

# Bedeutung von Transkriptionsfaktoren für die Pathogenese kutaner Lymphome\*

## Significance of Transcription Factors for the Pathogenesis of Cutaneous Lymphomas

### Autor

C. Assaf<sup>1,2</sup>

### Institute

<sup>1</sup> Dermatologische Klinik, HELIOS-Klinikum Krefeld

<sup>2</sup> Klinik für Dermatologie und Allergologie, Charité-Universitätsmedizin Berlin

### Bibliografie

**DOI** <http://dx.doi.org/10.1055/s-0031-1291550>  
 Online-Publikation: 9.1.2012  
 Akt Dermatol 2012; 38: 67–70  
 © Georg Thieme Verlag KG  
 Stuttgart · New York  
 ISSN 0340-2541

### Korrespondenzadresse

**Priv.-Doz. Dr. Chalid Assaf**  
 Klinik für Dermatologie  
 und Venerologie  
 HELIOS-Klinikum Krefeld  
 Lutherplatz 40  
 47805 Krefeld  
 chalid.assaf@helios-kliniken.de

### Zusammenfassung

Transkriptionsfaktoren sind DNA-bindende Proteine, die bei Eukaryoten an der Kontrolle der Transkription beteiligt sind, indem sie mit hoher Spezifität an jeweils passende Bereiche eines Promotors oder Enhancers binden. Sie können selbst einzelne Gene, aber auch komplexe Netzwerke allein regulieren. Dementsprechend kann eine Alteration eines solitären Transkriptionsfaktors zu minimalen, aber auch massiven Veränderungen bis hin zur Krebsentstehung führen. In der normalen Lymphozytenentwicklung reguliert ein Netzwerk von Transkriptionsfaktoren wie E2a, ID-2, NOTCH und PAX5 die Linienzugehörigkeit eines

Lymphozyten und seinen Weg, sich zu einer B-, T-, NK- oder plasmazytoiden dendritischen Zelle zu entwickeln. Alterationen dieser Gene durch Mutationen oder auch Aktivierung von Inhibitoren einzelner Transkriptionsfaktoren können zu einer gestörten Lymphozytenentwicklung bis hin zur malignen Entartung führen.

Für das Sézary-Syndrom konnten wir erstmals zeigen, dass eine genomische Deletion des Transkriptionsfaktors E2A in der Mehrzahl der Fälle (70%) nachzuweisen ist und pathogenetisch über eine Deregulation einer Reihe von Onkogenen und weiteren Transkriptionsfaktoren für Proliferation und Transformation ursächlich ist.

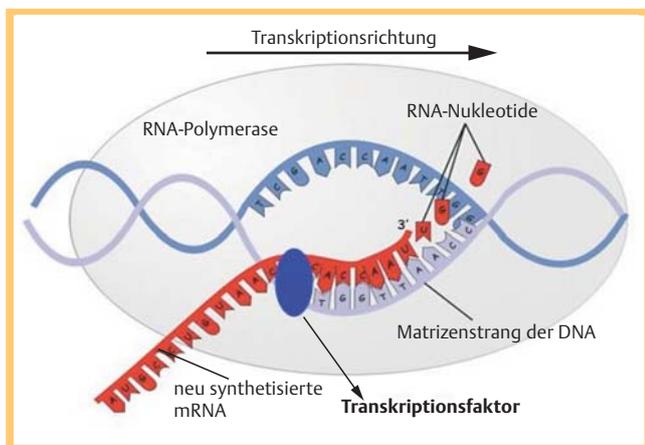
### Funktion von Transkriptionsfaktoren

Die Untersuchung von Transkriptionsfaktoren ist von grundlegender Bedeutung für das Verständnis von regulatorischen Prozessen innerhalb von Zellen und Zellverbänden. Die Transkription bezeichnet die Informationsübertragung von einem DNA- auf ein RNA-Molekül. Die DNA ist der genetische Informationsspeicher einer jeden Zelle (mit Ausnahme von RNA-Viren). Um diese Informationen zugänglich zu machen und zu exprimieren, muss die DNA zunächst in RNA umgeschrieben werden. Bei der Expression proteinkodierender Gene wird die DNA zunächst in mRNA transkribiert, wonach diese prozessiert und translatiert wird, sodass ein Protein gebildet wird. Diese Informationsübertragung (DNA-RNA-Protein) findet laut zentralem Dogma der Molekularbiologie bei allen Pro- und Eukaryonten gleichermaßen statt. Somit stellt die Transkription einen entscheidenden Schritt bei der Übertragung biologischer Information und Funktion dar.

An dem Prozess der Transkription sind mehrere Proteine beteiligt, wie z. B. sogenannte Transkriptionsfaktoren und die RNA-Polymerase, die die eigentliche Transkription realisiert, indem sie den RNA-Strang anhand der DNA-Matrix synthetisiert. Transkriptionsfaktoren sind regulatorische Proteine, die bestimmte Sequenzabschnitte der DNA erkennen und durch Bindung an diese Abschnitte die Transkription bestimmter Gene beeinflussen (► **Abb. 1**) [1].

Sie können zum Beispiel die Bindung von Polymerasen initiieren, erleichtern oder verhindern, oder bereits gebundene Polymerasen durch Phosphorylierung regulieren. Transkriptionsfaktoren sind damit DNA-bindende Proteine, die sowohl aktivierend als auch inhibierend die Transkription beeinflussen können, und wirken dadurch auch als sogenannte „Genregulator-Proteine“ [2]. Genregulatorproteine bestehen meist aus zwei Anteilen (sog. Domänen). Die eine bindet an eine für diesen Transkriptionsfaktor spezifische DNA-Sequenz (Enhancer). Bei der anderen handelt es sich um eine Aktivierungs- oder Repressionsdomäne, die die Transkription aktiviert oder hemmt. Ein aktivierend wirkendes Genregulatorprotein beschleunigt die Transkriptionsinitiation

\* Nach einem Vortrag anlässlich des 11. Jahressymposiums der Berliner Stiftung für Dermatologie am 2. Juli 2011, Berlin.



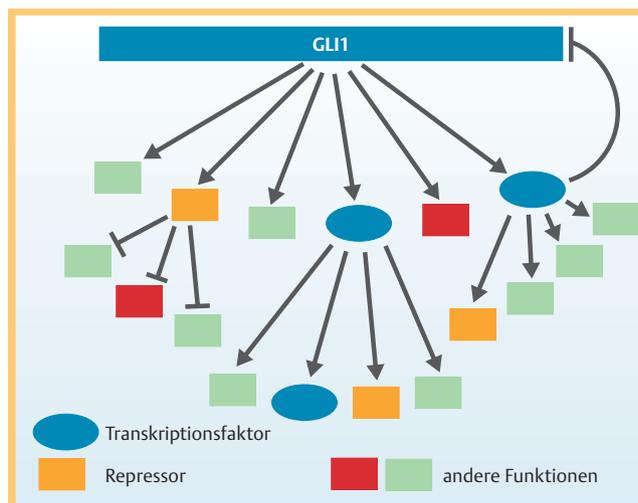
**Abb. 1** Transkription. Initiierung der Transkription nach Bindung eines Transkriptionsfaktors und Aktivierung der RNA-Polymerase.

dadurch, dass es die Bindung der allgemeinen Transkriptionsfaktoren und der RNA-Polymerase-II an den Promotor vereinfacht. Dies geschieht, indem es direkt am Transkriptions-Initiations-Komplex angreift oder die Chromatinstruktur in der Nähe des Promotors verändert. Repressoren können auf unterschiedliche Weise wirken. Zum Beispiel kann die Konkurrenz von Aktivator und Repressor um die gleiche Enhancer-Sequenz oder die Bindung des Repressors an die Aktivierungsdomäne des Aktivators eine Transkription verhindern. Der Repressor kann aber auch eine Anlagerung der allgemeinen Transkriptionsfaktoren an den Transkriptions-Initiationskomplex verhindern oder diesen so verändern, dass die RNA-Polymerase nicht mehr entlassen werden kann. Im Gegensatz zu den allgemeinen Transkriptionsfaktoren, die an jeder Transkription durch die RNA-Polymerase-II beteiligt sind und von denen es nur eine geringe Anzahl verschiedener Typen gibt, kommen beim Menschen von den 30000 Genen, die für verschiedene Proteine kodieren, geschätzt 5–10% Genregulatorproteine vor.

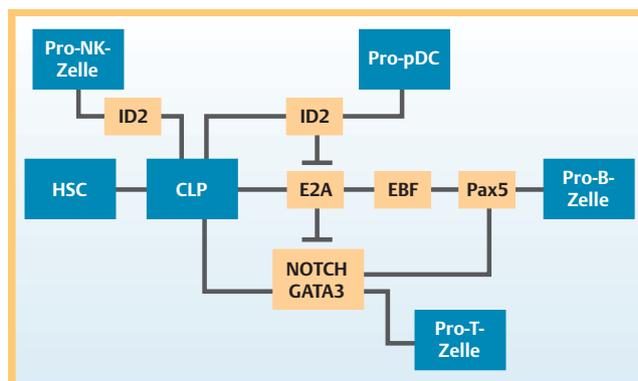
### Rolle der Transkriptionsfaktoren an der Krebsentstehung am Beispiel von Gli1

Diese spezifischen Transkriptionsfaktoren können auf sehr viele Gene wirken und können damit das Schicksal einer Zelle bestimmen. Als eines der bekanntesten Beispiele in der Dermatologie sei hier der Transkriptionsfaktor GLI1 erwähnt, der ein ganzes Netzwerk von Genen, einschließlich sowohl Gene mit Aktivator- als auch Repressor-Funktion sowie selbst weitere Transkriptionsfaktoren reguliert (Abb. 2) [3].

Allein durch aktivierende Mutationen des Gens GLI1 kann es zur Aktivierung der Hedgehog-Signaltransduktions-Kaskade und damit zur Entstehung von Basalzellkarzinomen kommen [4–6]. Neue therapeutische Ansätze zur medikamentösen Behandlung von Tumoren, in denen GLI1 aktiviert ist, wie u.a. auch das Medulloblastom, Pankreaskarzinom, Basalzellkarzinom, zielen auf einer Hemmung der GLI-Proteine wie z.B. mittels des synthetischen Moleküls SANT1-4 [7].



**Abb. 2** Genregulation von Transkriptionsfaktoren. GLI1 reguliert ein ganzes Netzwerk von Transkriptionsfaktoren, Repressoren sowie Genen mit anderen Funktionen. Andere Transkriptionsfaktoren können wiederum hemmend auf GLI1 wirken.



**Abb. 3** Bedeutung von Transkriptionsfaktoren in der physiologischen Entwicklung von Lymphozyten.

### Rolle der Transkriptionsfaktoren in der Entwicklung von Lymphozyten

Aktuelle Daten der letzten 10 Jahre zeigen, dass Transkriptionsfaktoren eine entscheidende Rolle bei der Lymphozyten-Entwicklung spielen. Ein komplexes Netzwerk von Transkriptionsfaktoren determiniert die Linienzugehörigkeit eines Lymphozyten und reguliert die Entwicklung einer gemeinsamen lymphoiden Vorläuferzelle (common lymphocyte progenitor, CLP) zu einer B-, T-, NK- oder zu einer plasmazytoiden dendritischen Zelle (Abb. 3). So sind z.B. die Transkriptionsfaktoren E2A, EBF (early B cell factor) und PAX5 zur Aufrechterhaltung der Expression B-Zell-spezifischer Gene in reifen B-Zellen essentiell [8,9]. Andererseits ist der Transkriptionsfaktor E2A in der Interaktion mit HEB sowie u.a. NOTCH-1 und GATA-3 für die T-Zellreifung entscheidend [10–12]. Transkriptionsfaktoren, die für die Entwicklung verschiedener Linien zuständig sind, können sich im Rahmen dieses komplexen Netzwerks auch untereinander inhibieren [13,14]. Das führt z.B. dazu, dass eine konstitutive Aktivierung von NOTCH-1 im Knochenmark die B-Zell-Entwicklung zugunsten der T-Zell-Entwicklung hemmt [15].

Die Differenzierung zu NK-Zellen wird unter anderem durch ID2 (*inhibitor of DNA binding*) reguliert. Mäuse, denen das ID2-Gen fehlt, besitzen keine NK-Zellen [16]. Auch an der Differenzierung zu DC-Zellen ist ID2 regulatorisch beteiligt. ID2 begünstigt die Differenzierung der DC-Zellen auf Kosten der lymphoiden Differenzierung. Dabei inhibiert ID2 die B-Zell-Entwicklung und die Expression einiger B-Zell-spezifischer Gene vermutlich durch Inaktivierung der E2A-Expression [17].

### Deregulierte Signalwege in malignen Lymphomen

Ein wesentliches Merkmal bösartiger Zellen ist neben unkontrolliertem Wachstum die Störung der zellulären Differenzierung im Sinne einer Dedifferenzierung. Während in nicht-malignen Zellen die Aktivierung der meisten Signalwege streng reguliert wird, sind in Lymphomzellen zahlreiche Signalwege aberrant aktiviert. Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, dass die Deregulation linienspezifischer Transkriptionsfaktoren ein wesentliches Merkmal humaner Lymphomentitäten ist. Aktivierende somatische Mutationen des NOTCH-1-Gens finden sich in ca. 50% der T-ALL-Patienten [18, 19]. In kutanen CD30-positiven Lymphoproliferationen konnten wir zeigen, dass eine funktionelle Blockade von E2A durch eine Überexpression seines Inhibitors ID2 zur Proliferation zum Wachstum und Überleben der Lymphomzellen beiträgt [20]. Im Rahmen der Leukämogenese ist das E2A-Gen in zwei Translokationen involviert. In 25% der Prä-B-Zell-Leukämien kommt es zur Fusion des E2A-Gens, das auf Chromosom 19p13.3 liegt, mit Anteilen des PBX1-Gens auf Chromosom 1q28 [21].

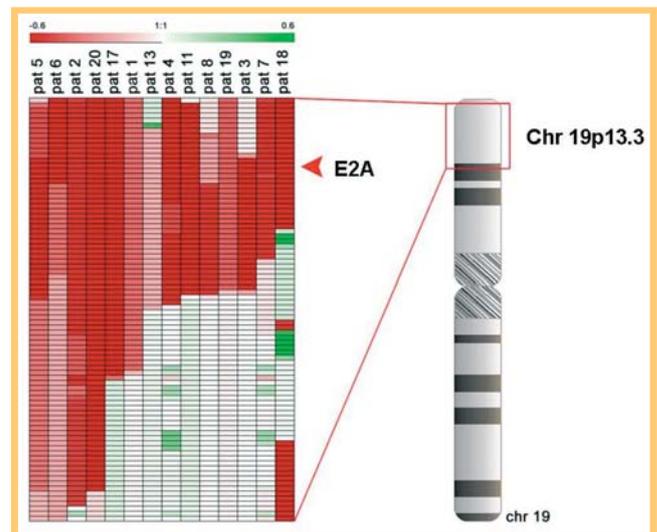
Obwohl die bisher erhobenen Daten aus der Literatur nahelegen, dass E2A eine Funktion als Tumorsuppressor hat, konnte bisher kein genomischer Defekt von E2A in einer malignen humanen hämatopoetischen Erkrankung nachgewiesen werden [22].

### Genomischer Verlust von E2A im Sézary-Syndrom

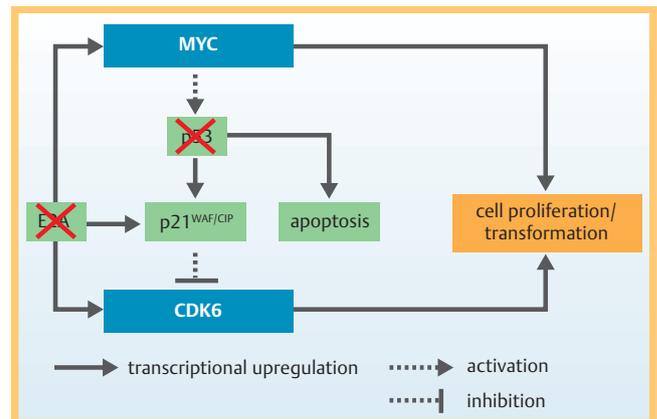
In einer aktuellen Arbeit konnten wir erstmals durch Untersuchungen von aufgereinigten Tumorzellen aus dem Blut von Patienten mit Sézary-Syndrom mittels hochauflösender *comparative genome hybridization* (cgh)-Analyse in 70% der Fälle einen heterozygoten Verlust der genomischen Region 19p13.3 beobachten (Abb. 4) [23]. Dieser Locus enthält das Gen für den Transkriptionsfaktor E2A. Mittels *fluorescence in situ hybridization* (FISH)-Analysen mit aufgereinigten Tumorzellen aus dem Blut haben wir diesen Befund bestätigen können. Ebenso konnte dieser Verlust auch auf Proteinebene in den Schnitten mit Sézary-Syndrom immunhistologisch bestätigt werden. Damit konnten wir erstmals überhaupt einen genomischen Verlust des Transkriptionsfaktors E2A beim Menschen nachweisen.

Um die zellbiologische Bedeutung des E2A-Verlusts zu eruieren, wurden neben den primären, aus Patienten isolierten Tumorzellen für die zellbiologischen Untersuchungen zudem Zelllinien, welche von Sézary-Patienten abstammen (SeAx, Hut78), analysiert.

Hier konnten wir zeigen, dass der Verlust von E2A zu einer verstärkten Expression des Proto-Onkogens *MYC* und des Zellzyklus-Regulators *CDK6* (*cyclin-dependent-kinase 6*) führt und in einer erhöhten Proliferation der Tumorzellen resultiert. Das *MYC*-Gen hat eine zentrale Bedeutung in der Regulation der Zellproliferation und Differenzierung und besitzt ein ausgeprägtes



**Abb. 4** Chromosomale Darstellung von Chr 19. In 70% der Sézary-Patienten zeigt sich eine Deletion der Region Chromosom 19p13.3, die Gen für den Transkriptionsfaktor E2A enthält.



**Abb. 5** Darstellung der durch E2A regulierten Signalkaskade.

transformierendes Potenzial [24]. Der Effekt von *MYC* wird zudem durch die häufige Nichtfunktionalität von *p53* erklärt, das in über 80% der Fälle im Sézary-Syndrom genomisch deletiert ist (Abb. 5). *CDK6* ist eine Zyklinkinase, die ein wichtiger Regulator der Zell-Zyklus-Progression ist. Eine Überexpression führt zu einem beschleunigten Übergang der Zelle von der G<sub>0</sub>-Phase in die S-Phase [25]. Die Aktivierung von *MYC* als auch *CDK6*, bedingt durch den Verlust von E2A, erklärt somit teilweise die Transformation und verstärkte Proliferation der Tumorzellen beim Sézary-Syndrom (Abb. 5).

Durch weitere Genexpressionsuntersuchungen nach Rekonstitution der E2A-Aktivität (Wiedereinbringen von E2A in die Tumorzelle) in einer E2A-negativen SS-Zelllinie identifizierten wir zudem eine Reihe weiterer E2A-regulierter Gene, darunter verschiedene Apoptoseregulatoren (z. B. *BIM*, *BIK*) und Regulatoren onkogener Signaltransduktionswege einschließlich des *RAS*-(*RASSF4*, *DAB2IP*, *RASA4*, *RGS16*) und des *NOTCH*-Signalwegs (*DELTEX1*), welche neue, zielgerichtete Therapieansätze darstellen könnten [26,27]. Diese Arbeit zeigt damit erstmals den genomischen Verlust von E2A in einer humanen Tumorentität. Zudem zeigt sie, dass E2A als Genregulator eine ganze Kaskade von Transkriptionsfaktoren – ähnlich wie *GLI1* beim Basalzellkarzinom – reguliert. Diese Funktionen belegen, dass E2A auch

beim Menschen ein Tumorsuppressor ist. Gegenstand weiterer Untersuchungen sind u. a. die diagnostische Wertigkeit des E2A-Verlustes in der Differenzialdiagnose des Sézary-Syndroms und zum anderen die Möglichkeit, in die durch den E2A-Verlust deregulierten Signalwege therapeutisch einzugreifen.

## Abstract

### Significance of Transcription Factors for the Pathogenesis of Cutaneous Lymphomas

Transcription factors are DNA-binding proteins involved in transcription processes in eukaryotes, by binding parts of promoters or enhancers with high specificity. They can thus regulate genes or complex networks by themselves. On this basis, alteration of a solitary transcription factor may lead to various cellular changes and also to neoplasia. A network of transcription factors, such as E2a, ID-2, NOTCH and PAX5 regulates lymphocytic development into B-, T-, NK- or plasmocytoid dendritic cells. Alterations of these genes via mutation or activation of inhibitors may lead to developmental disorders and also to malignant transformation. In our own investigations we have shown that in Sezary's syndrome genomic deletion of transcription factor E2A may be detected in 70% of the cases, resulting in deregulation of a series of oncogenes and other transcription factors responsible for cell proliferation and transformation.

## Literatur

- 1 Knippers R. Molekulare Genetik. 9. komplett überarb. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2006
- 2 Reese JC. Basal transcription factors. *Curr Opin Genet Dev* 2003; 13: 114–118
- 3 Aza-Blanc P, Lin HY, Ruiz I, Altaba A et al. Expression of the vertebrate Gli proteins in Drosophila reveals a distribution of activator and repressor activities. *Development* 2000; 127: 4293–4301
- 4 Dahmane N, Lee J, Robins P et al. Activation of the transcription factor Gli1 and the Sonic hedgehog signalling pathway in skin tumours. *Nature* 1997; 389: 876–880
- 5 Fan H, Oro AF, Scott M et al. Induction of basal cell carcinoma features in transgenic human skin expressing Sonic Hedgehog. *Nat Med* 1997; 3: 788–792
- 6 Ghali L, Wong ST, Green MP et al. Gli1 protein is expressed in basal cell carcinomas, outer root sheath keratinocytes and a subpopulation of mesenchymal cells in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 595–599
- 7 Chen JK, Taipale J, Young KE et al. Small molecule modulation of Smoothed activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 14071–14076
- 8 Busslinger M. Transcriptional control of early B cell development. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 55–79
- 9 Sigvardsson M, O'Riordan M, Grosschedl R. EBF and E47 collaborate to induce expression of the endogenous immunoglobulin surrogate light chain genes. *Immunity* 1997; 7: 25–36
- 10 Rothenberg EV, Moore JE, Yui MA. Launching the T-cell-lineage developmental programme. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 9–21
- 11 Sawada S, Littman DR. A heterodimer of HEB and an E12-related protein interacts with the CD4 enhancer and regulates its activity in T-cell lines. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 5620–5628
- 12 Barndt RJ, Dai M, Zhuang Y. Functions of E2A-HEB heterodimers in T-cell development revealed by a dominant negative mutation of HEB. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 6677–6685
- 13 Kee BL. E and ID proteins branch out. *Nat. Rev. Immunol* 2009; 9: 175–184
- 14 Morrow MA, Mayer EW, Perez CA et al. Overexpression of the Helix-Loop-Helix protein Id2 blocks T cell development at multiple stages. *Mol Immunol* 1999; 36: 491–503
- 15 Radtke F, Wilson A, Stark G et al. Deficient T cell fate specification in mice with an induced inactivation of Notch1. *Immunity* 1999; 10: 547–558
- 16 Yokota Y, Mansouri A, Mori S et al. Development of peripheral lymphoid organs and natural killer cells depends on the helix-loop-helix inhibitor Id2. *Nature* 1999; 397 (6721): 702–706
- 17 Hacker C, Kirsch RD, Ju XS et al. Transcriptional profiling identifies Id2 function in dendritic cell development. *Nat Immunol* 2003; 4: 380–386
- 18 Ferrando AA, Neuberg DS, Staunton J et al. Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2002; 1: 75–87
- 19 Koch U, Radtke F. Notch and cancer: a double-edged sword. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 2746–2762
- 20 Mathas S, Kreher S, Meaburn KJ et al. Gene deregulation and spatial genome reorganization near breakpoints prior to formation of translocations in anaplastic large cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 5831–5836
- 21 Aspland SE, Bendall HH, Murre C et al. The role of E2A-PBX1 in leukemogenesis. *Oncogene* 2001; 20: 5708–5717
- 22 Park ST, Nolan GP, Sun XH. Growth inhibition and apoptosis due to restoration of E2A activity in T cell acute lymphoblastic leukemia cells. *J Exp Med* 1999; 189: 501–508
- 23 Steininger A, Möbs M, Ullmann R et al. Genomic loss of the putative tumor suppressor gene E2A in human lymphoma. *J Exp Med* 2011; 208: 1585
- 24 Eischen CM, Weber JD, Roussel MF et al. Disruption of the ARF-Mdm2-p53 tumor suppressor pathway in Myc-induced lymphomagenesis. *Genes Dev* 1999; 13: 2658–2669
- 25 Hu MG, Deshpande A, Enos M et al. A Requirement for Cyclin-Dependent Kinase 6 in Thymocyte Development and Tumorigenesis. *Cancer Res* 2009; 69: 810–818
- 26 Eckfeld K, Hesson L, Vos MD et al. RASSF4/AD037 is a potential ras effector/tumor suppressor of the RASSF family. *Cancer Res* 2004; 64: 8688–8693
- 27 Reschly EJ, Spaulding C, Vilimas T et al. Notch1 promotes survival of E2A-deficient T cell lymphomas through pre-T cell receptor-dependent and -independent mechanisms. *Blood* 2006; 107: 4115–4121