

Abstract

Self-renewing tissues like the mammalian epidermis and its appendages go through cycles of proliferation, terminal differentiation and apoptosis. To maintain tissue integrity and stem cell (SC) function, these diverse processes need to sustain constant environmental assaults, including UV radiation. In the mammalian epidermis, multiple SC pools have been identified, including SCs in the basal layer of the interfollicular epidermis and the hair follicle (HF) bulge. Bulge SCs are the primary cellular source for HF renewal. Previous work has shown that bulge SCs are equipped with specific surveillance mechanisms protecting them against accumulation of DNA damage and unwanted cell loss to maintain tissue integrity and HF regeneration throughout lifetime. Importantly, HF bulge SC protection was shown to correlate with high levels of the anti-apoptotic protein Bcl-2 in bulge SCs. Here we show that suprabasal bulge SCs (CD34⁺/Itgα6^{Low}), located between the old and the new HF, are particularly dependent on Bcl-2-mediated protection against apoptosis, even under physiologic conditions. Further, our results disclose heterogeneity in the control of bulge SC survival which is required to maintain functional HF regeneration. Our data indicate that loss of cell-matrix adhesion in suprabasal bulge SCs correlates with an increased pro-apoptotic signature, rendering suprabasal bulge SCs more prone to detachment-induced apoptosis and therefore, forcing dependency on Bcl-2-mediated protection. Bcl-2 is also known as a potent proto-oncogene, strongly associated with different types of cancer. Using our previously established mutant Lef1 mouse model for oncogenic stress we could show that Bcl-2 expression is reduced in bulge SCs but highly expressed in the tumours originating from the SCs. To investigate the relevance of Bcl-2 expression for SC-driven tumour formation, Bcl-2 was overexpressed in mutant Lef1 mice resulting in an earlier tumour initiation and a higher tumour frequency. We concluded that survival and subsequent selection of Bcl-2 expressing SCs constitutes an important mechanism underlying the process of tumour initiation. In summary, our data reveal a dual role of Bcl-2 for epidermal regeneration and cancer. During HF regeneration, Bcl-2 is selectively protecting suprabasal bulge SCs from apoptosis while upon oncogenic stress, Bcl-2 is protecting potential tumour-inducing SCs from apoptosis and thereby promoting tumour formation.

Zusammenfassung

Das Hautepithel von Säugetieren ist ein sich kontinuierlich regenerierendes Gewebe und zeichnet sich durch Phasen der Proliferation, terminalen Differenzierung und Apoptose aus. Die Aufrechterhaltung der strukturellen und funktionalen Integrität des Hautepithels, sowie der Erhalt der Gewebe-Stammzellen ist von großer Bedeutung und muss auch unter kontinuierlicher Belastung durch schädliche Umwelteinflüsse, wie z.B. UV-Strahlung gewährleistet sein. Bislang konnten mehrere epidermale Stammzellpopulationen identifiziert werden, wobei Stammzellen der Haarfollikel-Wulst (HFSZ) eine besondere Bedeutung zukommt. Sie sind nicht nur maßgeblich für die Regeneration des HFs verantwortlich, sondern werden auch nach Hautverletzungen aktiviert und tragen zur Gewebeerneuerung und Reparatur bei. Frühere Arbeiten

haben gezeigt, dass HFSZ mit besonderen Schutzmechanismen ausgestattet sind, die sie gegen eine Akkumulation von DNA Schäden und ihren Verlust schützen, um so auch langfristig die Gewebestruktur und die epidermalen Funktionen aufrecht zu erhalten. Es ist bekannt, dass der besondere Schutz der HFSZ eng mit einem hohen Level des anti-apoptotischen Proteins Bcl-2 korreliert, jedoch ist die Rolle von Bcl-2 im Prozess der zyklischen Haarregeneration, Hauthomöostase und in Prozessen der Krankheitsentstehung nicht ausreichend untersucht.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, dass suprabasale HFSZ (CD34⁺/Itg α 6^{Low}), die sich zwischen dem alten und neuen Haarfollikel befinden, besonders vor Apoptose durch Bcl-2 geschützt werden. Dieser Mechanismus trägt zum Überleben der SZ Subpopulation bei und gewährleistet so die HF-Erneuerung. Die Ergebnisse belegen eine bisher unbekannte Heterogenität in der Funktion und der molekularen Regulation des Überlebens einzelner Subpopulationen von HFSZ. Der besondere Bcl-2 vermittelte Schutz von suprabasalen HFSZ erwies sich als essentiell für die Haarfollikel Regeneration. Als Ursache für einen Bcl-2-vermittelten Schutz suprabasaler HFSZ deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass der Verlust von Zell-Matrix Adhäsion zur Einleitung von pro-apoptotischen Prozessen (Anoikis) führt, die nur durch eine erhöhte Bcl-2 Expression verhindert werden können.

Bcl-2 ist ein Protoonkogen, wird in unterschiedlichsten Arten von Tumoren stark exprimiert und kann so den Tod von Tumorzellen verhindern. Frühere Untersuchungen in unserem etablierten K15 Δ NLef1 Mausmodell für SZ-getriebene Hauttumorgenese ergaben erstaunlicherweise eine reduzierte Expression von Bcl-2 in den HFSZ und erhöhte SZ-Apoptose. Im Gegensatz dazu war Bcl-2 in den Talgdrüsentumoren, die von den HFSZ in K15 Δ NLef1 Mäusen gebildet werden, jedoch stark exprimiert.

Um die Bedeutung der SZ-spezifischen Expression von Bcl-2 für die Tumor Entstehung zu untersuchen, wurde Bcl-2 in K15 Δ NLef1 Mäusen über-exprimiert. Als Folgen dieser Überexpression konnte eine frühere Tumorentstehung sowie eine höhere Anzahl an Tumoren beobachtet werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das Überleben von Bcl-2-exprimierenden SZ und die darauffolgende Selektion dieser Zellen maßgeblich am Prozess der Tumorentstehung beteiligt sind. Zusammenfassend zeigen unsere Daten, dass die identifizierte SZ-spezifische Expression von Bcl-2 wichtige und Kontext-abhängige Rollen während der Hauthomöostase und der Tumorentstehung spielt. Zum einen ist der Bcl-2-vermittelte Schutz essentiell für den Erhalt suprabasaler SZ, HF-Regeneration und Gewebemöostase. Zum anderen und im Zusammenhang mit onkogenem Stress führt Bcl-2 in SZ zum Schutz von potenziellen Tumor-induzierenden Zellen und trägt somit zur beschleunigten Tumorentstehung bei.