

Nyupptäckt östrogenreceptor

Öppnar nya behandlingsmöjligheter vid postklimakteriella symtom, osteoporos, ateroskleros, bröst- och prostatacancer

En tidigare okänd östrogenreceptor, ERβ, har nyligen klonats. Den är en ligandaktiverad transkriptionsfaktor vilken medierar effekterna av könshormonet östradiol. ERβ uttrycks i många viktiga östrogena målorgan – bl a i prostata, ovarier, blodkärl och centrala nervsystemet – och har troligen stor betydelse för östrogenhormoners effekter i kroppen. Det är av stort intresse att studera vilken roll denna nya receptor har, t ex vid osteoporos, ateroskleros, bröst- och prostatacancer. Den kan komma att erbjuda intressanta möjligheter för behandling av postklimakteriella symtom, utan biverkningar i form av bl a blödningar och endometrieccancer.

Östrogener är en grupp steroidhormoner som tidigare kopplats framför allt till fortplantning hos kvinnor, men även män producerar dessa hormoner. Östrogener bildas i ovarier respektive testiklar men också i perifera organ via enzymet aromatas, vilket omvandlar androgener till östrogener. De tre naturligt förekommande aktiva formerna av östrogen är 17β-östradiol (mest aktivt), östriol och östron.

Östrogen har visat sig ha viktiga funktioner hos båda könen, bl a i benstommen, hjärt-kärlsystemet och det centrala nervsystemet [1].

Östrogener inom medicinen

Nivåerna av östrogen sjunker dramatiskt vid klimakteriet. Detta anses vara orsaken till den ökade risken för benskörhet och åderförkalkning hos postmenopausala kvinnor. Förskrivning av östrogen till äldre kvinnor har därför kommit i allmänt bruk både som behandling av klimakteriesymtom och i förebyggande syfte mot osteoporos och hjärt-kärlsjukdomar [2-4]. Det har även visats att östrogenbehandling kan minska risken för Alzheimers sjukdom.

Trots många positiva effekter har östrogenmedicinering blivit omdebatterad på grund av både allvarliga biverkningar, som ökad risk för vissa cancerformer, och lindriga men vanligare biverkningar som viktökning, blödningar, ömhet i bröstet och ökad risk för gallsten.

Hos kvinnor som passerat klimakteriet fortsätter östrogen att bildas i begränsad omfattning perifert, dock i kvantiteter tillräckliga för uppkomst och tillväxt av hormonberoende bröstcancer. Dessa tumörers hormonberoende har utnyttjats terapeutiskt i form av behandling med östrogenantagonister, t ex tamoxifen [2].

Man har dock kunnat se en ökad risk för endometrieccancer hos dessa kvinnor. Detta har satts i samband med den paradoxala effekten av tamoxifen i livmodern, där detta läkemedel verkar som östrogenagonist, ej som östrogenantagonist [3].

Östrogeneffekter även hos mannen

Även hos mannen har östrogener stor klinisk betydelse, framför allt vid benign prostataförstoring och prostatacancer. Benign prostataförstoring är mycket allmänt förekommande hos äldre män, men trots detta har orsakerna till detta tillstånd inte kunnat fastställas. Många indicier pekar dock på att såväl androgener som östrogener är involverade [5].

Benign prostataförstoring debuterar i åldrar över 50 år, vilket eventuellt sammanfaller med en förskjutning av balansen östrogen-androgen mot mer östrogen.

Såväl antiandrogener som aromatasinhibitorer har prövats vid behandling av prostataförstoring, men har tills vidare övergivits till förmån för andra behandlingsmetoder såsom 5-alfareduktasinhistorer (finasterid) [6]. Denna substans verkar genom att förhindra omvandling av testosteron till den biologiskt mer aktiva substansen dihydrotestosteron.

Tumörer i prostata är initialt oftast beroende av androgener för tillväxt, och orkidektomi och anti-androgener har använts vid behandling av prostatacancer.

Författare

EVA ENMARK

dr med vet, forskare

JAN-ÅKE GUSTAFSSON

professor i medicinsk näringslära, VD; båda vid Centrum för bioteknik, institutionen för biovetenskap, Novum, Karolinska institutet, Stockholm.

Även östrogener har visat sig vara effektiva.

Denna behandlingsstrategi för dock med sig en ökad risk för kardiovaskulära komplikationer [7].

Både för- och nackdelar

Sammanfattningsvis kan sägas att östrogener och anti-östrogener har stor potential för behandling eller förebyggande av en rad sjukdomar, bl a bröstcancer, prostatacancer, osteoporos och ateroskleros.

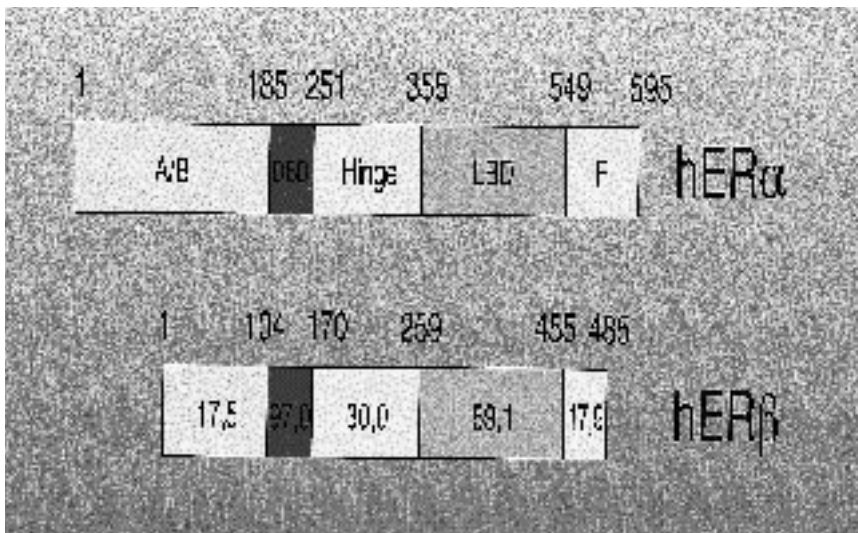
De positiva effekterna förtas dock delvis av de ofta svårförståeliga sideoeffekterna i olika vävnader.

Bättre kunskap om östrogenernas verkningsmekanismer i enskilda vävnader skulle både leda till större förståelse för dessa fenomen och underlätta framtagandet av nya, mer specifika östrogenagonister och -antagonister med bättre terapeutisk effekt.

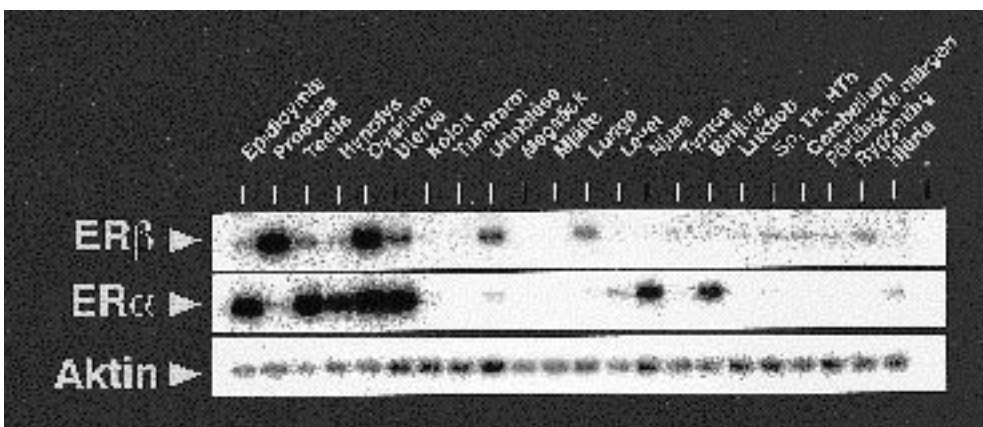
Hormonreceptorfamiljen

Steroidhormoner (androgener, östrogener, progesteron, glukokortikoider och mineralokortikoider) är små, hydrofoba molekyler bildade från kolesterol. Steroidhormonerna utövar sina effekter via specifika intracellulära receptorer, vilka verkar som hormonberoende transkriptionsfaktorer. Dessa reglerar uttrycket av olika målgener genom bindning till specifika DNA-sekvenser, kallade responselement, i promotorerna till respektive målgene.

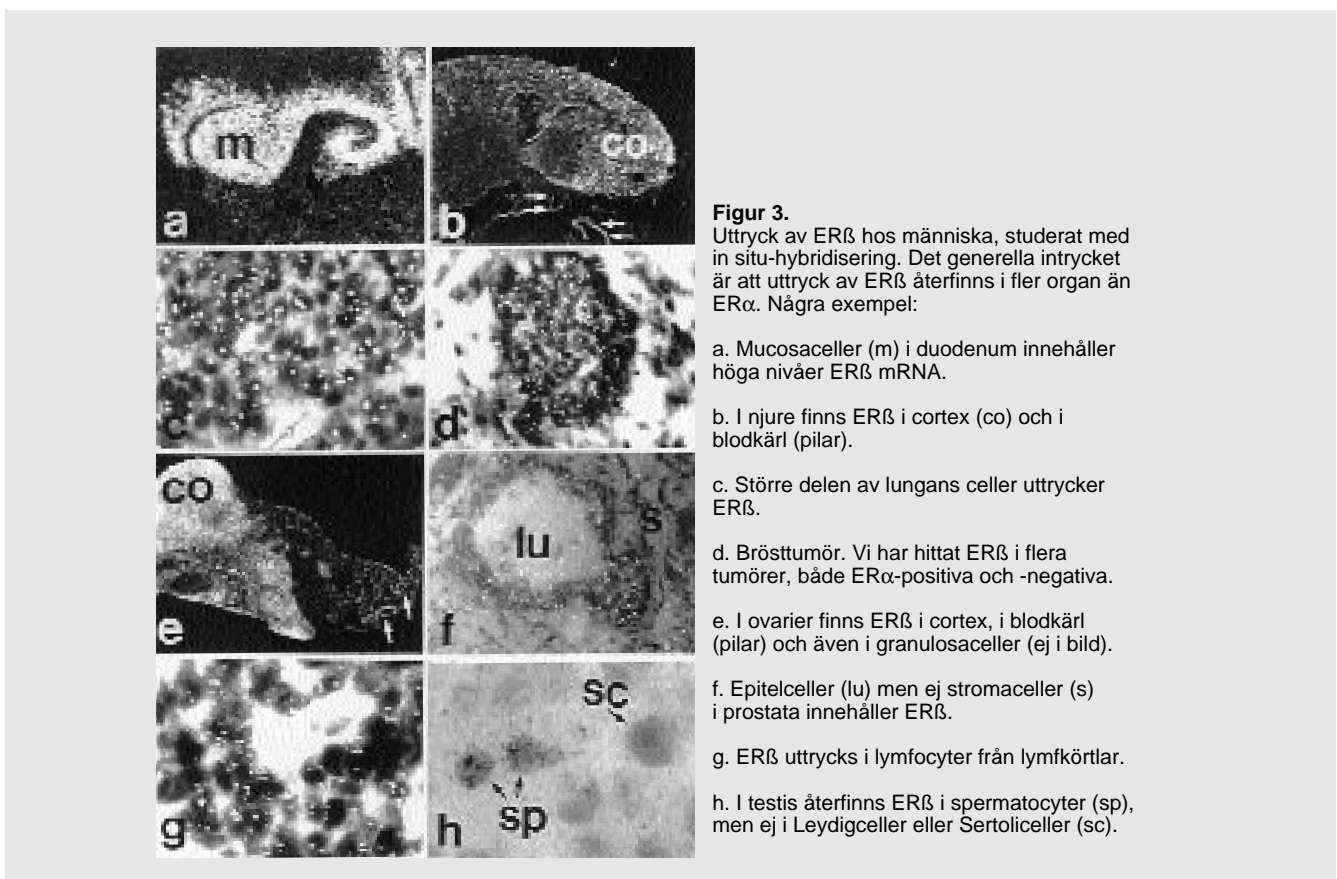
Denna proteinfamilj inkluderar förutom receptorer för steroidhormoner även receptorer för sköldkörtelhormon, vitaminerna A och D samt ett stort antal »föräldralösa» receptorer, »orphans», vilka tillhör samma proteinfamilj, men



Figur 1. Jämförelse mellan människans ER α och ER β . Siffrorna ovanför respektive receptor står för aminosyranummer, medan siffrorna inom respektive box står för procentlikhet på aminosyranivå. I den humana ER α -receptorn kan fem domäner (markerade med olika färg och med beteckningarna A/B, DBD, Hinge, LBD och F) definieras. Dessa är delvis konserverade hos ER β -receptorn. Den högsta homologin finns i den DNA-bindande delen (DBD) och i den del som binder hormonet (LBD).

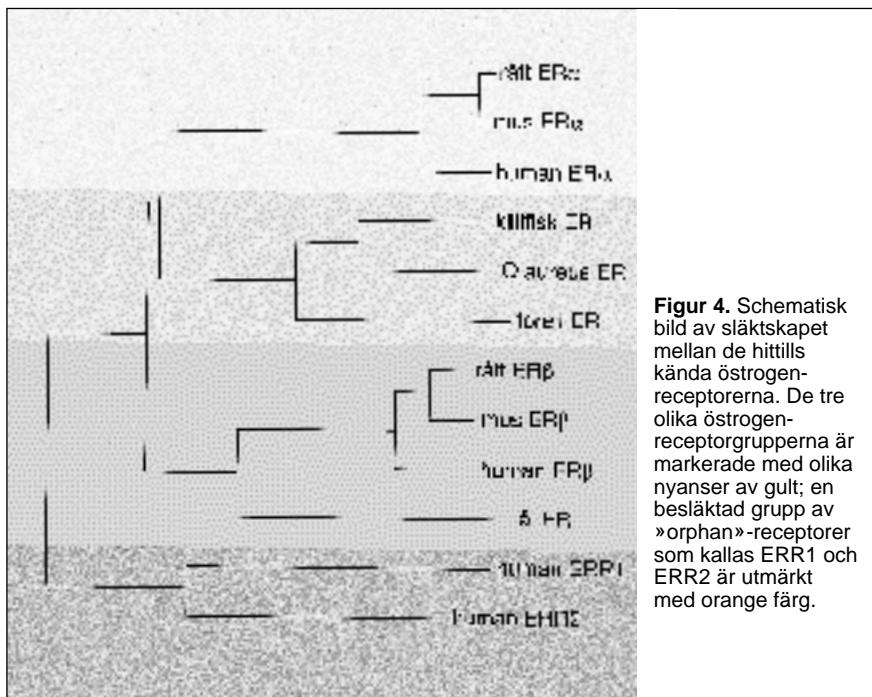


Figur 2. Sammanfattning av uttrycket av ER α och ER β i olika vävnader hos råttor, studerat med RT-PCR-teknik. Bilden visar mängden mRNA för receptorn i olika vävnader. Ju svartare bandet är, desto mer mRNA. Som jämförelse visas uttrycket av aktin, som uttrycks i alla vävnader.



Figur 3. Uttryck av ER β hos människa, studerat med in situ-hybridisering. Det generella intrycket är att uttryck av ER β återfinns i fler organ än ER α . Några exempel:

- a. Mucosaceller (m) i duodenum innehåller höga nivåer ER β mRNA.
- b. I njure finns ER β i cortex (co) och i blodkärl (pilar).
- c. Större delen av lungans celler uttrycker ER β .
- d. Brösttumör. Vi har hittat ER β i flera tumörer, både ER α -positiva och -negativa.
- e. I ovarier finns ER β i cortex, i blodkärl (pilar) och även i granulosa-celler (ej i bild).
- f. Epitelceller (lu) men ej stromaceller (s) i prostata innehåller ER β .
- g. ER β uttrycks i lymfocyter från lymfkörtlar.
- h. I testis återfinns ER β i spermatozoer (sp), men ej i Leydigceller eller Sertoliceller (sc).



Figur 4. Schematisk bild av släktskapet mellan de hittills kända östrogenreceptorerna. De tre olika östrogenreceptorgrupperna är markerade med olika nyanser av gult; en besläktad grupp av »orphan»-receptorer som kallas ERR1 och ERR2 är utmärkt med orange färg.

vilkas ligand och fysiologiska roll ännu ej definierats [8].

Östrogenreceptorn

Östrogenreceptorn (ER) befinner sig normalt i cellkärnan, även utan att vara aktiverad. Östrogenet tränger in i cellen, möjligen med hjälp av ett ännu okänt transportprotein, igenkänner och binder till receptorn. Denna bindning har hög affinitet, K_d (den koncentration som krävs för att hälften av receptorerna skall ha bundit hormonet) ca 0,5 nM. Hormonbindningen aktiverar receptorproteinet och underlättar bildning av aktiva receptordimerer (dubbelmolekyler). Dimeren binder till ett östrogenresponselement (ERE) i promotorn hos målgenen och aktiverar transkriptionen av denna [9]. ER interagerar också med basala transkriptionsfaktorer, t ex det TATA-bindande proteinet (TBP) och dess associerade faktorer (TAF). Ett antal »receptorinteragerande faktorer» (TIF) har också isolerats. Deras funktion är ännu oklar, men en hypotes är att de deltar i interaktionen mellan receptorn och de basala transkriptionsfaktorerna.

Tamoxifen, en välkänd östrogenantagonist som används vid behandling av bröstcancer, binder till receptorn och inducerar dimerisering och DNA-bindning på samma sätt som de »naturliga» liganderna, men är oftast oförmögen att initiera målgenstranskription. Det finns dock exempel på målgener, t ex kinonreduktas, med s k »omvänd farmakologi» vilka aktiveras av tamoxifen men hämmas av östradiol [10]. I vissa vävnader – bl a ben, uterus och hjärt-kärlsystemet – fungerar tamoxifen som en

partiell agonist, och det tycks som om vävnadsspecifika faktorer också deltar i regleringen av ERs målgener.

Märkliga fynd

ER påvisades för första gången under 1960-talet av de amerikanska forskarna Elwood Jensen och Jack Gorski. Receptorn klonades 1985 [11]. För ett par år sedan lyckades en forskargrupp framställa s k knockoutmöss hos vilka ER eliminerats [12]. Som förväntat är dessa djur infertila, med allvarliga defekter i de reproduktiva organen hos både hon- och handjur. Honmössen har hypoplastiska uteri och ovarier som saknar corpus luteum. Hanmössen har förkrympta testiklar, dålig spermatogenes och nedsatt spermimotoilitet.

Flera av de förväntade effekterna, t ex i benstommen och hjärt-kärlsystemet, utblev dock, och förvånansvärt nog kunde denna forskargrupp påvisa specifik bindning av östrogen i flera organ, vilket ledde till spekulationer om att ER-genen ej blivit fullständigt utslagen hos mössen. En annan förklaring till de märkliga fynden kunde nyligen ges i samband med att vår grupp lyckades identifiera och kлона en ny östrogenreceptor [13]. Denna upptäckt kom helt oväntat, eftersom man sedan länge dogmatiskt hävdade att endast en östrogenreceptor existerar.

Oväntad upptäckt: en ny östrogenreceptor

Den nya östrogenreceptorn kallas ERβ, till skillnad från den tidigare kända receptorn, följaktligen benämnd ERα. Vi har nu klonat ERβ från såväl råtta och mus som människa. ERβ visar

hög grad av homologi med ERα, framför allt i den DNA-bindande domänen (95 procent) och i den ligandbindande domänen (59 procent) (Figur 1). De olika ERβ-formerna klonade från råtta, mus och människa uppvisar mycket hög grad av likhet, mer än 90 procent, på aminosyranivå, vilket är i överensstämmelse med vad som iakttagits avseende speciesskillnader för andra steroidreceptorer.

Den humana genen för ERβ har lokaliserats till kromosom 14, medan ERα återfinns på kromosom 6. Det är därför uteslutet att de två formerna av ER utgör s k »splicing»-varianter från samma budbärar-RNA.

Ligandbindningsförsök visar att ERβ binder östradiol med hög specificitet och affinitet ($K_d = 0,6$ nM). ERβ kan, i närvaro av östradiol, stimulera transkription av en syntetisk målgen för ER. Många östrogena substanser och antiöstrogenener visar liknande bindning till ERα och ERβ [14]. Molekylär modellering av de hydrofoba ligandbindningsfickorna i ERα och ERβ, baserad på de kända koordinaterna för den tredimensionella strukturen för den ligandbindande domänen hos sköldkörtelhormonreceptorn, antyder att det är möjligt att utveckla ERα- och ERβ-specifika ligander.

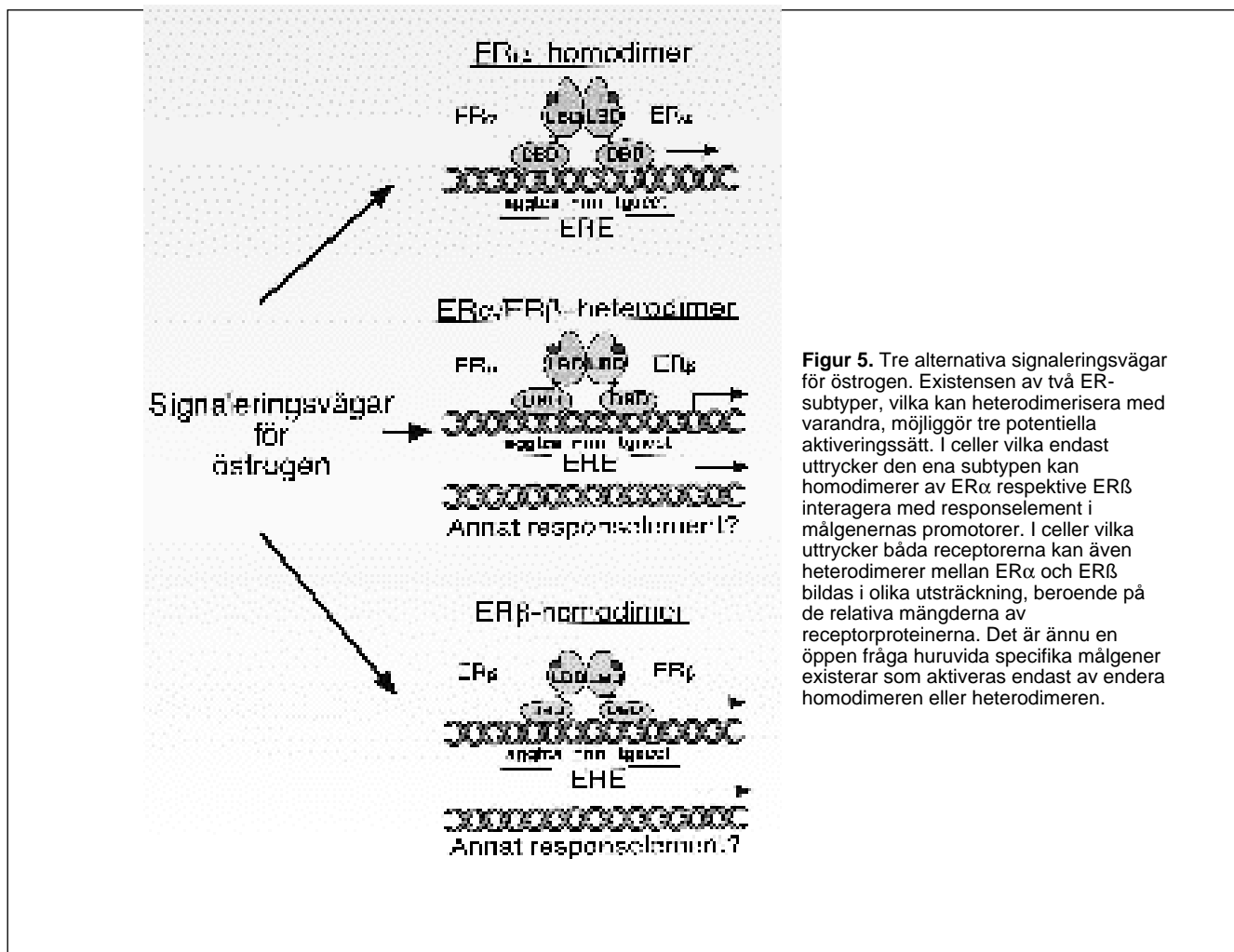
Vi har med hjälp av in situ-hybridisering och RT(reverse transcriptase)-polymeraskedjereaktionsteknik (RT-PCR) studerat i vilka organ hos råtta ERβ uttrycks. Vi har därvid funnit att ERβ återfinns i störst kvantitet i prostata och ovarier. I prostata uttrycks ERβ framför allt i epitelceller, i ovarier företrädesvis i granulosa celler i primära och sekundära folliklar. Vi har funnit att gonadotropiner nedreglerar ERβ mRNA i granulosa cellerna [15].

I kroppens övriga vävnader finns klara skillnader i uttryck för ERα och ERβ. ERα återfinns i höga till medelhöga nivåer i uterus, testiklar, hypofys, ovarier, njurar och binjurar. ERβ finns förutom i prostata och ovarier också i lunga, njure, urinblåsa, hjärna, ben, blodkärl, uterus och testiklar (Figur 2).

Hos människa har vi även funnit höga nivåer av ERβ bl a i mag-tarmkanalens epitel och i flera organ tillhörande immunförsvaret [16] (Figur 3).

I många viktiga östrogena målorgan tycks ERβ vara den dominerande formen av östrogenreceptor, och den uttrycks i vävnader där östrogenener spelar en viktig roll. Vi postulerar att ERβ har stor betydelse för östrogenhormoners effekter i kroppen.

ERβ utgör således en ny subtyp av östrogenreceptor, tillsammans med en ER isolerad från ål. En tredje grupp av ER utgörs av övriga östrogenreceptorer



Figur 5. Tre alternativa signaleringsvägar för östrogen. Existensen av två ER-subtyper, vilka kan heterodimerisera med varandra, möjliggör tre potentiella aktiveringssätt. I celler vilka endast uttrycker den ena subtypen kan homodimerer av ER α respektive ER β interagera med responselement i målgenernas promotorer. I celler vilka uttrycker båda receptorerna kan även heterodimerer mellan ER α och ER β bildas i olika utsträckning, beroende på de relativa mängderna av receptorproteinerna. Det är ännu en öppen fråga huruvida specifika målgener existerar som aktiveras endast av endera homodimeren eller heterodimeren.

isolerade från fisk (forell, ciklid och tandkarp) (Figur 4).

Trots att den biologiska signifikansen av två olika östrogenreceptorer ännu är oklar, har upptäckten av en ny östrogenreceptor väckt stort intresse bland endokrinologer. Utvecklingen av ER β -specifika östrogenagonister respektive -antagonister kan bli komma att erbjuda intressanta möjligheter för behandling av postklimakteriella symptom utan biverkningar som blödningar och endometrieancer.

Miljööstrogen ett nytt fenomen

Ett på senare tid omdebatterat fenomen är de så kallade miljööstrogenerna, »environmental estrogens», miljögifter med östrogenlika effekter [17]. Intressant nog har vi funnit att ER β har högre affinitet för flera av dessa substanser än ER α . Med tanke på att ER β finns i höga nivåer i spermier hos människa kan här kanske finnas ett samband med det minskande spermieantalet hos västerländska män som en del epidemiologer varnat för [18].

Vi har också visat att ER β binder flera så kallade fitoöstrogen, ämnen från växtriket med östrogenlika effekter, med

klart högre affinitet än ER α . Det har hävdats att östrogen kan skydda mot tjocktarmscancer; detsamma har anförts för vissa födoämnen, t ex sojaprotein, en produkt rik på växtöstrogener [19]. Det är fullt möjligt att ER β , som återfinns i tarmens epitel, exponeras för dessa ämnen via födan, och således kan mediera åtminstone en del av dessa skyddseffekter.

Framtidsperspektiv

Vår upptäckt av ER β visar att mekanismerna bakom östrogenets effekt är mer komplicerade än vad som tidigare antagits (Figur 5). Pågående studier i vårt och andra laboratorier syftar till att nå kunskap om den biologiska funktionen hos ER β . En del särskilt intressanta aspekter kan här framhållas.

ER β uttrycks i flera delar av hjärnan där ER α inte återfinns, och troligen är ER β den dominerande formen av östrogenreceptor i det centrala nervsystemet [1 Merchantaler, pers medd, 1997]. Mycket tyder på att brist på östrogen kan vara av betydelse för utvecklingen av senilitet och Alzheimers sjukdom [20].

Det är också av intresse att studera vilken roll ER α och ER β har vid andra

sjukdomstillstånd, bl a bröstcancer, prostatacancer, osteoporos och ateroskleros. Flera läkemedel mot bröstcancer och för förebyggande av osteoporos reglerar östrogenreceptorernas funktion.

För många av dessa läkemedel har dock oönskade bieffekter observerats, t ex utveckling av hormonresistenta tumörer och risk för uppkomst av cancer i andra organ än det behandlade.

Framtagande av specifika ER α - och ER β -ligander skulle göra det möjligt att utveckla nya och mer specifika behandlingsmetoder för många viktiga sjukdomstillstånd, utan många av de tidigare så handikappande bieffekterna.

Referenser

1. Korach KS, Migiaccio S, Davis VL. Estrogens. In: Munson PL, ed. Principles of pharmacology. New York: Chapman & Hall, 1996: kap 46: 809-25.
2. Hulka BS, Liu ET, Linger RA. Steroid hormones and risk of breast cancer. Cancer 1994; 74: 1111-24.
3. Graininger DJ, Metcalfe JC. Tamoxifene: teaching an old drug new tricks? Nat Med 1996; 2: 381-5.
4. Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in post-

menopausal women. *Ann Intern Med* 1992; 117: 1016-37.

5. Habenicht UF, Tunn UW, Senge T, Schröder FH, Schweikert HU, Bartsch G et al. Management of benign prostatic hyperplasia with particular emphasis on aromatase inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 44: 557-63.
6. Hansen B. Pharmacological treatment of benign prostatic hyperplasia, current options and future perspectives. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1996; 180: 1-55.
7. Cox RL, Crawford ED. Estrogens in the treatment of prostate cancer. *J Urol* 1995; 154: 1991-8.
8. Enmark E, Gustafsson JÅ. Funktion sökes för »föräldralös» receptor. *Läkartidningen* 1996; 93: 3585-9.
9. Beato M, Herrlich P, Schutz G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. *Cell* 1995; 83: 851-7.
10. Montano MM, Katzenellenbogen BS. The quinone reductase gene: a unique estrogen receptor-regulated gene that is activated by antiestrogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 2581-6.
11. Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornet JM, Argos P et al. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erbA. *Nature* 1986; 320: 134-9.
12. Korach KS. Insights from a study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science* 1994; 266: 1524-7.
13. Kuiper GJM, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JÅ. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 93: 5925-30.
14. Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Häggblad J, Nilsson S et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors α and β . *Endocrinology* 1997; 138: 863-70.
15. Byers M, Kuiper GGJM, Gustafsson JÅ, Park-Sarge OK. Estrogen receptor β mRNA expression in rat ovary: downregulation by gonadotropins. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 172-82.
16. Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, Fried G, Lagerkrantz S, Lagerkrantz J et al. Human estrogen receptor β - gene structure, chromosomal localisation and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metabolism* 1997; 82: 4258-65.
17. Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect* 1995; 103: 582-7.
18. Sharpe RM, Skakkebaek ME. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993; 341: 1392-5.
19. Goldin BR, Gorbach SL, Hockerstedt KA, Watanabe S, Hamalainen EK, Markkanen MH et al. Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J Nutr* 1995; 125: 757S-70S.
20. Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B et al. Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 1996; 348: 429-32.

Summary

Another oestrogen receptor discovered; new treatment options for postmenopausal symptoms, osteoporosis, atherosclerosis, and breast and prostate cancer may be possible

Eva Enmark, Jan-Åke Gustafsson

Läkartidningen 1998; 95: 1945-9.

A previously unknown oestrogen receptor, ER β , has recently been isolated. ER β is expressed in many important target tissues for oestrogen (ie, prostate, ovary, testis, and the cardiovascular and central nervous systems), and probably mediates many of the effects of oestrogens in the human body. Moreover, ER β represents an interesting target for drug development, and ligands specific for the respective receptor subtype may offer interesting possibilities for the treatment of postmenopausal symptoms, and breast and prostate cancer, without many of the hitherto adverse side effects, such as the increased risk of endometrial cancer associated with hormone replacement therapy.

Correspondence: Professor Jan-Åke Gustafsson, Dept of Medical Nutrition, Novum, S-141 86 Huddinge.

TILLVÄXT



FAKTORER

Särtryck av en serie i Läkartidningen 1995

Alla kroppens celler reagerar på olika signalämnen i omgivningen, ämnen som styr deras fundamentala livsprocesser.

Dessa ämnen kallas kollektivt tillväxtfaktorer. En serie i Läkartidningen 1995 om dem speglar tendenser i dagens medicinska forskning och pekar på några tillämpningsområden.

Området är i början av en snabb utveckling och många produkter är under utprovning för klinisk användning.

Häftet omfattar 12 artiklar på sammanlagt 56 sidor + färgomslag. Priset är 90 kronor. Vid köp av 11-50 ex 82 kronor, vid högre upplagor 77 kronor/exemplar.

Beställer härmed

..... ex Tillväxtfaktorer

.....
Namn

.....
Adress

.....
Postnummer/Postadress

.....
Insändes till Läkartidningen,
Box 5603, 114 86 Stockholm

Märk gärna kuvertet
»Tillväxtfaktorer»

Telefax: 08-20 76 19