



Dr. phil. nat. Walter Birchmeier, seit 1988 Professor für Molekularbiologie am Essener Universitätsklinikum.

Foto: Universität GH Essen/LSK&M

Invasivität und Metastasierung sind diejenigen fatalen Schritte, die Krebserkrankungen nicht mehr kurierbar machen. Bei der Klärung der Mechanismen, die der Metastasierung von Tumoren zugrunde liegen, hat sich die Forschung zwischen 1970 und 1985 zunächst darauf konzentriert, die Biologie der beteiligten Prozesse verstehen zu lernen. Ab 1985 veränderte sich das Forschungsinteresse in der Grundlagenforschung: die Analyse der beteiligten Makromoleküle rückte in den Vordergrund. Inzwischen ist abzusehen, daß die neu erworbenen Kenntnisse zukünftig neuartige Therapieformen ermöglichen werden.

Barrieren gegen die Ausbreitung

Molekularbiologische Ansätze zum Problem der Metastasenbildung / Von Walter Birchmeier

Metastasen sind das Endprodukt eines vielschrittigen und komplexen Prozesses. Es beginnt damit, daß einige Körperzellen unkontrolliert zu wachsen beginnen und schließlich einen Geschwulst- den primären Tumor - bilden. Bei Karzinomen, die über 90 Prozent der gefährlichen Tumore ausmachen, entstehen diese ersten entarteten (transformierten) Zellen in Epithelien, also in Zellschichten, die die Außen- und Innenflächen unseres Körpers auskleiden: in den Zellschichten der Haut, der Brustdrüsen, des Mund- und Rachenraums, im Magen- und Darmtrakt, in den Gängen der Bauchspeicheldrüse, in den Nieren und den Geschlechtsorganen. Diese Epithelien sind vom "Rest des Körpers" durcheinernicht-zelluläre Basalmembran abgetrennt (Abb. 1), und sie werden nicht direkt mit Blutgefäßen versorgt. Der

erste gefährliche Schritt des Metastasierungsprozesses besteht nun darin, daß bestimmte transformierte Epithelzellen aus dem Primärtumor dissoziieren, die Basalmembran durchbrechen und ins darunterliegende Bindegewebe einwandern. Diesenerstenentscheidenden Schritt der Metastasierung bezeichnet man als Invasivität.

Vor allem die Forschungsarbeiten von J. Folkman, Harvard University, haben gezeigt, daß Tumore ohne entsprechende Durchblutung aus"versorgungstechnischen"Gründen nicht größer als ein bis zwei Millimeter werden können; in dieser Größe enthält ein Tumor dann etwa eine Million Zellen. Gewisse invadierende Tumoren haben es deshalb darauf angelegt, Blutgefäße aus dem Bindegewebe anzulocken. Man nennt diesen Prozeß der tumor-induzierten Neuentstehung

von Blutgefäßen Tumor-Angiogene- nese. Die Tumorzellen setzen dabei "Lockstoffe" - Wachstumsfaktoren und Zell-Motilitätsfaktoren - frei, die diejenigen Zellen, die die Innenfläche der benachbarten Blut- und Lymphgefäße auskleiden (Endothelzellen), zum Einwandern in den Tumor veranlassen. Erst ein mit Blut versorgter Tumor hat die Möglichkeit, unbeschränkt zu wachsen und schließlich Fernmetastasen zu bilden.

Später gelingt es einigen Tumorzellen in der Regel, in die Blut- oder Lymphgefäße des wachsenden Tumors einzudringen. Sie werden von dort aus passiv, vom Primärtumor weg, in andere Organe geschwemmt (Abb. 1). Da die Blutgefäße mit den relativ dichtgepackten roten Blutzellen eine für Karzinomzellen unfreundliche Umgebung darstellen, umgeben sich einige Tumorzellen während ihrer Wanderung im Blut mit schützenden weißen Blutzellen. Von den zirkulierenden Karzinomzellen sind nun wiederum nur diejenigen "erfolgreich", die in geeigneten Zielorganen - beispielsweise in Lunge, Le-

ber oder Gehirn - anhaften und die Endothelien der Blutgefäße dort durchdringen. Erst diese Zellen können im darunterliegenden Bindegewebe wachsen und damit Fernmetastasen bilden.

Die Metastasierung von Tumorzellen ist also ein sehr komplexer Vorgang, wobei immernur ein Bruchteil der an den einzelnen Prozessstufen beteiligten Zellen das jeweils folgende Hindernis auch bewältigen. Oft kann es Jahre dauern, bis ein Tumor das nächste Stadium der Metastase-Kaskade erreicht. Hinzu kommt: Jede Tumorart hat ihre eigenen Invasions- und Metastase- wege sowie ihr eigenes zeitliches Programm. Daß gewisse Tumore auf ihrem "Hindernislauf" immer bestimmte Zielorgane erreichen, wurde in den 70er und 80er Jahren vor allem durch J. Fidler und G. Nicolson, heute beide in Houston, Texas, erkannt und intensiv erforscht.

Die Schlüssel-moleküle

Vor diesem Hintergrund stellte sich in den letzten Jahren in der Grund-

lagenforschung drängend die Frage, welche zellulären Makromoleküle für das invasive und metastatische Verhalten der Tumorzellen verantwortlich sein könnten. Man vermutete, daß gewisse Tumorzellen vermehrt Verdauungsenzyme (Proteasen) absondern und sich damit den Weg in die zu invadingen Gewebeschichten freimachen. Heute ist klar, daß in der Tat Proteasen (Kollagenasen und Plasminaktivatoren) den Tumorzellen beim Durchbrechen der Basalmembranen und Endothelzellschichten helfen. Des weiteren nahm man an, daß Moleküle wichtig sein könnten, die die Bindefähigkeit (Adhäsivität) der Tumorzellen, sowohl untereinander als auch zu den wechselnden neuen Partnern, auf ihrem komplexen Metastaseweg beeinflussen. Vor kurzem konnten wir zeigen, daß in der Tat solche Adhäsionsmoleküle bei der Invasivität von Karzinomzellen eine wichtige Rolle spielen (Abb. 1): Karzinomzellen können sich erst dann aus primären Tumoren lösen, wenn sie bestimmte Zelladhäsionsmoleküle auf ihrer Oberfläche verlieren, die für die Adhäsivität untereinander verantwortlich sind - wie beispielsweise das von uns untersuchte Molekül E-Cadherin. Eine weitere Klasse von beteiligten Molekülen sind die sogenannten Zellmotilitäts- und Wachstumsfaktoren, die die Wanderungsfähigkeit von Zellen beeinflussen. Tumorzellen können, wie bereits erwähnt, Zellmotilitätsfaktoren aussenden, um Blutgefäße anzulocken. Auch hier ist die Grundlagenforschung ein gutes Stück vorangeschritten: Im Rahmen unserer Arbeiten konnten wir einen neuartigen Motilitätsfaktor, der von Bindegewebszellen gebildet wird und die Motilität von Karzinomzellen beeinflusst, reinigen und molekular charakterisieren: den *Scatter-Faktor*.

ner Wahrscheinlichkeit von 80 Prozent länger als fünf Jahre; bei Patienten mit entdifferenziertem Dickdarmkarzinom beträgt diese Wahrscheinlichkeit nur 20 Prozent.

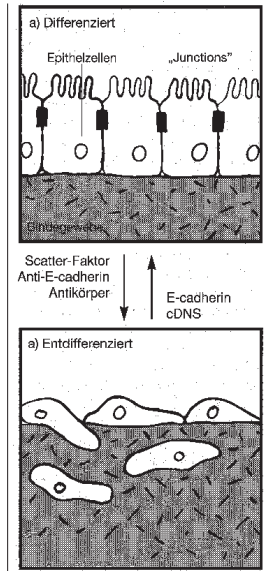
Ab 1982 waren wir in der Lage, monoklonale Antikörper herzustellen, mit deren Hilfe Epithelzellen in Zellkulturen vom differenzierten in einen entdifferenzierten Zustand überführt werden können (von a zu b in Abb. 2). Ein besonderer Antikörper war dabei gegen ein epithel-spezifisches Zelladhäsionsmolekül, das wir heute E-Cadherin - epitheliales, Calcium-abhängiges Adhären - nennen, gerichtet¹. Inzwischen konnte E-Cadherin nicht nur in den Zwischenzellverbindungen (*Junctions*), den charakteristischen Adhäsionsstrukturen der Epithelzellen, lokalisiert werden (Abb. 2, a), auch die Funktionen dieses Zelladhäsionsmoleküls sind weitgehend geklärt: Wenn dieses Molekül durch die Bindung von Antikörpern gestört wird, erkennen die Epithelzellen sich untereinander nicht mehr und geben ihre epitheliale Eigenschaften auf, wodurch sich schließlich ihre Invasivitätsfähigkeit erhöht (Abb. 2, b).

E-Cadherin - Ein Marker für differenzierte Karzinome

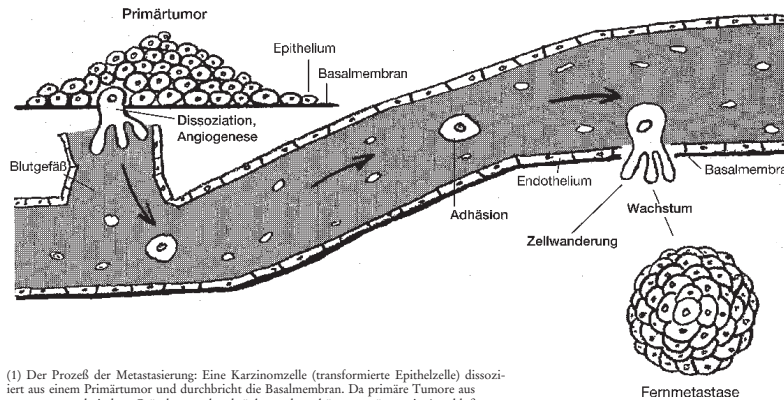
Zelladhäsionsmoleküle können die Invasivität von Karzinomen beeinflussen. Aus der Krebsdiagnostik ist schon seit Jahrzehnten bekannt, daß Karzinome in zwei Extremformen - differenziert und entdifferenziert - auftreten, wobei die entdifferenzierten Karzinome generell stärker invasiv und demnach gefährlicher sind. In differenzierten Karzinomen zeigen die Epithelzellen noch viel von ihren spezifischen epitheliale Eigenschaften: Sie sind oft polar, sie exprimieren charakteristische epitheliale Zwischenzellverbindungen (*Junctions*), und sie sind kaum mobil (Abb. 2, a). In entdifferenzierten Karzinomen hingegen sind diese Eigenschaften der Epithelzellen oft kaum mehr sichtbar (Abb. 2, b): Die Zellen zeigen keine spezifische epitheliale Zellverbindungen, sie sind stärker mobil, und sie invadieren in darunterliegende Gewebeschichten. Inwiefern der Differenzierungsgrad und die damit zusammenhängende Invasivität und Metastasierfähigkeit der Karzinomzellen die Prognose einer Tumorerkrankung beeinflussen, zeigen folgende Zahlen: Patienten mit der Diagnose eines differenzierten Dickdarmkarzinoms leben mit ei-

ner Wahrscheinlichkeit von 80 Prozent länger als fünf Jahre; bei Patienten mit entdifferenziertem Dickdarmkarzinom beträgt diese Wahrscheinlichkeit nur 20 Prozent.

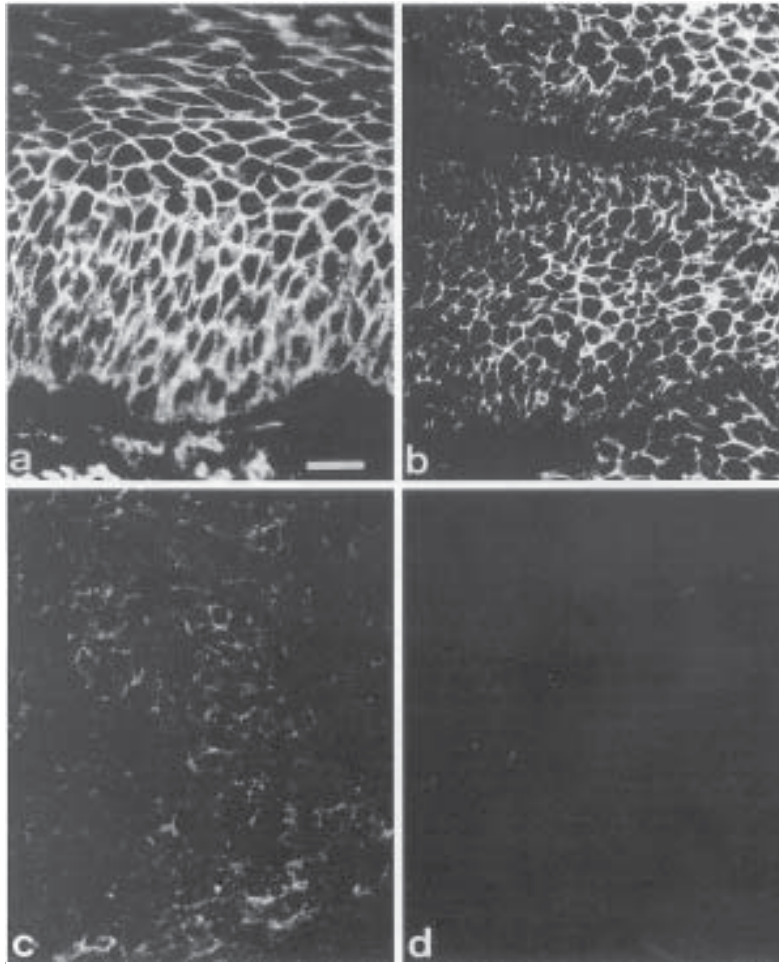
Um zu klären, ob das Zelladhäsionsmolekül E-Cadherin auch bei der Invasivität von Karzinomen beim Menschen eine Rolle spielt, haben wir über 30 differenzierte und entdifferenzierte menschliche Karzinomzelllinien gesammelt und auf die Expression von E-Cadherin hin untersucht¹. Befund: E-Cadherin wird in entdifferenzierten Zelllinien gar nicht gebildet, alle Zellen waren in unseren Labor-Assays invasiv. Nachdem wir die komplementäre DNS für E-Cadherin in entdifferenzierte Karzinomzellen einschleusen konnten, haben wir wieder differenzierte, nichtinvasive Zellen zurück erhalten (die Zellen wurden von b zu a in Abb. 2 geführt). Untermuert wurden diese Ergebnisse durch die Untersuchung an Tumoren von 32 Patienten der Essener Hals-Nasen-Ohren-Klinik auf E-Cadherin, die an Plattenepithelkarzinomen des Mund-Rachen-



(2) Experimentell veränderbar: Der Differenzierungsgrad von Epithelzellen. Epithelzellen (z.B. Darmepithelzellen) wachsen auf Bindegewebe. In (a) sind die Epithelzellen differenziert, d.h. sie sind polar (sie exprimieren beispielsweise Mikrovilli auf der Lumen-seite), und sie zeigen charakteristische Zwischenzellverbindungen (*Junctions*), in denen das Zelladhäsionsmolekül E-Cadherin lokalisiert ist. Durch Zugabe von Antikörpern gegen E-Cadherin oder durch Scatter-Faktor können diese Epithelzellen experimentell in einen entdifferenzierten Zustand (b) überführt werden. Die Zellen verlieren ihre Polarität, zeigen keine Junctions mehr, und werden invasiv für darunterliegendes Bindegewebe. Geht man experimentell von entdifferenzierten Karzinomzellen aus (die kein E-Cadherin exprimieren), kann die Differenzierung durch Transfektion der DNS für E-Cadherin wiederhergestellt werden. Durch diese Experimente ist wissenschaftlich klar gezeigt worden, daß das Zelladhäsionsmolekül E-Cadherin ein Schlüssel-molekül für die Erhaltung der Differenzierung der Epithelzellen darstellt, und daß dessen Verlust die Invasivität der Zellen bewirkt. Es ist klar, daß sich die Situation bei realen Epithelien (und in Tumoren) komplizierter als im gezeichneten Schema darstellt; so sind beispielsweise viele Epithelien mehrschichtig (Abb. 3).



(1) Der Prozeß der Metastasierung: Eine Karzinomzelle (transformierte Epithelzelle) dissoziiert aus einem Primärtumor und durchbricht die Basalmembran. Da primäre Tumore aus versorgungstechnischen Gründen nur beschränkt wachsen können, müssen sie Anschluss ans Blutgefäßsystem finden (Angiogenese). Gewisse Tumorzellen gelangen dann in den Blut-sowie in den Lymphkreislauf und werden zu entfernten Zielorganen geschwemmt, wo sie sich an den Endothelien der Blutgefäße anheften und sie durchbrechen. Dort können sie als Fernmetastasen wachsen.



(3) E-Cadherin im menschlichen Plattenepithel und in Plattenepithelkarzinomen: Gewebsschnitte eines normalen Schleimhautepithels (a), sowie von gut differenzierten (b), "moderat" differenzierten (c) und schwach differenzierten (d) Plattenepithelkarzinomen des Mund-Rachenraumes. Weiß leuchtend dargestellt ist das Zelladhäsionsmolekül E-Cadherin, das die differenzierten Epithel(karzinom)zellen untereinander verbindet (a,

b), das aber in schwach differenzierten Karzinomen nicht vorhanden ist (d). Sichtbar gemacht wurde das Molekül E-Cadherin durch die Inkubation der Gewebsschnitte mit fluoreszierend präparierten Antikörpern, die dann die fluoreszierenden Farbstoffmoleküle zu den spezifischen E-Cadherin-haltigen Zellstrukturen tragen. Fotografiert mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie.

Foto: Universität GfH Essen/Schäper

Raumes erkrankt waren⁴: Alle *differenzierten* Karzinome der Patienten zeigten E-Cadherin an den Grenzen der Zellen (Abb. 3, b; das Zelladhäsionsmolekül ist auf diesem Schnitt durch den Tumor durch Immunfluoreszenztechnik sichtbar gemacht), ähnlich wie wir es im ursprünglichen Plattenepithel finden (Abb. 3, a). Die *entdifferenzierten* Karzinome hingegen hatten E-Cadherin verloren (Abb. 3, d), während Intermediärformen auch eine intermediäre Expression zeigten (Abb. 3, c). Interessanterweise waren die Lymphknotenmetastasen dieser Mund-Rachen-tumore generell E-Cadherin negativ. Diese Daten zeigen, daß das Zelladhäsionsmolekül E-Cadherin in der Tat als guter Marker für die weniger gefährlichen, differenzierten Karzinome gelten kann, während die Abwesenheit dieses "Leims" zwischen den Zellen die Karzinome "lockerer" macht, sie entdifferenziert und anscheinend die Metastasierung zu den Lymphknoten fördert.

Erhöhte Zell-Mobilität: Der "Scatter-Faktor"

Es sind heute verschiedene Zellmobilitätsfaktoren bekannt, die die Wanderung von Tumorzellen beeinflussen, etwa der autokrine Motilitätsfaktor, der Scatter-Faktor, der *migration-stimulating factor* sowie der Fibroblasten-Wachstumsfaktor. Das Gemeinsame dieser Faktoren ist, daß es Proteine sind, die die Zellen in Kultur zu stark erhöhter Wanderung verleiten und die damit eine Rolle bei der Invasivität und Metastasierung von Tumorzellen spielen könnten. Die Gruppe um L. Liotta am Washingtoner National Institute of Health hat beispielsweise kürzlich gezeigt, daß der autokrine Motilitätsfaktor im Urin von Blasenkarzinompatienten gemessen werden kann, und daß eine Korrelation zwischen der Invasivität der Karzinome und der Menge des Faktors besteht.

Der sogenannte Scatter-Faktor wurde in der Mitte der 80er Jahre

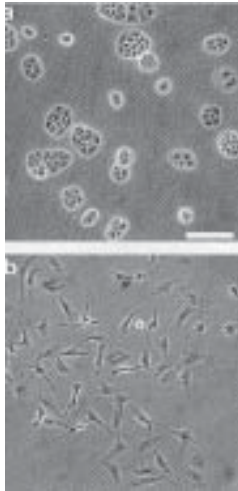
durch den erfahrenen Zellbiologen Sir Michael Stoker in Cambridge entdeckt. Stoker wollte damals Epithelzellen aus Brustgewebe zusammen mit Bindegewebszellen (Fibroblasten) kultivieren und stellte fest, daß er die Epithelzellen nicht mehr von den Fibroblasten unterscheiden konnte. Die Fibroblasten produzierten anscheinend einen Faktor, der Epithelzellen dissoziiert (engl. to scatter), sie also in einen entdifferenzierten Zustand überführen und mobil machen kann (Abb. 4). Wir konnten - auf diesem Ansatz aufbauend - nachweisen, daß Stoker's Scatter-Faktor in geeigneten in-vitro Assays die Invasivität von Karzinomzellen bewirkt. Damit war für uns die Zeit gekommen, mehr in diesen Faktor zu "investieren". Zunächst wurde der Scatter-Faktor in unseren Labors aus Fibroblasten gereinigt und die Aminosäuresequenz von Teilpeptiden des Proteins bestimmt. Mit dieser Information konnten wir dann die komplementäre DNS für den Faktor isolieren und sequenzieren⁵.

Nach unseren Daten ist der Scatter-Faktor ein Protein mit 728 Aminosäuren (Abb. 5, a). Die ersten 31 Aminosäuren sind für die Sekretion des Faktors aus den Fibroblasten verantwortlich und tauchen im endgültigen Molekül nicht mehr auf. Die Aminosäuren 128-494 bilden vier komplizierte Substrukturen, die man nach einem dänischen Gebäck "Kringels" nennt (Abb. 5, b). Zwischen den Aminosäuren 494 und 495 (*Arg-Val*) wird der Scatter-Faktor durch eine noch unbekannte Protease in zwei Untereinheiten gespalten, eine schwere (mit den "Kringels") und eine leichte Kette, die aber noch über Schwefelbrücken miteinander verbunden sind. Die leichte Kette zeigt Sequenzähnlichkeiten zu den sogenannten Serin-Proteasen. Die Sequenzanalyse hat weiter gezeigt, daß der Scatter-Faktor identisch zu einem anderen Faktor ist, den japanische Forschungsgruppen kürzlich als Hepatozyten-Wachstumsfaktor

identifiziert haben. Die internationale Wissenschaftszeitschrift NATURE hat den Scatter/Hepatozyten-Wachstums-Faktor inzwischen wegen dieser doppelten Aktivität der Faktor wirkt motilitäts- und wachstumssteigernd - als *Janus Factor* bezeichnet⁶. In Zusammenarbeit mit dem Labor Comoglio, Turin, und in Konkurrenz mit den Labors Aaronson und Vande Woude, USA, haben wir in diesem Jahr auch das Zielmolekül (den Rezeptor) des Scatter-Faktors auf Epithelzellen charakterisiert: Das *c-Met*-Protoonkogen, das eine transmembrane Tyrosinkinase kodiert.

Metastasierung: Hemmende und fördernde Faktoren

Es würde den Rahmen des Berichts überschreiten, wollte man an dieser Stelle alle anderen im Metastaseprozeß wichtigen Moleküle darstellen, die zur Zeit weltweit von verschiedenen Forschungsgruppen untersucht werden. Zwei interessante Ergebnisse sollten hier aber dennoch genannt werden, die in den letzten Monaten große Beachtung gefunden haben. Schon vor Jahren hatten Siegfried Matzku und seine Mitarbeiter vom Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg monoklonale Antikörper hergestellt, die metastasierende Pankreaskarzinomzellen der Ratte erkennen, nicht aber die nicht-metastatischen Varianten dieser Zellen. Eine Forschergruppe des Instituts für Genetik der Universität Karlsruhe unter der Leitung von P. Herrlich hat jetzt das entsprechende Zelloberflächenmolekül der metastatischen Zellen kloniert und im Detail charakterisiert. Es handelt sich um eine Variante des Zelladhäsionsmoleküls CD44. Durch Überführung der komplementären DNS für dieses Molekül gelang es dieser Gruppe, *niedermetastatische Tumorzellen* in *hochmetastatische* zu verwandeln. Die Gruppe um L. Liotta hat dagegen kürzlich ein Gen entdeckt (das *non-metastatic*-Gen *nm 23*), das in niedermetastatischen Maus-



(4) Scatter-Faktor: dissoziierende Epithelzellen als Modell für invasive Karzinome. Epithelzellen wachsen in Zellkultur generell als Verband, wie die vielen Gruppen von 5-10 Zellen in (a) zeigen. Nach Zugabe von rein dargestelltem Scatter-Faktor (b) dissoziieren die Zellen (engl. "to scatter") und scheinen untereinander keinen Kontakt mehr zu wünschen. Der Scatter-Faktor überführt die Epithelzellen also von einem differenzierten (a) in einen entdifferenzierten Zustand (b). Die Zellen in (a) können also als Modell für differenzierte und weniger gefährliche, die Zellen in (b) für entdifferenzierte und auch stärker invasive Karzinome angesehen werden.

Foto: Universität GH Essen/Waidner

Tumorzellen stärker exprimiert wird als in hochmetastatischen Varianten. Durch Übertragung der entsprechenden komplementären DNS gelang es der Washingtoner Gruppe, *hochmetastatische Maus-Zellen wieder in niedermetastatische* zurückzuführen. Auch diese beiden Beispiele zeigen deutlich, daß es Moleküle gibt, die die Metastasiererung entweder wie der Scatter-Faktor fördern, oder sie wie E-Cadherin hemmen.

Entwicklungswege zur Therapie

Es dürfte deutlich geworden sein: Die biologischen Vorgänge bei der Invasion und Metastasierung von Tumorzellen sind von sehr komplexer Natur. Die verschiedenartigen Prozesse wie Proteolyse, Zelldissoziation und -wanderung, Zellaggregation, Angiogenese, usw. müssen dabei in einer geregelten Ordnung ablaufen. Diese Prozesse sind dem Zell- und Entwicklungsbiologen vor allem aus einem anderen Zusammenhang heraus vertraut: Vieles bei der Invasion und Metastasierung von Tumorzellen erinnert an ähnliche Vorgänge bei der Embryonalentwicklung - beispielsweise an die komplizierte Wanderung von zukünftigen Melanozyten aus der embryonalen Neuralleiste durchs Mesenchym in die Epithelien der Haut, oder etwa an die notwendige Blutversorgung der embryonalen Niere durch plötzliches Einwandern von Endothelien. Bei der Metastasierung geschieht dies alles allerdings am falschen Ort und auch zur falschen Zeit. Wegen dieser Ähnlichkeit der Prozesse interessieren sich viele Tumorforscher für die Ergebnisse der Entwicklungsbiologie - und umgekehrt: Auch aus der wissenschaftlichen Klärung der Embryonalentwicklung heraus sind sehr wohl Antworten auf die Fragen zu erwarten, vor die uns die Prozesse von Invasivität und Metastasierung stellen. Daß daneben an diesen Prozessen verschiedenartige Moleküle wie Zelladhäsionsmoleküle, Proteasen und Motilitätsfaktoren

direkt und indirekt beteiligt sind, konnte hier an einigen Beispielen gezeigt werden. Gerade in letzter Zeit sind jedes Jahr eine Reihe solcher neuer Moleküle ins Blickfeld geraten, und die Tendenz ist immer noch steigend. Dieser Fortschritt ist nicht zuletzt auf die Tatsache zurückzuführen, daß die Techniken der Rekombination von Nukleinsäuren in unsere Labors Einzug gehalten haben.

Die heute in der Grundlagenforschung erprobten Verfahren werden zunächst in der Diagnose von Krebserkrankungen Anwendung finden. Besonders die Analyse des "Kommens und Gehens" von kritischen "Metastasemolekülen" wird eine frühere Erkennung der gefährlichen Tumore ermöglichen, wie wir es im Fall des *autokrinen Motilitätsfaktors* bei Blasenkarzinomen sowie des E-Cadherins bei Karzinomen des Hals-Nasen-Ohrenbereichs im Prinzip bereits dargestellt haben. Hinsichtlich neuer Therapiemöglichkeiten könnte die Interferenz über Moleküle an den Zelloberflächen der Tumorzellen nutzbar gemacht werden: Wir denken dabei an interferierende Liganden, beispielsweise an genetisch veränderte Motilitätsfaktoren, die die Motilität selber nicht mehr bewirken, aber das native Molekül vom Rezeptor verdrängen, an rekombinante Proteaseinhibitoren, an lösliche Zelloberflächenrezeptoren, wie beispielsweise an ein nicht mehr zellgebundenes variantes CD 44. Dank der bereits angesprochenen neuen Technologien lassen sich solche Moleküle heutzutage leicht herstellen. Beim Blasenkarzinom könnte man solche interferierenden neuen Technologien lassen sich solche Moleküle heutzutage leicht herstellen. Beim Blasenkarzinom könnte man solche interferierenden neuen Technologien lassen sich solche Moleküle heutzutage leicht herstellen.

Es lassen sich aber auch Strategien denken, bei denen wir über niedermolekulare Substanzen - also zellmembran-durchlässige Moleküle - interferieren. Auf diese Weise



(5) Molekulare Struktur des Scatter-Faktors: Oben die von uns vorge-schlagene Aminosäure-Sequenz des Scatter-Faktors, wie wir sie aus der Sequenz der entsprechenden DNS bestimmt haben. Unten ein vereinfachtes Strukturmodell des Scatter-Faktors: Das mature Molekül besteht aus einer kurzen N-terminalen Sequenz (Aminosäuren 32-137, H-

Kette), aus vier sogenannten "Kringel"-Modulen (Aminosäuren 128-494), sowie der durch Proteolyse (zwischen Arginin⁴⁹⁴ und Valin⁴⁹⁵) abgespaltenen leichten Kette (L-Kette). Peptide (a-f), deren Aminosäuresequenz in unseren Labors bestimmt wurden, sind in beiden Figuren fett markiert.

Grafik: Universität GH Essen/Eisner

könnten wir versuchen, den differenzierten Phänotyp von Karzinomen zu verstärken, indem wir kritische Tyrosinkinasen, beispielsweise *c-Met*, hemmen. Neue Technologien zur Überbrückung der Zellmembranen mit Hilfe geeigneter retroviraler Vektoren würden es auch erlauben, über Makromoleküle korrigierend in der Zelle einzugreifen. Mit Hilfe von E-Cadherin in retroviralen Vektoren könnten wir so versuchen, entdifferenzierte Tumore des Mund-Rachenraumes wieder zur Differenzierung zu bringen⁸. Damit wir auf diesem Weg

jedoch auch längerfristig Erfolg haben, müssen wir uns noch über eine ganze Reihe von kritischen Zellkomponenten und Mechanismen Klarheit verschaffen, die die Prozesse der Invasivität und Metastasierung bewirken oder verhindern. Trotz aller Hoffnungen, zu denen die derzeitige Forschung durchaus Anlaß gibt, wird es jedoch *eine* Mittel zur Verhinderung dieser Prozesse auf absehbare Zeit nicht geben: Jeder Tumortyp besitzt seine eigenen kritischen Moleküle und verlangt deshalb auch jeweils eine modifizierte Strategie.

SUMMARY

The generation of malignant tumors in humans is a multistep process. An accumulation of somatic mutations results in the loss of growth control of the cells involved, induces cell invasiveness and the vascularization of tumors and finally leads to metastasis of certain target organs (fig. 1). In the past decade, much progress has been made in the identification of genes responsible for the loss of growth control in tumors, whereas the specific genes



Foto: Universitätsklinikum Göttingen

involved in the later steps of tumor progression, invasion and metastasis are less well defined. Progress has been made in the past years, which is discussed in this review. On the one hand, invasion and metastasis is promoted by the upregulation of expression of critical components. Proteases (metalloproteases, plasminogen activators etc.) are prime candidates in this group because these molecules can generate the necessary space for the invading tumor cells. Cell adhesion molecules are also thought to be involved because the invading cells continuously make new contacts on their migratory pathway. For instance, a splice variant of the putative cell adhesion molecule CD44 has been discovered which, after transfection of the corresponding cDNA into low metastatic cells, increases metastatic potential. Motility factors and growth factors which influence cell motility can also affect invasive behaviour. For instance, scatter factor promotes the invasiveness of epithelial cells in vitro. Recently, the cDNA for the receptor of autocrine motility factor which appears to be involved in the progression of bladder carcinomas, has been characterized (fig. 2, 4 and 5).

On the other hand, invasion and metastasis is also promoted by downregulation of expression of a different class of molecules. The antagonists of proteases, protease inhibitors, are prime candidates here. Cell adhesion molecules are involved as well, because the invasive cells break off contacts of the tissue of origin. For instance, downregulation of expression of the epithelium-specific cell adhesion molecule E-cadherin leads to increased motility and invasiveness of carcinoma cells in culture, and transfection with E-cadherin cDNA can reverse this (fig. 2). Downregulation of E-cadherin expression was also detected in poorly differentiated squamous cell carcinomas of head and neck, and particularly in the corresponding lymph node me-

tastases (fig. 3). Recently, the *nm 23* gene was discovered: Transfection of the *nm 23* cDNA can suppress metastatic potential.

A variety of molecules potentially important in invasion and metastasis have now been identified. In some cases, even the molecular mechanisms by which these proteins influence malignant behaviour are known. It will now be important to search for the actual mutations responsible for invasive and metastatic behaviour of human tumors. Such mutations could in principle either affect the structural genes of components directly involved in invasion and metastasis, or they could indirectly influence the regulatory systems of these genes. The identified candidate genes responsible for invasiveness/metastasis have now to be investigated for both these types of mutations in human tumors.

Der Autor:

Prof. Dr. phil. nat. Walter Birchmeier ist seit Mai 1988 Professor für Molekulare Zellbiologie am Universitätsklinikum Essen und Leiter der Arbeitsgruppe "Zell- und molekularbiologische Grundlagen der Invasivität und Metastasierung maligner Zellen" sowie - zusammen mit Prof. Manfred Rajewsky und Prof. Gerhart U. Ryffel - der Arbeitsgruppe "Zell- und molekularbiologische Grundlagen der Diagnostik und Therapie maligner Erkrankungen" am Essener Institut für Zellbiologie (Tumorforschung), IFZ. Nach dem Doktorat am Institut für Biochemie der Universität Zürich in den Jahren 1973 bis 1978 Aufenthalte als Postdoc bei Prof. G. Schatz an der Cornell University Ithaca, New York, am Biozentrum Basel und bei Prof. J. Singer, University of California, San Diego. 1979 übernahm Dr. Walter Birchmeier die Oberassistenten am Laboratorium für Biochemie der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich; ab 1982 war er Arbeitsgruppenleiter am Friedrich Miescher Laboratorium der Max-Planck-Gesellschaft in Tübingen. Prof. Walter Birchmeier erhielt 1990 den Wilhelm-Warner-Preis für Krebsforschung.

Anmerkungen:

1) An dieser grundlegenden Arbeit war Dr. B. Imhof, heute Basler Institut für Immunologie, maßgeblich beteiligt.

- 2) Dieser Erkenntnissschritt beruht auf den Untersuchungen von Dr. Jürgen Behrens.
- 3) Die Untersuchung führte Dr. Uwe Frisen durch.
- 4) Die Untersuchung der Plattenepithelkarzinome auf E-Cadherin übernahm Dr. Jörg Schipper.
- 5) Die Arbeiten an Scatter-Faktor verdanken wir Dr. Michael Weidner.
- 6) NATURE, in der Ausgabe vom 5. Sept. 1991 (Vol. 353, p. 20).
- 7) Forschungsprojekt Otto, Birchmeier, Rübber.
- 8) Forschungsprojekt Schipper, Jahnke, Birchmeier.

Literatur:

- Basset G, Bellocq JP, Wolf C, Stoll I, Hutin P, Limacher JM, Podhajcer OL, Chenard MP, Pio MC, Chambon P (1990) A Novel Metalloproteinase Gene Specifically Expressed in Stromal Cells of Breast Carcinomas. NATURE 348: 699-704
- Behrens J, Weidner KM, Frisen U, Schipper JH, Sachs M, Arakaki N, Daikuhara Y, Birchmeier W (1991) The Role of E-Cadherin and Scatter Factor in Tumor Invasion and Cell Motility. IN: Goldberg ID (1991) Cell Motility Factors: 109-126; Birkhäuser Verlag, Basel
- Frisen U, Behrens J, Sachs M, Eberle G, Voss B, Warda A, Löchner D, Birchmeier W (1991) E-Cadherin-mediated Cell-Cell Adhesion Prevents Invasiveness of Human Carcinoma Cells. J CELL BIOL 113: 173-185
- Günther U, Hoffman M, Rudy W, Reber S, Zöllner M, Haussmann I, Matzku S, Wenzel A, Ponta H, Herrlich P (1991) A New Variant of Glycoprotein CD44 Confers Metastatic Potential to Rat Carcinoma Cells. CELL 65: 13-24
- Leone A, Flatow U, King CR, Sandeen MA, Margulis IMK, Liotta LA, Steeg RS (1991) Reduced Tumor Incidence, Metastatic Potential, and Cytokine Responsiveness of *nm 23*-Transfected Melanoma Cell. CELL 65: 25-35
- Liotta LA, Mandler R, Murano G, Katz DA, Gordon RK, Ching PK, Schifmann E (1986) Tumor Cell Autocrine Motility Factor. PROC NATL ACAD SCI USA 83: 3302-3306
- Takeichi M (1991) Cadherin Cell Adhesion Receptors as a Morphologic Regulator. SCIENCE 251: 1451-1455
- Warr RM (1991) The Janus Factor. NATURE 353: 20
- Weidner KM, Arakaki N, Hartmann G, Vandeckerckhove J, Weingart S, Rieder H, Fonatsch C, Tsubouchi H, Hishida T, Daikuhara Y, Birchmeier W (1991) Evidence for the Identity of Human Scatter Factor and Human Hepatocyte Growth Factor. PROC NATL ACAD SCI USA 88: 7001-7005
- Weidner KM, Behrens J, Vandeckerckhove J, Birchmeier W (1990) Scatter Factor: Molecular Characteristics and Effect on the Invasiveness of Epithelial Cells. J CELL BIOL 111: 2097-2108