Apoptose

Neue Technologien entschlüsseln die Dynamik regulierter Zelltodprogramme

LEONIE WITTE[1], MATTHIAS WIRTH[1,2,3,4,5]
[1] KLINIK FÜR ALLGEMEIN-, VISZERAL- UND KINDERCHIRURGIE, UNIVERSITÄTSMEDIZIN GÖTTINGEN
[2] COMPREHENSIVE CANCER CENTER NIEDERSACHSEN (CCC-N), GÖTTINGEN
[3] KLINIK FÜR HÄMATOLOGIE, ONKOLOGIE UND TUMORIMMUNOLOGIE, CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN, ANGEGLIEDERT AN DIE FU BERLIN UND DIE HU BERLIN
[4] MAX-DELBRÜCK-CENTER FÜR MOLEKULARE MEDIZIN, BERLIN
[5] DEUTSCHES ZENTRUM FÜR TRANSLATIONALE KREBSFORSCHUNG (DKTK), PARTNERSTANDORT BERLIN

Programmed cell death is increasingly recognized as a dynamic process that shapes tissue regeneration, tumor growth, and immune responses. Recent advances in fluorescent reporter technologies enable real-time visualization of apoptosis in living cells and complex 3D models while supporting automated imaging workflows. These tools provide new insights into apoptosis-induced proliferation and immunogenic cell death, opening opportunities for mechanistic studies, drug screening, and cancer research.

DOI: 10.1007/s12268-026-2841-5
© The Author(s) 2026

Der Tod einzelner Zellen ist eine grundlegende Voraussetzung für die Funktion vielzelliger Organismen. Täglich werden Milliarden von Zellen kontrolliert eliminiert und durch neue ersetzt. Lange Zeit wurde programmierter Zelltod vor allem als Endpunkt biologischer Prozesse betrachtet. Heute ist bekannt, dass sterbende Zellen ihre Umgebung aktiv beeinflussen, Regenerationsprozesse anstoßen und unter bestimmten Bedingungen das Immunsystem aktivieren können. Moderne bildgebende Verfahren ermöglichen es, diese Vorgänge in Echtzeit und mit hoher räumlicher Auflösung zu verfolgen.

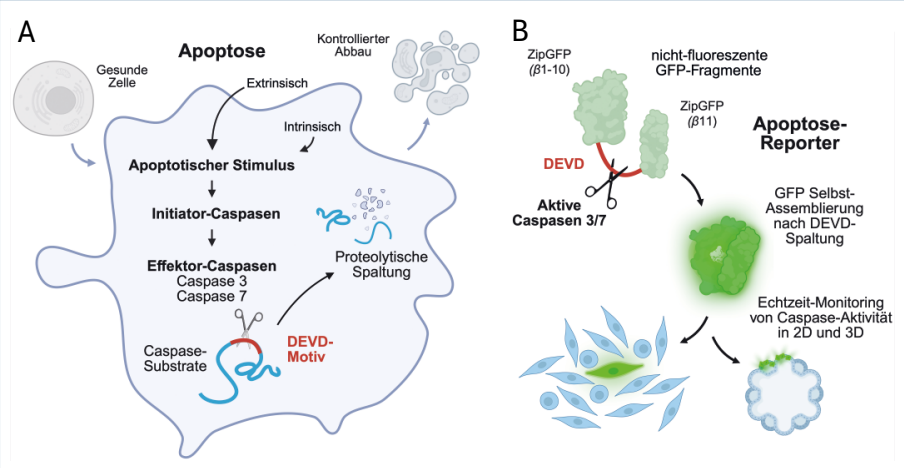


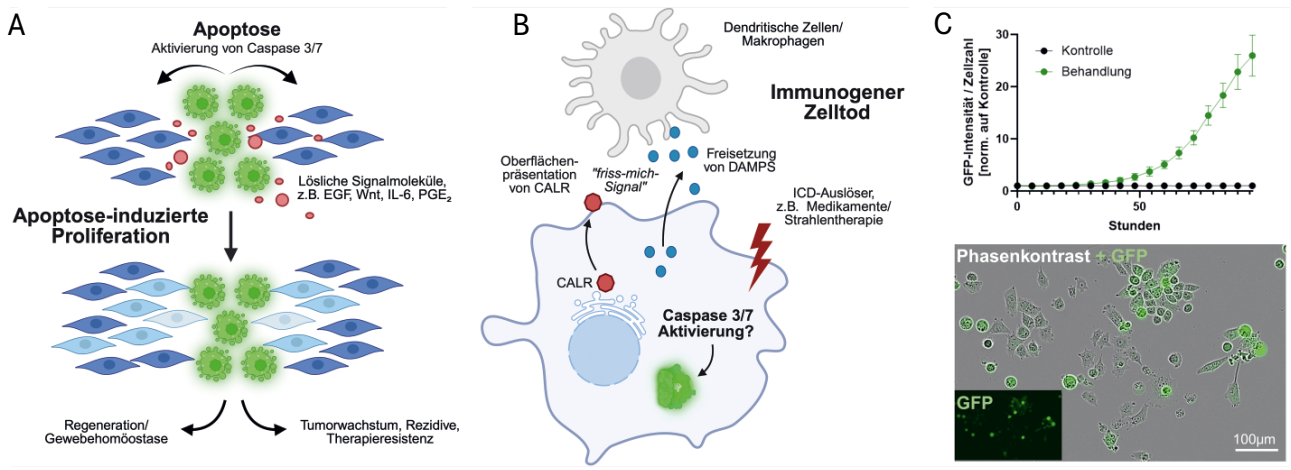
Abb. 1: Apoptose-Nachweis durch Caspase-aktivierbares GFP. **A**, Die apoptotische Signalkaskade führt zur Aktivierung der Effektorcaspasen 3 und 7, die durch Spaltung von DEVD-Motiven den programmierten Zelltod ausführen. **B**, Ein in die GFP-Sequenz integrierter DEVD-Linker ermöglicht die Echtzeitdetektion der Caspase-Aktivität: Erst nach Caspase-vermittelter Spaltung kann sich ZipGFP korrekt reißverschlussartig (Zip) assemblieren und fluoreszieren (GFP: grün fluoreszierendes Protein). Created in BioRender. https://BioRender.com/2jf3msw.

Apoptose – ein zentraler Prozess für Gesundheit und Krankheit

Die Apoptose gehört zu den am besten untersuchten Formen des regulierten Zelltods. Sie spielt eine zentrale Rolle während der Embryonalentwicklung, bei der Gewebeerneuerung sowie bei der Entfernung irreparabel geschädigter oder infizierter Zellen. Fehlregulationen apoptotischer Prozesse werden mit zahlreichen Erkrankungen in Verbindung gebracht, darunter Krebs und Autoimmunerkrankungen [1–3]. Charakteristisch für die Apoptose ist ihr geordneter Ablauf. Anders als bei der Nekrose erfolgt die Demontage apoptotischer Zellen kontrolliert und meist ohne ausgeprägte Entzündungsreaktion. Zentral sind dabei die Effektorcaspasen 3 und 7, die durch die Spaltung zahlreicher Proteine das Zelltodprogramm ausführen (**Abb. 1A**).

Die Untersuchung apoptotischer Prozesse bleibt jedoch herausfordernd, u. a. da klassische Methoden wie Annexin-V-Färbungen, TUNEL-Färbungen (*TdT-mediated dUTP-Biotin Nick End Labeling*) oder der Nachweis gespaltener Caspasesubstrate meist nur Momentaufnahmen liefern. Dadurch bleibt die tatsächliche Dynamik des Zelltods häufig verborgen. Besonders in dreidimensionalen Zellkulturmodellen erschweren zusätzlich Farbstoffpenetration und räumliche Heterogenität die Analyse. Da solche Modelle, die z. B. von Patientenproben abgeleitet werden können, die physiologische Gewebeverhältnisse jedoch wesentlich besser nachbilden als klassische Zellmonolayer, ist die Analyse des Zelltods ausgerechnet hier besonders spannend und forschungsrelevant.

Ein neuer genetisch codierte Fluoreszenzreporter eröffnet nun neue Möglichkeiten [4].



▲ **Abb. 2:** Apoptose als Signalquelle. **A**, **B**, Apoptotische Zellen setzen Signalmoleküle frei und präsentieren diese an ihrer Oberfläche. Dadurch können sie die Proliferation benachbarter Zellen fördern (A) oder Immunantworten aktivieren (B). Diese Prozesse sind mittels fluoreszenzbasierter Caspase-reporter in Echtzeit und mit hohem Durchsatz analysierbar. **C**, Diese Prozesse sind mittels fluoreszenzbasierter Caspasereporter in Echtzeit und mit hohem Durchsatz analysierbar. Created in BioRender. https://BioRender.com/buz3br5.

Der Reporter basiert auf einem ZipGFP-System (Zip: Reißverschluss; GFP: grün fluoreszierendes Protein) und nutzt eine zentrale Eigenschaft der Effektorcaspasen 3 und 7. Nach ihrer Aktivierung spalten diese Enzyme eine integrierte DEVD-Aminosäuresequenz (Asp-Glu-Val-Asp), ein charakteristisches Erkennungsmotiv zahlreicher apoptotischer Caspasesubstrate. Dadurch können sich zuvor getrennte GFP-Fragmente zu einem funktionellen Fluoreszenzprotein assemblieren, das als direktes optisches Signal für die Aktivierung der apoptotischen Caspasekaskade dient (**Abb. 1B**). Apoptotische Ereignisse können so in lebenden Zellen über Stunden bis Tage in Echtzeit verfolgt werden.

In dreidimensionalen Tumormodellen und patientenabgeleiteten dreidimensionalen Organoiden lässt sich damit analysieren, wann und wo Apoptose auftritt und wie sie sich innerhalb einer Zellpopulation ausbreitet. Durch die stabile genomische Integration eignet sich das System sowohl für automatisierte High-Content-Analysen, zur Analyse von Therapieantworten in Organoiden, als auch für das Screening neuer Wirkstoffkandidaten. Auf diese Weise wird Apoptose als dynamischer Prozess in räumlicher und zeitlicher Auflösung erfassbar.

Wenn sterbende Zellen Wachstum fördern – Apoptose-induzierte Proliferation

Lange galt Apoptose als rein eliminativer Prozess. Heute ist bekannt, dass apoptotische Zellen ihre Umgebung aktiv beeinflussen können. Besonders bemerkenswert ist dabei das Phänomen der Apoptose-induzierten Proliferation (AIP). Unter AIP versteht man die Fähigkeit sterbender Zellen, Signale freizusetzen, die das Wachstum benachbarter überlebender Zellen stimulieren. Dieser Prozess wurde u. a. in *Drosophila* beschrieben, wo apoptotische Zellen durch die Freisetzung spezifischer Signale die Proliferation benachbarter Zellen fördern und zur Gewebehomöostase beitragen. Vergleichbare Mechanismen werden auch in Säugetieren diskutiert, in denen apoptotische Zellen an Regenerationsprozessen nach Gewebeschäden beteiligt sein können [5, 6].

Im Kontext von Tumorerkrankungen besitzt derselbe Mechanismus jedoch eine problematische Seite: Viele der aktuell eingesetzten Krebstherapien, z. B. Strahlen- und Chemotherapie, zielen darauf ab, Tumorzellen durch die Aktivierung apoptotischer Programme abzutöten. Obwohl dadurch große Teile eines Tumors eliminiert werden können, kann durch die gleichzeitige Freisetzung wachstumsfördernder Signale die Proliferation verbleibender überlebender Zellen verstärkt werden. Dieser Mechanismus kann zu Therapieresistenz und Tumorrezidiven beitragen (**Abb. 2A**). Zu den freigesetzten proliferationsfördernden Signalen gehören Wachstumsfaktoren wie der *Epidermal Growth Factor* (EGF) sowie entzündliche Mediatoren wie Interleukin-6. Interessanterweise kann Caspase 3 trotz ihrer zentralen Funktion als Effektor der Apoptose auch an der Entstehung wachstumsfördernder Signale beteiligt sein. Über nachgeschaltete Mediatoren wie Prostaglandin E_2 (PGE_2) können sterbende Zellen die Repopulation des Tumors unterstützen – ein Mechanismus, der als konkreter Beitrag zu Tumorrezidiven nach Strahlen- oder Chemotherapie diskutiert wird [7–9].

Für die experimentelle Untersuchung dieser Prozesse sind Verfahren erforderlich, die apoptotische Ereignisse und Zellproliferation gleichzeitig erfassen können. Moderne Reporterplattformen wie der oben beschriebene ZipGFP-Reporter ermöglichen dies durch die Kombination von Caspase-abhängigen Fluoreszenzsignalen mit Proliferationsmarkern. Während die Aktivierung von Caspase 3 und Caspase 7 den Beginn apoptotischer Prozesse sichtbar macht, erlauben teilungssensitive Farbstoffe die parallele Beobachtung proliferierender Zellen innerhalb derselben Kultur. Besonders interessant ist die Möglichkeit, räumliche Zusammenhänge zu analysieren und Regionen apoptotischer Aktivität direkt mit der Proliferation benachbarter Zellen zu korrelieren. Dadurch wird sichtbar, wie eng Zelltod und Gewebereaktionen miteinander verknüpft sind.

Immunogener Zelltod – wenn sterbende Tumorzellen das Immunsystem aktivieren

Apoptose wurde lange als immunologisch weitgehend unauffälliger Prozess betrachtet, der typischerweise keine ausgeprägte Immunantwort hervorruft. Heute ist bekannt, dass bestimmte Formen des regulierten Zelltods eine aktive Immunantwort auslösen können. Dieser Prozess wird als immunogener Zelltod (ICD: *Immunogenic Cell Death*) bezeichnet und gilt als einer der spannendsten Forschungsbereiche der modernen Tumorforschung.

Im Gegensatz zur klassischen Apoptose erzeugt immunogener Zelltod Signale, die das Immunsystem alarmieren. Hierzu gehören die *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs), die die Rekrutierung und Aktivierung antigenpräsentierender Zellen fördern und eine adaptive Immunantwort unterstützen können (**Abb. 2B**). Ein wichtiges Signal

ist die Oberflächenexposition von Calreticulin (CALR), das als „Friss-mich"-Signal die Aufnahme sterbender Zellen durch antigenpräsentierende Zellen fördert [10]. Dendritische Zellen und Makrophagen erkennen dieses Signal, wodurch die Präsentation von Tumorantigenen und die Aktivierung zytotoxischer T-Zellen gefördert werden.

Fluoreszenzbasierte Caspasereporter wie der beschriebene ZipGFP-Reporter erlauben inzwischen die parallele Untersuchung apoptotischer Prozesse und immunogener Signaturen. Die Kombination von Caspase-abhängiger Echtzeitbildgebung mit der Analyse von Calreticulin auf der Zelloberfläche eröffnet die Möglichkeit, unterschiedliche Formen des Zelltods voneinander zu unterscheiden. So konnte gezeigt werden, dass eine erhöhte Calreticulin-Exposition zwar häufig gemeinsam mit einer Aktivierung von Caspase 3 oder 7 auftritt, beide Prozesse jedoch nicht vollständig miteinander korrelieren [4]. Diese Beobachtung unterstützt die Vorstellung, dass immunogener Zelltod sowohl über klassische apoptotische Signalwege als auch über teilweise Caspase-unabhängige Mechanismen vermittelt werden kann [11–13].

Für die Entwicklung zukünftiger Krebsmedikamente ist entscheidend, nicht nur den Zelltod von Tumorzellen, sondern auch dessen Auswirkungen auf das Immunsystem zu verstehen. Das Verständnis immunogener Zellsterbeprogramme könnte entscheidend dazu beitragen, die Wirksamkeit bestehender immunogener Therapien zu verbessern oder neue Behandlungsstrategien zu entwickeln.

Ausblick

Zukünftig wird es entscheidend sein, die Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Formen des regulierten Zelltods noch genauer zu verstehen. Neben der Apoptose rücken dabei insbesondere Nekroptose, Pyroptose und Ferroptose sowie integrative Konzepte wie die PANoptose in den Fokus. Ein besseres Verständnis der Überschneidungen und gegenseitigen Regulation dieser Signalwege könnte dazu beitragen, Zelltodprozesse gezielter therapeutisch zu modulieren. Insbesondere die Frage, wie unterschiedliche Zelltodprogramme abhängig vom zellulären und pathophysiologischen Kontext aktiviert werden und welchen Einfluss sie auf Entzündung, Immunantwort und Gewebehomöostase haben, dürfte für die weitere Entwicklung des Feldes von zentraler Bedeutung sein.

Moderne Fluoreszenzreporter ermöglichen die hochauflösende Untersuchung apoptotischer Signalwege sowie ihrer Auswirkungen auf Zellproliferation, Gewebehomöostase und Immunaktivierung in lebenden Zellen. Dadurch wird deutlich, dass Zelltod nicht als isoliertes Ereignis verstanden werden kann, sondern als dynamischer Bestandteil eines komplexen biologischen Kommunikationsnetzwerks, das die Interaktion zwischen Tumorzellen, Immunzellen und ihrer Mikroumgebung maßgeblich beeinflusst.

Die Erweiterung solcher Reporterplattformen auf weitere Mitglieder der Caspasefamilie sowie auf zentrale Regulatoren anderer Zelltodprogramme könnte künftig ein deutlich umfassenderes Verständnis der molekularen Determinanten von Therapieansprechen, Therapieresistenz und Tumor-Immunsystem-Interaktionen ermöglichen. Insbesondere die gleichzeitige Analyse mehrerer miteinander vernetzter Zelltodprogramme verspricht neue Einblicke in die funktionelle Plastizität regulierter Zelltodmechanismen und deren Bedeutung für die Krebsbiologie.

Darüber hinaus machen die stabile Expression und der unkomplizierte mikroskopische Readout diese Reporter besonders attraktiv für automatisierte Live-Cell-Imaging-Verfahren und Hochdurchsatzanwendungen. Dadurch können Wirkstoffbibliotheken, Kombinationstherapien und patientenabgeleitete Organoidmodelle systematisch untersucht werden. Langfristig können multiparametrische Reporterplattformen wesentlich dazu beitragen, die Aktivierung und das Zusammenspiel verschiedener regulierter Zelltodprogramme in Tumoren besser zu verstehen und dieses Wissen für die Entwicklung präziser und personalisierter Krebstherapien nutzbar zu machen. ■

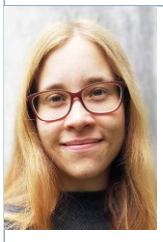
Literatur

[1] McIlwain DR, Berger T, Mak TW (2013) Caspase functions in cell death and disease. Cold Spring Harb Perspect Biol 5: a008656
[2] Bedoui S, Herold MJ, Strasser A (2020) Emerging connectivity of programmed cell death pathways and its physiological implications. Nat Rev Mol Cell Biol 21: 678–695
[3] Vitale I, Pietrocola F, Guilbaud E et al. (2023) Apoptotic cell death in disease-Current understanding of the NCCD 2023. Cell Death Differ 30: 1097–1154
[4] Selcen S, Wieland L, De Oliveira T et al. (2025) Integrated real-time imaging of executioner caspase dynamics, apoptosis-induced proliferation, and immunogenic cell death using a stable fluorescent reporter platform. Cell Death Discov 11: 368
[5] Fan Y, Bergmann A (2008) Apoptosis-induced compensatory proliferation. The Cell is dead. Long live the Cell! Trends Cell Biol 18: 467–473
[6] Hounsell C, Fan Y (2025) Death fuels growth: Emerging players bridging apoptosis and cell proliferation in Drosophila and beyond. Semin Cell Dev Biol 169: 103602
[7] Huang Q, Li F, Liu X et al. (2011) Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy. Nat Med 17: 860–866
[8] Ng WL, Huang Q, Liu X et al. (2013) Molecular mechanisms involved in tumor repopulation after radiotherapy. Transl Cancer Res 2: 442–448
[9] Connell PP, Weichselbaum RR (2011) A downside to apoptosis in cancer therapy? Nat Med 17: 780–782
[10] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F et al. (2007) Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. Nat Med 13: 54–61
[11] Krysko DV, Garg AD, Kaczmarek A et al. (2012) Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. Nat Rev Cancer 12: 860–875
[12] Kroemer G, Galassi C, Zitvogel L et al. (2022) Immunogenic cell stress and death. Nat Immunol 23: 487–500
[13] Galluzzi L, Guilbaud E, Schmidt D et al. (2024) Targeting immunogenic cell stress and death for cancer therapy. Nat Rev Drug Discov 23: 445–460

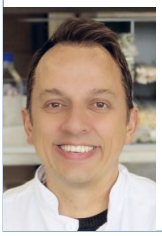
Funding: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/.

Korrespondenzadresse:
PD Dr. Matthias Wirth
Universitätsmedizin Göttingen
Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Kinderchirurgie
Georg-August-Universität
Robert-Koch-Straße 40
D-37075 Göttingen
matthias.wirth@med.uni-goettingen.de

AUTORINNEN UND AUTOREN



Leonie Witte
2011–2016 Studium der Molekularen Medizin an der Universität Göttingen, dort bis **2021** Promotion im Bereich Extrazelluläres Signaling. Seit **2023** PostDoc mit Schwerpunkt Therapieresistenz und Immunaktivierung im Pankreaskarzinom in der Arbeitsgruppe von PD Dr. M. Wirth.



Matthias Wirth
2002–2008 Studium der Biologie an der Universität Düsseldorf. **2008–2013** Promotion an der TU München. **2013–2023** PostDoc an der TU München, der Universitätsmedizin Düsseldorf und der Charité Universitätsmedizin Berlin. Seit **2023** Leitung einer unabhängigen Arbeitsgruppe an der Universitätsmedizin Göttingen.