



MEDLEMMAR I p53- FAMILJEN REGLERAR METASTASERING

Ny kunskap om hur processen ser ut när tillväxtfaktorn TGF-beta omvandlas från att först motverka tumörutveckling till att tvärtom stimulera en tumörs utveckling kan på sikt användas i kampen mot cancer. Nya fynd kan göra det möjligt att selektivt hämma de TGF-beta-signaler som stimulerar tumörutveckling utan att slå ut signaler som hämmar tumörutveckling. Det skriver **Eleftheria Vasilaki**, postdoktor, och professor **Carl-Henrik Heldin** vid Ludwiginstitutet, Uppsala universitet, i en sammanfattning av en studie som nyligen publicerats i tidskriften Science Signaling.

– ny kunskap kastar ljus över komplicerade processer

Hos de flesta cancerpatienter som dör av sin sjukdom har cancercellerna invaderat sin omgivning och bildat metastaser. Även om primärtumören avlägsnas och patienten behandlas med kemoterapi eller strålning, kommer cancer ibland tillbaka; cirkulerande tumörceller, inkluderande tumörstamceller, lyckas ibland undvika behandlingen och immunförsvaret, och sätta metastaser i olika vävnader¹. För att kunna behandla patienter med avancerad cancer och metastaser, är det viktigt att kartlägga mekanismerna som styr denna flerstegsprocess. Flera forskningsgrupper försöker därför förstå hur och varför cancerceller metastaserar.

KOMPLICERAD ROLL

Nyligen gjorda iakttagelser visar att cancerceller kommunicerar med varandra och med andra celltyper med olika signalsubstanser, så kallade tillväxtfaktorer eller cytokiner. Ett sådant exempel är transformering growth factor β (TGF β) som utsöndras av cancerceller och andra

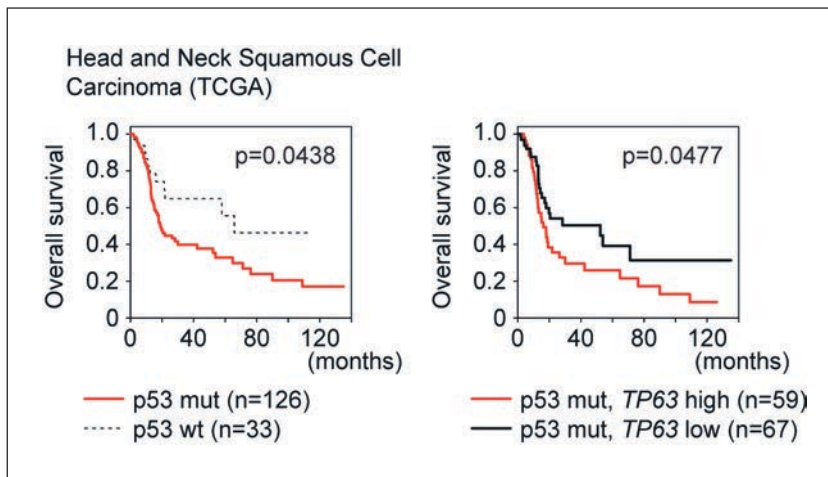
”Initialt undertrycker TGF β cancerutveckling genom att hämma celltillväxt och inducera celledöd genom apoptos, men i senare skeden stimulerar TGF β tillväxt, spridning och metastasering av tumörceller.”

celler, och som underlättar tumörprogression och metastasering genom att verka på såväl cancerceller som de normala celler som omger cancercellerna, cancerstromat². Mekanismerna med vilka TGF β verkar på celler har kartlagts vid Ludwiginstitutet för cancerforskning vid Uppsala universitet under de senaste 30 åren. TGF β har en komplicerad roll under tumörutvecklingen. Initialt undertrycker TGF β cancerutveckling genom att hämma celltillväxt och inducera celledöd genom apoptos, men i senare skeden stimulerar TGF β tillväxt, spridning och metastasering av tumörceller. TGF β signalerar huvudsakligen via Smadproteiner som aktive-

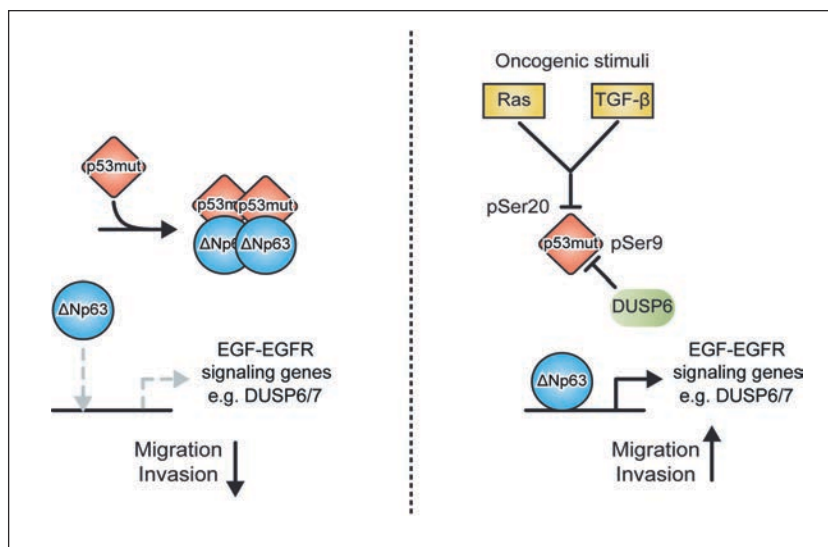
ras av TGF β -receptorerna och sedan translokeras till cellkärnan där de verkar som transkriptionsfaktorer^{3,4}. Paradoxalt nog aktiveras samma signalproteiner av TGF β i normala celler och i cancerceller. En intressant fråga är då varför effekten av TGF β -signalering är olika i normala celler och i tumörceller. En annan intressant fråga är om det skulle vara möjligt att selektivt hämma TGF β :s tumörstimulerande signaler och lämna de tumörhämmande signalerna i fred.

Det finns bevis för att den tumörstimulerande effekten av TGF β erhålls genom samspel med olika onkogen signalvägar. Bland dessa finns tumör-

••• metastasering



Figur 1. Kaplan-Meier-analys av överlevnad för patienter med "Head and Neck" skivepitelcancer, i relation till p53-mutation och förekomst av Δ Np63. Data hämtades från TCGA-databasen och analyserades med en "log-rank" test (6).



Figur 2. Föreslagen modell för ömsesidig hämning av TGF β , Ras, DUSP6/7 och muterat p53 (mutp53). I frånvaro av aktivt Ras och TGF β , är mängden muterat p53 hög och kan därför binda och neutralisera Δ Np63:s effekt på genreglering. Aktivering av Ras och TGF β -signalering leder till ändring av fosforyleringen av muterat p53, vilket orsakar dess nedbrytning. Den lägre mängden p53 kan då inte hämma Δ Np63 längre, utan dess genreglerande aktivitet förstärks och syntesen ökar av flera proteiner som stimulerar migration och metastasering av tumörceller. Bland dessa finns DUSP6/7 som defosforylerar vissa aminosyrarester i p53 vilket ytterligare påskyndar dess nedbrytning och därigenom förstärker effekten.

proteinet Ras som aktiverar en kedja kinaser som kallas MAP-kinaser; mutationer i komponenterna i denna signalväg är vanliga i cancerceller, vilket stimulerar spridning och invasion av cancerceller synergistiskt med TGF β ⁵. Syftet med föreliggande forskningsprojekt, som bedrivs vid Ludwiginstitutet för cancerforskning under handledning av Kohei Miyazono och Carl-Henrik

Heldin, är att undersöka effekten av signalering via TGF β och Ras-MAP-kinas på funktionen av medlemmar av p53-familjen⁶.

KAN BILDA KOMPLEX

P53-familjen består av transkriptionsfaktorerna p53, p63 och p73 som kan undertrycka såväl som stimulera tumörutveckling beroende på isoform

och celltyp. De olika p53-medlemmarna kan också bilda komplex och påverka varandras funktion⁷. p53-genen är muterad i ungefär 50 procent av alla tumörer⁸. Däremot är p63 sällan muterad, vilket indikerar att denna gen inte är en klassisk tumörsuppressorgen. p63-proteinet förekommer som flera olika isoformer, varav en, Δ Np63, stimulerar cellproliferation, överlevnad och motilitet av skivepitelcancer-celler av olika typer samt bröstcancer-celler, och därmed stimulerar deras tumörutveckling⁹.

I vår studie använde vi humana hudceller, keratinocyter, som har en muterad p53-gen. Vi kartlade först var i genomet Δ Np63 binder i närvaro och frånvaro av aktiverat Ras och TGF β -stimulering. Vi fann att Ras och TGF β ökade bindningen av Δ Np63 till olika ställen i genomet och påverkade vilka gener Δ Np63 reglerade. Flera av de gener som aktiverades av Ras, TGF β och Δ Np63 är inblandade i reglering av cellmigration och i cellens svar på stimulering av tyrosinkinaser, inkluderande receptorn för epidermal growth factor (EGF), en viktig tillväxtfaktor för epitelceller.

För att förklara mekanismen med vilken Ras och TGF β ökar Δ Np63:s bindning till genomet, undersökte vi om muterat p53 var inblandat. Det är nämligen känt att muterat p53 kan binda till p63, och hämma dess effekt^{7,8}. Vi fann att aktivt Ras och TGF β -stimulering minskade mängden muterat p53 och därmed minskade dess hämmande effekt på Δ Np63, vilket resulterade i ökad bindning av Δ Np63 till genomet. Dessa fynd stimulerade oss att ytterligare belysa betydelsen av Δ Np63 och två av dess målgener, DUSP6 och DUSP7 som kodar för fosfataser, för migration och invasion av bröstcancer- och skivepitelcancer-celler. Vi fann att Δ Np63, DUSP6 och DUSP7 ökar migration och invasion av dessa celler. För att undersöka om dessa fynd har prognostiskt värde för tumörpatienter, undersökte vi databasen "The Cancer Genome Atlas" (TCGA). Vi observerade att Δ Np63 föreligger i stora mängder i 81-100 procent av skivepitelcancer av typen "Head and Neck"¹⁰. Vi fann också att ökad mängd Δ Np63 stimulerade metastasering av bröstcancer-celler i möss, samt korrelerade med då-

”Eftersom TGFβ har både tumörhämmande och tumörstimulerande effekter, skulle det vara en fördel om man kunde selektivt hämma de tumörstimulerande effekterna.”

lig prognos för patienter med tumörer med muterat p53 (Fig. 1).

Våra observationer visar att aktivt Ras och TGFβ-stimulering förstärker tumörutvecklingen genom att orsaka nedbrytning av muterat p53 vilket leder till förstärkt genreglerande effekt av ΔNp63. Eftersom stabiliteten av muterat p53 regleras via fosforylering, undersökte vi om Ras/TGFβ, ΔNp63/DUSP6/7 påverkar fosforyleringen av p53. Vi fann att Ras och TGFβ inducerade fosforylering av vissa aminosyrarester i amino-terminalen av p53, medan DUSP6 defosforylerade andra aminosyrarester, vilket sammantaget påskyndade nedbrytningen av p53.

STÖRD SIGNALERING I TUMÖRER

Sammanfattningsvis stödjer våra fynd hypotesen att aktivt Ras och TGFβ-signalering minskar mängden muterat p53, vilket förstärker effekten av en annan medlem i p53-familjen, ΔNp63, och leder till ökad invasivitet och metastasering (Fig. 2). Våra fynd visar att fullständig förlust av p53 resulterar i ökad migration och metastasering av tumörer, jämfört med om ett muterat p53-protein finns i cellen, samt att balansen av olika p63-isoformer påverkar tumörutvecklingen av celler med muterat p53.

TGFβ-signalering har visats vara störd i tumörer. Försök har därför gjorts att hämma tumörutveckling genom att hämma TGFβ-signalering, till exempel genom att hämma dess receptorer. Eftersom TGFβ har både tumörhämmande och tumörstimulerande effekter, skulle det vara en fördel om man kunde selektivt hämma de tumörstimulerande effekterna. Såväl Ras som p53 är ofta muterade i cancerceller. Identifieringen av ΔNp63 som en gemensam nedströmskomponent kan ge möjligheter att utveckla nya, patient-specifika, behandlingsmetoder för tumörer med muterat p53, aktiverat Ras och ökad TGFβ-signalering.

REFERENSER

1. J. Massague, A. C. Obenauf, Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature* 529, 298-306.
2. C. Bellomo, L. Caja, A. Moustakas, Transforming growth factor beta as regulator of cancer stemness and metastasis. *Br. J. Cancer*.
3. C. H. Heldin, A. Moustakas, Signaling Receptors for TGF-beta Family Members. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8.
4. M. Morikawa, D. Koinuma, K. Miyazono, C. H. Heldin, Genome-wide mechanisms of Smad binding. *Oncogene* 32, 1609-1615 (2013).

5. K. Miyazono, S. Ehata, D. Koinuma, Tumor-promoting functions of transforming growth factor-beta in progression of cancer. *Ups. J. Med. Sci.* 117, 143-152 (2012).

6. E. Vasilaki, M. Morikawa, D. Koinuma, A. Mizutani, Y. Hirano, S. Ehata, A. Sundqvist, N. Kawasaki, J. Cedervall, A. K. Olsson, H. Aburatani, A. Moustakas, K. Miyazono, C. H. Heldin, Ras and TGF-beta signaling enhance cancer progression by promoting the Delta Np63 transcriptional program. *Sci Signal* 9, ra84.

7. X. Su, D. Chakravarti, E. R. Flores, p63 steps into the limelight: crucial roles in the suppression of tumorigenesis and metastasis. *Nat. Rev. Cancer* 13, 136-143 (2013).

8. P. A. Muller, K. H. Vousden, Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer Cell* 25, 304-317.

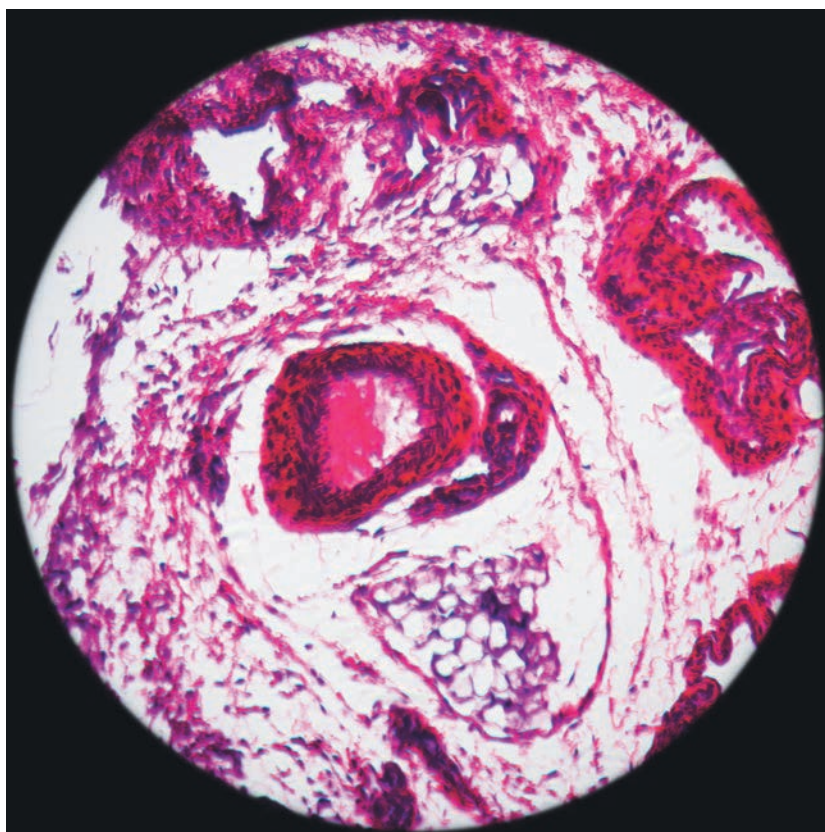
9. G. Melino, E. M. Memmi, P. G. Pelicci, F. Bernassola, Maintaining epithelial stemness with p63. *Sci Signal* 8, re9.

10. V. Graziano, V. De Laurenzi, Role of p63 in cancer development. *Biochim. Biophys. Acta* 1816, 57-66.

ELEFThERIA VASILAKI, POSTDOKTOR,
LUDWIGINSTITUTET VID UPPSALA UNIVERSITET,
RIA.VASILAKI@LICR.UU.SE



CARL-HENRIK HELDIN, PROFESSOR,
LUDWIGINSTITUTET VID UPPSALA UNIVERSITET,
C-H.HELDIN@LICR.UU.SE



Boka dig för vårt **nyhetsbrev** och Onkologi i Sverige som **blädderbar PDF**

Vi skickar sedan flera år tillbaka ett nyhetsbrev där vi länkar de nyheter vi lagt ut på www.onkologiisverige.se under veckan som gått. Det blir med andra ord en bra sammanfattning av nyhetsflödet inom ert område. Om du vill hålla dig uppdaterad går du in på webbsidan och anmäler dig i det formulär du hittar under en stor knapp som det står prenumerera på i högerspalten på förstasidan. Där kan du också klicka för om du vill ha tidningen som blädderbar PDF. Om du hellre skickar ett mail med uppgifterna till info@onkologiisverige.se går det lika bra.

Onkologi i sverige
den oberoende
tidningen för
svensk cancervård

Pharma Industry Publishing AB
Tyra Lundgrens väg 6, 134 40 Gustavsberg
telefon +46 8 570 10 520
e-mail: info@onkologiisverige.se
Hemsida: www.pharma-industry.se