

3 Zellzyklusregulation

Zellwachstum entsteht durch Progression der Zelle durch den Zellzyklus, der sich aus 4 definierten, voneinander abgrenzbaren Phasen zusammensetzt: G1, S, G2 und M-Phase. Das Fortschreiten einer Zelle aus der G0-Ruhephase in die G1-Phase (Gap-Phase 1) des Zellzyklus und aus der G1-Phase in die S-Phase wird durch den G1-Restriktionspunkt in der späten G1-Phase reguliert (**Abb. 2**).

Ist dieser Kontrollmechanismus in Tumorzellen durch ein Proliferations-Signal aufgehoben, z.B. durch genetische Defekte in Kontrollgenen, geht die Zelle in die S-Phase über und beginnt mit der DNA-Synthese.

3.1 Zellzyklusregulation durch den Rb-Signalweg

Die deregulierte Aktivität von Rezeptoren für Wachstumsfaktoren wie den EGF- und den Her2/neu Rezeptor, die die Aktivierung von Ras-Proteinen zur Folge hat, Punktmutationen der *ras*-Gene selbst und insbesondere die Störung nachgeschalteter Kontrollgene des Rb-Signalwegs, sind wesentliche pathogenetische Faktoren, die zu ungehemmter Proliferation von Tumoren führen. Wesentliche Folge dieser pathologischen Proliferationssignale ist die Steigerung der Cyclin-Expression, die als Ko-Faktoren Cyclin-abhängige Kinasen (CDK) aktivieren. Aktive Cyclin/CDK Komplexe phosphorylieren Mitglieder der Rb-Proteinfamilie, die daraufhin ihren hemmenden Einfluß auf Transkriptionsfaktoren, wie z.B. Mitglieder der E2F-Familie und *c-myc*, verlieren (**Abb. 2**). Diese Transkriptionsfaktoren vermitteln den Eintritt in die nächste Zellzyklusphase, indem sie die Aktivierung entsprechender S-Phase-spezifischer Gen-Promotoren vermitteln. Dies wiederum aktiviert die Transkription von Genen, z.B. Histonen, PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), Thymidylatsynthase, Dihydrofolatreduktase und Ribonucleotidreduktase, die den Übergang der Zelle aus der späten G1-Phase in die S-Phase ermöglichen. Vergleichbare Mechanismen werden über andere Cyclin/CDK Wechselwirkungen in anderen Phasen des Zellzyklus reguliert und vermitteln das koordinierte Durchlaufen der Zelle durch den Zyklus bis zum Beginn der Mitose.

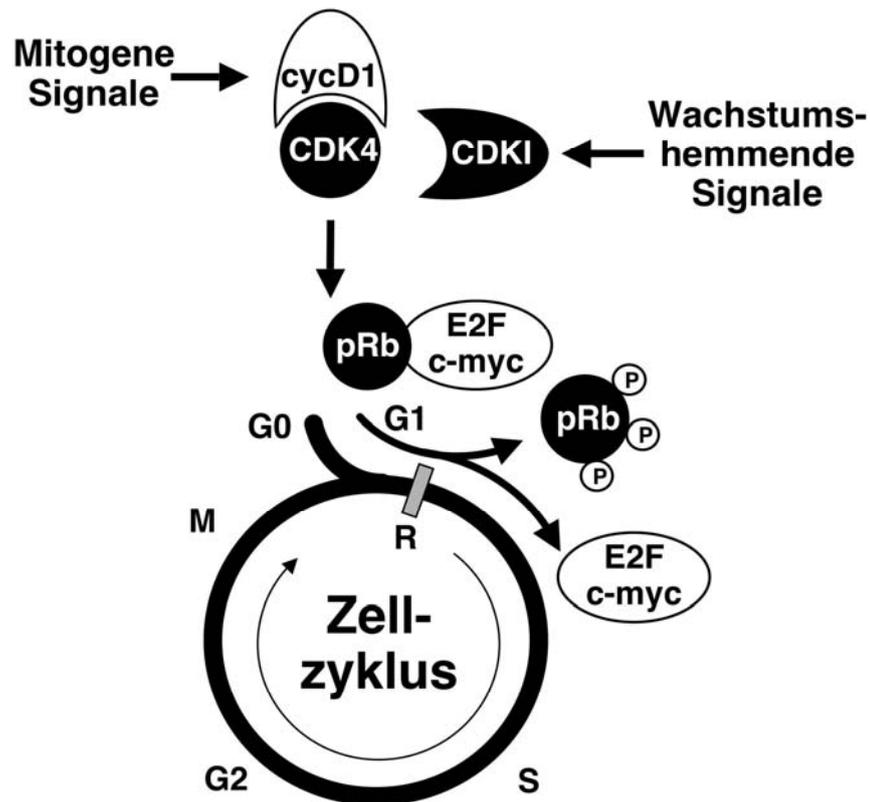


Abb. 2: Zellzyklusregulation durch den Rb-Signalweg, Cycline und deren Inhibitoren.

Proliferationssignale erhöhen die Expression von Cyclinen und regulieren hierdurch die Aktivität von Cyclin-abhängigen Kinasen (CDK: cyclin dependent kinase). CDK phosphorylieren das Rb-Protein (pRb). Phosphoryliertes pRb ist inaktiv und kann seine Funktion als Zellzyklusbremse nicht mehr wahrnehmen. Hierdurch werden Transkriptionsfaktoren (z.B. E2F, c-myc) freigesetzt und vermitteln den Übergang in die S-Phase des Zellzyklus. CDKI: CDK Inhibitor.

Wachstumshemmende Signale können das Fortschreiten proliferierender Zellen im Zyklus in jeder Phase des Zellzyklus verhindern. Das wesentliche Zielgen dieser wachstumshemmenden Signale sind Mitglieder der Rb-Proteinfamilie. Die wachstumskontrollierende Funktion von Rb-Proteinen beruht auf ihrer Fähigkeit, reversibel an Transkriptionsfaktoren, z.B. E2F oder c-myc, zu binden. Das Rb-Protein (pRb) wirkt hierbei als ein transkriptioneller Repressor, der durch die Interaktion mit diesen E2F-Transkriptionsfaktoren spezifisch die Promotoraktivierung Zellzyklusregulierender Gene hemmt. Die Bindungstasche in pRb (Pocket-Domäne) für diese Transkriptionsfaktoren prägte den Begriff „Pocketproteine“, der häufig synonym für die

Rb-Proteinfamilie gebraucht wird. Wird pRb durch die Bindung an E2F an einen Promotor gebunden, dann hemmt es ebenfalls umgebende Transkriptionsfaktoren und blockiert hierdurch die Transkriptionsmaschinerie für das betroffene Gen. Hierdurch wird die Transkription Zellzyklus-promovierender Gene gehemmt, und die Zelle wird im Zellzyklus (in diesem Fall in der G1-Phase) arretiert. Diese Bindung von pRb an E2F wird durch den Phosphorylierungsstatus von pRb reguliert. In seiner hypophosphorylierten Form inhibiert pRb die o.g. Transkriptionsfaktoren und verhindert hierdurch die Hochregulation von Genen, die z.B. für die Aktivierung der DNA-Synthese während der S-Phase benötigt werden. Um im Zellzyklus fortschreiten zu können, muss daher pRb phosphoryliert und hierdurch funktionell inaktiviert werden. Die Herunterregulation der Cyclin B Spiegel am Ende der G2- und zu Beginn der M-Phase führt letztlich zur Hypophosphorylierung von Rb und ermöglicht somit, im Zusammenspiel mit dem APC/Mad-Signalweg in der Mitose und der Deaktivierung des Anaphase-Checkpunkts, das Ende des Zellzyklus nach Abschluss der Mitose.

3.2 Cycline und deren Inhibitoren

Die D-Typ Cycline (Cyclin D1, D2, D3) kontrollieren gemeinsam mit Cyclin E die Aktivität von pRb am G1 Restriktionspunkt (**Abb. 2**). Rb wird durch diese D-Cycline und die assoziierten Kinasen CDK4 bzw. CDK6 phosphoryliert, wodurch es zur Hochregulation von Cyclin E kommt. Der Komplex aus Cyclin E und der CDK2 Kinase vermittelt einen zweiten Rb-Phosphorylierungsschritt in der späten G1-Phase.

Neben der Phasen-spezifischen Expression der Cycline, die das koordinierte Durchschreiten des Zellzyklus nach Proliferationssignalen steuern, kann dieser durch spezifische Inhibitoren von CDKs gehemmt werden. Diese Inhibitoren werden als CDKI bezeichnet (Cyclin-dependent kinase inhibitors). Bisher konnten 2 Unterfamilien der CDKIs identifiziert werden: (1) die CIP/KIP Familie, die multiple verschiedene Cyclin/CDK-Komplexe hemmen kann und (2) die INK4-Familie, die spezifisch CDK4 und CDK6 hemmt. Diese CDKI werden u.a. durch nukleäre Stresssignale, z.B. nach DNA Schädigung in Folge von Bestrahlung oder Chemotherapie, aktiviert. Die Aktivität von CDK2 (assoziiert mit Cyclin E) kann durch Cip/Kip CDKI Proteine gehemmt werden (p21^{Waf1/Cip1}, p27^{Kip1} und p57^{Kip2}). Die INK4-Familie (**Inhibiert CDK4**) wiederum besteht aus 4 nahe verwandten Faktoren: p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c} und p14^{INK4d}. Die INK4

Familienmitglieder verhindern die Progression aus der G1-Phase in die S-Phase des Zyklus, indem sie die Phosphorylierung von pRb verhindern. Dies erfolgt durch Hemmung der D-Cyclin-abhängigen CDK4 und CDK6. Das somit hypophosphorylierte pRb hemmt wiederum die Aktivität der o.g. Transkriptionsfaktoren und verhindert hierdurch die Expression von Cyclin E und weiteren für die S-Phase-Progression benötigten Faktoren. Dies erklärt auch, warum INK4 CDKIs für ihre Wirkung pRb benötigen.