

Was ist Epigenetik ?

Bernhard Horsthemke, Institut für Humangenetik Essen

Obwohl die Epigenetik von vielen als eine neue Disziplin im postgenomischen Zeitalter angesehen wird, ist dieses Konzept schon mehr als 60 Jahre alt. Es geht auf den britischen Biologen Conrad Hal Waddington (1905-1975) zurück. Eine ausführliche Würdigung des Werkes von Waddington findet sich z.B. bei Van Speybroeck, 2002.

Bis in die Mitte des letzten Jahrhunderts waren Embryologie und Genetik zwei völlig getrennte Disziplinen. 1651 hatte der britische Arzt William Harvey die Theorie der Epigenese begründet. Sie besagt, dass der Embryo nicht schon fertig ausgebildet in der Ei- oder Samenzelle vorliegt, sondern sich durch sukzessive Bildung neuer Strukturen entwickelt. 1796 wurde diese Theorie durch die Untersuchungen des deutschen Anatomen Caspar Friedrich Wolff bewiesen, und viele embryologische Untersuchungen folgten. Bis 1950 benutzten Embryologen mikrochirurgische Techniken und chemische Substanzen, um durch die Störung von Entwicklungsprozessen grundlegende Prinzipien der Epigenese aufzuklären. Trotz vieler Erkenntnisse über die Embryonalentwicklung konnten Embryologen aber nicht erklären, warum Nachkommen ihren Eltern ähnlich sind. Andererseits untersuchte die Genetik, die Anfang des 20. Jahrhunderts nach der Wiederentdeckung der Mendel'schen Regeln entstanden war, das Verhalten von Genen während der Vererbung, konnte aber nicht erklären, wie ein bestimmter Phänotyp zustande kommt. Waddington hat die Genetik in die Embryologie eingeführt und durch Zusammenziehung der Wörter „Epigenese“ und „Genetik“ den Begriff „Epigenetik“ geprägt. Häufig hört man, dass der Begriff „Epigenetik“ eingeführt wurde, um damit eine Regulationsebene über (griechisch „epi“) der DNA zu bezeichnen. Obwohl diese Wortdeutung einen wichtigen Aspekt der Epigenetik trifft, ist sie historisch falsch.

Waddington fasste die Rolle der Epigenetik wie folgt zusammen: „We know that a fertilized egg contains some preformed elements – namely, the genes and a certain number of

different regions of cytoplasm – and we know that during development these interact in epigenetic processes to produce final adult characters and features that are not individually represented in the egg“. Nach Waddington bilden „feedback reactions from gene to gene, cytoplasm to gene, and cytoplasm to cytoplasm“ das epigenetische System einer Zelle. Mit dieser Definition kann Waddington auch als Begründer der Systembiologie angesehen werden, die als neueste Entwicklung der Molekularbiologie gilt.

Epigenetik ist also im Prinzip das Studium der Gene während der Entwicklung und verknüpft damit Vererbung, Entwicklung und Evolution. Nach Waddington bestimmen Gene und Umwelt einen bestimmten Phänotyp vermittelt des Epigenotyps. Das klassische Modell der Genotyp-Phänotyp-Unterscheidung muss deshalb um den Epigenotyp erweitert werden.

Nach wissenschaftlich sehr fruchtbaren Jahren als Leiter der damals größten genetischen Abteilung der Welt in Edinburgh gründete Waddington 1965 die erste „Epigenetic Research Group“, aber das Konzept der Epigenetik entwickelte sich nicht so wie Waddington es sich erhofft hatte; es fehlten damals einfach die Werkzeuge und Methoden. Außerdem interessierten sich die aufkommende Molekularbiologie und die Förderorganisationen hauptsächlich für die neuen DNA- und RNA-Hybridisierungstechniken, die damals aber keinen unmittelbaren Zugang zur Untersuchung der Embryonalentwicklung boten. Heute, nach der To-

Tab 1 Projektgruppen des DFG-Schwerpunktprogramms „Epigenetics“ (SPP 1129) (2002-2008)

Fördervolumen (2002-2005): 5,3 Mio Euro
<http://www.uni-saarland.de/fak8/genetik/dfg/html/projekte.html>

- Identification and characterization of the MOF histone acetyl transferase gene as a novel chromatin entry site on the Drosophila male X chromosome
Dr. Akhtar, Asifa · Heidelberg
- Gene and imprinting defects in patients with Prader-Willi- and Angelman syndrome
Dr. Buiting, Karin, Prof. Dr. Horsthemke, Bernhard · Essen
- Translation and replication of epigenetic information
Dr. Cardoso, Maria Cristina · Berlin
- Mechanisms of RASSF1A tumor suppressor gene inactivation by de novo methylation of the promoter CpG island during carcinogenesis
Dr. Dammann, Reinhard · Halle
- Reestablishment of epigenetic patterns of histone modification after DNA replication and chromatin assembly in *S. cerevisiae*
Prof. Dr. Ehrenhofer-Murray, Ann Elizabeth · Giessen
- Epigenetic mechanisms regulating ribosomal gene transcription
Prof. Dr. Grummt, Ingrid, Dr. Santoro, Raffaella · Heidelberg
- Epigenetic reprogramming in early embryos: evolution, mechanisms and implications for mammalian development
Prof. Dr. Haaf, Thomas · Mainz
- Biochemistry and biological function of mammalian Dnmt1
Prof. Dr. Jeltsch, Albert · Bremen; Dr. Leitges, Michael · Hannover
- Maintenance and modification of epigenetic information: Coordination of DNA replication and methylation during the cell cycle and in development
Prof. Dr. Leonhardt, Heinrich · München
- Functional characterization of DNA methylation in *Drosophila*
Dr. Lyko, Frank · Heidelberg
- A genetic screen for new Polycomb group genes in *Drosophila melanogaster*
Dr. Müller, Jürg · Heidelberg
- Gene silencing by RNAi and DNA Methylation
Prof. Dr. Nellen, Wolfgang · Kassel
- Identification of regulatory elements responsible for genomic imprinting in mammals
Dr. Paulsen, Martina, Prof. Dr. Walter, Jörn · Saarbrücken
- Beckwith-Wiedemann syndrome and associated tumors – Identification of factors essential for imprinting mechanisms
Dr. Prawitt, Dirk, Prof. Dr. Zabel, Bernhard · Mainz
- Initiation and epigenetic stability of heterochromatic gene silencing in *Drosophila*
Prof. Dr. Reuter, Gunter · Halle
- Interbands: Epigenetic mechanisms of the formation of domains and boundaries on interphase chromosomes
Prof. Dr. Saumweber, Harald · Berlin
- DNA-methylation reprogramming during early embryogenesis and primordial germ cell development
Prof. Dr. Walter, Jörn · Saarbrücken

Abb 1 Projektgruppen des EU-Network of Excellence (NoE): Epigenome

epigenetic focus	permanent member		associate member		NET member		'big questions'
1. chromatin modification	A. Bird, Edinburgh	mouse	A. Imhof, Munich	<i>Drosophila</i>	F. van Leeuwen, Amsterdam	yeast	histone code? epigenetic pathways? enzyme inhibitors?
	B. Turner, Birmingham	mammalian cells	R. Meehan, Edinburgh	<i>Xenopus/m</i> cells	I. Stancheva, Edinburgh	human cells	
	T. Jenuwein, Vienna	mouse	S. Pimpinelli, Rome	<i>Drosophila</i>			
	J. Paszkowski, Geneva	plants					
2. nucleosome dynamics	P. Becker, Munich	<i>Drosophila</i>	M. Yaniv, Paris	mouse	P. Varga-Weisz, Cambridge	mammalian cells	active chromatin? repressed chromatin? epigenetic plasticity?
	P. Verrijzer, Rotterdam	<i>Drosophila</i>	C. Muchardt, Paris	mammalian cells			
	W. Hörz, Munich	<i>S. cerevisiae</i>	O. Wrangé, Stockholm	<i>Xenopus</i>			
3. non-coding RNA & gene silencing	R. Allshire, Edinburgh	<i>S.pombe</i>	D. Baulcombe, Norwich	plants	A. Akhtar, Heidelberg	<i>Drosophila</i>	non-coding RNAs? chromosome individuality? centromere identity?
	G. Reuter, Halle	<i>Drosophila</i> / plants	W. Filipowicz, Basel	mammalian cells	K. Ekwall, Stockholm	<i>S. pombe</i>	
	P. Meyer, Leeds	plants	J. Kooter, Amsterdam	plants			
			M. Matzke, Vienna	plants			
4. Xi/imprinting	N. Brockdorff, London	mammalian cells	R. Feil, Montpellier	mammalian cells	A. Wutz, Vienna	mouse	mechanisms of imprinting? role of non-coding RNAs? regulation in development?
	U. Grossniklaus, Zürich	plants					
	P. Avner, Paris	mammalian cells					
5. transcriptional memory	I. Grummt, Heidelberg	mammalian cells	R. Festenstein, London	mouse	V. Orlando, Naples	<i>Drosophila</i> /mamm. cells	epigenetic maintenance? nature of memory? long-range regulation?
	R. Paro, Heidelberg	<i>Drosophila</i>	J. Müller, Heidelberg	<i>Drosophila</i>			
	F. Grosveld, Rotterdam	mouse	F. Stewart, Dresden	yeast / mouse			
6. assembly & nuclear organisation	G. Almouzni, Paris	<i>Xenopus</i> / mamm. cells	P. Fraser, Cambridge	mammalian cells	G. Cavalli, Montpellier	<i>Drosophila</i>	epigenetic duplication? positional information? domain propagation?
	W. Bickmore, Edinburgh	mammalian cells	E. Gilson, Lyon	yeast / mouse	E. Heard, Paris	mammalian cells	
	S. Gasser, Geneva	<i>S. cerevisiae</i>	J. Skok, London	mammalian cells			
7. cell fate & disease	M. Busslinger, Vienna	mouse	M. Blasco, Madrid	mammalian cells	A. Peters, Basel	mouse	pluripotency? germ line imprint? epigenetic dysfunction?
	A. Fisher, London	mammalian cells	D. Higgs, Oxford	human / mouse			
	A. Surani, Cambridge	mouse	M. v. Lohuizen, Amsterdam	mouse			
			E. Maher, Birmingham	clinical			
			E. Viegas-Pequignot, Paris	human / mamm. cells			
8. epigenomic maps	D. Barlow, Vienna	mammalian cells	K. Berlin, Epigenomics AG	human cell	V. Colot, Paris	plants	genome evolution? species specificity? pathological aberrations?
	J. Walter, Saarbrücken	mouse	I. Dunham, Sanger Institute	bio-informatics	B. van Steensel, Amsterdam	<i>Drosophila</i> /m. cells	
	W. Reik, Cambridge	mouse	A. Ferguson-Smith, Cambridge	mouse			
			M. Georges, Lieges	sheep			

Abb 1 Regionale Verteilung des NoE: Epigenome

In diesem Netzwerk arbeiten gegenwärtig 25 bereits etablierte Forschergruppen, 12 neue speziell geschaffen für junge Wissenschaftler (*newly established team* = NET), die über 10 europäische Länder verteilt sind. Die EU fördert dieses NoE mit 12.5 Mio € im Rahmen des Framework 6 Programme (FP6).

Laufzeit 5 Jahre (2004-2009).



talsequenzierung vieler Genome und dem gewaltigen Fortschritt der molekularen Zellbiologie kennen wir fast alle Gene und die „verschiedenen Regionen des Cytoplasmas“ und wir haben eine gute Vorstellung über die molekulare Natur des Epigenotyps. Deswegen erleben wir jetzt auch die zweite oder vielleicht besser ausgedrückt, die erste richtige Blüte der Epigenetik. Nach dem internationalen Genomprojekt hat jetzt das internationale Epigenomprojekt begonnen, in dem eine genomweite Referenzkarte zeit- und gewebsspezifischer DNA-Methylierungsmuster erstellt wird (sie-

he den Beitrag von S. Beck). In Deutschland hat die Deutsche Forschungsgemeinschaft der Entwicklung durch die Einrichtung eines Schwerpunktprogramms „Epigenetik“ Rechnung getragen (Koordinatoren sind J. Walter und B. Horsthemke). Viele Autoren dieser Ausgabe der Zeitschrift *medizinische Genetik* werden im Rahmen des Schwerpunktprogramms gefördert (Tab. 1). Mit Förderung durch die EU hat sich in Europa das Epigenome Network of Excellence etabliert (<http://www.epigenome-noe.net>) (Tab. 2 und Abb. 1).

Die moderne, molekulare Epigenetik beschäftigt sich mit der Variation und Vererbung von Genexpressionszuständen, die im Wesentlichen durch Histonmodifikation (Histone sind die Proteine, um die die DNA herumgewickelt ist) und DNA-Methylierung festgelegt sind (siehe dazu die Beiträge von W. Dörfler, S. Lein und G. Reuter). Diese Modifikationen beeinflussen die Struktur des Chromatins und bestimmen, ob Bindestellen in der DNA für Transkriptionsfaktoren zugänglich und Gene aktiv oder inaktiv sind. In erster Annäherung existiert Chromatin in zwei Zuständen: transkriptionskompetentes Chromatin und transkriptionsinaktives Chromatin. Die Acetylierung von Histon H3 am Lysinrest 9 (H3K9) z.B. findet man typischer Weise in transkriptionskompetentem Chromatin, während H3K9-Methylierung ein Zeichen transkriptionsinaktiven Chromatins ist. In Säugtieren und bestimmten Pflanzen ist der inaktive Zustand bestimmter Regionen auch durch die Methylierung von Cytosinresten in CpG-Dinukleotiden gekennzeichnet. Wenn Gene zu einem bestimmten Zeitpunkt der Entwicklung durch einen Transkriptionsfaktor an- oder abgeschaltet werden, persistiert dieser Aktivitätszustand in der Regel durch mehrere Zellteilungen hindurch, selbst wenn das primäre Signal abgeklungen ist. Die Aufrechterhaltung der Genaktivitätszustände (manchmal auch „cellular memory“ genannt) wird durch den

Epigenotyp kontrolliert. Er wird somatisch vererbt, ist aber potentiell reversibel. In der Regel wird er während der Keimzellentwicklung oder im frühen Embryonalstadium ausradiert, es gibt aber einige Beispiele von Vererbung epigenetischer Muster durch die Keimbahn (siehe den Beitrag von K. Buiting).

Zwei spezielle und besonders interessante Fälle epigenetischer Regulation sind die X-Inaktivierung in den Zellen weiblicher Individuen sowie die genomische Prägung (Imprinting) bestimmter Chromosomenbereiche. In beiden Fällen unterscheiden sich die zwei Allele eines Gens in ihrem Aktivitätszustand, hervorgerufen durch epigenetische Unterschiede. Bei der X-Inaktivierung würfelt die Natur, beim Imprinting ist der epigenetische Zustand davon abhängig, ob das Allel von Vater oder Mutter geerbt wurde. Mit Imprinting und epigenetischer Reprogrammierung beschäftigen sich die Beiträge von J. Walter und M. Paulson sowie T. Haaf.

Variation und Vererbung sind das zentrale Thema der Genetik. Dies gilt auch für die Epigenetik. Es ist aber wahrscheinlich, dass die epigenetische Varianz sehr viel größer ist als die genetische Varianz. Das liegt auch daran, dass der Epigenotyp nicht nur vom Genotyp beeinflusst wird, sondern auch von der Umwelt. Folsäurespiegel in der Nahrung können z.B. den Grad der DNA-Methylierung beeinflussen. Es gibt Schätzungen die besagen, dass epigenetische Aberrationen (Epimutationen) ein bis zwei Größenordnungen häufiger auftreten als somatische DNA-Mutationen. Andererseits kann epigenetische Variation auch verborgene genetische Variation hervortreten lassen. Nach Waddington's berühmtem Konzept der Kanalisierung sind Entwicklungsprozesse gegen Veränderung im Genom und in der Umwelt abgepuffert. Dies erklärt, dass sich die Wildtypen einer Spezies sehr ähnlich sind. Auf Grund dieses Puffers kann sich in einer Population genetische Variation anreichern, ohne phänotypisch manifest zu werden. Beim Zusammenbruch des Puffers unter extremem Stress kann sich diese verborgene

Variation phänotypisch ausprägen und in nachfolgenden Generationen selektioniert werden. Auch Störungen der Chromatinregulation, also Epimutationen, können zur phänotypischen Manifestation verborgener genetischer Variation führen.

Die Epigenetik gewinnt auch in der medizinischen Genetik zunehmend an Bedeutung (siehe die Beiträge von D. Kotzot und B. Horsthemke). Es gibt häufige genetische Erkrankungen, die sich hauptsächlich über epigenetische Mechanismen ausprägen, wie z.B. das Fragile X-Syndrom, bei dem das FMR1-Gen infolge einer Trinukleotidrepeatverlängerung methyliert und abgeschaltet wird. Die Epigenetik kann wahrscheinlich aber auch dazu beitragen, die klinische Variabilität monogener Erkrankungen zu erklären. Sie könnte auch in der Lage sein, bestimmte Aspekte von Volkskrankheiten aufzuklären. Trotz der Erfolge einiger Assoziationsstudien mit Hilfe von DNA-Polymorphismen fehlt hier der große Durchbruch der klassischen Genetik. Gerade Erkrankungen mit hauptsächlich sporadischem Auftreten, Diskordanz bei eineiigen Zwillingen, und unilaterale Manifestation „riechen“ nach Epimutationen. Beim Krebs ist die Epigenetik schon lange etabliert (siehe den Beitrag von D. Prawitt und B. Zabel). Ich gehe davon aus, dass bestimmte Fehlbildungen und Volkskrankheiten zur Liste „epigenetischer Erkrankungen“ hinzukommen werden.

Da epigenetische Muster potentiell reversibel sind, eröffnen sich für Erkrankungen mit epigenetischer Ätiologie völlig neue Therapieoptionen. Es gibt z.B. Substanzen, die die DNA-Methylierung oder Histondeacetylierung inhibieren (Azacytidin, Trichostatin A, Valproinsäure und andere). Damit können abgeschaltete Gene wieder angeschaltet werden, zur Zeit allerdings noch relativ unspezifisch. Erste klinische Studien mit „epigenetischen Arzneimitteln“ laufen aber bereits (zur epigenetischen Krebstherapie siehe den Beitrag von B. Brückner und F. Lyko).

Literatur

Van Speybroeck, L (2002) From Epigenesis to Epigenetics – The case of C.H. Waddington. *Ann N.Y. Acad Sci* 981:61-81