


# Syntetisk letalitet

## – NY PRINCIP FÖR CANCERBEHANDLINGAR

Många cancerbehandlingar går ut på att skapa DNA-skador i tumör-cellerna. Det sker både genom strålbehandling och kemoterapi, men till priset av viss påverkan även på normala celler. Sedan ett par år finns ett alternativ som går ut på att utnyttja genetiska defekter i tumör-cellerna genom ett koncept som heter syntetisk letalitet. Professor **Thomas Helleday** och hans forskargrupp var först med att publicera en syntetiskt letal interaktion mellan enzymet poly(ADP-ribos)-polymeras (PARP) och BRCA-defekta celler som nu kan behandlas med PARP-hämmare utan att skada normala celler. Här beskriver han den nya principen för cancerbehandlingar.



**T**rots att hundratals miljarder kronor spenderats på att utveckla nya målriktade cancerbehandlingar har de inte på långa vägar kunnat ersätta strålbehandling och kemoterapi. Under de senaste åren har ett nytt behandlingsalternativ tillkommit, som bygger på att cancerceller har genetiska defekter och därför blir beroende av sina återstående proteinfunktioner. Nyckeln är att hitta de proteiner som cancercellerna behöver men som normala celler klarar sig utan.

Det finns ett etablerat namn som beskriver detta koncept, "syntetisk letalitet", som innebär att celler kan leva då en av två samverkande gener gått förlo-

rade, men inte då båda försvunnit. I min forskargrupp har vi exemplifierat en sådan behandlingsmetod för att behandla BRCA1- och BRCA2-defekta tumörer, med hjälp av PARP-hämmare. Många nya cancerläkemedel kommer nu att utvecklas med detta koncept som grund.

Jag vill här belysa vilka möjligheter syntetisk letalitet har, men också de fallor man kan hamna i när man anammar denna metod.

#### **GENETISK STABILITET VIKTIG**

En viktig funktion hos en cell är att upprätthålla den genetiska stabiliteten för att effektivt kunna avläsa gener och för att kunna kopiera DNA:t till dotter-

celler korrekt. För cancerceller är detta särskilt viktigt eftersom oförmåga att kopiera DNA leder till att cancercellen dör och inte kan växa vidare.

Under årtusenden har människan försökt bekämpa cancer, men det är bara under de senaste drygt hundra åren som vi verkligen har kunnat utveckla bra komplement till kirurgi. Dessa nya behandlingar har ofta upptäckts genom tursamma sammanträffanden.

På 1890-talet beskrev Wilhelm Röntgen en ny form av strålning, som redan några månader senare börjades testas för att behandla cancer. Senapsgaser från första världskriget visade sig döda cancer liksom analoger till nukleinsyror, så kallade antimetaboliter. Gemensamt för dessa behandlingsmetoder är att de upptäcktes innan vi kände till DNA-strukturen. Först långt senare har vi förstått att dessa behandlingar har en gemensam verkningsmekanism – att skada DNA – vilket förhindrar cancerceller från att överleva en celledning.

På 60-talet trodde vi att cancer var en metabol sjukdom. I dag vet vi att cancer orsakas av genetiska förändringar som omprogrammerar vanliga celler, vars tillväxt är hårt reglerad, till cancerceller, som kan växa obehindrat.

Under de senaste årtiondena har vi också utarbetat metoder för att behandla cancer som inte bygger på att orsaka DNA-skador eller att hämma mitosen, så kallade målriktade tillväxthämmande behandlingar, som i huvudsak slår mot gener som styr cancertillväxt. Vi kan nu konstatera att dessa behandlingar i många fall förbättrar överlevnaden, men de har hittills inte kunnat bota.

#### GENETISKT FENOMEN

När vi förstod att cancer var en genetisk sjukdom påpekade jästgenetikern och sedermera nobelpristagaren Leland Hartwell att vi skulle kunna utnyttja etablerade genetiska verktyg för att behandla cancer<sup>1</sup>. Konceptet bygger på att identifiera gener som är essentiella för överlevnad i den muterade cancer, men inte i normal vävnad.

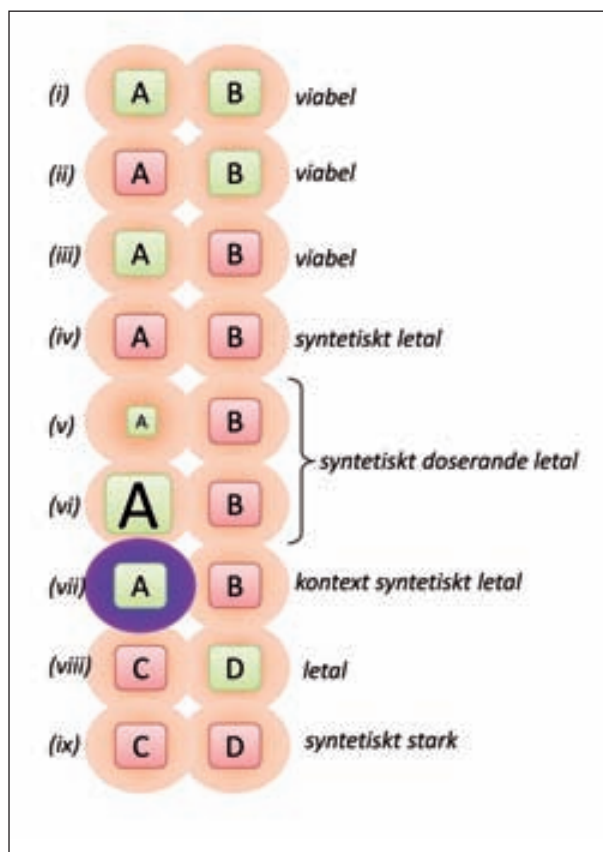
I genetikens beskrivs syntetisk letalitet, fenomenet bakom detta koncept, som relationen mellan två gener där cellen kan överleva med *en* muterad gen (*a* eller *b*), men inte då båda generna (*a+b*) är muterade. På så sätt skulle man till exempel kunna rikta en behandling mot gen *a* om gen *b* är muterad i cancer, men inte i normala celler.

Det här är den enklaste beskrivningen av syntetisk letalitet, men det finns ett flertal varianter, som är mycket relevanta (figur 1).

Denna genetiska metod stannade som ett tankeexperiment tills dess att vi i min grupp var först med att i ett patent publicera en syntetisk letal interaktion mellan enzymet poly(ADP-ribos)-polymeras (PARP) och BRCA-defekta celler, vilket vi senare publicerade i en vetenskaplig tidskrift samtidigt med en annan engelsk forskargrupp<sup>2,3</sup>. BRCA1- och BRCA2-proteinerna är centrala komponenter i DNA-reparation och är muterade i en liten andel patienter, framför allt vid ärftlig bröst- eller äggstockscancer.

Då BRCA1- eller BRCA2-tumörsuppressorgenerna är muterade skapas genetisk instabilitet som påskyndar genetiska förändringar och möjliggör för cancer att utvecklas. Men för

#### SYNETISK LETALITET



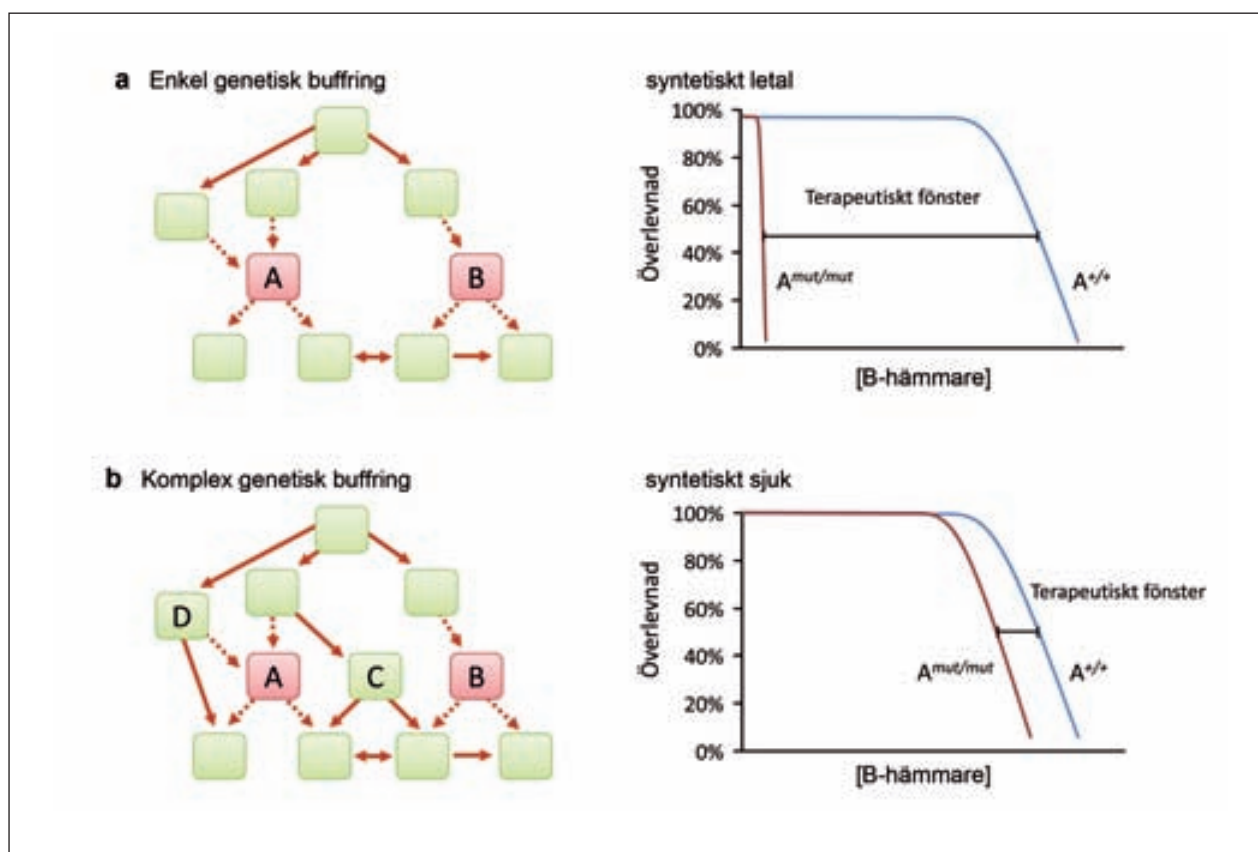
Figur 1. Det syntetisk letala konceptet för att selektivt döda cancerceller. Syntetisk letalitet uppstår när en kombination av två annars icke dödliga mutationer (ii, iii) kombineras för att producera en dödlig fenotyp (iv). Syntetisk letalitet mellan en cancermutation och ett målprotein gör att ett riktat läkemedel selektivt kan döda muterade cancerceller. Ett exempel på detta är PARP-hämmare som selektivt dödar BRCA1- eller BRCA2-muterade cancer. Syntetisk letalitet kan också uppstå vid höga doser av ett protein i kombination med en mutation eller ett läkemedel (v, vi). Exempel på detta är t ex en aktiverad KRAS-gen som är dödlig i kombination med STK33-kinaset eller proteiner involverade i mitosen<sup>79</sup>. I mikromiljöer kring tumörer, till exempel vid hypoxi, kan kontextuell syntetisk letalitet uppstå (vii). Ett exempel på detta är att PARP-hämmare behövs för överlevnad i hypoxiska mikromiljöer kring tumör<sup>80</sup>. Syntetiskt stark uppstår när en mutation återställer viabiliteten för en annars dödlig mutation (viii, ix). Ett utmärkt exempel på detta är mutationer i cancerceller som gör dem resistent mot behandlingar.

att cancercellerna ska överleva krävs att DNA:t behålls någorlunda intakt. PARP fyller här en viktig funktion för att se till att BRCA-muterade celler överlever trots den höga nivån av DNA-skador. När PARP trycks ned av PARP-hämmare fylls BRCA-defekta celler med DNA-skador som leder till celledöd.

Normala celler, som har ett funktionellt BRCA och betydligt lägre nivåer av DNA-skador, påverkas marginellt.

PARP-hämmare skiljer sig från de målriktade behandlingarna mot tillväxt genom att de dödar cancerceller genom DNA-skador. Skillnaden mellan PARP-hämmare och vanliga cytotatika, som introducerar DNA-skador, är att de dödliga DNA-skadorna endast uppkommer i cancercellerna, vil-

## GENETISK BUFFRING VID SYNTETISK LETALITET



Figur 2. Omfattande genetisk buffring försvårar att hitta syntetisk letalitet. Ett genetiskt nätverk behöver upprätthålla kontakt för att en cell ska överleva. I ett nätverk (a) där A är muterad kan B kompensera och behålla kontakterna i nätverket. I detta fall buffrar B för A defekten. En hämmare riktad mot B ger syntetisk letalitet och slår helt ut nätverket och dödar selektivt de A-muterade cellerna utan att skada vanliga celler. Detta ger ett stort terapeutiskt fönster. I ett nätverk (b) buffrar B, C och D för att främja överlevnad i avsaknad av A. Hämmning av B resulterar i en syntetisk sjuk cell som har något sämre fitness än en vanlig cell. Det terapeutiska fönstret blir då dåligt eftersom C och D buffrar för att cellen ska överleva. Eftersom genetiska nätverk ofta är komplexa är detta den vanligaste situationen.

ket ger milda biverkningar. En fördel med detta koncept jämfört med att hämma cancercellväxt är att direkt dödande DNA-skador bildas. Förväntningarna är att vi med detta koncept helt kan döda av cancer och förhoppningsvis även bota patienten.

Eftersom alla cancerceller har ett flertal mutationer gäller det att hitta den syntetiskt letala partnern som kan hämmas för att därefter selektivt döda cancercellerna utan att påverka vanliga celler. Tanken är att vi på detta sätt kan ta fram skraddarsydda behandlingar. Det är således ett ganska enkelt koncept och torde vara applicerbart på alla cancerformer.

### GENETISK BUFFRING

Tyvärr är genetiska nätverk inte uppbyggda så enkelt som vi skulle vilja, utan det finns i allmänhet flera parallella och alternativa nätverk. Dessutom finns det alternativa proteiner som kan utföra en biokemisk process, om än inte fullt så effektivt som det protein man normalt förknippar med processen. Detta kallas för genetisk buffring (figur 2).

Syntetiskt letala interaktioner kan finnas mellan många olika gener i cancerceller. Vilka typer av genetiska interaktioner kommer då att vara mest effektiva för att behandla

cancer? Redan nu känner vi till omfattande genetisk buffring inom tillväxtsignalering via kinaser, så jag ser det inte som särskilt troligt att syntetisk letalitet kommer att skörda stora framgångar inom detta område.

Låt oss komma ihåg att nuvarande cancerbehandlingar togs fram utifrån förmågan att döda cancer hos en substans, utan att man kände till mekanismen. Därefter visade det sig att flertalet hade samma verkningsmekanism, det vill säga att inducera DNA-skador. När flera oberoende studier identifierar DNA-skadande ämnen som effektiva mot cancer torde detta mål vara ett av de mest effektiva sätten att döda cancerceller.

Numera vet vi också att cancerceller har högre nivå av DNA-skador än normala celler och att dessa också spelar en central roll i att aktivera p53-medierad senescens, som förhindrar preneoplastiska lesioner att växa ut<sup>4,5</sup>.

Förutom höga nivåer av DNA-skador har många cancerceller också försämrade DNA-reparation, vilket genererar genetisk instabilitet som påskyndar de genetiska förändringarna som krävs för att utveckla cancer<sup>6</sup>. Med förhöjda DNA-skadenivåer och förlorad(e) DNA-reparationsväg(ar) blir cancerceller beroende av övriga reparationsvägar för att överleva.

## ”Det gäller att hitta den syntetiskt letala partnern som kan hämmas för att därefter selektivt döda cancercellerna utan att påverka vanliga celler.”

Jag tror att vi kommer att kunna använda det syntetiskt letala konceptet framförallt i DNA-reparationsområdet. Det var nog ingen slump att det första lyckade exemplet på syntetisk letalitet var ett där DNA-skador inducerades i cancerceller. Enligt min mening är det bara ytterligare en indikation på att även framtidens cancerbehandlingar kommer att ha sin grund i DNA-skador.

### FLYTTAR TILL SCILIFELAB

Hur går vi då tillväga? I min grupp, som nu lämnar Oxford och flyttar till Science for Life Laboratory (SciLifeLab) på Karolinska institutet, identifierar vi syntetiskt letala interaktioner och bygger upp nätverk mellan de gener som verkar inom DNA-skadeområdet. Vi har nu på SciLifeLab satt upp en facilitet för robotiserade siRNA-screeningar som gör detta möjligt.

Flera mycket spännande målproteiner har identifierats som vi tror kommer att få större genombrott och ha ett bredare användningsområde än de PARP-hämmare vi arbetat med tidigare.

Med en stor akademisk satsning på läkemedelskemi har vi nu tagit fram ett flertal potenta hämmare till flera av våra målprotein som vi nu utvärderar i olika cell- och djurmodeller. Nästa stora steg är att testa dessa i tidiga kliniska prövningar.

I Sverige har vi en lång tradition av innovativa kliniska fas I-prövningar, ledda av svenska läkare. Under det senaste decenniet har dessa tidiga studier till stor del flyttat till USA och andra europeiska länder.

Vi vill att nya cancerbehandlingar ska kunna utvecklas i Sverige och söker därför samverkan och samarbete med forskningsintresserade cancerläkare i hela Sverige. Tillsammans kan vi utveckla framtidens cancerbehandlingar.

### REFERENSER

1. Hartwell, L.H., Szankasi, P., Roberts, C.J., Murray, A.W. and Friend, S.H. (1997) Integrating genetic approaches into the discovery of anticancer drugs. *Science*, 278, 1064-1068.
2. Farmer, H., McCabe, N., Lord, C.J., Tutt, A.N., Johnson, D.A., Richardson, T.B., Santarosa, M., Dillon, K.J., Hickson, I., Knights, C. et al. (2005) Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*, 434, 917-921.
3. Bryant, H.E., Schultz, N., Thomas, H.D., Parker, K.M., Flower, D., Lopez, E., Kyle, S., Meuth, M., Curtin, N.J. and Helleday, T. (2005) Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose)polymerase. *Nature*, 434, 913-917.
4. Bartkova, J., Rezaei, N., Liontos, M., Karakaidos, P., Kletsas, D., Isaeva, N., Vassiliou, L.V., Kolettas, E., Niforou, K., Zoumpourlis, V.C. et al. (2006) Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature*, 444, 633-637.
5. Di Micco, R., Fumagalli, M., Cicalese, A., Piccinin, S., Gasparini, P., Luise, C., Schurra, C., Garre, M., Nuciforo, P.G., Bensimon, A. et al. (2006) Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature*, 444, 638-642.
6. Lengauer, C., Kinzler, K.W. and Vogelstein, B. (1998) Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 396, 643-649.
7. Scholl, C., Frohling, S., Dunn, I.F., Schinzel, A.C., Barbie, D.A., Kim, S.Y., Silver, S.J., Tamayo, P., Wadlow, R.C., Ramaswamy, S. et al. (2009) Synthetic lethal interaction between oncogenic KRAS dependency and STK33 suppression in human cancer cells. *Cell*, 137, 821-834.
8. Luo, J., Emanuele, M.J., Li, D., Creighton, C.J., Schlabach, M.R., Westbrook, T.F., Wong, K.K. and Elledge, S.J. (2009) A genome-wide RNAi screen identifies multiple synthetic lethal interactions with the Ras oncogene. *Cell*, 137, 835-848.
9. Barbie, D.A., Tamayo, P., Boehm, J.S., Kim, S.Y., Moody, S.E., Dunn, I.F., Schinzel, A.C., Sandy, P., Meylan, E., Scholl, C. et al. (2009) Systematic RNA interference reveals that oncogenic KRAS-driven cancers require TBK1. *Nature*, 462, 108-112.
10. Chan, N., Pires, I.M., Bencokova, Z., Coackley, C., Luoto, K.R., Bhogal, N., Lakshman, M., Gottipati, P., Oliver, F.J., Helleday, T. et al. (2010) Contextual synthetic lethality of cancer cell kill based on the tumor microenvironment. *Cancer Res*, 70, 8045-8054.

THOMAS HELLEDAY, PROFESSOR, CANCERTERAPI, GRAY INSTITUTE FOR RADIATION ONCOLOGY & BIOLOGY, UNIVERSITY OF OXFORD, STORBRIANNIENPROFESSOR, MOLEKYLÄRGENETIK, INSTITUTIONEN FÖR GENETIK, MIKROBIOLOGI OCH TOXIKOLOGI, STOCKHOLMS UNIVERSITET HELLEDAY@GMT.SU.SE

