiom noch unvollständig untersucht – dabei können solche unberücksichtigten Faktoren zu drastischen Fehlschlüssen hinsichtlich Krankheitsassoziationen des Mikrobioms führen.

Ein Beispiel ist die beschriebene starke Assoziation des Mikrobioms mit Typ-2-Diabetes [6, 7], die offensichtlich zum größten Teil nur auf die Einnahme des Medikamentes Metformin zurückzuführen ist [8]. Die etwas schwächere Assoziation des Mikrobioms mit HIV ist großenteils auf korrelierende Homosexualität oder vielleicht damit wiederum korrelierende Sexualpraktiken zurückzuführen [9]. Trotz immer besser kontrollierter klinischer Fall-Kontroll-Studien zu Krankheitsassoziationen sind derzeit die Fallzahlen meist noch gering und Mikrobiomstudien dadurch limitiert, dass viele entscheidende Einflüsse auf das Mikrobiom im Studiendesign nicht berücksichtigt werden (können).

Krankheitsassoziationen des Mikrobioms: Von Volkskrankheiten zu Krebs

Neben den bekannten mikrobiellen Infektionserkrankungen steigt die Zahl der Krankheiten, die mit einem „abnormalen“ Mikrobiom in Verbindung gebracht werden stetig. Mehr als 30 Krankheiten werden bereits mit Mikrobiomveränderungen assoziiert, jedoch werden sich höchstwahrscheinlich einige dieser Assoziationen nicht bestätigen lassen. Somit ist das menschliche Mikrobiom für die klinische Forschung von zunehmendem Interesse, zumal die entsprechenden Krankheiten oft Volkskrankheiten sind. Beispiele für Mikrobiom-assoziierte Erkrankungen sind Diabetes mellitus und andere Stoffwechselerkrankungen einschließlich Fettleibigkeit und Leberzirrhose sowie entzündliche Darmerkrankungen (z. B. [4, 10, 11]). Auch bei Krebserkrankungen, allen voran Darmkrebs (kolorektales Karzinom), aber auch Bauchspeicheldrüsenkrebs [12], Kopf-Hals-Tumoren [13] und Hautkrebs [14] wurden Veränderungen des Mikrobioms beschrieben.

Das Mikrobiom von Darmkrebspatienten

Im Fall von Darmkrebs gibt es inzwischen viele belastbare Studien, die eine Assoziation mit dem Mikrobiom erhärten.

Merke

Seit 2010 wurden bei zahlreichen Untersuchungen des Mikrobioms in Gewebeproben von Kolorektalkarzinomen starke Anreicherungen bestimmter bakterieller Arten, darunter *Fusobacterium nucleatum*, nachgewiesen (z. B. [15 – 19]).

Außerdem wurde gezeigt, dass *F. nucleatum* in der Lage ist, in Epithelzellen einzudringen und das Tumorstadium anzuregen [17, 20]. Für pathogene Stämme der Arten *Bacteroides fragilis* und *Escherichia coli* haben Laborexperimente zumindest das Potenzial ihrer Virulenzgene und Toxine z. B. zur DNS-Schädigung [21, 22] oder zum Auslösen von Entzündungsreaktionen [23, 24] in Tiermodellen ergeben (► **Tab. 1**).

Ungeklärter Kausalzusammenhang zwischen Mikrobiom und Darmkrebs

Im Zusammenhang mit diesen Forschungsergebnissen stellt sich die spannende Frage, ob diese Bakterien mit der Entstehung von Darmkrebs beim Menschen in einem kausalen Zusammenhang stehen und somit vorbeugende Interventionen gegen bestimmte Arten sinnvoll wären. Beispielsweise ist das Bakterium *Helicobacter pylori* als Karzinogen eingestuft [25], weswegen heutzutage Maßnahmen gegen *H. pylori* ergriffen werden, um der Entwicklung von Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüren sowie Magenkrebs vorzubeugen. Der aktuelle Stand der Darmkrebsforschung legt derzeit jedoch noch keine konkreten klinischen Maßnahmen nahe.

Darmkrebserkennung mittels bakterieller Marker

Obwohl einige Krebserkrankungen mit Veränderungen des Mikrobioms in Verbindung gebracht wurden (► **Tab. 2**), wurde das Mikrobiom bisher nur für die Darmkrebsdiagnostik evaluiert. Infolgedessen liegt der Fokus im Weiteren auf Darmkrebs.

Auch wenn die Rolle des Darmmikrobioms in der Ätiologie des kolorektalen Karzinoms bisher weitgehend ungeklärt ist, lässt sich unabhängig davon untersuchen, ob aus krebsassoziierten Veränderungen des Mikrobioms mikrobielle Biomarker zur Krebsfrüherkennung gewonnen werden können.

Limitationen existierender klinischer Diagnostikmethoden

Obwohl die Überlebenschancen durch Darmkrebsfrüherkennung und Behandlung enorm erhöht worden sind, gibt es noch viele Patienten, bei denen dieses Karzinom erst spät diagnostiziert wird. Ein Grund hierfür ist die relativ niedrige Akzeptanz (Compliance) angebotener Vorsorgeuntersuchungen wie der invasiven Darmspiegelung. Nicht-invasive Diagnostikmethoden wie FOBT (fäkaler okkultes Blut-Test) und FIT (fäkaler Immunochemie-Test) erreichen in der Regel keine vergleichbare Sensitivität und Spezifität, sodass ein positives Testergebnis durch die Darmspiegelung überprüft werden muss.

Merke

Mikrobielle Biomarkerforschung arbeitet letztlich darauf hin nicht-invasive kostengünstige und genaue Methoden zu entwickeln, die eine frühe Diagnostik (möglichst sogar vor Ausbruch der Krankheit) erlauben, um die Effizienz teurer invasiver Eingriffe sowie die Akzeptanz des Darmkrebs-Screenings zu erhöhen.

Von der Mikrobiomdysbiose zu mikrobiellen Darmkrebsmarkern

Untersuchungen des Mikrobioms von Darmkrebspatienten zielten schon früh darauf ab, mikrobielle Biomarker, die mittels Metagenomik in Stuhlproben identifiziert wurden, auf ihre Vorhersagegenauigkeit zu untersuchen. Eine hohe Genauigkeit wäre die erste Voraussetzung für die Entwicklung eines neuartigen, nicht-invasiven Krebsfrüherkennungstests. Stuhlproben sind nicht nur leicht zu gewinnen, sondern enthalten auch viele Mikroben und damit mikrobielle DNS. Dies begünstigt den Nachweis relevanter mikrobieller Arten, Stämme oder genetischer Marker, wie Virulenzfaktoren.

INFOBOX

Weitere Angriffspunkte für die Entwicklung mikrobieller Biomarker

- Metabolite aus mikrobieller Verstoffwechslung von Nahrungsbestandteilen
 - Verstoffwechslung von rotem Fleisch und Lipiden begünstigt die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen [26, 27]

- vermehrte Verstoffwechslung von Aminosäuren begünstigt die Darmkrebsentstehung [28]
- Virulenzgene/Toxine z. B. assoziiert mit Schädigung von DNS und Entzündung
 - Colibactin/pks island (Escherichia coli) [2, 22]
 - Bacteroides fragilis Toxin [23, 24, 29]
- Verschiebung der Mikrobiomkomposition als Ganzes (Dysbiose) e. g. Bakterielle Vaginose

Potenzial des Darmmikrobioms für nicht invasive Diagnostik

Mehrere Fall-Kontroll-Studien berichteten bereits über das diagnostische Potenzial des Mikrobioms für Darmkrebs mit Probanden aus Deutschland, Frankreich und Österreich [19, 30, 31] basierend auf metagenomischen Analysen von Stuhlproben. Ein erstes metagenomisches Klassifikationsmodell nutzte eine Kombination unterschiedlich häufiger mikrobieller Arten, um Krebs zu erkennen [19]. Dieses Modell basierte auf 22 Bakterienarten, die sich alle vermehrt in Krebspatienten finden. Maßgeblich zur Erkennungsgenauigkeit trugen zwei Fusobacterium-Arten bei, Porphyromonas asaccharolytica und Peptostreptococcus stomatis.

Merke

Die Sensitivität dieses metagenomischen Tests war etwas besser als die des Standard-FOBT bei gleicher Falsch-Positiv-Rate [19].

Metaanalyse von Darmkrebsmikrobiomstudien

Die genannten und weitere Markerbakterien wurden in etlichen unabhängigen Studien mit Probanden aus verschiedenen Ländern mit Darmkrebs assoziiert [31 – 35]. Um einen Überblick zu geben, inwieweit diese Marker internationale „Gültigkeit“ haben, wurden Daten mehrerer Studien in ► **Abb. 1** vergleichend analysiert. Außer den beschriebenen metagenomischen Studien [19, 30, 31, 33] wurden auch Klassifikationsmodelle entwickelt, die auf der Sequenzierung des 16S rRNS-Gens beruhen (z. B. [32, 35]). Obwohl auch hier ähnliche Taxa als Marker identifiziert wurden, ist ein direkter Vergleich zu den metagenomischen Studien schwierig, da die Auflösung der 16S rRNS-Gen-basierten Verfahren geringer ist.

► **Tab. 1** zeigt eine Übersicht aller Studien, die sich mit dem diagnostischen Potenzial des Mikrobioms im Kontext von Darmkrebs beschäftigten. Obwohl diese Ergebnisse vielversprechend sind, müssen die neuen Tests gegenüber den klinischen Standardverfahren deutlich genauer und ökonomisch sowie logistisch vertretbar sein. Die Kosten können gesenkt werden, wenn man die identifizierten Markerarten mit qPCR Techniken nachweisen kann, anstatt die gesamte DNS zu sequenzieren. Eine weitere interessante Möglichkeit besteht in der Kombination klinischer Tests mit neuartigen Mikrobiombasierten Verfahren um insgesamt verbesserte Ergebnisse zu erzielen.

Kombination klassischer nicht-invasiver Tests mit Mikrobiommarkern

Bei Darmkrebs wurde in der Tat nicht nur eine leichte Verbesserung der Sensitivität des metagenomischen Tests über den Stan-

dard-FOBT gefunden, sondern auch ein Kombinationstest mit deutlichen Verbesserungen entwickelt.

MERKE

Die Kombination aus dem metagenomischen Test und dem FOBT führte zu einer relativen Verbesserung der Sensitivität des FOBT um mehr als 45 % bei gleicher Spezifität [19].

Eine Folgestudie schlug eine Kombination des FIT mit 16S rRNS-Sequenzierung des Mikrobioms vor, welche zu einer höheren Sensitivität aber auch einer erniedrigten Spezifität als der FIT führte [32].

Ausblick für die klinische Mikrobiombasierte Diagnostik

Anwendung bei weiteren Mikrobiom-assoziierten Krebserkrankungen

Neben Darmkrebs wurden für einige andere Krebserkrankungen bereits Veränderungen des Mikrobioms beschrieben. Hierzu gehören Lungenkrebs, Gallenblasenkrebs, Bauchspeicheldrüsenkrebs sowie Hautkrebs, Kopf-Hals-Tumoren und Brustkrebs (siehe ► **Tab. 2**). Ob die Stärke der Assoziationen jedoch für eine diagnostische Anwendung ausreicht, wurde in diesen Studien nicht untersucht. Dennoch besteht durchaus Grund zur Hoffnung, dass mikrobielle Biomarker und Testverfahren auch für andere Krebserkrankungen für den klinischen Einsatz entwickelt werden könnten.

Erweiterung des Biomarkerspektrums

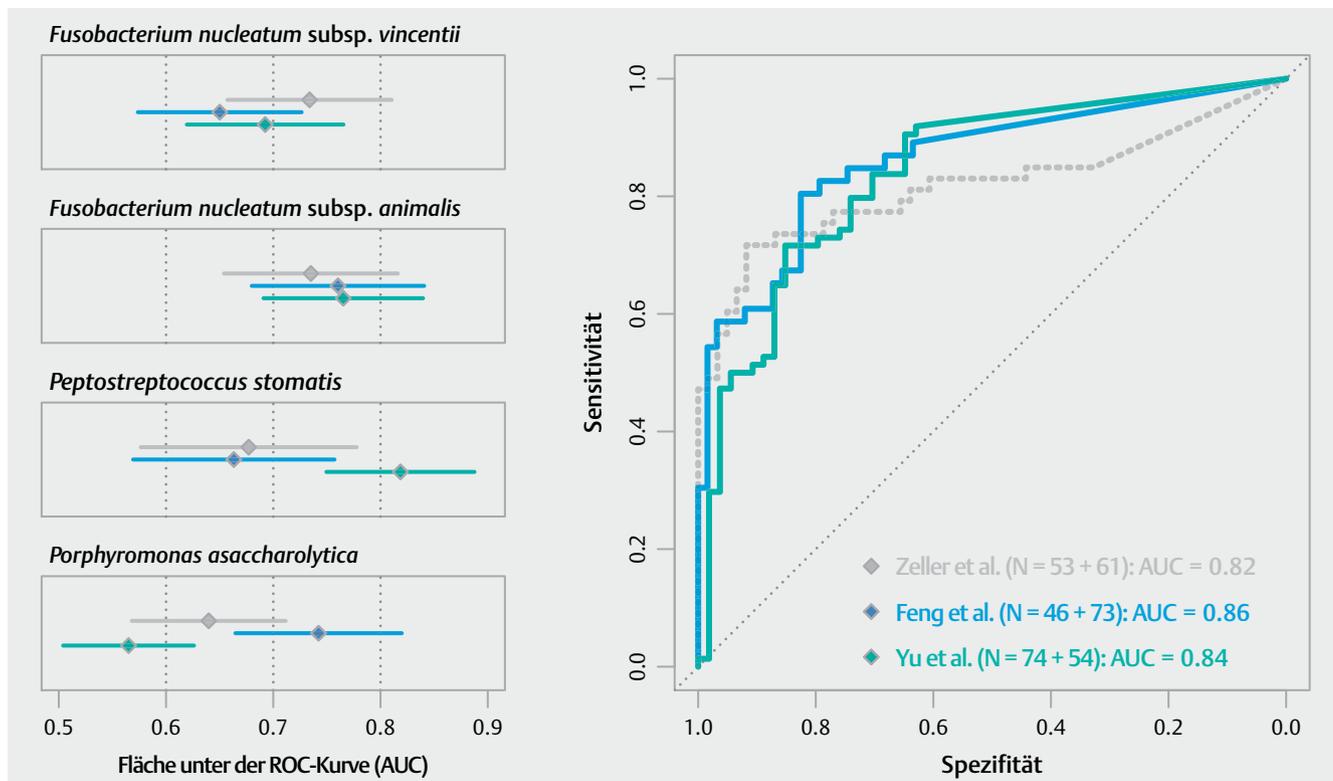
In zukünftigen Studien können neben der Identifikation taxonomischer Biomarker auch verschiedene Moleküle mikrobiellen Ursprungs (z. B. Gene, Proteine, Metabolite) auf deren Potenzial als Biomarker untersucht und für die Entwicklung eines Kombinationstestes herangezogen werden.

Anwendung für die Prognostik

Da das Darmmikrobiom schon auf leichte Umweltveränderungen reagieren kann, besteht die Hoffnung, schon Adenome selektiv zu identifizieren und somit Risiken frühzeitig zu erkennen und Maßnahmen ergreifen zu können. Eine Studie berichtete bereits über die Erkennung großer Adenome anhand mikrobieller Veränderungen [32]; für den klinischen Einsatz scheint das Signal jedoch (noch) zu schwach.

Personalisierte Diagnose und Behandlung

Da die Zusammensetzung des Mikrobioms auf Arten- und Stammebene von Mensch zu Mensch verschieden ist, können diese Informationen in der Zukunft zur Verbesserung der Diagnostik und Behandlung genutzt werden. Es wurde z. B. gezeigt, dass einzelne Arten des Darmmikrobioms zur Metabolisierung bestimmter Medikamente beitragen [36, 37] und es ist lange bekannt,



► **Abb. 1** Metaanalyse mikrobieller Darmkrebsbiomarker: Assoziation zwischen vier Bakterienarten und Darmkrebs (Biomarker ursprünglich identifiziert in einer Studie mit französischen Patienten [19]) in zwei weiteren, unabhängigen Studien mit Probanden aus Österreich bzw. China [30, 31]. Als Assoziationsmaß wurde die Fläche unter der Receiver-Operating-Characteristic (ROC) Kurve verwendet. Alle vier Marker sind in allen Studien signifikant, da die 95 %-Konfidenzintervalle 0,5 (Zufallsvorhersage) nicht einschließen. Ein multivariates logistisches Regressionsmodell wurde basierend auf der Quantifizierung dieser vier Markerbakterien in dem französischen Probandenkollektiv trainiert und zur Krebserkennung in den beiden anderen Studien verwendet. Seine Vorhersagegenauigkeit wurde durch ROC-Kurven abgeschätzt und legt eine sehr gute Generalisierbarkeit dieser Biomarker nahe (Die grau-gestrichelte ROC-Kurve zeigt die Trainingsgenauigkeit für die französische Studienpopulation).

dass einzelne Mutationen eine Bakterienart virulent oder antibiotikaresistent machen können. In Zukunft könnte demnach die Mikrobiomzusammensetzung Einfluss auf die Behandlungsstrategie haben.

Mikrobiom-basierte Therapien

Die Diagnose wird heute schon mit stratifizierter und gerade bei Krebs auch personalisierter Therapie verknüpft [38]. Mikrobiom-basierte Therapien in Form von Stuhltransplantation (FMT, englisch: Fecal Microbiota Transplantation) wurden schon im 4. Jahrhundert in der chinesischen Literatur beschrieben. Heute sind sie bei Infektion mit *Clostridium difficile* effektiver und nebenwirkungsärmer als Antibiotika [39]. FMT wird derzeit intensiv für die Behandlung verschiedenster Krankheiten (z. B. entzündliche Darmerkrankungen) oder Antibiotikaresistenzen erprobt und könnte durch personalisierte Ansätze weiter verbessert werden [40]. Diese Entwicklungen sind erst als Anfang zu sehen, jedoch könnten in Zukunft gezielte Veränderungen des Mikrobioms für das Wohlbefinden im Allgemeinen und die Verdauung, die Arzneimittelaufnahme oder -nebenwirkungen im Speziellen eine Rolle spielen.

KERNAUSSAGEN

- Der Fortschritt der Sequenzierungstechnologien erlaubt eine hochauflösende taxonomische Bestimmung des Mikrobioms und lässt dessen Veränderungen bei zahlreichen Krankheiten, inklusive Krebs, erkennen.
- Bei Darmkrebs wurden mehrere mikrobielle taxonomische Marker identifiziert, die die Unterscheidung von Krebspatienten von gesunden Probanden mit hoher Genauigkeit erlauben; sie wurden in mehreren Studien validiert.
- Zum gezielten Nachweis dieser mikrobiellen Marker werden derzeit nicht-invasive, kostengünstigere klinische Diagnostiktests entwickelt.
- Große repräsentative Studien werden notwendig sein, um den Wert dieser Mikrobiom-basierten Tests für das Darmkrebscreening auch in Kombination mit vorhandenen Diagnostikmethoden zu etablieren.
- Da neue Erkenntnisse über das Mikrobiom sich mit beachtlicher Geschwindigkeit mehren und erste Ansätze bereits klinische Relevanz erlangen, ist davon auszugehen, dass dem Mikrobiom bei Diagnose, Prognose und Therapie in Zukunft eine wachsende Rolle zukommen wird.

Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Autorinnen/Autoren



Dr. Anita Voigt

ist Postdoktorandin im Bereich „Structural and Computational Biology“, Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL) Heidelberg.
Anita.voigt@embl.de



Dr. Georg Zeller

ist Arbeitsgruppenleiter im Bereich „Structural and Computational Biology“, Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL) Heidelberg.
Georg.zeller@embl.de



Prof. Dr. Peer Bork

ist Arbeitsgruppenleiter und Leiter des Bereichs „Structural and Computational Biology“, Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL) Heidelberg.

Erstveröffentlichung

Dieser Beitrag wurde erstveröffentlicht in: Dtsch Med Wochenschr 2017; 142: 267–274.

Literatur

- Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol* 2016; 14: e1002533
- Li J, Jia H, Cai X et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol* 2014; 32: 834–841
- Voigt AY, Costea PI, Kultima JR et al. Temporal and technical variability of human gut metagenomes. *Genome Biol* 2015; 16: 73
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 2009; 457: 480–484
- Schloissnig S, Arumugam M, Sunagawa S et al. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature* 2013; 493: 45–50
- Qin J, Li Y, Cai Z et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 2012; 490: 55–60
- Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498: 99–103
- Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature* 2015; 528: 262–266
- Noguera-Julian M, Rocafort M, Guillen Y et al. Gut Microbiota Linked to Sexual Preference and HIV Infection. *EBioMedicine* 2016; 5: 135–146
- Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 2013; 500: 541–546
- Qin N, Yang F, Li A et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; 513: 59–64
- Michaud DS. Role of bacterial infections in pancreatic cancer. *Carcinogenesis* 2013; 34: 2193–2197
- Gao S, Li S, Ma Z et al. Presence of *Porphyromonas gingivalis* in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infect Agent Cancer* 2016; 11: 3
- Kullander J, Forslund O, Dillner J. *Staphylococcus aureus* and squamous cell carcinoma of the skin. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 472–478
- Castellarin M, Warren RL, Freeman JD et al. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 299–306
- Flanagan L, Schmid J, Ebert M et al. *Fusobacterium nucleatum* associates with stages of colorectal neoplasia development, colorectal cancer and disease outcome. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 1381–1390
- Kostic AD, Chun E, Robertson L et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell host & microbe* 2013; 14: 207–215
- Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS et al. Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 292–298
- Zeller G, Tap J, Voigt AY et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol* 2014; 10: 766
- Rubinstein MR, Wang X, Liu W et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/beta-catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell host & microbe* 2013; 14: 195–206
- Arthur JC, Gharaibeh RZ, Muhlbauer M et al. Microbial genomic analysis reveals the essential role of inflammation in bacteria-induced colorectal cancer. *Nat Commun* 2014; 5: 4724
- Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I et al. *Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 11537–11542
- Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 15354–15359
- Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM et al. A possible role of *Bacteroides fragilis* enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 782–786
- National Cancer Institute. *Helicobacter pylori* and Cancer. Im Internet: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents/h-pylori-fact-sheet-q3> Stand: 04.12.2016
- Koeth RA, Wang Z, Levison BS et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med* 2013; 19: 576–585
- Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472: 57–63
- Weir TL, Manter DK, Sheflin AM et al. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults. *PLoS One* 2013; 8: e70803
- Wu S, Rhee KJ, Albesiano E et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med* 2009; 15: 1016–1022
- Feng Q, Liang S, Jia H et al. Gut microbiome development along the colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Nat Commun* 2015; 6: 6528
- Yu J, Feng Q, Wong SH et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut* 2015; pii: doi:10.1136/gutjnl-2015-309800
- Baxter NT, Ruffin MT 4th, Rogers MA et al. Microbiota-based model improves the sensitivity of fecal immunochemical test for detecting colonic lesions. *Genome Med* 2016; 8: 37
- Vogtmann E, Hua X, Zeller G et al. Colorectal Cancer and the Human Gut Microbiome: Reproducibility with Whole-Genome Shotgun Sequencing. *PLoS One* 2016; 11: e0155362

- [34] Wang T, Cai G, Qiu Y et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J* 2012; 6: 320–329
- [35] Zackular JP, Rogers MA, Ruffin MT 4th et al. The Human Gut Microbiome as a Screening Tool for Colorectal Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)* 2014; 7: 1112–1121
- [36] Iida N, Dzutsev A, Stewart CA et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 2013; 342: 967–970
- [37] Viaud S, Saccheri F, Mignot G et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 2013; 342: 971–976
- [38] Jameson JL, Longo DL. Precision medicine—personalized, problematic, and promising. *N Engl J Med* 2015; 372: 2229–2234
- [39] van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013; 368: 407–415
- [40] Li SS, Zhu A, Benes V et al. Durable coexistence of donor and recipient strains after fecal microbiota transplantation. *Science* 2016; 352: 586–589
- [41] Mima K, Nishihara R, Qian ZR et al. *Fusobacterium nucleatum* in colorectal carcinoma tissue and patient prognosis. *Gut* 2015; pii: doi:10.1136/gutjnl-2015-310101
- [42] Ito M, Kanno S, Noshō K et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with clinical and molecular features in colorectal serrated pathway. *Int J Cancer* 2015; 137: 1258–1268
- [43] Yu J, Chen Y, Fu X et al. Invasive *Fusobacterium nucleatum* may play a role in the carcinogenesis of proximal colon cancer through the serrated neoplasia pathway. *Int J Cancer* 2016; 139: 1318–1326
- [44] Mima K, Sukawa Y, Nishihara R et al. *Fusobacterium nucleatum* and T Cells in Colorectal Carcinoma. *JAMA Oncol* 2015; 1: 653–661
- [45] Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S et al. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 15354–15359
- [46] Inaba H, Sugita H, Kuboniwa M et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes invasion of oral squamous cell carcinoma through induction of proMMP9 and its activation. *Cell Microbiol* 2014; 16: 131–145
- [47] Urbaniak C, Gloor GB, Brackstone M et al. The Microbiota of Breast Tissue and Its Association with Breast Cancer. *Appl Environ Microbiol* 2016; 82: 5039–5048
- [48] Nagaraja V, Eslick GD. Systematic review with meta-analysis: the relationship between chronic *Salmonella typhi* carrier status and gall-bladder cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 39: 745–750
- [49] Hua-Feng X, Yue-Ming W, Hong L et al. A meta-analysis of the association between *Chlamydia pneumoniae* infection and lung cancer risk. *Indian J Cancer* 2015; 52 (Suppl. 2): e112–e115
- [50] Wroblewski LE, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori*, Cancer, and the Gastric Microbiota. *Adv Exp Med Biol* 2016; 908: 393–408