

Der Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β)-Signalweg und seine Bedeutung beim malignen Melanom*

The Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) Signaling and its Role in Melanoma

Autor

K. Krasagakis

Institut

Hautklinik, Universitätskrankenhaus von Heraklion, Universität von Kreta, Griechenland

Bibliografie

DOI 10.1055/s-2008-1077554
Akt Dermatol 2008; 34:
319–322 © Georg Thieme
Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0340-2541

Korrespondenzadresse

Dr. med. Konstantin Krasagakis
Assistant Professor
Hautklinik
Universitätskrankenhaus
von Heraklion
GR-71110 Heraklion
Griechenland
krasagak@med.uoc.gr

Zusammenfassung

Der Transforming Growth Factor- β (TGF- β) stellt einen potenten Wachstumsinhibitor bei normalen Melanozyten dar. Diese Funktion scheint im Verlauf der Tumorgenese zunehmend verloren zu gehen, da viele Melanomzellen durch TGF- β nur sehr schwach oder gar nicht gehemmt werden. Beim Melanom wird der antiproliferative Signalweg des TGF- β häufig aufgehoben, und die Produktion des TGF- β autokrin hochreguliert. Somit kommt es zu einer Reihe parakriner Effekte, wie des extrazellulären Matrixumbaus, der Neo-

angiogenese, und der Immunsuppression, die letztendlich zum lokalen Tumorwachstum und zur Metastasierung führen. Die Wechselwirkungen der TGF- β -signalübertragenden Smad Proteine mit anderen Signalsystemen, wie der mitogenaktivierten Proteinkinasen, des SKI/SnoN und des Proteinkinase-C-Systems, tragen möglicherweise zum Entweichen der Melanomzellen von der TGF- β -Wachstumskontrolle bei. Die Abklärung der molekularen Interaktionen des TGF- β -Signalweges wird möglicherweise zu der Entwicklung neuerer Konzepte für die Therapie des malignen Melanoms beitragen.

Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) und die Karzinogenese

Die Karzinogenese kann das Ergebnis eines vermehrten Ansprechens der Zellen auf autokrin wirkende Wachstumsfaktoren sein, oder einer fehlenden zellulären Antwort auf wachstumshemmende Zytokine [1]. De Larco u. Mitarb. [2] berichteten, dass Melanomzellen in der Kultur Peptide sezernieren, die bei normalen Zellen im Softagar Assay einen transformierten Phänotyp induzierten. Eines dieser Peptide wurde als der sogenannte Transforming Growth Factor- β (TGF- β) identifiziert. Andererseits besaß TGF- β im selben Assaysystem wachstumshemmende Eigenschaften auf verschiedene maligne Zelllinien, u.a. Melanomzelllinien [3]. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass TGF- β die Proliferation normaler Zellen in Kultur sehr stark hemmt, wie z.B. das Wachstum humaner Keratinozyten, wie auch von T- und B-Lymphozyten [4,5]. Dagegen wurden viele Tumorzelllinien und ras-transfizierte tumorigene HaCaT Zellen durch TGF- β nicht gehemmt [7,8]. Aufgrund dieser und ande-

rer ähnlicher Beobachtungen wurde angenommen, dass eine Resistenz gegenüber der TGF- β -induzierten Wachstumsinhibition zu einem wichtigen Wachstumsvorteil der Tumorzellen führt.

Autokrine TGF- β -Wachstumshemmung und Melanomprogression

Im Verlauf der Melanomprogression scheint der Verlust der Wachstumsinhibition durch TGF- β eine wichtige Stellung im Mechanismus der unkontrollierten Proliferation der Melanomzellen einzunehmen. Exogener TGF- β 1 hemmt das Wachstum normaler Melanozyten stark, dasjenige von Melanomzellen hingegen geringer oder gar nicht [9,10]. Dieser Verlust der Wachstumshemmung wird in größerem Ausmaß häufig bei Melanomzellen aus Metastasen beobachtet. Diese Resistenz gegenüber TGF- β korrelierte mit der Sekretion von hohen Mengen aktivem TGF- β im Überstand von Melanomzellkulturen aus Metastasengewebe. Weitere experimentelle Daten zeigten, dass alle drei bekannten humanen TGF- β Isoformen, TGF- β 1, - β 2, - β 3, eine vergleichbare Wirkstärke besaßen in Hinsicht auf die Wachs-

* Vortrag anlässlich des Jahressymposiums der Berliner Stiftung für Dermatologie am 31. 5. 2008.

tumshemmung, sowohl bezüglich normaler Melanozyten als auch maligner Melanomzellen [11]. Die Neutralisierung des endogen-produzierten TGF- β mittels spezifischer Antikörper führte bei TGF- β -sensitiven Melanomzellen zu einer Wachstumsstimulation in der Kultur [9]. Dieser Effekt der neutralisierenden Antikörper in Bezug auf die Zellproliferation konnte bei TGF- β -insensitiven Melanomzellen nicht beobachtet werden. Diese Befunde untermauern die auch aus anderen Tumormodellen gewonnenen Erkenntnisse, dass maligne Tumoren der TGF- β -vermittelten Überwachung entgehen können, und dass die Resistenz gegenüber der TGF- β -regulierten Wachstumskontrolle zu einem wichtigen Wachstumsvorteil führt.

Parakrine Effekte von TGF- β beim Melanom in vivo

TGF- β 1 und TGF- β 2 zirkulieren vermehrt im Blut von Melanompatienten mit Fernmetastasen [12]. Darüber hinaus zeigten Tas u. Mitarb. [13], dass der TGF- β -1-Serumspiegel prognostischen Wert besitzt bezüglich des Überlebens von Melanompatienten. Bemerkenswert ist hierbei, dass Melanompatienten mit höheren TGF- β -Serumspiegeln ein signifikant kürzeres Überleben aufweisen, als Patienten mit niedrigeren Serumspiegeln. Im Mausmodell konnten Berking et al. [14] zeigen, dass TGF- β 1 aus Melanomtumoren über eine Fibroblastenaktivierung zu einer Hochregulation der Expression von Kollagen, Tenascin, und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor-1 führte und somit zum Gewebumbau. Darüber hinaus wurde die Heraufregulation des Angiogenese-Faktors Vascular Endothelial Growth Factor und anderer Wachstumsfaktorenrezeptoren im Zusammenhang mit einer Zunahme der Zahl von Lungenmetastasen beobachtet. Mehrere neuere Berichte belegen, dass TGF- β ein potenter immunsuppressiver Faktor beim Melanom ist. Valenti u. Mitarb. [15] berichteten, dass Mikrovesikel aus dem peripheren Blut von Patienten mit fortgeschrittenem Melanom isoliert wurden, die die immunsupprimierenden Eigenschaften von CD14+-Monozyten auf T-Lymphozyten induzierten. Ein Effekt, der durch TGF- β -neutralisierende Antikörper aufgehoben werden konnte. Darüber hinaus demonstrierten Ahmadzadeh und Rosenberg [16], dass TGF- β die Expression von Effektorfunktionen spezifischer CD8-Memory-T-Zellen, die aus dem peripheren Blut von Melanompatienten isoliert wurden, und mit dem gp100 Melanomantigen immunisiert waren, hemmte.

Der TGF- β -Signalweg bei der Melanomentstehung und -progression

Aufgrund der oben beschriebenen Befunde wird angenommen, dass die tumorfördernde Wirkung von TGF- β beim Melanom Folge eines mehrstufigen Prozesses ist. Als erstes muss der Tumor den antiproliferativen Signalweg des TGF- β aufheben. Danach wird die Produktion des TGF- β vom Tumor hochreguliert. Als letztes kann der aus dem Tumor stammende TGF- β eine Reihe parakriner oder systemischer Wirkungen entfalten, wie z. B. den Umbau der extrazellulären Matrix, die Neubildung von Gefäßen, oder das Abschwächen des Immunsystems. Somit nimmt die Aufhebung der antiproliferativen Wirkung von TGF- β bei den Melanomzellen eine zentrale Bedeutung bei der Melanomentstehung ein. Bei normalen Melanozyten wird das TGF- β -Signal über drei unterschiedliche Membranrezeptoren an das Zellinnere weitergeleitet. Endoglin (Typ-III-Rezeptor) vermittelt die An-

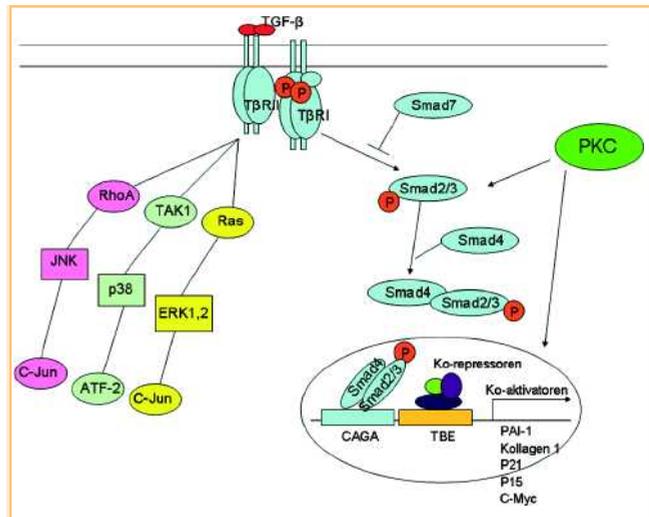


Abb. 1 Schematische Darstellung der Wechselwirkung des TGF- β /Smad-Signalweges mit anderen intrazellulären Signalwegen (modifiziert nach Kaminska et al [17]).

bindung des aktiven TGF- β -Moleküls an die Typ-II-Rezeptoren, die sich dann mit den Typ-I-Rezeptoren verbinden. Dies führt zu einer Konformationsänderung und Aktivierung der Kinaseregionen der Rezeptoren [17]. Die Smad2/3-Proteine sind zytosolische Moleküle, die nach TGF- β Typ-I-Rezeptoraktivierung phosphoryliert werden, und sich an Smad4 binden. Hetero- oder oligomere Komplexe werden zum Zellkern importiert und binden dort an spezifischen DNA-Regionen im Promotorbereich verschiedener Effektorgene. Dieser Signalweg wird durch die Aktivität des inhibitorischen Smad7-Proteins reguliert. Kürzlich wurde beschrieben, dass die Überexpression des Smad7-Proteins in Melanomzellen zu einer Verminderung der Knochenmetastasen führt [18]. Darüber hinaus kann TGF- β verschiedene mitogen-aktivierte Proteinkinasen aktivieren, wie beispielsweise ERK, JNK und p38 MAPK [19]. Die Interaktion mit diesen Kinasen reguliert möglicherweise die Smad-Aktivität in positiver oder negativer Weise.

Die Aufhebung des antiproliferativen TGF- β -Signales beim Melanom

Die molekularen Befunde bezüglich der Aufhebung des antiproliferativen Signalweges von TGF- β beim Melanom sind bisher unvollständig. Sowohl die Expression von TGF- β -Rezeptoren als auch die Smad-vermittelte Transkription bei Melanomzellen korreliert nicht mit der Empfindlichkeit der Melanomzellen gegenüber dem TGF- β [10,20]. Kürzlich wurde beschrieben, dass Melanomzellen die Onkogene SKI und SnoN überexprimieren [21]. Es wird postuliert, dass die Interaktion dieser Onkogene mit den Smad-Proteinen zu einer Hemmung der Smad-vermittelten p21-Induktion führt. Allerdings sind Melanomzellen in der Lage, auf andere Signale des TGF- β zu antworten [22]. Somit ist anzunehmen, dass zusätzliche Regulationsmechanismen im Signalweg des TGF- β beteiligt sind. Kürzlich konnten wir berichten, dass die Behandlung normaler Melanozyten mit dem Tumorpromotor 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Azetat (TPA) zu einer Resistenz der Zellen gegenüber der wachstumshemmenden Wirkung von TGF- β führte [23]. Dies trat in Zusammenhang mit einer Herunterregulation der Expression des Protein-

Tab. 1 Tumorthherapie durch den Einsatz von TGF- β -Inhibitoren in klinischen Studien

Bezeichnung	Typ	Phase	Tumor	Referenz/ Studie ID
AP12009 – Antisense Pharma	TGF- β 2 antisense Oligonukleotid	I/II	Glioblastom, malignes Melanom, Pankreaskarzinom, kolorektales Karzinom	Schlingensiepen et al. [26]
Belagenpumatucel-L	TGF- β 2 antisense-genmodifizierte allogene Tumorzellvakzine	II	nicht kleinzelliges Bronchialkarzinom	Nemunaitis et al. [27]
GC1008 - Genzyme	TGF- β -Antikörper	I	malignes Melanom, Nierenzellkarzinom	NCT00356460, USA
Auto TAG – Gradalis	TGF- β 2 antisense-GMCSF genmodifizierte autologe Tumorzellvakzine	I	fortgeschrittene solide Tumoren	NCT00684294, USA

kinase C (PKC)- α Isoenzym auf, welches als einer der intrazellulären Rezeptoren des Tumorpromotors TPA dient. Auch andere Berichte deuten daraufhin, dass die PKC-Familie ein wichtiger intrazellulärer Mediator im Signalweg des TGF- β ist (► **Abb. 1**). In Tumorzellen der Hypophyse verhindert die Hemmung der PKC-Aktivität die Prolaktininduktion durch TGF- β 2 [24]. In Lungenepithelzellen phosphoryliert PKC- α die Smad3-Proteine und hemmt ihre transkriptionelle Aktivität [25]. Die genaueren molekularen Interaktionen zwischen PKC und den Smad-Proteinen beim Melanom sind noch abzuklären.

Schlussfolgerung und Perspektiven

TGF- β nimmt eine zentrale Stellung in der Wachstumsregulation des malignen Melanoms ein. Er wirkt als ein endogener Wachstumsinhibitor bei normalen Melanozyten, während diese Funktion im Verlauf der Melanomprogression zunehmend verloren geht. Während der Tumor den antiproliferativen Signalweg des TGF- β häufig unterdrückt, wird die Produktion des TGF- β vom Tumor autokrin hochreguliert. Somit kommt es zu einer Reihe parakriner Effekte, wie des extrazellulären Matrixumbaus, Neoangiogenese, Immunsuppression, die letztendlich zum lokalen Tumorwachstum und zur Metastasierung führen. Moleküle mit inhibitorischer Funktion gegenüber dem TGF- β haben bei verschiedenen Krebsarten einschließlich dem Melanom bereits klinischen Einsatz im Rahmen von Therapiestudien (► **Tab. 1**). Das Verständnis der molekularen Mechanismen der Dysregulation des TGF- β -Signalweges wird zu einer Entwicklung weiterer Therapiekonzepte für die Behandlung des Melanoms führen, oder zu einer Optimierung der bereits vorhandenen.

Abstract

The Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) Signaling and its Role in Melanoma

Transforming growth factor- β is a potent growth inhibitor for normal melanocytes. This function is lost in the course of tumorigenesis, since several melanoma cell lines are only slightly or not at all inhibited by TGF- β . In melanoma, the transduction of antiproliferative signals by TGF- β is often abolished, and the autocrine production of TGF- β increased. By this way, several TGF- β -driven paracrine effects, such as extracellular matrix remodeling, neoangiogenesis, and immunosuppression induce local tumor growth and metastasis. The interaction of Smads, the major TGF- β signaling proteins, with other signaling systems such as the mitogen-activated protein kinases, the SKI/SnoN proteins,

and the protein kinase C family, possibly contributes to the escape of melanoma cells from TGF- β growth control. Therefore, the clarification of the molecular interactions of the TGF- β signaling pathway may further promote the development of new treatment concepts for melanoma.

Literatur

- 1 Sporn MB, Roberts AB. Autocrine growth factors and cancer. *Nature* 1985; 313: 745 – 747
- 2 De Larco DE, Pigott DA, Lazarus JA. Ectopic peptides released by a melanoma cell line that modulate the transformed phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 5015 – 5019
- 3 Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM et al. Type β transforming growth factor: A bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 119 – 123
- 4 Shipley GD, Pittelkow MR, Wille Jr JJ et al. Reversible inhibition of normal human prokeratinocyte proliferation by type beta transforming growth factor-growth inhibitor in serum-free medium. *Cancer Res* 1986; 46: 2068 – 2071
- 5 Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB et al. Production of transforming growth factor β by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med* 1986; 163: 1037 – 1050
- 6 Kehrl JH, Taylor AS, Delsing GA et al. Further studies of the role of TGF- β in human B cell function. *J Immunol* 1989; 143: 1868 – 1874
- 7 Houck KA, Michalopoulos GK, Strom SC. Introduction of Ha-ras oncogene into liver epithelial cells and parenchymal hepatocytes confers resistance to the growth inhibitory effects of TGF- β . *Oncogene* 1989; 4: 19 – 25
- 8 Game SM, Huelsen A, Patel V et al. Progressive abrogation of TGF-beta 1 and EGF growth control is associated with tumour progression in ras-transfected human keratinocytes. *Int J Cancer* 1992; 52: 461 – 470
- 9 Krasagakis K, Garbe C, Schrier PI, Orfanos CE. Paracrine and autocrine regulation of human melanocyte and melanoma cell growth by transforming growth factor beta in vitro. *Anticancer Res* 1994; 14: 2565 – 2572
- 10 Rodeck U, Bossler A, Graeven U et al. Transforming growth factor β production and responsiveness in normal human melanocytes and melanoma cells. *Cancer Res* 1994; 54: 575 – 581
- 11 Krasagakis K, Krüger-Krasagakes S, Fimmel S et al. Desensitization of melanoma cells to autocrine TGF- β isoforms. *J Cell Physiol* 1999; 178: 179 – 187
- 12 Krasagakis K, Thölke D, Farthmann B et al. Elevated plasma levels of transforming growth factor (TGF)- β 1 and TGF- β 2 in patients with disseminated malignant melanoma. *Br J Cancer* 1998; 77: 1492 – 1494
- 13 Tas F, Duranyildiz D, Oguz H et al. Circulating serum levels of angiogenic factors and vascular endothelial growth factor receptors 1 and 2 in melanoma patients. *Melanoma Res* 2006; 16: 405 – 411
- 14 Berking C, Takemoto R, Schaidler H et al. Transforming Growth Factor- β 1 increases survival of human melanoma through stroma remodeling. *Cancer Res* 2001; 61: 8306 – 8316
- 15 Valenti R, Huber V, Filipazzi P et al. Human tumor-released microvesicles promote the differentiation of myeloid cells with transforming growth factor- β -mediated suppressive activity on T lymphocytes. *Cancer Res* 2006; 66: 9290 – 9298

- 16 Ahmadzadeh M, Rosenberg SA. TGF- β 1 attenuates the acquisition and expression of effector function by tumor antigen-specific human memory CD8 T cells. *J Immunol* 2005; 174: 5215–5223
- 17 Kaminska B, Wesolowska A, Danilkiewicz M. TGF beta signalling and its role in tumour pathogenesis. *Acta Biochim Pol* 2005; 52: 329–337
- 18 Javelaud D, Delmas V, Moller M et al. Stable overexpression of Smad7 in human melanoma cells inhibits their tumorigenicity in vitro and in vivo. *Oncogene* 2005; 24: 7624–7629
- 19 Mulder KM. Role of Ras and MAPKs in TGF- β signaling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11: 23–35
- 20 Rodeck U, Nishiyama T, Mauviel A. Independent regulation of growth and SMAD-mediated transcription by transforming growth factor β in human melanoma cells. *Cancer Res* 1999; 59: 547–550
- 21 Reed JA, Lin Q, Chen D et al. SKI pathways inducing progression of human melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24: 265–272
- 22 Mauviel A, Javelaud D, Le Scolan E et al. C-SKI expression in human melanoma cells does not antagonize TGF-beta-dependent transcriptional responses. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 550
- 23 Stavroulaki M, Kardassis D, Chatzaki E et al. Exposure of normal human melanocytes to a tumor promoting phorbol ester reverses growth suppression by transforming growth factor beta. *J Cell Physiol* 2008; 214: 363–370
- 24 Chuang CC, Tan SK, Tai LK et al. Evidence for the involvement of protein kinase C in the inhibition of prolactin gene expression by transforming growth factor- β 2. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 1054–1061
- 25 Yakymovych I, ten Dijke P, Heldin CH, Souchevnychkiy S. Regulation of Smad signaling by protein kinase C. *FASEB J* 2001; 15: 553–555
- 26 Schlingensiepen KH, Fischer-Blass B, Schmaus S, Ludwig S. Antisense therapeutics for tumor treatment: the TGF-beta2 inhibitor AP 12009 in clinical development against malignant tumors. *Recent Results Cancer Res* 2008; 177: 137–150
- 27 Nemunaitis J, Dillman RO, Schwarzenberger PO et al. Phase II study of belagenpumatucel-L, a transforming growth factor beta-2 antisense gene-modified allogeneic tumor cell vaccine in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4721–4730

Buchbesprechung

Über die Kunst des rechten Alkoholgenusses – eine kleine Kulturgeschichte des Alkohols

Rosta J, Singer MV (Hrsg)

Aachen: Shaker, 1. Aufl. 2008. 115 S., mit Farbabb. Geb. 19,80 € ISBN 978-3-8322-7222-7

In dem deutschsprachigen Buch findet sich eine historische Übersicht zum Alkoholgenuss, beginnend in der prähistorischen Zeit bis hin zu einer Darstellung der aktuellen Forschungsdaten. Die Autorin Dr. phil. Judith Rosta war in der Zeit der Manuskripterstellung wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Fakultät für Klinische Medizin Mannheim der Universität Heidelberg. Der Autor Prof. Dr. med. Dr. h. c. mult. Manfred V. Singer aus demselben Hause und dortiger Lehrstuhlinhaber ist zudem Forscher und Lehrbuchherausgeber zum Thema Alkohol und Alkoholfolgekrankheiten. Dr. rer. nat. Peter Feick, Biologe an derselben Einrichtung und Leiter des Forschungslabors, hat weiter zu diesem Band beigetragen.

Die Autoren haben eine wohlformuliertes und verständliches Buch vorgelegt zu Themen der Ursprünge, Funktionen und Regulierungsversuche zu gegorenen Getränke in Prähistorie und Antike, weiter in der germanischen Zeit 300 vor Christus bis zum Mittelalter. Durch die Jahrhunderte werden weiter Themen abgehandelt wie Verhaltensregeln zum Alkoholkonsum, Mäßigkeit als christliches Ideal, Alkoholismus als Sünde in der Reformationszeit und die Antialkoholbewegungen im letzten Jahrhundert bis zur Gegenwart. Ein Genuss sind die Abbildungen zum Thema, aus Kunstgalerien und Archiven zusammengetragen. Zu einigen spannenden Details, die zu finden waren: Im 4. Jahrtausend vor Christus hatten die Sumerer bereits ein bildlichen Dokument, in dem die Zubereitung von Opferbier für eine Göttin gezeigt wurde. Im östlichen Mittelmeerraum wurde der älteste Weinkrug im 6. Jahrtausend gefunden. Die

Schwelgereien der Germanen beschreibt Tacitus – so man ihm glauben will. Bei wichtigen Entscheidungen fiel im Rausch die Meinungsbildung und der Handschlag auf das Verhandlungsergebnis leichter. Es war jedoch Usus, am nächsten Morgen die gefällte Entscheidung nüchtern nochmals mit Handschlag zu besiegeln. Gegorene Getränke hatten neben der Rauscherzeugung auch eine Funktion als Nahrungsmittel und Durstlöcher. Luther – abgestoßen von Rauschszenen – forderte jedoch, die „rechtschaffenen“ Mitglieder der Gesellschaft zu schützen vor den „unsittlichen“ Trunkenbolden. Vor der Entwicklung der Lokalanästhetika und Schmerzmittel wurden gegorene Getränke in der Schulmedizin als Medikament eingesetzt. Zu all dem findet der geschichtsinteressierte Leser im ausführlichen Literaturverzeichnis die Quellen.

Selbstverständlich werden auch bzw. gerade die aktuellen Daten aus der Alkoholforschung vermittelt und die Studiendaten gewichtet, um etwas voreilige Rückschlüsse zu korrigieren, z. B. dass durch moderaten Alkoholkonsum die Mortalität der Gesamtbevölkerung um 3–4% gesenkt werden könne. Auf der letzten Seite des Bandes findet sich ein Hinweis auf die Stiftung Biomedizinische Alkoholforschung, ganz im Interesse der Autoren.

Das vorliegende Buch liest sich kurzweilig und bereitet dabei Genuss – ob mit oder ohne gegorenem Getränk im Glas daneben. Es ist auch optisch gut gelungen. Ich werde mir einige Exemplare zum Verschenken für Freunde besorgen.

Christiane Bayerl, Wiesbaden