

Marcell Tóth
Dr. med.

Membrane Palmitoylated Protein 5 (MPP5), a novel upstream regulator of the Hippo pathway in liver cancer

Fach/Einrichtung: Pathologie
Doktorvater: Prof. Dr. Kai Breuhahn

Epithelzellen sind spezialisierte Zellen eines Organismus, die weitreichende Funktionen erfüllen. Zum Beispiel, spielen Hepatozyten eine wichtige Rolle im Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel, sezernieren Gallensäure und metabolisieren exogene und endogene Verbindungen. Um diese Funktionen auszuführen, ist die intakte apikal-basale Zellpolarität eine wesentliche Voraussetzung. Diese wird durch drei Multiprotein-Polaritätskomplexe (den apikalen Crumbs-Komplex, den lateralen Par-Komplex und den basolateralen Scribble-Komplex) ermöglicht und aufrechterhalten, welche die dynamische Zellmorphologie von epithelialen Zellen regulieren. Eine gestörte epitheliale Polarität führt jedoch zu Funktionsverlust, Hyperplasien sowie Desorganisation des Gewebes und kann schließlich zur Initiation und Progression von Tumoren beitragen. In diesem Zusammenhang spielen die Polaritätskomplexe eine wichtige Rolle bei der Verbindung extrazellulärer Signale (z. B. Zell-Zell-Kontakt und Wachstumsfaktoren) mit intrazellulären Signalwegen wie dem Hippo-Signalweg. Der Hippo-Signalweg ist ein evolutionär konservierter Tumorsuppressor-Signalweg, welcher in mehreren menschlichen Tumorentitäten fehlreguliert vorliegt. Seine transkriptionellen Aktivatoren, yes associated protein (YAP) und transcriptional co-activator with PDZ-binding motif (TAZ), werden in ca. 60% aller hepatozellulären Karzinome (HCCs) überexprimiert.

Da eine Störung der apikal-basalen Polarität ein häufiges und frühes Ereignis während der Hepatokarzinogenese ist, zielte diese Studie darauf ab, jene Polaritätsfaktoren zu identifizieren und zu charakterisieren, welche die Hepatokarzinogenese durch Interaktionen mit dem Hippo-Signalweg unterstützen. Um den Einfluss von unterschiedlichen Polaritätsproteinen auf die subzelluläre Lokalisation - und damit auf den Aktivitätsstatus - von YAP/TAZ zu analysieren, wurde ein siRNA-Screening für 26 Proteine durchgeführt, welche maßgeblich am Aufbau hepatozellulärer Polarität beteiligt sind. Es wurde festgestellt, dass der Crumbs-Komplex der dominierende regulatorische Komplex von YAP und TAZ in den untersuchten HCC-Zellen ist, da der Verlust mehrerer Crumbs-Komplexbestandteile ausreichte, um die YAP/TAZ-Kerntranslokation in einer humanen HCC-Zelllinie mit hohem Polaritätsgrad (HepG2) zu erzwingen. Insbesondere führte die Inhibierung von MPP5 zu einer nuklearen Anreicherung von YAP, wobei der Gesamtgehalt des Proteins unverändert blieb. Zusätzlich wurden die Proteinniveaus von phosphoryliertem YAP nach Inhibierung von MPP5 reduziert, was auf seine Aktivierung hinweist. Die Analyse des MPP5 mRNA- und Proteinmengen in mehreren humanen HCC-Zelllinien ergab keine Korrelation mit der subzellulären Lokalisation des Proteins. Co-Immunpräzipitationsexperimente (CoIP) mit endogenem und exogenem YAP und TAZ zeigten jedoch eine physikalische Interaktion zwischen MPP5 und YAP/TAZ. Um diese Interaktion weiter zu analysieren, wurden mutierte Isoformen von MPP5 mit fehlenden Domänen (Δ Lin27, Δ PDZ, Δ SH3 und Δ GuKc) kloniert und in HepG2-Zellen exprimiert.

Nachfolgende CoIP-Experimente mit mutierten MPP5-Isoformen zeigten keine Bindung zwischen den MPP5 Formen und YAP/TAZ, was darauf hinweist, dass jede strukturelle Manipulation von MPP5 die Protein-Protein-Interaktion stört. Die immunhistochemische Analyse von Gewebemikroarrays, welche humane HCCs und nicht-tumoröse Lebergewebe umfassen, ergab eine signifikante negative Korrelation zwischen Tumordifferenzierung, nuklearer YAP/TAZ-Färbung und membranärer MPP5-Färbung. Darüber hinaus belegten Transkriptom- und klinische Daten von HCC-Patienten, dass MPP5 im HCC-Gewebe im Vergleich zum umgebenden normalen Lebergewebe mäßig, aber signifikant überexprimiert vorliegt. Darüber hinaus korrelierte die Überexpression von MPP5 mit einem besseren Überleben von HCC Patienten.

Zusammenfassend bestätigt diese Studie die Wichtigkeit der Zellpolaritätsstörung während der Hepatokarzinogenese. Sie identifiziert den Crumbs-Komplex als zentralen Regulator der zellpolaritätsabhängigen YAP/TAZ-Regulation und beschreibt die Tumorsuppressoreigenschaften von MPP5 - einem Crumbs-Komplexprotein - und dessen Interaktion mit den Hippo-Signalweg-Effektoren in HCC-Zellen. Darüber hinaus weist die Studie auf mögliche Anwendungen von MPP5 in der Diagnostik hin. Erstens kann die MPP5-Immunfärbung nützlich sein, um zwischen normalem Lebergewebe und gut differenzierten hepatozellulären Läsionen zu unterscheiden. Zweitens könnte die Verwendung von MPP5 als prognostischer Marker bei der Auswahl der Therapie für HCC-Patienten hilfreich sein.