

Forskare vid Chalmers har i en ny studie granskat hur ämnesomsättningen fungerar i cancerceller som via metastaser har spridit sig till nya organ. Den nya kunskapen visar att metastaserna anpassar sig efter sin nya omgivning och att den lokala miljön har stor betydelse.

”De metastaserande tumörerna har antagits visa samma metaboliska egenskaper oavsett var i kroppen de sitter, men vi upptäckte att cancercellerna till stora delar anpassade sin ämnesomsättning till den nya vävnaden för att kunna fortsätta utvecklas och växa. Det här är viktig kunskap, som visar att vi inte kan betrakta metastaserna som sina ursprungstumörer”, skriver här forskaren **Fariba Roshanzamir**.

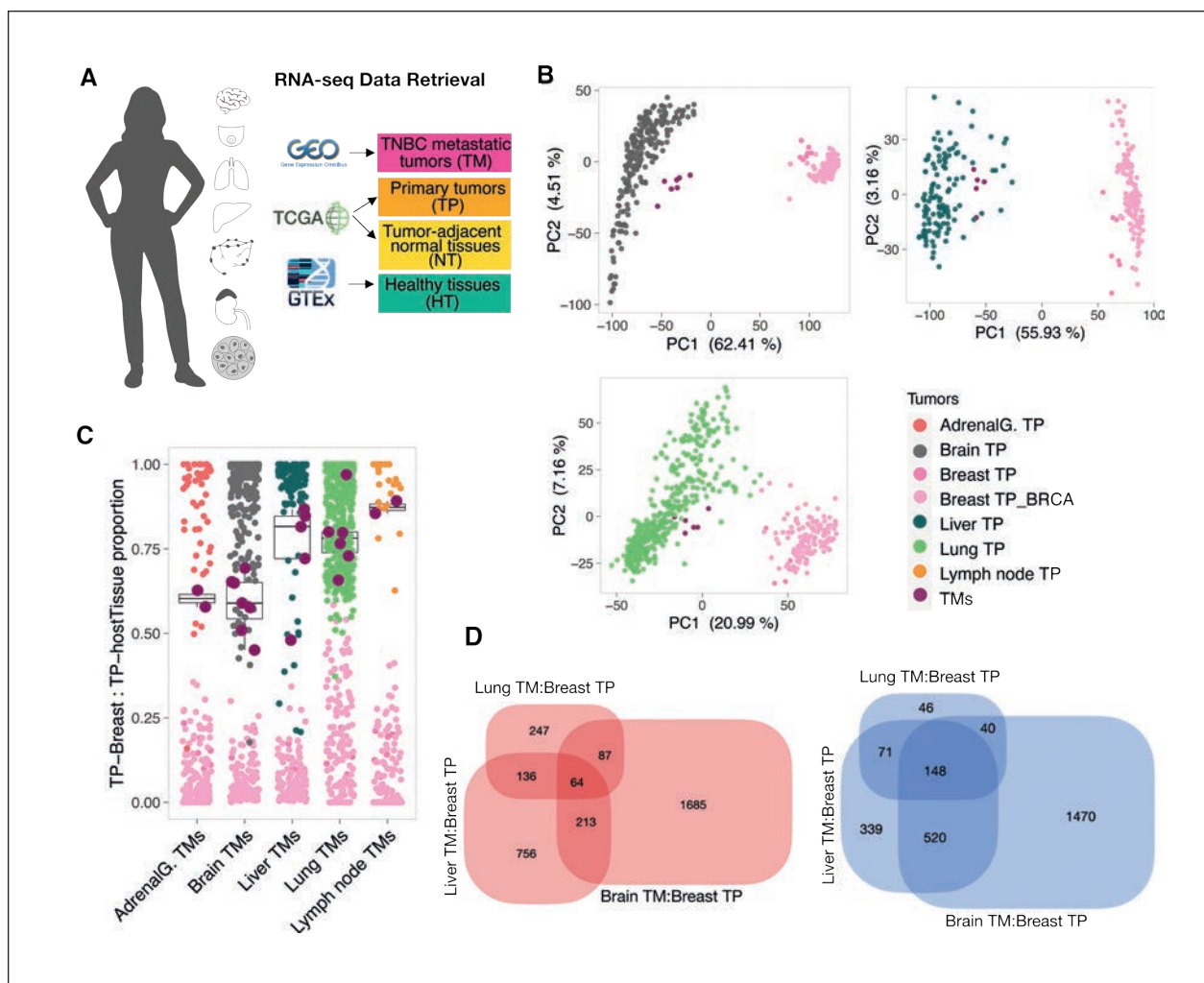
Den mest aggressiva typen av bröstcancer är basalliknande trippelnegativ bröstcancer (TNBC) som är associerad med dålig prognos, invasivitet, tidiga återfall och fjärrmetastaser. Eftersom TNBC-tumörer inte uttrycker progesteronreceptor (PR), östrogenreceptor (ER) eller human EGF-receptor-2 (HER2), kommer de inte att svara på hormonbehandling eller läkemedel som riktar sig mot HER2^{1,2}. Därför finns det fortfarande få effektiva terapier för basal TNBC. Den främsta dödsorsaken hos patienter med TNBC är metastas, det vill säga när tumörceller migrerar från den primära tumören in i cirkulationssystemet och invaderar och koloniserar andra organ. TNBC-metastaser antas i nuläget uppvisa liknande funktioner i olika organ som i föräldratumörerna. Det senaste decenniet har medfört flera framsteg i förståelsen av metaboliska fenotyper av tumörer som skiljer sig

från deras intilliggande icke-maligna vävnader. Studier av metastaser är dock ofta begränsade till en jämförelse mellan metastaser och deras primära tumörer. Under den metastatiska processen står cancerceller inför betydande utmaningar i sina nya mikromiljöer, som de måste övervinna för att överleva³. Tumörcellers förmåga att övervinna dessa unika barriärer och möta de biosyntetiska och bioenergetiska kraven under den metastatiska kaskaden är avgörande för framgångsrik kolonisering i andra organ, men förståelsen om dessa processer är fortfarande låg.

Här presenterar vi en omfattande undersökning av omfattningen av anpassning av TNBC-celler till deras nya mikromiljö i avlägsna vävnader. Denna studie presenterar nya terapeutiska fönster för att utveckla mer effektiva behandlingar för metastaser.



Så anpassar metastaser
ämnesomsättning till ny
vävnad för att kunna
fortsätta växa



Figur 1.

TNBC-METASTASERANDE TUMÖRER UPPVISAR EGENSKAPER FÖR BÅDE URSRUGSVÄNVAD (MELLANTILLSTÅND FÖR METASTASERANDE TUMÖRER)

Vi erhöj RNA-sekvensräkningsdata från GSE110590-datauppsättningen för olika cancertyper och deras associerade metastaser⁴. Prover med basalliknande subtyp av TNBC och deras parade metastaser (TM) i sex olika avlägsna vävnader (hjärna, lunga, lever, lymfkörtel, binjure och hud) valdes ut för denna studie. Vissa av analyserna utfördes för TNBC-metastaser till hjärna, lever och lungor, medan metastaser till hud, binjure och lymfkörtel exkluderades eftersom antalet prover var för lågt för att uppnå tillräcklig statistisk styrka. Genom hela artikeln hänvisar "bröst-TP" till den basalliknande typen av TNBC. Vi hämtade också transkriptomprofiler från The Cancer Genome Atlas (TCGA) för primära tumörer (TP) och parade intilliggande normalvävnadsprover (NT) motsvarande ursprungs- och destinationsvävnaderna för GSE110590-datauppsättningen (Figur 1A). Friska vävnadsprofiler associerade med de sex undersökta metastastyperna såväl som bröst samlades in från databasen Genotype-Tissue Expression (GTEx). Vår studie involverade därför en jämförelse av metastaserade TNBC-transkriptomer med primära tumörer, parad-normala och friska vävnader motsvarande metastasernas ursprungsvävnad (bröst) och destinationer.

Insamlade RNA-sekveringsdata från dessa tre olika källor normaliserades och kombinerades längs deras gemensamma gener. Därefter utförde vi dimensionsreduktionsanalys för varje metastas och TP:er från ursprungs- och destinationsvävnaderna. Huvudkomponentanalys visade att metastaser bildar ett distinkt kluster mycket närmare TP:er i destinationsvävnaderna medan de två primära tumörgrupperna var tydligt separerade (Figur 1B). Således antyder denna analys att uttrycksprofilerna för metastaser representerar ett mellantillstånd mellan TP från ursprungsvävnaden och destinationsvävnaden, med en profil som ligger närmare destinationsvävnadens TP. För att ytterligare undersöka detta fenomen och kvantifiera likheterna tillämpade vi en dekonvolutionsanalys-pipeline⁵ med hjälp av medianuttrycksnivåer av TP från de metastatiska tumörernas ursprungs- och destinationsvävnad som referenser, för att kvantifiera "TP_origin: TP_destination"-fraktionen för alla metastatiska prover. Resultatet avslöjade betydande likheter mellan metastaser och primära tumörer på deras destinationsvävnader, även om trenderna för avvikelse från deras ursprungsvävnad varierar mellan olika metastatiska destinationer (Figur 1C).

GENSIGNATURER SKILJER METASTASERANDE TUMÖRER FRÅN DERAS URSRUGSVÄNVAD

För att ytterligare undersöka funktionerna som definierar di-

vergensen mellan TNBC-metastatiska tumörer (TNBC-TM) och deras ursprungliga primära tumörer, utförde vi differential expression (DE) analys⁶ mellan de metastatiska tumörprofilerna (grupperade efter destinationsvävnad) och bröst-TP. DE-analys utfördes för TNBC-metastaser till hjärna, lever och lunga. Resultaten visade utbredda likheter i överuttryckta och underuttryckta gener över TNBC-metastaser till hjärna, lever och lunga. Vi identifierade 64 och 148 gener som ofta överuttrycktes respektive underuttrycktes i alla metastasprofiler i förhållande till bröst-TP (padj <0,01 och |log2FC| > 1) (Figur 1D). Var och en av metastasgrupperna hade dock specifika över- och underuttryckta gener som inte uttrycktes differentiellt i någon av de andra grupperna i förhållande till bröst-TP, vilket tyder på en organspecifik anpassning av metastaserade bröstcancer celler när de koloniserar celler i andra vävnader. De flesta förändringarna i termer av differentiellt uttryckta gener (DEG) i förhållande till bröst-TPs sågs i TNBC-metastaser i hjärnan. Mönster för genuttryck bland de specifika över- eller underuttryckta generna för var och en av de TNBC-metastaserande tumörtyperna visade att metastaser tenderar att ha uttrycksmönster som är mer lika deras destinationsvävnader än deras ursprungliga vävnader, särskilt gäller likheten primära tumörer från destinationsvävnaden (Figur 2A).

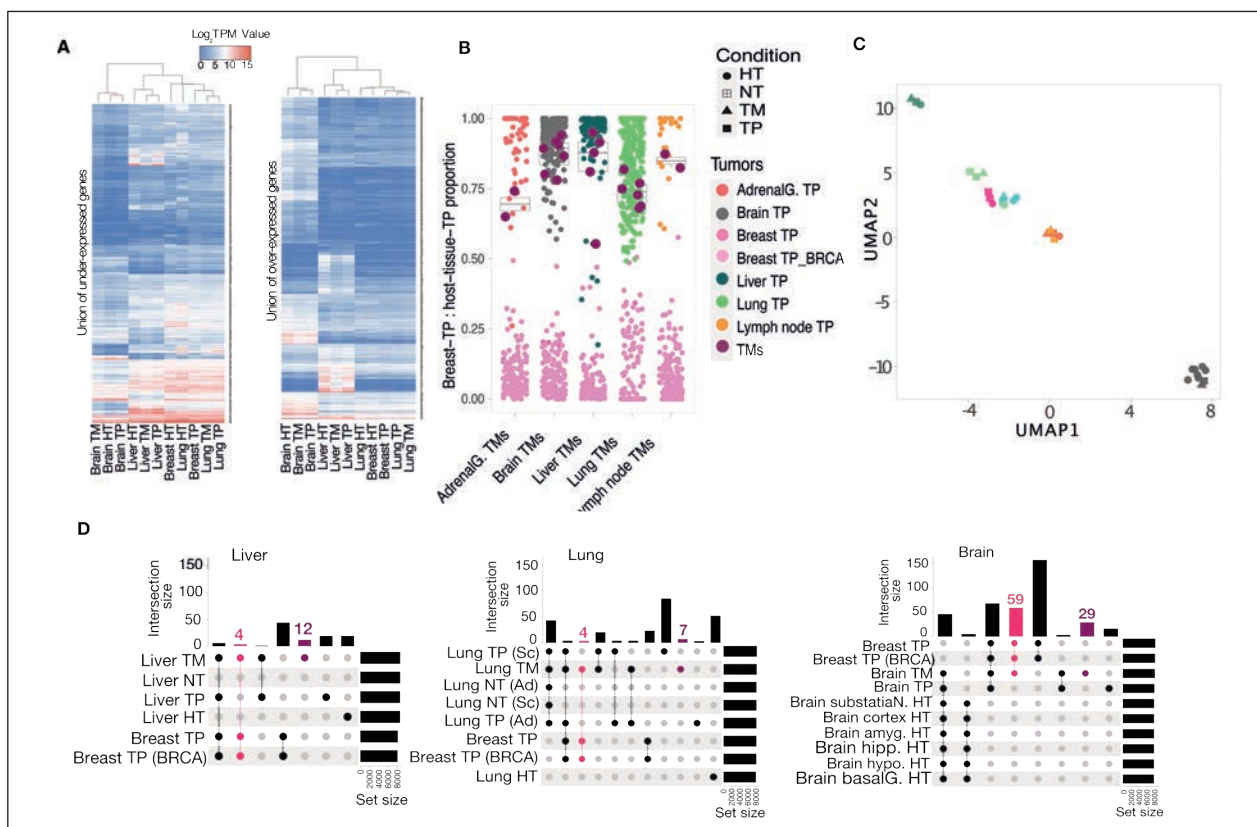
METASTASERANDE TNBC-CELLER UPPVISAR DIVERGERANDE METABOLISKA EGENSKAPER MED VISSA LIKHETER MED PRIMÄRA TUMÖRER I DERAS DESTINATIONSVÄVNADER

I överensstämmelse med de tidigare resultaten uppvisade dekonvolutionsanalys med endast gener associerade med meta-

bolism en mer slående koordinerad förskjutning av metastatiska prover till TP:er på deras destinationsvävnader än vad som observerades när man övervägde alla gener (Figur 2B). Demonstration av metabolisk omprogrammering kräver inte bara genuttrycksdata utan även cellulärt sammanhang inklusive information om de associerade reaktionerna och metaboliter. För att ytterligare undersöka den metaboliska anpassningen av TNBC-TM till deras metastatiska vävnader använde vi metabolisk modellering i genomskala. Metaboliska modeller på genomsnivå (GEM) tillhandahåller hjälp för att integrera genuttrycksdata och tolka informationen i ett metaboliskt sammanhang. Med hjälp av Human1 GEM⁷ som referens för mänsklig metabolism genererade vi 33 tillståndsspecifika modeller som inkluderade fyra grupper av frisk vävnad (HT)-, metastatisk tumör (TM)-, primärtumör (TP)- och parad-intilliggande normal vävnad (NT)-specifika modeller baserade på RNA-sekvensdata.

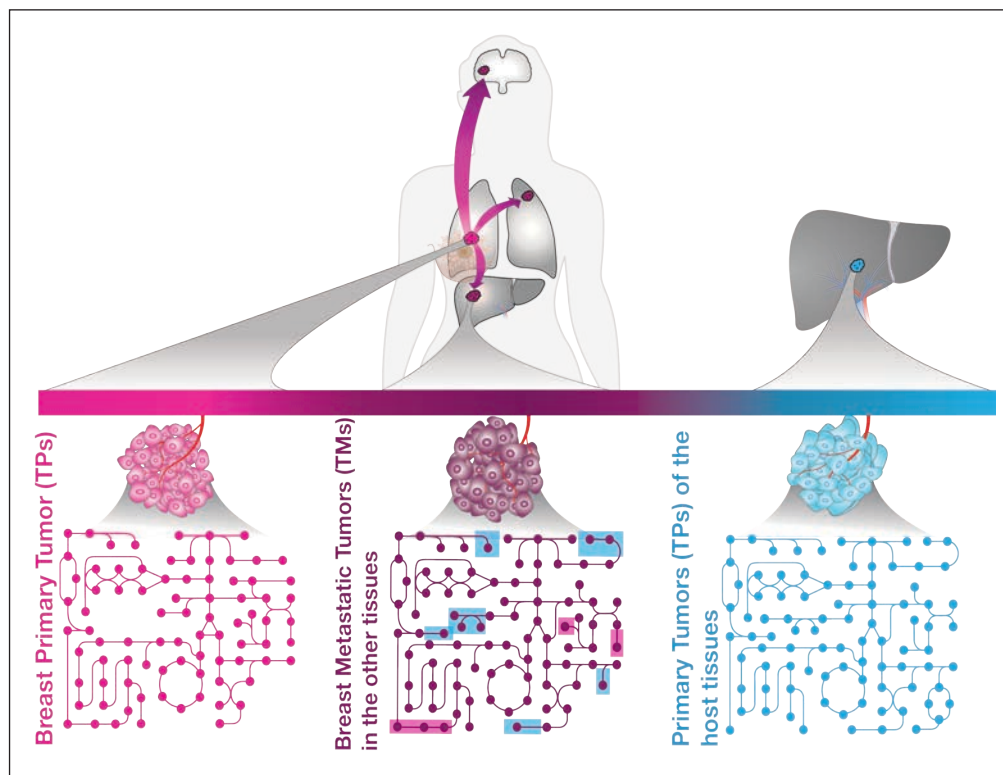
En översikt över relationer över reaktionsstrukturer för alla modeller som använder UMAP avslöjade en strikt och avlägsen segregering av hjärn- och leverkluster från de andra, vilket belyser omfattande metabolisk omprogrammering av metastaser till deras destinationsvävnad för att säkerställa framgångsrik kolonisering (Figur 2C). Dessa fynd baserade på reaktionsinnehållet i varje modell bekräftade återigen den omfattande metaboliska divergensen av metastaser från de primära tumörerna i deras ursprungsvävnad.

Därefter utvärderade vi om metastaserade TNBC-celler behåller några metaboliska egenskaper från sina föräldratumörer i sina metastasvävnader. Modellerna grupperades efter metastatisk vävnad, inklusive var och en av TNBC-TM, bröst-



Figur 2.

••• metastasering



Metastaserande tumörer anpassar sig till den vävnad där de växer. Deras metaboliska signaturer (lila) visar vissa likheter med primära tumörer på den vävnad där de växer (blå), men de behåller vissa metaboliska egenskaper som är förknippade med deras ursprungstumörer (rosa).

(TDO2), indolamin 2,3 dioxygenas (IDO1), kynureninas (KYNU), kynurenin monooxygenas (KMO) och arylformamidas (AFMID) fanns bland de essentiella generna för bröst-TP, lung-TM, lever-TM, lymfkörtel-TM och TP:erna för destinationsvävnaderna, med minimal effekt på frisk vävnads GEM. Dessa resultat belyser vikten av flera metabola vägar som bidrar till tumörens livsduglighet, såsom tryptofanmetabolism, kynureninväg, nikotinat- och nikotinamidmetabolism, vitamin-D-metabolism och gallsyrabiosyntes och återvinning, fettsyrametabolism som kan ha potential som läkemedelsmål vid cancer- och metastasbehandling.

Sammanfattningsvis använder metastaser olika distinkta metaboliska strategier som liknar primära tumörer i destinationsvävnaderna för att upprätthålla deras överlevnad och spridning beroende på de lokala mikromiljöerna i de metastatiska platserna¹⁰. Det är därför viktigt när man utvecklar terapeutiska strategier för metastaser att inse att TNBC-metastaser är distinkta cancertyper som uppvisar likheter med TPs i de metastaserade vävnaderna samtidigt som de behåller några nyckelsignaturer från deras primära TNBC-tumörer.

REFERENSER

1. Dent, R. et al. Triple-negative breast cancer: Clinical features and patterns of recurrence. *Clin. Cancer Res.* 13, 4429–4434 (2007).
2. Gluz, O. et al. Triple-negative breast cancer - Current status and future directions. *Ann. Oncol.* 20, 1913–1927 (2009).
3. Massagué, J. & Obenauf, A. C. Metastatic colonization by circulating tumour cells. *Nature* 529, 298–306 (2016).
4. Siegel, M. B. et al. Integrated RNA and DNA sequencing reveals early drivers of metastatic breast cancer. *J. Clin. Invest.* 128, 1371–1383 (2018).
5. Gong, T. & Szustakowski, J. D. DeconRNASeq: a statistical framework for deconvolution of heterogeneous tissue samples based on mRNA-Seq data. *Bioinformatics* 29, 1083–1085 (2013).
6. Ritchie, M. E. et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* 43, e47 (2015).
7. Robinson, J. L. et al. An atlas of human metabolism. *Sci. Signal.* 13, 1–12 (2020).
8. Melone, M. A. B. et al. The carnitine system and cancer metabolic plasticity. *Cell Death Dis.* 9, (2018).
9. Luo, X. et al. Emerging roles of lipid metabolism in cancer metastasis. *Mol. Cancer* 16, 1–10 (2017).
10. Roshanzamir, F., Robinson, J. L., Cook, D., Karimi-Jafari, M. H. & Nielsen, J. Metastatic triple negative breast cancer adapts its metabolism to destination tissues while retaining key metabolic signatures. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 119, (2022).

FARIBA ROSHANZAMIR, DOKTOR I SYSTEMBIOLOGI, INSTITUTIONEN FÖR BIOLOGI OCH BIOTEKNIK, CHALMERS TEKNISKA HÖGSKOLA, FARIBAR@CHALMERS.SE



JENS NIELSEN, PROFESSOR I SYSTEMBIOLOGI, INSTITUTIONEN FÖR BIOLOGI OCH BIOTEKNIK, CHALMERS TEKNISKA HÖGSKOLA, NIELSENJ@CHALMERS.SE

