

Så kan helt nya metoder



användas för att diagnostisera aggressiv prostatacancer

Studier visar att en prostatatumör – för att kunna spridas – förändrar den omgivande normala prostatavävnaden, både på gen- och morfologisk nivå. Mest intressant är att aggressiva tumörer färgar av sig (tinted=colored) på omgivande vävnader på ett annat sätt än mer indolenta tumörer. Därför kallar vi denna "normalvävnad" i prostatan för TINT (Tumor Indicated Normal Tissue). Resultaten innebär att det finns möjlighet att med TINT-biomarkörer utveckla metoder som skulle kunna diagnostisera prostatacancer även om biopsierna inte träffar den mest aggressiva tumören. Det skriver **Hanibal Adamo** vid Umeå universitet, vars forskning stötts av Cancerfonden, Vetenskapsrådet och Cancerforskningsfonden i Norrland.

Sverige får varje år ungefär 10 000 män diagnosen prostatacancer. Små multipla härdar av prostatacancer finns hos mer än hälften av alla medelålders och äldre män. De flesta prostatatumörer är kliniskt betydelselösa, det vill säga de är icke-aggressiva, långsamt växande tumörer och det är osannolikt att de sprider sig. Män med sådana tumörer förväntas leva i många år utan symtom, och så småningom dö av någon annan orsak. Men även om de flesta av tumörerna är ofarliga dör cirka 2 500 män årligen av sjukdomen i Sverige. Den dödliga formen av prostatacancer är alltså så vanlig att den i antal överträffar de flesta andra cancerformer.

Den viktigaste frågan är således inte hur vi ska upptäcka prostatacancer, utan hur man kan förutsäga vilka män som behöver behandlas och vilka vi kan låta bli.

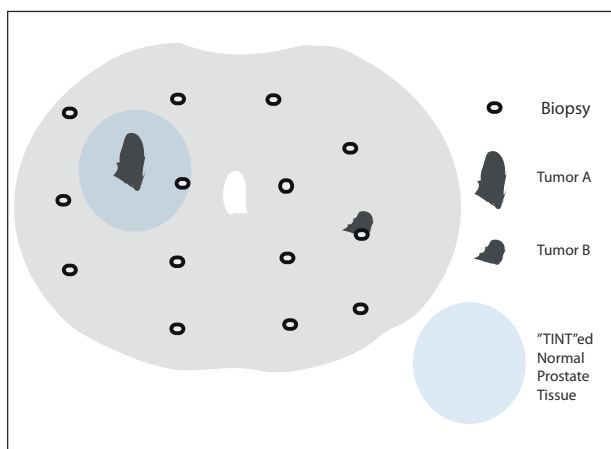
Dagens diagnosmetoder gör det tyvärr inte möjligt att med säkerhet skilja en aggressiv behandlingskrävande tumör från en långsamt växande tumör som inte kommer att orsaka några större problem under den resterande livstiden. MR-undersökning som diagnosmetod har visat lovande resultat, men dess förmåga att säkert särskilja potentiellt dödande tumörer från ofarliga är fortfarande oklar. För närvarande diagnostiseras prostatacancer genom ultraljudsledda biopsier från prostatan. Men eftersom tumörerna inte syns tydligt med någon "röntgenmetod" vet man inte var i prostata man skall ta vävnadsproven. För att minska osäkerheten tas flera biopsier, cirka 12–14, men vilket som är det optimala antalet biopsier är oklart. Värt att notera är emellertid att varje enskilt vävnadsprov är mycket litet och att de på sin höjd motsvarar en tusendel av prostatans volym. Vävnadsprovets förmåga att säkert hitta den farligaste tumören i en prostata är därför begränsad. Det vanligaste resultatet är att man trots ökat PSA (Prostata Specifik Antigen) i blodprov, som tas vid misstanke

om prostatacancer, inte hittar någon tumör i vävnadsproven. Detta kan bero på att provet tagits på fel ställe eller att det faktiskt inte finns någon tumör. Behandlande läkare vet då inte om patienten skall utsättas för ytterligare provtagning eller om cancermisstanken kan avskrivas. Även om en tumör hittas kan det finnas fler och kanske mer aggressiva tumörer någon annanstans i prostata. I de fall där en förmodat lågmålig tumör hittas väljer man ofta att avvakta med terapi, men följer patienten med nya biopsier för att se om tumörerna verkar bli farligare. Men de undersökningarna är lika osäkra som den första.

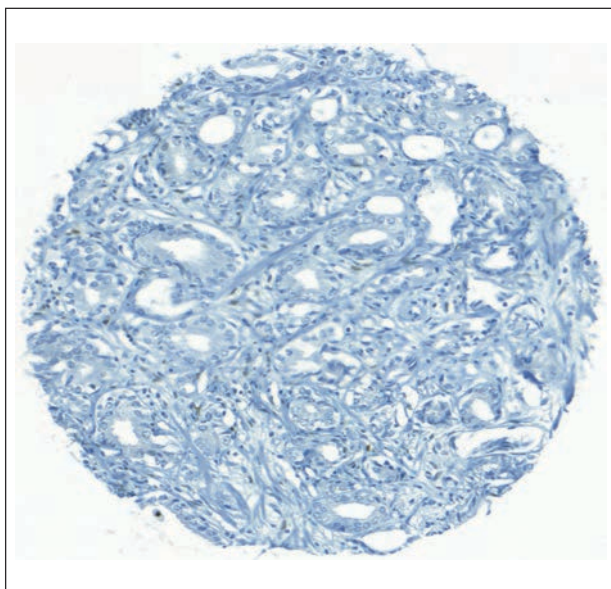
"Den viktigaste frågan är således inte hur vi ska upptäcka prostatacancer, utan hur man kan förutsäga vilka män som behöver behandlas och vilka vi kan låta bli."

TUMÖRERS MIKRO- OCH MAKROMILJÖ

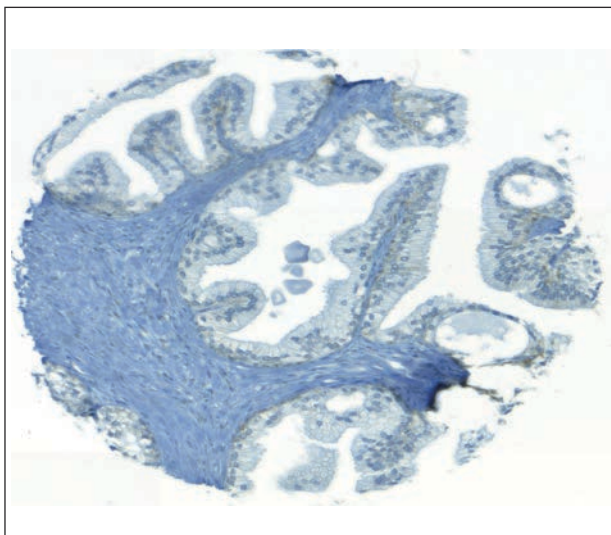
För inte så länge sedan ansåg man att tumörer enbart består av maligna celler. Därför räckte det med att studera dessa för att förstå hur aggressiv tumören var och hur den skulle behandlas. Nu vet vi att tumörer är betydligt mer komplexa



TINT-konceptet möjliggör förbättrad diagnostik av prostatacancer genom användning av biomarkörer även i negativa vävnadsprover.



Histologisk bild av tumörvävnad i prostata.



Histologisk bild av TINT-vävnad i prostata.

strukturer. Förutom de maligna cellerna består de av leukocyter, fibroblaster, endotelceller och andra stroma-komponenter. Dessa utgör tillsammans det man kallar "tumor micro-environment" (TME). Icke-maligna celler i TME kan utgöra mer än hälften av massan av primära tumörer och deras metastaser. År 2000 publicerade Douglas Hanahan och Robert Weinberg "The Hallmarks of Cancer", som sammanfattar betydelsen av tumörens mikromiljö (TME). Cancerceller kan inte överleva ensamma, och definitivt inte manifesteras en sjukdom. Cancerceller rekryterar och korrupperar normala stromaceller för att etablera en TME som tjänar tumören under dess etablering, lokal invasion och metastasering. I prostatacancer har studier visat att förändringar i TME eller det så kallade tumörstromat, såsom ökad remodelering av den extracellulära matrixen (ECM), ökad rekrytering av inflammatoriska celler och ökad angiogenes, är relaterade till sjukdomens prognos. Medan forskning om TME/tumörstroma nu är ett stort forskningsfält, så är förändringar i normal vävnad intill och längre bort från tumörer – vilka rimligen också måste till för att tumörer skall kunna växa och spridas – ett ofta förbiset forskningsområde. Adaptiva tumörstödande förändringar har ansetts vara exklusiva för tumörstroma (TME) och så kallade premetastatiska nischer, medan intilliggande "normal vävnad" i det tumörbärande organet inte har fått mycket uppmärksamhet.

"Vi påstår alltså att aggressiva tumörer färgar av sig (tinted=colored) på omgivande vävnader på ett annat sätt än mer indolenta tumörer."

TINT – "NORMALVÄVNAD"

Studier i vår forskningsgrupp i Umeå har visat att adaptiva förändringar inte är exklusiva för tumörstroma (TME), utan vissa uppträder även i intilliggande normala vävnad utanför tumören. I en review som vi publicerade 2011 i Expert Opinion on Medical Diagnostics², föreslog vi att fördjupad kunskap om sådan "normal vävnad" kommer att öka förståelsen av tumörväxt och spridning av prostatacancer, samt ge oss möjligheten att hitta nya diagnos-, prognos- och behandlingsmetoder för prostatacancer. Därför kallar vi denna "normalvävnad" för TINT (Tumour Instructed/Indicating Normal Tissue). Vi påstår alltså att aggressiva tumörer färgar av sig (*tinted=colored*) på omgivande vävnader på ett annat sätt

Biomarker in TINT related to prognosis	Article	Tumor Gleason score	Tumor clinical stage	Estimated tumor size
Epithelial pAKT	Hammarsten et al 2012	R=0.13, n=240, p=0.04	R=0.14, n=238, p=0.03	R=0.17, n=240, p=0.007
Stroma PDGFR-beta	Hägglöf et al 2010	R=0.15, n=355, p=0.004	R=0.11, n=349, p=0.033	R=0.16 N=355, p=0.003
Epithelial LRIG1	Thomasson et al 2011	R=0.18, n=191 p=0.014	R=0.14, n=190, p=0.049	R=0.20, n=191, p=0.006
Epithelial pEGFR	Hammarsten et al 2010	R=0.26, n=174, p=0.000	Non-correlated	Non-correlated,
Stroma Mast cells	Johansson et al 2010	R=0.15, n=358, p=0.01	Non-corelated	Non-correlated
Stroma Hyaluronan	Josefsson et al 2010	R=0.21, n=216, p=0.002	Non-correlated	Non-correlated
Stroma CD163	Lundholm et al 2015	R=0.19, n=105, p=0.049	Non-corelated	Non-corelated
Stroma blood vessels	Josefsson et al 2012	Non-correlated	Non-correlated	Non-correlated
Stroma S100A9	Tidehag et al 2014	Non-correlated	Non-correlated	Non-correlated
Epithelial C/EBPβ	Adamo et al unpublished	R=-0.15, n=338, p=0.01	Non-correlated	R=-0.18, n=338, p=0.01

Tabellen visar hur biomarkörer i TINT som är relaterade till cancerspecifik överlevnad förhåller sig till den närliggande tumörens grad och stadium.

än mer indolenta tumörer. Många forskare har tidigare noterat att det finns förändringar i den "normalvävnad" som omger tumörer. Men förklaringen till detta har hittills varit att de är precancerösa epiteliala förändringar inducerade av den cancerogena faktor som orsakat tumörväxt på annat ställe i organet, en så kallad "cancer field effect"³. TINT är definitionsmässigt däremot något helt annat, det vill säga adaptiva tumörstimulerade förändringar kopplade till tumörens aggressivitet. Sådana TINT-förändringar kan uppträda nära tumören men även i andra organ som påverkas så att de understödjer tumörväxt.

I min avhandling som försvarades den 20 maj 2016 vid Umeå universitet, redovisade jag vårt arbete där vi hade studerat den till synes normala men TINTade vävnad som omger en tumör, och att denna prostatavävnad "färgats" av närliggande tumörer i relation till deras storlek och aggressivitet. I vår forskning använde vi både djurmodeller med olika aggressiva tumörer, samt Tissue Micro Arrayer som bygger på samlad prostatavävnad från cirka 300 patienter med prostatacancer som följts i 20–25 år med "watchful waiting".

Med hjälp av djurmodeller, där vi implanterade cancerceller i en frisk prostata, visade vi att närvaron av en tumör framkallar förändringar i morfologi och genuttryck i hela det tumörbärande organet. Dessa förändringar visar sig vara kopplade till biologiska processer såsom omorganisation av

extracellulär matrix, immunsvaret och inflammation. Genom att jämföra genuttrycket i TINT med normal prostatavävnad från kontrolldjur utan tumörer identifierade vi faktorer som över- eller underuttrycks i TINT⁴. Vi noterade även adaptiva morfologiska TINT-förändringar som var relaterade till storlek, aggressivitet och metastatisk potential hos den växande tumören⁵. Exempel på sådana förändringar i TINT är ökat antal makrofager, mastceller och blodkärl och vaskulär tillväxt, som alla visade sig vara kopplade till aggressiva prostatatumörer.

TINT-FÖRÄNDRINGAR HAR PROGNOSTISKT VÄRDE

Genom att analysera morfologiska TINT-förändringar i en kohort av 300 patienter som diagnostiserats med prostatacancer efter transuretral resektion av prostatan (TUR-P) och därefter följts upp med expektans, fann vi flera förändringar som visade sig vara relaterade till sjukdomsförlopp. Dessa förändringar och deras korrelation till tumörens Gleasonsumma (*Gleason score*), kliniskt tumörstadium och tumörstorlek sammanfattas i tabellen nedan. Vissa förändringar i TINT var relaterade till både tumöraggressivitet (Gleasonsumma) och tumörstorlek (kliniskt stadium, och tumörstorlek). Andra förändringar i TINT hade prognostisk betydelse trots att de inte var korrelerade vare sig till tumörstadium, storlek, eller Gleasonsumma.

***”För att utvärdera TINT-
markörers betydelse i kliniken,
i synnerhet i negativa biopsier,
krävs ytterligare studier
i andra patientmaterial.”***

Till exempel fann vi att förändringar i stroma-delen av TINT såsom ökning av den extracellulära matrixkomponenten (hyaluronan) i TINT-vävnad var associerad med dålig prognos, alltså kort cancerspecifik överlevnad. Även av djur-experimenten framgick att tumörcellerna växte snabbare när hyaluronan sprutades in i tumören⁶.

Förändringar i epitelet i TINT såsom ökad C/EBP-beta positiva epitelceller i TINT visade sig vara associerad med en god prognos. Ytterligare ett fynd var att ökad C/EBP-beta positiva epitelceller i TINT var korrelerade med ökning av en viss typ av makrofager i TINT som har en anti-tumör-funktion.

Sammanfattningsvis visar våra studier att en prostatatumör förändrar den omgivande normala prostatavävnaden, både på gen- och morfologisk nivå. Resultaten innebär att det finns möjlighet att med TINT-biomarkörer utveckla metoder som skulle kunna diagnostisera prostatacancer även om biopsierna inte träffar den mest aggressiva tumören. På så sätt kan man identifiera de patienter som har en så aggressiv prostatacancer att den kräver behandling samtidigt som patienter med en ”snäll” tumör besparas behandlingsrelaterade biverkningar. För att utvärdera TINT-markörers betydelse i kliniken, i synnerhet i negativa biopsier, krävs ytterligare studier i andra patientmaterial. Man bör även utreda hur tumörer kan framkalla förändringar i resten av prostata och troligen även i andra organ samt på vilket sätt dessa adaptiva förändringar underlättar tumörens fortsatta tillväxt och spridning.

Genom att svara på dessa frågor, skulle vi kunna förstå biologin bakom TINT-förändringar, och hur TINT-biomarkörer inte bara skulle kunna fungera som prognostiska markörer utan även hur dessa adaptiva TINT-förändringar skulle kunna förhindras för att på så sätt hämma tumörväxt.

REFERENSER

1. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. Cell 2000, 100:57-70.
2. Halin S, Hammarsten P, Adamo H, Wikstrom P, Bergh A. Tumor indicating normal tissue could be a new source of diagnostic and prognostic markers for prostate cancer. Expert opinion on medical diagnostics. 2011;5(1):37-47.
3. Nonn L, Ananthanarayanan V, Gann PH: Evidence for field cancerization of the prostate. Prostate 2009, 69:1470-9.
4. Adamo HH, Halin Bergstrom S, Bergh A: Characterization of a Gene Expression Signature in Normal Rat Prostate Tissue Induced by the Presence of a Tumor Elsewhere in the Organ. PLoS One 2015, 10:e0130076.
5. Adamo HH, Stromvall K, Nilsson M, Halin Bergstrom S, Bergh A: Adaptive (TINT) Changes in the Tumor Bearing Organ Are Related to Prostate Tumor Size and Aggressiveness. PLoS One 2015, 10:e0141601.
6. Josefsson A, Adamo H, Hammarsten P, Granfors T, Stattin P, Egevad L, et al. Prostate cancer increases hyaluronan in surrounding nonmalignant stroma, and this response is associated with tumor growth and an unfavorable outcome. The American journal of pathology. 2011;179(4).
7. Adamo H, Hammarsten P, Hägglöf C, Dahl Scherdin T, Egevad L, Granfors T, Stattin P, Halin Bergström S and Bergh A. Prostate tumors induce C/EBPβ expression in epithelial cells in the surrounding tumor-bearing organ and the magnitude of this is related to tumor aggressiveness and patient outcome. Submitted, unpublished.

HANIBAL ADAMO, PHD, MD, UMEÅ UNIVERSITET,
HANI.ADAMO@UMU.SE

