



NYA MEKANISMER FÖR
SPRIDNING AV ELAKARTAD
BARNHJÄRNTUMÖR

Vi behöver identifiera små skillnader mellan ursprungstumör och återfallstumör för att kunna utveckla en ny specifik behandling mot återkommande, aggressiva tumörer som inte längre svarar på den standardbehandling som ges idag. Det skriver **Sara Bolin**, forskare vid Uppsala universitet, som studerat nya mekanismer för spridning av den elakartade barnhjärntumören medulloblastom.

Medulloblastom uppstår i lillhjärnan och är den vanligaste formen av elakartade hjärntumörer hos barn. Cirka 15-20 barn drabbas varje år i Sverige. 80 procent av alla patienter som drabbas av medulloblastom är under 19 år med vanligast insjuknade mellan tre och sju års ålder (Louis 2016). Prognosen för dessa patienter beror på ålder samt eventuell spridning av tumören vid diagnos. Standardbehandlingen innefattar kirurgi, strålning samt cytostatikabehandling. Behandlingarna botar 3 av 4 patienter som drabbas av medulloblastom. En framgångsrik behandling påverkar dock även ofta normala celler, viktiga för kognition och minne. De barn som överlever får därför ofta livslånga neurologiska biverkningar. Nya behandlingsalternativ, som specifikt riktar mot tumörceller utan att tillföra stor skada på normala celler, behövs för att öka livskvaliteten hos överlevande barn.

Avvikelse i vissa gener, viktiga under fosterutvecklingen, utsätter barn för ökad risk att utveckla medulloblastom. Celler som ger upphov till medulloblastom har visats vara stamceller och/eller så kallade prekursorceller som är förstadier till mer mogna

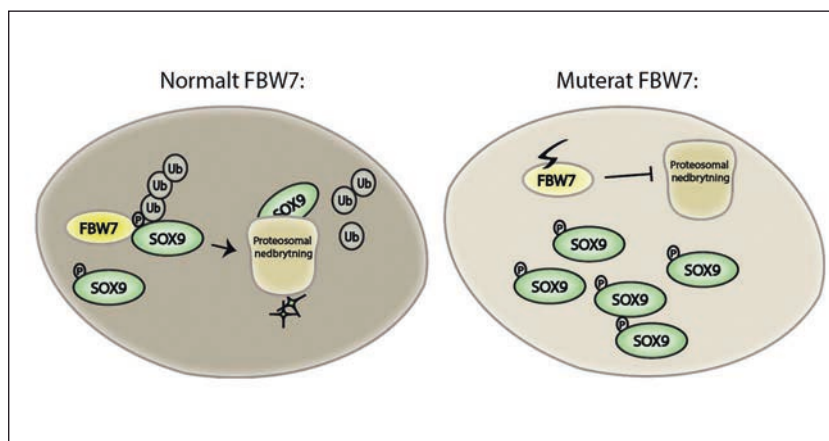
nervceller i lillhjärnan eller hjärnstammen (Yang, Ellis et al. 2008, Gibson, Tong et al. 2010). Patienter med medulloblastom uppvisar väldigt skilda svar på behandling, detta tros framförallt bero på skillnader mellan olika tumörer. Ökad förståelse för genetiska och molekylära skillnader under senare år har möjliggjort en underklassificering av medulloblastom baserad på skillnader i signaleringsvägar som är viktiga under hjärnans utveckling, såsom Wingless (WNT) och Sonic Hedgehog (SHH). Denna klassificering är en viktig del i att förbättra behandlingsstrategier för patienter utefter individuella genetiska skillnader (Wang, Ramaswamy et al. 2013). Genexpressionsanalys har resulterat i att medulloblastom nu delas in i fyra undergrupper, WNT, SHH, Grupp 3 och Grupp 4, baserat på

”En framgångsrik behandling påverkar dock även ofta normala celler, viktiga för kognition och minne. De barn som överlever får därför ofta livslånga neurologiska biverkningar.”

molekylära skillnader i signaleringsvägar som styr tumörutvecklingen (Northcott, Korshunov et al. 2011). Alla medulloblastom, oberoende av undergrupp, klassas däremot histologiskt av WHO som hjärntumörer av högsta malignitet, det vill säga WHO-grad IV.

SÄMRE PROGNOSE MED GRUPP 3-TUMÖRER

Den WNT-klassificerade undergruppen har generellt bäst prognos, där lyckligtvis cirka 95 procent av de drabbade överlever. Patienter med den dystaste prognosen har tumörer som överproducerar proteinet MYC, vilket identifieras i 10–15 procent av alla medulloblastom. Grupp 3 är framförallt associerad med ökat uttryck av MYC och hos patienter inom denna grupp sprider sig ofta tumören till andra delar i det centrala nervsystemet.



Figur 1. Normalt binder ubiquitinligaset FBW7 till proteiner såsom SOX9 och reglerar dess aktivitet i celler genom proteosom nedbrytning. När FBW7 är muterat eller nedreglerat resulterar det i en ackumulering av SOX9-proteiner i celler, vilket ofta sker hos patienter som drabbats av medulloblastom.

”Då patienter med spridning eller återfall av sin tumör inte längre svarar lika bra på standardbehandling behöver vi identifiera små skillnader mellan den primära tumören och metastasen/återfallet som eventuellt nya behandlingar kan riktas mot.”

När en behandling inte lyckas döda alla tumörceller eller om dessa celler utvecklar resistens mot behandlingen kan överlevande tumörceller ge upphov till en ny tumör, ett återfall. Återfall visar ofta på en aggressivare tumörtillväxt där patienten inte längre svarar på behandling. Ofta ser man i andra cancerformer att metastaser och tumörer vid återfall har en distinkt förändrad genetisk profil jämfört med den ursprungliga tumören. Detta ser man däremot inte i medulloblastom utan metastaser och återkommande tumörer tycks bevara den molekylära signaturen från ursprungstumören med samma undergrupp vid ursprunglig diagnos samt efter återfall (Wang, Dubuc et al. 2015). Denna kunskap är väldigt viktig ur behandlingsperspektiv. Då patienter med spridning eller återfall av sin tumör inte längre svarar lika bra på standardbehandling behöver vi identifiera små skillnader mellan den primära tumören och metastasen/återfallet som

eventuellt nya behandlingar kan riktas mot.

STUDERAR CENTRALA PROTEINER

Ett viktigt protein, transkriptionsfaktor SOX9, reglerar normalt differentiering av hjärnans stamceller men har även kopplats till cancer. Hur SOX9 regleras samt bidrar till cancer är däremot mindre känt. Proteinerna MYC och SOX9 produceras i medulloblastomceller och stabiliseras under tumörutvecklingen. Med ökad förståelse för dessa proteiner kan förhoppningsvis behandlingen för barn som drabbas av medulloblastom förbättras. Det kan också bidra till bättre förståelse för hur tumörer genererar metastaser och återfall.

I ett samarbete mellan Fredrik Swartlings (UU) och Olle Sangfelts (KI) forskargrupper har vi i en studie, publicerad i tidskriften EMBO J (Suryo Rahmanto, Savov et al. 2016), för första gången identifierat SOX9 som ett substrat till FBW7, ett enzym som

känner igen och bryter ned särskilda proteiner i cellen. Denna interaktion visade sig även vara en viktig komponent för ökad tumörtillväxt och metastasering av medulloblastom.

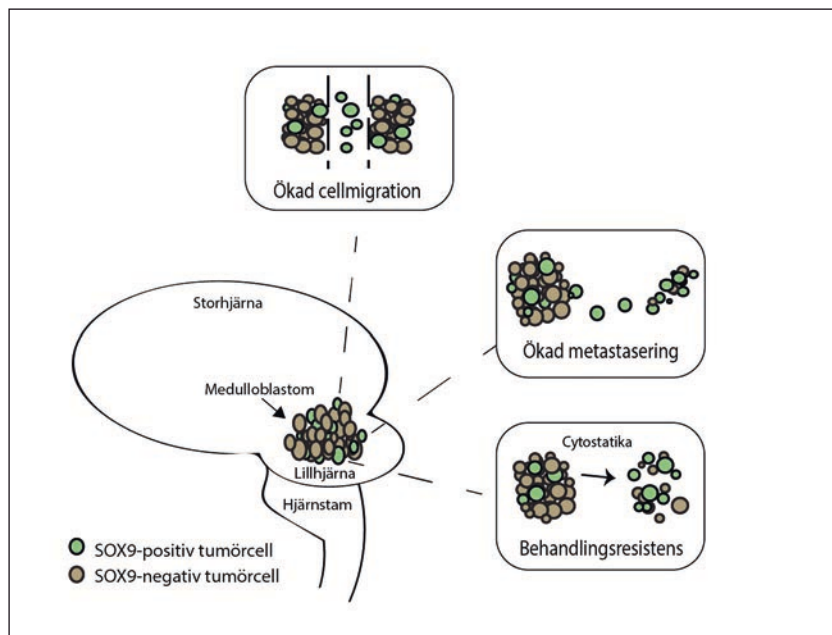
Ubikvitin-proteasom-systemet (UPS) reglerar nedbrytning av proteiner i celler och kontrollerar därmed aktiviteten av proteiner. FBW7 är en viktig kugge i UPS-systemet, genom att binda till specifika proteiner som MYC, SOX9, Notch och cyklin E regleras dessa proteiners aktivitet. FBW7 är ofta muterat eller nedreglerat hos patienter med medulloblastom. I de fall där detta leder till ökade nivåer av SOX9 medför det sämre prognos och ökad risk för metastasering.

I studien har vi identifierat en specifik aminosyrasekvens hos SOX9 som är avgörande för inbindningen av FBW7 samt visat att denna sekvens måste märkas, fosforyleras, av ytterligare ett protein, GSK3B, för att SOX9 ska kunna brytas ner. När vi sedan studerade detta samband i möss visade det sig att tumörer bildas snabbare när FBW7 är utslaget i SOX9-positiva tumörceller jämfört med SOX9-positiva tumörceller med fungerande FBW7.

DÅ ÖKAR RISKEN FÖR METASTASERING

FBW7 är ofta muterat eller nedreglerat hos patienter med medulloblastom. I de fall där detta leder till ökade nivåer av SOX9 medför det sämre prognos och ökad risk för metastasering. När vi tittade på uttryck av FBW7 hos över 140 medulloblastompatienter fann vi att höga nivåer av FBW7 var kopplat till ökad överlevnad bland patienter, och vi såg även att detta resulterade i en minskad omvandling av SOX9 RNA till protein.

Högt uttryck av SOX9 i Grupp 3-tumörceller ledde till att de vandrade mer än vanligt, både i cellkultur och i hjärnan på möss. Detta fynd överensstämmer med resultat från patienttumörer, där högt uttryck av SOX9 sammanfaller med ökad grad av metastasering hos patienter. Genom att analysera RNA-sekvenser från Grupp 3-tumörer såg vi gen-specifika skillnader mellan celler som hade intakt FBW7 och SOX9 och de som inte hade någon FBW7-aktivitet. Gener som tidigare har visats vara inblandade i att driva metastasering var



Figur 2. Höga nivåer av proteinet SOX9 leder till ökad cellmigration, ökad risk för metastasering och behandlingsresistens hos patienter med medulloblastom.

också påverkade i våra SOX9-positiva tumörer som saknade FBW7.

Vi observerade även att SOX9-positiva medulloblastomceller är mer motståndskraftiga mot cytotstatikabehandling, som är en del av dagens standardbehandling. Men vid aktivering av FBW7 i dessa celler återställde vi cellernas känslighet mot behandlingen. Dessutom visade vi att SOX9 kan hämmas av läkemedel som blockerar proteinerna PI3K/AKT/mTOR, vilket resulterar i att medulloblastomceller i sin tur blir mer känsliga för cytotstatika. Våra studier har visat att SOX9 kan stabiliseras och att SOX9-positiva celler är mer resistenta mot cytotstatika. Dessa celler bidrar även till tumörers förmåga att sprida sig, något vi såg vid studier i möss.

Det är främst metastaser och återkommande, aggressiva tumörer som leder till att patienter inte överlever sin cancer. Vi använder oss nu av en spontan modell som utvecklats i labbet för att studera återfall av Grupp 3-medulloblastom. Tumörmodellen leder till en överproduktion av MYC-proteiner och tillåter oss att kontrollera överlevnad av specifika cellpopulationer som styrs av nivåerna av SOX9 i tumörcellerna så att vi kan studera hur dessa celler även bidrar till återfall. Vi vill förstå hur

återfall uppkommer och identifiera små skillnader mellan ursprungstumör och återkommande tumör för att kunna utveckla en ny specifik behandling mot återkommande, aggressiva tumörer som inte längre svarar på den standardbehandling som ges idag.

REFERENSER

Gibson, P., Y. Tong, G. Robinson, M. C. Thompson, D. S. Currell, C. Eden, T. A. Krannenburger, T. Hogg, H. Poppleton, J. Martin, D. Finkelstein, S. Pounds, A. Weiss, Z. Patay, M. Scoggins, R. Ogg, Y. Pei, Z. J. Yang, S. Brun, Y. Lee, F. Zindy, J. C. Lindsey, M. M. Takeito, F. A. Boop, R. A. Sanford, A. Gajjar, S. C. Clifford, M. F. Roussel, P. J. McKinnon, D. H. Gutmann, D. W. Ellison, R. Wechsler-Reya and R. J. Gilbertson (2010). "Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins." *Nature* 468(7327): 1095-1099.

Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O.D., Cavenee, W.K. (2016). WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System.

Northcott, P. A., A. Korshunov, H. Witt, T. Hielscher, C. G. Eberhart, S. Mack, E. Bouffet, S. C. Clifford, C. E. Hawkins, P. French, J. T. Rutka, S. Pfister and M. D. Taylor (2011). "Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants." *J Clin Oncol* 29(11): 1408-1414.

Suryo Rahmanto, A., V. Savov, A. Brunner, S. Bolin, H. Weishaupt, A. Malyukova, G. Rosen, M. Cancer, S. Hutter, A. Sundstrom, D. Kawachi, D. T. Jones, C. Spruck, M. D. Taylor, Y. J. Cho, S. M. Pfister, M. Kool, A. Korshunov, F. J. Swartling and O. Sangfelt (2016). "FBW7 suppression leads to SOX9 stabilization and increased malignancy in medulloblastoma." *EMBO J*.

Wang, X., A. M. Dubuc, V. Ramaswamy, S. Mack, D. M. Gendoo, M. Remke, X. Wu, L. Garzia, B. Luu, F. Cavalli, J. Peacock, B. Lopez, P. Skowron, D. Zagzag, D. Lyden, C. Hoffman, Y. J. Cho, C. Eberhart, T. MacDonald, X. N. Li, T. Van Meter, P. A. Northcott, B. Haibe-Kains, C. Hawkins, J. T. Rutka, E. Bouffet, S. M. Pfister, A. Korshunov and M. D. Taylor (2015). "Medulloblastoma subgroups remain stable across primary and metastatic compartments." *Acta Neuropathol* 129(3): 449-457.

Wang, X., V. Ramaswamy, M. Remke, S. C. Mack, A. M. Dubuc, P. A. Northcott and M. D. Taylor (2013). "Intertumoral and intratumoral heterogeneity as a barrier for effective treatment of medulloblastoma." *Neurosurgery* 60 Suppl 1: 57-63.

Yang, Z. J., T. Ellis, S. L. Markant, T. A. Read, J. D. Kessler, M. Bourboulas, U. Schuller, R. Machold, G. Fishell, D. H. Rowitch, B. J. Wainwright and R. J. Wechsler-Reya (2008). "Medulloblastoma can be initiated by deletion of Patched in lineage-restricted progenitors or stem cells." *Cancer Cell* 14(2): 135-145.

SARA BOLIN, PHD, INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, SARA.BOLIN@IGP.UU.SE

