

på: www.dbcg.dk. Ved HNPCC og FAP findes der også internationale rekommandationer under www.insight-group.org. Vedrørende von Hippel-Lindaus sygdom og MEN1-2 er der udarbejdet nationale referenceprogrammer, som findes under Ugeskrift for Lægers klaringsrapporter. For de øvrige arvelige cancersyndromer henvises der til klinisk genetiske afdelinger og relevante specialafdelinger.

Konklusion og fremtidsperspektiver

Afdækning af de molekylære mekanismer bag tumorgenese har muliggjort identifikation af risikopersoner med tilbud om klinisk intervention i form af regelmæssig kontrolprogram og/eller profylaktisk operation, hvis formål er at reducere cancer mortaliteten. Hvis det var muligt at analysere alle relevante gener for den pågældende cancer ville et normalt resultat fra mutationsscreening udelukke arvelig cancer. Men i dag kendes kun et fåtal af de involverede gener, som tilmed er sjældne, og det er håbet, at man i fremtiden vil finde endnu flere gener. Det er sandsynligt, at disse gener medfører lavere cancerisiko (lavpenetrante gener) end de i dag kendte højpenetrante gener. Muligvis vil det også medføre, at den genetiske testning ændrer sig til at omfatte bestemmelse af en

persons »genetiske profil«, i form af påvisning af bestemte konstellationer af mange genvarianter. Gennem viden om samspillet mellem gener og miljø vil man dermed bedre kunne fastlægge den enkelte persons cancerisiko.

Korrespondance: *Karen Brøndum-Nielsen*, Kennedy Institutet – Statens Øjenklinik, Gl. Landevej 7, DK-2600 Glostrup. E-mail: kbn@kennedy.dk

Antaget: 3. februar 2006
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:820-3.
2. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994;266:66-71.
3. Nupponen NN, Carpten JD. Prostate cancer susceptibility genes: many studies, many results, no answers. *Cancer Metastasis Rev* 2001;20:155-64.
4. Herrera L, Kakati S, Gibas L et al. Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am J Med Genet* 1986 ;25:473-6.
5. Gerdes AM. Cancergenetik: en oversigt over onkologisk molekylærbiologi set i relation til det humane genom. *Ugeskr Læger* 2002;164:2865-71.
6. Johnson RL, Rothman AL, Xie J et al. Human homolog of patched, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science* 1996;272:1668-71.
7. Zuo L, Weger J, Yang Q et al. Germline mutations in the p16INK4a binding domain of CDK4 in familial melanoma. *Nat Genet* 1996;12:97-9.
8. American Society of Clinical Oncology policy statement update: genetic testing for cancer susceptibility. *J Clin Oncol* 2003;21:2397-406.
9. Simpson JL, Carson SA, Cisneros P. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) for heritable neoplasia. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005;34:87-90.

Mutationer i epidermal vækstfaktor-receptoren: struktur og tumorbiologisk relevans

Post.doc. Mikkel Wandahl Pedersen & overlæge Hans Skovgaard Poulsen

H:S Rigshospitalet, Finsencentret, Strålebiologisk Laboratorium

Resume

Epidermal vækstfaktorreceptoren (EGFR) spiller en vigtig rolle i reguleringen af normal celledeling, -differentiering og -overlevelse. EGFR-status ses som følge deraf tit at være ændret i en række tumorer af forskellig oprindelse. Disse ændringer korrelerer generelt med en dårlig prognose. I de seneste år er der fundet en lang række mutationer i EGFR-genet, som giver ophav til overaktive eller konstant aktive receptorer, der medvirker i tumorgenese. Denne oversigtsartikel giver et overblik over disse mutationer, deres biologiske funktion i tumorer hos mennesker og potentialet i behandlingen af disse tumorer.

Den epidermale vækstfaktor-receptor (eller EGFR, ERBB1, HER1) spiller en vigtig rolle i reguleringen af cellulære

processer såsom celledeling, -differentiering og -overlevelse. EGFR er en central faktor i vedligeholdelsen af normale epiteliale væv, hvor dens aktivitet er nøje reguleret.

En ubalance i denne regulering er en medvirkende årsag til dannelsen og specielt udviklingen af en række tumorer. Disse inkluderer tumorer med oprindelse fra lungerne, brystet, prostata, tyktarmen, ovarierne, hjernen og tumorer i hoved-halsområdet [1].

Selv om sammenhængen mellem EGFR-status og prognose ikke er forstået til fulde, er EGFR-overudtryk i tumorer ofte associeret med mere aggressiv sygdom, øget resistens mod kemoterapi såvel som radioterapi, dannelse af metastaser og nedsat overlevelse [1, 2]. I de senere år er det blevet klart, at EGFR-genet ofte er muteret i tumorer hos mennesker, og at disse mutationer kan have stor betydning for diagnose, prognose og behandling.

Denne oversigtsartikel vil forsøge at give et overblik over disse mutationer og deres biologiske funktion i tumorer hos mennesker.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Materiale og metoder

Litteraturgennemgangen er baseret på søgninger i oktober 2005 i PubMed ved brug af følgende ord: *EGFR*, *mutations*, *EGFRvIII*, *glioblastoma*, *NSCLC*, *gefitinib* og *prognosis*. Derudover er gennemgangen baseret på tidligere søgninger [3] og [4] samt på litteratur fundet ved gennemgang af referencelister i de fundne artikler. I gennemgangen er kun engelsksprogede artikler blevet benyttet.

Den epidermale vækstfaktor-receptor

EGFR tilhører erythroblastosis B (ERBB)-familien af receptor-tyrosinkinaser, der ud over EGFR omfatter ERBB2 (HER2), ERBB3 (HER3) og ERBB4 (HER4) [5]. EGFR kodes af *ERBB1*-genet, som består af ca. 190 kilobaser DNA, indeholder 28 exoner og er placeret på kromosomarm 7p11-13 (Figur 1) [6]. Et specielt forhold ved EGFR-genet er det meget lange intron 1, der spænder over næsten to tredjedele af genet, og som menes at være involveret i dannelsen af mutationer, som det vil fremgå senere [6].

EGFR er et 170 kDa transmembrant glykoprotein, som består af et ekstracellulært ligandbindende domæne, et transmembrant domæne og et intracellulært domæne, der indeholder tyrosinkinasen (Figur 1B). Den ekstracellulære del af receptoren kan yderligere deles op i fire underdomæner: I (L1), II(S1), III(L2) og IV(S2), hvoraf II og IV er cysteinrige. Underdomæne I er kodet af exonerne 1-4, underdomæne II af exonerne 5-8, underdomæne III af exonerne 9-11, mens underdomæne IV kodes af exonerne 12-14. Tyrosinkinasedomænet er indeholdt i exonerne 18-24. I krystallografiske studier har man påvist, at underdomænerne I, II og III danner en struktur, der minder om en »lomme«, hvori liganderne binder (Figur 1B) [7].

EGFR binder seks naturlige ligander: EGF, heparinbindende EGF-lignende vækstfaktor (HB-EGF), epiregulin (ER), transformerende vækstfaktor alpha (TGF- α), amphiregulin og betacellulin. Binding af ligand til receptoren medfører dime-risering og efterfølgende autofosforylering af C-terminale aminosyrer [8]. Disse fosforylerede aminosyrer binder signalmolekyler, og EGFR aktiverer derved en række signaltransduktionsveje. Aktivering af disse veje fører bl.a. til ændringer i genudtryk, som igen påvirker cellulære processer som celledeling, apoptose, motilitet, invasion, adhæsion og angiogenese.

Epidermal vækstfaktor og cancer

Det første bevis for, at EGFR er involveret i udviklingen af cancer var opdagelsen af, at EGFR er den mammale pendant til det virale onkogen *v-erbB*, der inducerer leukæmi (erythroblastose) i kyllinger [9]. Sidenhen har det vist sig, at EGFR-status er ændret i en lang række tumorer med oprindelse fra så forskellige væv som hjerne, hoved-hals-området, tyktarmen, bugspytkirtlen, lungerne, leveren, ovarierne, prostata, nyrerne og brystet [10]. Ud over at være overudtrykt som følge af øget promoteraktivitet eller amplifikation (dannelse af multiple

Nøglepunkter

- EGFR-mutationer er almindelige i en række tumortyper
- EGFR-mutationer bidrager til dannelsen og udviklingen af tumorer
- EGFR-mutationer er cancerspecifikke og kan benyttes til selektivt at dræbe cancerceller

kopier) af *EGFR*-genet, kan en række mekanismer føre til ændret EGFR-status. Blandt de mest hyppige kan nævnes aktiverende mutationer, autokrin produktion af ligander og aktivering via andre receptorsystemer [11].

Epidermal vækstfaktor-mutationer

I mange tilfælde er amplifikation af *EGFR*-genet sammenfaldende med somatiske mutationer (eller abnorme splejsvarianter). Nye resultater viser, at strukturelle ændringer i EGFR-genet er mindst lige så vigtige som generelt overudtryk, når det drejer sig om onkogen effekt på celler [12]. Desuden har det vist sig, at sådanne ændringer korrelerer med en dårligere prognose [13, 14]. Mutationer i *EGFR*-genet kan deles op i tre hovedgrupper: dem, der fører til ændringer i strukturen af den ekstracellulære del af receptoren, dem, der fører til ændringer i det intracellulære domæne, og dem, der specifikt fører til ændringer i det aktive site i tyrosinkinasen (Tabel 1).

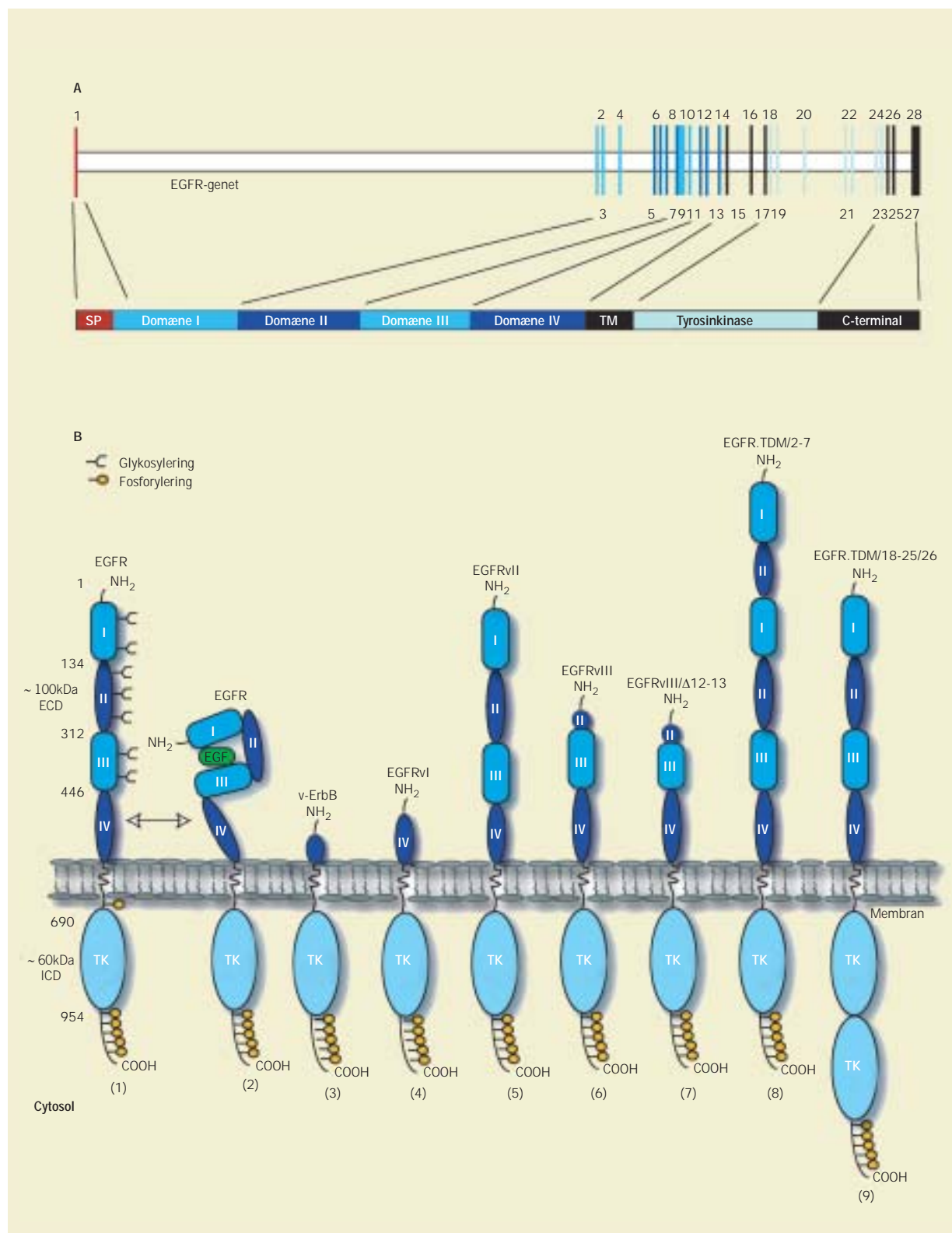
Mutationer i det ekstracellulære domæne

Mutationer i det ekstracellulære domæne er især hyppige i glioblastomer og mere end fem forskellige mutationer er beskrevet (Figur 1B, Tabel 1). De fleste muterede receptorer har deletioner af specifikke exoner, der koder for hele eller dele af det ekstracellulære domæne. Dette resulterer i afkortede (trunkerede) receptorer, der kan fremme tumordannelse ved at være konstant aktive, have nedsat receptornedregulering, aktivere alternative signalveje eller afkoble apoptotiske mekanismer [15-18]. De molekylære mekanismer bag disse ændringer er endnu uklare, men studier af EGFRvIII indikerer, at niveauet af aktivering spiller en rolle (se nedenfor).

EGFR-mutant-receptor 1 eller EGFRvI mangler størstedelen af det ekstracellulære domæne, derved minder denne mutant meget om den virale variant v-Erb, der som tidligere nævnt inducerer leukæmi i kyllinger (Figur 1B, receptor nr. 3 og 4). EGFRvI kan ikke binde ligand, men er trods dette konstant aktiv. EGFRvII har en *in-frame*-deletion af 83 aminosyrer (exonerne 14-15) uden for det ligandbindende domæne og kan derfor stadig binde ligand (Figur 1B nr. 5) [19]. Funktionen af denne mutant i onkogenesen er ukendt.

Den hyppigst forekommende og bedst karakteriserede EGFR-mutation er EGFRvIII. EGFRvIII er resultatet af en *in-frame*-deletion af exonerne 2-7, der koder for underdomæne I

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL



Figur 1 A. Skematisk tegning af det 190 kb store *epidermal vækstfaktor*-gen med placeringen af de 28 exoner og det store intron 1. Illustreret nedenfor er de domæner, de enkelte exoner koder for. Det røde exon koder for signalpeptidet (SP) og dele af domæne I. De lyseblå exoner 2-4 koder for resten af domæne I, de mørkeblå exoner 5-8 for domæne II, de lyseblå exoner 9-11 for domæne III, mens de mørkeblå exoner 12-14 koder for domæne IV. Det transmembrane domæne (TM) og den membranproksimale C-terminale del er indeholdt i de sorte exoner 18-24 og den C-terminale del af de sorte exoner 25-28. **B.** Skematisk tegning af den normale epidermal vækstfaktor-receptor (EGFR) (1) og de mest almindelige EGFR-mutationer i glioblastomer: EGFRvI (4), EGFRvII (5), EGFRvIII (6), EGFRvIII/Δ12-13 (7), EGFR.TDM/2-7 (8), EGFR.TDM/18-25/26 (9). En skematisk illustration af EGFR og fremkomsten af den ligandbindende lomme dannet af domænerne I, II og III er også vist (2) såvel som den virale homolog v-ErbB er det (3).

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

og to tredjedele af underdomæne II (Figur 1B nr. 6) [20]. Den resulterende trunkerede receptor mangler aminosyrene 2-273 og dermed det meste af det område, der binder ligander. På trods af denne trunkering dimeriserer EGFRvIII spontant og aktiverer derved sig selv uafhængigt af ligandbinding. Niveaue af denne spontane aktivering er nok til at aktivere en række tumorfremmende signalveje, som også reguleres af EGFR, herunder aktivering af ekstracellulær reguleret kinase (ERK) via RAS og proteinkinase B (PKB eller AKT) via fosfatidylinositol-3-OH-kinase (PI3K). Derudover aktiverer EGFRvIII alternative signalveje, som ikke normalt aktiveres af EGFR. Bl.a. er det vist at EGFRvIII aktiverer c-jun N-terminal kinase (JNK) via PI3K, men funktionen af denne signalvej i onkogenesen er endnu ukendt [21]. I modsætning til EGFR aktiverer EGFRvIII ikke STAT1 og STAT3 og bliver heller ikke ubiquitinyleret, hvilket forhindrer EGFRvIII i at blive effektivt internaliseret og nedbrudt [4, 21-23]. EGFRvIII ser derfor ud til være fanget i en delvis aktiveret konformation, som gør den i stand til at aktivere onkogene signalveje, men ikke til at blive nedreguleret og derved afbryde signalering.

EGFRvIII er fundet overudtrykt i tumorer med oprindelse fra hjernen, brystet, prostata, lungerne, ovarierne og leveren, men især glioblastomer har en høj frekvens (30-60%) af EGFRvIII [24]. Denne brede forekomst indikerer en stærk selektion for EGFRvIII-positive tumorceller in vivo. I et stort antal studier er det nu fastslået, at EGFRvIII spiller en aktiv rolle i dannelsen og udviklingen af tumorer hos mennesker ved bl.a. at øge celledeling, cellemotilitet samt cellers mulighed for at modstå gængse cytostatika [4, 22, 25]. En variant af EGFRvIII-mutationen, der ud over exonerne 2-7 også mangler exons 12-13, er også beskrevet og benævnes EGFRvIII/D12-13

(Figur 1B nr. 7) [26]. Den resulterende receptor mangler i forhold til EGFRvIII et stykke af underdomæne III, men har ellers samme karakteristika.

Tabet af exons 2-7 i både EGFRvIII og EGFRvIII/Δ12-13 fører til en splejsning af exon 1 og exon 8 med dannelsen af et nyt kodon (GGT), og dermed indføjes en ny aminosyre (glycin), der ikke er til stede i EGFR [19]. EGFRvIII og EGFRvIII/Δ12-13 indeholder derfor en ny epitop, som kan bruges til terapeutiske formål, som det vil fremgå senere. EGFRvIII/Δ12-13 indeholder yderligere en ny aminosyre, histidin, i sammenkoblingen mellem exonerne 11 og 14.

Ud over deletioner af specifikke exoner, findes der også en række EGFR-mutanter med duplikationer af specifikke exoner. EGFR.TDM/2-7 har duplikation af exon 2-7, hvilket resulterer i en receptor med et ekstra cysteinrigt underdomæne II og delvis duplikation af underdomæne I (Figur 1B nr. 8) [27]. At exonerne 2-7 også er involveret i duplikationer indikerer, at de molekylære processer, som fører til dannelsen af EGFR-deletioner og -duplikationer, kan være relaterede.

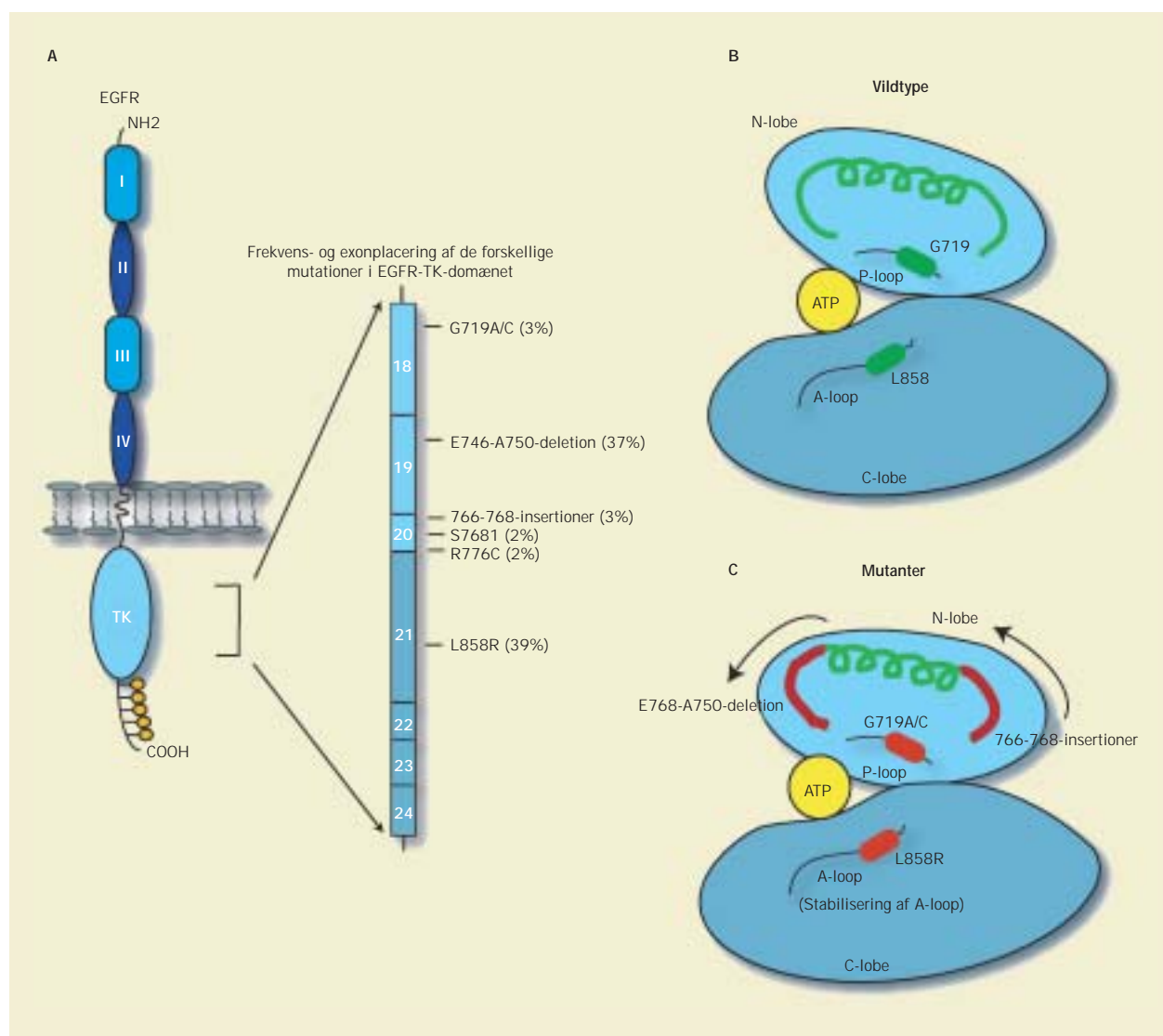
Mutationer i det intracellulære domæne

EGFR-mutationer i det intracellulære domæne er bedst beskrevet i hjernetumorer, og som for mutationerne i det ekstracellulære domæne, drejer det sig om store deletioner og duplikationer af exoner (Tabel 1). EGFRvIV og EGFRvV bærer begge deletioner i den c-terminale del af receptoren. EGFRvIV mangler exonerne 18-25 og dermed hele tyrosinkinasedomænet [27-29]. EGFRvV er trunkeret ved aminosyre 959 og mangler som EGFRvIV hele tyrosinkinase men også den c-terminale del. Relevansen af disse mutationer formodes at være begrænset pga. manglende kinaseaktivitet.

Tabel 1. Oversigt over de hyppigste mutationer i epidermal vækstfaktor-receptor (EGFR)-genet med mutationstype, ligandafhængighed, frekvens og forekomst angivet.

Placering	Receptorer	Ligand afhængig	Mutationstype	Frekvens	Tumortype
	EGFR	+	Ingen	Almindelig	
ECD	EGFRvI	-	N-terminal trunkering	Sjælden	GB
	EGFRvII	+	Deletion af exons 14-15	Sjælden	GB
	EGFRvIII	-	Deletion af exons 2-7	Hyppig	GB, PC, BC, NSCLC, KC, LC, OC
	EGFRvIII/D12-13	-	Deletion af exons 2-7 og 12-13	Sjælden	GB
	EGFR.TDM/2-7	+	Tandem duplikation af exons 2-7	Sjælden	GB
ICD	EGFRvIV	+	Deletion af exons 25-27	Sjælden	GB
	EGFRvV	+	C-terminal trunkering	Sjælden	GB
	EGFR.TDM/18-25	-	Tandem duplikation af exons 18-25	Sjælden	GB
	EGFR.TDM/18-26	-	Tandem duplikation af exons 18-26	Sjælden	GB
	EGFR-G719A/C	+	Punkt mutation	Jævnlig	NSCLC
	EGFR-DE746-A750	+	Lille deletion	Hyppig	NSCLC
	EGFR-766-768-INS	+	Lille insertion	Jævnlig	NSCLC
TKD	EGFR-S761-INS	+	Lille insertion	Sjælden	NSCLC
	EGFR-R776C	+	Punkt mutation	Sjælden	NSCLC
	EGFR-L858R	+	Punkt mutation	Hyppig	NSCLC
	EGFR-L861Q	+	Punkt mutation	Sjælden	NSCLC

ECD = ekstracellulære domæne, ICD = intracellulære domæne, TKD = tyrosinkinasedomæne, GB = glioblastomer, PK = prostatakarcinomer, BK = brystkarcinomer, KK = colonkarcinomer, OK = ovariekarcinomer, LK = leverkarcinomer, NSCLC = ikke småcellede lungekarcinomer.



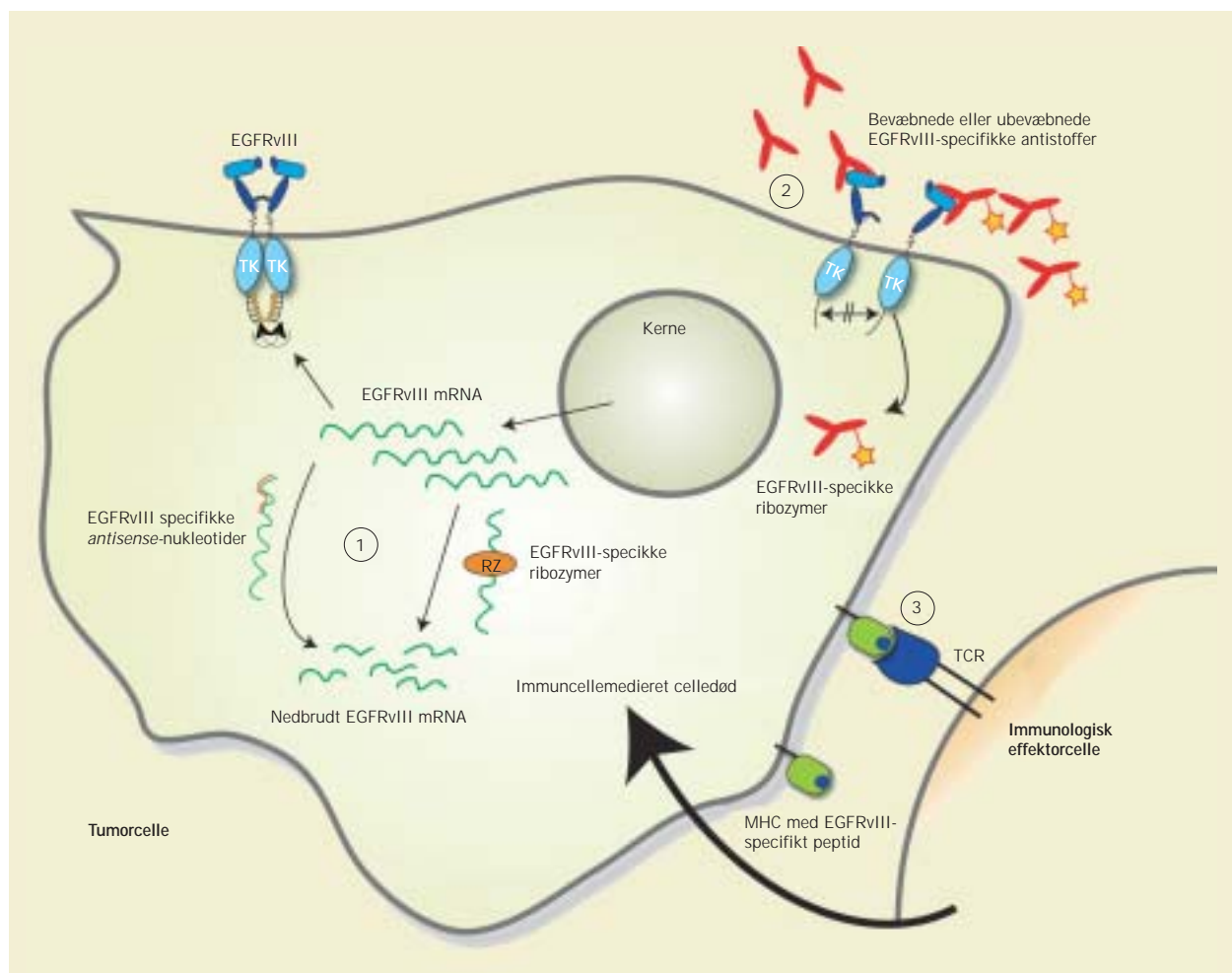
Figur 2 A. Skematisk tegning af den normale epidermal vækstfaktor-receptor (EGFR) og de exoner, der koder for tyrosinkinasedomænet med placeringen af de mest almindelige mutationer i tyrosinase og deres frekvens vist. **B.** Skematisk illustration af det aktive site i tyrosinkinasedomænet, som består af en »N-lobe« og en »C-lobe« med adenosintrifosfat (ATP)-bindingsstet i midten. Placeringen af de nøglestrukturer (grønne), der rammes af mutationer: P-loopet, A-loopet og α C-helixa er også vist. **C.** Placeringen og effekten af EGFR-tyrosinase-mutationer (røde). E768-A750 deletioner og 766-768-insertioner menes at føre til en strukturel ændring i N-lobe, førende til en ændring af ATP-bindingssitet, der øger affiniteten for ATP såvel som for gefitinib og erlotinib. Punktmutationen L858R i aktiveringsloopet (A-loop) udskifter en hydrofobisk leucin med en neutral aminosyre arginin. Dette menes at stabilisere aktiveringsloopet i den aktive position. Mutationen G719A/C i P-loopet menes at aktivere kinasen svagt. Figuren er modificeret fra [32].

EGFR.TDM/18-25 og EGFR.TDM/18-26 har duplikationer af henholdsvis exonerne 18-25 og 18-26, som koder for hele tyrosinase (Figur 1B nr. 9). Det er dog uvist, om den ekstra tyrosinase fører til øget kinaseaktivitet.

Mutationer i tyrosinkinasedomænet

For nylig er en række små mutationer i tyrosinkinasedomænet beskrevet ved lungecancer (Tabel 1) [30, 31]. Disse mutationer forekommer især i adenokarcinomer fra ikkerygende kvinder med asiatisk baggrund, hvilket er den samme subpopulation, som responderer på EGFR-tyrosinasehæmmerne iressa (Gefitinib) og tarceva (Erlotinib) [30, 31]. Af de

syv exoner, der koder for tyrosinase (exonerne 18-24), er mutationerne begrænset til de første fire (exons 18-21), der koder for den lille »N-lobe« og dele af »C-lobe« inklusive den aktiverende A-loop (Figur 2A og 2B). Mere end 110 forskellige mutationer er ifølge Cosmic databasen (<http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/>) beskrevet i dette område for ikkesmåcellede lungekarcinomer (NSCLC), fordelt på 573 forskellige prøver. Disse prøver udgjorde 18% af de 3.183 analyserede væv. Fire af disse mutationer udgør mere end 80% (Figur 2A). Disse er små deletioner, der er centreret omkring tre til fire kodoner i exon 19 (koder for aminosyrerne E746-A750), *missense*-mutationerne L858R i exon 21 og G719A/C i exon 18



Figur 3. Illustration af potentielle metoder, der kan benyttes til specifikt at væksthæmme eller dræbe tumorceller, der udtrykker epidermal vækstfaktor-receptor (EGFR)vIII. 1) *Antisense*-strategier, hvor enten et ribozym (RZ) eller *antisense*-RNA fører til nedbrydning af EGFRvIII-mRNA og dermed produktionen af EGFRvIII. 2) EGFRvIII-specifikke antistoffer, der enten er bevæbnede eller ubevæbnede, binder til EGFRvIII, hvorved de enten hæmmer dimerisering eller inducerer internalisering og nedbrydning af receptoren. Bevæbnede antistoffer inducerer herudover celledød ved at føre en radioaktiv isotop eller et toksin ind i cellen. 3) Små peptider, der i sekvens er specifikke for EGFRvIII, kan benyttes til direkte eller via dendritceller at generere et immunrespons mod celler, der udtrykker EGFRvIII. Her er det cellulære immunrespons illustreret. TCR = T-celle-receptor. TK = tyrosinkinase.

samt små duplikationer eller indsættninger i en lille region af exon 20 omkring det kodon, der koder for aminosyren L747 (Figur 2C). En *missense*-mutation er en mutation, der ændrer en aminosyrekodon til en kodon for en anden aminosyre.

Hvad er den tumorbiologiske relevans af disse mutationer? I en række nye studier er det påvist, at mutationerne øger ligandstimuleret aktivering af receptoren, og at aktiveringen af receptorerne desuden er længerevarende [30, 33]. En øget aktivering af overlevelsessignalveje er også fundet [30, 33].

Umiddelbart har de fire typer af mutationer ikke noget tilfælles, ud over at være lokaliseret omkring ATP og iressa/tarceva bindingsstedet (Figur 2C). Det har været foreslået, at mutationerne fører til en omstrukturering af kritiske aminosyrer, hvilket medfører en stabilisering af ATP og inhibitorbinding i kløften mellem N-loben og C-loben [32]. Hvilket kunne forklare den øgede aktivitet af receptoren og den øgede sensitivitet for inhibitorer.

Hvordan opstår epidermal vækstfaktor-mutationer?

Alle de beskrevne mutationer på nær de små mutationer i tyrosinkinasedomænet er generelt store deletioner eller duplikationer, der fører til et omstruktureret selvaktiverende gen. Mutationerne opstår *de novo* i celler, der i forvejen har EGFR-genamplifikation [29]. En analyse af de genomiske omstruktureringer, der finder sted i forbindelse med EGFRvIII-udtryk har vist, at DNA-bruddet altid forekommer omkring en bestemt sekvens, et såkaldt Alu-element, i intron 7 [34]. Alu-elementer er hyppigt forekommende DNA-sekvenser i det humane genom og er kendetegnet ved at de kan skæres af restriktionsenzymet Alu1 [34]. Yderligere er det blevet vist, at det meget store intron 1 indeholder op mod 11 lignende Alu-elementer [34]. Det er derfor nærliggende at tro, at Alu-elementet i intron 7 og et vilkårligt Alu-element i intron 1 er involveret i en rekombination, der fører til dannelsen af exon 2-7 trunkeerede gener, der alle giver ophav til EGFRvIII. Alu-ele-

menter i øvrige introner i EGFR-genet kan forklare flere af de andre mutationer. Alu-medieret rekombination, der fører til inaktivering af tumorsuppressorgener, er velbeskrevet i litteraturen [35]. EGFRvIII derimod er det første eksempel, hvor Alu-medieret intragen omstrukturering fører til proteinaktivering.

De små mutationer i EGFR-tyrosinkinase derimod menes at være forårsaget af et på nuværende tidspunkt ukendt karcinogen. Den høje forekomst af denne type mutationer blandt ikkerygende kvinder fra stillehavsområdet har ført til en formodning om, at det kan være røg fra madlavningsolier, der er årsag til disse mutationer [32]. Dette er dog indtil videre udokumenteret.

Epidermal vækstfaktor-mutationer og tumorprognose

EGFR-mutationer er især i hjernetumorer forbundet med en dårlig prognose. For patienter med glioblastomer er tilstedeværelse af EGFR-genamplifikationer og samtidigt udtryk af EGFRvIII den stærkeste indikator for en dårlig prognose, mens EGFRvIII i anaplastiske astrocytomer i sig selv er en prognostisk indikator [14, 36]. Anderledes ser det ud for patienter med NSCLC og tyrosinkinasemutationer. Disse patienter har en øget overlevelse på ca. 18 måneder sammenlignet med tilsvarende patienter uden disse mutationer efter behandling med gefitinib [37].

Targetering af epidermal vækstfaktor-mutationer

Mange EGFR-mutationer fører til ændringer i mRNA og aminosyresekvens og da de samtidig er cancerspecifikke, kan de derfor bruges til at målrette anticancerbehandling. Især EGFRvIII har som den hyppigst forekommende i denne gruppe været genstand for intense undersøgelser. Ved dannelsen af EGFRvIII splejses exon 1 og exon 8 sammen, og i sammenføningen opstår som tidligere nævnt et nyt kodon, der koder for aminosyren glycin. mRNA-sekvensen omkring splejsjunktions kan bruges til antisensestrategier, der målrettet fjerner EGFRvIII mRNA fra cellen. Dette enten vha små interfererende RNA (siRNA) eller ribozymmer [38, 39]. Ribozymmer er katalytiske RNA'er, der kan kløve mRNA ved specifikke sekvenser [39]. Begge metoder hæmmer væksten af tumorceller in vitro og in vivo [38, 39].

Sekvensen omkring den unikke aminosyreglycin er blevet brugt til at danne EGFRvIII-specifikke antistoffer [24]. Sådanne antistoffer kan bruges enten alene eller bevæbnet, dvs. koblet til en radioaktiv isotop eller til et celletoksin, til at hæmme væksten af eller dræbe cancerceller (Figur 3) [24]. Bevæbnede EGFRvIII-specifikke antistoffer er i klinisk afprøvning mod glioblastomer [24, 40].

Det er også muligt at rejse et humoralt og cellulært immunrespons mod celler, der udtrykker EGFRvIII ved at immunisere direkte med et 14 aminosyre langt peptid indeholdende den unikke aminosyre glycin eller mere effektivt med dendritceller, som præsenterer peptidet for immunsystemet (Figur 3) [40]. Begge strategier er i klinisk fase II-undersøgelser hos patienter med glioblastomer.

Konklusion

Fundet af de mange EGFR-mutationer i en række forskellige tumortyper kan vise sig at være et vigtigt skridt i retning mod en mere specifik udvælgelse og behandling af kræftpatienter. Især fundet af en korrelation mellem EGFR-tyrosinkinase-mutationer i NSCLC og respons på gefitinib har vakt opsigt, da det er viden, som kan implementeres direkte i klinikken. Alle mutationerne har dog det til fælles, at de er cancerspecifikke og derved kan bruges til selektivt at targetere en behandling rettet mod cancerceller uden at ramme vitale normale væv. Ydermere ser det ud til, at cellerne bliver fysiologisk afhængige af en øget mutant receptoraktivitet for opretholdelse af deres maligne fænotype. Dette betyder, at targeteret behandling af EGFR-mutantudtrykkende tumorer er lige for, og at en fortsat forskning i EGFR mutationers forekomst og tumorbiologiske funktioner derfor er vigtig.

Korrespondance: Hans Skovgaard Poulsen, Strålebiologisk Laboratorium, Afsnit 6321, H:S Rigshospitalet, DK-2100 København Ø.
E-mail: hans.skovgaard.poulsen@rh.hosp.dk

Antaget: 5. januar 2006

Interessekonflikter: Hans Skovgaard Poulsen har modtaget bidrag til forskningsprojekt fra AstraZeneca

Taksigelser: Projektet er støttet af Kræftens Bekæmpelse via bevillingsnummer DPO4087. Tak til Mette Villingshøj for kritisk gennemlæsning af manuskriptet.

Litteratur

1. Dei Tos AP, Ellis I. Assessing epidermal growth factor receptor expression in tumours: what is the value of current test methods? *Eur J Cancer* 2005; 41:1383-92.
2. Ang KK, Berkey BA, Tu X et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:7350-6.
3. Pedersen MW, Meltorn M, Damstrup L et al. The type III epidermal growth factor receptor mutation. Biological significance and potential target for anti-cancer therapy. *Ann Oncol* 2001;12:745-60.
4. Pedersen MW, Pedersen N, Ottesen LH et al. Differential response to gefitinib of cells expressing normal EGFR and the mutant EGFRvIII. *Br J Cancer* 2005;93:915-23.
5. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001;37 (suppl 4):S3-S8.
6. Reiter JL, Threadgill DW, Eley GD et al. Comparative genomic sequence analysis and isolation of human and mouse alternative EGFR transcripts encoding truncated receptor isoforms. *Genomics* 2001;71:1-20.
7. Ogiso H, Ishitani R, Nureki O et al. Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell* 2002; 110:775-87.
8. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2:127-37.
9. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. *Nature* 1984;309:418-25.
10. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F et al. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183-232.
11. Arteaga CL. Epidermal growth factor receptor dependence in human tumors: more than just expression? *Oncologist* 2002;7(suppl) 4:31-9.
12. Pandita A, Aldape KD, Zadeh G et al. Contrasting in vivo and in vitro fates of glioblastoma cell subpopulations with amplified EGFR. *Genes Chromosomes Cancer* 2004;39:29-36.
13. Shinjima N, Tada K, Shiraiishi S et al. Prognostic value of epidermal growth factor receptor in patients with glioblastoma multiforme. *Cancer Res* 2003;63:6962-70.
14. Aldape KD, Ballman K, Furth A et al. Immunohistochemical detection of EGFRvIII in high malignancy grade astrocytomas and evaluation of prognostic significance. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:700-7.
15. Nishikawa R, Ji XD, Harmon RC et al. A mutant epidermal growth factor receptor common in human glioma confers enhanced tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:7727-31.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

16. Nagane M, Coufal F, Lin H et al. A common mutant epidermal growth factor receptor confers enhanced tumorigenicity on human glioblastoma cells by increasing proliferation and reducing apoptosis. *Cancer Res* 1996;56:5079-86.
17. Chu CT, Everiss KD, Wikstrand CJ et al. Receptor dimerization is not a factor in the signalling activity of a transforming variant epidermal growth factor receptor (EGFRvIII). *Biochem J* 1997;324 (Pt 3):855-61.
18. Huang HS, Nagane M, Klingbeil CK et al. The enhanced tumorigenic activity of a mutant epidermal growth factor receptor common in human cancers is mediated by threshold levels of constitutive tyrosine phosphorylation and unattenuated signaling. *J Biol Chem* 1997;272:2927-35.
19. Humphrey PA, Gangarosa LM, Wong AJ et al. Deletion-mutant epidermal growth factor receptor in human gliomas: effects of type II mutation on receptor function. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;178:1413-20.
20. Wong AJ, Ruppert JM, Bigner SH et al. Structural alterations of the epidermal growth factor receptor gene in human gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:2965-9.
21. Antonyak MA, Moscatello DK, Wong AJ. Constitutive activation of c-Jun N-terminal kinase by a mutant epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 1998;273:2817-22.
22. Pedersen MW, Pedersen N, Damstrup L et al. Analysis of the epidermal growth factor receptor specific transcriptome: Effect of receptor expression level and an activating mutation. *J Cell Biochem* 2005;96:412-27.
23. Schmidt MH, Furnari FB, Cavenee WK et al. Epidermal growth factor receptor signaling intensity determines intracellular protein interactions, ubiquitination, and internalization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:6505-10.
24. Kuan CT, Wikstrand CJ, Bigner DD. EGF mutant receptor vIII as a molecular target in cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001;8:83-96.
25. Pedersen MW, Tkach V, Pedersen N et al. Expression of a naturally occurring constitutively active variant of the epidermal growth factor receptor in mouse fibroblasts increases motility. *Int J Cancer* 2004;108:643-53.
26. Callaghan T, Antczak M, Flickinger T et al. A complete description of the EGF-receptor exon structure: implication in oncogenic activation and domain evolution. *Oncogene* 1993;8:2939-48.
27. Fenstermaker RA, Ciesielski MJ. Deletion and tandem duplication of exons 2-7 in the epidermal growth factor receptor gene of a human malignant glioma. *Oncogene* 2000;19:4542-8.
28. Ciesielski MJ, Fenstermaker RA. Oncogenic epidermal growth factor receptor mutants with tandem duplication: gene structure and effects on receptor function. *Oncogene* 2000;19:810-20.
29. Frederick L, Wang XY, Eley G et al. Diversity and frequency of epidermal growth factor receptor mutations in human glioblastomas. *Cancer Res* 2000;60:1383-7.
30. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-39.
31. Paez JG, Janne PA, Lee JC et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004;304:1497-500.
32. Gazdar AF, Shigematsu H, Herz J et al. Mutations and addiction to EGFR: the Achilles 'heel' of lung cancers? *Trends Mol Med* 2004;10:481-6.
33. Sordella R, Bell DW, Haber DA et al. Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate anti-apoptotic pathways. *Science* 2004;305:1163-7.
34. Frederick L, Eley G, Wang XY et al. Analysis of genomic rearrangements associated with EGFRvIII expression suggests involvement of Alu repeat elements. *Neuro Oncol* 2000;2:159-63.
35. Deininger PL, Batzer MA. Alu repeats and human disease. *Mol Genet Metab* 1999;67:183-93.
36. Heimberger AB, Hlatky R, Suki D et al. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res* 2005;11:1462-6.
37. Johnson BE, Janne PA. Selecting Patients for Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor Treatment: A FISH Story or a Tale of Mutations? *J Clin Oncol* 2005;23:6813-6.
38. Fan QW, Weiss WA. RNA interference against a glioma-derived allele of EGFR induces blockade at G2M. *Oncogene* 2005;24:829-37.
39. Halatsch ME, Schmidt U, Botefur IC et al. Marked inhibition of glioblastoma target cell tumorigenicity in vitro by retrovirus-mediated transfer of a hairpin ribozyme against deletion-mutant epidermal growth factor receptor messenger RNA. *J Neurosurg* 2000;92:297-305.
40. Wikstrand CJ, Cole VR, Crotty LE et al. Generation of anti-idiotypic reagents in the EGFRvIII tumor-associated antigen system. *Cancer Immunol Immunother* 2002;50:639-52.

Arv og lymfoproliferativ sygdom

Professor Viggo Jønsson & forskningschef Jørgen H. Olsen

Oslo Universitet, Aker Universitetssygehus, Hæmatologisk Afdeling, og Kræftens Bekæmpelse, Institut for Epidemiologisk Kræftforskning

Resume

De lymfoproliferative sygdomme, især kronisk lymfatisk leukæmi (CLL), non-Hodgkins lymfomer, Hodgkins lymfom og myelomatose anses for at være en gruppe af arvelige sygdomme domineret af pleiotropi, hvor en eller flere af diagnoserne forekommer med øget hyppighed inden for samme slægt. Det antages, at en polygen model, hvor den initiale og arvelige gendefekt endnu ikke er påvist, gør sig gældende. Danmark må anses for at være et godt sted at lede efter disse gendefekter med epidemiologiske og genealogiske metoder, fordi vi tilhører et højrisikoområde for CLL, og fordi vi siden 1943 har haft en landsdækkende cancerregistrering. I det skandinaviske materiale er der ikke påvist anticipation (tiltagende aggressivitet og faldende debutalder ned gennem generationerne), men et mønster for nedarvningen af CLL, Hodgkins lymfom og

non-Hodgkins lymfomer, hvor børn hyppigere får samme diagnose som forældrene, end en anden type lymfoproliferativ sygdom. Der er ikke overbevisende kobling til andre cancerformer. Ved nedarvningen af de lymfoproliferative sygdomme er der ikke nødvendigtvis tale om simple mendelske udspaltninger.

De lymfoproliferative sygdomme (LPS), bl.a. kronisk lymfatisk leukæmi (CLL), akut lymfoblastær leukæmi, non-Hodgkins lymfomer, Hodgkins lymfom og myelomatose har en varierende udbredelse blandt jordens befolkning. For eksempel er de globale højrisikoområder for non-Hodgkins lymfomer USA, Canada, Europa og Australien, når det gælder den hvide befolkning i disse områder [1]. I de samme geografiske områder er CLL den hyppigste subtype af leukæmi [2]. I Danmark er incidensraten af CLL globalt set blandt de højeste med knap ti tilfælde pr. 100.000 mænd pr. år og cirka det halve blandt kvinder. Incidensen ser ud til at være ret stabil i Danmark uden påviselig indfyldelse af kendte miljømæssige