

Den främsta orsaken till att människor dör i bröstcancer och andra cancerformer är att sjukdomen sprider sig och börjar växa i viktiga organ som lungor och lever. Vi vet fortfarande ganska lite om hur och varför cancer sprider sig och det finns idag inga läkemedel som är specifikt inriktade på att förhindra spridning av cancerceller. Spridningsprocessen inleds med att cancerceller blir motila och invaderar närliggande vävnad. I en ny studie från Karolinska Institutet visas hur den invasiva förmågan hos bröstcancerceller är kopplad till förlust av cellidentitet¹. Här beskrivs fynden av **Jonas Fuxe**, KI-forskare och associerad professor vid Institutionen för mikrobiologi, tumör- och cellbiologi, som lett studien tillsammans med kolleger på Karolinska Institutet och forskare på Uppsala och Umeå universitet i Sverige, samt vid Weill Cornell Medicine i New York.

Bröstcancerceller blir invasiva

1. VAD ÄR CELLIDENTITET?

De stamceller som bildas under de första celldelningarna efter att spermien har befruktat äggcellen har kapacitet att bilda alla de olika celltyper som krävs för att skapa vävnader, organ och slutligen ett helt foster. När cellerna differentieras under fosterutvecklingen får de olika cellidentitet och specialiserade funktioner. Vissa blir muskelceller medan andra utvecklas till nervceller, immunceller, stödjeceller (till exempel fibroblaster) etc. Man har länge trott att celler som blivit differentierade är fastlåsta i sin specialiserade identitet. För drygt 10 år visade dock forskare att även fullt differentierade celler har en viss plasticitet och att cellidentitet är något som kan förändras. Genom att överuttrycka några olika stamcells faktorer kunde Yamanakas och Gurdons forskarteam visa att differentierade celler från huden kan omprogrammeras till stamceller. Det var ett paradigmskifte inom medicinsk cellbiologi och upptäckterna belönades med Nobelpris 2012.

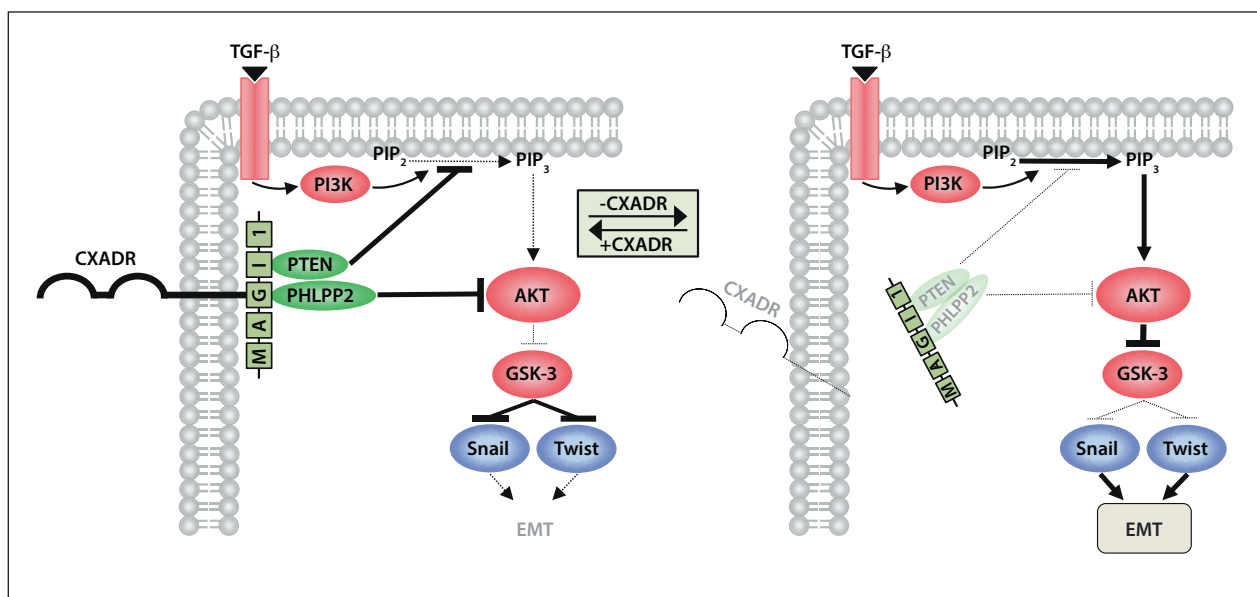
2. CANCER BILDAS OFTAST I EPITELCELLER

De flesta cancerformer som drabbar vuxna människor utgår från epitelceller, vilka bildar semipermeabla barriärer mellan vårt inre och det yttre. Epitelceller finns i huden samt utgör de celler som kantar kroppens hålrum som luftvägar, urinvägar och magtarmkanalen. Även körtlar och körtelgångar är uppbyggda av epitelceller. En trolig orsak till att cancer ofta får sitt fotfäste i epitelceller är att dessa celler är i kontakt med vår omgivning. Epitelceller i luftvägar och i mag-tarmkanalen utsätts för cancerframkallande ämnen i luften vi andas och födoämnen vi äter. På liknande sätt är epitelceller i huden de som utsätts för solens ultravioletta strålar som kan orsaka DNA-skador.

Epitelceller i olika delar av kroppen har en del unika egenskaper men ett antal gemensamma karakteristika. Deras funktion som barriärer är kopplad till förmågan att interagera och kommunicera med varandra via olika cell junctions. Tightly junctions, vilka identifierades mikroskopiskt



genom att ändra identitet



I den aktuella studien upptäcktes att tight junction-proteinet CXADR är viktigt för bildandet av ett signaleringsnätverk som hämmar AKT-signaleringsvägen och därmed reglerar epitelial identitet i bröstcancer celler. Vänster bild; Förutom CXADR och adaptorproteinet MAGI-1 identifierades de två fosfataser PTEN och PHLPP2 som delar av tight junction-nätverket. PTEN fungerar som en uppströms broms av AKT-signaleringsvägen medan PHLPP2 är en direkt AKT-hämmare. Höger bild; Upptäckten gjordes att förlust av CXADR i bröstcancer leder till destabilisering av PTEN och PHLPP2 och som konsekvens – hyperaktivering av AKT-signaleringsvägen. Detta medför att cancer cellerna lättare genomgår så kallad epithelial-mesenchymal transition (EMT) av cytokinen TGF- β , vilket innebär att de förlorar sin epiteliala identitet och blir mer invasiva.

om "kissing points" mellan epitelceller, är multi-protein-komplex belägna nära gränsen mellan den laterala och apikala ytan. Tight junctions är sammansatta av olika typer av transmembranproteiner som på utsidan av membranet bildar strukturella enheter genom att interagera med samma typer av proteiner på närliggande celler. På insidan av membranet bildar dessa proteiner nätverk med olika typer av så kallade adaptorproteiner. På senare tid har det visat sig att tight junction-baserade proteinnätverk spelar en viktig roll som kopplingsstationer för signaler som reglerar epitelcellers differentiering, polarisering och proliferation. Sammansättningen av dessa nätverk har dock inte varit kartlagd.

3. SPRIDNING AV CANCER ÄR KOPPLAT

TILL FÖRLUST AV CELLIDENTITET

Ny forskning har visat att cancer cellers förmåga att invadera omkringliggande vävnad och sprida sig är kopplat till förändrad cellidentitet. Genom en process som kallas epithelial-mesenchymal transition (EMT) kan bröstcancer celler och andra cancer celler med epitelialt ursprung förvandlas till celler med invasiva egenskaper². EMT är en process som normalt är aktiv under fosterutvecklingen. Vissa epitelceller genomgår då EMT för att migrera till en annan del av fostret och bilda en ny typ av celler och vävnad. EMT-processen aktiveras av olika typer av cytokiner, framförallt medlemmar i transforming growth factor-beta (TGF- β) familjen. Ökade halter av TGF- β ses ofta i cancertumörer och är kopplat till reaktivering av EMT och spridning av bröstcancer. TGF- β kan produceras av cancer celler men en annan viktig källa är immunceller som infiltrerar tumörstroma.

Cancer celler som genomgår EMT förlorar sina epiteliala egenskaper och börjar efterlikna mesenchymala celler som fibroblaster. De får därvid en ökad kapacitet att sprida sig och metastasera. EMT är också kopplat till utvecklande av kemoresistens. Nyligen genomförda studier tyder på att EMT är en dynamisk process och att cancer celler kan röra sig mellan olika grader av epiteliala och mesenchymala tillstånd. Ett av de tidigaste kännetecknen av EMT är förlust av tight junctions. Det har därför föreslagits att tight junctions kan fungera som "gatekeepers", som reglerar förmågan hos cancer celler att genomgå EMT. Som sådana skulle tight junctions kunna vara användbara mål för att stärka epiteliala egenskaper och därigenom förhindra eller till och med reversera EMT för att hämma cancer invasion, migration och metastasering. Kunskap om hur tight junction-baserade proteiner och signalnätverk kontrollerar EMT har dock saknats.

4: IDENTIFIERING AV CXADR SOM ETT TIGHT JUNCTION

-PROTEIN SOM REGLERAR BRÖSTCANCER CELLERS IDENTITET

Målet med vår studie var att undersöka kopplingen mellan tight junctions och EMT i bröstcancer. Vi var specifikt intresserade av att identifiera tight junction-baserade signalnätverk som kontrollerar EMT. Vi studerade ett transmembranprotein som kallas för coxsackie- och adenovirusreceptor (CXADR). Proteinets fick ursprungligen sitt namn efter att ha identifierats som en receptor med hög affinitet för coxsackie B och adenovirus typ C. CXADR har visat sig kunna interagera med andra CXADR-molekyler på närliggande epitelceller och reglera cell adhesion och permeabilitet. En av anledningarna till att vi blev intresserade av just

CXADR-proteinet är att det till skillnad från många andra tight junction-proteiner har visat sig ha essentiell betydelse för normal fosterutveckling. Utslagning av CXADR-genen i musfoster leder till defekt utveckling av flera organsystem, inklusive hjärtat och det lymfatiske systemet. Förlust av CXADR resulterar även i förändrad epitelbarriär i tarmkanalen och atrofi av exokrina pankreas. Likt andra tight junction-proteiner blir CXADR nedreglerad när bröstcancerceller genomgår EMT. Förlust av CXADR har även kopplats till de-differentiering, invasion och sämre prognos i olika typer av cancer. Den molekylära funktionen för CXADR har dock inte varit känd och det har heller inte varit klarlagt huruvida CXADR har betydelse för EMT-processen.

För att undersöka detta använde vi oss av modellsystem där vi kan studera EMT i bröstcancerceller. Vi upptäckte att mängden CXADR i cellerna påverkade deras förmåga att genomgå EMT. Vid förlust av CXADR gick bröstcancerceller lättare in i EMT och fick ökad invasiv kapacitet. Motsatt fann vi att överuttryck av CXADR i celler som redan var i EMT ledde till att de återfick vissa epitelcellsegenskaper. Resultaten tydde alltså på att CXADR reglerar bröstcancercellers epiteliala identitet och förmåga att genomgå EMT samt utveckla invasiva egenskaper.

5. CXADR BILDAR ETT PROTEINNÄTVERK SOM REGLERAR EMT I BRÖSTCANCER

Med dessa resultat som utgångspunkt ville ta reda på mekanismerna för hur CXADR påverkar EMT. Vi upptäckte att CXADR reglerade AKT-signaleringsvägen, en av de mest hyperaktiva signaleringsvägarna i cancer och som reglerar en rad olika cellulära processer som proliferation, migration och överlevnad. AKT-signaleringsvägen har även visat sig vara viktig för induktion av EMT och aktiveras genom att cytokiner som TGF- β binder och aktiverar serin- och tyrosinkinaser på cellernas yta. Detta leder till aktivering av fosfatidylinositol-3 kinaset (PI3K) som fosforylerar fosfatidylinositolbifosfat (PIP2) till trifosfat (PIP3). PIP3 i sin tur rekryterar AKT till cellmembranet där det blir fosforylerat och aktiverat av ett annat kinas som kallas PDK. Vad vi fann var att förlust av CXADR ledde till hyperaktivering av AKT-signaleringsvägen och motsatt blev AKT-signaleringsvägen hämmad i celler när vi överuttryckte CXADR. Det tydde på att CXADR reglerar EMT genom att fungera som broms på AKT-signaleringsvägen.

För att försöka förstå på vilket sätt CXADR kunde reglera AKT-signaleringsvägen studerade vi CXADR-proteins struktur. Vi visste att den intracellulära delen av CXADR-proteinet innehåller en viss speciell aminosyrasekvens

som gör att det kan interagera med olika adaptorproteiner. Genom olika experiment kunde vi visa att CXADR och adaptorproteinet MAGI-1 bildar ett tight junction-baserat proteinnätverk tillsammans med två olika fosfataser; PTEN och PHLPP2, vilka båda fungerar som hämmare av AKT-signaleringsvägen. PTEN defosforylerar PIP3 till PIP2, vilket motverkar effekten av PI3-kinaset och fungerar som en broms som förhindrar att inkommande signaler triggar hyperaktivering av AKT-signaleringsvägen. PHLPP2, å andra sidan, defosforylerar AKT direkt och inaktiverar därmed AKT-molekyler som redan blivit aktiverade. Våra resultat visade alltså att CXADR bildar ett signaleringsnätverk med PTEN och PHLPP2 vid tight junctions och därmed hämmar AKT-signaleringsvägen på två nivåer; både preventivt och inaktiverande.

6: KAN MAN I FRAMTIDEN FÖRHINDRA SPRIDNING AV CANCER GENOM ATT PÅVERKA CELLIDENTITET?

Ytterligare studier visade att CXADR var nödvändig för bildandet och stabiliseringen av det tight junction-baserade nätverket och för kontroll av AKT-signaleringsvägen. När CXADR förlorades i bröstcancerceller blev PTEN och PHLPP2 destabiliserade, vilket ledde till hyperaktivering av AKT och att cellerna genomgick EMT och fick invasiva egenskaper. Ett intressant fynd var även att när CXADR återintroducerades i bröstcancerceller med låga CXADR-nivåer kunde cellerna återfå en mer epitelial identitet, och bli mindre invasiva.

Resultaten visar att CXADR fungerar som en gatekeeper, vilken kontrollerar AKT-signaleringsvägen och den epiteliala identiteten i bröstcancer. Förhoppningen är att dessa resultat ska leda till en ny behandlingsstrategi där CXADR kan användas som måltavla för att hindra bröstcancerceller att utveckla invasiva och metastatiska egenskaper. Man kan även tänka sig att det går att stärka den epiteliala identiteten hos cancerceller som redan påbörjat en spridningsprocess och därmed få dem att bli mer känsliga för standardbehandlingar som till exempel hormonterapi.

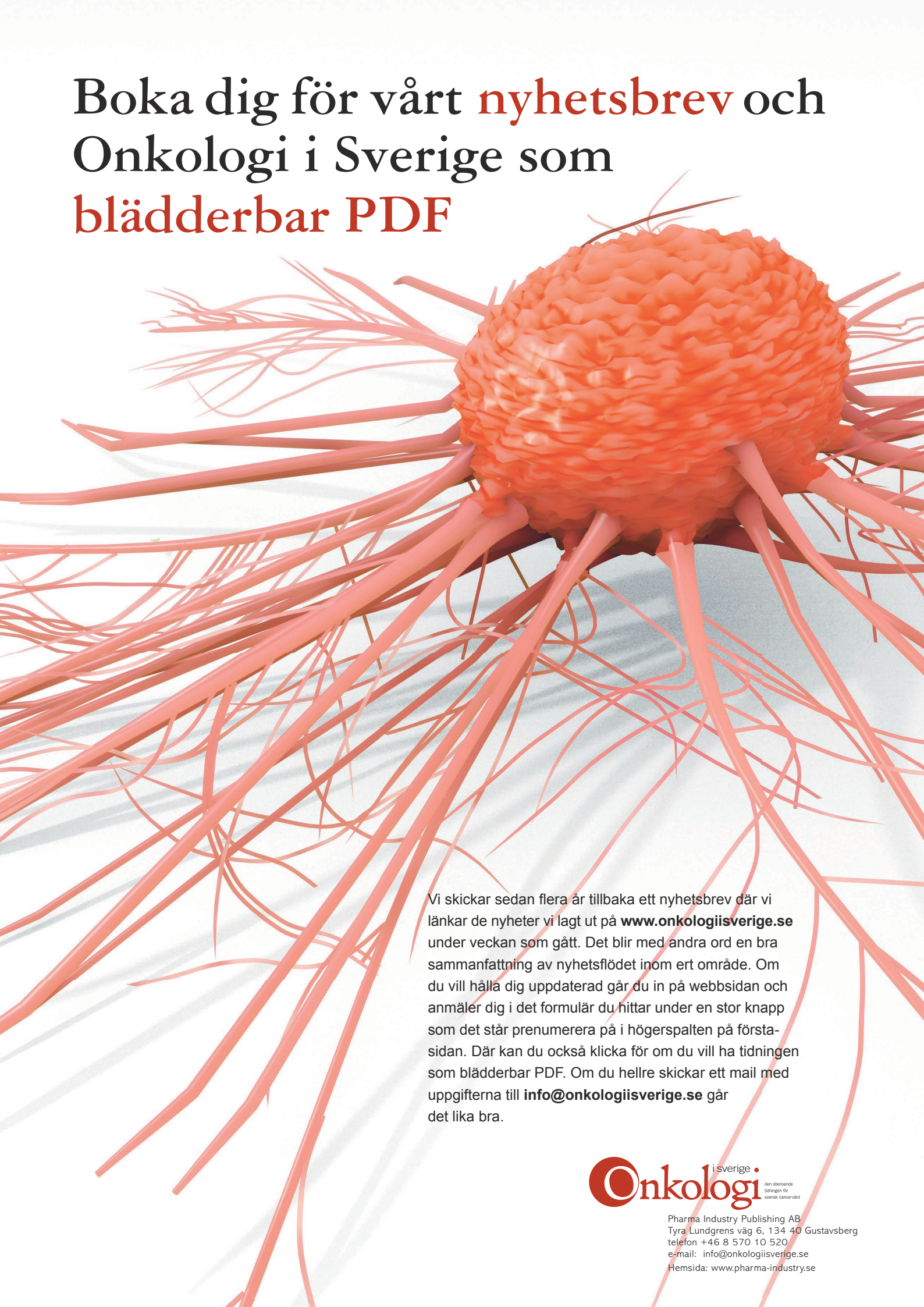
1. Nilchian A, Johansson J, Ghalali A, Asanin ST, Santiago A, Rosenkrantz O, Sollerbrant K, Vincent CT, Sund M, Stenius U, Fuxe J. CXADR-mediated formation of an AKT inhibitory signalosome at tight junctions controls epithelial-mesenchymal plasticity in breast cancer. *Cancer Res.* 2019;79:47-60

2. Brabletz T, Kalluri R, Nieto MA, Weinberg RA. EMT in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2018;18:128-134

JONAS FUXE, ASSOCIERAD PROFESSOR OCH FORSKARGRUPPSLEDARE "MECHANISMS OF TISSUE REMODELING IN INFLAMMATION AND CANCER", INSTITUTIONEN FÖR MIKROBIOLOGI, TUMÖR- OCH CELLBIOLOGI, KAROLINSKA INSTITUTET, JONAS.FUXE@KI.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