

Persönliche PDF-Datei für

Mit den besten Grüßen vom Georg Thieme Verlag

www.thieme.de

Dieser elektronische Sonderdruck ist nur für die Nutzung zu nicht-kommerziellen, persönlichen Zwecken bestimmt (z. B. im Rahmen des fachlichen Austauschs mit einzelnen Kollegen und zur Verwendung auf der privaten Homepage des Autors). Diese PDF-Datei ist nicht für die Einstellung in Repositorien vorgesehen, dies gilt auch für soziale und wissenschaftliche Netzwerke und Plattformen.

Verlag und Copyright:

Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstraße 14
70469 Stuttgart
ISSN

Nachdruck nur
mit Genehmigung
des Verlags



Onkogenes Schlüsselsignal RANTES/CCL5 – „Cytokine Cross Talk“ des Tumors und „Silent Inflammation“ des Kieferknochens

Oncogenetic Key Signal RANTES/CCL5 – „Cytokine Cross Talk“ in Tumors and Silent Inflammation of Jawbone

Autoren

Johann Lechner¹, Volker von Baehr²

Institute

- 1 Praxisklinik Ganzheitliche ZahnMedizin, München
- 2 Abteilung für Immunologie und Allergologie im Institut für Medizinische Diagnostik (IMD), Berlin. www.imd-berlin.de

Schlüsselwörter

Chemokine RANTES/CCL5, Tumor-Mikroumgebung, Osteolysen des Kieferknochens, Brustkrebs, Metastasen, Multiplex-Analyse, Signalweg-Überexpression, Cytokine Cross-Talk

Key words

chemokine RANTES/CCL5, osteonecrosis in jawbone, tumor microenvironment, bead based Luminex[®] analysis, hyperactivated signaling pathways, cytokine cross-talk

Bibliografie

DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0043-101090>
 Deutsche Zeitschrift für Onkologie 2017; 49: 20–27
 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
 ISSN 1617-5891

Korrespondenzadresse

Dr. (PhD-UCN) Dr. med. dent. Johann Lechner
 Grünwalder Straße 10A
 81547 München
drlechner@aol.com
www.dr-lechner.de

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund Trotz erheblicher therapeutischer Fortschritte sind die meisten malignen Erkrankungen unheilbar geblieben. Gleichzeitig nimmt die Bedeutung der Mikroumgebung, die die Tumorzellen mit „Silent Inflammation“ umgibt, zu. Zielsetzung: Um den Verdacht auf tumorrelevante inflammatorischen Zytokin-Quellen in fettig-degenerativ veränderten Osteolysen/Osteonekrosen des Kieferknochens (FDOK) zu überprüfen, untersuchen wir diese auffällig veränderten Areale auf Zytokin-Muster.

Material und Methoden Bei insgesamt 38 Tumorpatienten untersuchen wir Gewebeproben aus FDOK auf ihren Gehalt an Zytokinen mittels bead-basierter Luminex[®]-Analyse.

Ergebnisse Auffallend ist der isoliert hohe Gehalt an Chemokine RANTES/CCL5 (R/C) in allen FDOK-Gewebeproben. Ein Fall zeichnet sich durch hohe R/C-Spiegel in der FDOK-Probe und gleichzeitigen Metastasen eines Adenokarzinoms der Brust (MaCa) aus. Die R/C Expression in den 38 FDOK-Proben der Tumorpatienten liegt im Mittel beim 35-fachen gegenüber gesundem Kieferknochen.

Diskussion R/C greift auf mehreren Stufen in Immunreaktionen ein und wird in der wissenschaftlichen Literatur bei vielen Tumoren und insbesondere bei MaCa und dessen Metastasierung als pathogenetische Schlüsselstelle angesehen. R/C ist damit an onkogenen Entwicklungen beteiligt.

Schlussfolgerung Die Autoren schließen aus den Daten der FDOK-Analyse, dass diese Areale hyperaktivierte Signaltransduktionskaskaden des Chemokins R/C exprimieren, die pathogenetische Autoimmunprozesse bei vielen Tumoren und insbesondere beim MaCa und dessen Metastasierung induzieren können. Verbindet man die in der Literatur dargestellte R/C- und CCR5-Signalinduktion bei Tumoren und die von uns erhobenen Daten, kann vorgeschlagen werden, FDOK in ein integratives Therapiekonzept bei Tumoren und möglicherweise auch bei MaCa einzubeziehen.

ABSTRACT

Background Despite significant therapeutic advances most malignancies, as well as adenocarcinomas of the breast, remained incurable. At the same time, the importance of the microenvironment surrounding the tumor cells with “silent inflammation” increases.

Objective To check the suspected tumor-relevant inflammatory cytokine sources in fatty-degenerative osteonecrotic jawbone (FDOJ), we analyze these conspicuously altered jawbone areas to assess the expression and quantification of cytokine expression.

Material and Method In 38 tumor patients we determine the levels of cytokines by bead-based Luminex[®] analysis in samples of FDOJ.

Results Striking is the high content of chemokine RANTES/CCL5 (R/C) in all 38 tissue samples. A single case is characterized by high R/C levels in FDOJ sample and simultaneously by metastasizing cells inside the FDOJ sample. The R/C expression in all 38 FDOJ samples is on average at 35 fold higher compared to healthy jawbone.

Discussion R/C interacts on several levels in immune responses and is considered in scientific literature as pathogenetic key point in tumor growth. The study supports a potential mechanism where FDOJ is a mediating link specifically in breast cancer (MaCa) and its metastasis. R/C is thus involved intensively in oncogenic propulsion progress developments.

Conclusion The authors conclude from the data of FDOJ analysis that these areas express hyperactivated signal transduction of the chemokine R/C, induce pathogenetic autoimmune processes in tumors, MaCa and its metastasis and serve as a possible cause. Combining the R/C signal induction of tumors and the information we collect illustrated, it may be suggested to involve FDOJ in an integrative therapy concept for tumor therapy.

Verwendete Abkürzungen

CTL	zytotoxische T-Lymphozyten
ECM	Extrazelluläre Matrix
FDOK	fettig-degenerative Osteolysen/Osteonekrosen des Kieferknochen
MaCa	Mammakarzinom
MDSC	myeloisch abgeleitete Suppressorzellen
MMPS	Matrix-Metalloproteinasen
MSCs	mesenchymale Stammzellen
R/C	RANTES/CCL5
TAMs	tumorassoziierte Makrophagen
TMU	Tumor-Mikroumgebung
T-reg	T-regulatorische Zellen

Hintergrund und Einführung

Mitteilungen der WHO in World Cancer Reports 2014 [51] weisen darauf hin, dass in den Industrieländern jeder zweite Mensch Krebs bekommt. Trotz erheblicher therapeutischer Fortschritte in der Behandlung von Krebs sind die meisten malignen Erkrankungen unheilbar geblieben. Dies betrifft auch die Mehrzahl der Adenokarzinome der weiblichen Brust, die bis zum heutigen Tag im metastasierten Metastadium mit klassischen Chemotherapeutika nur unzureichend behandelt werden können.

Gleichzeitig wachsen zusehends die Beweise für die Rolle der Mikroumgebung, die die Tumorzellen umgibt. Die Tumor-Mikroumgebung (TMU) besteht aus Stroma („interstitiellem Gewebe“), Gefäßen, Entzündungszellen, Zytokinen, Wachstumsfaktoren und der extrazellulären Matrix. Es gibt überzeugende Belege, dass der interaktive Dialog oder „cross talk“ [21] zwischen bösartigen Zellen und Stromazellen in der TMU das Fortschreiten der Krebskrankheit durch Förderung der malignen Zellfunktionen sowie Resistenzbildungen auf Medikamente begünstigt. Somit ist eine Unterbrechung dieser Wechselwirkung zwischen Tumorzellen und deren Mikroumgebung eine attraktive Strategie bei der Behandlung von Krebs.

Da das Paradigma in der Behandlung von Krebs sich in Richtung einer Kombination von Therapien verschiebt, die als Ziel sowohl die malignen Zellen als auch die Mikroumgebung haben, ist ein besseres Verständnis der molekularen Mechanismen, die den Cross-Talk zwischen bösartigen Zellen und der TMU regulieren, unerlässlich [21]. Zytokine innerhalb der TMU können tiefgreifende Auswirkungen auf die Tumorzellen haben, und die gezielte Behandlung von Zytokinen zeigte bei mehreren Neoplasien therapeutische Wirksamkeit. Tumorzellen interagieren mit der umgebenden Mikroumgebung, um zu überleben und weiterhin innerhalb des Wirtes zu verbleiben.

Obwohl dieses Phänomen bekannt und etabliert ist, bleiben die molekularen Mechanismen der Vermittlung dieser zellulären Prozesse noch relativ unklar. Forscher beschreiben an einem Knochenmarks-Stroma-Zellmodell einen neuartigen Signalmechanismus, der – als Initialzündung von RANTES/CCL5 (R/C) eingeleitet – in diesen Zellen zu einer Up-Regulation der Immunglobulin-Sekretion von malignen B-Zellen führt [22].

Zielsetzung

Epidemiologische und experimentelle Studien liefern klare Beweise dafür, dass ungelöste erregerbedingte Infektionen und chronische Entzündungen eine Tumorentwicklung initiieren. Dies führte zur Erkenntnis, dass die „chronische Entzündung“ zum Markenzeichen von Krebs wurde [25, 37]. In dieser Arbeit beziehen wir deshalb den Kieferknochen in die Frage nach „chronischer Entzündung“ als mögliche Quelle einer R/C-Expression mit ein.

Um den Verdacht auf „Silent Inflammation“ mit angenommenen tumorrelevanten R/C-Quellen zu überprüfen, untersuchen wir Proben von chronisch-entzündlich verändertem Kieferknochen auf Zytokin/Chemokin-Muster bei 38 Tumorpatienten/innen. Aufgrund der durchgehend von begleitenden Histologien belegten Adipozytendegeneration [31] nennen wir diese aseptischen und ischämischen Erweichungen des Medullarraums „fettig-degenerative Osteolysen/Osteonekrosen des Kieferknochen“ (FDOK). Geklärt werden sollte dabei die Frage, ob R/C-Quellen aus FDOK als Promoter einer endokrinen Tumorinduktion agieren können.

Material und Methode

Patientenkollektive von pathologisch verändertem und gesundem Kieferknochen

Die vorgelegte Studie ist patientenzentriert. Proben und Daten stammen direkt aus der täglichen Praxis. Von 38 Tumorpatienten entnahmen wir FDOK-Gewebeproben. Das Tumorkollektiv setzt sich zusammen aus 4 Melanom-, 4 Leukämie-, 1 Kolonkarzinom-, 2 Prostatakarzinom-, 3 Ovarialkarzinom- und 24 Brustkrebs-Patienten/innen. Medikationeneinnahme dieser Patientinnen aufgrund ihrer Systemerkrankung wurde nicht als Ausschlusskriterium gewertet. Einschlusskriterien waren die lokale Diagnose einer FDOK: Die medizinische Indikation zur FDOK-Operation bei diesen Patienten wurde mittels Orthopantomogramm (2D-OPG) und zusätzlichem digitalen Volumentomogramm (3D-DVT) gestellt. Ergänzt wurde diese Indikationsstellung durch Messung der Knochendichte mittels transalveolarer Ultraschalldiagnostik (TAU) [11, 12]. Die demografischen Daten der 38 Fälle im Kollektiv waren: Durchschnittsalter: 60,5 Jahre; Altersbereich: 46–77 Jahre; Geschlecht (w/m): 23/11.

Bei einer freiwilligen Kontrollgruppe von 19 Patienten konnten Proben von gesundem Kieferknochen als Bohrkerne gewonnen werden, die während zahnärztlicher Implantationen ohnedies anfallen. Einschlusskriterien für diese gesunde Kontrollgruppe waren: Keine radiologischen Auffälligkeiten in 2D- und 3D-OPG-DVT; neutrale TAU-Messungen der Knochendichte im Implantationsbereich; das Fehlen von klinisch manifestem Tumor. Die Verwendung von Bisphosphonat-Medikamenten war ein zentrales Ausschlusskriterium für beide Gruppen. Die demografischen Daten der 19 Fälle in der FDOK-Kontrollgruppe waren: Durchschnittsalter: 51,4 Jahre; Altersbereich: 33–72 Jahre; Geschlecht (w/m): 9/10.

Probenahme von FDOK-Gewebe, Aufbereitung der nekrotischen Gewebeproben und Messung der Zytokine in FDOK Proben

In 57 Proben von Kieferknochen (38 FDOK-Proben von Tumorfällen zuzüglich 19 gesunde Kieferknochen) wurden 7 Mediatoren ge-

messen: R/C, Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2 (FGF-2), Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1ra), Interleukin-6 (IL6), IL-8, Monozyten-chemotaktisches Protein-1 (MCP1) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-a). Die fettig-degenerativen Spongiosa-Anteile (FDOK) aus den 38 FDOK-Proben wurden bevorzugt aus den Weisheitszahn-(8-er Areal) und retromolaren Gebieten (sogenanntes 9-er Areal) entnommen.

Die FDOK-Klumpen – ein klinisches Beispiel zur Morphologie in **Abb. 1** – wurden mit einem Volumen von bis zu ½ Kubikzentimeter ausgelöffelt und diese erbsgroßen Gewebklumpen wurden sofort in ein steriles Sammelgefäß (Sarstedt Mikro-Tube, Ref. 72 692 005) gegeben, luftdicht verschlossen und bei –20 °C bis zum Transport ins Labor (www.imd-berlin.de) verwahrt. Dort wurde das Gewebematerial mechanisch zerkleinert und in 200 µl Proteasepuffer (Complete Mini Protease Inhibitor Cocktail, Roche, D) aufgenommen und homogenisiert. Das Homogenisat wurde für 15 min bei 13 400 rpm zentrifugiert, der Überstand abgenommen und für weitere 25 min bei 13 400 rpm zentrifugiert. Die Bestimmung von R/C erfolgte im Überstand des Gewebehomogenisats mittels des Human Cytokine/Chemokine Panel I (MPXHCYTO-60K, Millipore GmbH, Schwalbach, D), entsprechend dem Herstellerprotokoll und unter Verwendung der Luminex 200™ mit xPonent® Software (Luminex, Austin, TX, USA).

Statistische Methoden

Die Messwerte des FDOK- und des Kontrollkollektivs wurden deskriptiven statistischen Analysen unterzogen. Es wurden der Median, arithmetischer Mittelwert und die Verteilung der Daten ermittelt, um für die Analyse zu entscheiden, ob non-parametrische oder parametrische Testverfahren zur Anwendung kommen. Unterschiede zwischen den Kohorten wurden mit Students-T-Test oder Spearmans Rho ermittelt. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ festgesetzt.

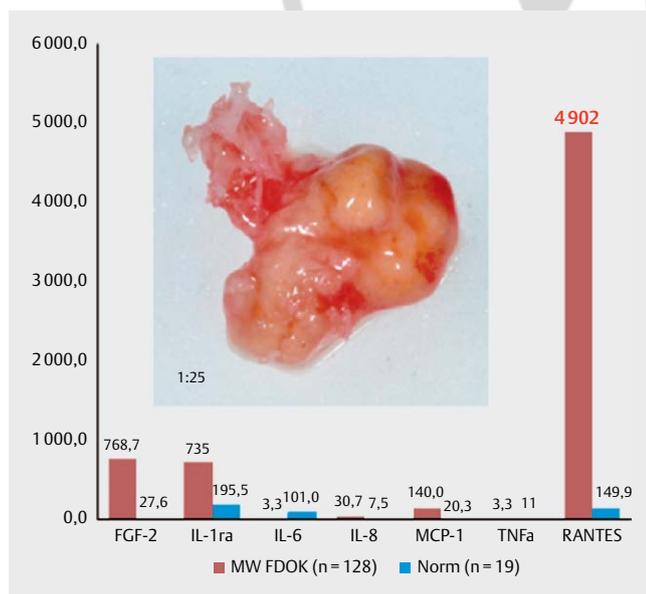


Abb. 1 Verteilung der Zytokine aus FDOK bei 38 Tumorpatienten/innen im Vergleich zur Normstichprobe aus gesundem Kieferknochen (n = 19) mit Abbildung einer typischen FDOK-Probe.

Ergebnisse

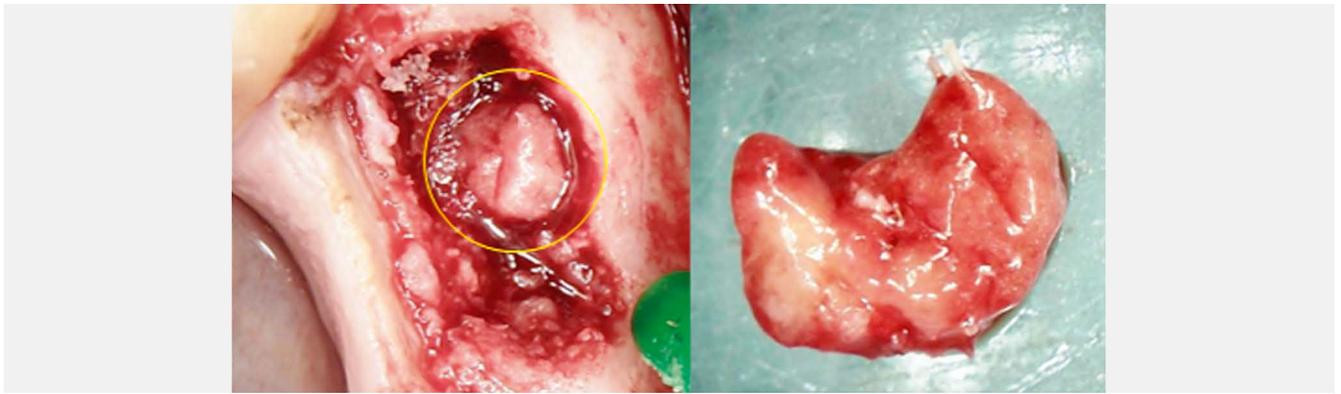
Ergebnisse der FDOK-Multiplex-Analysen

Die Multiplex-Analysen aus 7 Zytokinen der FDOK Proben der Tumorkohorte (n = 38) zeigte bei 3 Zytokinen bemerkenswerte Überexpressionen: Deren Mittelwerte und Standardabweichung (SD) waren in (pg/ml): IL1-ra (Interleukin 1 Rezeptor-Antagonist) zeigte einen Median von 735 (SD ± 489), FGF-2 (Fibroblast Growth Factor 2) Median von 768,7 (SD ± 601). R/C zeigte einen Median von 4902 (SD ± 2 640). Das Normkollektiv von 19 Proben aus gesundem Kieferknochen zeigte bei diesen 3 Zytokinen in der Multiplex-Analyse in (pg/ml): IL1-ra: 195 (SD ± 0). FGF-2: 27 (SD ± 59). R/C: 149 (SD ± 127). Vergleichswerte aus der Literatur lagen uns hierzu keine vor. Auffällig ist die starke Streuung der FDOK-Werte; dennoch liegen alle deutlich über dem Normkollektiv von 149,9 pg/ml (n = 19). 3 Proben erreichen eine R/C-Expression von > 10 000 pg/ml, womit der maximale Messbereich des aktuellen Multiplex-Analysegerätes überschritten wird. **Abb. 1** zeigt – neben der ischämisch-fettig durchsetzten erbsgroßen FDOK-Probe – grafisch 7 Zytokine gesund (blau) in Gegenüberstellung zu den FDOK-Proben (rot). Auffällig ist die circa 35-fache Überexpression des Chemokins R/C aus FDOK von 38 Tumorpatienten/innen.

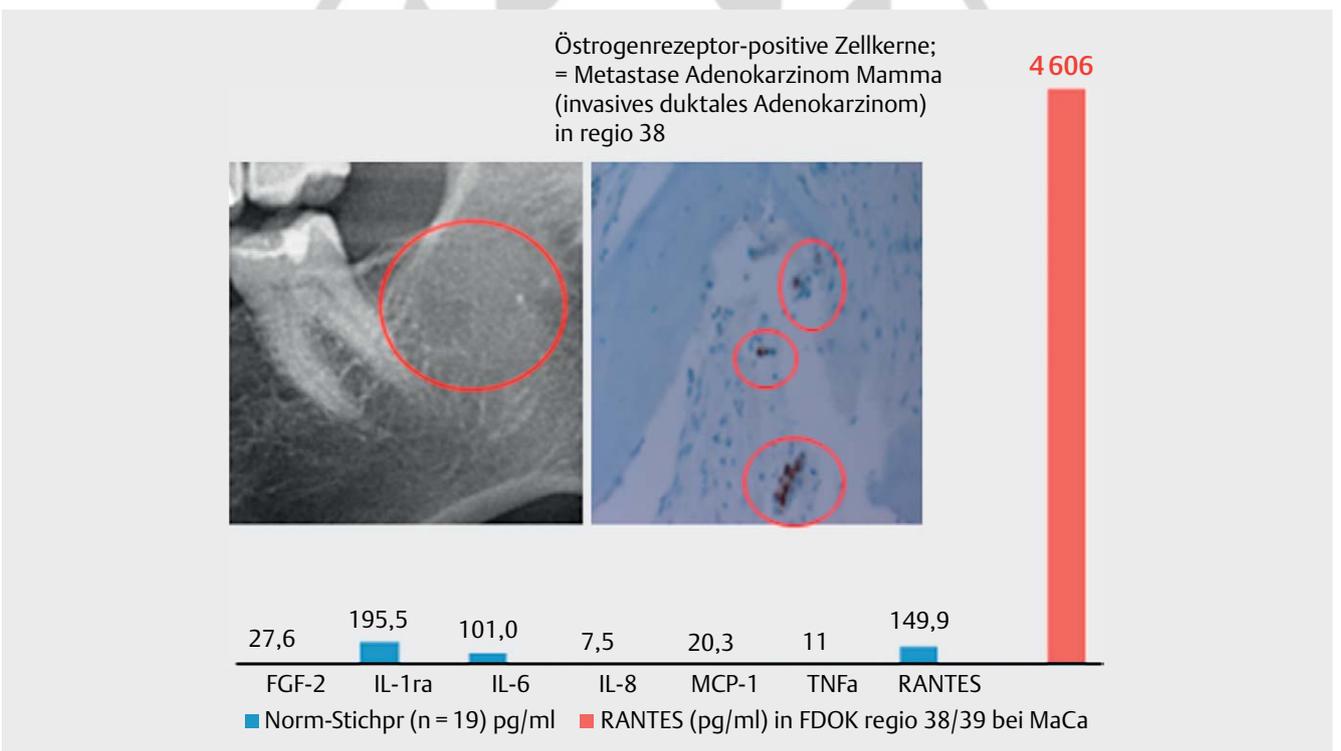
Klinischer Fall: RANTES/CCL5-Überexpression bei metastasierendem Adenokarzinom der weiblichen Brust im Kieferknochen

Die Zusammenhänge zwischen lokaler R/C-FDOK-Überexpression, Tumor und Knochenmetastasen eines MaCa beleuchtet ein klinischer Fall aus unserer Praxisklinik: Eine 52-jährige Patientin kommt zu uns mit der Bitte um Diagnose und Sanierung möglicher FDOK-Areale, bei rezidivierendem Adenokarzinom der linken Brust mit schwacher Chemosensitivität (50 % Tamoxifen-Resistenz). Nach ausreichender Indikationsstellung (siehe oben) wird bei der Patientin in der zahnlosen Kieferregion 38/39 (Weisheitszahnregion mit retromolarer Ausdehnung in den aufsteigenden Ast) ein Kortikalisdeckel abgetragen. Darunter stellt sich eine massive ischämische und osteolytisch-degenerative Auflösung der medullären Bereiche dar (**Abb. 2**).

Die Histopathologie (Gemeinschaftspraxis für Pathologie & Zytologie, Drs. Zwicknagel/Abmus, 85635 Freising) zeigt nicht nur „Fettgewebe“, sondern auch ein metastasiertes Adenokarzinom. Begutachtung: Zusammengelegt 0,6 cm messendes Probematerial vom Kieferknochen regio 38/39 mit einer tumorbedingten Osteolyse durch die Manifestation eines hier hochdifferenzierten, tubulär gebauten Adenokarzinoms (G1) mit herdförmiger Stromadesmoplasie und entnahmetechnisch bedingten Artefakten. Das Karzinomgewebe lässt sich weder konventionell histologisch noch immunhistochemisch von odontogenem Epithel oder Speicheldrüsengewebe herleiten. Einzelne der atypischen Drüsenverbände liegen reaktionslos im Fettgewebe (wie bei einem Adenokarzinom der Mamma). Klinischerseits wurde bestätigt, dass die Patientin unter einem metastasierten Adenokarzinom der Mamma leidet, sodass die vorliegende Tumormanifestation als osteolytische Metastase eines hier hochdifferenzierten invasiven duktales Adenokarzinoms der Mamma (G1, Summen-Score 3) gewertet werden muss. Der Proliferationsindex des Tumors beträgt 15%.



► **Abb. 2** Linkes Bild: Medulläre Situation nach Abheben des Kortikalisdeckels in regio 38/39. Gelber Kreis markiert die ischämisch fettig-degenerative Osteolyse. Rechtes Bild: Entnommener Fettklumpen als typisches Beispiel einer Probe zur Luminex®-Analyse.



► **Abb. 3** Vergleich von 7 Zytokinen in FDOC regio 38/39 mit Metastasen einer MaCa-Patientin. Linkes Bild: Unauffälliges Röntgenbild. Rechtes Bild: Immunhistochemie der Östrogenrezeptoren, 400-fache Vergrößerung.

► **Abb. 3** zeigt im linken Bild die röntgenologisch unauffällige regio 38/39 und in 400-facher Vergrößerung östrogenrezeptor-positive Tumorzellkomplexe einer Metastase eines Mamma-Adenokarzinoms (invasives duktales Adenokarzinom). Parallel zeigt ► **Abb. 3** die Luminex®-basierte Zytokinanalyse von R/C der FDOC-Anteile aus regio 38/39 (IMD-Berlin, Nicolaistr. 22,12247 Berlin). Auffällig ist auch hier das extrem hohe R/C mit 4606 pg/ml gegenüber dem Normwert von 149,9 pg/ml. Diese R/C-Überexpression hebt sich auch im Vergleich zu den anderen Zytokinen des gesunden Kieferknochens deutlich ab. ► **Abb. 3** zeigt im linken Fenster, dass bei dieser MaCa-Patientin die konventionellen Röntgentechniken (2D-OPG) die Ausdehnung und Lokalisation der FDOC nicht

darstellen. Auf die diagnostischen Probleme von FDOC-Arealen wurde bereits in früheren Arbeiten hingewiesen [32].

Diskussion

R/C gehört zur C-C Chemokin-Familie, zu der auch CCL3 und CCL4 zählen. R/C wird von T-Lymphozyten, von Makrophagen, in Thrombozyten, von synovialen Fibroblasten, von tubulärem Epithel und von bestimmten Arten von Tumorzellen exprimiert [46]. NF-kB-Aktivierung durch verschiedene Reize wie CD40L [2] oder IL-15 [16] induziert ebenfalls die R/C-Expression. R/C spielt eine aktive Rolle bei der Rekrutierung einer Vielzahl von Leukozyten in Entzündungs-

geweben einschließlich T-Zellen, Makrophagen, Eosinophilen und Basophilen. In Zusammenarbeit mit bestimmten durch T-Zellen, IL-2 und IFN freigesetzten Zytokinen induziert R/C auch die Aktivierung und Vermehrung von bestimmten Natürlichen Killerzellen.

R/C-Aktivität wird durch seine Bindung an die CCR1-, CCR3- und vor allem CCR5-Rezeptoren vermittelt [5, 43, 48]. Die genauen Funktionen von R/C in der Tumorbilogie sind allerdings immer noch unklar, denn R/C-Produktion ist bei der Steuerung der richtigen Immunantwort gegen Tumoren von Bedeutung [5], aber andererseits steht R/C in Zusammenhang mit Krebswachstum und Metastasierung. CCL5/CCR5-Wechselwirkungen können die Tumorentwicklung auf mehrfache Weise fördern: Als Wachstumsfaktoren, als Stimulans für Angiogenese, als Modulation der extrazellulären Matrix, indem zusätzliche Stroma- und Entzündungszellen gebildet werden, und indem CCL5/CCR5 an Mechanismen der Immunminderung mitwirken [30].

Wie bereits seit längerem bekannt, hat R/C fördernden Einfluss auf alle Tumore unseres Kollektivs.

- Leukämie: Hohe Konzentrationen des inflammatorischen Zytokins R/C werden mit zunehmendem Alter im medullären hämatopoetischen Stammzellmilieu gefunden [23].
- Melanom: An Nacktmäusen durchgeführte Transplantationsexperimente lassen vermuten, dass die Auswirkungen von R/C auch die Tumorentwicklung begünstigen [40]. Andere Untersucher stellten 3 Chemokin-Proteine auf hohem Niveau reproduzierbar in den Melanomentumoren fest: CCL2/MCP-1, CCL4/MIP-1 β und R/C [26].
- Ovarialkarzinom: Die R/C-Konzentration in den Endometrioseherden ist signifikant höher als in eutopen Endometrien. Dies wird vermutlich bedingt durch den direkten Einfluss von proinflammatorischen Zytokinen auf das endometriotische Stroma, die die Hochregulation von R/C in den Herden bewirken [6, 27].
- Kolonkarzinom: Daten zeigen die Beteiligung von R/C in der Pathogenese des kolorektalen Karzinoms und weisen auf ihren potenziellen Wert als ein therapeutisches Ziel hin [13].
- Prostatakarzinom: Die CCL5/CCR5-Achse ist auch bei Progression des Prostatakrebs (PCa) beteiligt: Beide Faktoren werden in menschlichen PCa-Zelllinien, -Zellkulturen und PCa-Gewebe exprimiert [49].

In der weiteren Diskussion beschränken und konzentrieren wir uns spezifisch auf R/C und das MaCa.

RANTES/CCL5 und Signalaustausch in der Mikroumgebung des Tumors

Die Bedeutung von R/C auf die Krebsentwicklung über Signalaustausch in der Mikroumgebung des Tumors ist in zahlreichen Untersuchungen belegt, die im Folgenden aus einem Review zitiert werden [1]. Krebszellen machen sich nicht nur selbst „unsichtbar“ für das Immunsystem, sondern bilden selbst immunsuppressive Tumor-Mikroumgebungen (TMU), die eine einfache Beseitigung von Krebszellen unmöglich machen [30]. Diese schützende TMU besteht aus Stromazellen und Entzündungszellen, die durch Tumorzellen selbst oder durch normale, von Tumorzellen „ausgebildete“ Zellen rekrutiert und/oder lokal induziert werden, sich zu teilen und zu differenzieren. Sie kommunizieren direkt über Zell-Zell-Kontakt, aber auch indirekt durch parakrine Signale [28]. Diese Signale wer-

den überwiegend durch Zytokine und Chemokine (chemotaktische Zytokine) vermittelt, den Schlüsseldirigenten der infiltrierenden Leukozytenwanderungen, sowohl unter Gleichgewichtsbedingungen als auch bei Entzündungen und Krebs [57].

Chemokine haben auch großen Anteil an den molekularen Signalgebungen, die für das Überleben von Krebszellen und deren Beweglichkeit und Invasivität verantwortlich sind [14]. Auf der Grundlage ihrer Fähigkeit, Chemotaxis zu induzieren, nehmen Chemokine eine fundamentale Rolle nicht nur bei Entzündungen und der Überwachung von Immunantworten, sondern auch beim Krebswachstum ein [8]. Indem sie von Tumorzellen des Primärtumors oder metastasierenden Tumoranteilen abgesondert werden oder durch normale Zellen rekrutiert und/oder lokal aktiviert werden, können sich Chemokine wie Wachstumsfaktoren auf den Tumor auswirken [3], dessen Metastasierung und Angiogenese erhöhen [38] oder die Bildung einer immunsuppressiven TMU induzieren. Diese letztere sehr komplexe Fähigkeit wird durch Rekrutieren und Aktivieren von tumorassoziierten Makrophagen (TAM) [18], myeloisch abgeleiteten Suppressorzellen (MDSC), T-regulatorischen Zellen (T-reg) [15] oder mesenchymalen Stammzellen (MSCs) [53] und durch die Blockade der tumorhemmenden Wirkung von Th1-Zellen und zytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) erreicht [44].

Für die hier gezeigte lokale R/C-Überexpression in FDOK-Arealen ist wichtig, dass Tumorzellen auch auf Chemokine in entfernten Organen reagieren und sich als Reaktion auf diese vorhandenen Chemokine mit höherer Intensität verbreiten, indem sie mit dem entsprechenden Rezeptor korrespondieren [9]. Außerdem erwerben Tumorzellen höhere bindungsfreudige, migratorische und invasive Fähigkeiten als Reaktion auf Chemokine, die an den bevorzugten metastatischen Stellen exprimiert werden [29]. Infolge dessen stellt die Anwesenheit von Entzündungszellen wie reaktive Leukozyten und die Expression einer großen Anzahl von Entzündungsmediatoren (Zytokine, Chemokine und Enzyme) in den Primärtumoren meist eine schlechte Prognose und Gefahr der Metastasierung dar [4].

Viele verschiedene Chemokine und Chemokinrezeptoren wurden in neoplastischem Gewebe entdeckt [42]. Krebszellen sezernieren R/C oder induzieren Fibroblasten, R/C zu sezernieren. R/C wirkt dann in einem parakrinen oder autokrinen Modus auf CCR5-positive Tumorzellen so, dass diese ihre Proliferation aufrechterhalten, dass immunsuppressive Zellen (T-reg-Zellen, Monozyten) rekrutiert werden, dass Osteoklasten aktiviert und Knochenmetastasen induziert werden, dass Neoangiogenese gefördert und Tumorzellen zu entfernten Organen verbreitet werden [1]. Auf der Grundlage der gewonnenen Erkenntnisse ist anzunehmen, dass entzündliche Chemokine und ihre Rezeptoren attraktive therapeutische Ziele bei malignen Tumoren sind.

Die Rolle von RANTES/CCL5 bei der Tumorentwicklung am Beispiel des Mammakarzinoms

Bereits in früheren Publikationen haben wir auf die Einbindung von R/C-Signalgebung auf das MaCa hingewiesen [32, 33]. R/C wird durch normale epitheliale Duktuszellen der Brust minimal exprimiert, wird aber durch Brusttumorzellen an Stellen des Primärtumors, der regionalen Lymphknoten und der metastasierten Stellen hoch exprimiert, was darauf hindeutet, dass die R/C-Expression sich im Laufe der malignen Transformation entwickelt [46] und dass R/C

bei der Entstehung von MaCa und/oder dessen Progression eine bedeutende Rolle spielt. Verstärkte Expression von CCL5 durch MaCa-Zellen ist deutlich im Zusammenhang mit Fortschreiten der Krankheit, Rückfall und/oder Metastasierung verknüpft [10, 41]. Beim MaCa ist die Tumorzelle die wichtigste Quelle von R/C [35]; allerdings wird R/C auch von infiltrierenden Leukozyten und mesenchymalen Stammzellen (MSCs) der TMU exprimiert [29, 39].

Von einer Subpopulation der menschlichen MaCa-Zelllinien wird ein funktioneller CCR5-Rezeptor exprimiert, der als funktionelle Antwort auf R/C gilt. Zusätzlich induziert die onkogene Umwandlung die CCR5-Expression und die Subpopulation der Zellen, die den funktionellen CCR5 exprimiert, und zeigt auch eine erhöhte Zellwanderung und Invasivität [56]. Eine Analyse von 2254 menschlichen MaCa-Proben zeigte erhöhte Expression von R/C und dessen Rezeptor CCR5. Im Gegensatz dazu konnte bei gleichen Analysen in nichtneoplastischen Brustproben keine Korrelation zwischen R/C- und CCR5-Expressionsspiegeln gefunden werden [50]. R/C-Expression ist eng verbunden mit dem Fortschreiten von MaCa, insbesondere beim 3-fach negativen MaCa (TNBC) und kann daher ein immuntherapeutisches Ziel bei TNBC darstellen [36].

Hypoxie und Ischämie sind bedeutende selektive Faktoren, die das Wachstum von Tumoren fördern. Hypoxie führt zu einem starken Anstieg der beiden R/C- und CCR5-Expressionen durch MaCa-Zellen. Unter experimentellen Bedingungen einer Hypoxie stimuliert R/C Zellwanderung eher als Zellproliferation und eine experimentelle Neutralisierung von R/C hemmt die hypoxie-induzierte Migration von Krebszellen. Umgekehrt erhöht die Überexpression von CCR5 die Zellwanderung; experimentelle Neutralisation von CCR5 dämpft die hypoxie-vermittelte Zellwanderung [34].

Von mesenchymalen Stammzellen (MSCs) stammendes R/C fördert die Tumorzellinvasion in der Brust und die Aktivierung der Matrix-Metalloproteinasen (MMPs), im Einklang mit der bekannten Tatsache, dass R/C in der Lage ist, die Freisetzung von MMP-9 hoch zu regulieren [47]. MMPs sind außerhalb von Zellen in der extrazellulären Matrix (ECM) lokalisiert, die sie im aktivierten Zustand abbauen können. Sie sind hauptverantwortlich für die Zersetzung gesunden Gewebes durch maligne Tumorzellen [19]. MMPs bilden eine von Tumorzellen und Tumorbindegewebszellen freigesetzte oder transmembranös in die Zellmembran gebundene Proteinfamilie. Unter normalen Verhältnissen werden nur sehr wenige MMPs von Fibroblasten, Makrophagen und Leukozyten gebildet. Die Produktion steigt aber bei unphysiologischen Gewebsveränderungen (Entzündung, Wundheilung, Krebs) sehr schnell an [17]. MMPs regen das Tumorwachstum an und „öffnen“ die ECM für die Tumormetastasierung. MMPs helfen eine ECM zu generieren, die es Zellklonen mit jeweils kritischen Mutationen erlaubt, zu überleben und sich zu Tumorzellen zu entwickeln [18].

R/C fördert die maligne Entwicklung der Brust durch Veränderung des Gleichgewichts zwischen Leukozyteninfiltraten in Tumoren, was zu einem Übergewicht der Zellen mit tumorfördernden gegenüber tumorhemmenden Aktivitäten führt. Tatsächlich verschiebt R/C das Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Leukozyten-Zelltypen durch eine Erhöhung der Präsenz der schädlichen tumorassoziierten Makrophagen (TAMs) [7], welche proangiogene Faktoren sezernieren, antitumorale Antwortreaktionen unterdrücken [55] und die antitumorale T-Zell-Aktivitäten hemmen.

R/C fördert auch die Progression des MaCa, indem im Knochenmark Myeloide Suppressorzellen (MDSC = Myeloid-derived suppressor cells) gebildet werden, die in der Lage sind, die durch T-Zellen vermittelten Immunantworten zu unterdrücken. R/C trägt damit zur Aufrechterhaltung der immunsuppressiven Fähigkeit der menschlichen MDSCs bei [52]. Neutralisation von R/C könnte daher die immunsuppressiven Aktivitäten der MDSCs vermindern und die Progression und Metastasierung des Tumors reduzieren. Die R/C-Expression durch Brusttumorzellen – untersucht an 143 MaCa-Patientinnen – stellt einen wertvollen prognostischen Faktor für die Erkennung von Stufe II MaCa-Patientinnen dar, die ein Risiko für das Fortschreiten der Erkrankung tragen [20].

R/C-Expression ist verknüpft mit der Abwesenheit von Östrogen-Rezeptoren und erhöht somit den prognostischen Wert beider Marker bei Patienten mit Progressionsrisiko. R/C-Serumspiegel sind bei Patientinnen mit MaCa im Vergleich zu gesunden Personen erhöht [45] und sind in der Regel höher bei Lymphknoten-positiven Patienten, größeren Tumoren, bei Vorhandensein von lymphovaskulärer Invasion und bei multifokalen Tumoren [54].

R/C ist auch an der Medikamentenresistenz beteiligt: Tamoxifen-Resistenz ist ein großes therapeutisches Problem bei MaCa. Über eine signifikante Korrelation zwischen STAT3-RANTES autokriner Signalgebung und Entwicklung von Tamoxifen-Resistenz wurde berichtet: STAT3 und R/C in Tamoxifen-resistenten MCF-7-Zellen regulieren einander über autokrine Signalisierung, was zur Induktion eines antiapoptotischen Signals führt. Das letztere erleichtert die Aufrechterhaltung der Resistenz, wodurch sich eine neuartige Strategie für das Management von Patienten mit Tamoxifen-resistenten Tumoren entwickelt [24].

Basierend auf mehreren Patientenstudien, tierischen Modellsystemen und In-vitro-Systemen scheint die CCL5/CCR5-Achse eine entscheidende Rolle bei der Tumorprogression zu haben. Sie könnte möglicherweise bei MaCa ein wichtiges therapeutisches Ziel darstellen mit minimalen negativen Auswirkungen [36]. Das klinische Beispiel der von uns interdisziplinär und komplementär behandelten MaCa-Patientin mit circa 30-facher Überexpression von R/C im mit Metastasen durchsetzten FDOK-Areal bei 38/39 belegt diesen Zusammenhang (► **Abb. 2, 3**): Ihre Chemosensitivität auf Tamoxifen betrug unter 50 %.

RANTES/CCL5 fördert Metastasenbildung des Mammakarzinoms

Körpereigene mesenchymale Stammzellen (MSCs) regen Krebszellen des ursprünglichen Tumors dazu an, sich zu verändern, zu streuen und in anderen Organen Geschwülste zu bilden. R/C vermittelt auch das Zwiëgespräch/Cross-Talk zwischen MaCa-Zellen und MSCs: Die Krebszellen stimulieren R/C-Sekretion durch MSCs und durch Osteoblasten der Tumor-Mikroumgebung (TMU) und R/C seinerseits induziert wiederum Tumorzellwanderung und fördert deren Invasion und Metastasierung [29].

MSCs in Tumorstromata begünstigen MaCa-Metastasen: Kürzlich wurde gezeigt, dass MSCs Brustkrebsgeschwülste lokalisieren können, indem sie sich in das zum Tumor gehörende Stroma eingliedern. Dennoch ist die Verwicklung von MSCs und ihrer Derivate in die Tumorphysiologie noch nicht thematisiert worden. Karnoub et al. [29] zeigen, dass aus Knochenmark gewonnene MSCs, die mit sonst schwach-metastatischen menschlichen MaCa-Zellen

gemischt werden, diese Krebszellen dazu veranlassen, ihr metastatisches Potenzial deutlich zu erhöhen. Die MaCa-Zellen stimulieren von Grund auf neu die Sekretion der Chemokine R/C aus MSCs. Diese wirken dann parakrin auf die Krebszellen ein und erhöhen ihre Motilität, Invasion und Metastasenbildung.

Erstaunlich ist, dass diese erhöhte Fähigkeit der Metastasenbildung umkehrbar und abhängig von den R/C-Signalen ist, die mit CCR5 wechselwirken [29]. Insgesamt belegen diese Daten, dass die TMU die Verbreitung der Metastasen unterstützt, indem umkehrbare Veränderungen des Phänotyps der Krebszellen durch R/C ausgelöst werden. Diese Entdeckung erlaubt folgenden Rückschluss: Könnte man diesen biologischen Vorgang bei Krebspatienten gezielt unterbrechen, wäre dem Krebs seine tödlichste Form genommen.

Die von Karnoub [29] festgestellte Umkehrbarkeit der Metastasierungstendenz führt uns zur Therapieempfehlung einer zahnärztlich-chirurgischen Eliminierung der R/C-Quellen in FDOK bei MaCa-Patientinnen – wie weiter unten beschrieben –, um die Metastasierung zu verhindern.

Die jüngere Krebsforschung zeigt, dass eine besondere Art von Stammzellen nötig ist, damit MaCa Metastasen bildet. Unter Verdacht stehen MSCs aus dem Knochenmark, die normalerweise Fett, Sehnen-, Knorpel- und Muskelgewebe bilden. Sie wandern aber unter R/C-Signalgebung in großer Zahl zu Körperstellen, wo sich Krebs gebildet hat. Dies lässt die Vermutung zu, dass sich MSCs mithilfe von R/C-Signalstoffen in metastasierende Zellen verwandeln. Sind diese aber am Ziel angekommen, lösen sie wieder rezidivierendes Wachstum des ursprünglichen Tumors aus. Das Molekül, das die Metastasierung fördert, wurde als R/C identifiziert, denn MaCa-Zellen selbst stimulieren die Expression von R/C aus MSCs [29]. Bemerkenswert ist, dass nur R/C eine synergistische Wechselwirkung spiegelt.

Schlussfolgerung

Die in dieser Studie präsentierten Daten unterstützen die Hypothese, dass eine aus FDOK abgeleitete R/C-Signalgebung im möglichen Kontext eines Tumors eine nicht unbedeutende Rolle spielt. Zytokine und Chemokine sind primär an Auslösung und Induktion von Immunantworten beteiligt. Für unsere Betrachtung entscheidend ist der Übergang einer akuten zu einer chronischen Entzündung und deren Persistenz in Form einer FDOK im Bereich einer gestörten Wundheilung. Die Lokalisation der chronischen Inflammation im Kieferbereich wirft die Frage auf, ob die gängige zahnärztliche und kieferchirurgische Behandlung nicht für die Entstehung solcher kryptischer R/C-Quellen mit verantwortlich sein könnte. FDOK-Areale neigen dazu, nicht ohne chirurgische Kürettage zu heilen.

Die mögliche Bedeutung der Studie liegt in dem Nachweis signifikant überexprimierter R/C-Signalgebung in FDOK, bei ausreichend hoher Zahl von 38 Tumor/FDOK-Patienten und 19 normalen Kieferproben. Niedrige Schwellenintensität und hohe Schwellenzeit im Sinne von lokaler Asymptomatik und gleichzeitiger Chronizität der Einwirkung charakterisieren dabei die FDOK-Wirkungen. Grenzen der Studie sind die Multikausalität jedes Tumors, die eine monokausale Bewertung der klinischen Relevanz einer FDOK nicht zulässt. Die in dieser Arbeit von uns vorgeschlagene Verminderung der hyperaktivierten R/C-Signaltransduktion aus FDOK durch kieferchirurgische Kürettage der Fettdspots im Medullarraum könnte

ein möglicher Therapieansatz sein, im Kontext einer komplementären Tumorthherapie die Systemwirkung einer „Silent Inflammation“ im Kieferknochen nicht auszuschließen.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine finanziellen Interessenkonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag bestehen.

Literatur

- [1] Aldinucci D, Colombatt A. The Inflammatory Chemokine CCL5 and Cancer Progression. *Mediators Inflamm* 2014, Article ID 292376. doi:org/10.1155/2014/292376
- [2] Aldinucci D, Gloghini A, Pinto A, Colombatti A, Carbone A. The role of CD40/CD40L and interferon regulatory factor 4 in Hodgkin lymphoma microenvironment. *Leukemia and Lymphoma* 2012; 53: 195–201
- [3] Aldinucci D, Gloghini A, Pinto A, de Filippi R, Carbone A. The classical Hodgkin's lymphoma microenvironment and its role in promoting tumour growth and immune escape. *J Pathol* 2010; 221: 248–263
- [4] Allavena P, Germano G, Marchesi F, Mantovani A. Chemokines in cancer related inflammation. *Exp Cell Res* 2011; 317: 664–673
- [5] Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: A versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol* 2001; 22: 83–87
- [6] Arima K, Nasu K, Narahara H, Fujisawa K, Matsui N, Miyakawa I. Effects of lipopolysaccharide and cytokine on production of RANTES by cultured human endometrial stromal cells. *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 246–251
- [7] Azenshtein E, Luboshits G, Shina S et al. The CC chemokine RANTES in breast carcinoma progression: Regulation of expression and potential mechanisms of promalignant activity. *Cancer Res* 2002; 62: 1093–1102
- [8] Balkwill FR. The chemokine system and cancer. *J Pathol* 2012; 226: 148–157
- [9] Ben-Baruch A. The tumor-promoting flow of cells into, within and out of the tumor site: Regulation by the inflammatory axis of TNF and chemokines. *Cancer Microenviron* 2012; 5: 151–164
- [10] Bieche I, Lerebours F, Tozlu S, Espie M, Marty M, Lidereau R. Molecular profiling of inflammatory breast cancer: Identification of a poor-prognosis gene expression signature. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 6789–6795
- [11] Bouquet J, Martin W, Wroblewski G. Computer-based thru-transmission sonography (CTS) imaging of ischemic osteonecrosis of the jaws – A preliminary investigation of 6 cadaver jaws and 15 pain patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endo* 2001; 92: 550
- [12] Bouquet J, Shankland W, Margolis M. Through-transmission alveolar ultrasonography (TAU) B new technology for evaluation of bone density and desiccation. Comparison with radiology of 170 biopsied alveolar sites of osteoporitic and ischemic damage. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 93: 413–414
- [13] Cambien B, Richard-Fiardo P, Karimjee BF, Martini V, Ferrua B et al. CCL5 neutralization restricts cancer growth and potentiates the targeting of PDGFR β in colorectal carcinoma. *PLoS ONE* 2011; 6: e28842
- [14] Candido J, Hagemann T. Cancer-related inflammation. *J Clin Immunol* 2013; 33: (Suppl 1): 79–84
- [15] Chang L-Y, Lin Y-C, Mahalingam J et al. Tumor-derived chemokine CCL5 enhances TGF- β -mediated killing of CD8 $^{+}$ T cells in colon cancer by T-regulatory cells. *Cancer Res* 2012; 72: 1092–1102

- [16] Chenoweth MJ, Mian MF, Barra NG et al. IL-15 can signal via IL-15R α , JNK, and NF- κ B to drive RANTES production by myeloid cells. *J Immunol* 2012; 188: 4149–4157
- [17] Comoglio PM, Trusolino L. Cancer: The matrix is now in control. *Nat Med* 2005; 11: 1156–1159
- [18] Cook J, Hagemann T. Tumour-associated macrophages and cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2013; 13: 595–601
- [19] Coussens L, Fingleton B, Matrisan LM. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: Trials and tribulations. *Science* 2002; 295: 2387–2392
- [20] Dehqanzada ZA, Storrer CE, Hueman MT et al. Assessing serum cytokine profiles in breast cancer patients receiving a HER2/neu vaccine using Luminex technology. *Oncol Rep* 2007; 17: 687–694
- [21] Elswa SF et al. Comprehensive analysis of tumor microenvironment cytokines in Waldenstrom macroglobulinemia identifies CCL5 as a novel modulator of IL-6 activity. *Blood* 2011; 118: 5540–5549
- [22] Elswa SF et al. GLI2 transcription factor mediates cytokine cross-talk in the tumor microenvironment. *J Biol Chem* 2011; 286: 21524–21534
- [23] Ergen AV, Boles NC, Goodell MA. Rantes/Ccl5 influences hematopoietic stem cell subtypes and causes myeloid skewing. *Blood* 2012; 119: 2500–2509
- [24] Hanahan D et al. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* 2011; 144: 646–674
- [25] Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: Functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012; 21: 309–322
- [26] Harlin H et al. Chemokine expression in melanoma metastases associated with CD8+ T-cell recruitment. *Cancer Res* 2009; 69: 3077–3085
- [27] Hornung D, Ryan IP, Chao VA, Vigne JL, Schriock ED, Taylor RN. Immunolocalization and regulation of the chemokine RANTES in human endometrial and endometriosis tissues and cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1621–1628
- [28] Jain RK. Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: Bench to bedside to biomarkers. *J Clin Oncol* 2013; 31: 2205–2218
- [29] Karnoub AE, Dash AB, Vo AP et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature* 2007; 449: 557–563
- [30] Kershaw MH, Westwood JA, Darcy PK. Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 525–541
- [31] Lechner J, Bouquot JE, von Baehr V. Histologie und Immunologie der kavitätenbildenden Osteolysen des Kieferknochens. München: Eigenverlag; 2015. ISBN: 978-3-931351-4
- [32] Lechner J, von Baehr V. Hyperaktivierte Signaltransduktionskaskaden des Chemokins RANTES/CCL5 in Osteopathien des Kieferknochens beim Mammakarzinom. *Dtsch Z Onkol* 2013; 45: 105–111
- [33] Lechner J, von Baehr V. Hyperactivated signaling pathways of chemokine RANTES/CCL5 in osteopathies of jawbone in breast cancer patients – Case report and research. *Breast Cancer (Auckl)* 2014; 8: 89–96
- [34] Lin S, Wan S, Sun L et al. Chemokine C-C motif receptor 5 and C-C motif ligand 5 promote cancer cell migration under hypoxia. *Cancer Sci* 2012; 103: 904–912
- [35] Luboshits G, Shina S, Kaplan O et al. Elevated expression of the CC chemokine regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES) in advanced breast carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 4681–4687
- [36] Lv D, Zhang Y, Kim HJ, Zhang L, Ma X. CCL5 as a potential immunotherapeutic target in triple-negative breast cancer. *Cell Mol Immunol* 2013; 10: 303–310
- [37] Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med* 2010; 10: 369–373
- [38] Meadows SA, Vega F, Kashishian A et al. PI3K δ inhibitor, GS-1101 (CAL-101), attenuates pathway signaling, induces apoptosis, and overcomes signals from the microenvironment in cellular models of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2012; 119: 1897–1900
- [39] Mi Z, Bhattacharya SD, Kim VM, Guo H, Talbotq LJ, Kuo PC. Osteopontin promotes CCL5-mesenchymal stromal cell-mediated breast cancer metastasis. *Carcinogenesis* 2011; 32: 477–487
- [40] Mrowietz U et al. The chemokine RANTES is secreted by human melanoma cells and is associated with enhanced tumour formation in nude mice. *Br J Cancer* 1999; 79: 1025–1031
- [41] Niwa Y, Akamatsu H, Niwa H, Sumi H, Ozaki Y, Abe A. Correlation of tissue and plasma RANTES levels with disease course in patients with breast or cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 285–289
- [42] Oppermann M. Chemokine receptor CCR5: Insights into structure, function, and regulation. *Cell Signal* 2004; 16: 1201–1210
- [43] Roscic-Mrkic B, Fischer M, Leemann C et al. RANTES (CCL5) uses the proteoglycan CD44 as an auxiliary receptor to mediate cellular activation signals and HIV-1 enhancement. *Blood* 2003; 102: 1169–1177
- [44] Schlecker E, Stojanovic A, Eisen C et al. Tumor-infiltrating monocytic myeloid-derived suppressor cells mediate CCR5-dependent recruitment of regulatory T cells favoring tumor growth. *J Immunol* 2012; 189: 5602–5611
- [45] Smeets A, Brouwers B, Hatse S et al. Circulating CCL5 levels in patients with breast cancer: is there a correlation with lymph node metastasis? *ISRN Immunology* 2013 (2013), Article ID 453561, 5 pages
- [46] Soria G, Ben-Baruch A. The inflammatory chemokines CCL2 and CCL5 in breast cancer. *Cancer Lett* 2008; 267: 271–285
- [47] Swamydas M, Ricci K, Rego SL, Dreau D. Mesenchymal stem cell-derived CCL-9 and CCL-5 promote mammary tumor cell invasion and the activation of matrix metalloproteinases. *Cell Adh Migr* 2013; 7: 315–324
- [48] Udi J, Schuler J, Wider D et al. Potent in vitro and in vivo activity of sorafenib in multiple myeloma: induction of cell death, CD138-down-regulation and inhibition of migration through actin depolymerization. *Br J Haematol* 2013; 161: 104–116
- [49] Vaday GG, Peehl DM, Kadam PA, Lawrence DM. Expression of CCL5 (RANTES) and CCR5 in prostate cancer. *Prostate* 2006; 66: 124–134
- [50] Velasco-Velazquez M, Jiao X, de la Fuente M et al. CCR5 antagonist blocks metastasis of basal breast cancer cells. *Cancer Res* 2012; 72: 3839–3850
- [51] World Cancer Reports. Edited by Stewart BW, Wild CP. Lyon: IARC; ISBN-13 978-92-832-0429-9
- [52] Yaal-Hahoshen N, Shina S, Leider-Trejo L et al. The chemokine CCL5 as a potential prognostic factor predicting disease progression in stage II breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4474–4480
- [53] Yang X, Hou J, Han Z et al. One cell, multiple roles: Contribution of mesenchymal stem cells to tumor development in tumor microenvironment. *Cell Biosci* 2013; 3: 5. doi:10.1186/2045-3701-3-5
- [54] Yi EH, Lee CS, Lee JK et al. STAT3-RANTES autocrine signaling is essential for tamoxifen resistance in human breast cancer cells. *Mol Cancer Res* 2013; 11: 31–42
- [55] Zhang Y, Lv D, Kim HJ et al. A novel role of hematopoietic CCL5 in promoting triple-negative mammary tumor progression by regulating generation of myeloid-derived suppressor cells. *Cell Res* 2013; 23: 394–408
- [56] Zhang Y, Yao F, Yao X et al. Role of CCL5 in invasion, proliferation and proportion of CD44+ /CD24- phenotype of MCF-7 cells and correlation of CCL5 and CCR5 expression with breast cancer progression. *Oncol Rep* 2009; 21: 1113–1120
- [57] Zlotnik A, Yoshie O. The chemokine superfamily revisited. *Immunity* 2012; 36: 705–716