



STAMCELLER SOM MÅL FÖR BRÖSTCANCERBEHANDLING

Spridd bröstcancer är fortfarande en svår motståndare. För att lyckas bota metastaserad bröstcancer måste vi förmodligen utveckla läkemedel som slår ut även den vilande tumör-cellpopulationen som i sin tur består av cancerceller med stamcellsegenskaper. Det skriver docent **Johan Hartman**, patolog vid Karolinska Universitetslaboratoriet, som just nu studerar hur man kan angripa cancerstamceller i ännu mer verklighetstroga modeller som även innefattar tumörstroma.

”I en bröstcancer finns tumörceller med snabb celldelning i framförallt tumörens invasiva front som är viktiga för tumörtillväxten, men det finns också tumörceller som befinner sig i vilofas under kortare eller längre tid.”

Bröstcancer är den vanligaste cancersjukdomen hos svenska kvinnor. Effektiv terapi i form av kirurgi och adjuvant behandling kan bota flertalet patienter. Vid metastatisk spridning till andra organ är dock prognosen dystert och tumörcellerna är mycket svåra att utrota. En viktig förklaring till det är intratumoral (eller intrametastatisk) tumörheterogenitet. Med det menas skillnader på genetisk,

transkriptionell och proteinnivå mellan olika tumörcellsgrupper inom en och samma tumör eller metastas. Heterogeniteten tros vara ett resultat av darwinistisk selektion där resistent tumörcellskloner selekteras fram under cancerbehandlingen.

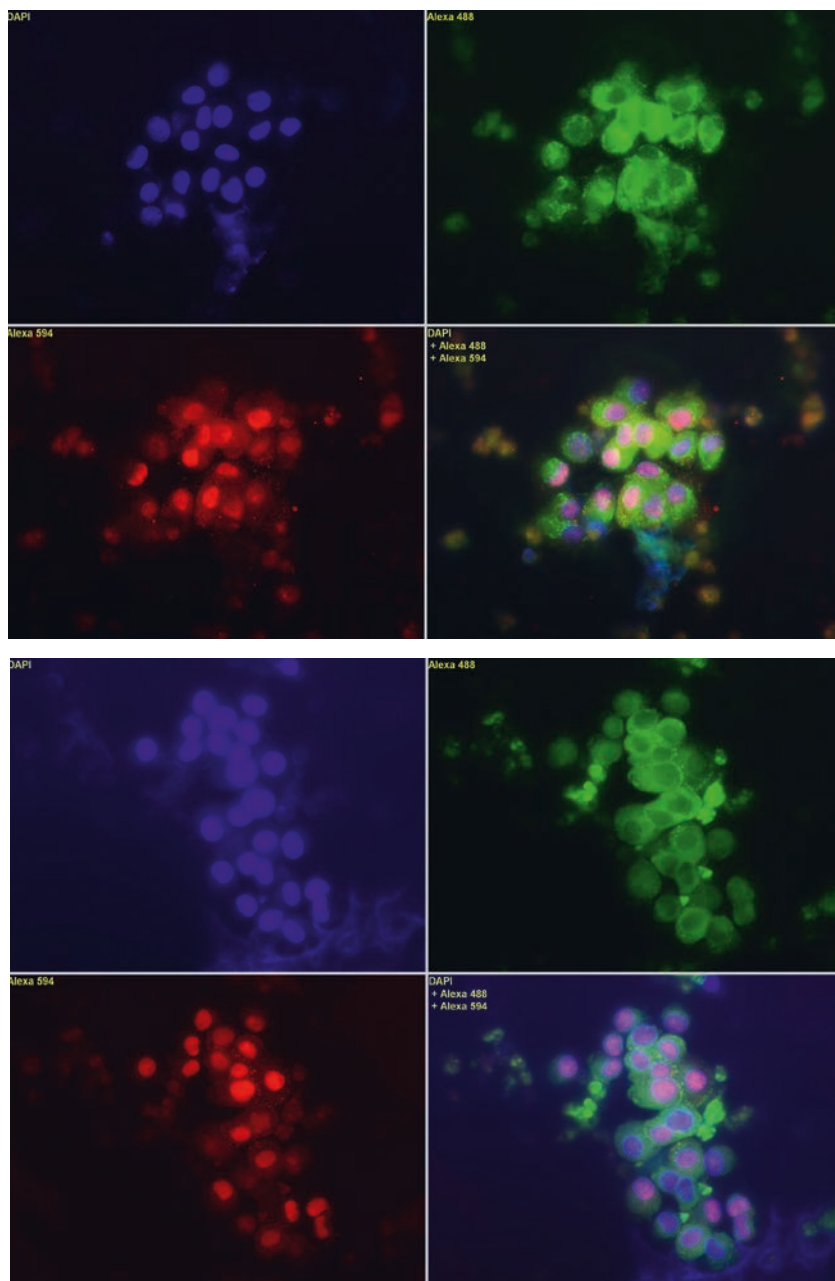
En annan mekanism till behandlingsresistens är vilande tumörcellskloner. I en bröstcancer finns tumörceller med snabb celldelning i framförallt tu-

mörens invasiva front som är viktiga för tumörtillväxten, men det finns också tumörceller som befinner sig i vilofas under kortare eller längre tid.

SVÅRA ATT BEKÄMPA

Eftersom flertalet cancerläkemedel på ett eller annat sätt slår mot celldelning innebär det att dessa vilande tumörceller är mycket svåra att bekämpa. Vilande tumörceller i andra organ kan också

••• bröstcancer



Immunfluorescerande infärgning av mammosfärer isolerade från patienter som visar rött=ERbeta, grönt=CD44 respektive ALDH1 (vilka båda är cancerstamcellsmarkörer).

”I detta ekosystem utgör cancerstamceller, eller de tumörinitierande celler som de ibland kallas, en liten subpopulation av cancerceller med förmåga att metastasera och initiera tumörväxt, upprätthålla och expandera tumören till den tumörcellsmassa som bildar huvuddelen av en tumör eller en metastas.”

vara en förklaring till sena recidiv där metastaser upptäckts långt senare, ibland 20 år efter den primära bröstcanceren opererades bort. En förklaringsmodell som är starkt kopplad till de två mekanismerna är existensen av cancerstamceller i tumören. Idag vet vi att solida tumörer som till exempel bröstcancer är komplexa ekosystem där flera celltyper bidrar till tumörens biologi. I detta ekosystem utgör cancerstamceller, eller de tumörinitierande celler som de ibland kallas, en liten subpopulation av cancerceller med förmåga att metastasera och initiera tumörväxt, upprätthålla och expandera tumören till den tumörcellsmassa som bildar huvuddelen av en tumör eller en metastas. Cancerstamcellernas existens visades första gången för 20 år sedan inom akut myeloisk leukemi (AML)⁴ där en liten population av tumörceller med specifika cellytemarkörer kan etablera AML i möss i mycket litet antal. Tumörceller som dock saknade stamcellsmarkörer kunde inte bilda nya tumörer.

KORRELERAR TILL DÅLIG PROGNOIS

Under åren därefter påvisades cancerstamceller i flera andra tumörtyper. I bröstcancer har man identifierat vissa cellytemarkörer som utmärker cancerstamceller. Högt uttryck av dessa i tumörer korrelerar till dålig prognos i bröstcancer. En annan metod för att isolera cancerstamceller är att växa tumörceller under icke-adherenta betingelser i cell-medium med låg koncentration av serum. Huvuddelen av tumörcellerna kommer då inte att överleva eftersom de kräver en kontakt med extracellulärmatris och genomgår då en typ av programmerad celledöd, så kallad anoikis. Tumörcellerna som däremot växer och bildar så kallade mammosfärer överuttrycker vissa ytproteiner och framförallt embryonala stamcellsgener och har en hög resistens mot cancerbehandling. Under senare år har man förstått att en bröstcancer inte är helt hierarkiskt organiserad utan att cancerstamceller förmodligen kan bildas från vanliga tumörceller i olika nischer i tumören och under olika tidpunkter. Vi har tidigare DNA-sekvenserat cancerstamceller från flera olika patienter och jämfört dessa med tumörens icke-stam-

celler och därmed kunnat bekräfta att det finns en plasticitet i tumören. Således utgör inte cancerstamcellerna någon genetiskt specifik population utan förmodligen kan cancerstamceller genom ändrade genexpressionsprogram övergå i "vanliga" differentierade cancerceller och vice versa¹. Kanske kan man därför se på cancerstamcellerna som ena änden på en fenotypisk variation där dessa celler utgör ena ytterligheten. Det ökar ytterligare på komplexiteten i tumörbiologin.

"Cancerstamceller har inte bara resistens mot kemoterapi utan är troligen mer eller mindre hormonoberoende och har en minskad känslighet för endokrin behandling som till exempel tamoxifen."

KAN ISOLERA CANCERSTAMCELLER

Inom vår forskning har vi under de senaste sju åren byggt upp logistik och metodik att isolera och expandera cancerceller direkt från patienter som opereras vid cancercentra på Södersjukhuset och Karolinska Universitetssjukhuset. Genom en utarbetad skrapteknik kan vi få fram levande tumörceller också från de tumörer som normalt inte går att spara i biobanken⁵. På så sätt kan vi också erhålla levande tumörmaterial utan att äventyra diagnostiken. Denna metod kan också användas för att isolera cancerstamceller. Cancerstamceller har inte bara resistens mot kemoterapi utan är troligen mer eller mindre hormonoberoende och har en minskad känslighet för endokrin behandling som till exempel tamoxifen. Trots att tamoxifen stoppar celldelningen och leder till tumörminskning av östrogenreceptor(ER)-uttryckande tumörceller så kan den inte blockera cancerstamceller.

Vi analyserade det globala genuttrycket efter behandling med tamoxifen. Intressant nog kunde vi se att tamoxifen inducerade genuttrycksmönster associerade med ribosom-syntes och mRNA-translation i cancerstamceller, båda i sin tur reglerade av mTOR-signalvägen. Genom att tillföra en farmakologisk hämmare av mTOR-signalering kunde vi därför känsliggöra cancerstamcellerna för tamoxifen. Det kan möjligen förklara varför patienter med tumörrecidiv resistent

mot aromatashämmare kan dra fördel av att kombinera behandlingen med mTOR-hämmaren everolimus³.

I vår senaste studie som nyligen publicerats i Journal of the National Cancer Institute har vi studerat cancerstamceller isolerade som mammosfärer från över 200 bröstcancerpatienter och identifierat tidigare okända egenskaper som kan angripas terapeutiskt². Trots att majoriteten av bröstcancer är ER-positiva har man inte kunnat identifiera ER-expression i cancerstamceller utan den tillväxtstimulerande effekten misstänks gå via parakrin reglering genom till exempel fibroblaster i tumörstroma. Vi har visat att cancerstamcellerna uttrycker en annan östrogenreceptor, ER β , på både protein- och mRNA-nivå. Uttrycket av denna receptor är extremt lågt i vanliga, differentierade bröstcancerceller men är högt i cancerstamceller isolerade från patienter. ER β korrelerar här till uttryck av embryonala genprogram och bröstcancerstamcellernas överlevnad är beroende

av denna receptor. Om uttrycket av receptorn stängs av genom RNAi eller om den hämmas med selektivt blockerande ER-ligander stoppas celldelningen och så även tumörväxt från humana cancerceller inplanterade i bröstkörteln på möss.

HÄMMAS AV KOMBINATIONSBEHANDLING

Om ER β däremot överuttrycks med genreglering bildas fler och större mammosfärer. Vi visade också att funktionen av ER β går genom reglering av glykolys, det vill säga cancercellernas metabolism. Genom att kombinera tamoxifen med en selektiv hämmare av ER β kunde vi hämma tumörutvecklingen från cancerstamceller. Intressant nog såg vi även att så kallade trippelnegativa tumörer som saknar uttryck av ER hämmades av kombinationsbehandlingen. Vår studie visar dels på möjligheter att attackera cancerstamceller farmakologiskt men också på svårigheterna att studera tumörreglerande mekanismer i cell-linjer och vikten av att validera mekanistiska fynd i patientmaterial. För att lyckas bota spridd bröstcancer måste vi förmodligen utveckla läkemedel som slår ut även den vilande tumörcellspopulationen som i sin tur består av cancerceller med stamcellsegenskaper. I vår nuvarande forskning studerar vi hur man kan angripa cancerstamceller i ännu mer verklighetstroga modeller som även innefattar tumörstroma.

Referenser:

- (1) Klevebring D and Hartman, Breast Cancer Research, July 2014.
- (2) Ran M and Hartman, Journal of the National Cancer Institute, March 2017.
- (3) Karthik GM and Hartman., Cancer Letters, October 2015.
- (4) Bonnet, D. and Dick, J.E. Nat. Med. 1997
- (5) Ran M and Hartman, Laboratory Investigation, July 2014.

JOHAN HARTMAN, DOCENT, SPECIALISTLÄKARE, KLINISK PATOLOGI OCH CYTOLOGI, KAROLINSKA UNIVERSITETSLABORATORIET OCH KAROLINSKA INSTITUTET, STOCKHOLM.

