



Michael Schwarz

1980 Promotion zum Dr.rer.nat. Seit **1980** wissenschaftlicher Angestellter am DKFZ Heidelberg. **1984 – 1985** Post-doc am McArdle Laboratory for Cancer Research in Madison, WI, USA. **1989** Habilitation, Universität Tübingen. **1990 – 1993** Leiter der Projektgruppe „Tumorpromotion in der Leber“ am DKFZ. Seit **1993** C3-Professor für Umwelttoxikologie am Institut für Toxikologie der Universität Tübingen. Seit **2002** Leiter der Abteilung Toxikologie am Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie & Toxikologie der Universität Tübingen.

GT-Toxicology-Award 2013

Phänotyp hepatozellulärer Tumoren mit aktiviertem β -Catenin

MICHAEL SCHWARZ

INSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE UND KLINISCHE PHARMAKOLOGIE UND TOXIKOLOGIE, ABTEILUNG TOXIKOLOGIE, EBERHARD KARLS UNIVERSITÄT TÜBINGEN

Etwa 20-30% der hepatozellulären Karzinome und bis zu 90% der Hepatoblastome des Menschen weisen aktivierende Mutationen im *CTNNB1*-Gen auf, welches für das Onkoprotein β -Catenin kodiert. β -Catenin spielt eine wichtige Rolle an der äußeren Zellmembran als Partnerprotein von E-Cadherin, ist aber auch als Signalprotein im Wnt-Signalweg aktiv. Mutation von *CTNNB1* (bzw. *Ctnnb1*, der orthologen Form der Maus) führt zur Stabilisierung des Proteins und damit zur konstitutiven Aktivierung des Wnt-Signalwegs. Interessanterweise wird im Initiations/Promotionsexperiment in der Maus, bei dem das Antiepileptikum Phenobarbital als Modell-Tumorpromotor eingesetzt wird, für *Ctnnb1*-mutierte hepatozelluläre Tumoren selektiert, so dass dieses Modell für die Untersuchung von Tumorgenotyp/Phänotyp-Beziehungen gut geeignet ist. Zahlreiche Zielgene des Wnt-Signalweges sind bekannt, die als Marker zur Identifizierung der Tumoren mit *Ctnnb1*-Mutation dienen können. Zu diesen zählt u.a. die Glutaminsynthetase (**Abb.1A**), welche die Synthese von Glutamin aus Glutamat und Ammoniak katalysiert. Der Syntheseweg in Richtung Glutamin wird in den *Ctnnb1*-mutierten Hepatozyten noch dadurch verstärkt, dass die Schlüsselenzyme des Harnstoffzyklus, über den Ammoniak entgiftet und so der Glutaminsynthese entzogen würden, abgeschaltet wird. Darüber hinaus wird die Glutaminase, die der Reaktion entgegengerichtet ist, herunter gefahren. Glutamin wird für zahlreiche Biosynthesewege in der Zelle benötigt, darunter z.B. auch für die Herstellung der Pyrimidin DNA-Bausteine.

Erhöhte Glutamin-Spiegel, wie sie in *Ctnnb1*-mutierten Lebertumoren vermutlich vorliegen, sollten den mutierten Tumorzellen einen Proliferationsvorteil verschaffen. Potentiell könnten deshalb Inhibitoren der Glutaminsynthetase für therapeutische Ansätze bei *CTNNB1*-mutierten HCCs und insbesondere bei Hepatoblastomen interessant sein.

Unter der Kontrolle des Wnt-Signalwegs stehen auch eine Reihe von Genen, die für Enzyme der Phase I und II des Fremdstoffmetabolismus kodieren. Hierzu gehören mehrere Cytochrom P-450-Isoformen und Glutathion-S-Transferasen. Unter anderem ist die Expression von Cyp2e1 in Mäusen mit konditionalem knockout von *Ctnnb1* in der Leber abgeschaltet, in isolierten Hepatozyten in Kultur durch Wnt induzierbar und in *Ctnnb1*-mutierten Lebertumoren der Maus stark exprimiert. Ein Beispiel für einen Cyp2e1-überexprimierenden *Ctnnb1*-mutierten Mauslebertumor ist in **Abb.1B** gezeigt. Im experimentellen System ist es nun möglich, Tumoren mit erhöht exprimiertem Cyp2e1 gezielt durch Acetaminophen (AAP, Paracetamol) zu vergiften [1]. AAP wird in Hepatozyten über Cyp2e1 metabolisiert, wobei u.a. NAPQI, ein toxischer Metabolit entsteht, der allerdings bei niedrigen AAP-Dosen effektiv durch Glutathionkonjugation entgiftet wird. In hohen Dosierungen wird AAP dagegen bekanntermaßen rasch hepatotoxisch. Durch einmalige Gabe einer hohen Dosis von AAP war es nun möglich, *Ctnnb1*-mutierte, Cyp2e1 überexprimierende Lebertumoren in der Maus nahezu vollständig auszulöschen (s. Beispiel in **Abb.1C,D**), wobei die Dosis so gewählt wurde, dass es hierbei zu keiner nennenswerten Schädigung der normalen, ebenfalls Cyp2e1-exprimierenden perivenösen Hepatozyten kam. Eine AAP-Tumorthherapie beim Menschen erscheint wegen der erwarteten hohen unerwünschten Nebenwirkungen kaum möglich, könnte jedoch eine Therapieoption bei Patienten mit einem rekurrierenden therapieresistenten *CTNNB1*-mutierten und deshalb potentiell CYP2E1-positiven Hepatoblastom sein [2].

Literatur:

[1] Singh, Y., Braeuning, A., Schmid, A., Pichler, B.J., Schwarz, M. (2013) Selective poisoning of *Ctnnb1*-mutated hepatoma cells in mouse liver tumors by a single application of acetaminophen. Arch. Toxicol., March 12 [Epub ahead of print].

[2] Schmidt, A., Braeuning, A., Ruck, P., Seitz, G., Armeanu-Ebinger, S., Fuchs, J., Warmann, S.W., and Schwarz, M. (2011). Differential expression of glutamine synthetase and cytochrome P450 isoforms in human hepatoblastoma. Toxicology 281, 7-14.

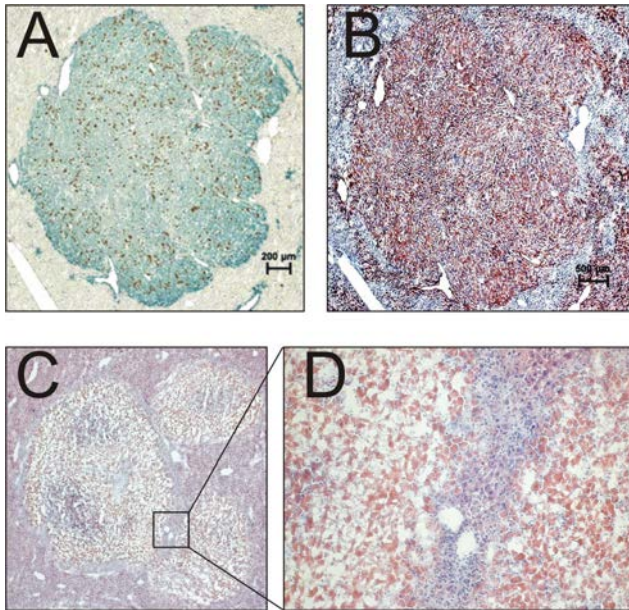


Abb. 1: Phänotyp von Mauslebertumoren mit konstitutiv aktiviertem β -Catenin und Tumorschädigung nach Acetaminophen-Behandlung. **A.** Immunhistochemischer Nachweis der Glutaminsynthetase (grün) sowie 5-Bromdeoxyguanin-Markierung (braune Kerne). **B.** Nachweis von Cyp2e1 im Parallelschnitt.

C. Vollständige Zerstörung dreier *Ctnnb1*-mutierter Lebertumoren in der Maus nach einmaliger Gabe von AAP.

D. Ausschnittsvergrößerung von C.