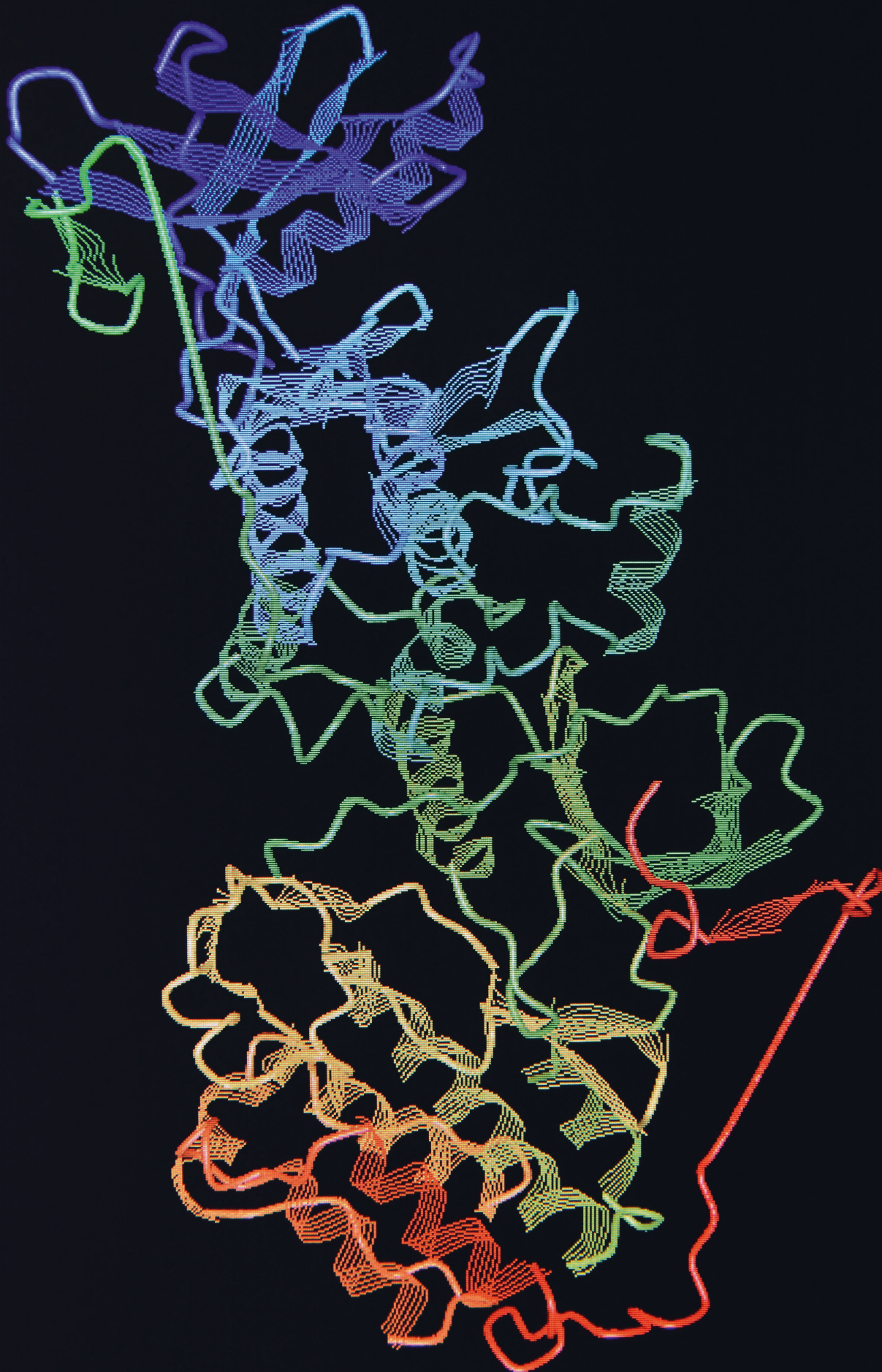


... sarkom



Okänd interaktion bakom genombrott i förståelsen av hur **vissa sarkom** uppstår

Uppkomsten av vissa cancersjukdomar inom gruppen sarkom är kopplad till en hittills okänd interaktion mellan olika proteiner. Fynden som presenteras öppnar för möjligheten att på sikt kunna pröva nya behandlingar mot dessa former av sarkom. Det skriver forskarna **Malin Lindén** och **Christoffer Vannas** vid Göteborgs universitet i en sammanfattning av de nya fynden.

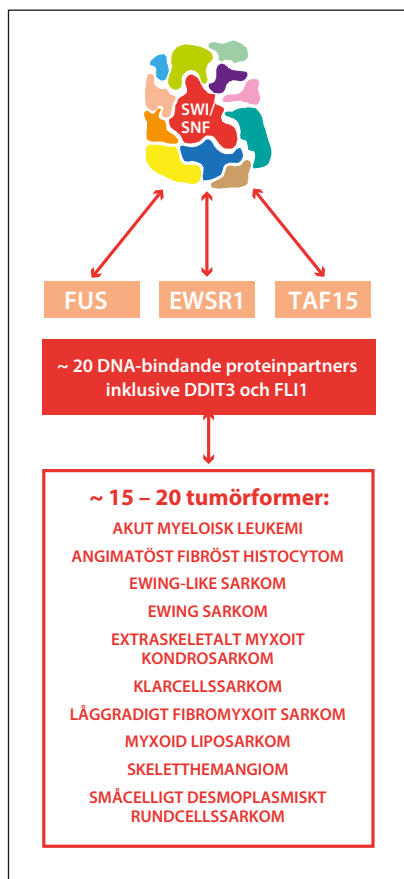
Sarkom är ett samlingsbegrepp för tumörsjukdomar som uppstår i kroppens skelett och stödjevävnad. De är förhållandevis ovanliga med en årlig incidens på ungefär 400 patienter i Sverige, vilket utgör lite mindre än en procent av den totala årliga cancerincidensen (*Cancer i siffror*, 2018). Av alla nydiagnostiserade sarkom utgår tre fjärdedelar ur skelett och en fjärdedel från mjukdelar som till exempel muskler, bindväv och fett. Nomenklaturen för sarkom baseras på den vävnad tumören utgår från, där till exempel tumörer med ursprung från skelett kallas för osteosarkom och tumörer med fettvävslignade utseende kallas för liposarkom. Vidare subklassificering av tumörer är baserad på morfologi, där till exempel liposarkom kan delas upp i de

// En fördjupad förståelse av de mekanismer som driver en tumörutveckling är av essentiell betydelse för att kunna utveckla tumorspecifik målriktad behandling, och flera forskningsgrupper över hela världen arbetar idag med att kartlägga mekanismer för sarkomuppkomst.

fyra subgrupperna väldifferentierade liposarkom, myxoida liposarkom, dedifferentierade liposarkom och pleomorfa liposarkom. För vissa sarkom är ursprungscellen inte helt känd och då har tumören istället namngetts efter dess upptäckare. Så är fallet för sjukdomen Ewing sarkom, en sjukdom som

upptäcktes av den amerikanska patologen James Ewing i början av 1920-talet.

Även om sarkom ofta klassificeras som en gemensam tumörfamilj bör det betonas att olika entiteter inom familjen ofta skiljer sig markant från varandra när det gäller tumörgenetik, symtombild, metastaseringspotential

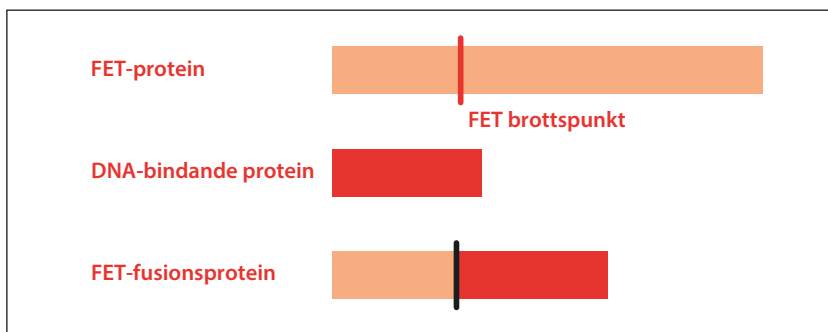


Figur 1. Schematisk presentation av FET-fusionsproteiner och deras bindning till SWI/SNF med ett urval av de tumörformer som orsakas av FET-fusionsonkogener. Anpassad från (Lindén et al., 2019)

och svar på onkologisk behandling. Det här innebär en utmaning vid utformning av kliniska studier då man ofta måste gruppera ihop många olika subdiagnoser för att få tillräckligt med patientmaterial för att kunna påvisa klinisk signifikans av en ny behandling. Utveckling av målriktad behandling mot sarkom är således komplicerat och i dagsläget finns ingen väletablerad målriktad terapi för behandling av subgrupper av sarkom. En fördjupad förståelse av de mekanismer som driver en tumörutveckling är av essentiell betydelse för att kunna utveckla tumorspecifik målriktad behandling, och flera forskningsgrupper över hela världen arbetar idag med att kartlägga mekanismer för sarkomuppkomst.

FET-FUSIONSONKOGENER

Den vanligaste uppfattningen är att cancer bildas efter ackumulation av DNA-skador i cellernas gener, så kallade mu-



Figur 2. En kromosomtranslokation leder till att N-terminala delen på FET-proteinet sätts ihop med ett DNA-bindande protein.

tationer. För de flesta cancerformer krävs många skadliga mutationer i en och samma cell för att en cancer ska utvecklas, vilket vanligen tar många år. En annan typ av genetisk förändring, fusionsonkogener, är överrepresenterade i tumörfamiljen sarkom. Fusionsonkogener uppstår i brottspunkterna av så kallade kromosomtranslokationer, när två delar av kromosomer bryts av och byter plats med varandra, vilket i många fall leder till uppkomst av fusionsproteiner. De senaste åren har även allt större fokus lagts på betydelsen av epigenetiska förändringar, det vill säga styrning av hur DNA packas och uttrycks, och hur felaktigheter i dessa system kan leda till en cancerutveckling.

Vi studerar FETonkogensakade sarkom som omfattar drygt 20 olika typer av sarkom (Figur 1). De två vanligaste av dessa cancerformer är myxoid liposarkom (MLS) och Ewing sarkom (EWS), se ruta här intill. Dessa tumörer orsakas av specifika fusionsonkogener som innehåller den främre delen av en av FET-generna *FUS*, *EWSR1* eller *TAF15* som fuseras med gener för DNA-bindande proteiner (transkriptionsfaktorer). Slutresultatet blir uttryck av tumördrivande fusionsproteiner som alltid innehåller den N-terminala delen av FETproteinet (Figur 1 och Figur 2). FETfusionsproteinerna är tillräckliga för att instruera de förändringar som leder till tumörbildning och är i vissa fall den enda genetiska förändringen som förekommer i tumörerna. Intressant nog är FETfusionsproteinerna tumörtyp-specifika vilket exempelvis innebär att fusionen *FUS-DDIT3* bara återfinns i MLS och *EWSR1-FLI1* bara i EWS.

OKÄND INTERAKTION

Nyligen nådde vi ett genombrott i förståelsen hur sarkom orsakade av FET-fusionsproteiner uppstår (Lindén et al., 2019). Uppkomsten av dessa cancersjukdomar kan förklaras av en hittills okänd interaktion med ett proteinkomplex som heter SWI/SNF (eller BAF) som reglerar aktivitet av gener. SWI/SNF är ett kromatinremodellerande komplex, det remodellerar kromatin eller, i enklare termer, omstrukturerar hur DNA packas i kromatinet. Detta gör gener mer, eller mindre, tillgängliga för transkription, en process då gener uttrycks och ger upphov till proteiner. I förlängningen påverkar SWI/SNF både cellmognad och tillväxt, vilket är essentiellt i canceruppkomst. SWI/SNF är ett stort proteinkomplex som består av ungefär 15 beståndsdelar. Många av beståndsdelarna finns i flera isoformer (varianter) och tillsammans kan dessa sättas ihop i över 1 000 olika SWI/SNF-kombinationer. Vissa av dessa komplex har olika funktioner i olika vävnader samt i olika stadier av utvecklingen men man vet inte så mycket om den exakta funktionen av de olika komplexen, varken i friska celler eller i cancerceller. En forskargrupp i USA gjorde en sammanställning av sekvenseringsdata från många olika tumörformer och visade att mutationer i SWI/SNF-komponenter förekommer i mer än 20 procent av humana tumörer (Kadoch et al., 2013), vilket understryker den generella betydelsen av SWI/SNF i cancer.

Målet med vår studie var att identifiera proteiner som interagerar med alla tre FETproteiner. Vi använde därför N-terminala delarna av *FUS*, *EWSR1* och *TAF15* som ”bete” i en pulldown-

MYXOID LIPOSARKOM – OVANLIG TUMÖRFORM

Myxoid liposarkom är en ovanlig tumörform som huvudsakligen drabbar medelålders personer, där män är lätt överrepresenterade. En typisk klinisk bild är en asymtomatisk knöl som långsamt tillväxer i en nedre extremitet, men tumören kan även tillväxa i höftregionen, i övre extremiteter, intra-abdominellt eller retroperitonealt. Vid tumörmiss-tänkt förändring utförs initialt en radiologisk utvärdering med DT eller MR, där tumörmissstanken kan bekräftas. Definitiv diagnos ställs genom biopsring av förändring för histopatologisk diagnostik och molekylärdiagnostik, där typisk PAD-bild i kombination med påträffande av fusionsonkogenen FUSDDIT3, eller i mer ovanliga fall EWSR1-DDIT3 ger diagnos. Behandlingen består huvudsakligen av kirurgi, men beroende på växtsätt och PAD kan antingen neoadjuvant eller adjuvant strålbehandling ges. MLS har i regel en god prognos, med ett rapporterat 12-års DSS (överlevnad från sjukdom) på 86 procent (Dalal, Kattan, Antonescu, Brennan, & Singer, 2006). Tumörer som har > 5 procent rundcells-komponent, det vill säga tumörområden innehållande snabbväxande celler med run-da täta cellkärnor, har en sämre prognos med en 12-års DSS på 55

procent och en starkare indikation för adjuvant behandling. Vid inopera-bla recidiv eller metastatisk sjuk-dom behandlas patienterna med palliativ cytostatika, då främst Doxorubicin. Vid progress trots Doxorubicinbehandling kan ytterligare behandlingslinjer med Trabectedin eller Eribulin övervägas (Abaricia & Hirbe, 2018; Dalal et al., 2006; *Nationellt vårdprogram skelett mjukdelssarkom Version 1.0, 2017*).

EWING SARKOM – DRABBAR OFTAST UNGDOMAR

Ewing sarkom drabbar ett 20-tal individer årligen i Sverige. Till skillnad från MLS så drabbar EWS huvudsakligen den pediatrika populationen, där 70 procent av patienterna är yngre än 20 år vid diagnos med en lätt manlig överrepresentation. EWS kännetecknas av snabbväxande tumörer i skelett med rundcelliga celler som uttrycker markören CD99, och trots att sjukdomen har varit känd i snart 100 år så vet man fortfarande inte med säkerhet vilken celltyp som ger upphov till cancer. En typisk klinisk bild är en patient som söker för en knöl som tillvuxit väsentligen fort (inom loppet av några veckor) i extremiteter, höft eller i bålregionen. Radiologisk utvärdering med DT eller MR kan föranleda misstanke om malignitet, vilken bekräftas ge-

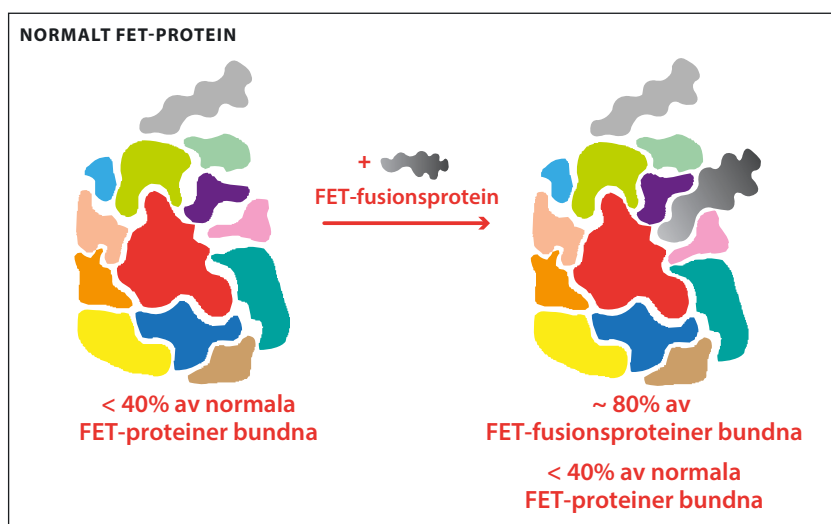
nom biopsi för histopatologisk bedömning samt molekylärdiagnostik, där EWSR1-FLI1 eller i mer ovanliga fall EWSR1-ERG fusions-transkript är diagnostiskt för sjukdomen. Patienterna genomgår en omfattande screening för utvärdering av organfunktion samt för att upptäcka eventuell metastasering inför behandling. Generellt behandlas patienterna med ett omfattande behandlingsprogram som inkluderar kombination av 9 månaders cellgiftsbehandling med olika preparat (bland annat Doxorubicin, Ifosfamide, Actinomycin, Etoposid, Vinkristin och Cyklofosfamid), kirurgi och ofta strålbehandling. Femårsöverlevnaden för hela gruppen ligger på 70–80 procent och negativa prognostiska faktorer för överlevnad är bland annat sjukdom i bäckenregion, dåligt svar på neo-adjuvant behandling, ålder > 18 år samt metastaser vid diagnos. Även vid metastatisk spridning kan sjukdomen vara botbar, men prognosen är påtaglig försämrad. Vid metastaserad sjukdom behandlas patienterna med cytostatikabehandling där behandlingsalternativ beror på tidigare given behandling (Grunewald et al., 2018; *Nationellt vårdprogram skelett mjukdelssarkom Version 1.0, 2017*).

teknik för att fiska ut interagerande proteiner ur cellextrakt. De proteiner som ”nappade” (band till betet och ”drogs ned” från övriga proteiner) kunde sedan identifieras med en kvalitativ analysmetod som kallas mass-spektrometri. Flertalet av proteinerna som fiskades upp visade sig tillhöra SWI/SNF-komplexet. Vi tog sedan bort flera av proteinets byggstenar, så kallade aminosyror, från FET-proteins N-terminala del och använde kvarvarande bitar som bete för att se vilken del av FET-proteinet som krävdes för interaktionen. Bindningen till SWI/SNF förlorades när aminosyror-

na 31–67 togs bort. Denna del innehåller en sekvens som vi tidigare visat vara viktig för proteinbindning mellan normala FETproteiner (Thomsen, Grundevik, Elias, Ståhlberg, & Åman, 2013).

Därefter odlade vi stora mängder tumör-celler, extraherade kärnproteiner (där den viktiga interaktionen äger rum) och använde SWI/SNF-komponenten BRG1 som ett handtag för att isolera SWI/SNF-komplexet med en teknik som kallas immunoprecipitation. Med hjälp av Western blot, en metod som använder antikroppar för att detektera specifika proteiner, kun-

de vi sedan identifiera andra proteiner som interagerar med komplexet. Vi upptäckte att stora delar (~80 procent) av de tumörförändrade FETfusions-proteinerna band till SWI/SNF jämfört med normala (oförändrade) FET-proteiner (<40 procent, Figur 3). Eftersom både normala och tumörförändrade FETproteiner innehåller den N-terminala delen av FETproteiner är det rimligt att anta att de binder till samma bindningsficka på SWI/SNF. Vi undersökte därför om bindningen är kompetitiv, det vill säga om normala och tumörförändrade FET-proteiner tävlar om interaktionen med SWI/



Figur 3. Bindningsmodell av SWI/SNF till normala FET-proteiner och FET-fusionsproteiner, notera att mängden normala FET-proteiner bundet till SWI/SNF inte ändras när fusionsproteinet är närvarande. Anpassad från (Lindén et al., 2019)

SNF. Vi blev överraskade av att så inte var fallet, mängden inbundet FET-protein påverkades inte av om FET-fusionsproteinet var närvarande eller ej. Detta innebär att normala och tumörförändrade FET-proteiner binder till olika delar på SWI/SNF alternativt olika typer av SWI/SNF-komplex, som nämns ovan. Vi använde sedan FET-fusionsproteinet som handtag (DDIT3 eller FLI1) och analyserade de proteiner som interagerade med fusionsproteinet med masspektrometri. Denna analys visade att alla huvudbeståndsdelar hos SWI/SNF var närvarande. Detta betyder att interaktionen med FET-fusionsproteiner inte verkar förstöra SWI/SNFs komposition såsom är fallet i vissa andra cancerformer (synovial sarkom och malign rhabdoid tumör).

Eftersom runt 80 procent av FET-fusionsproteinet är bundet till SWI/SNF borde en stor del av dess tumörinstruerande verkan kunna förklaras av påverkan på SWI/SNF-komplexet. Vi undersökte därför nedströms effekter av SWI/SNF-komplex bundna till FET-fusionsproteiner. Vi använde Western blot för att analysera mängden stängt kromatin (heterokromatin) och öppet kromatin (eukromatin) i celler med eller utan fusionsprotein. Det visade sig att celler med fusionsprotein i hade mer packat/stängt kromatin, vilket leder till mindre uttryck av gener. Sammanfattningsvis, den nyfunna mekanismen går ut på att större delen av

Sammanfattningsvis, den nyfunna mekanismen går ut på att större delen av de tumörförändrade FET-proteinerna binder proteinkomplexet SWI/SNF. Denna interaktion leder till felreglering av SWI/SNF och därmed störningar i cellernas genuttryck och funktioner.

de tumörförändrade FET-proteinerna binder proteinkomplexet SWI/SNF. Denna interaktion leder till felreglering av SWI/SNF och därmed störningar i cellernas genuttryck och funktioner. Vad som sker i detalj är oklart men nu vet vi vilka mekanismer vi ska fokusera vidare studier på.

NYA MÖJLIGHETER I SIKTE

FET-onkogenorsakade sarkom är ovanliga sjukdomar men drabbar ofta barn och unga. Många av dessa sarkom, såsom EWS och MLS, behandlas med mer eller mindre aggressiv cytostatikabehandling som i sig själv är DNA-skadande och kan leda till utveckling av ny cancer såsom leukemi (Hamilton, Carlson, Hasan, Rassekh, & Goddard, 2017). Dagens behandling leder, i många fall, till allvarliga biverkningar med livslånga problem för överlevande patienter. Eftersom tumörerna i sig själva är genetiskt stabila så vore det attraktivt att utveckla nya behandlings-

metoder som inte består av DNA-skadande droger eller strålning. Det epigenetiska systemet och SWI/SNF-komplexet skulle kunna vara ett sådant nytt läkemedelsmål. Målet är att utveckla en specifik, effektiv behandling mot cancercellerna med färre biverkningar som följd. Man skulle kunna tänka sig en behandling som bara riktar sig mot de celler där SWI/SNF har en förändrad funktion, alltså cancercellerna. Sådan behandling har också föreslagits vid andra tumörsjukdomar där SWI/SNF är förändrat.

Just nu finns ingen väletablerad målriktad terapi för behandling av subgrupper av sarkom och på grund av den låga incidensen är det komplicerat

med kliniska studier på dessa sjukdomar. Men som tidigare nämnts är SWI/SNF muterat i minst 20 procent av cancer. Vi kan dra lärdom av studier gjorda i dessa vanligare tumörsjukdomar med motsvarande förändringar i SWI/SNF-komplexet både för att fortsätta studera hur funktionen av SWI/SNF är förändrat men också för att hitta, samt testa, nya läkemedel. Det finns flera läkemedelskandidater som påverkar SWI/SNF eller dess nedströms funktion som man nu testar på andra sjukdomar. En stor del av vårt fortsatta arbete syftar till att testa dessa nya läkemedelskandidater på modeller av de här formerna av sarkom såsom på etablerade cancercellinjer och på transplanterade humantumörer i möss. Det bör dock nämnas att det är tidskrävande arbete som måste göras grundligt prekliniskt innan eventuella kliniska studier kan påbörjas.

Dessa resultat leder till ökad förståelse för hur de 20-tal cancerformer som

bildas av FETfusionsproteiner uppstår och eventuellt vissa andra tumörformer där en SWI/SNF-enhet är muterad. Förhoppningsvis kan det leda till utveckling av gemensamma molekyllära baserade behandlingar för patienter med FET-onkogensorsakade tumörsjukdomar.

REFERENSER:

Abaricia, S., & Hirbe, A. C. (2018). Diagnosis and Treatment of Myxoid Liposarcomas: Histology Matters. *Current Treatment Options in Oncology*, 19(12), 64. doi:10.1007/s11864-018-0590-5

Cancer i siffror. (2018). Cancerfonden.

Grunewald, T. G. P., Cidre-Aranaz, F., Surdez, D., Tomazou, E. M., de Alava, E., Kovar, H., . . . Dirksen, U. (2018). Ewing sarcoma. *Nat Rev Dis Primers*, 4(1), 5. doi:10.1038/s41572-018-0003-x

Hamilton, S. N., Carlson, R., Hasan, H., Rassek, S. R., & Goddard, K. (2017). Long-term Outcomes and Complications in Pediatric Ewing Sarcoma. *American Journal of Clinical Oncology*, 40(4), 423-428. doi:10.1097/COC.0000000000000176

Kadoch, C., Hargreaves, D. C., Hodges, C., Elias, L., Ho, L., Ranish, J., & Crabtree, G. R. (2013). Proteomic and bioinformatic analysis of mammalian SWI/SNF complexes identifies extensive roles in human malignancy. *Nature Genetics*, 45(6), 592-601.

Lindén, M., Thomsen, C., Grundevik, P., Jonasson, E., Andersson, D., Runnberg, R., . . . Åman, P. (2019). FET family fusion oncoproteins target the SWI/SNF chromatin remodeling complex. *EMBO Rep.* doi:10.15252/embr.201845766

Nationellt vårdprogram skelett mjukdelssarkom Version 1.0. (2017). Regionalt Cancercentrum Syd.

Thomsen, C., Grundevik, P., Elias, P., Ståhlberg, A., & Åman, P. (2013). A conserved N-terminal motif is required for complex formation between FUS, EWSR1, TAF15 and their oncogenic fusion proteins. *FASEB Journal*, 27(12), 4965-4974.

MALIN LINDÉN, CIVILINGENJÖR I BIOTEKNIK, DOKTORAND VID SAHLGRENSKA CANCERCENTRUM, GÖTEBORGS UNIVERSITET, MALIN.LINDEN@GU.SE



CHRISTOFFER VANNAS, ST-LÄKARE, ONKOLOGISKA KLINIKEN, SAHLGRENSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET OCH DOKTORAND VID SAHLGRENSKA CANCERCENTRUM, GÖTEBORGS UNIVERSITET, CHRISTOFFER.VANNAS@VGREGION.SE



Dropizol®
opiuntinktur

Vid svår
diarré



Såsom diarré orsakad av

- 🔹 Cytostatika
- 🔹 Strålbehandling
- 🔹 Neuroendokrina tumörer

När annan diarrébehandling inte har haft önskad effekt¹

Indikation: Dropizol är avsett för behandling av svår diarré såsom diarré orsakad av cytostatika, strålbehandling eller neuroendokrina tumörer när annan diarrébehandling inte haft önskad effekt. **Läkemedelsform:** Orala droppar, lösning. **Dosering*:** Vuxna: 5–10 droppar, 2–3 gånger dagligen. En dos ska inte överskrida 1 ml och den totala dagliga dosen bör inte överstiga 6 ml. **Pediatrisk population:** Av säkerhetsskäl ska Dropizol inte användas till barn och ungdomar under 18 år. **Kontraindikationer:** Överkänslighet mot den aktiva substansen eller mot något hjälpämne, opiatberoende, glaukom, svårt nedsatt lever- eller njurfunktion, delirium, tremens, svår huvudskada, risk för paralytisk ileus. **Varningar och försiktighet*:** Dropizol ska användas med försiktighet vid följande tillstånd hos följande patienter: äldre, andningsinsufficiens, kronisk njur- och/eller leversjukdom, alkoholism, gallkolik, gallstenssjukdom, sjukdomar i gallgångarna, huvudskador eller förhöjt intrakraniellt tryck, nedsatt medvetandegrad, hjärtsvikt som följd av lungsjukdom, kardiopulmonär chock, samtidig användning av monoaminoxidashämmare (inklusive moklobemid) eller inom 2 veckor efter utsättning av dessa, nedsatt binjurebarkfunktion, hypotyreos, lågt blodtryck som beror på minskad blodvolym, bukspottkörtelinflammation, prostatahyperplasi och andra sjukdomar som öskar risken för urinretention. Läkemedel mot diarré som hämmar tarmperistaltiken ska användas med försiktighet till patienter med infektion eller inflammatoriska tarmsjukdomar. Dropizol rekommenderas inte före operation eller inom 24 timmar efter operation på grund av risken för paralytisk ileus. Upprepad administrering kan orsaka beroende och tolerans och användning av opium leder till missbruk av substansen. Särskild försiktighet ska iaktas hos individer som tidigare missbrukat narkotika och alkohol. Ska endast användas med försiktighet till patienter i högriskgrupper såsom patienter med epilepsi och leversjukdom. **Interaktioner*:** Dropizol ska inte användas med andra morfinagonister/antagonister. Eftersom Dropizol innehåller etanol ska det inte användas samtidigt med disulfiram eller metronidazol. Midazolam ökar den smärtstillande effekten av morfin och buprenorfin och morfins effekt på andningsinsufficiens. Rifampicin inducerar CYP3A4 i levern och ökar därmed metabolismen av morfin, kodein och metadon. Effekten av dessa opioider minskar eller motverkas därmed. Cimetidin minskar morfins metabolism. **Graviditet*:** Ska användas med försiktighet till gravida kvinnor. Ska inte användas under den tredje trimestern. **Amning*:** Dropizol ska inte användas under amning eftersom morfin passerar över i bröstmjölk. **Fertilitet:** Eftersom morfin är en mutagen ska det endast ges till fertila kvinnor och män om användning av ett effektivt preventivmedel bekräftats. **Biverkningar:** Mycket vanliga: Sömnighet, förstoppning och muntorrhet. Vanliga: Yrsel, mios, bronkospasm, minskad hosta, illamående, kräkningar, urinretention och kraftlöshet. Mindre vanliga: Andningsinsufficiens, kramp i urinröret, klåda och förhöjda leverenzymmer. **Sällsynta:** Ortostatisk hypotension. **Ingen känd frekvens (kan inte beräknas från tillgängliga data):** Takykardi, bradykardi, upprymdhet och ofrivilliga muskelsammandragningar. **Överdoserings*:** Morfintoxicitet. Dödliga doser är huvudsakligen beroende av morfininnehållet. **Innehavare av godkännande för försäljning:** Pharmanovia A/S, Jægersborg Allé 164, DK-2820 Gentofte, Danmark. Datum för senaste översyn av produktresumé oktober 2017. För fullständig produktinformation, förpackningstyp och aktuellt pris, se www.fass.se.

* Dessa avsnitt har skrivits om och/eller förkortats i förhållande till produktresumén godkänt av Läkemedelsverket. Produktresumén kan erhållas gratis från Pharmanovia A/S.

Referens: 1. Dropizol® produktresumé. Mars 2019

