

PODXL – ett prognostiskt protein vid cancer i urinblåsan

Cancer i urinblåsan är en av de vanligaste tumörformerna i vår del av världen. Den utgör cirka sju procent av cancer hos män och cirka tre procent av cancer hos kvinnor. Majoriteten av patienter med denna sjukdom har ytlig sjukdom vid diagnos, då det vanligaste debutsymtomet är makroskopisk hematuri. Trots detta ger oss sjukdomens oförutsägbara benägenhet att invadera och metastasera ett påtagligt kliniskt problem.

De tumörer som har störst risk att bli muskelinvasiva och sprida sig till andra organ är högggradiga tumörer med lamina propria-invasion (T1). Det gör de kirurgiska avvägandena svåra och denna grupp är föremål för en del kontroverser vad gäller den kliniska handläggningen¹. När sjukdomen väl har invaderat detrusormuskeln (T2) eller bortanför (T3–T4) har patienten stor recidivrisk och dålig prognos², även efter radikal cystektomi.

Flera olika cytostatika har visat effekt vid behandling av avancerad urinblåsecancer. I kring 40–70 procent av fallen ses objektiv respons, som minskad tumörbörda och minskade tumörrelaterade symtom, men komplett remission ses endast hos drygt 20 procent av fallen.

Remissionerna kan ibland vara långvariga och möjlighet till bot finns i enstaka fall. Flertalet remissioner är dock övergående³. Hos alla grupper av patienter med urinblåsecancer finns därför ett stort behov av nya prognostiska och/eller behandlingsprediktiva verktyg.

Främsta fokus för detta forskningsprojekt är att identifiera nya biomarkörer för högrisk T1-tumörer, det vill säga de som löper störst risk att recidivera efter första linjens behandling och som därmed skulle dra nytta av mer aggressiv terapi, till exempel primär cystektomi.

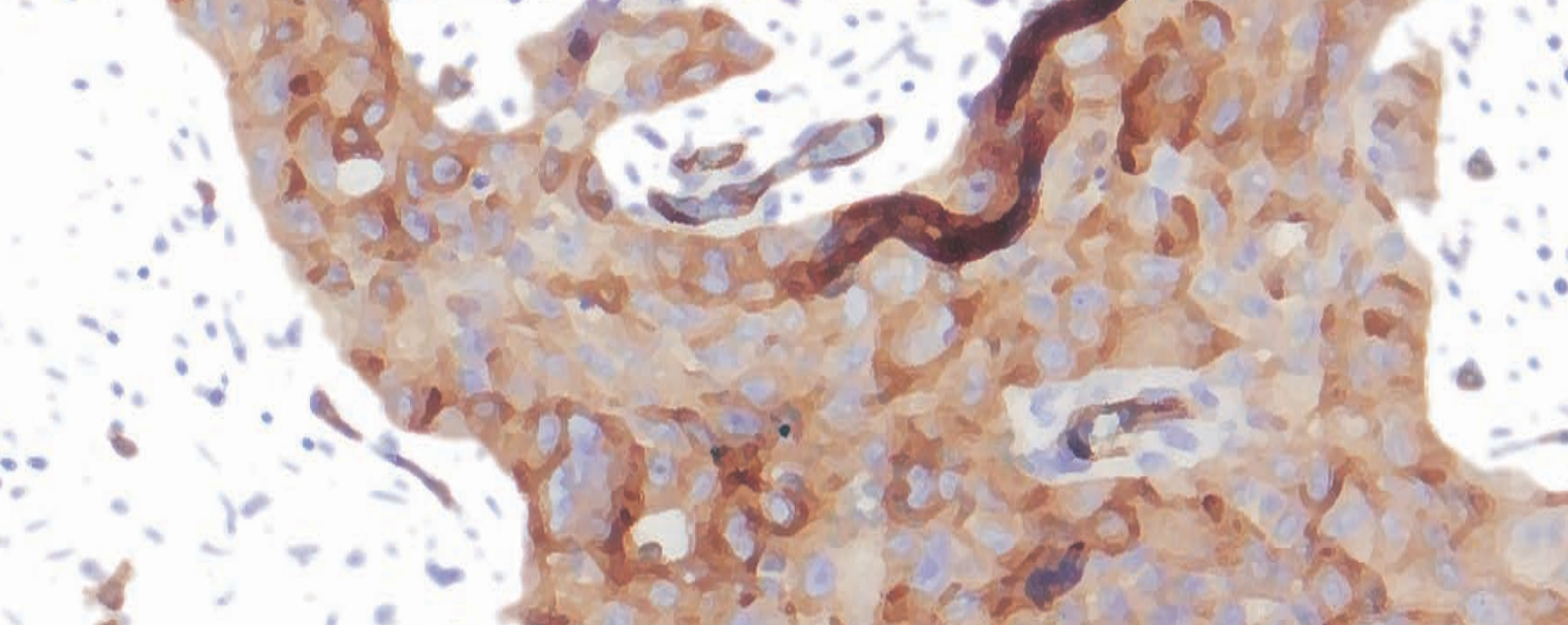
SPÄNNANDE SAMARBETE

I ett samarbete mellan Lunds universitet, Uppsala universitet och Kungliga tekniska högskolan/SciLifeLab studerades tumörmaterial från två olika kohorter av patienter med urinblåsecancer; en konsekutivt insamlad kohort från Skånes universitetssjukhus, Malmö, med alla patienter diagnostiserade med urinblåsecancer från 1 oktober 2002 till 31 december 2003 (kohort I; n=110) och en prospektiv kohort med patienter med nydiagnostiserad urinblåsecancer vid Uppsala universitetssjukhus från 1984 till 2005 (kohort II; n=344).

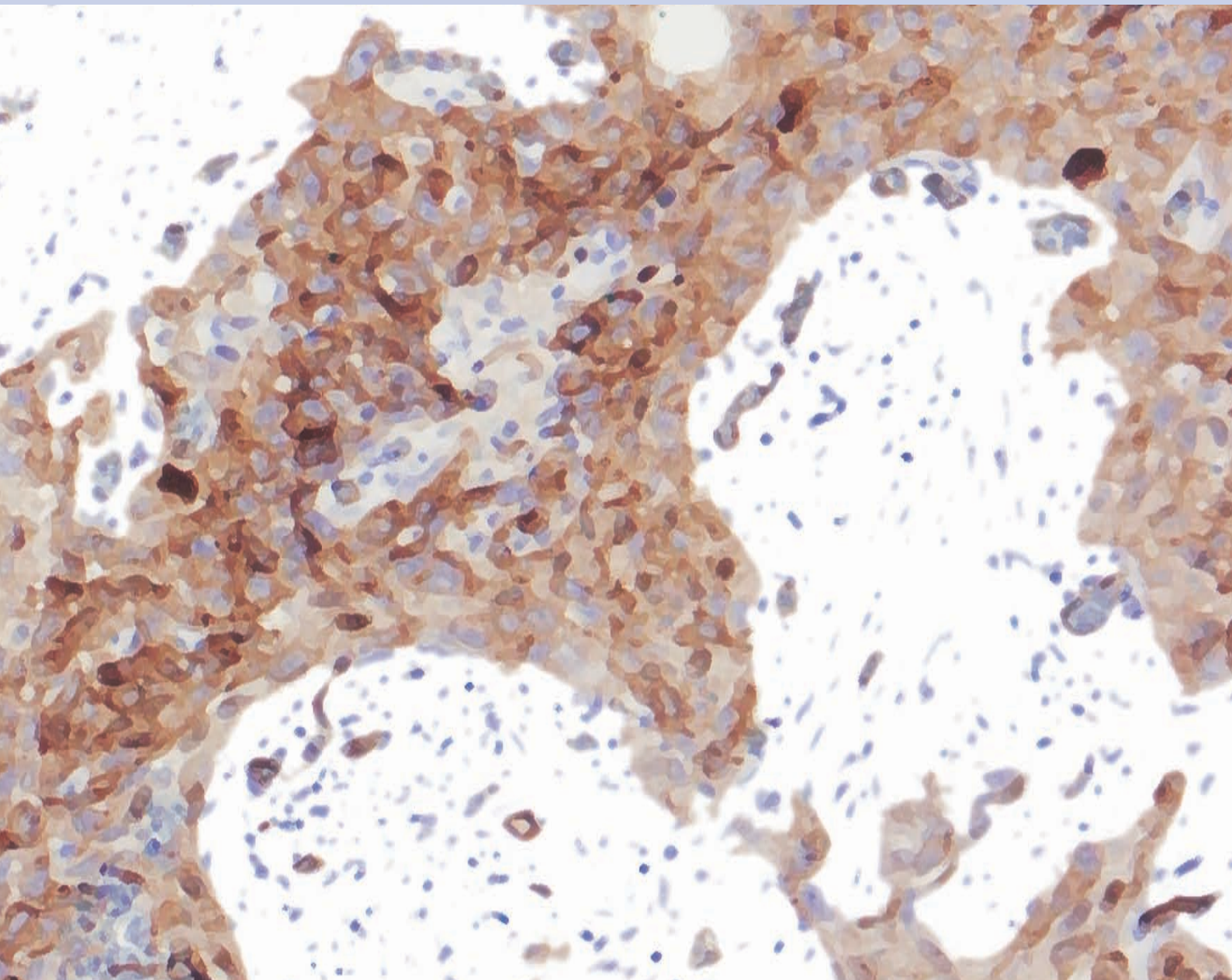
I kohort II samlades tumörproverna in retrospektivt och gruppen med icke-invasiva tumörer (Ta) reducerades till 115 fall. Samtliga tumörer eftergranskades av en patolog och reklassificerades enligt WHO 2004. Därefter konstruerades tissue microarrays (TMA) med dubletter från alla tumörer.

Kohort I användes som testkohort för tre olika antikroppar riktade mot PODXL. En väl validerad polyklonal, monospe-

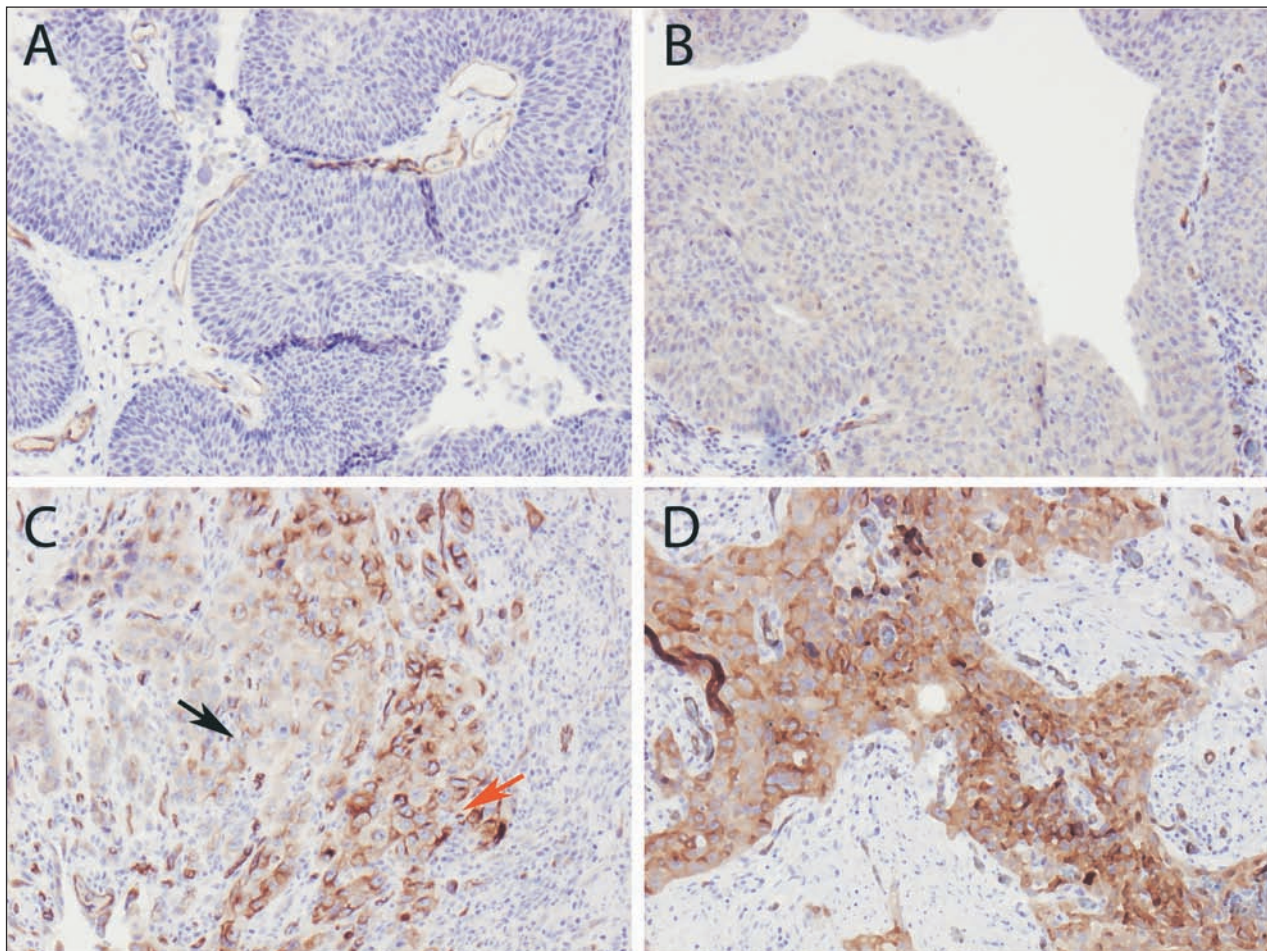
”Membranöst uttryck av PODXL är en oberoende markör för progressiv sjukdom och död hos patienter med urinblåsecancer.”



Nu går det att med mikroskop identifiera människor med cancer i urinblåsan som har större risk att återfalla och dö i sin sjukdom. I ett samarbete mellan Lunds universitet, Uppsala universitet och Kungliga tekniska högskolan/SciLifeLab har proteinet PODXL visat sig överlägset att förutse vilka som har god eller dålig prognos. Här presenterar **Karolina Boman**, ST-läkare vid Skånes Onkologiska Klinik och doktorand vid Lunds Universitet, resultatet av samarbetet.



PODXL-UTTRYCK I URINBLÅSECANCER



Figur 1. Immunohistokemiska bilder av urinblåsetumörer i tio gångers förstoring. A: Negativt cytoplasmatiskt PODXL-uttryck. B: Svagt cytoplasmatiskt PODXL-uttryck. C: Medelhögt cytoplasmatiskt PODXL-uttryck (svart pil) och partiellt (<50%) membranöst uttryck (röd pil). D: Membranöst PODXL-uttryck i mer än 50 procent av tumörcellerna. Förekomst av membranöst uttryck, som i C och D, är förenat med dålig prognos.

cifik antikropp (HPA002110)⁴, och två monoklonala antikropppar (klon 4F10 och klon CL0308) testades.

Kartläggning av epitoper och Western blot utfördes. Kohort II infärgades med HPA002110.

PODXL-uttrycket i tumörerna (figur 1) bedömdes som negativ svag cytoplasmatisk positivitet i någon del av cellerna, medelstark cytoplasmatisk positivitet i ≤ 50 procent av cellerna, distinkt membranös positivitet i ≤ 50 procent av cellerna och distinkt membranös positivitet i >50 procent av cellerna.

TYDLIGA RESULTAT

I testkohorten kunde PODXL-uttrycket med alla tre antikropparna utvärderas i 100 av 110 fall (90,9 procent). Proportionen av celler med cytoplasmatisk infärgning var lägre vid infärgning med de monoklonala antikropparna men för det membranösa uttrycket fanns en hundraprocentig överensstämmelse med PODXL:s vara eller inte vara.

Analys av relationen mellan PODXL-uttryck och kända kliniska faktorer visade en stark, signifikant relation mellan

membranöst PODXL-uttryck och mer avancerat T-stadium och högggradiga tumörer i båda kohorterna. Kaplan-Meieranalys och log-rank test användes och man såg att membranöst PODXL-uttryck var associerat med en signifikant reducerad femårsöverlevnad jämfört med icke-membranöst uttryck i hela materialet.

Liknande resultat sågs på sjukdomsspecifik överlevnad (DSS) i kohort II. Associationen mellan membranöst PODXL-uttryck bekräftades i en univariat Cox-analys och var fortsatt signifikant även i multivariat analys justerad för ålder, kön, T-stadium och grad. Cytoplasmatiskt PODXL-uttryck var inte prognostiskt i någon del av materialet.

Vidare sågs vid analys av PODXL-uttryck i gruppen med Ta- och T1-tumörer, trots den låga andelen av positiva fall i denna grupp, en ökad risk för sjukdomsprogression (univariat HR = 6,19; 95% CI = 1,42–26,98, multivariat HR = 4,60; 95% CI = 1,04–20,39) och PODXL var även oberoende prediktor för ökad risk för död i sjukdomen (univariat HR=8,34; 95% CI = 3,21–21,65 och multivariat HR = 7,16; 95% CI = 2,72–18,81).

PODXL NU OCH I FRAMTIDEN

Vår forskargrupp vid Lunds universitet, ledd av professor Karin Jirström, visade 2011 för första gången att patienter med cancer i tjock- eller ändtarmen, vars tumörer uttrycker proteinet PODXL i cellmembranet, har en signifikant ökad risk för återfall och död i sin sjukdom.

I ett samarbete mellan vår grupp och forskargrupper i Uppsala och på KTH har vi nu även visat att PODXL är en stark prognosmarkör vid urinblåsecancer: Analys av tumörer från närmare 500 patienter har visat att det finns en stark och oberoende koppling mellan uttryck av PODXL i tumörernas cellmembran och risk för ett mer aggressivt sjukdomsförlopp och död. Detta samband sågs även i de tidigt upptäckta, alltså ytliga tumörerna.

Observationen att det enbart är uttrycket av PODXL i cellmembranet, och inte i cytoplasman, som ger denna försämrade prognos stämmer väl med tidigare fynd i andra tumörformer. In vitrostudier har visat att överuttryck av PODXL ger en sämre celladhesion vid ovarialcancer, vilket rimligen kan ge upphov till en större andel cirkulerande tumörceller. Därtill har PODXL i pankreascancer setts vara en funktionell ligand till selektiner, vilket kan antyda att expressionen kan bidra till hematogenetisk spridning av cancercellerna genom att underlätta bindningen till selektinuttryckande celler. PODXL har också setts forma komplex med ezrin i bröst- och prostatacancer, vilket in vitro gett upphov till ökad migration och invasion⁵⁻⁸.

Tidigare har detektion av PODXL i urin visat sig vara användbart för att diagnostisera olika tillstånd relaterade till glomerulär skada^{9,10}. Därför skulle det också, utöver det tydliga prognostiska värdet vi funnit, vara intressant att undersöka huruvida PODXL-nivåer i urin korrelerar till det tumörspecifika uttrycket och utfallet för en patient med urinblåsecancer. Potentiellt skulle detta kunna visa sig vara en icke-invasiv metod för att bättre monitorera patienter med icke-muskelinvasiv sjukdom.

SAMMANFATTNING

Sammanfattningsvis visar vår studie alltså att membranöst uttryck av PODXL i två oberoende patientkohorter är en oberoende markör för progressiv sjukdom och död hos patienter med urinblåsecancer. Fynden ger ytterligare stöd till tidigare observationer, både från laboratoriet och kliniken, att PODXL ger upphov till en mer malign tumörfenotyp i flera stora cancerformer. Vi hoppas att i framtiden ytterligare kunna belysa de funktionella mekanismer som är relevanta vid urinblåsecancer, samt validera den potentiella kliniska nyttan av PODXL som prognostisk biomarkör vid denna cancerform.

LÄS MER

Artikeln i sin helhet finns att läsa i British Journal of Cancer.

REFERENSER

1. Masood S, Sriprasad S, Palmer JH, Mufti GR. T1G3 bladder cancer-indications for early cystectomy. *International urology and nephrology*. 2004;36(1):41-4. Epub 2004/09/02.
2. Soloway MS, Lopez AE, Patel J, Lu Y. Results of radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder and the effect of chemotherapy. *Cancer*. 1994;73(7):1926-31. Epub 1994/04/01.
3. Sonpavde G, Elfiky AA, Rosenberg JE. Novel agents for advanced bladder cancer. *Therapeutic advances in medical oncology*. 2009;1(1):37-50. Epub 2009/07/01.
4. Larsson A, Fridberg M, Gaber A, Nodin B, Leveen P, Jonsson G, et al. Validation of podocalyxin-like protein as a biomarker of poor prognosis in colorectal cancer. *BMC cancer*. 2012;12:282. Epub 2012/07/10.
5. Cipollone JA, Graves ML, Kobel M, Kalloger SE, Poon T, Gilks CB, et al. The anti-adhesive mucin podocalyxin may help initiate the transperitoneal metastasis of high grade serous ovarian carcinoma. *Clinical & experimental metastasis*. 2012;29(3):239-52. Epub 2012/01/21.
6. Dallas MR, Chen SH, Streppel MM, Sharma S, Maitra A, Konstantopoulos K. Sialofucosylated podocalyxin is a functional E- and L-selectin ligand expressed by metastatic pancreatic cancer cells. *American journal of physiology Cell physiology*. 2012;303(6):C616-24. Epub 2012/07/21.
7. Larsson A, Johansson ME, Wangefjord S, Gaber A, Nodin B, Kucharzewska P, et al. Overexpression of podocalyxin-like protein is an independent factor of poor prognosis in colorectal cancer. *British journal of cancer*. 2011;105(5):666-72. Epub 2011/08/11.
8. Casey G, Neville PJ, Liu X, Plummer SJ, Cicek MS, Krumroy LM, et al. Podocalyxin variants and risk of prostate cancer and tumor aggressiveness. *Human molecular genetics*. 2006;15(5):735-41. Epub 2006/01/26.
9. Sato Y, Wharram BL, Lee SK, Wickman L, Goyal M, Venkatarreddy M, et al. Urine podocyte mRNAs mark progression of renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2009;20(5):1041-52. Epub 2009/04/25.
10. Zheng M, Lv LL, Ni J, Ni HF, Li Q, Ma KL, et al. Urinary podocyte-associated mRNA profile in various stages of diabetic nephropathy. *PLoS one*. 2011;6(5):e20431. Epub 2011/06/10.

KAROLINA BOMAN, ST-LÄKARE, SKÅNES ONKOLOGISKA KLINIK OCH DOKTORAND,
LUNDS UNIVERSITET KAROLINA.BOMAN@MED.LU.SE

