

Cancerbeskyttende gener (tumorsuppressorgener)

Lektor Jørgen Olsen

Københavns Universitet, Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik

Der er tre vigtige eksperimentelt underbyggede erkendelser, som er essentielle for forståelsen af cancerudvikling. Fra den celle- og molekylærbioologiske forskning ved vi, at evnen til tumordannelse kan overføres fra en cancercelle til en normal celle via cancercellens genomiske DNA. Fra den epidemiologiske forskning ved vi, at langt de fleste cancertilfælde forekommer sporadisk i befolkningen. De er med andre ord ikke arvelige i Mendelsk forstand. Endelig ved vi fra den kliniske forskning, at man for de fleste cancertypers vedkommende kan påvise godartede forstadier, som ikke har cancerens invasive egenskaber. Der går i reglen lang tid fra et sådant forstadium opstår, til det omdannes til en egentlig cancer. Den logiske slutning fra disse tre erkendelser er, at det genetiske program ved fødslen sædvanligvis ikke indeholder instruktioner for cancerdannelse. Ændringen af det genetiske program, så det instruerer om tumordannelse, må således ske som følge af en akkumulation af forandringer i det genomiske DNA's basesekvens i somatiske celler gennem individets levetid. Når tilstrækkelig mange forandringer er akkumuleret i det genomiske DNA kan først forstadier til cancer og sidenhen selve canceren udvikles under stadig akkumulation af mutationer. Selv om langt de fleste cancertilfælde er sporadiske, findes der en række arvelige cancersygdomme og cancersyndromer, som har frembragt cancergenetisk viden af stor universel betydning. Generne, som forårsager arvelige cancersygdomme, er nemlig de samme gener, som ses muteret i sporadiske cancere, hvorfor flere eksempler gennemgås i denne statusartikel.

Tumorsuppressorgener forhindrer akkumulation af mutationer

Gener, som beskytter imod udvikling af cancer, kaldes i nogle lærebøger for tumorsuppressorgener [1]. I andre lærebøger indskrænkes tumorsuppressordefinitionen til at omfatte de cancerbeskyttende gener, som hæmmer en celledeling af celleyklus og dermed celledeling [2]. I denne statusartikel anvendes den første, bredere definition, og der argumenteres for, at tumorsuppressorgener generelt forhindrer akkumulation af mutationer og netop derfor beskytter imod cancerdannelse. **Figur 1** viser, at akkumuleringen af mutationer i et væv bestemmes af balancen mellem på den ene side introduktion af nye mutationer og på den anden side fjernelse af mutationer fra cellerne i vævet. Venstre side af figuren viser processer, som indfører og mangfoldiggør mutationer. Gener,

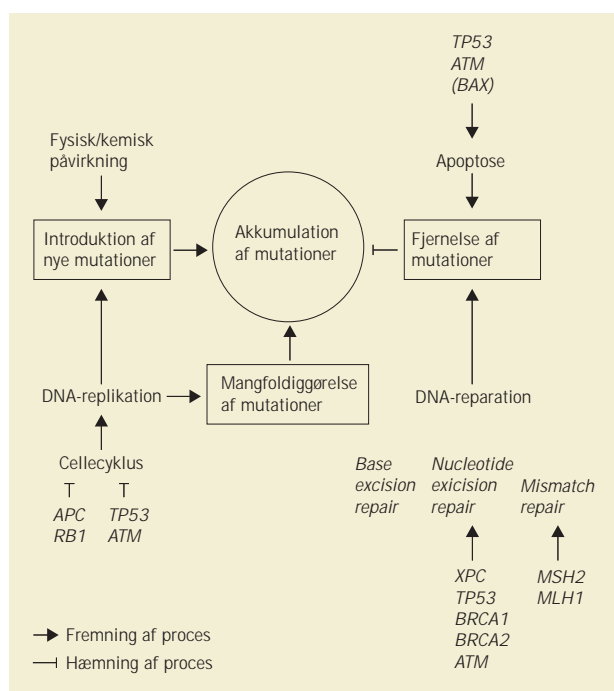
som hæmmer disse processer vil være tumorsuppressorgener. Højre side af figuren optages af processer, som hæmmer akkumulation af mutationer. Gener, som stimulerer disse processer, vil ligeledes være tumorsuppressorgener. Omvendt må man kunne slutte, at gener, som fremmer processer på figurens venstre side, og gener, som hæmmer processer på figurens højre side, må kunne fremme cancerudviklingen. Sådanne gener findes også, men deres genprodukter er udviklet således, at de er underlagt stram funktionel kontrol, hvorved deres cancerfremkaldende egenskaber er holdt i skak. Disse gener benævnes proto-onkogen, og mutationer, som fjerner den normale kontrol med genproduktets aktivitet, så denne bliver konstant aktiv, omdanner proto-onkogen til egentlige onkogen.

Celleyklus og DNA-replikation introducerer og opformerer mutationer

Kopieringen af det genomiske DNA forud for en celledeling benævnes DNA-replikation. Set i sammenhængen med akkumulation af mutationer i det genomiske DNA har replikationen to betydninger. Selve replikationsprocessen vil uvægerligt medføre, at der sker fejl, og at der derved introduceres nye mutationer. Derudover betyder DNA-replikationen, at allerede indførte mutationer fastholdes og mangfoldiggøres i vævet, idet der fremkommer flere celler, som bærer de introducerede mutationer.

DNA-replikationen foregår i S-fasen i celleyklus. Forud er gået G1-fasen. S-fasen selv efterfølges af G2-fasen og mitosen, hvor den egentlige deling af cellen sker med dannelse af to døtreceller. Retinoblastom 1-genet (*RBI*) koder for pRB-proteinet, som kontrollerer progression fra G1- til S-fasen [3].

Tab af pRB-funktion er af stor generel interesse, fordi det har vist sig, at *RBI*-genet er inaktiveret i mange almindelige sporadisk (ikkearvelige) forekommende cancertyper. F.eks. ses tab af pRB-funktion i de fleste tilfælde af småcellet lungecancer [4]. *RBI* har fået sit navn, fordi det er koblet til den sjældne børnecancersygdom retinoblastom, som er cancer, der er udgået fra nethindens nerveceller. Retinoblastom kan optræde bilateralt, og i så fald er der altid tale om arveligt retinoblastom. Det samme er ikke nødvendigvis tilfældet ved unilateralt retinoblastom. Dette faktum fik for 35 år siden *Knudson* [5] til at foreslå en tomutation (*two-hit*)-hypotese for retinoblastom. Hos patienter, som havde nedarvet en kritisk mutation, fandtes denne i alle celler. Introduktion af yderligere en kritisk mutation i en hvilken som helst nervecelle i retina var derfor tilstrækkelig til, at et retinoblastom kunne udvikles. Derfor opstod retinoblastom multifokalt og dermed også bilateralt hos disse patienter. Hos patienter, som har ikke har nedarvet en kritisk mutation, skal to sådanne kritiske mu-



Figur 1. Cirklen repræsenterer akkumuleringen af mutationer i somatisk væv. Akkumuleringen sker, dels fordi nye mutationer kommer til, og dels fordi mutationerne mangfoldiggøres ved, at cellepopulationen, som bærer mutationer i genomet, øges. Akkumuleringen af mutationer er en balance mellem på den ene side introduktion og mangfoldiggørelse af mutationer og på den anden side fjernelse af mutationer. Gennemgang af cellecyklus bevirker DNA-replikation, som både fremmer introduktion af mutationer og øger cellepopulationen med mutationer. Mutationer fjernes enten ved, at cellepopulationen med mutationer indskrænkes ved programmeret celledød (apoptose) eller ved, at mutationer fjernes ved DNA-reparation. De skrevne gensymboler er de officielle angivet af *HUGO Gene Nomenclature Committee* og er skrevet i kursiv i overensstemmelse med konventionerne. De udvalgte gener omtales i artikelteksten og repræsenterer alle tumorsuppressorgener, som også kendes fra arvelige cancersygdomme. *BAX* er dog ikke er beskrevet som årsag til en arvelig cancersygdom og er derfor anført i parentes. Der findes tre typer af DNA-reparation, hvoraf kun de to (*nucleotide excision repair* og *mismatch repair*) styres af tumorsuppressorgener, der kendes fra arvelige cancersygdomme, hvorfor ingen gensymboler er anført ud for *base excision repair*. En mere dækkende oversigt over tumorsuppressorgener findes i [10].

tationer akkumuleres i den samme nervecelle, for at et retinoblastom kan udvikles. Disse patienter får retinoblastom unifokalt og dermed også unilateralt, fordi det vil være uhyre sjældent, at to forskellige celler begge rammes af to kritiske mutationer. Interessant nok sagde *Kundsons* hypotese ikke noget om identiteten af det eller de gener, som blev ramt af de kritiske mutationer. Fortsatte studier af retinoblastomsygdommen [6] førte dog til den vigtige opdagelse, at man hos en del patienter kunne påvise fjernelse af et område fra kromosom 13. Den uundgåelige konklusion var, at man i retinoblastomsygdommen havde at gøre med tab af funktionen af et gen, som var lokaliseret på kromosom 13 og dermed var vejen banet for identificering og funktionel karakterisering af *RB1*.

APC-genet er et andet betydende tumorsuppressorgen, som, når det nedarves inaktiveret, giver ophav til sygdommen familiær adenomatøs polypose (FAP). Sygdommen er gennemgået i et nyligt temanummer i Ugeskrift for Læger [7].

Hos bærere af en mutant *APC*-allel udvikles der talrige adenomer i tyktarmsslimhinden. Adenomerne er forstadier til kolorektal cancer (KRC), og ubehandlet får patienterne da også KRC i en tidlig alder. Ligheden med *RB1* er slående. For *APC* passer det med en model, hvor en inaktiverende mutation i den tilbageværende ikke-sygdomsfremkaldende allel medfører udviklingen af et adenom, som så akkumulerer yderligere mutationer under progression til KRC. *APC*-proteinet indgår i en signalvej, som dels holder igen på progressionen fra G1 til S, og dels forhindrer de umodne epiteliale stamceller i at modnes til specialiserede kolonocytter [8]. *APC*'s rolle ved KRC kan ikke overvurderes, idet inaktivering af *APC*-funktionen også ses ved langt de fleste sporadiske tilfælde af KRC.

DNA-reparation og programmeret celledød fjerner mutationer

Mutationer i DNA'et kan elimineres enten ved at fjerne mutationen ved DNA-reparation [9] eller ved simpelthen at fjerne cellen ved programmeret celledød (apoptose). DNA'et repareres forskelligt afhængigt af, om en mutation er indført ved en fejl under DNA-replikationen eller ved fysisk og kemisk påvirkning. Hvis et fejlparret basepar indbygges, skal reparationen foregå ved *mismatch repair* (MR). MR involverer flere proteiner, der genkender den abnorme tredimensionelle form, som fejlparringen afstedkommer i DNA-dobbelt-helixer. Nedarvede inaktiverende mutationer i gener, der er involveret i MR (f.eks. *MSH2* og *MLH1*) er årsag til den arvelige KRC-type hereditær nonpolypos kolorektal cancer [7]. Endvidere ses inaktivering af de samme MR-gener også ved en del sporadisk forekommende tilfælde af KRC.

DNA-forandringer, som er sket ved fysisk eller kemisk påvirkning, og som involverer flere baser (krydsbinding) eller påsætning af større kemiske grupper (f.eks. polycykliske hydrocarboner og større alkylgrupper), repareres ved fjernelse af de involverede og tilgrænsende nukleotider (*nucleotide excision repair* (NER)). Sådanne defekter i DNA'et betegnes som *bulky lesions*. Seks forskellige gener vides at være involveret i NER. F.eks. genkender proteinproduktet fra *XPC*-genet DNA, hvis struktur er forandret som følge af *bulky lesions*. Nedarvede mutationer i NER-gener er årsag til sygdommen xeroderma pigmentosa, hvor der ses øget lysfølsomhed af huden og en hyppig forekomst af lysinduceret hudkræft. *Bulky lesions* og egentlige brud på DNA-molekylerne giver anledning til initiering af en række processer, som skal forhindre, at mutationerne fæstnes i genomet. DNA-skaden detekteres af en gruppe af proteiner, som udvirker, at der signaleres stop i cellecyklusprogression, og at produktionen af DNA-reparationszymer øges. Produktet af *ATM*-genet er en DNA-skade-sensor, som, når det kommer i kontakt med skadet DNA, udviser øget proteinfoforyleringsaktivitet. Navnet *ATM* kommer af ataxia-telangiectasia, som er en arvelig autosomal recessiv sygdom, der giver homozygote bærere af mu-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

tationer i *ATM* en 50-150 gange forøget risiko for cancerudvikling. *ATM*-proteinets rolle er bl.a. at standse progression fra G1 til S medieret via sin stabiliserende effekt på p53-proteinet. Standsningen i progressionen fra G1 til S har som konsekvens dels at mutationer forhindres i at blive mangfoldiggjort, og dels at DNA-reparationsenzymene får lejlighed til at virke. p53 er et genregulatorisk protein, som kan stimulere transkriptionen af de gener, der er involveret i DNA-reparation, cellecyklusstandsning og apoptose. Nedarvet mutation i p53-genet (*TP53*) er den hyppigste årsag til Li-Fraumeni-syndromet, og afficerede patienter har en øget hyppighed af forskellige cancertyper (bl.a. rhabdomyosarkom, sarkom og brystcancer). DNA-skade kan også afstedkomme, at cellen indleder apoptose. Her indtager p53 igen en nøglerolle, idet det genregulatoriske protein kan aktivere transkriptionen fra *BAX*-genet, hvis proteinprodukt stimulerer apoptose. Inaktiverede versioner af *BRCA1*- og *BRCA2*-generne er hver for sig årsag til arvelig brystcancer og/eller ovariecancer. Funktionerne af *BRCA1*- og *BRCA2*-proteinerne er langt fra klarlagt til bunds, men det står fast, at de dels spiller en rolle ved ophør af progressionen fra G1 til S ved DNA-skade (bl.a. via p53), og dels spiller en rolle for kontrol med korrekt replikation i S-fasen. Denne kontrol er af stor vigtighed, for at kromosomerne fordeles korrekt til de to dötreceller ved den efterfølgende mitose.

Mekanismer for inaktivering af tumorsuppressorgener

Studierne af retinoblastomers genetik medførte en meget betydningsfuld observation, idet inaktivering af begge *RBI*-alleler ofte skete ved, at den ene allel var inaktiveret som følge af en deletion, mens den anden allel var inaktiveret som følge af en punktmutation. Dette blev baggrunden for udvikling af tab af heterozygositets (*loss of heterozygosity* (LOH))-analysen. Når denne analyse udføres, sammenlignes DNA fra raskt væv med DNA fra tumorbvæv. I det raske væv kan der ved genetisk markør-analyse påvises to forskellige alleler, som detekteres af en given markør. Med den samme analyse udført på tumor-DNA kan man derimod kun påvise tilstedeværelse af en allel, fordi den anden allel er blevet deleteret i tumor-DNA'et, f.eks. fordi et større stykke kromosomalt DNA er gået tabt i tumorcellerne. Den vigtige pointe er, at hvis det samme kromosomale område udviser LOH i et stort antal tumorer, indeholder dette kromosomale område med stor sandsynlighed et tumorsuppressorgen. Tumorsuppressorgener kan også inaktiveres af virale onko-proteiner, som binder til tumorsuppressorgenenes proteinprodukter og bevirker en funktionel inaktivering. Denne strategi udnyttes f.eks. af de onkogene humane papillomvirus, som er årsag til cervixcancer. Endelig kan tumorsuppressorgener inaktiveres i tumorceller som følge af udbredt metylering af cytosinbaser i DNA'et omkring tumorsuppressorgenet, hvilket bevirker en ændring i kromatinstrukturen, så genet bliver transkriptionelt inaktiveret.

Korrespondance: *Jørgen Olsen*, Institut for Medicinsk Biokemi & Genetik, Københavns Universitet, Panum Institutet, DK-2200 København N.
E-mail: jolsen@imbg.ku.dk

Antaget: 7. april 2006
Interessekonflikter. Ingen angivet

Taksigelser: Professor *Hans Sjöström* og lektor *Jesper T. Trøelsen* takkes for kritisk gennemlæsning af manuskriptet.

Litteratur

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J et al. *Molecular biology of the cell*. 4 ed. New York: Garland Science, 2002.
2. Lodish HF, Berk A, Zipursky SL et al. *Molecular Cell Biology*. 4 ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1999.
3. Cobrinik D. Pocket proteins and cell cycle control. *Oncogene* 2005;24:2796-809.
4. Kaye FJ. RB and cyclin depend kinase pathways: defining a distinction between RB and p16 loss in lung cancer. *Oncogene* 2002;21:6908-14.
5. Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971;68:820-3.
6. Knudson AG, Jr. Genetics of human cancer. *Annu Rev Genet* 1986;20:231-51.
7. Bernstein IT, Bulow S. Arvelig kolorektal cancer. *Ugeskr Læger* 2005; 167:4159-63.
8. Clevers H. Wnt breakers in colon cancer. *Cancer Cell* 2004;5:5-6.
9. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem* 2004;73:39-85.
10. Payne SR, Kemp CJ. Tumor suppressor genetics. *Carcinogenesis* 2005;26:2031-45.