

## Östrogenrezeptor beta (ER $\beta$ ) vermittelt zelluläre Differenzierungsprozesse

Carola Förster<sup>1</sup> und Silke Kietz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Anatomie und Zellbiologie II, Universität Würzburg

<sup>2</sup>Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Abteilung Pädiatrie, Georg-August-Universität Göttingen

► Östrogene gehören zu den Steroidhormonen und spielen eine wichtige Rolle in vielen verschiedenen Geweben, wobei sie die weibliche und männliche Physiologie gleichermaßen beeinflussen. Östrogene haben profunde Effekte auf Wachstum, Differenzierung und insbesondere die Funktion der reproduktiven Organe durch Stimulation der Zellproliferation und der Biosynthese des Progesteron-Rezeptors<sup>[1]</sup>. Im männlichen Organismus können Östrogenrezeptoren in Epithelzellen und im Stroma von Prostata und Nebenhoden nachgewiesen werden<sup>[2]</sup>. Aber auch auf nicht-klassische Zielorgane, wie Herz und Blutgefäße, Knochen, Nieren, Leber und Gehirn sowie auf das Immunsystem wirken sich Östrogene aus (Tab. 1)<sup>[1]</sup>. Östrogenmangel scheint bei der Beschleunigung vieler pathologischer Prozesse wie Atherosklerose, Osteoporose und degenerativer Erkrankungen des ZNS eine Rolle zu spielen, wohingegen erhöhte Östrogenspiegel mit der Krebsentstehung in Uterus und Brustdrüse in Verbindung gebracht werden.

Vor mehr als 40 Jahren zeigten Jensen und Jacobsen durch Bindungsstudien mit 17 $\beta$ -Estradiol (E2) im Uterus, dass die biologischen Effekte von Östrogen über ein Rezeptorprotein (ER) vermittelt werden<sup>[3]</sup>. 1986 wurde das für diesen Rezeptor kodierende Gen kloniert<sup>[4]</sup>. Der ER gehört zur Superfamilie der Zellkernrezeptoren für Steroid/Thyroid-Hormone, deren Mitglieder alle eine gemeinsame Grundstruktur auszeichnet (Abb. 1)<sup>[1]</sup>. Sie bestehen aus drei un-

abhängigen aber funktionell interagierenden Domänen: der N-terminalen Domäne (A/B) für die Interaktion mit der allgemeinen Transkriptionsmaschinerie, der DNA-Bindedomäne (C), und der Ligandenbindedomäne (E/F).

Im ungebundenen Zustand befindet sich der ER im Zytosol in einem stabilen Komplex mit dem Hitzeschockprotein HSP90. Ligandenbindung führt zur Dissoziation und Translokation des ER in den Zellkern. Dort kommt es zur Rezeptor-Dimerisierung und Konformationsänderung in einen aktiven Komplex, der jetzt durch Bindung an Östrogen-responsive Elemente (ERE) in der Promotorregion der Zielgene die Transkrip-

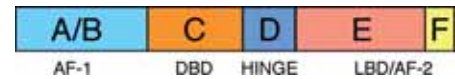


Abb. 1: Schematische Darstellung der Domänenstruktur von nukleären Rezeptorproteinen. Die A/B-Domäne am Aminoterminus enthält die so genannte AF-1 (Aktivierungsfunktion-1), mit der allgemeine Transkriptionsfaktoren interagieren. Die C-Domäne enthält zwei Zinkfinger-Motive zur DNA-Bindung, und die E/F-Domäne enthält die Ligandenbindetasche sowie die Aktivierungsfunktion 2 (AF-2), die mit Coregulatoren interagiert.

tionsrate verändern kann (Abb. 2). Neben diesem klassischen Signalweg des ER ist eine Beeinflussung der Transkriptionsrate auch durch Interaktion des ER mit Sp1-, AP1- und NF $\kappa$ B-Transkriptionsfaktoren bekannt. Des Weiteren finden auch Östrogen-unabhängige Phosphorylierungen statt und damit eine Aktivierung des ER vermittelt durch andere Signalwege<sup>[7]</sup>.

Bis 1995 glaubte man, dass der bis dahin bekannte klassische ER der einzige Östrogenrezeptor sei, der alle physiologischen und pharmakologischen Effekte von natürlichen und synthetischen Östrogenen und Antiöstrogenen vermittelt. 1996 konnte ein zwei-

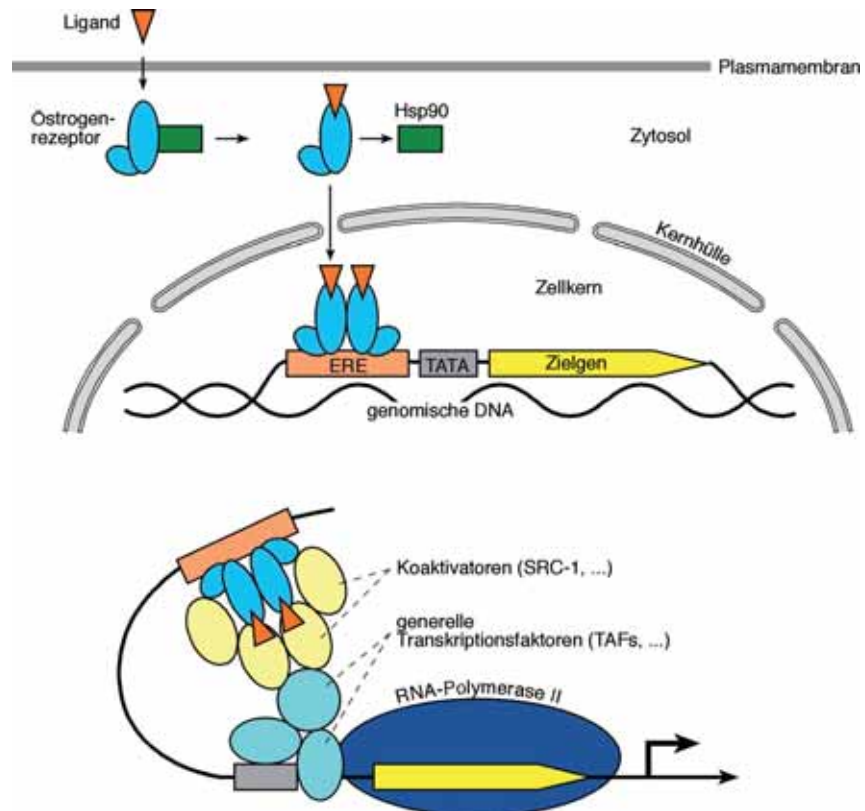


Abb. 2: Der Östrogenrezeptor (ER) vermittelt genomische Östrogenwirkung als hormonabhängiger Transkriptionsregulator. ER liegt in Liganden-ungebundenem Zustand komplexiert mit HSP90 im Zytosol vor. Ligandenbindung führt zur Dissoziation von HSP90, Dimerisierung sowie Translokation des Rezeptor-Dimers in den Zellkern. Dort wird nach Bindung an Hormon-responsive Erkennungselemente in der Promotor-Region von Zielgenen durch Interaktionen mit der generellen Transkriptionsmaschinerie und RNA-Polymerase II die Genexpression positiv oder negativ reguliert.

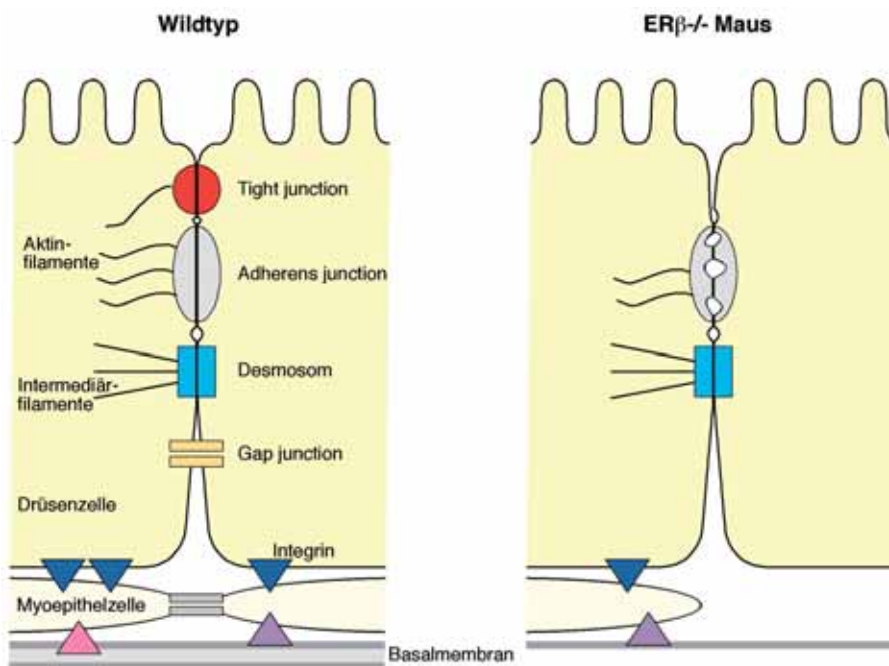
Tab. 1: Östrogen-responsive Zellen und Gewebe

Klassische Ziele	Nicht-Klassische Ziele
Ovar	Leber
Uterus	Langerhans'sche Inseln
Brustdrüse	Niere
Nebennieren-Rinde	Knochen
Prostata	Herz-Kreislauf-System
Leydig-Zellen	Lymphatische Zellen
Hypothalamus	Endothelzellen
Hypophyse	Osteoblasten
	Gliazellen

ter Östrogenrezeptor aus der Prostata der Ratte kloniert und identifiziert werden<sup>[5]</sup>. Dieser wurde als ER $\beta$  bezeichnet, was zur Umbenennung des klassischen ER in ER $\alpha$  führte. Die beiden ERs entstammen verschiedenen Genen auf verschiedenen Chromosomen, sind jedoch strukturell ähnlich aufgebaut (*Abb. 1*). Trotzdem gibt es Unterschiede u. a. in der Affinität für verschiedene Liganden und in der Stärke der Genexpressionsaktivität. Durch Unterschiede in der N-terminalen AB-Domäne besitzt beispielsweise ER $\alpha$  eine höhere Affinität für 17 $\beta$ -Estradiol, während ER $\beta$  mit höherer Affinität Phytoöstrogene bindet. Beide ERs binden an das gleiche DNA-Bindemotiv im Promotorbereich von Zielgenen, weisen aber Unterschiede in der Rekrutierung von Cofaktoren auf, was zu Gewebe- und/oder Promotor-spezifischen Zielgenexpression führt<sup>[1]</sup>. ER $\alpha$  und ER $\beta$  bilden bevorzugt Heterodimere, können jedoch auch als Homodimer wirksam werden. Da ER $\alpha$  und ER $\beta$  nicht in allen Östrogen-sensitiven Zellen/Geweben gleichermaßen exprimiert werden, ergibt sich schon dadurch eine Möglichkeit zu Zell- und Gewebe-spezifischen ER-Wirkungen. Hinzu kommt, dass für beide ERs Spleißvarianten mit unterschiedlicher Genexpressionsaktivität beschrieben wurden, die teilweise sogar die Transkription der klassischen (*full-length*)-ERs als dominant-negative Dimerisierungspartner inhibieren können<sup>[6]</sup>. Die Entdeckung von ER $\beta$  entfachte die Suche nach Gewebe-spezifischen Östrogen-Rezeptor-Modulatoren (SERMs, selective estrogen receptor modulators), um die positiven Wirkungen von Östrogen z. B. auf Knochengewebe und Herz-Kreislauforgane zu vermitteln, ohne unerwünschte, das Zellwachstum steigernde Effekte von Östrogen auf Brustdrüse und Uterus hervorzurufen.

Mit dem Ziel, die molekularen Grundlagen zur Entwicklung von SERMs in einem klassischen Östrogen-Zielorgan (Brustdrüse) sowie einem nicht-klassischen Zielorgan (Herzmuskel) aufzuklären, haben Förster et al.<sup>[7, 8]</sup> und Kietz et al.<sup>[9]</sup> versucht, die differenzielle Vermittlung von Östrogeneffekten über ER $\alpha$  und ER $\beta$  in diesen Organen zu entschlüsseln. Analysiert wurden die Auswirkungen der Rezeptordefizienz in ER $\alpha$   $-/-$  (ERKO) und ER $\beta$   $-/-$  (BERKO) Mäusen, sowie von Aromatase  $-/-$  (ArKO) Mäusen, die kein Östrogen aus Androgenen bilden können<sup>[10]</sup>. Die Autoren konnten einen ersten Hinweis auf differenzierende Östrogeneffekte auf das Brustepithel, spezifisch vermittelt über den ER $\beta$ , gewinnen (*Abb. 3*). Da Frauen, die gestillt haben, ein reduziertes Brustkrebsrisiko zugeschrieben wird, spekulieren Förster et al.<sup>[7]</sup>, dass die ER $\beta$  vermittelte terminale Differenzierung des Brustepithels zu dieser Risikoverminderung beitragen könnte. In einem *in vitro*-Ansatz konnten Kietz et al.<sup>[11]</sup> komplementär an der Brustkrebszelllinie T47D zeigen, dass die Überexpression von ER $\beta$  die Östrogen-vermittelte Aktivierung des Zellzyklus hemmt. Damit ist der ER $\beta$  ein geeigneter Angriffspunkt für therapeutische Brustkrebsprävention und -therapie durch ER $\beta$ -selektive SERMs.





**Abb. 3: Defekte Differenzierung von sekretorischen und Myoepithelzellen der Brustdrüse in laktierenden ER $\beta$ -/- Mäusen. Die Drüsenzellen weisen keine funktionellen Tight-junctions und Gap-junctions auf und haben rudimentäre Adherens-junctions. Die Myoepithelzellen sind rudimentär und schlecht differenziert. Das Expressionsmuster an Integrinen ist auf Drüsenzellen wie Myoepithelzellen verändert.**



Im Herzen ergab sich ein ähnliches Bild: da Frauen vor der Menopause ein deutlich geringeres Auftreten von Herz-Kreislauf-Krankheiten aufweisen als Männer, sich dieser Unterschied aber nach der Menopause nivelliert, wird auf eine kardioprotektive Rolle von Östrogenen im Herzen geschlossen. Bezüglich des Herzmuskelphänotyps sind insbesondere ER $\beta$ -/-Mäuse auffällig<sup>[8]</sup>. Die Herzen dieser Mäuse zeigen initial eine hypertrophe Kardiomyopathie, progressiv übergehend in eine dilatative Kardiomyopathie, welche jedoch überlagert wird von den Auswirkungen der arteriellen Hypertonie<sup>[12]</sup>. Über eine spezifische Aktivierung von ER $\beta$  im Herzen durch SERMs könnte damit eine Option zur Therapie der hypertrophen Kardiomyopathie bestehen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass aufgrund der durchgeführten Studien die Entwicklung von selektiven Östrogen-Rezeptor-Modulatoren viel versprechend erscheint zur Therapie von Tumoren in Brustdrüse, Uterus und Ovar, sowie zur Prävention und Therapie von Atherosklerose und bestimmten Formen der Kardiomyopathie. Eine Interaktion zwischen den beiden Östrogenrezeptoren ER $\alpha$  und ER $\beta$  wurde inzwischen gezeigt: unter Östradiol-Einfluss kann ER $\alpha$  an den Promotor von ER $\beta$  binden und die Expression des ER $\beta$  selbst erhöhen<sup>[9]</sup>. Für ein volles Verständnis der geno-

mischen Östrogenwirkung ist aber noch die Analyse der Doppel-Knock-out-Mutanten (DERKO) nötig.

### Danksagung

Die eigenen Arbeiten wurden durch ein Marie-Curie-Stipendium (HPMF-CT-2000-00799 an C.F. und QLK4-CT-2000-52111 an S. K.) der europäischen Kommission unterstützt.

### Literatur

- [1] Nilsson, S., Makela, S., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M., and Gustafsson J. A. (2001): Mechanisms of estrogen action. *Physiol. Rev.* 81: 1535–1565.
- [2] Hess, R. A., Bunick, D., and Bahr, J. (2001): Oestrogen, its receptors and function in the male reproductive tract – a review. *Mol. Cell. Endocrinol.* 178: 29–38.
- [3] Jensen, E. V. (1962): On the mechanism of estrogen action. *Perspect. Biol. Med.* 6: 47–59.
- [4] Gorski, J., Welshons, W., and Sakai, D. (1984): Remodeling the estrogen receptor model. *Mol. Cell. Endocrinol.* 36: 11–15.
- [5] Kuiper, G. G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., and Gustafsson, J. A. (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *PNAS USA* 93: 5925–5930.

[6] Ogawa, S., Inoue, S., Watanabe, T., Orimo, A., Hosoi, T., Ouchi, Y., and Muramatsu, M. (1998): Molecular cloning and characterization of human estrogen receptor betax: a potential inhibitor oestrogen action in human. *Nucleic Acids Res.* 26: 3505–3512.

[7] Förster, C., Makelä, S., Becker, D., Hultenby, K., Warner, M., and Gustafsson, J.-Å. (2002): Involvement of Estrogen receptor beta in terminal differentiation of mammary epithelium. *PNAS USA* 99: 15578–15583.

[8] Forster, C., Kietz, S., Hultenby, K., Warner, M., and Gustafsson, J. A. (2004): Characterization of the ERbeta-/-mouse heart. *PNAS USA* 101: 14234–14239.

[9] Kietz, S., Thomsen, J. S., Matthews, J., Pettersson, K., Strom, A., and Gustafsson, J. A. (2004): The Ah receptor inhibits estrogen-induced estrogen receptor beta in breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 320: 76–82.

[10] Couse, J. F., and Korach, K. S. (1999): Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr. Rev.* 20: 358–417.

[11] Strom, A., Hartman, J., Foster, J. S., Kietz, S., Wimalasena, J., and Gustafsson, J. A. (2004): Estrogen receptor beta inhibits 17beta-estradiol-stimulated proliferation of the breast cancer cell line T47D. *PNAS USA* 101: 1566–1571.

[12] Zhu, Y., Bian, Z., Lu, P., Karas, R. H., Bao, L., Cox, D., Hodgkin, J., Shaul, P. W., Thoren, P., Smithies, O., Gustafsson, J.-A., and Mendelsohn, M. E. (2002): Abnormal Vascular Function and Hypertension in Mice Deficient in Estrogen Receptor beta *Science* 295: 505–508.

### Korrespondenzadresse:

**Dr. rer. nat. Carola Förster**  
 Institut für Anatomie und Zellbiologie II  
 Universität Würzburg  
 Koellikerstraße 6  
 D-97070 Würzburg  
 Tel.: 0931-312706  
 Fax: 0931-312712  
 carola.foerster@mail.uni-wuerzburg.de  
 www.uni-wuerzburg.de/anatomie/L\_2/index.html

**Dr. med. Silke Kietz**  
 Georg-August-Universität Göttingen  
 Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin  
 Abteilung Pädiatrie I  
 Robert-Koch-Str. 40  
 D-37075 Göttingen  
 Tel.: 0551-396227  
 Fax: 0551-3912557