





”Lost in transition”

– Nobelkonferens på KI belyser hur cancerceller förlorar sin identitet och börjar sprida sig

Under det senaste decenniet har banbrytande upptäckter gjorts som visar att cancercellers förmåga att sprida sig och bilda metastaser är kopplad till förändrad cellidentitet. Resultaten har lett till utvecklandet av ett helt nytt forskningsfält som kallas ”Epithelial-Mesenchymal Plasticity”. Under Luciadagarna 13-14 december 2018 anordnade **Jonas Fuxe, Theresa Vincent, Aristides Moustakas** och **Mikael Karlsson**, forskare vid Karolinska Institutet och Uppsala universitet, den första Nobelkonferensen på Karolinska Institutet på temat ”Epithelial-Mesenchymal Plasticity in Cancer Metastasis”. Här publiceras en rapport från Nobelkonferensen där världens ledande forskare träffades för att presentera sina senaste resultat och diskutera utvecklingen inom fältet.

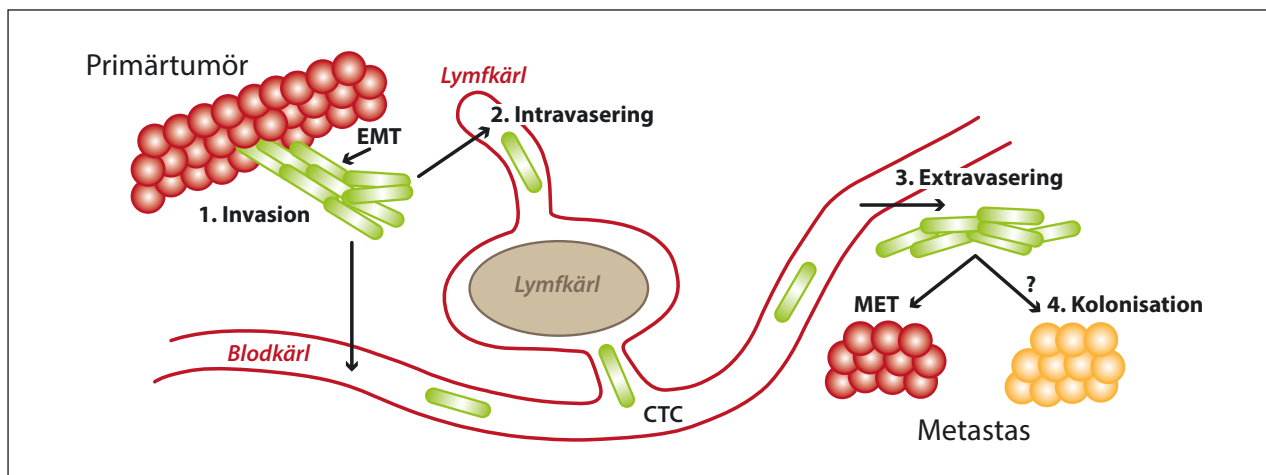
Metastatisk spridning av cancerceller till vitala organ är den avgörande orsaken till att människor dör i cancer. Brist på förståelse för hur spridningsprocessen sker och regleras har gjort att det saknas behandlingsstrategier som riktar sig mot metastasering. Medan genetiska och epigenetiska förändringar i onkogener, tumör-suppressorgener och DNA-reparationsgener bidrar till celltransformation och okontrollerad celltillväxt har det länge varit oklart vilka mekanismer som reglerar cancercellers förmåga att sprida sig.

Ny forskning har visat att cancerceller kan bli plastiska och byta identitet genom en process som kallas epithelial-mesenchymal transition (EMT)^{1, 2}. EMT är en process som normalt är aktiv under fosterutvecklingen då den är avgörande för att epitelceller ska kunna migrera och bilda nya vävnader. Det som sker när EMT-programmet aktiveras är att epitelcellerna förlorar sin ”epiteliala” identitet inklusive de komponenter som gör att de kan interagera med varandra. Det skapar förutsättningar för cellerna att likt båtar i en hamn lossa från sina förtöjningar. Cel-

••• forskningsfronten – EMT



Nobelkonferensen 2018 lockade EMT-forskare från hela världen. Från vänster i bild; Arthur Lambert (Boston), Robert Schneider (New York), Scott Blanchard (New York), Theresa Vincent (New York/Uppsala), Jonas Fuxe (KI), Shyamala Maheswaran (Boston), Sohail Tavazoie (New York), John Blenis (New York), Philip Howe (South Carolina), Geert Berx (Belgien), Gerhard Christofori (Basel), Rik Derynck (San Francisco), Cédric Blanpain (Bryssel), Susanne Gabrielsson (KI), Amparo Cano (Madrid), Aristides Moustakas (Uppsala), Ang-ela Nieto (Alicante), Antonio Garcia de Herreros (Barcelona), Sandra McAllister (Boston), Thomas Brabletz (Erlangen/Tyskland), Maja Oktay (Boston), David Lyden (New York), Ben Z. Stanger (Philadelphia), Erik Thompson (Queensland, Australia). Deltagare som saknas på bild; Yibin Kang (Boston), Mikael Karlsson (KI), Peter Friedl (Holland), Jacco van Rheenen (Utrecht/Holland), Andrew Ewald (Baltimore).



Figur 1. Syftet med Nobelkonferensen var att belysa hur Epitelial-Mesenkymal plasticitet och förändrad cellidentitet bidrar till de olika stegen i metastaseringsprocessen. Cancerceller i primärtumörer som genomgår "Epithelial-Mesenkymal Transition (EMT) erhåller invasiva och migratoriska egenskaper^{1,2}. I nästa steg kan de intravasera in i lymfkärl och ta sig in i blodbanan. Tumörceller som genomgår EMT efter exponering för cytokinen TGF- β sprider sig specifikt via lymfkärl till lymfknotor³. Cirkulerande tumörceller (CTC) i blodet har visat sig vara mer metastasbenägna om de har genomgått EMT-processen⁴. Troliga orsaker är att de har högre kapacitet än epitelceller att överleva i blodet, interagera med endotelceller i blodkärl och extravasera⁵. Cancerceller som koloniserar distala organ har i vissa studier visat sig kunna återfå epiteliala egenskaper genom Mesenkymal-Epithelial Transition (MET). Nya studier visar att cancerceller som genomgått EMT kan få helt andra egenskaper och byta till andra, ej helt klarlagda cellidentiteter.



ler som genomgår EMT får även förändrade cellskelett och andra karakteristika som ökar deras migratoriska kapacitet. EMT-processen är alltså en typ av metamorfos där cellerna förändrar sin identitet och erhåller andra egenskaper.

Vad som upptäckts är att EMT-processen kan aktiveras i tumörer och bidra till att cancerceller blir invasiva och börjar sprida sig via lymfkärl och blodkärl (Figur 1). Cancerceller som befinner sig i olika stadier av EMT-processen har påvisats i primärtumörer, i blodbanan och i metastatiska organ hos cancerpatienter. Inflammatoriska faktorer, som transformering growth factor beta (TGF- β), vilka ofta överuttrycks hos cancerpatienter, har kapacitet att inducera EMT. Reaktivering av EMT i cancertvävnader är alltså kopplat till inflammation.

HÖG TID FÖR EN FÖRSTA KONFERENS

EMT-fältet har utvecklats enormt under de senaste åren. Nya resultat antyder en mer komplex bild av hur EMT regleras och bidrar till metastaseringsprocessen. Allt fler forskare och klini-

ker har börjat få upp ögonen för EMT och dess betydelse för spridning av cancer och vi tyckte därför att det var hög tid att anordna den första EMT-konferensen i Sverige.

Huvudmålen med konferensen var att bjuda in de internationellt sett främsta EMT-forskarna samt kollegor från KI, Uppsala och andra svenska universitet för att:

- Belysa de senaste rönen när det gäller mekanismer som styr EMT och metastaseringsprocessen.
- Ge insikt i de nya modeller och tekniker som utvecklats för att kunna studera en dynamisk process som EMT.
- Skapa möjligheter för forskare och kliniker med intresse för området att interagera med varandra och skapa en grogrund för nya nätverk och samarbeten.

SYNOPSIS AV PRESENTATIONER

Session I: Transcriptional and epigenetic control of cancer cell plasticity

Nobelkonferensen inleddes med att **Angela Nieto** (Instituto de Neuro-

ciencias, Alicante), pionjär och en av de mest citerade forskarna inom EMT-fältet, höll en mycket inspirerande keynote-föreläsning. Hon var den som ursprungligen identifierade transkriptionsfaktorn SNAIL1 som en så kallad ”master-regulator” av EMT. Angela tryckte speciellt på de nya resultat som visar att EMT är en plastisk process som har olika skepnader och att cancerceller kan befinna sig i olika stadier av EMT under metastaseringsprocessen. Hon visade även hur EMT-faktorer bidrar till den assymetriska cellmigration som ligger till grund för hjärtats lokalisering på vänster sida i kroppen. **Geert Berx** (University of Gent, Belgium) presenterade nya spektakulära resultat som antyder att tarmpitelceller som genomgår EMT förlorar sin barriärfunktion, vilket leder till utveckling av koloncancer. Intressant nog verkar canceren som uppstår inte vara driven av mutationer utan snarare av mikrobiomet i tarmen. **Amparo Cano** (University of Madrid) visade hur enzymer som reglerar kompositionen av extracellulär matrix bidrar till metastasering av bröstcancer. **Antonio Garcia**

de Herreros (Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques, Barcelona) presenterade nya data som visar hur SNAIL1 reglerar EMT och fibroblast-aktivering. **John Blenis** (Weill Cornell Medical University, New York) visade hur onkogenen ERK2 har en viktig roll för induktion av EMT.

Session II: Translational mechanisms of cancer cell plasticity

Sohail Tavazoie (Rockefeller University, New York) har upptäckt små, icke-kodande RNA-molekyler som har betydelse för metastaseringsprocessen. Han presenterade en alternativ metod till immunologisk checkpoint-terapi som går ut på att hämma så kallade myeloid-deriverade suppressorceller (MDSC), vilka ofta ses i ökade mängder hos cancerpatienter och som har hämmande effekter på immunsystemet. **Robert Schneider** (NYU Cancer Institute, New York) presenterade ett nytt proteinkomplex som medierar translation av proteiner och reglerar metastasering. **Theresa Vincent** (Uppsala University/Weill Cornell University, New York) presenterade nya data som visar att ribosomal biosyntes är inducerat under celcykel-arrest och har betydelse för initiering av EMT-processen. **Scott Blanchard** (Weill Cornell Medical University, New York) fortsatte på samma tema och visade data som antyder att ribosomer och proteiner som associerar med ribosomerna kan reglera genexpression.

Session III: Imaging cancer cell plasticity during invasion and metastasis

En avgörande progress inom EMT-fältet har varit utvecklingen av nya tekniker och modellsystem som tillåter åskådliggörandet av plasticiteten i processen. De kanske viktigaste landvinningarna har gjorts med så kallad lineage-tracing, vilket innebär att man märker upp celler med ett fluorescerande ämne för att sedan spåra cellerna i djurmodeller med hjälp av live-imaging. Peter Friedl (Radboud University Nijmegen Medical Centre, The Netherlands/MD Anderson Cancer Center, Texas) visade hur cancercellers sätt att invadera och vandra i vävnader skiljer sig åt. Ibland vandrar cellerna tillsammans som kluster, och ibland sticker de

en och en. De resultat som visades antydde att klustermigration och individuell migration är kopplade till olika grader av EMT. **Jacco van Rheenen** (Hubrecht Institute, Utrecht) visade hur EMT-celler som sprider sig till viss del återfår epiteliala egenskaper när de börjar växa som metastaser i distala organ. **Andrew Ewald** (Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore) visade hur vävnadsarkitektur påverkar cancercellers förmåga att sprida sig.

Session IV: Cell plasticity in cancer metastasis

Denna session skulle ha inletts av **Robert Weinberg** (Massachusetts Institute of Technology), pionjär inom cancerforskningen och den som upptäckte Ras-onkogenen och tumörsuppressorgen Rb. Han blev tyvärr sjuk i sista stund men lyckligtvis kunde Arthur Lambert, en senior postdoc i labbet, hoppa in i hans ställe. **Arthur Lambert** presenterade gruppens banbrytande forskning som visat att cancerceller som genomgår EMT får stamcellsliknande egenskaper. **Yibin Kang** (Princeton University, New Jersey) presenterade ett nytt begrepp inom EMT-forskningen – "Hysteresis", vilket avser effekter som består även efter det att de stimuli som orsakade effekterna försvunnit. Resultaten från hans forskning visade att de cancerceller som genomgår en "Hysteric EMT" har ökad kapacitet att bilda metastaser i lungorna. **Ben Z. Stanger** (University of Pennsylvania, USA) presenterade resultat som visar att förutom de transkriptionella program som visat sig viktiga kan EMT även induceras genom internalisering av membranproteiner som E-cadherin. Denna mekanism antydde vara mer kopplad till klustermigration än individuell migration. **Cédric Blanpain** (University of Brussels) använder systembiologiska metoder för att identifiera signalvägar och proteiner som reglerar cancercellers kapacitet att sprida sig. Han visade att en population celler som överlever traditionell behandling av basalcancers cancer med Vismodegib har stamcellsegenskaper. Dessa celler kan mediera återfall men kan hämmas med läkemedel som slår mot WNT-signalering, en signalväg som är aktiv i stamceller.

Session V: TGF-β signaling in EMT and cancer metastasis

Cytokinen TGF-β är ofta överuttryckt i cancervävnader och är en potent inducerare av EMT. Under den här sessionen visade forskare hur TGF-β inducerar EMT och vilka konsekvenser det får för cancercellers förmåga att sprida sig. **Rik Derynck** (University of California San Francisco) var en av dem som upptäckte EMT-effekten av TGF-β. Han presenterade resultat som visar hur TGF-β-inducerad EMT regleras av olika signalvägar varav PI3K/AKT-signaleringsvägen spelar en viktig roll. **Philip Howe** (University of South Carolina) och kollegor har studerat olika tidsaspekter och identifierat en ny EMT-mekanism som involverar hnRNP och eEF1A1, proteiner som reglerar proteintranslation på ribosomerna. **Aristides Moustakas** (Uppsala universitet) presenterade transkriptionella och epigenetiska mekanismer för TGF-β-inducerad EMT. **Jonas Fuxe** (Karolinska Institutet) visade hur ett proteinnätverk i Tight Junctions reglerar kapaciteten hos bröstcancerceller att genomgå EMT. Han presenterade även nya resultat som visar att cancerceller som genomgår EMT får immuncellslika egenskaper och sprider sig via lymfsystemet.

Session VI: Plasticity and systemic spread of cancer

Flera forskare som bidragit till ökad kunskap om hur EMT har betydelse för systemisk spridning av cancer deltog på konferensen. **David Lyden** (Weill Cornell Medical College, New York) visade hur tumörer producerar och utsöndrar nanometersmå vesiklar, så kallade exosomer, som via cirkulationen kan ta sig till och utöva effekter i metastaserande organ innan cancercellerna själva börjar sprida sig dit. Baserat på detta har begreppet "the pre-metastatic niche" lanserats. Nya data visar hur exosomer bär med sig EMT-märkörer och påverkar signalering i målceller. **Shyamala Maheswaran** (Massachusetts General Hospital and Cancer Center) och hennes kollegor har undersökt tumörceller som cirkulerar i blodbanan hos bröstcancerpatienter och funnit att de befinner sig i olika stadier av EMT. De fann även att ju mer me-

senkymala cellerna var, desto sämre prognos för patienterna. **Sandra McAllister** (Harvard Medical School, Boston) studerar hur systemisk inflammation påverkar tumörcellsspridning. Hon presenterade resultat som visar att inflammatoriska reaktioner mot primära tumörer kan hämma spridning av tumörceller och bildandet av metastaser.

Session VI: Exploring EMT as a therapeutic target

Thomas Brabletz (University Erlangen-Nuernberg, Germany) visade hur transkriptionsfaktorn ZEB1 spelar en viktig roll för hur cancercellers plasticitet och förmåga att sprida sig. **Erik Thompson** (University of Technology, Queensland, Australia) presenterade resultat som visar hur induktion av EMT leder till utvecklande av kemoresistens. Han visade även sammanställningar från en rad studier som antyder att utveckling av kemoresistens mot flera av de befintliga cancerläkemedel som används i kliniken idag är kopplat till EMT. **Gerhard Christofori** (University of Basel, Switzerland) presenterade en ny studie som visar hur det transkriptionella maskineri som driver EMT-processen är hierarkiskt organiserat. Han visade även nya data som antyder att bröstcancerceller som genomgår EMT kan differentiera till helt andra typer av celler och därmed totalt byta identitet. **Maja Oktay** (Albert Einstein College, New York) visade hur makrofager bidrar till att cancerceller sprider sig via blodkärl.

KONKLUSIONER OCH PERSPEKTIV

Nobelkonferensen 2018 blev precis så stimulerande och nydanande som vi hoppats. De resultat som presenterades av deltagarna bildar en ny konsensus över var EMT-forskningen befinner sig och är på väg. Kortfattat kan sägas att:

- EMT inte är en binär utan en plastisk process som förekommer i olika varianter beroende på sammanhang och vilka faktorer som driver processen. Alla EMT-markörer är alltså inte gångbara i alla sammanhang. Förlust av E-cadherin, vilken är en av de vanligast använda markörerna för EMT, ses till exempel inte alltid då partiell EMT föreligger.
- Cancercellers sätt att migrera är kopplat till graden av EMT. Celler som genomgår fulminant EMT migrerar som individuella celler medan de som genomgår partiell EMT behåller viss förmåga att binda till varandra och migrerar i kluster.
- EMT-processen drivs på flera olika nivåer. Till de transkriptionella program som identifierats adderas nu mekanismer som kan kopplas till proteintranslation och ribosomal biosyntes.
- Termen ”mesenchymal” är inte tillräckligt specifik för att beskriva de egenskaper som cancerceller erhåller när de genomgår EMT. Nya resultat visar att cancerceller som genomgår EMT får karakteristika av immunceller och stamceller och kan transdifferentiera till celler med en helt ny identitet.

Dessa resultat väckte nya tankar kring hur reaktivering av EMT vid cancer bidrar till att tumörceller förändrar sin identitet och sprider sig.

REFERENSER

1. Brabletz, T., Kalluri, R., Nieto, M.A. & Weinberg, R.A. EMT in cancer. *Nat Rev Cancer* 18, 128-134 (2018).
2. Chaffer, C.L., San Juan, B.P., Lim, E. & Weinberg, R.A. EMT, cell plasticity and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 35, 645-654 (2016).
3. Pang, M.F., Georgoudaki, A.M., Lambut, L., Johansson, J., Tabor, V., Hagikura, K., Jin, Y., Jansson, M., Alexander, J.S., Nelson, C.M., Jakobsson, L., Betsholtz, C., Sund, M., Karlsson, M.C. & Fuxe, J. TGF-beta1-induced EMT promotes targeted migration of breast cancer cells through the lymphatic system by the activation of CCR7/CCL21-mediated chemotaxis. *Oncogene* 35, 748-760 (2016).
4. Yu, M., Bardia, A., Wittner, B.S., Stott, S.L., Smas, M.E., Ting, D.T., Isakoff, S.J., Ciciliano, J.C., Wells, M.N., Shah, A.M., Concannon, K.F., Donaldson, M.C., Sequist, L.V., Brachtel, E., Sgroi, D., Baselga, J., Ramaswamy, S., Toner, M., Haber, D.A. & Maheswaran, S. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science* 339, 580-584 (2013).
5. Tsai, J.H. & Yang, J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis. *Genes Dev* 27, 2192-2206 (2013).

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



THERESA VINCENT, ASSISTERANDE PROFESSOR OCH FORSKARGRUPPSLEDARE "MOLECULAR CANCER AND STEM CELL THERAPEUTICS", INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI (IGP), UPPSALA UNIVERSITET/WEILL CORNELL MEDICAL COLLEGE, NEW YORK. THERESA.VINCENT@IGP.UU.SE

