

Terapiframgången för behandlingen av akut myeloisk leukemi, AML, beror på cancercellernas förmåga att ackumulera ara-CTP, den aktiva metaboliten till cytarabin som tillsammans med antracykliner är det viktigaste läkemedlet i kampen mot AML. Vi har nyss upptäckt att SAMHD1 besitter en ara-CTPas-aktivitet, vilket gör att ara-CTP bryts ned och därmed skyddar de leukemiska blasterna från cytarabins cytotoxiska effekter. SAMHD1 kan därmed bli en biomarkör för att styra cytarabindosen för varje enskild patient. Men utöver det är SAMHD1 ett nytt terapeutiskt mål, och framtida SAMHD1-hämmare kan i kombination med cytarabin möjligen förstärka dess effekter. Det skriver **Nikolas Herold** vid Barncancerforskningsenheten, Karolinska Institutet, i en översikt av nya behandlingsmöjligheter vid AML.



Den årliga globala incidensen av leukemi är ungefär 350 000, varav de flesta fall är akut myeloisk leukemi (AML)¹. Även om pедиatrikska patienter har en ganska bra prognos med en 5-årsöverlevnad av ~70%, så uppgår den genomsnittliga överlevnaden för vuxna patienter bara till ~20% med ännu sämre siffror för äldre patienter^{2,3}. En betydande förbättring

av AML-behandling med avseende på överlevnad var införandet av högdos-cytarabinkurer under konsolideringsfasen. Men denna studie rapporterades för mer än två decennier sedan⁴, och med stigande antal patienter som drabbas av AML är behovet av bättre behandlingar större än någonsin. Även idag består standardbehandlingen av AML av en kombinations-

cellgiftbehandling med cytarabin och en sorts antracyclin^{2,5}. Det har varit känt i många år att det kliniska resultatet av AML-behandling korrelerar starkt med AML-cellernas förmåga att ackumulera den aktiva trifosfatformen av cytarabin, ara-CTP⁵. Dock har den underliggande mekanismen som skiljer resistent från känsliga leukemiska kloner förblivit okänd.

A young boy with short brown hair, wearing a red polo shirt, is seen from the back and side, looking out a window. The background is a blurred view of green foliage and a white wall.

SAMHD1

– ett nytt terapeutiskt mål i jakt på bättre behandling mot AML

DRAMATISK ÖKNING AV CYTARABIN-KÄNSLIGHET

Genen kodande för Sterile alpha-motif and HD-domain containing protein 1 (SAMHD1) var känd för att vara muterad i vissa fall av det hyperinflammatoriska interferonopatin Aicardi-Goutières syndrom och har även beskrivits som restriktionsfaktor för humant immunbrist-virus 1 (HIV-1), men det var

Goldstone *et al.* som upptäckte att SAMHD1 besitter en unik deoxynukleosid-trifosfat (dNTP) trifosfohydrolyasaktivitet mot alla kanoniska dNTPs (dvs dGTP, dATP, dTTP och dCTP)⁶. I en senare studie demonstrerade Arnold *et al.* att utöver de endogena dNTPs även artificiella dNTP-analoger, såsom den aktiva metaboliten av anticancerläkemedlet klofarabin, Cl-F-ara-

ATP, kan hydrolyseras av SAMHD1⁷. Detta ledde till att vi formulerade hypotesen att även ara-CTP skulle kunna vara ett substrat för SAMHD1, eftersom ara-CTP skiljer sig från dCTP endast då det gäller konfiguration av hydroxylgruppen vid 2'-C-atomen³. Med hjälp av rekombinant SAMHD1 kunde vi visa att ara-CTP faktiskt är ett substrat för SAMHD1. Om SAMHD1

också hade ara-CTPas-aktivitet i celler, så skulle cytarabintoxiciteten minskas genom att minska intracellulära mängder av ara-CTP. Vi testade denna hypotes genom att jämföra cytarabineffekten i AML- och lymfomcellinjer i när- eller frånvaro av SAMHD1. Vi använde oss av två olika strategier för att avlägsna SAMHD1. För det första behandlade vi celler med virusliknande partiklar (VLP) för att leverera det lentivirala proteinet Vpx, vilket är känt att förmedla en dosberoende SAMHD1-degradering^{3,6}. För det andra förstörde vi båda allelerna av SAMHD1-genen med hjälp av CRISPR/Cas9-knockout-teknologi. I båda fall såg vi en dramatisk ökning (>>100 gånger) av cytarabinkänslighet i frånvaron av SAMHD1. När vi överuttryckte vildtyp-SAMHD1 i dessa celler, kunde vi upphäva effekten av SAMHD1-knockouten, vilket inte var fallet med katalytiskt inaktiv punktmuterat H233A-SAMHD1. I cel-

planterade cellerna. Sedan behandlade vi AML-blastar från både diagnos och återfall med Vpx-VLPs ex vivo och observerade då både minskning av SAMHD1-uttrycket och ökning av cytarabinkänslighet. Detta tolkade vi inte bara som bekräftelse av de föregående experimenten i primärt patientmaterial, men också som konceptvalidering att SAMHD1-hämmare kan ha klinisk relevans för framtida kombinationsbehandlingar med cytarabin.

Vi analyserade även retrospektivt SAMHD1-uttryck och överlevnad i två väl karakteriserade kohorter av barn (n=145) och vuxna (n=147) med AML. Detta visade en ~ 20% absolut skillnad i överlevnaden 12 till 18 månader efter diagnos. För övrigt var uttrycket av faktorer som är involverade i ara-C metabolism och som tidigare hade rapporterats som potentiella biomarkörer inte signifikant korrelerat med överlevnaden i dessa patientkohorter.

”I celler som saknar SAMHD1-protein mätte vi en ~ 10-faldig ökning av intracellulär ara-CTP jämfört med isogena cellinjer som uttrycker SAMHD1, och viktigare, inkorporering av ara-CTP i DNA ökade i dessa celler.”

ler som saknar SAMHD1-protein mätte vi en ~ 10-faldig ökning av intracellulär ara-CTP jämfört med isogena cellinjer som uttrycker SAMHD1, och viktigare, inkorporering av ara-CTP i DNA ökade i dessa celler. Detta korrelerade med minskad DNA-syntes, uppmätt genom tymidininkorporering, och en åtföljande ökning av DNA-skador och apoptotisk signalering. Att ara-CTPas-aktivitet också har betydelse *in vivo* visade vi med hjälp av AML xenograftmusmodeller. AML-möss som behandlats med cytarabin visade en dramatisk ökning av överlevnaden när SAMHD1 var frånvarande i de trans-

SAMHD1 SOM ANGREPPSMÅL

Sammantaget visar våra resultat att det terapeutiska svaret hos AML till ara-C styrs av SAMHD1, och föreslår att detta kan vara fallet även för andra hematologiska maligniteter. Dessutom föreslår vi SAMHD1 som angreppsmål för att göra antimetabolit-baserade terapier mer effektiva. Intressant är att SAMHD1 också har beskrivits som möjlig tumörsuppressorer i ett flertal cancerformer, såsom kronisk lymfatisk leukemi (KLL), lungcancer och koloncancer^{3,8}, även om mekanismen inte är fullständigt kartlagd. Därför skall framtida SAMHD1-hämmare helst en-

bart användas tillsammans med cytotoxiska läkemedel för att undvika risken för cancerprogression.

En avgörande roll för SAMHD1 för cytarabinmetabolism vid AML bekräftades av en forskargrupp i Frankfurt, Tyskland⁹. Dock finns en väsentlig skillnad mellan vår och deras studie som – enligt vår uppfattning – skulle kunna ha viktiga konsekvenser för när och hur SAMHD1-hämmare ska implementeras i behandlingsprotokollet för AML. AML-behandlingen består, förenklat, av minst två terapifaser, nämligen induktionsfasen vars mål är att snabbt minska antal leukemiceller i benmärgen till under 5 % (så kallad remission), och konsolideringsfasen som ska upprätthålla remissionen genom att rensa kroppen från alla resterande tumörceller. När vi analyserade de två patientkohorterna med sammanlagt 292 patienter, upptäckte vi ingen skillnad i SAMHD1-uttrycket mellan patienter vars AML gick i remission under induktionsfasen och patienter med resistent sjukdom³. Med andra ord: överlevnadsfördelen för patienter med mindre SAMHD1-mängder blev bara tydlig efter induktionsfasen. Detta kan förklaras med det faktum att antracykliner som kombineras med låga doser av cytarabin under induktionsfasen har mer vikt än cytarabin vid detta behandlingsstadium, och antracykliner har inte någon SAMHD1-modulerad effekt³. Samtidigt har tidigare visats att cytarabin har störst betydelse under konsolideringsfasen⁴. Därför skulle vi förvänta oss störst nytta och minst risk av att inkorporera SAMHD1-hämmare under konsolideringsfasen med högdos-cytarabin. Den tyska studien analyserade SAMHD1-uttrycket i 150 patienter och ser en korrelation mellan SAMHD1-uttrycket och remission. Till skillnad från vår studie som analyserade SAMHD1-mRNA-data, undersökte de proteinuttryck med hjälp av immunhistokemi med en polyklonal antikropp mot SAMHD1. Om diskrepansen beror på skillnader i metodologin eller i patientmaterialet, kommer nya undersökningar att klarlägga, och vi har redan en pågående uppföljande studie som bland annat undersöker detta.

”Detta betyder i så fall att SAMHD1 är en resistensfaktor för tre viktiga AML-läkemedel: fludarabin, clofarabin och cytarabin.”

RESISTENSAKTOR FÖR VIKTIGA LÄKEMEDEL

Ytterligare en studie visade att ara-CTP kan brytas ner av SAMHD1. Hollenbaugh *et al.* använde sig av *in silico*-tekniker för att predicera vilka nukleosidanaloger i bruk för cancerbehandlingar som skulle kunna fungera som substrat för SAMHD1¹⁰. Med hjälp av *in vitro*-försök med rekombinant SAMHD1 validerade de också några av de predicerade substraten. Arabinosvarianter (såsom ara-CTP, ara-ATP, ara-UTP) och mer komplexa arabinosantimetaboliter som clofarabin-trifosfat och fludarabin-trifosfat skall enligt

Hollenbaugh *et al.* vara SAMHD1-substrat (även om de alla inte är validerade). Detta betyder i så fall att SAMHD1 är en resistensfaktor för tre viktiga AML-läkemedel: fludarabin, clofarabin och cytarabin. Möjligen kan SAMHD1 förklara varför fludarabin och clofarabin hittills inte har kunnat bota fler av de patienter som inte svarar på cytarabinbehandling. Hollenbaugh *et al.* inkluderade dessutom nelarabin-trifosfat, decitabin-trifosfat, floxuridin-trifosfat och trifluridin-trifosfat i sina analyser. Nelarabin är en prodrog till ara-G, en antimetabolit som framförallt används för återfallspatienter av

akut T-lymfoblastisk leukemi (T-ALL) och lymfom (T-LBL). Vi har kunnat bekräfta att ara-GTP kan hydrolyseras av SAMHD1 och att avlägsnandet av SAMHD1 kraftigt ökar känsligheten för nelarabin i leukemiceller. Eftersom bara 30 % av T-ALL och T-LBL-patienter svarar på behandlingen med nelarabin analyserar vi nu huruvida SAMHD1 har lägre uttryck hos just dessa patienter jämfört med de patienter som inte svarar tillräckligt. Decitabin används för behandlingen av myelodysplastiskt syndrom (MDS) och AML, framförallt som palliativ behandling för äldre patienter. Också här har vi både *in vitro* och celldata som bekräftar att SAMHD1 bryter ner decitabin-trifosfat och därmed avgiftar cellen. I detta fall skulle SAMHD1 möjligen kunna användas som biomarkör för att möjliggöra att decitabin endast ges till patienter med låga nivåer av SAMHD1. Floxuridin (och dess prodrog 5-FU) samt trifluridin är cancerläkemedel för solida tumörer. Solida

medicininstruktioner.se

- ▶ **Instruktionsfilmer** för **rätt användning** av läkemedel
- ▶ **Kostnadsfritt stöd** för vårdpersonal och patienter
- ▶ **Enkelt** – inget inlogg eller lösenord
- ▶ Även som **APP** – laddas ner gratis på App Store eller Google Play

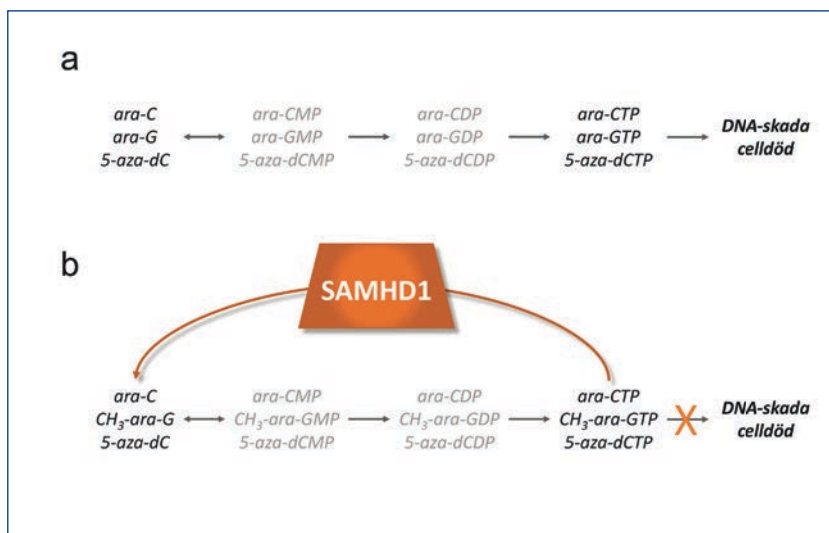


Beställ kostnadsfria påminnelsekort via info@medicininstruktioner.se

Inom ONKOLOGI finns instruktionsfilmer för vårdpersonal som administrerar på klinik och för patienter som behandlar sig själva

Läkemedel har ingen effekt om de inte används rätt





Figur 1: SAMHD1 avgiftar celler från aktiverade antimetaboliter.

a, Aktivering av cytarabin (ara-C), nelarabin (ara-G) och decitabin (5-aza-dC) sker via tre fosforyleringssteg till ara-CTP, ara-GTP och 5-aza-dCTP som orsakar DNA-skada.

b, SAMHD1 hydrolyserar ara-CTP, ara-GTP och 5-aza-dCTP och förhindrar därmed DNA-skada.

tumörer (förutom vissa sarkom hos barn) betraktas i princip bara som botbara om inga fjärrmetastaser finns och en fullständig lokal kontroll är möjlig. Jag hoppas dock att en bättre förståelse för cancerbiologi och läkemedelsresistens kan ge ledtrådar till hur en kombination av lämpliga cellgifter kan bli mer effektiva tillsammans, och även kombineras med hämmare av proteiner som till exempel SAMHD1. Tillsammans med nya målinriktade strategier och immunterapi kommer förhoppningsvis också metastaserade solida cancerformer att kunna botas.

Sammantaget har SAMHD1 tre viktiga betydelser för onkologin: (i) som resistensfaktor mot en hel rad olika antimetaboliter, (ii) som biomarkör för att styra doseringen av antimetaboliter som varje patient behöver (ju högre SAMHD1-uttryck, desto högre dos) och (iii) som terapeutiskt mål för att göra cellgiftsbehandlingar mer effektiva.

Detta arbete har stötts av Barncancerfonden och jag vill även tacka Jan-Inge Henter för vetenskapligt och kliniskt stöd och Elina Erikson för lingvistisk rådgivning.

REFERENSER

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. Mar 1 2015;136(5):E359-386.
2. Ossenkopp G, Lowenberg B. How I treat the older patient with acute myeloid leukemia. *Blood*. Jan 29 2015;125(5):767-774.
3. Herold N, Rudd SG, Ljungblad L, et al. Targeting SAMHD1 with the Vpx protein to improve cytarabine therapy for hematological malignancies. *Nat Med*. Jan 09 2017.

4. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, et al. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. *Cancer and Leukemia Group B. The New England journal of medicine*. Oct 6 1994;331(14):896-903.

5. Plunkett W, Iacoboni S, Estey E, Danhauser L, Liliemark JO, Keating MJ. Pharmacologically directed ara-C therapy for refractory leukemia. *Seminars in oncology*. Jun 1985;12(2 Suppl 3):20-30.

6. Goldstone DC, Ennis-Adeniran V, Hedden JJ, et al. HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase. *Nature*. Dec 15 2011;480(7377):379-382.

7. Arnold LH, Kunzelmann S, Webb MR, Taylor IA. A continuous enzyme-coupled assay for triphosphohydrolase activity of HIV-1 restriction factor SAMHD1. *Antimicrob Agents Chemother*. Jan 2015;59(1):186-192.

8. Rentoft M, Lindell K, Tran P, et al. Heterozygous colon cancer-associated mutations of SAMHD1 have functional significance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 11 2016.

9. Schneider C, Oellerich T, Baldauf HM, et al. SAMHD1 is a biomarker for cytarabine response and a therapeutic target in acute myeloid leukemia. *Nat Med*. Dec 19 2016.

10. Hollenbaugh JA, Shelton J, Tao S, et al. Substrates and Inhibitors of SAMHD1. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169052.

NIKOLAS HEROLD, BARNCANCERFORSKNINGSENHETEN, INSTITUTION FÖR KVINNORS OCH BARNNS HÄLSA, KAROLINSKA INSTITUTET/TEMA KVINNORS OCH BARNNS HÄLSA, ASTRID LINDGRENS BARNSJUKHUS, KAROLINSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET, NIKOLAS.HEROLD@KI.SE

