

Funktionelle und molekulare Interaktionen zwischen Stroma und Epithel

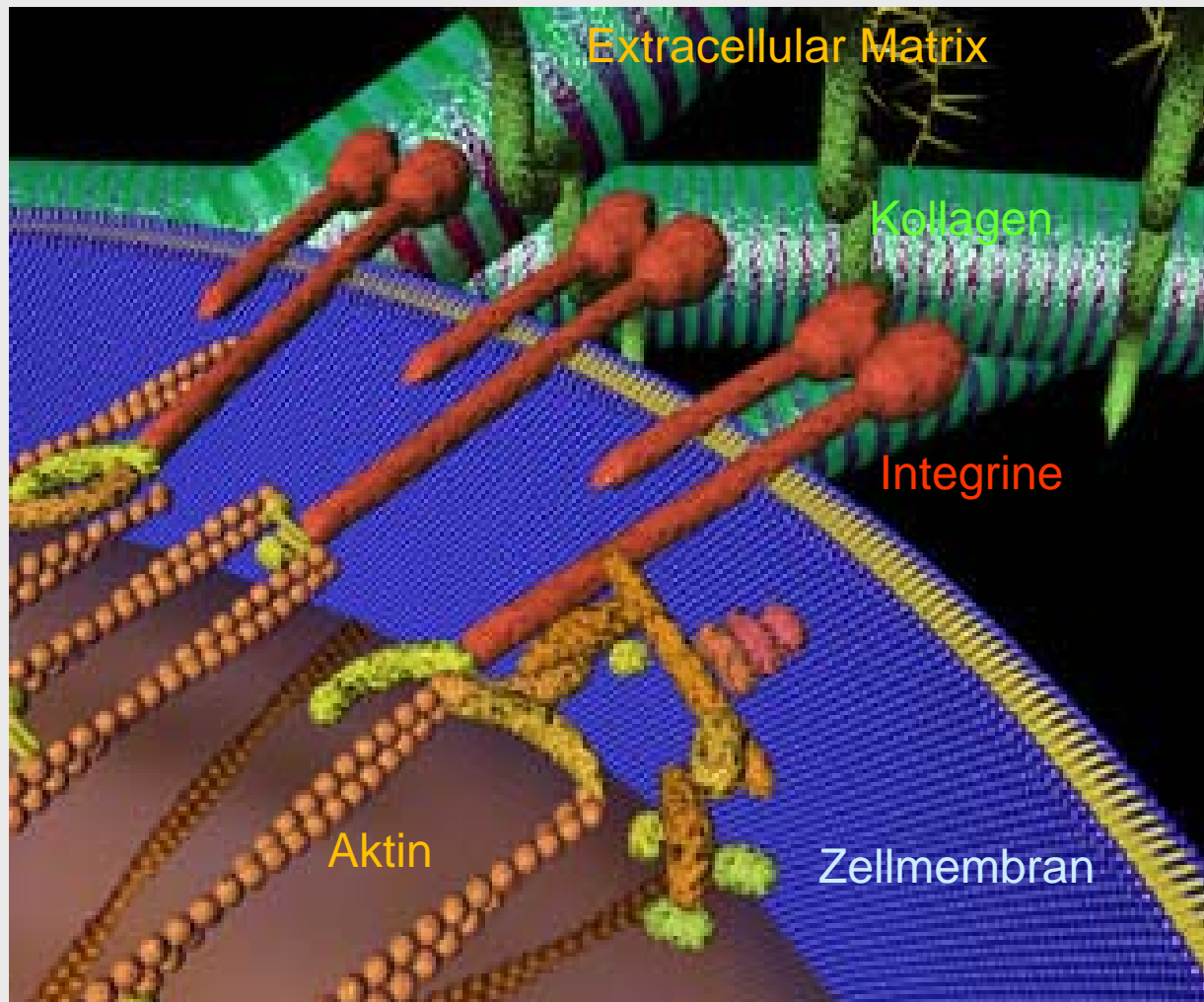


1. COMBATing Breast Cancer,
21/22. Nov. 2008

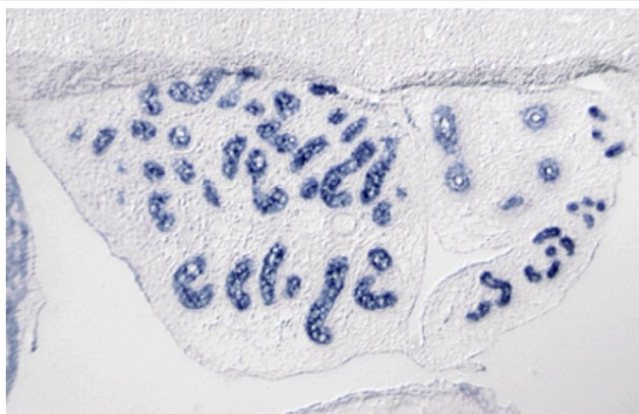


Jürgen Dittmer
Klinik für Gynäkologie
Universität Halle

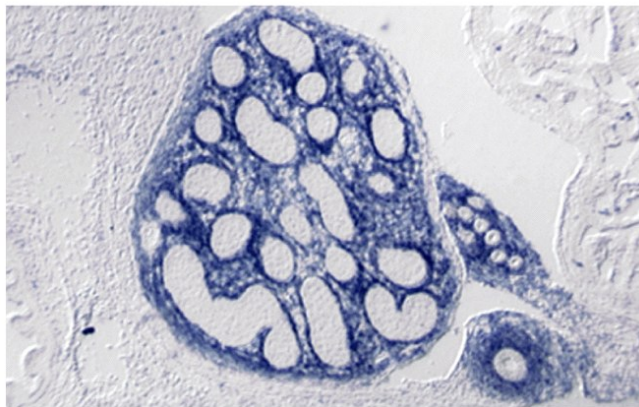
Interaktion von Epithelzellen mit extrazellulärem Stroma



Parakrine Interaktionen zwischen Epithel- und Stromazellen

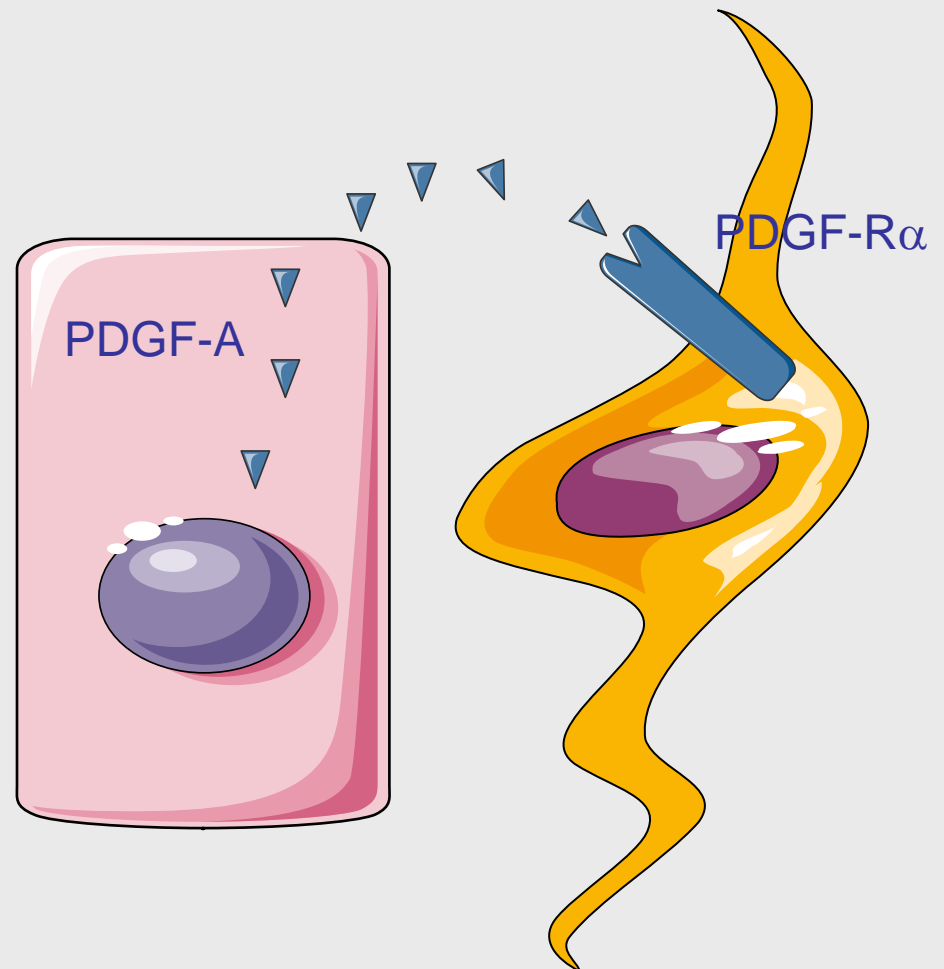


PDGF-A

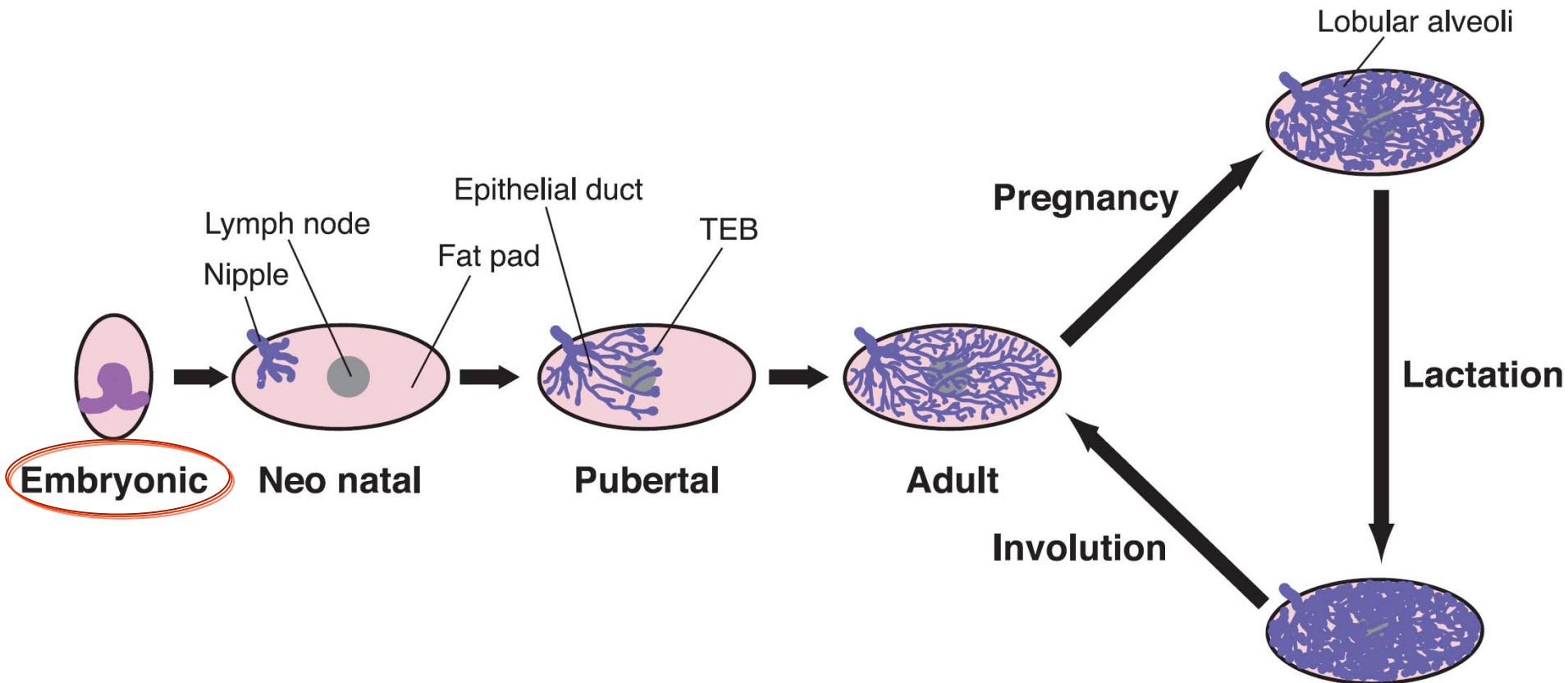


testis

PDGF-R α

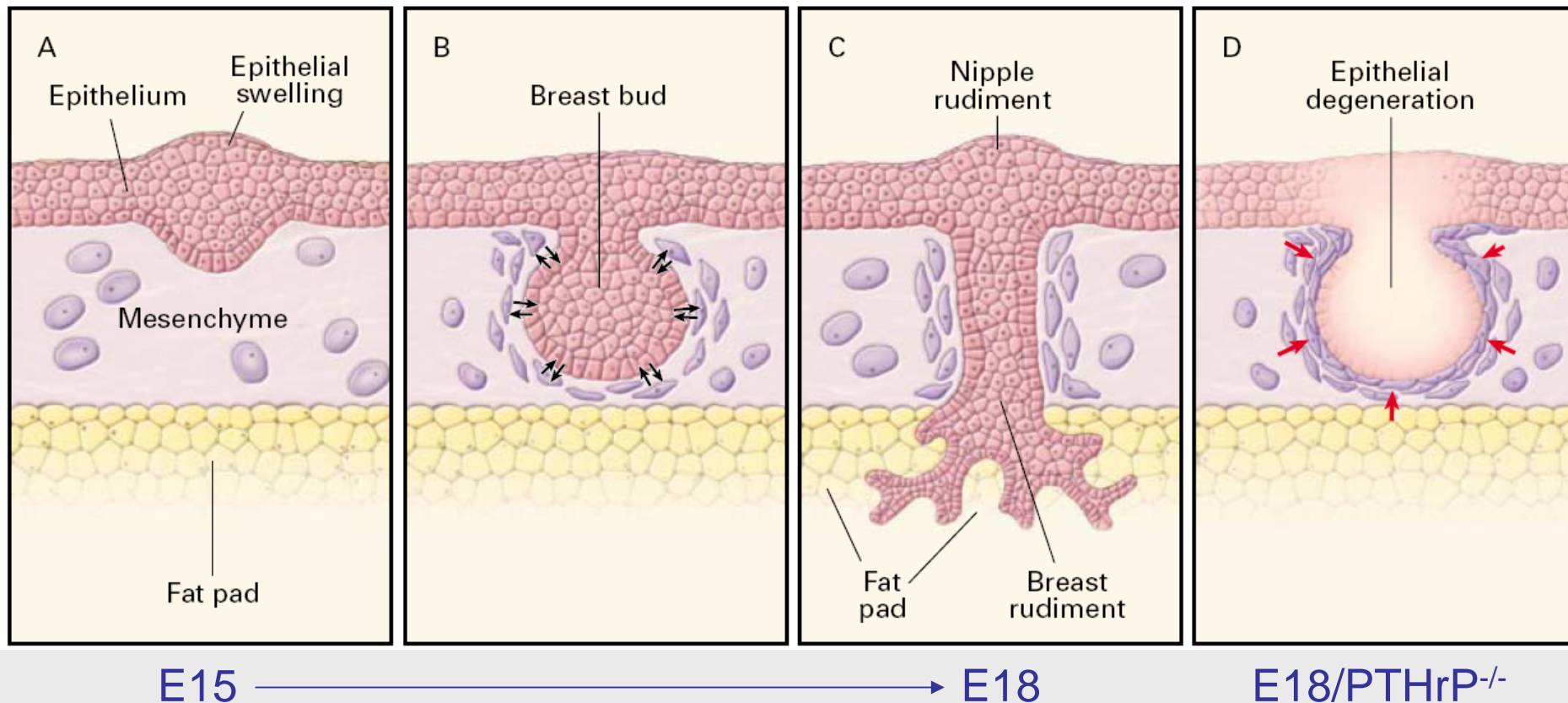


Stadien der Brustdrüsenentwicklung der Maus

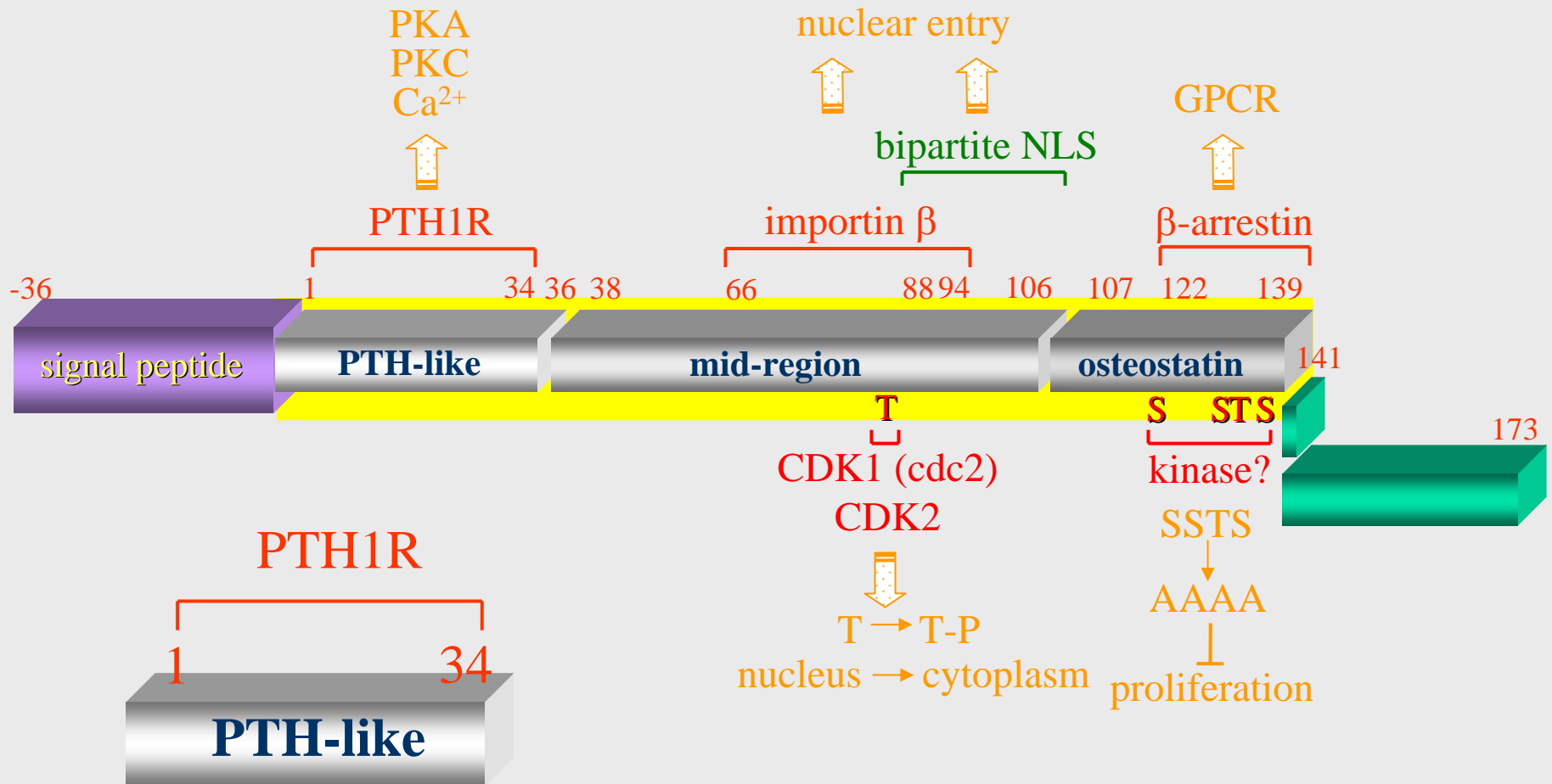


TEB = terminal end buds

Epithelial-mesenchymale Interaktion während der embryonalen Brustdrüsenentwicklung

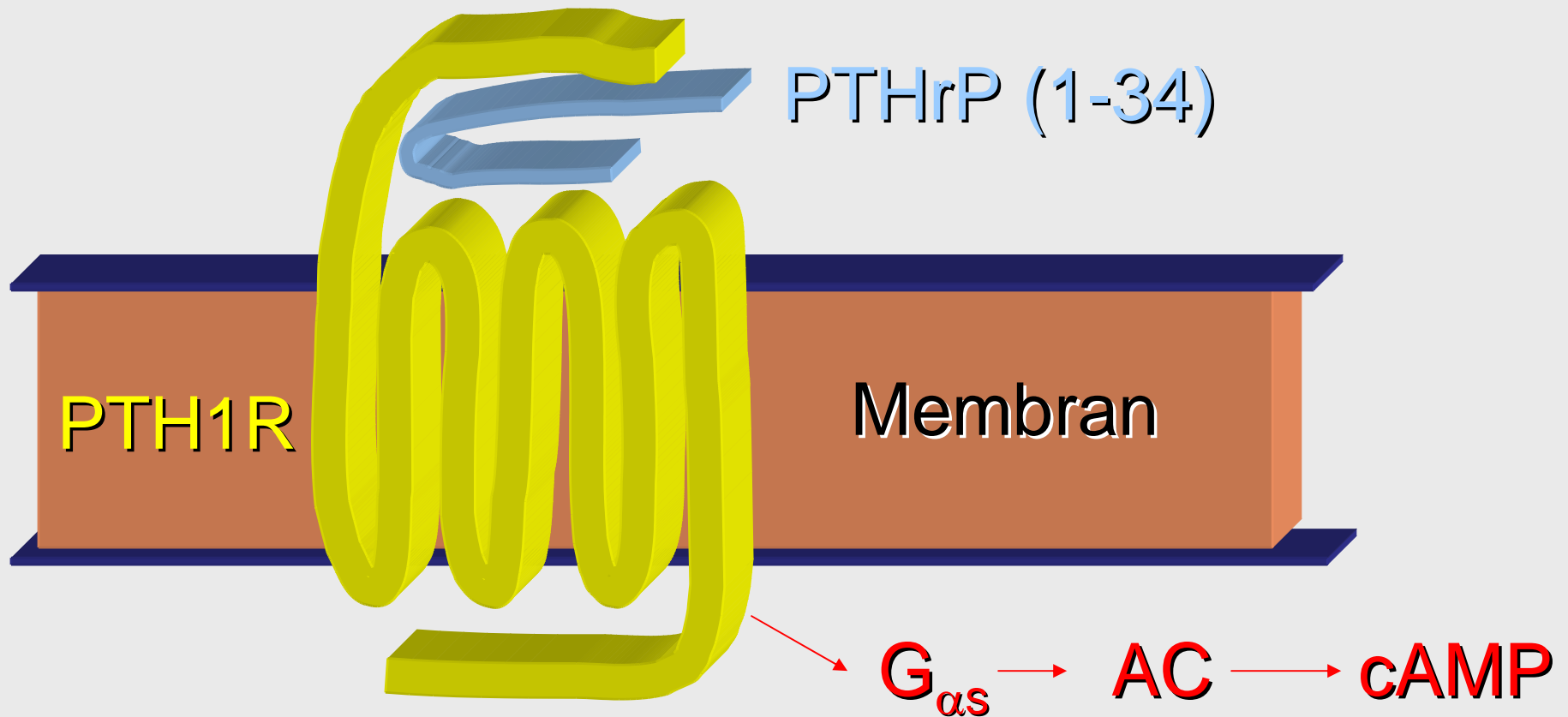


PTHrP (parathyroid hormone-related protein)

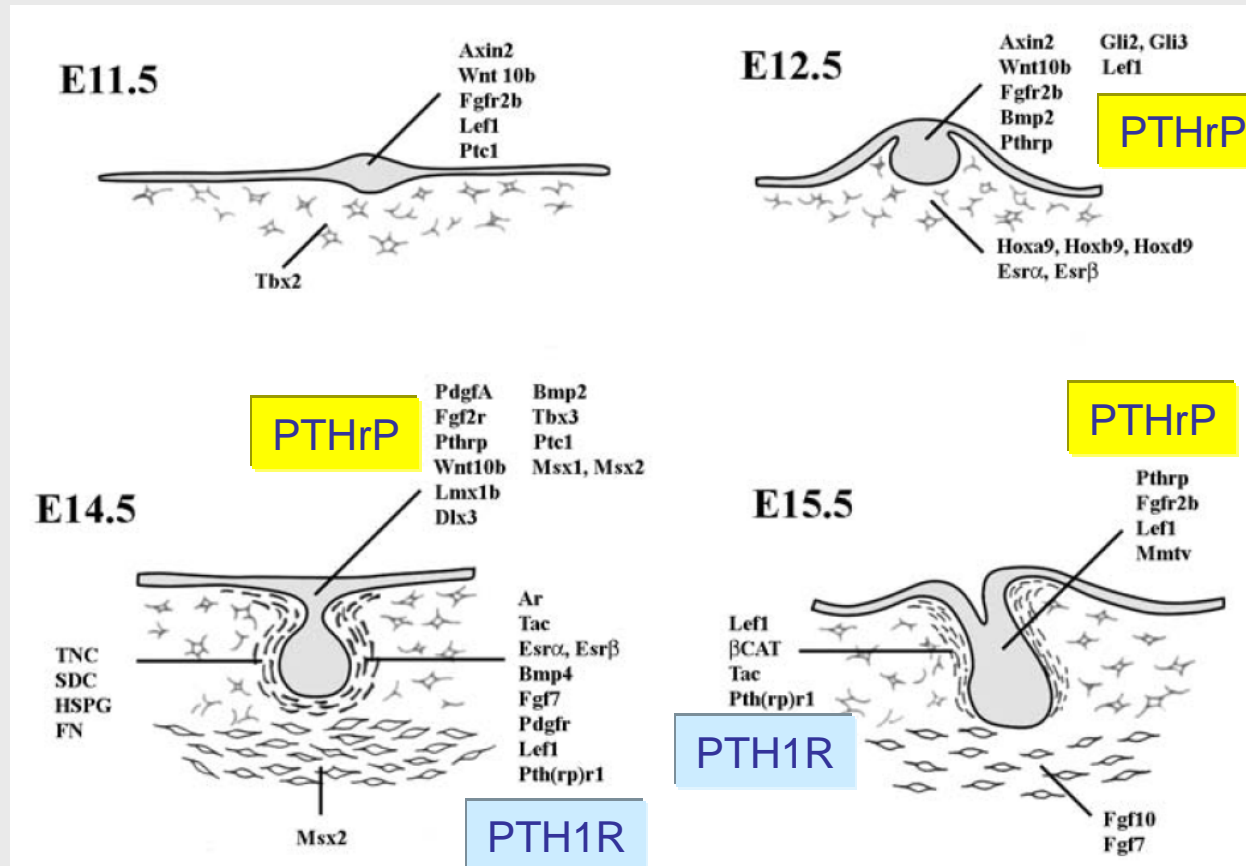
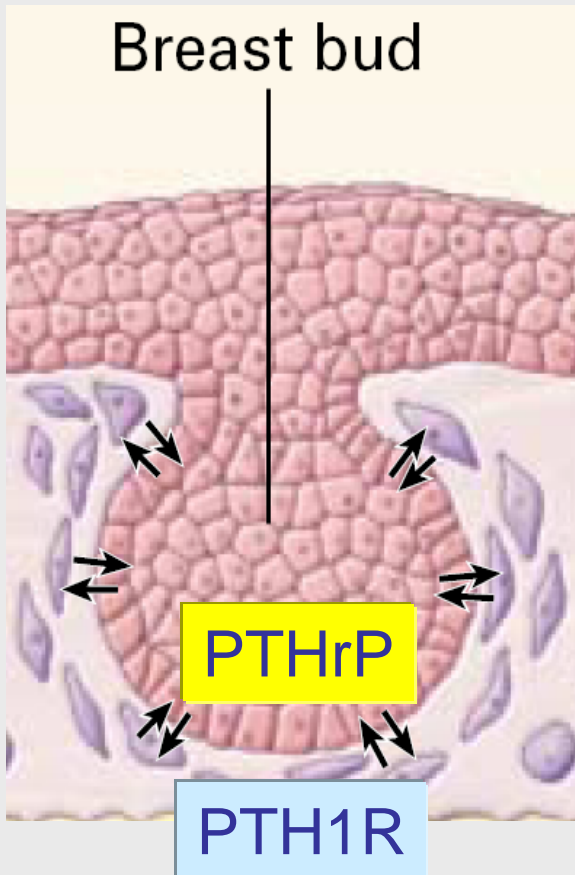




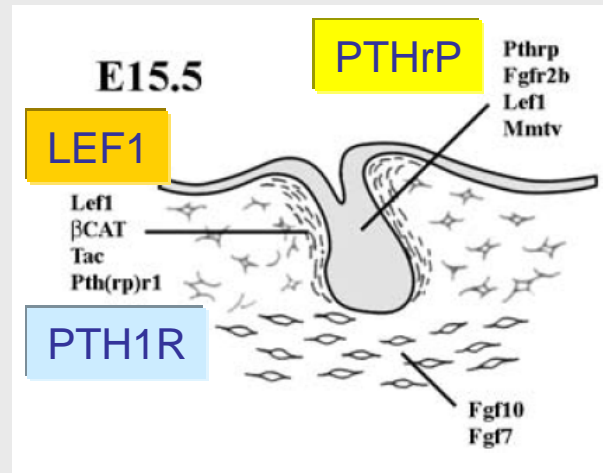
Interaktion von PTHrP mit dem Rezeptor PTH1R



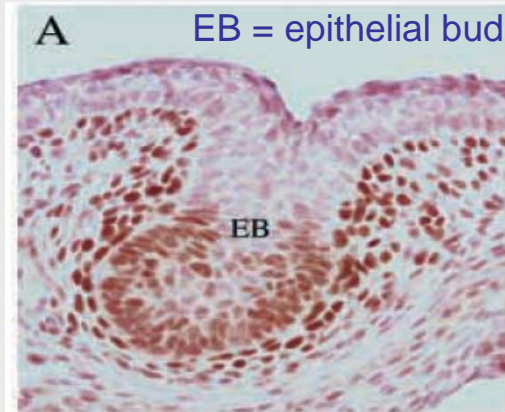
Zellen in den Epithelknospen exprimieren PTHrP, das Mesenchym PTH1R



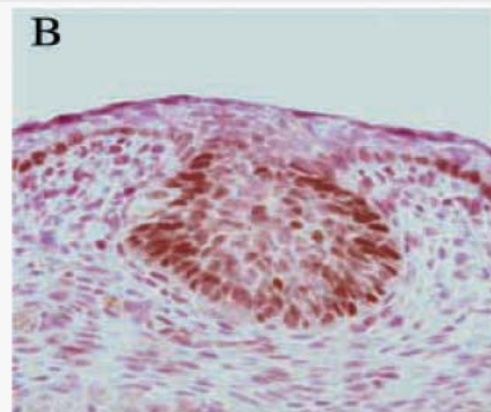
PTHrP oder PTHR1 k.o. verhindert die Expression von LEF1 im dermalen Mesenchym



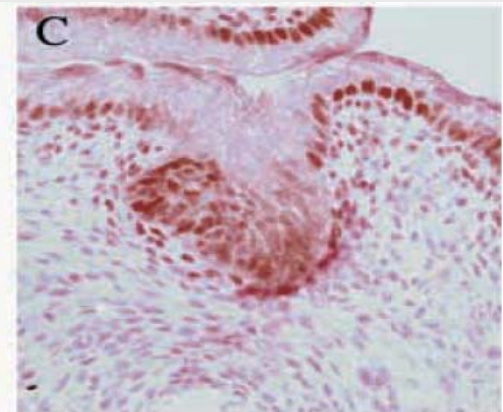
LEF1 = lymphoid enhancer binding factor 1



E15/WT



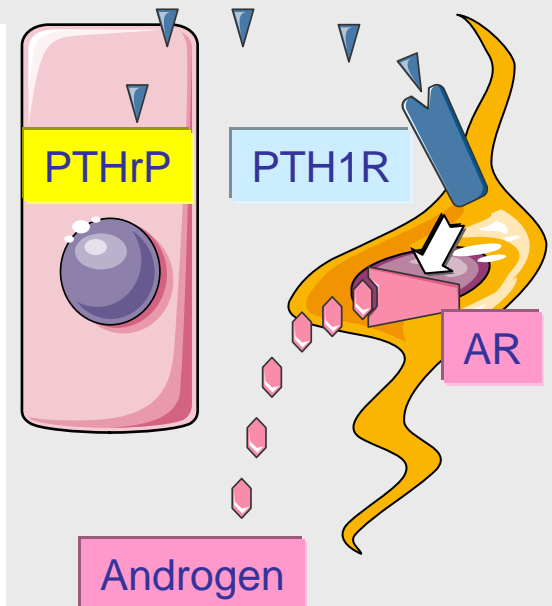
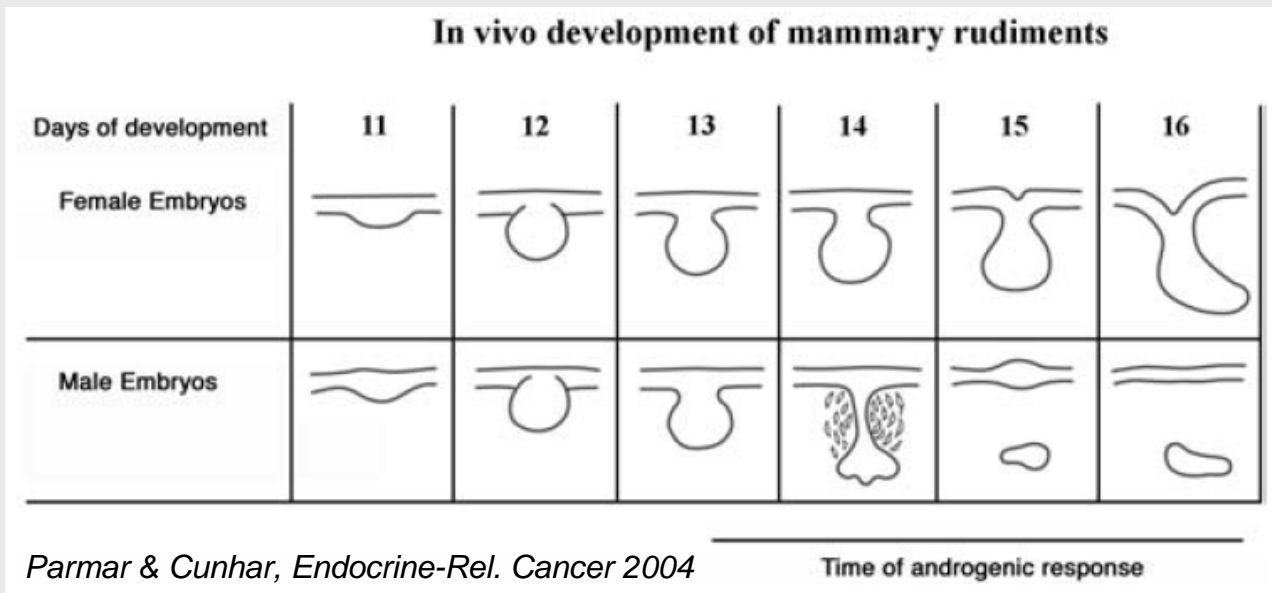
E15/PTHrP^{-/-}



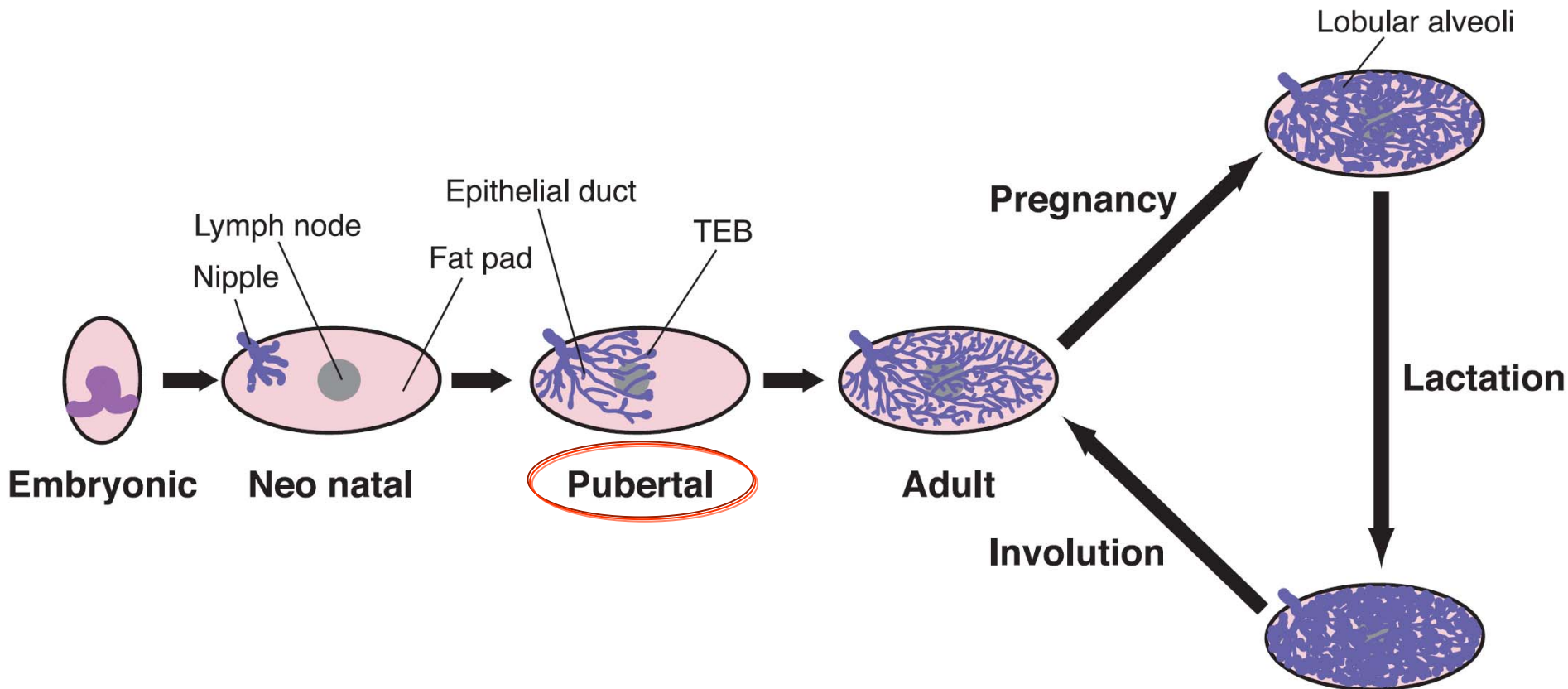
E15/PTHR1^{-/-}

Die epithelial/mesenchymale PTHrP/PTH1R-Interaktion und die Brustdrüsenentwicklung

PTHrP ist essentiell für
 die Initiierung der Brustdrüsenentwicklung
 die Entwicklung der Mamilla
 den sexuellen Dimorphismus

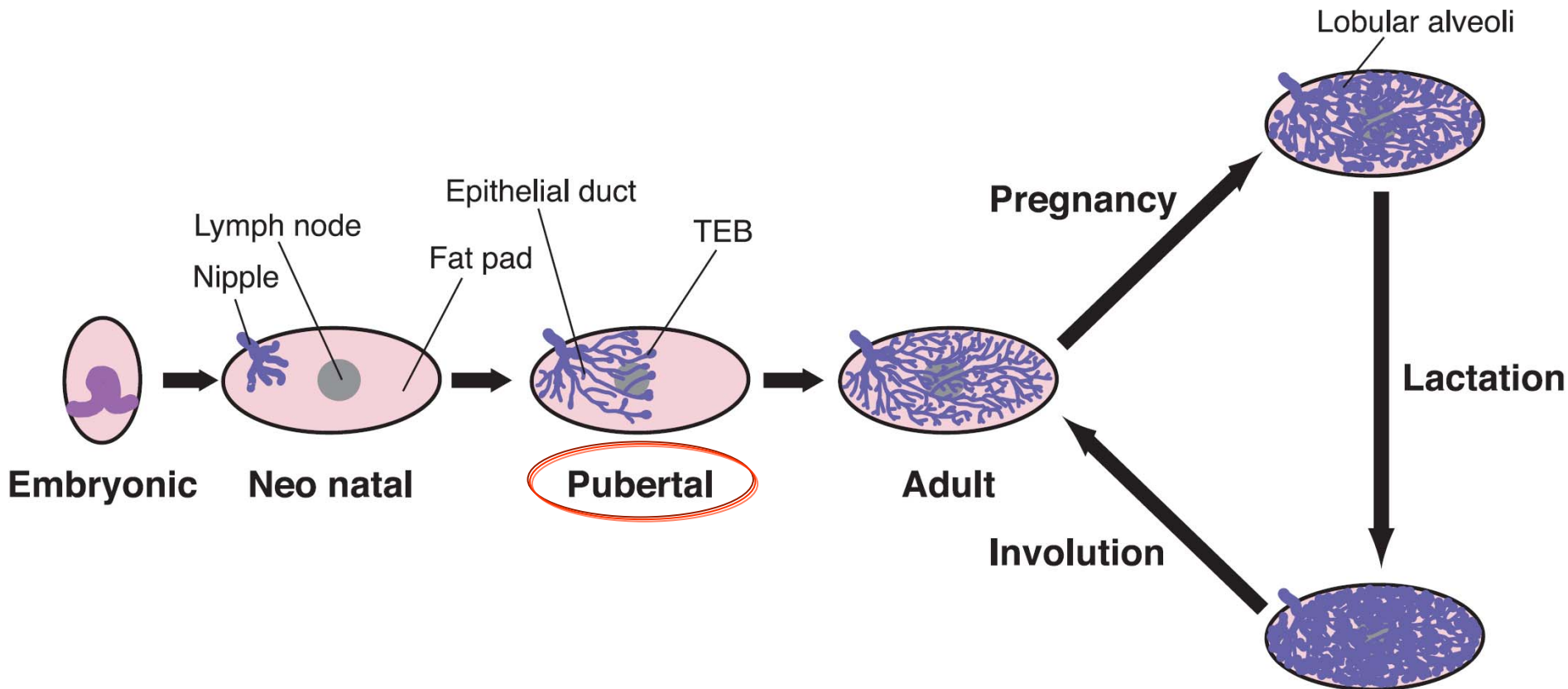


Stadien der Brustdrüsenentwicklung der Maus



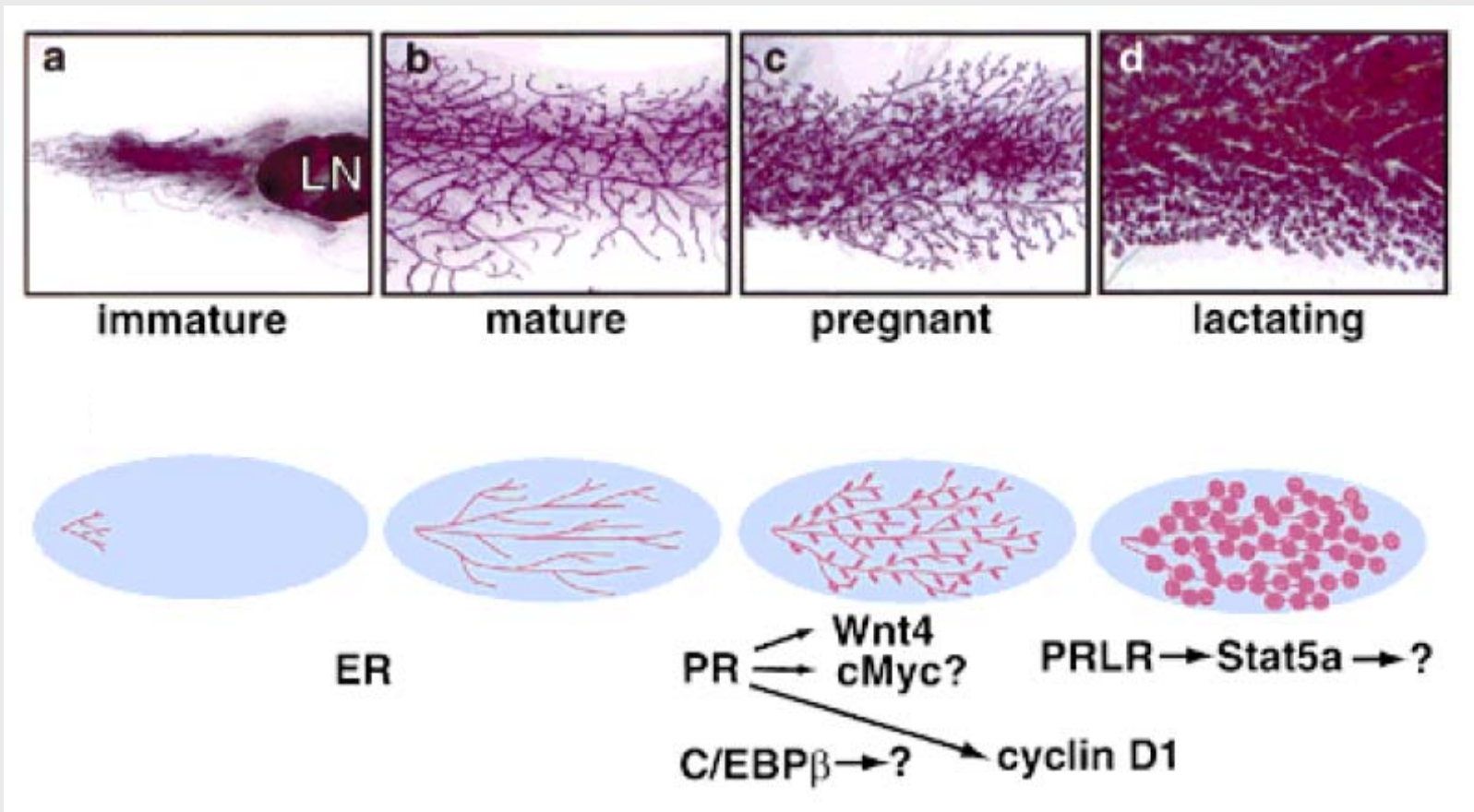
TEB = terminal end buds

Stadien der Brustdrüsenentwicklung der Maus

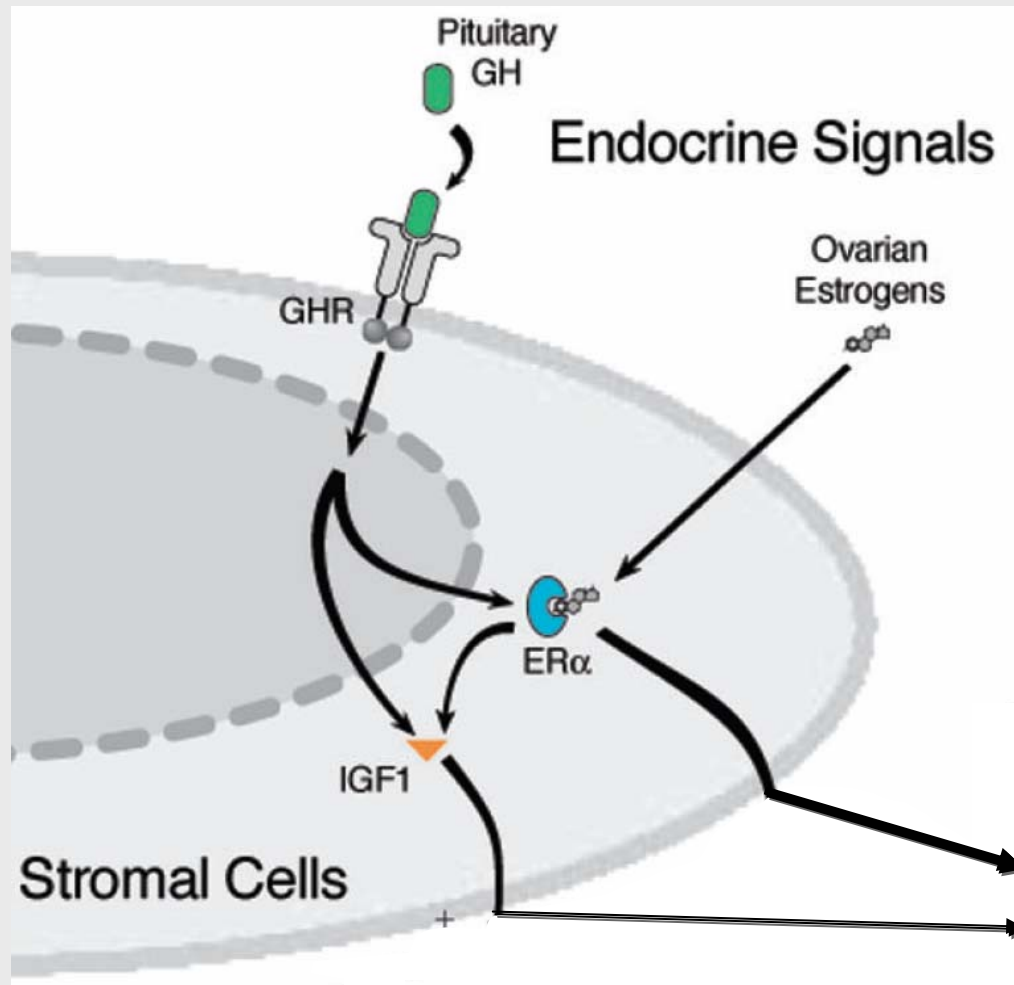


TEB = terminal end buds

Brustdrüsenentwicklung während der Pubertät ist Estrogen-abhängig

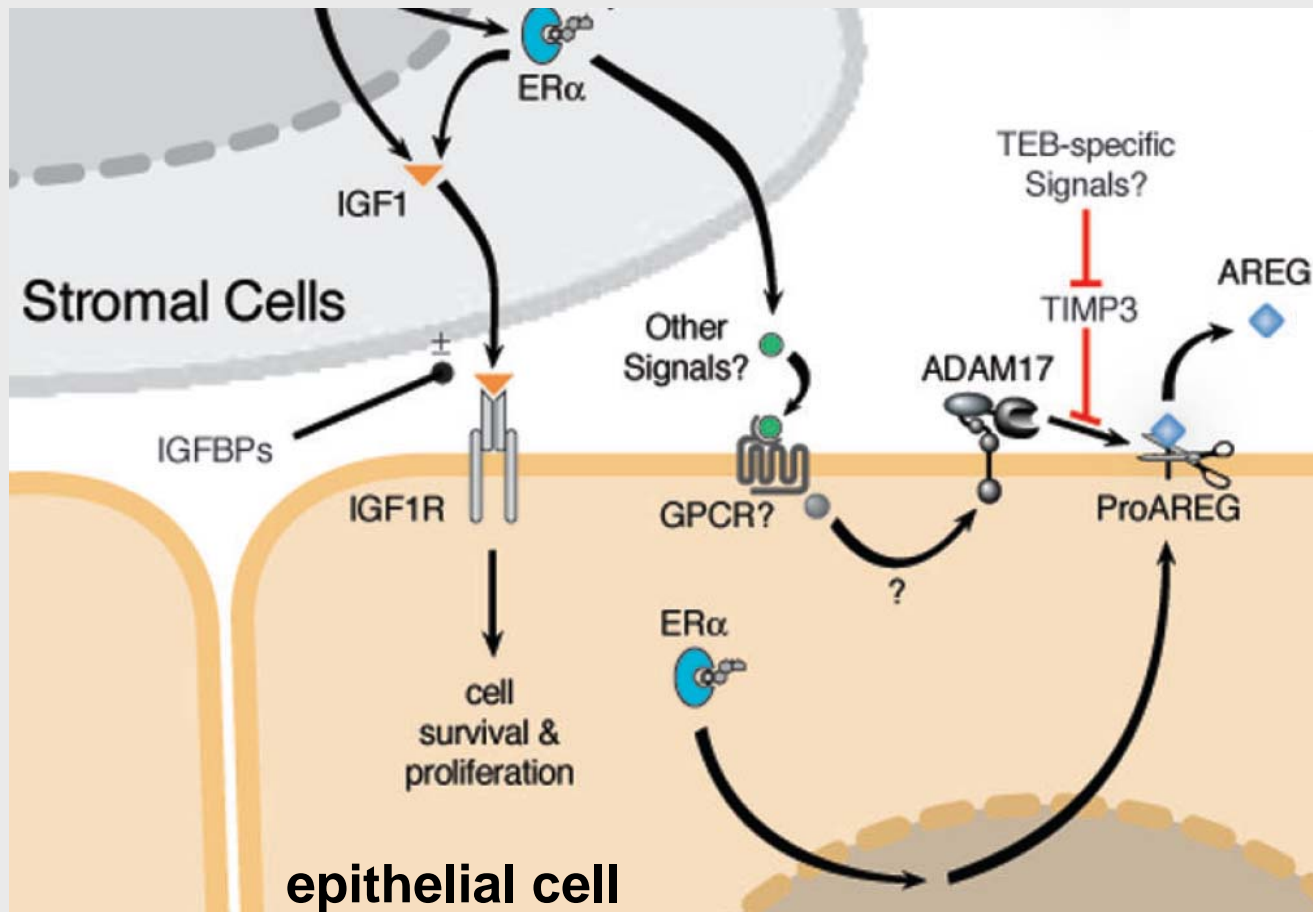


Ovariales Estrogen und Hypophysen-Wachstumsfaktor wirken über das Stroma auf die Endknospenbildung

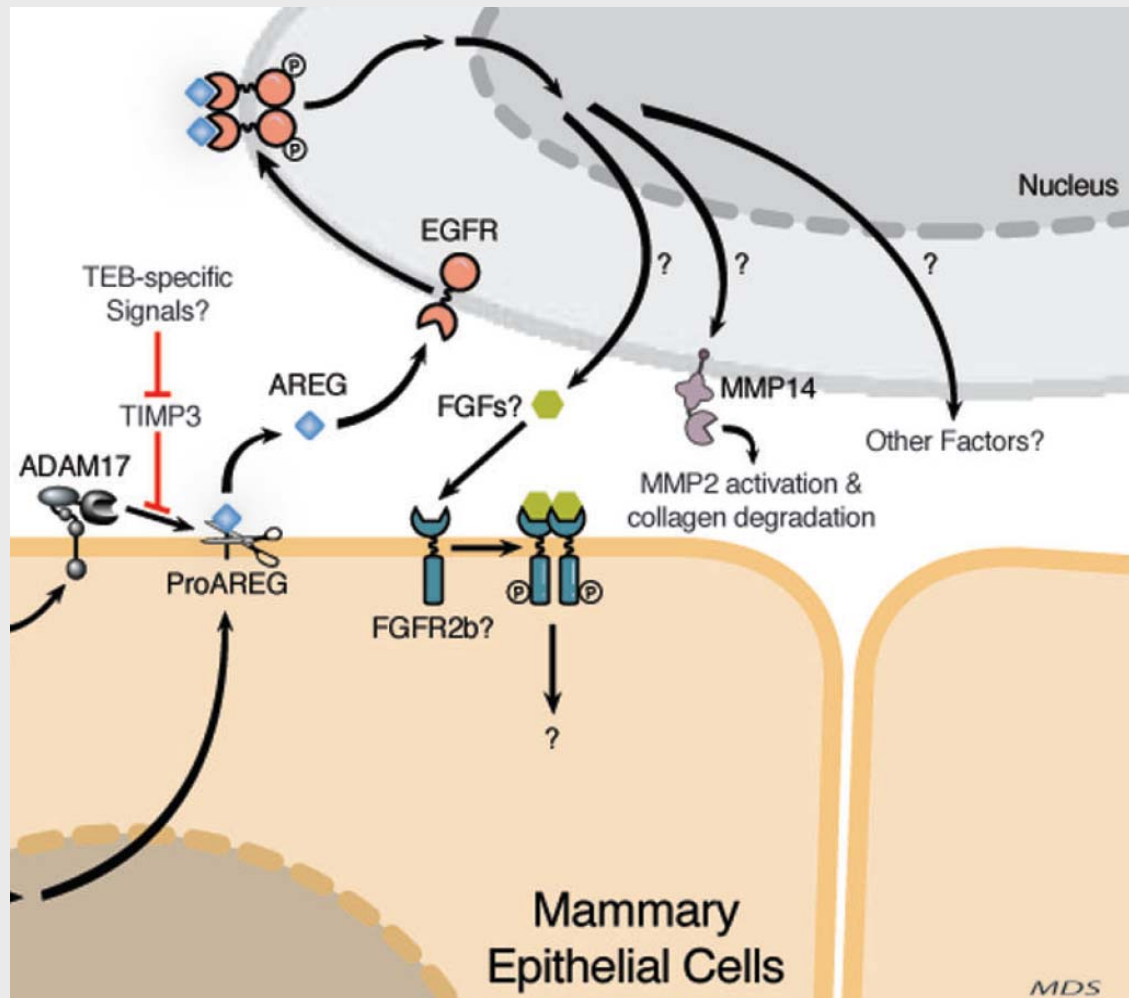


kooperativer Effekt
auf Epithelzellen

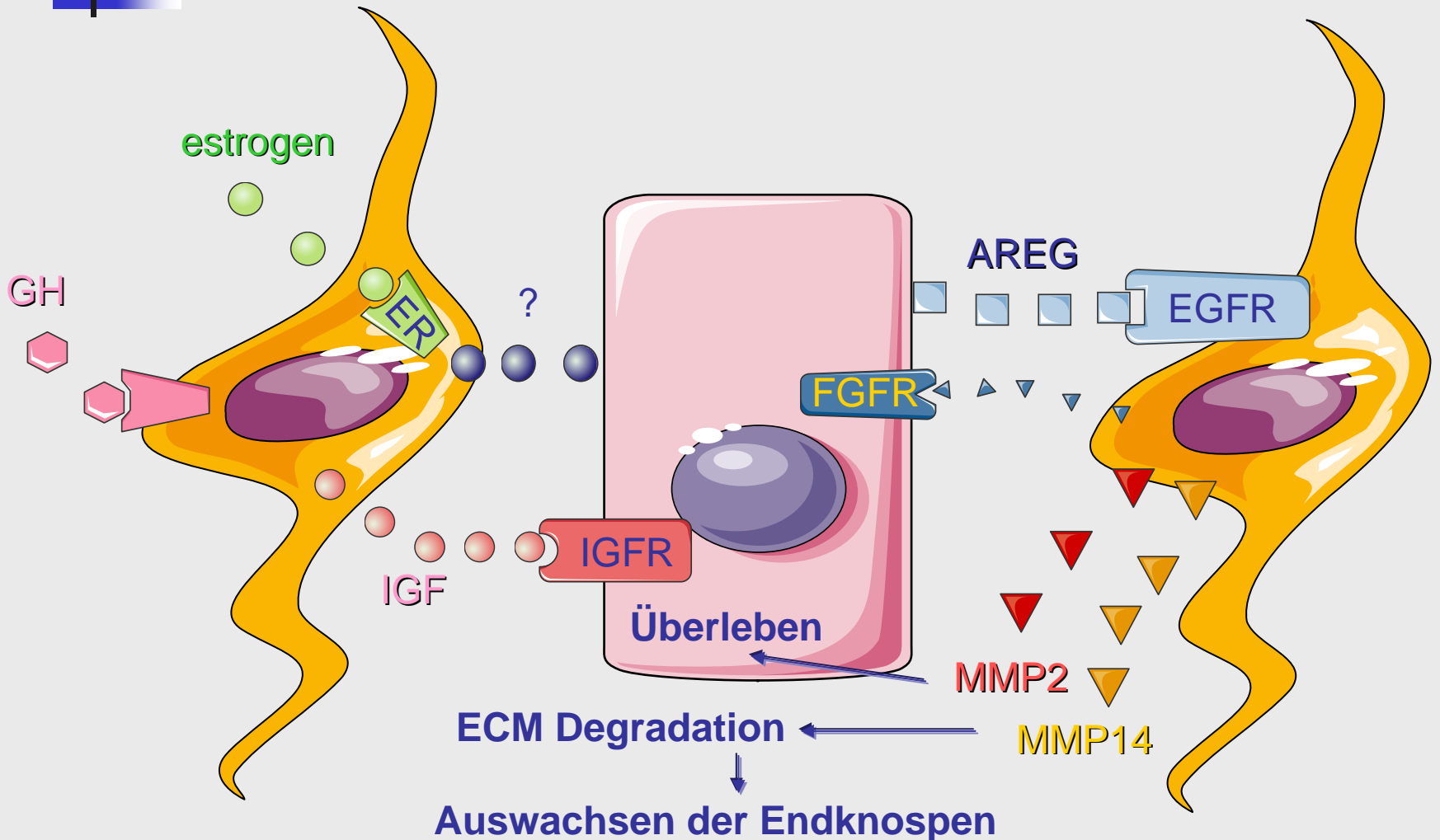
ER/GH-aktivierte stromale Zellen induzieren u.a. die Produktion von Amphiregulin (AREG) in Brustepithelzellen



AREG aktiviert den EGF-Rezeptor auf stromale Zellen und stimuliert die Produktion von MMP2 und MMP14

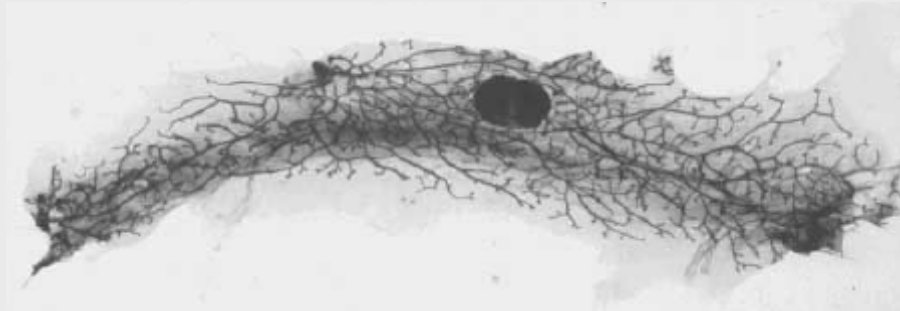


EGFR-Liganden können Estrogen in ovariectomierten und ER α -defizienten Mäusen ersetzen



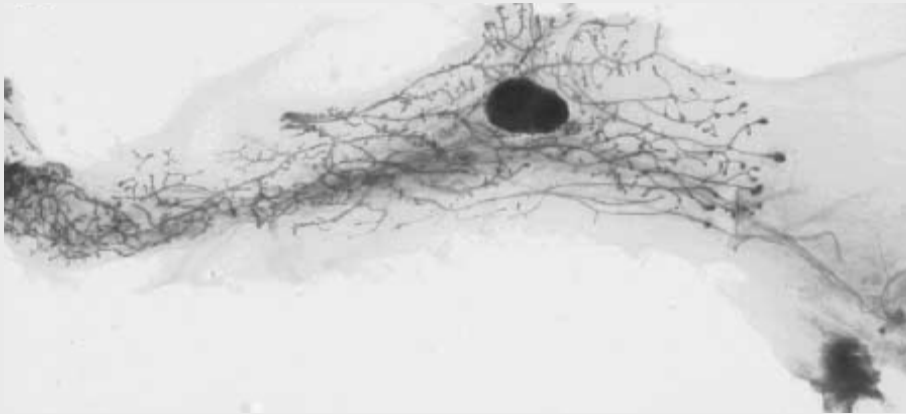


PTHrP-Überexpression stört Längenwachstum der Ducti in der Pubertät

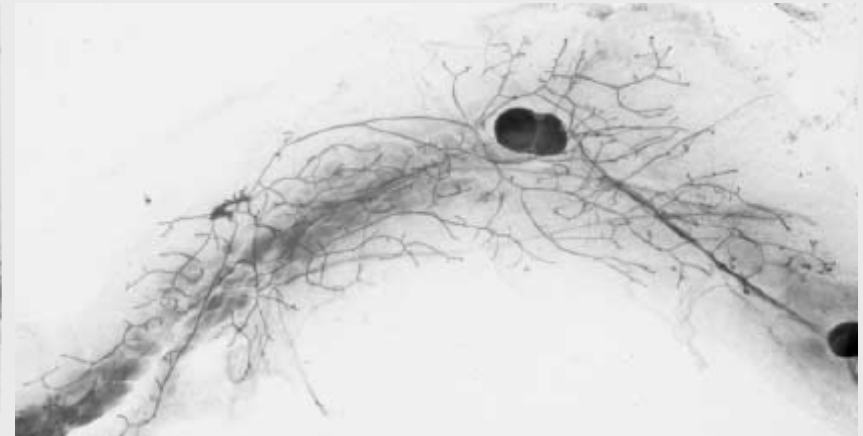


WT

Dunbar et al., J. Endocrinol. 2001

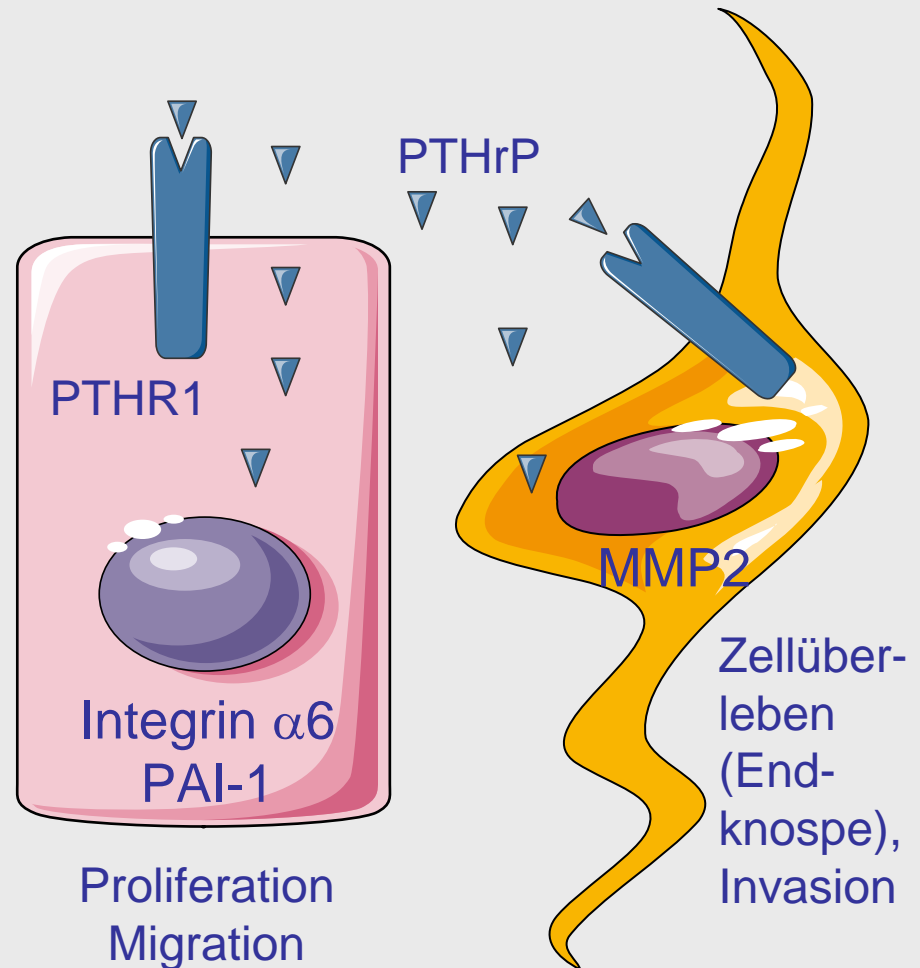
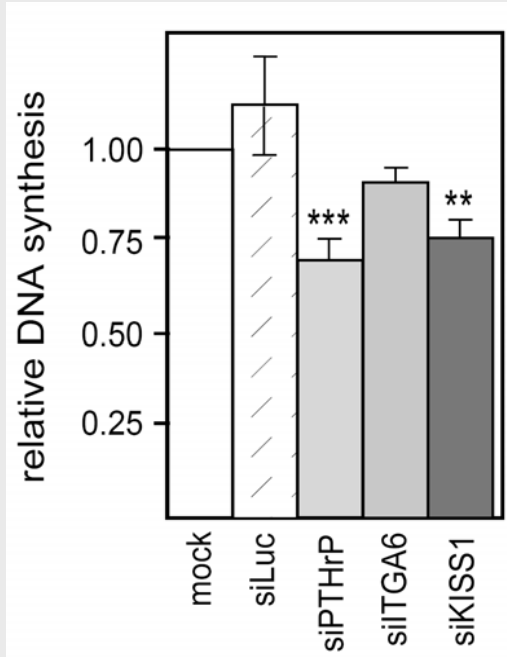
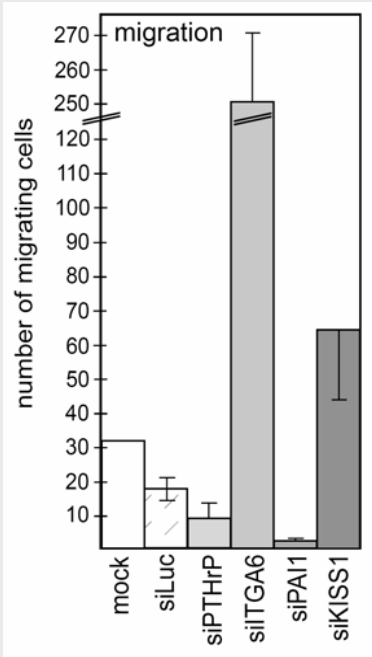


PTHrP-Überexpression
während der Pubertät



PTHrP-Überexpression
während der Embryonalentwicklung

PTHrP-Funktion beim primären Mammakarzinom





PTHrP-Expression in Mammakarzinomen

- 50-60% aller primären Mammakarzinome
- 92% der Knochenmetastasen
- 17% der viszeralen Metastasen

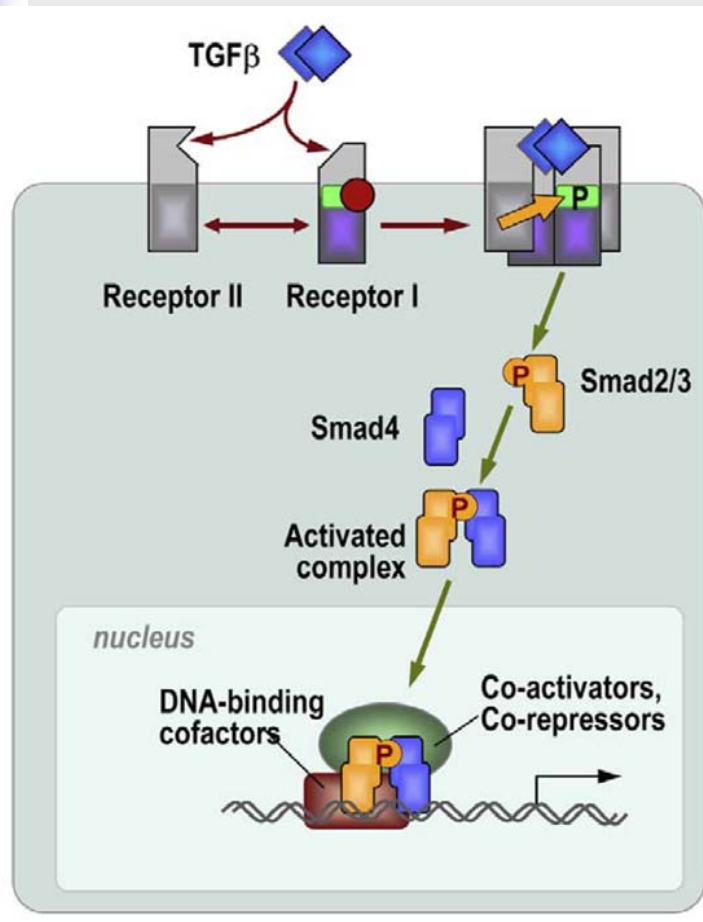
- PTHrP-Expression korreliert mit ungünstiger Prognose (bei den meisten Studien)



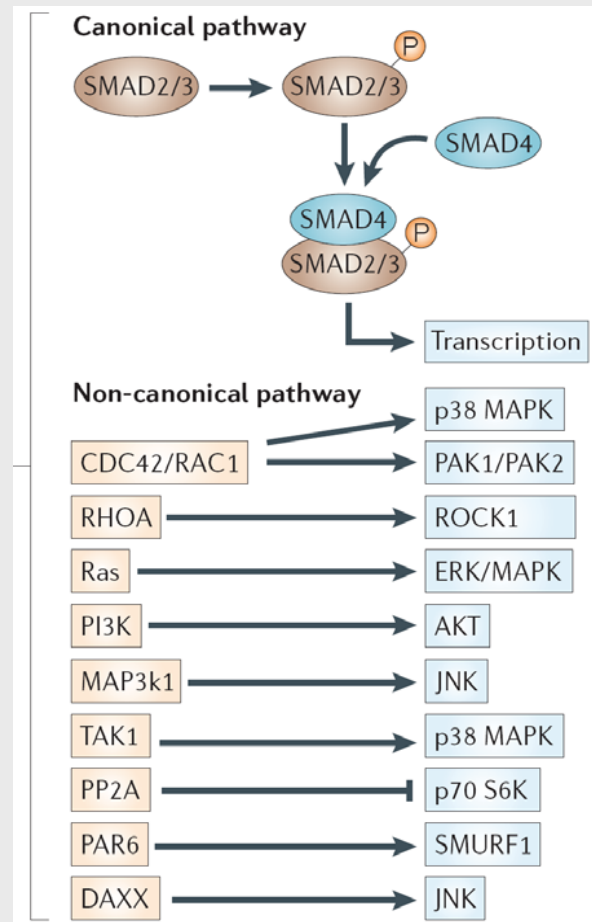
Parakrin wirkende sekretorische Proteine

- PTHrP (parathyroid hormone related protein)
- HGF (hepatocyte growth factor)
- TGF- α (transforming growth factor α)
- AREG (amphiregulin)
- FGF (fibroblast growth factor)
- PDGF (platelet-derived growth factor)
- **TGF- β (transforming growth factor β)**
- IGF (insulin growth factor)
- MST1 (macrophage stimulating 1)

Mechanismen der TGF β -Wirkung



Massagué, FEBS Letters 2006



Bierie & Moses, Nature Rev. 2006

Zielgene von TGFβ

Paracrine Network

IL11, VEGF, CTGF, Jagged1, Follistatin3
Angiopoietin-like 4, IL1β, BMP4, PTHrP

IL11
CTGF
PTHrP

Knochen-
metastasen

Signaling Network

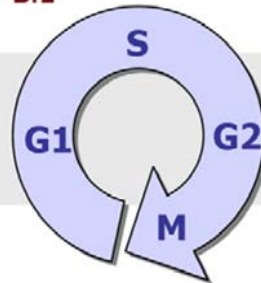
BMPR-II, VDR, EphB2, CDC42EP3, RhoGEF114,
Mek4, , SGK1, LDLR, PGE-R4, βAR-2

Transcriptional Network

Ets2, c-Jun, JunB, ATF3, Gadd45αβ, Pim1
Mad2, Mad4, C/EBPδ, MRG1, TRIP-Br2

Cytostatic Program

p21Cip1
p15Ink4b
c-Myc
Id1, Id2, Id3



Proliferations-
hemmung

Extracellular Matrix

PAI-1, uPA, Col VI-A1, ADAM19
Integrin α5, integrin β6

Other Responses

T-box3, MN1, IER3, Igλ, OVOL1, Syalyl tranf.4A
Sprouty 2, IAP3, UDPG-ceramide GT

Negative Feedback

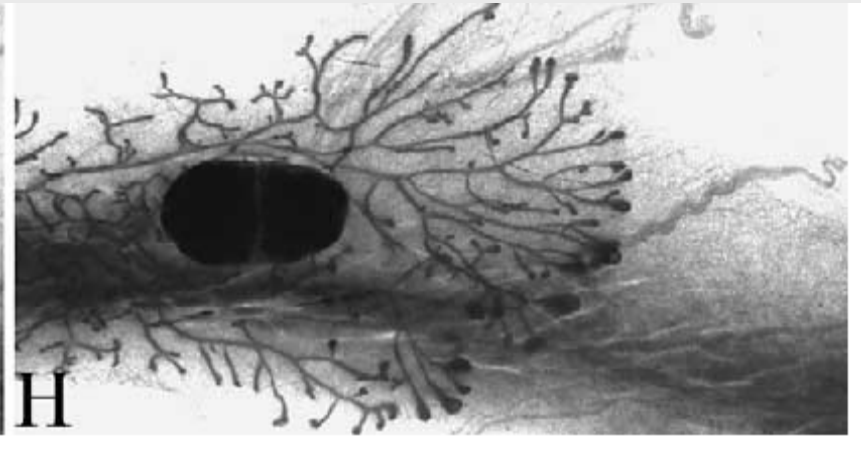
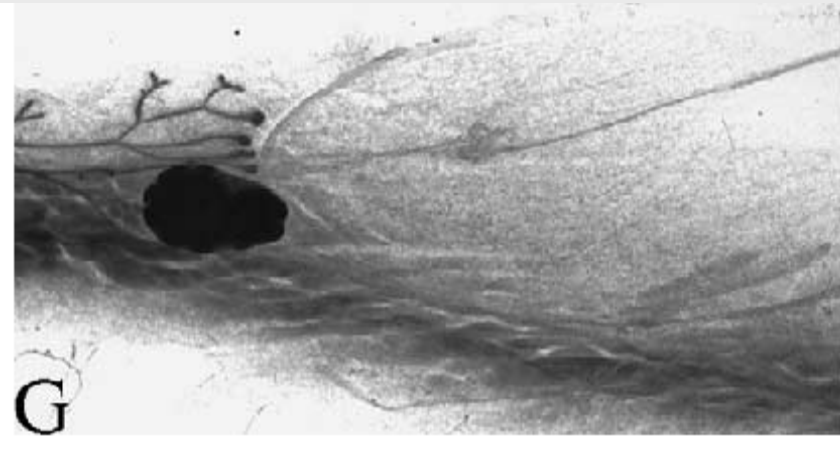
Smuf1, Smurf2, Smad7, SnoN, LEMD3



TGF β hemmt das Auswachsen der Brustepithels

WT mouse

dn-T β IIIR mouse

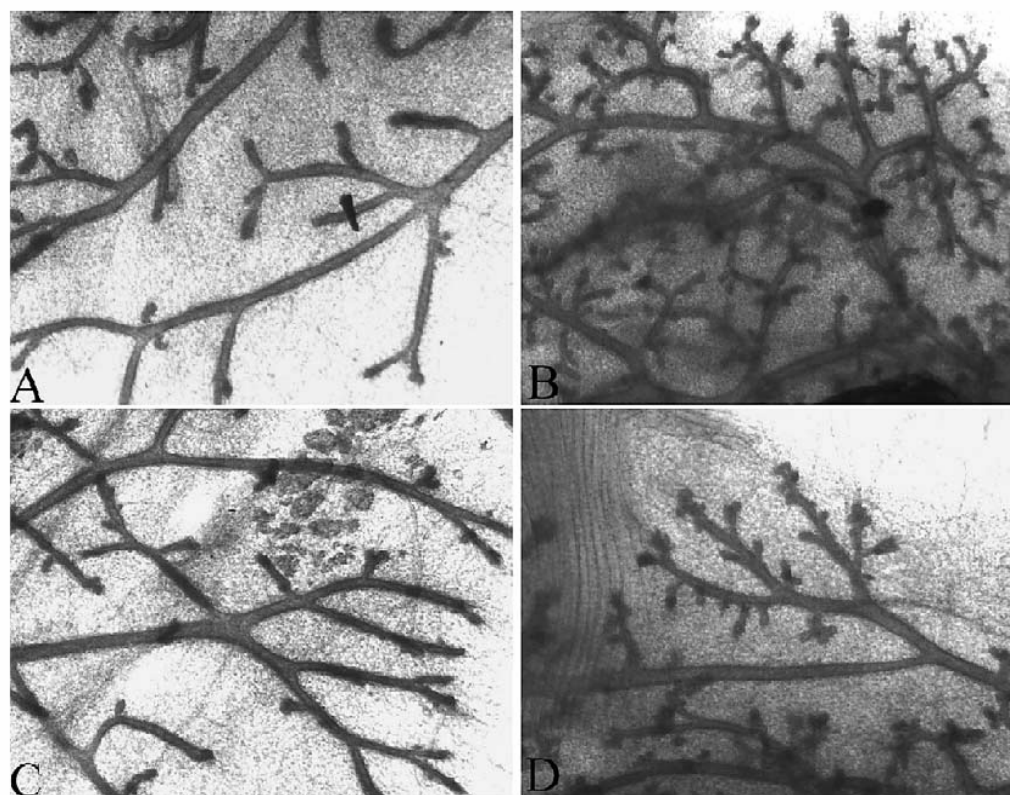


Stromaler TGF β -Rezeptor für TGF β -Effekt auf Brustepithelwachstum verantwortlich

WT fatpad

dn-T β II-R

WT
epithelium

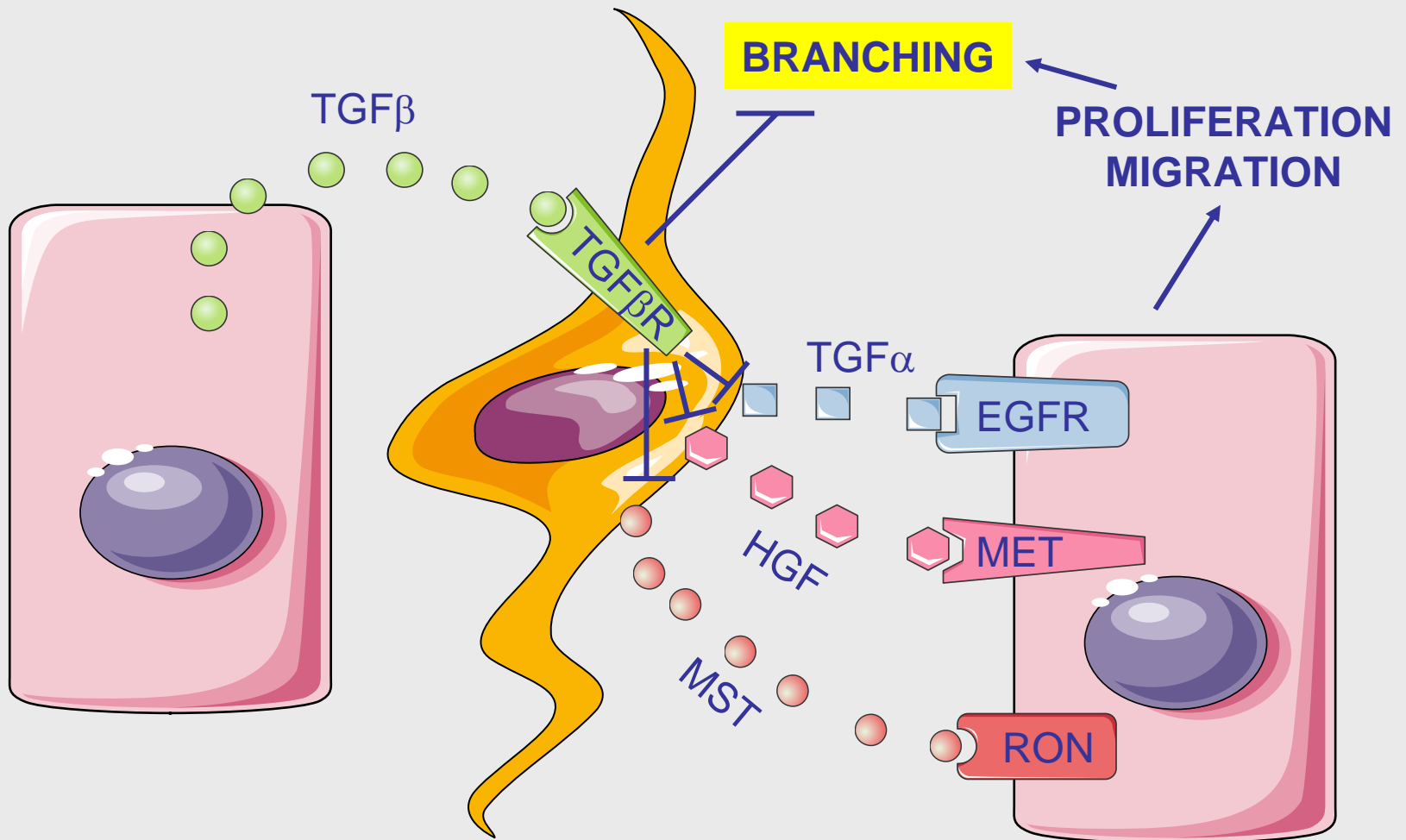


dn-T β II-R
epithelium

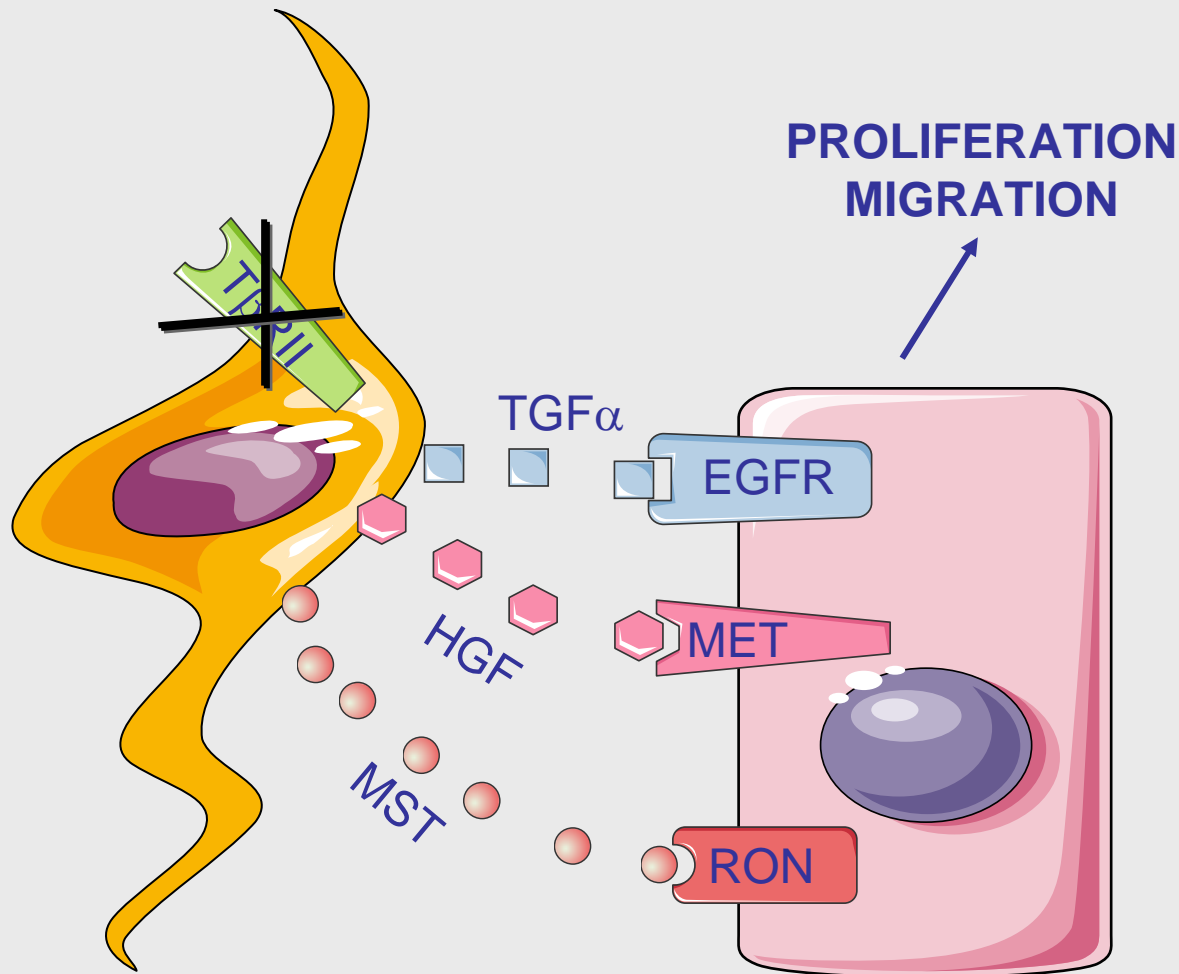
dn-T β II-R
epithelium

WT
epithelium

Parakrines TGF β kontrolliert das Auswachsen des Epithels

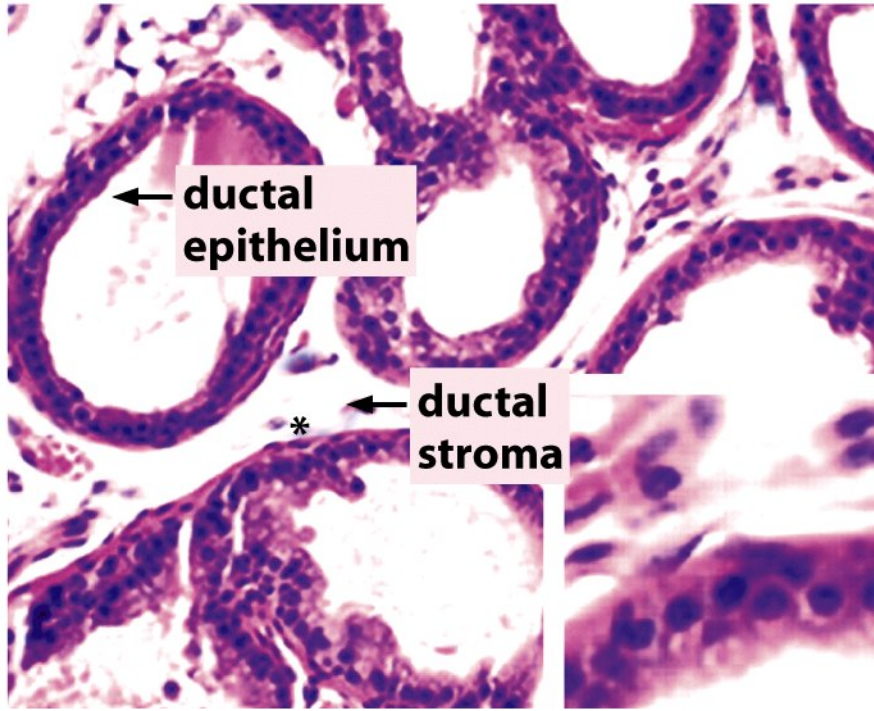


Fibroblasten-T β RII k.o. Mäuse zeigen vermehrt Prostata- und Magenkarzinome



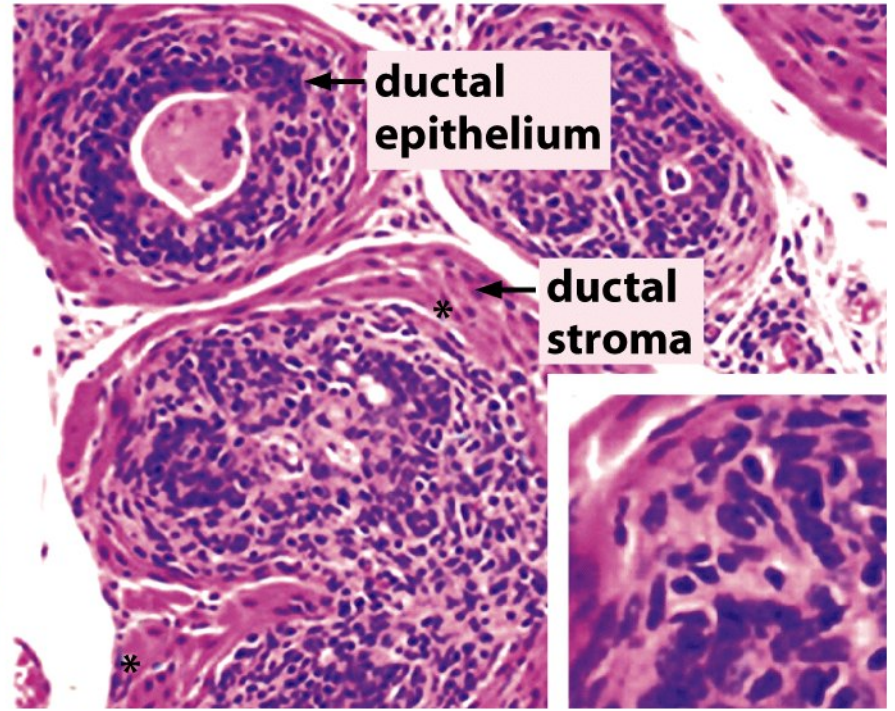
Prostatakarzinom in Fibroblasten-T β RII k.o. Mäusen

(A)



wild type

(B)



TGF- β RII inactivated



Treten Mutationen in Carcinom-
assoziierten Fibroblasten (CAFs) auf?

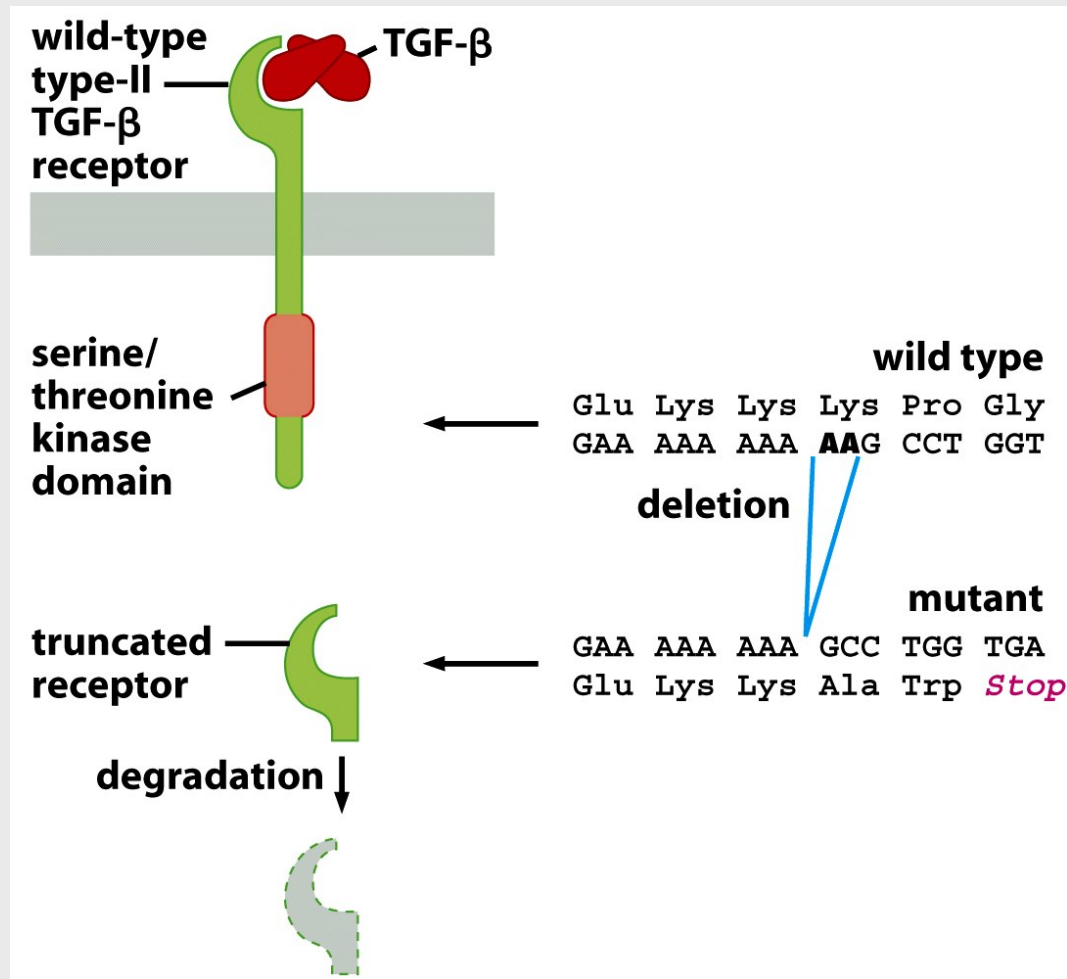
Genetische Veränderungen in DCIS- und IDC-assoziierten Fibroblasten

Table 3 *Distribution of LOH among the epithelial and mesenchymal components*

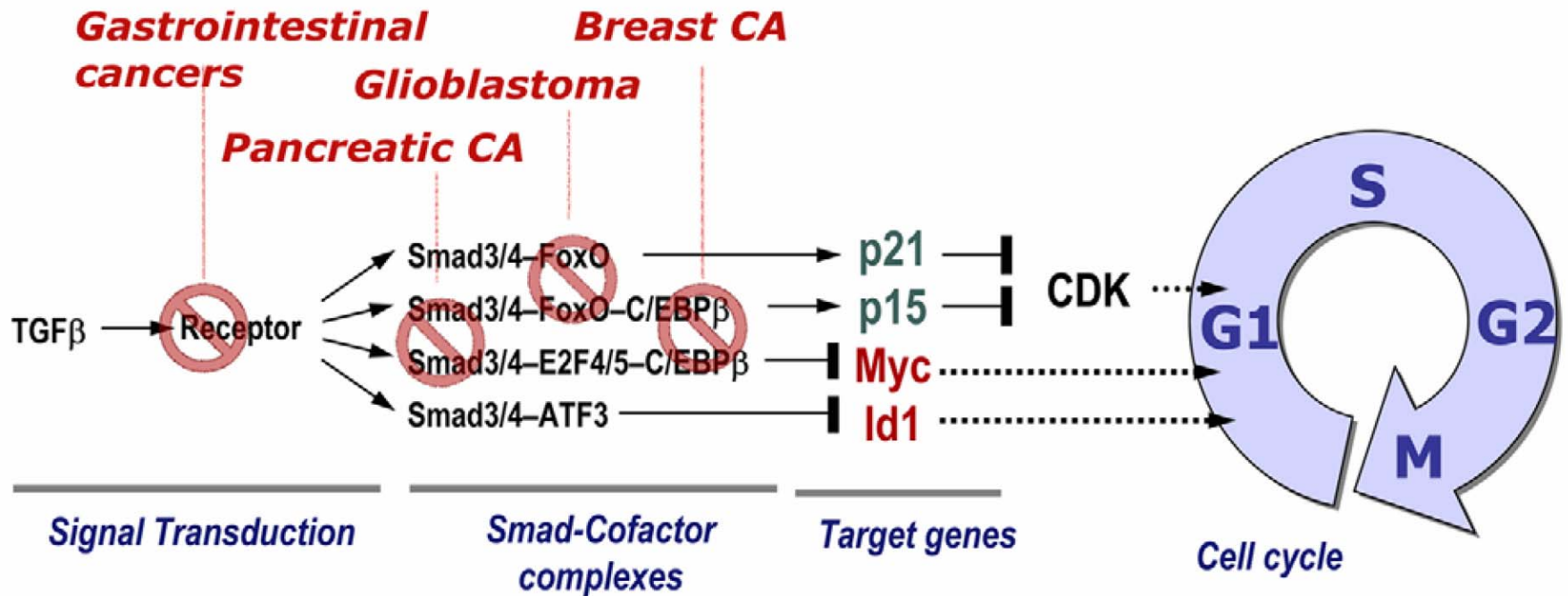
Marker	Cases with LOH in either Ep or St/informative cases ^a	Cases with LOH in both Ep and St	Cases with LOH only in Ep	Cases with LOH only in St
<i>TPO</i>	3/9 (33%)	1	0	2
<i>D3S1067</i>	7/11 (64%)	4	0	3
<i>D3S1300</i>	3/9 (33%)	3	0	0
<i>D3S1581</i>	7/10 (70%)	4	1	2
<i>D3S2432</i>	0/11	0	0	0
<i>D3S1766</i>	3/10 (30%)	1	0	2
<i>D11S1311</i>	5/11 (45.5%)	0	1	4
<i>D16S402</i>	6/8 (75%)	5	1	0
<i>D16S518</i>	7/11 (64%)	5	2	0
<i>D17S579</i>	5/10 (50%)	3	1	1
<i>D17S785</i>	7/8 (87.5%)	5	0	2
<i>D17S791</i>	3/8 (37.5%)	0	1	2

^a Ep, epithelium; St, stroma.

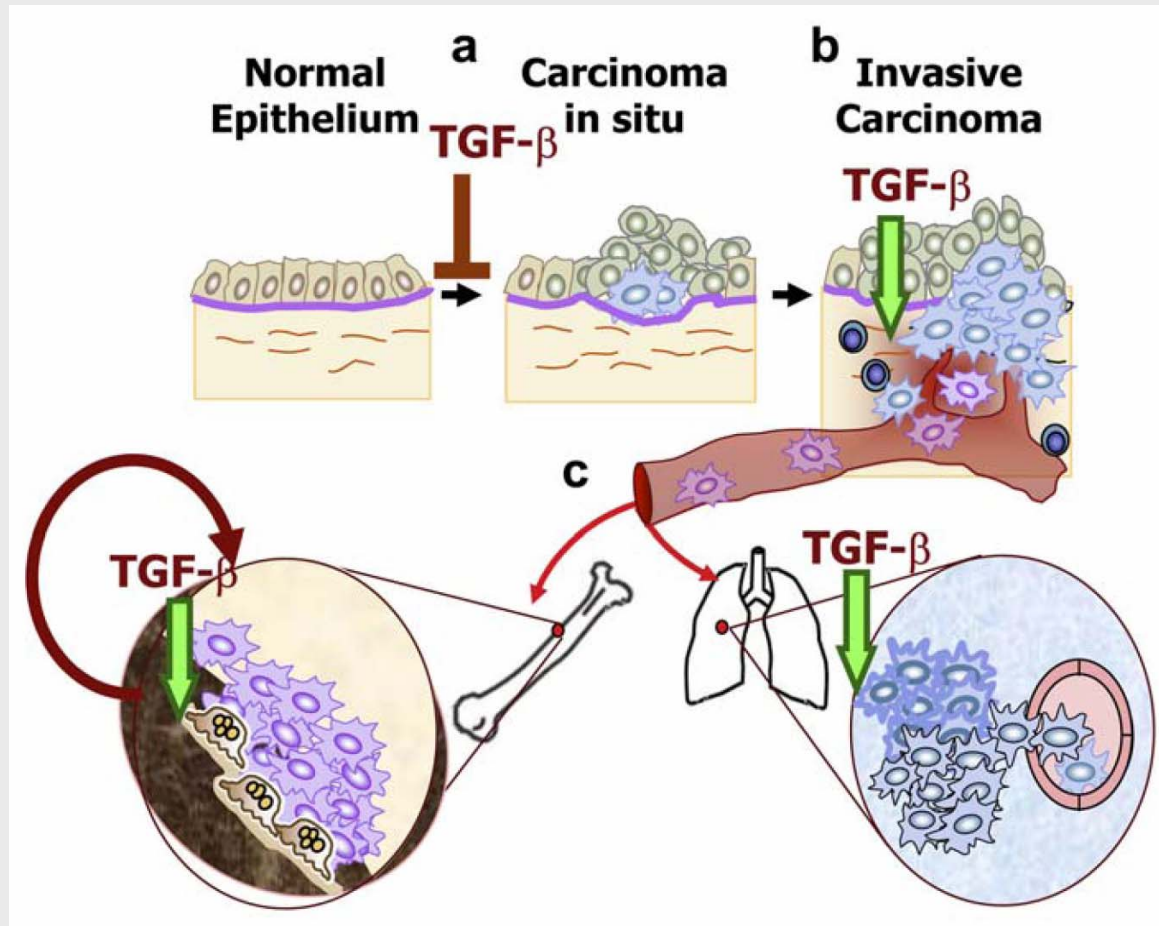
Mikrosatelliteninstabilität führt zu T β RII-Genmutationen



Defekter TGF β -Signalweg und Tumor

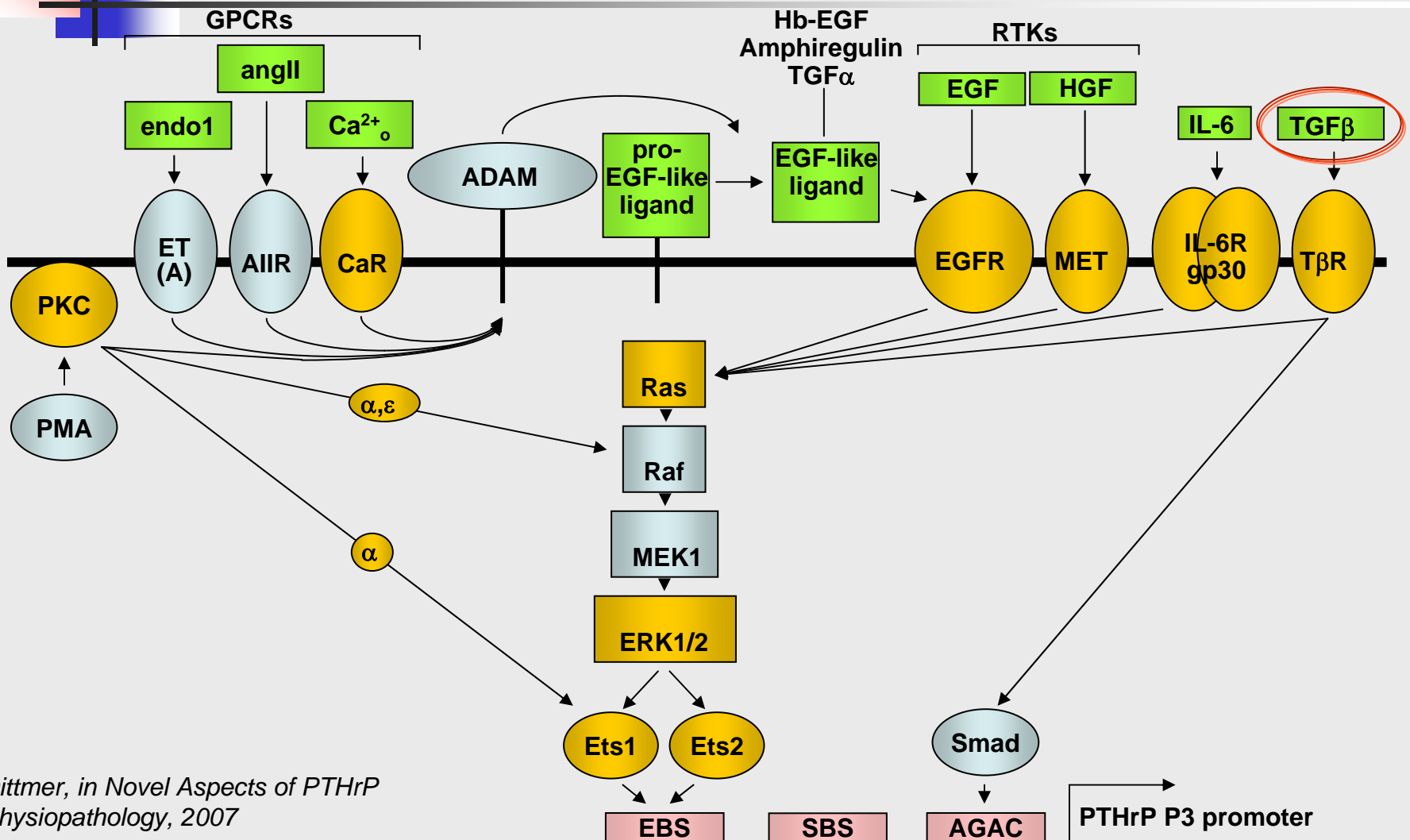


In späteren Stadien induziert TGF β EMT und Invasivität

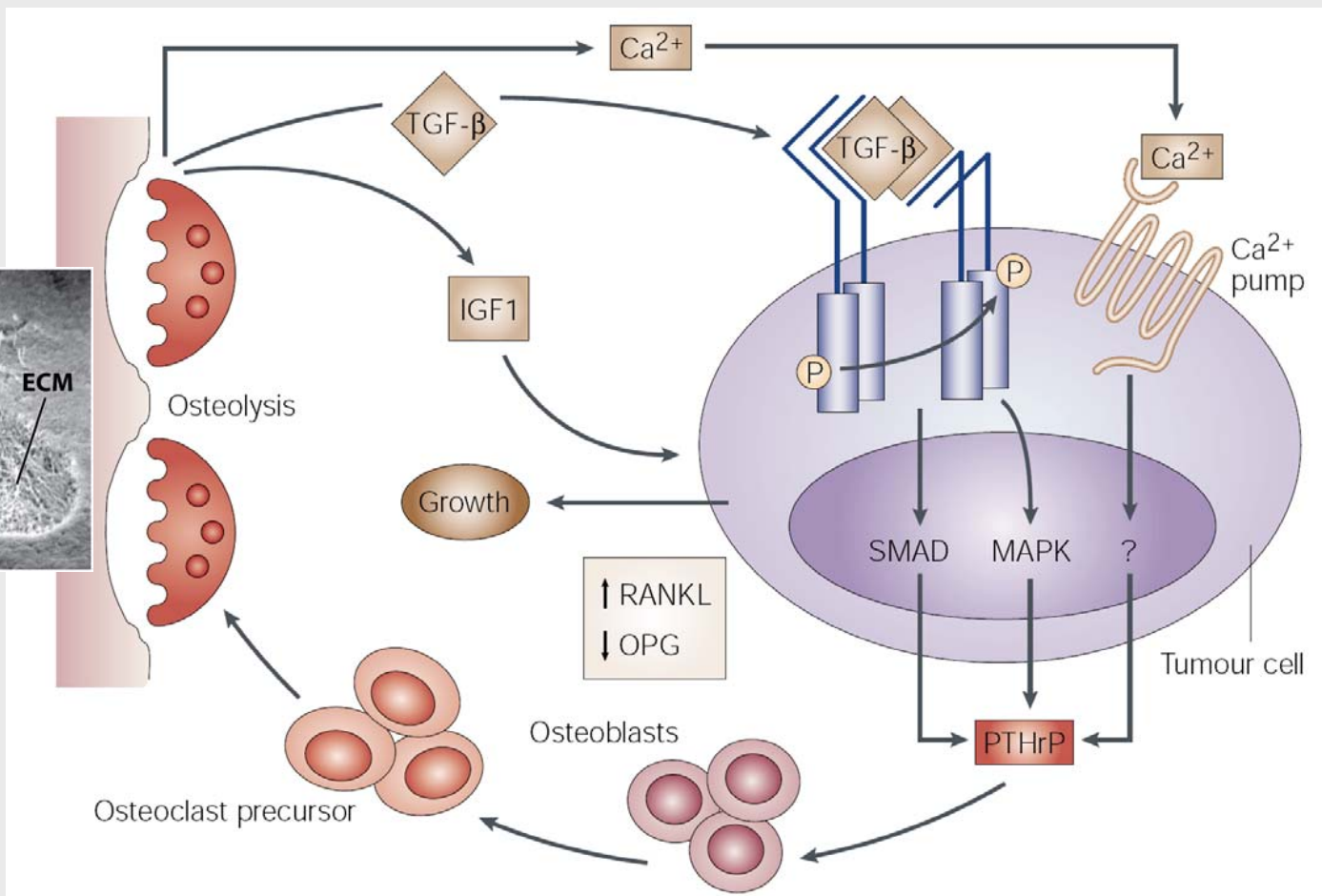
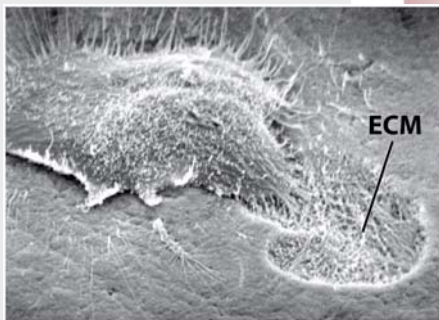


PAI-1
uPA
IL-11
CTGF

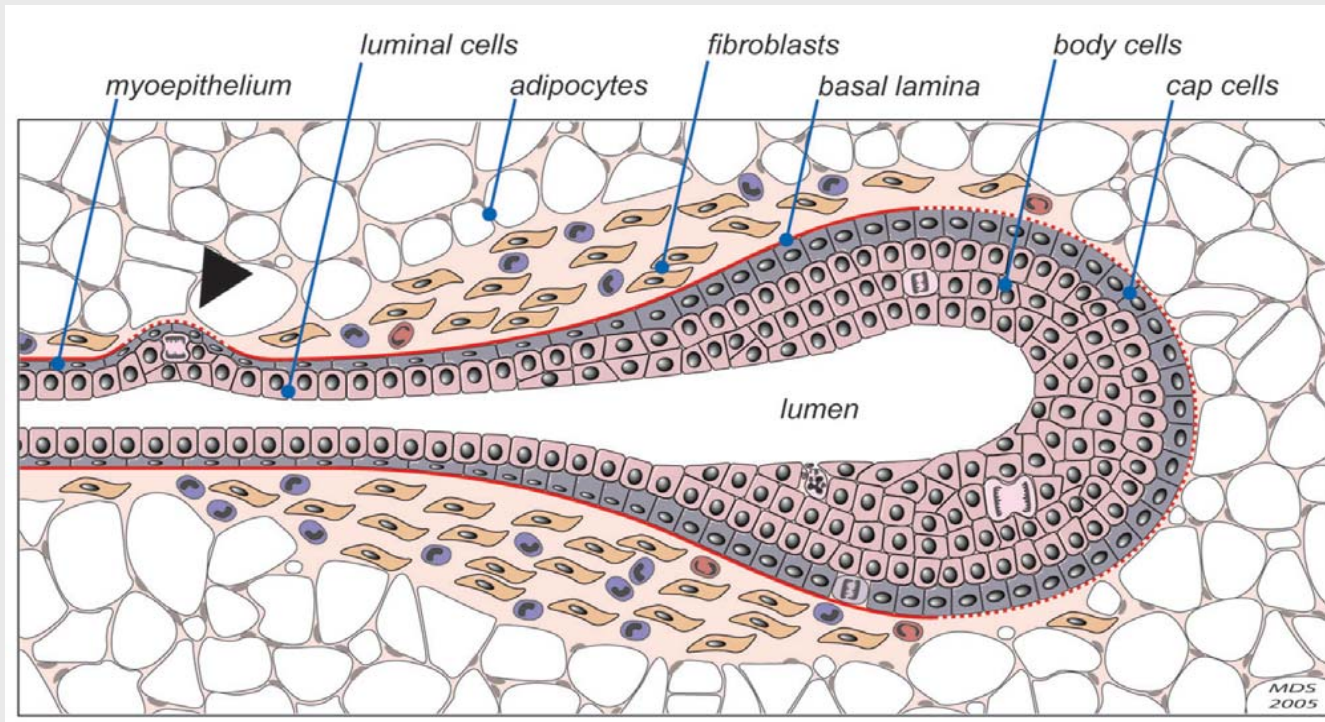
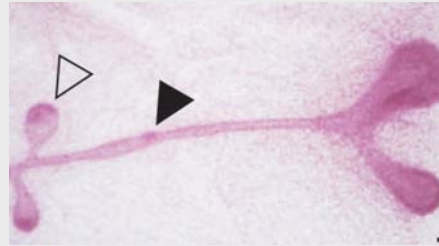
TGFβ stimuliert PTHrP-Expression



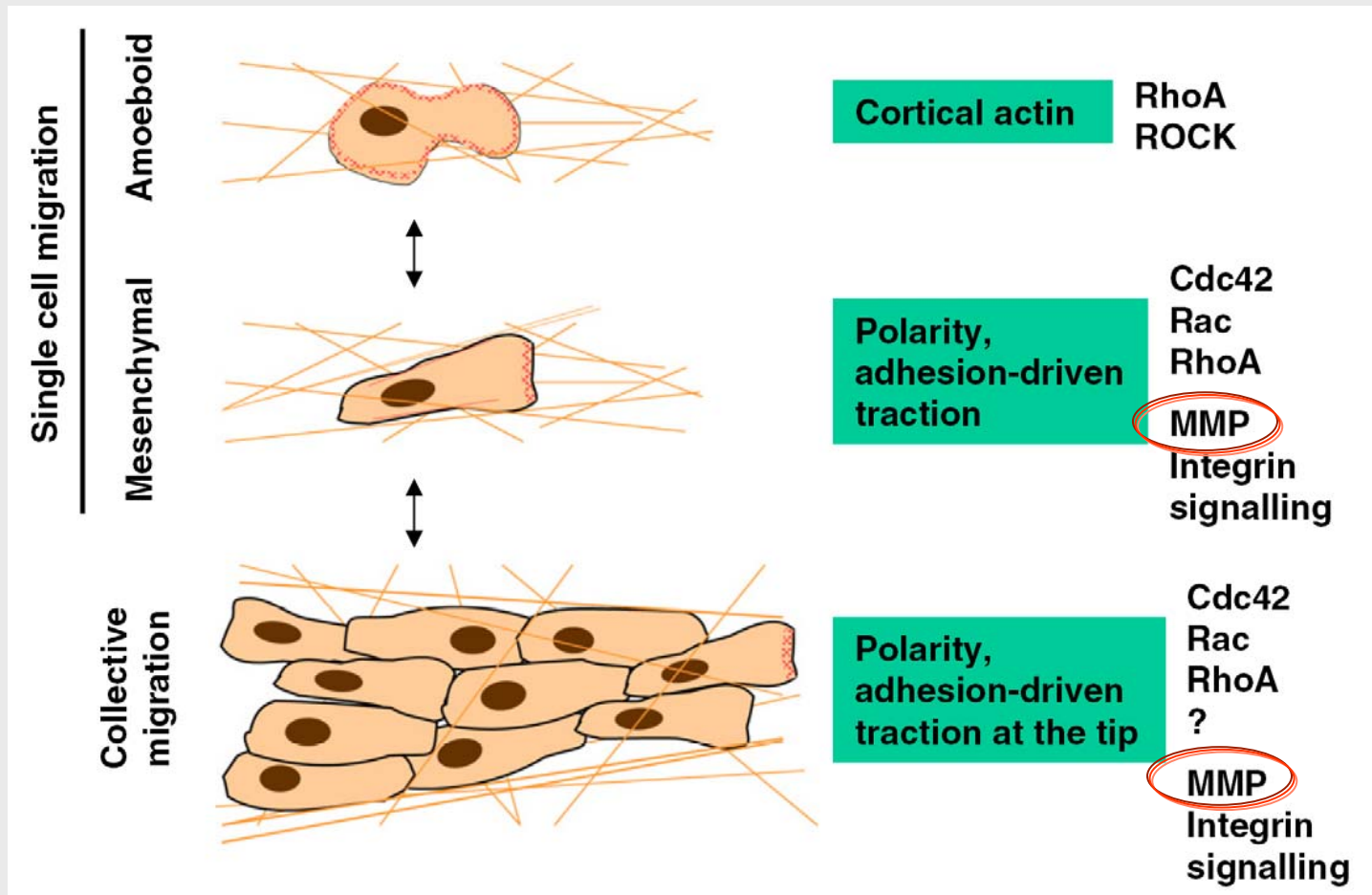
PTHrP/TGF β -Teufelskreis bei Knochenmetastasen



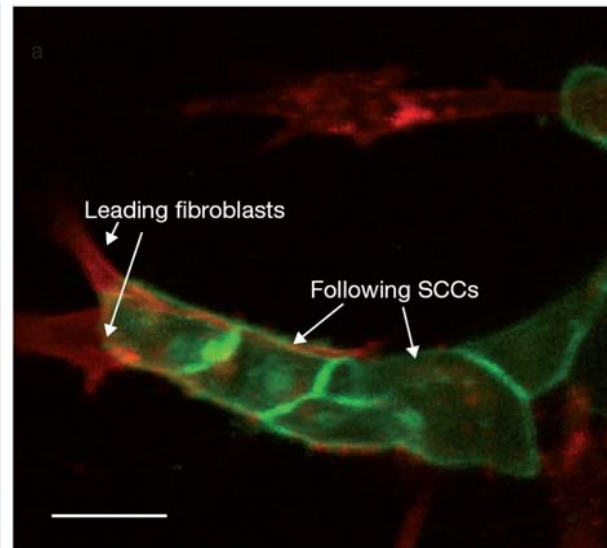
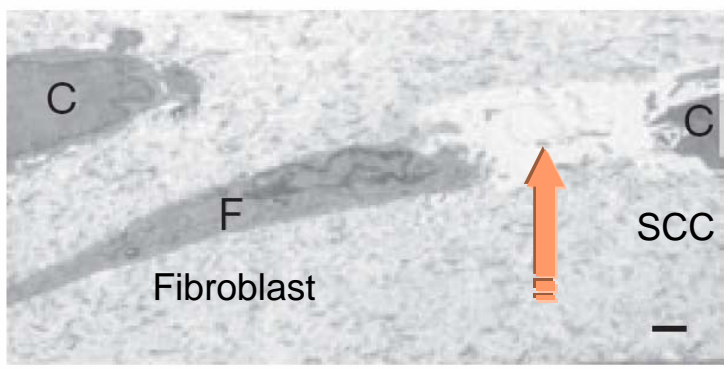
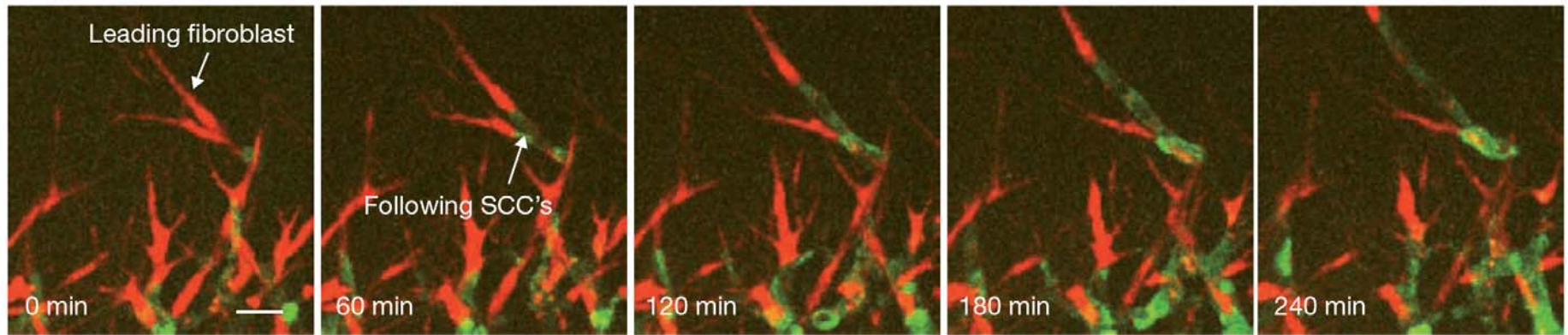
Beim Auswachsen einer Endknospe müssen die Epithelzellen in das Stroma einwandern



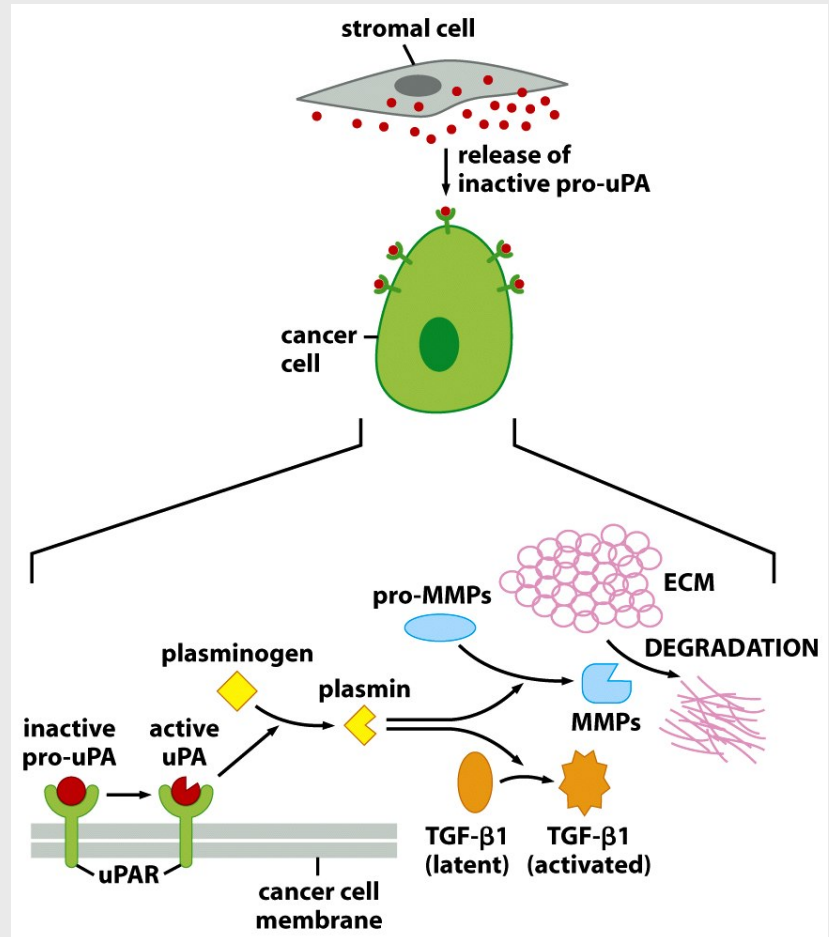
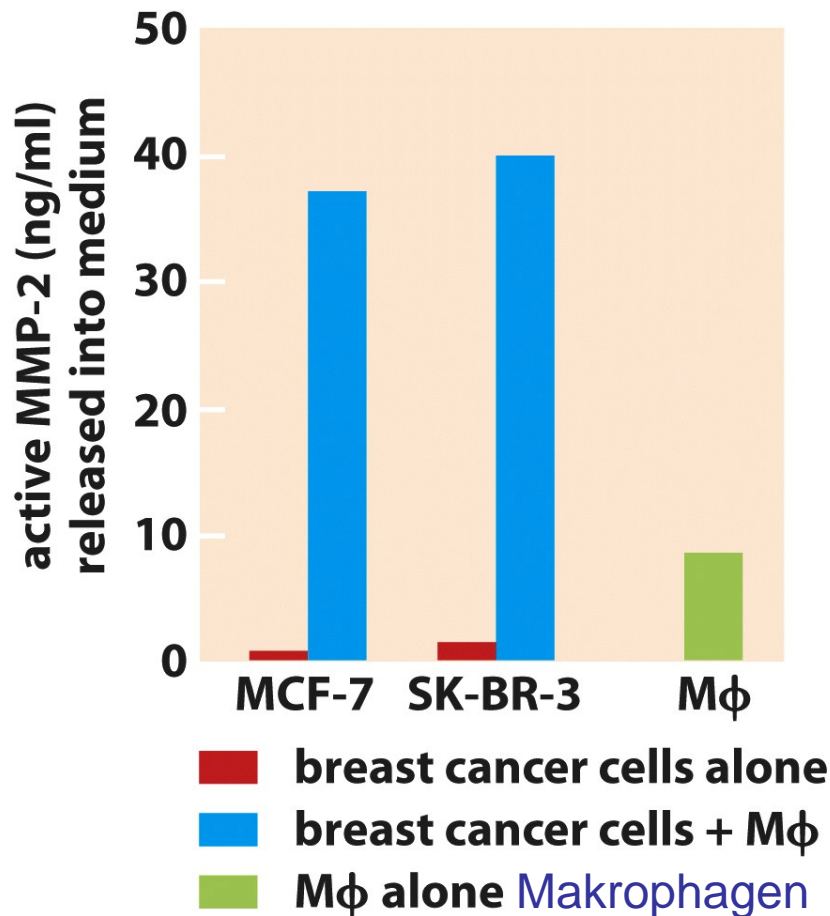
Verschiedene Mechanismen der Migration durch die extrazelluläre Matrix



Durch einen Fibroblasten angeführte kollektive Migration von Carcinomzellen



Stromale Zellen stimulieren Brustkrebszellen zur höheren MMP-Produktion

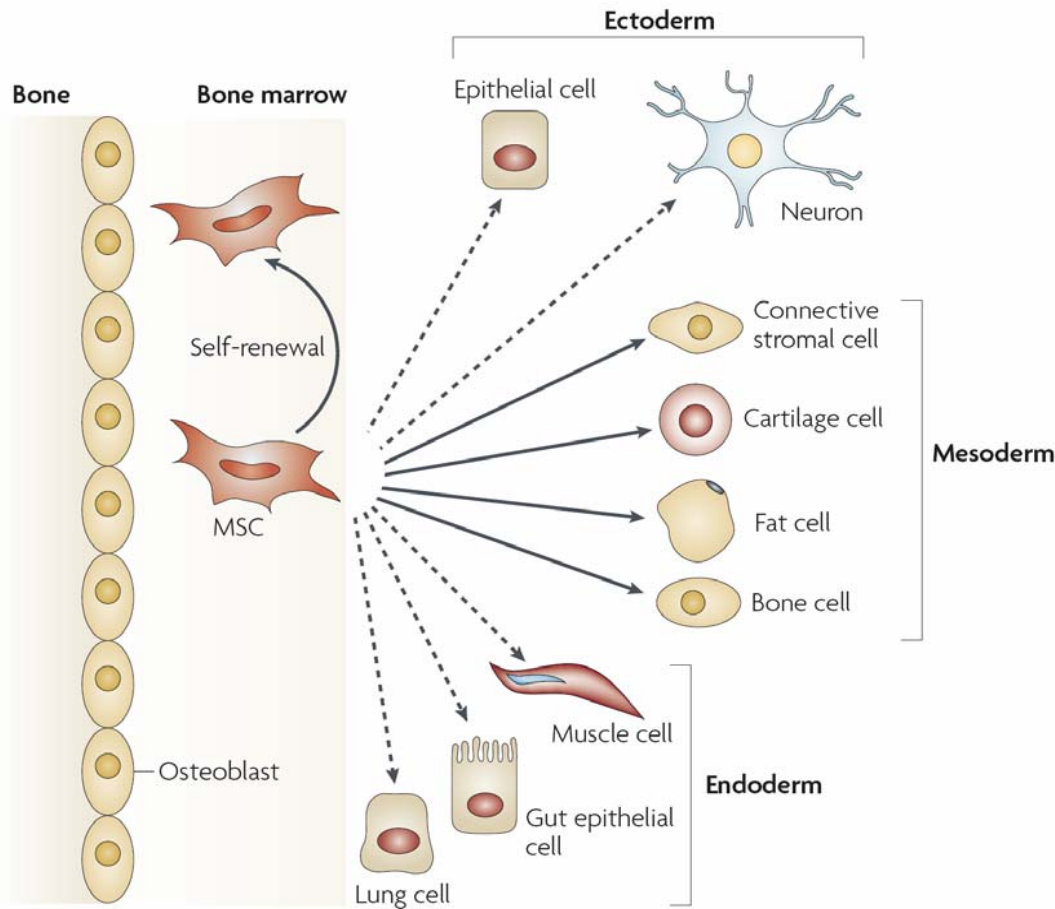




Zellen im Stroma

- Fibroblasten
- Myofibroblasten
- Endothelzellen
- Perizyten
- Zellen der glatten Muskulatur
- Fettzellen
- Makrophagen
- Lymphozyten
- Mastzellen
- **Mesenchymale Stammzellen (MSCs)**

Mesenchymale Stammzellen (MSCs)



Entdeckung durch *Friedenstein* 1974 als multipotente stromale Knochenmarkszellen (colony-forming unit fibroblasts-CFU-Fs), die zu Adipozyten, Chondrozyten und Osteozyten differenzieren können

1991 Hinweise auf stammzellähnlichen Charakter (neuer Name durch *Caplan*: mesenchymale Stammzellen-*MSC*)

Heute: die meisten stromalen Vorläuferzellen aus dem Knochenmark sind *MSCs*

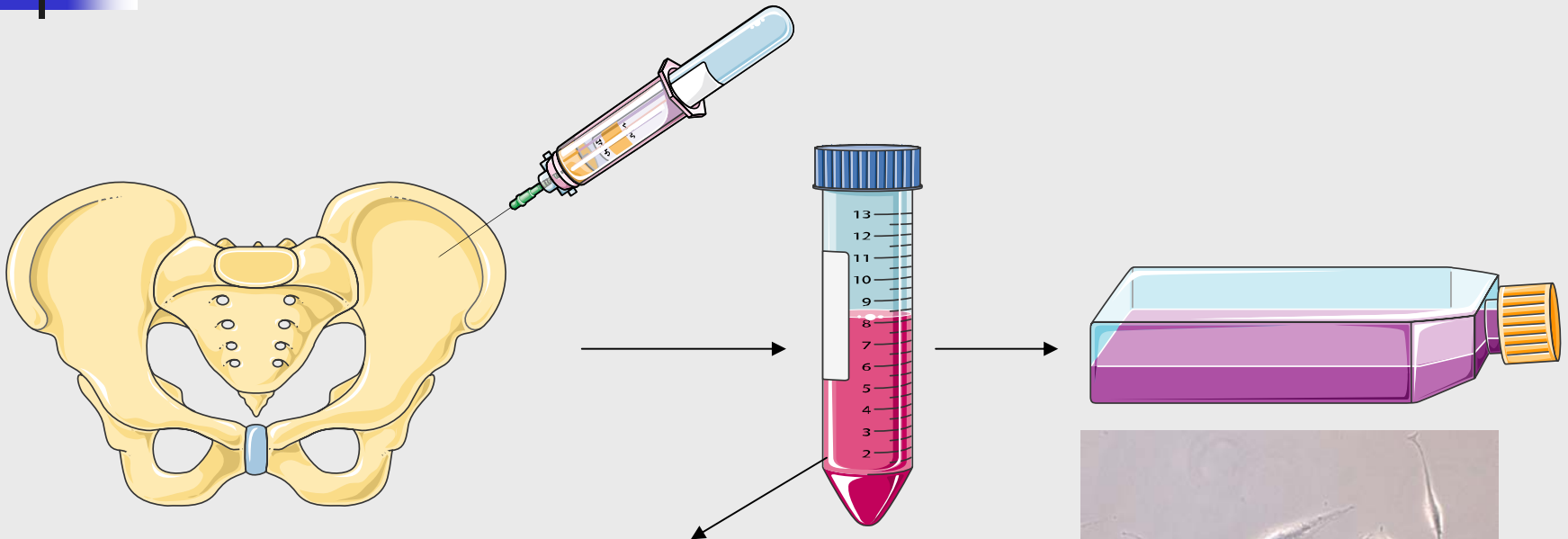


Minimale Kriterien für die Definition multipotenter hMSCs

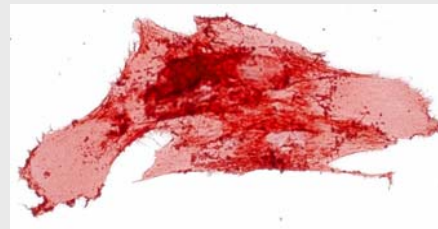
(empfohlen von „Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy“, 2006)

- Plastik-Adhärenz
- Expression von CD105, CD73 und CD90 (CD44, CD71, CD271, STRO-1)
- Fehlen von CD45, CD34, CD14 (oder CD11b), CD79a (oder CD19) und HLA-DR
- Differenzierbarkeit zu Osteozyten, Adipozyten und Chondrozyten

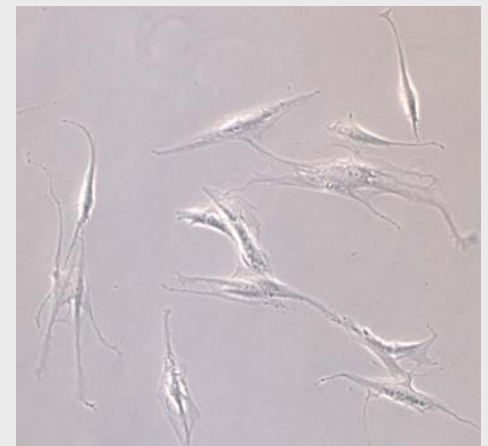
Gewinnung von hMSCs



1 MSC pro ~34000 kernhaltige Zellen



CD44-Antikörper



Plastikadhärenz



Funktionen der hMSCs

Immunsupprimierender Effekt

Hemmung der

Reifung von dendritischen Zellen

cytotoxischen Aktivität von NK-Zellen

T-Zellproliferation und der CTL-vermittelten Zytotoxizität

B-Zellproliferation

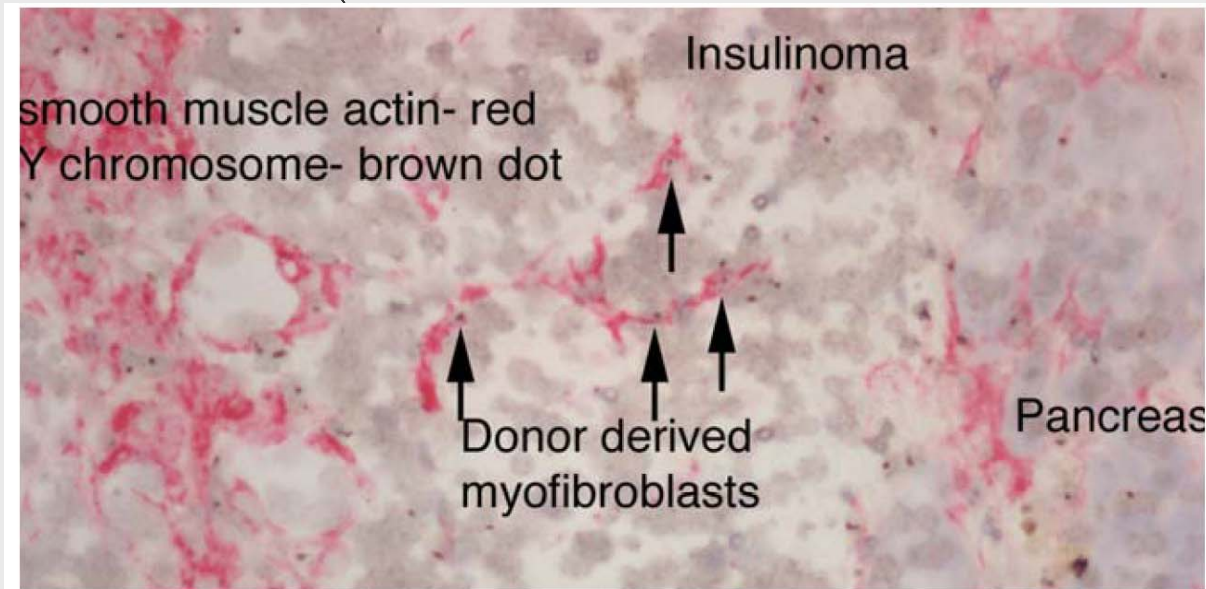
Einwanderung in Wunden (Chemotaxis)

antiinflammatorischer Effekt

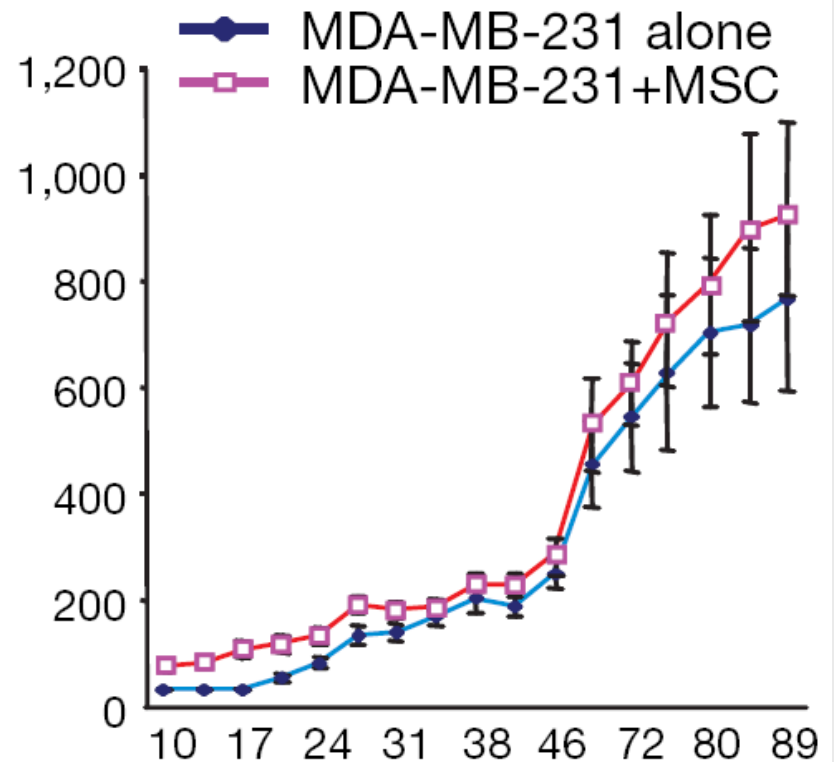
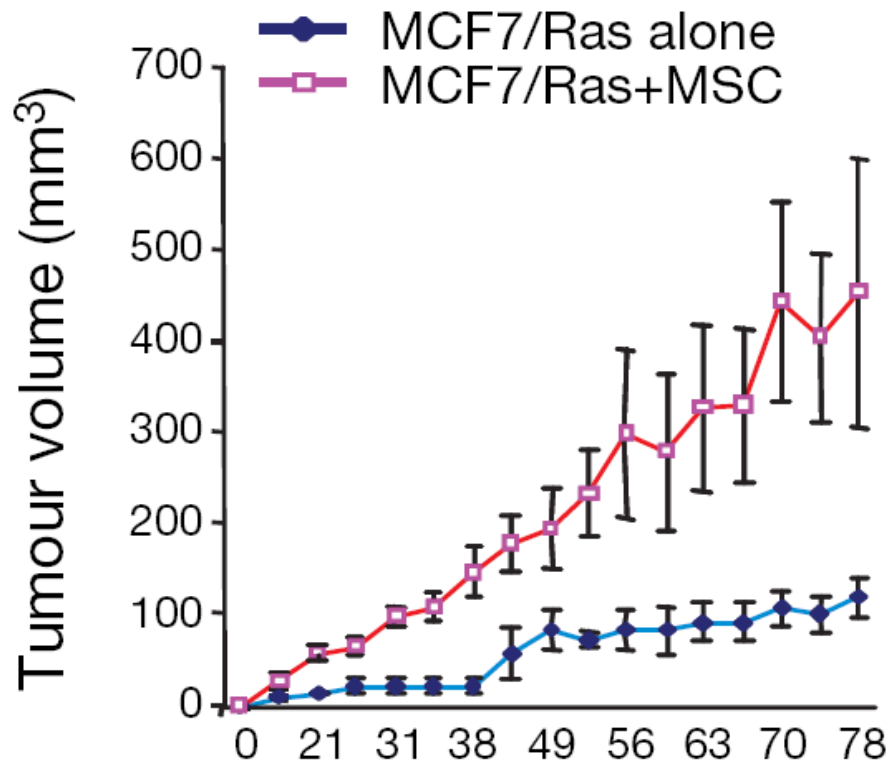
Beitrag zum Stroma

MSCs können zu Myofibroblasten, Endothelzellen und Perizyten differenzieren

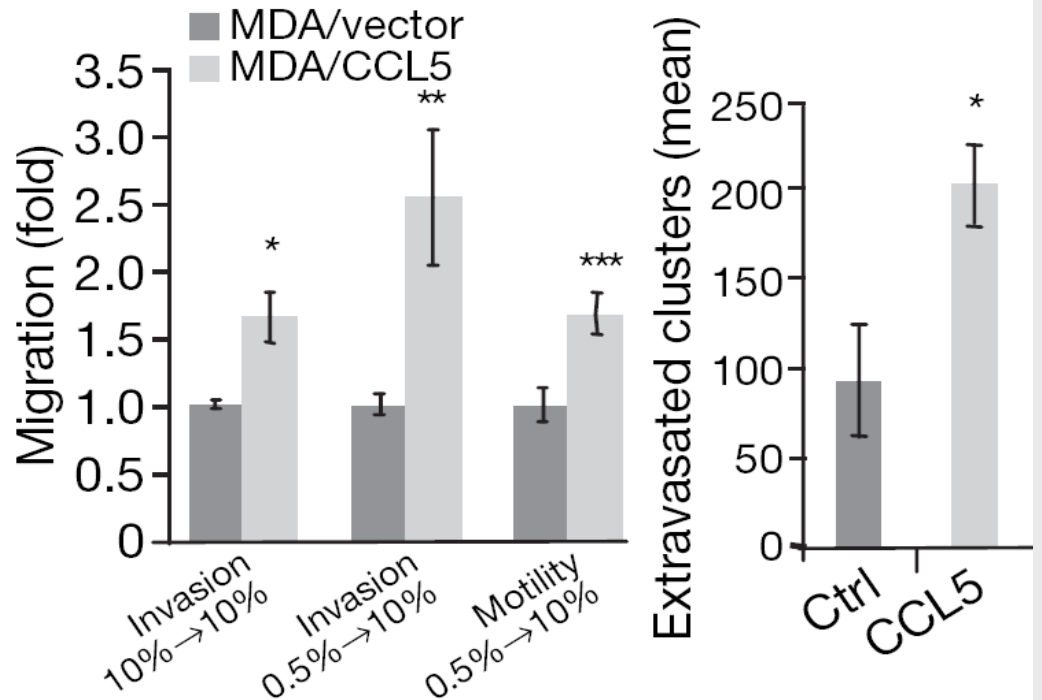
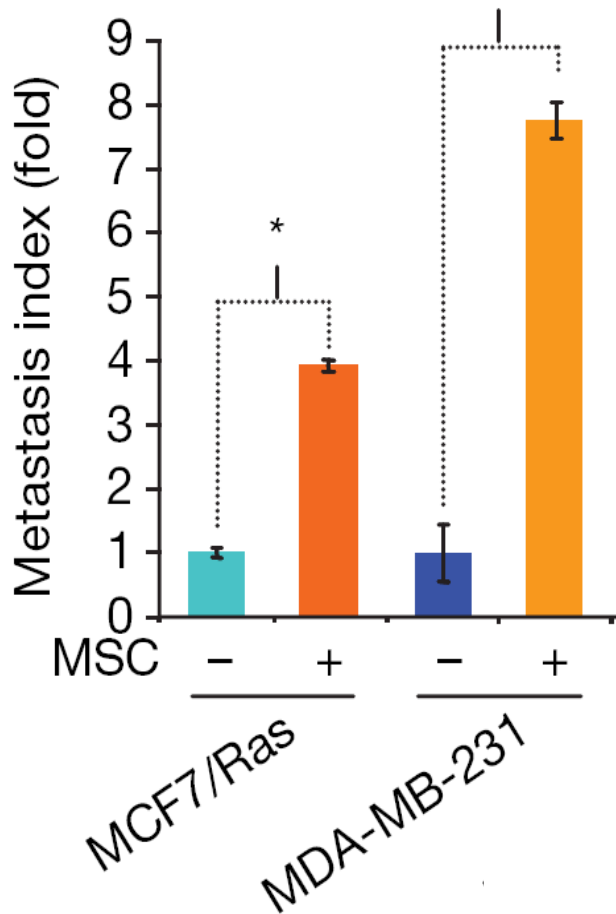
Einwanderung von hMSCs in Tumoren



hMSCs erhöhen das Tumorwachstum *in vivo*

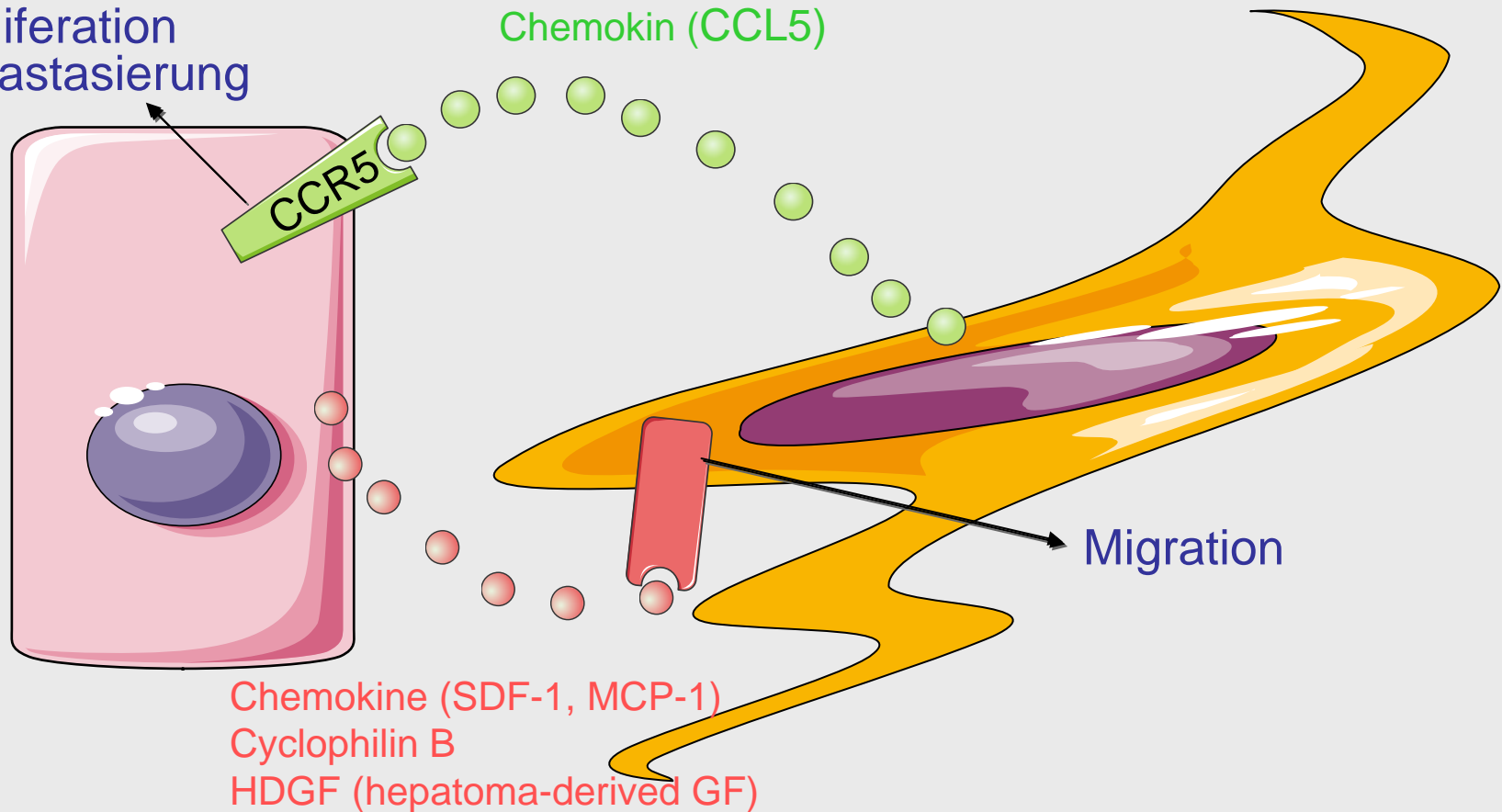


hMSCs erhöhen die Metastasierungspotenz



Parakrine Interaktionen zwischen Brustkrebszelle und hMSC

Migration
Proliferation
Metastasierung





Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit
