

β -Catenin, Cycline und mehr: neue Erkenntnisse zur Pathogenese, Behandlung und Prävention von Dickdarmkrebs

Athanassios Giannis*

Seit geraumer Zeit wird vermutet, dass das Protein β -Catenin eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese von Dickdarmkrebs (Colon-Karzinom) spielt.^[1] Dieser Verdacht wurde erhärtet, als sich herausstellte, dass die intrazelluläre Konzentration des β -Catenins stark erhöht ist in Darmepithelzellen von Patienten, die an der familiären adenomatösen Polypose des Dickdarms leiden.^[2] Diese Erkrankung stellt eine Prädisposition zum Dickdarmkrebs dar und wird durch Mutationen des *APC*-Gens hervorgerufen. Darüber hinaus ist das *APC*-Gen auch in der Mehrzahl der Fälle von Dickdarmkrebs mutiert und scheint kausal mit dieser Tumorerkrankung zusammenzuhängen.^[3]

In seiner normalen Funktion verbindet sich das *APC*-Protein mit dem β -Catenin und einem weiteren Protein namens Axin.^[4] In diesem Komplex wird das β -Catenin durch die Glycogen-Synthase-Kinase 3 β (GSK-3 β) phosphoryliert und anschließend nach vorangegangener Ubiquitinierung der proteosomalen Degradation zugeführt.^[5] Bei Darmepithelzellen mit mutiertem *APC*-Protein ist dieser Abbau nicht möglich, und dadurch kommt es zu der beobachteten Erhöhung der intrazellulären Konzentration an β -Catenin.

Bisher war β -Catenin als eine wichtige intrazelluläre Komponente bekannt, die die Verknüpfung der Adhäsionsmoleküle der Cadherinklasse (E-, N- und P-Cadherine) mit den Actinfilamenten des Cytoskeletts bewerkstellt und somit die Zell-Zell-Adhäsion und den Zusammenhalt zwischen Zellen ermöglicht. Ebenfalls bekannt, wenn auch weniger gut studiert, war die Tatsache, dass β -Catenin nach Translokation in den Zellkern in der Lage ist, die Expression spezifischer Gene zu veranlassen, die ihrerseits u.a. für die Zellteilung und Zellproliferation verantwortlich sind. Der Mechanismus dieser Einflussnahme blieb allerdings bis vor kurzem ein Geheimnis.

Die Situation änderte sich, als 1996 entdeckt wurde, dass β -Catenin nach Komplexierung mit DNA-bindenden Proteinen aus der T-cell-factor(TCF)/Lymphoid-enhancer-binding-factor(LEF)-Familie als Transkriptionsaktivator fungiert.^[6] Dieser Hintergrund und die Tatsache, dass das *APC*-Protein den

intrazellulären β -Catenin-Gehalt niedrig hält, belegen die Bedeutung des *APC*-Proteins als einen entscheidenden negativen Regulator der so genannten Wnt-Signaltransduktionskaskade,^[7] deren übermäßige Aktivierung zur Entwicklung von Krebs beim Menschen führt.

Ungeachtet dieser Fortschritte blieb die Natur der Gene, die durch den β -Catenin/TCF-Komplex angeschaltet werden, bis vor kurzem unbekannt, doch Anfang 1999 gelang zwei Forschergruppen fast zeitgleich der Durchbruch.^[8] Aufgrund der Tatsache, dass das Protein Cyclin D1 ein wichtiger Regulator der Progression des Zellzyklus ist, wurde es als mögliches β -Catenin/TCF-Target in die engere Wahl genommen, zumal auch bekannt war, dass bei einem großen Teil von Dickdarm-Karzinomen das Cyclin D1 überexprimiert ist.^[9, 10] Interessanterweise führt die Inhibition der Cyclin-D1-Expression in Colonkarzinom-Zelllinien mit Antisense-Oligodesoxyribonucleotiden zur Hemmung des Wachstums dieser Zellen.^[11] Untersuchungen in der Arbeitsgruppe von Ben-Ze'ev in Israel konnten eindeutig belegen, dass der β -Catenin/TCF-Komplex durch Bindung an den Cyclin-D1-Promotor die Expression des Cyclin-D1-Proteins in SW-480-Colonkarzinom-Zellen stimuliert. Transfektion dieser Karzinom-Zellen mit dem „guten“ (Wildtyp-)APC-Gen führte über die Stimulation des Abbaus zu einer Verringerung der Konzentration an freiem β -Catenin und so zur Reduktion der Cyclin-D1-Expression. Das gleiche Ergebnis wurde auch durch Überexpression der cytoplasmatischen Domäne von N-Cadherin in diesen Zellen erzielt. Als Grund wird das „Abfangen“ des freien Catenins durch dieses Protein angesehen, was zur Reduktion der Konzentration des β -Catenin/TCF-Komplexes führt. Ähnliche Ergebnisse erzielte auch die Arbeitsgruppe von McCormick in den USA.^[8b] Die Autoren zeigten darüber hinaus, dass das Oncoprotein Valin-12-p21^{ras} die β -Cateninbedingte Cyclin-D1-Expression verstärkt, und zwar mit Hilfe von Transkriptionsfaktoren aus der Ets-Familie.^[12]

All diese Untersuchungen belegen eindeutig, dass das β -Catenin ein Oncoprotein ist und dass das *APC*-Protein ein wichtiger physiologischer Antagonist des β -Catenins und damit auch des Wnt-Signaltransduktionsweges ist. Beim Fehlen von extrazellulären Stimuli fördert *APC* den Abbau des β -Catenins und unterstützt die Migration der Epithelzellen des Dickdarms entlang der Lieberkühn-Krypten. In Anwesenheit des Wnt-Signals wird β -Catenin stabilisiert, wahrscheinlich durch Hemmung der GSK-3 β . Dies führt

[*] Prof. Dr. A. Giannis
Institut für Organische Chemie der Universität
Richard-Willstätter-Allee 2, 76128 Karlsruhe (Deutschland)
Fax: (+49) 721-608-7652
E-mail: giannis@ochhades.chemie.uni-karlsruhe.de

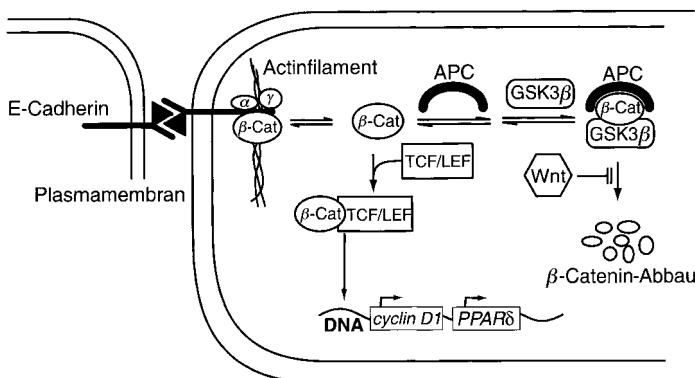


Abbildung 1. β -Catenin hat eine duale Funktion: Einerseits verknüpft es die Adhäsionsmoleküle der Cadherin-Klasse mit den Actinfilamenten des Cytoskeletts, andererseits aktiviert es als Komplex mit dem Transkriptionsfaktor TCF/LEF die Expression spezifischer Gene wie Cyclin D1 und PPAR δ . Auf diese Weise wird u. a. die Zellproliferation stimuliert und/oder die Apoptose inhibiert. Die Wirkung des β -Catenins wird durch dessen Abbau in den Proteasomen beendet. Zu diesem Zweck sind die Proteine APC, GSK3 β und Axin (im Bild nicht gezeigt) erforderlich. Bei der adenomatösen Polyposis sowie bei vielen Fällen von Colon-Karzinom ist der Abbau aufgrund einer Mutation im APC-Gen gestört, was zur Erhöhung der intrazellulären Konzentration an β -Catenin führt. Die Aktivierung der Wnt-Signaltransduktionskaskade reguliert die Stabilität des APC/ β -Cat/GSK3 β -Komplexes und führt über die Hemmung des Abbaus zum selben Ergebnis.

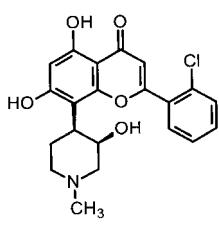
schließlich zur Proliferation und Hemmung der Apoptose (Abbildung 1).^[1]

Welche Konsequenzen ergeben sich aus diesen Erkenntnissen im Hinblick auf neue Möglichkeiten zur Therapie des colorektalen Karzinoms? Zum einen könnte versucht werden, durch Überexpression des cytoplasmatischen Cadherin-Teils des β -Catenin abzufangen. Die Konsequenzen eines solchen „Abfangens“ sollten zunächst anhand eines geeigneten Tiermodells untersucht werden. Die *Min-Maus*^[13] ist für diesen Zweck ein geeignetes Testsystem: Sie hat ein mutiertes APC-Gen und leidet an einem ähnlichen Syndrom – damit ist sie ein gutes Tiermodell für die humane familiäre adenomatöse Polyposis.

Des Weiteren könnte die Wirkung des Cyclin-D1-Genproduktes mit geeigneten Inhibitoren blockiert werden. Das synthetische Flavonoiderivat Flavopiridol **1**, das sich bereits in klinischer Prüfung befindet, scheint hierfür viel versprechend zu sein.^[14] Es ist ein potenter Inhibitor nicht nur der

Cyclin-D1-abhängigen Kinase 4 (cdk4), sondern auch weiterer Kinasen, die an der Progression des Zellzyklus beteiligt sind, z. B. cdk1, cdk2 und cdk7. Interessanterweise wird durch Flavopiridol die Expression des Cyclin-D1-Proteins stark reduziert.^[15]

Vor dem Hintergrund der Beteiligung von Ras-Proteinen und Ets-Transkriptionsfaktoren bei der Cyclin-D1-Expression kommt die Anwendung von Ras-Farnesylierungs-Inhibitoren^[16] in Kombination mit Inhibitoren der Biosynthese der Ets-Transkriptionsfaktoren zur Behandlung des Colonkarzinoms in Betracht. Als ein solcher Wirkstoff bietet sich z. B. Fumagillin



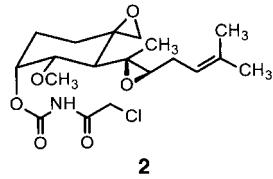
1

an oder sein synthetisches Analogon TNP-470 **2**, das nicht nur potente antiangiogene Eigenschaften aufweist, sondern auch die Expression des Ets-1-Transkriptionsfaktors drastisch inhibiert.^[17]

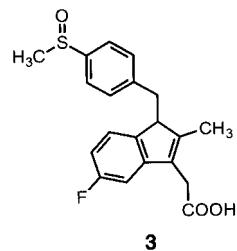
Weitere Möglichkeiten ergeben sich aus den Arbeiten der Arbeitsgruppe von Kinzler in den USA, die gerade den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor δ (PPAR δ) als ein neues Target des β -Catenin/TCF-Komplexes identifiziert hat.^[18] PPAR δ gehört zu der Familie der so genannten Liganden-abhängigen nucleären Rezeptoren.^[19] Sie regulieren die Expression ihrer Zielgene durch die Bindung an DNA-Erkennungssequenzen, die als PPAR-response elements (PPRE) bezeichnet werden. Dadurch kontrollieren diese Transkriptions-Aktivatoren verschiedene Aspekte des Wachstums, der Entwicklung und der Homöostase. Als Liganden (Stimulatoren) der PPARs wurden bisher u. a. verschiedene mehrfach ungesättigte Fettsäuren und Eicosanoid-Metabolite (z. B. Prostaglandine) identifiziert. Nun zeigen Kinzler et al., dass nichtsteroidale antiinflammatorische Wirkstoffe (NSAIDs), z. B. Sulindac **3**, auf zweierlei Arten die Tumorentstehung und das Tumorwachstum inhibieren: Einerseits blockieren sie die Cyclooxygenasen (sowohl COX-1 als auch die induzierbare COX-2) und somit die Bildung der Prostaglandine. Letztere sind bereits dafür bekannt, dass sie über einen autokrinen und/oder parakrinen Mechanismus die Entstehung von Dickdarmkrebs fördern.^[20] Andererseits, und das ist überraschend, bindet Sulindac an PPAR δ und verhindert dadurch seine Bindung an die entsprechenden DNA-Erkennungssequenzen. Das Sulindac-Sulfon, das kein COX-Inhibitor ist, ist in der Lage, die β -Catenin-vermittelte Erhöhung der PPAR δ -Aktivität zu unterdrücken.^[18] Auch in diesem Fall wirkt das „gute“ APC-Protein über die Stimulation des β -Catenin-Abbaus als ein Antagonist der PPAR δ -Expression.

Selektive Inhibitoren der COX-2 wurden in Modellstudien erfolgreich zur Chemoprävention des Dickdarmkrebses eingesetzt.^[21] Die Studien von Kinzler et al. liefern eine plausible Erklärung des zugrunde liegenden Wirkungsmechanismus und weisen darauf hin, dass COX-Inhibitoren, die zusätzlich potente Inhibitoren des PPAR δ sind, möglicherweise besser dazu geeignet sein könnten.^[22] Es sollte auch angemerkt werden, dass Cyclooxygenase-Inhibitoren eine weitere, für die Tumortherapie besonders günstige Eigenschaft aufweisen: Sie hemmen stark die Bildung neuer Blutgefäße (Angiogenese).^[23]

Zusammenfassend kann man feststellen, dass in den letzten Jahren entscheidende Fortschritte in der Aufklärung der molekularen Mechanismen der Pathogenese des Colon-Karzinoms erzielt wurden. Sie rechtfertigen den Optimismus bezüglich der Entwicklung neuer und effizienterer Wirkstoffe sowohl zur Prävention als auch zur Behandlung dieser



2



3

Erkrankung. Es ist eine spannende Frage, ob solche Wirkstoffe letztlich Aspirin-Abkömmlinge sein werden.^[24]

- [1] M. Peifer, *Science* **1996**, *272*, 974–975.
 [2] P. J. Morin, A. B. Sparks, V. Korinek, N. Barker, B. Vogelstein, K. W. Kinzler, *Science* **1997**, *275*, 1787–1790.
 [3] K. W. Kinzler, B. Vogelstein, *Cell* **1996**, *87*, 159–170.
 [4] a) L. Zeng, F. Fagotto, T. Zhang, W. Hsu, T. J. Vasicek, W. L. Perry, J. J. Lee, S. M. Tilghman, B. M. Gumbiner, F. Costantini, *Cell* **1997**, *90*, 181–192; b) J. Behrens, B. A. Jerchow, M. Würtele, J. Grimm, C. Asbrand, R. Wirtz, M. Kühl, D. Wedlich, W. Birchmeier, *Science* **1998**, *280*, 596–599.
 [5] H. Aberle, A. Bauer, J. Stappert, A. Kispert, R. Kemler, *EMBO J.* **1997**, *16*, 3797–3804.
 [6] a) J. Behrens, J. P. von Kries, M. Kuhl, L. Bruhn, D. Wedlich, R. Grosschedl, W. Birchmeier, *Nature* **1996**, *382*, 638–642; b) M. Molenaar, M. van de Wetering, M. Oosterwegel, J. Peterson-Maduro, S. Godsave, V. Korinek, J. Roose, O. Destree, H. Clevers, *Cell* **1996**, *86*, 391–399.
 [7] M. Peifer, *Nature* **1999**, *400*, 213–215.
 [8] a) M. Shtutman, J. Zhurinsky, I. Simcha, C. Albanese, M. D'Amico, R. Pestel, A. Ben-Ze'ev, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 5522–5527; b) O. Tetsu, F. McCormick, *Nature* **1999**, *398*, 422–426.
 [9] J. Bartkova, J. Lukas, M. Strauss, J. Bartek, *Int. J. Cancer* **1994**, *58*, 568–573.
 [10] N. Arber, H. Hibshoosh, S. F. Moss, T. Sutter, Y. Zhang, M. Begg, S. Wang, I. B. Weinstein, P. R. Holt, *Gastroenterology* **1996**, *110*, 669–674.
 [11] N. Arber, Y. Doki, E. K.-H. Han, A. Scambato, P. Zhou, N. H. Kim, T. Delohery, M. Klein, P. R. Holt, I. B. Weinstein, *Cancer Res.* **1997**, *57*, 1569–1574.
 [12] K. Inoue, C. J. Sherr, L. H. Shapiro, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 29188–29194.
 [13] W. F. Dove, K. A. Gould, C. Luongo, A. R. Moser, A. R. Shoemaker, *Cancer Surv.* **1995**, *25*, 335–355.
 [14] a) H. H. Sedlacek, J. Czech, R. Naik, G. Kaur, P. Worland, M. Losiewicz, B. Parker, B. Carlson, A. Smith, A. Senderowicz, E. Sausville, *Int. J. Oncol.* **1996**, *9*, 1143–1168; b) A. J. Kraker, R. N. Booher, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1999**, *34*, 247–256.
 [15] B. Carlson, T. Lahuksen, S. Singh, A. Loaiza-Perez, P. J. Worland, R. Pestell, C. Albanese, E. A. Sausville, A. M. Senderowicz, *Cancer Res.* **1999**, *59*, 4634–4641.
 [16] D. M. Leonhard, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2971–2990.
 [17] N. Wernert, A. Stanjek, S. Kiriakidis, A. Hügel, H. C. Jha, R. Mazitschek, A. Giannis, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 3432–3435; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 3228–3231.
 [18] T.-C. He, T. A. Chan, B. Vogelstein, K. W. Kinzler, *Cell* **1999**, *99*, 335–345.
 [19] D. J. Mangelsdorf, C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, P. Chambon, *Cell* **1995**, *83*, 835–839.
 [20] S. M. Prescott, R. M. White, *Cell* **1996**, *87*, 783–786.
 [21] D. J. E. Elder, C. Paraskeva, *Nat. Med.* **1998**, *4*, 392–393.
 [22] G. A. Piazza, D. S. Alberts, L. J. Hixson, N. S. Paranka, H. Li, T. Finn, C. Bogert, J. M. Guillen, K. Brendel, P. H. Gross, *Cancer Res.* **1997**, *57*, 2909–2915.
 [23] M. K. Jones, H. Wang, B. M. Peskar, E. Levin, R. M. Itani, I. J. Sarfeh, A. S. Tarnawski, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 1418–1423.
 [24] S. J. Shiff, B. Rigas, *Nat. Med.* **1999**, *5*, 1348–1349.

Neue funktionelle Materialien aus selbstorganisierten organischen Gelen: vom Zufall zur Planung**

Jan H. van Esch* und Ben L. Feringa

Jedermann hat eine Vorstellung davon, was ein Gel ist, doch vom wissenschaftlichen Standpunkt aus betrachtet umfasst der Begriff „Gel“ chemisch sehr unterschiedliche Systeme. Gele, die z. B. aus verdünnten Lösungen von Polymeren, Proteinen oder anorganischen Substanzen wie Siliciumdioxid oder Tonen in Wasser und organischen Lösungsmitteln entstehen, sind gut untersucht worden und haben bisher eine breite Anwendung gefunden, etwa in der fotografischen, in der Kosmetik-, in der Nahrungsmittel- und in der Erdölindustrie.^[1] In den letzten Jahren entstand ein rasch wachsendes Interesse an niedermolekularen Gelbildern, was nicht allein durch die zahlreichen Anwendungsmöglichkeiten der Gele bedingt ist, sondern auch dadurch, dass diese im

Hinblick auf Selbstorganisation eindrucksvolle Eigenschaften haben (Schema 1).^[2, 3]

Wie bei anderen Gelen bilden die in Schema 1 gezeigten organischen Gelbildner ein kontinuierliches, dreidimensional verflochtenes Netzwerk im Lösungsmittel und verhindern das Fließen der Flüssigkeit,^[4] doch im Unterschied zu makromolekularen und anorganischen Gelen wird das aus niedermolekularen organischen Gelbildnern gebildete Netzwerk durch nichtkovalente Kräfte wie Wasserstoffbrücken, π -Stapelung und solvophobe Effekte zusammengehalten (Abbildung 1). Der Prozess der Selbstorganisation, der von einem einzelnen Molekül zu Fasern und schließlich zu einer verflochtenen Netzwerkstruktur führt, ist darum vollständig reversibel, und da die meisten organischen Gelbildner schon bei Konzentrationen unter 1 Gew.-% Gele bilden, auch äußerst effektiv.

Der zweite deutliche Unterschied der organischen Gele zu den anderen besteht darin, dass die Netzwerkfasern aus Einheiten bestehen, in denen die Moleküle bis zu einer Länge von einigen Mikrometern aneinander gereiht sind, und dass man verschiedene Filamentstrukturen wie Bänder, Stäbe,

[*] Dr. J. H. van Esch, Prof. Dr. B. L. Feringa

Laboratory for Organic Chemistry
 Stratingh Institute, University of Groningen
 Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen (Niederlande)
 Fax: (+31) 50-3634296
 E-mail: esch@chem.rug.nl

[**] J.H.v.E. dankt der Königlichen Niederländischen Akademie der Wissenschaften für ein Stipendium.