

Patogenese ved cancer mammae

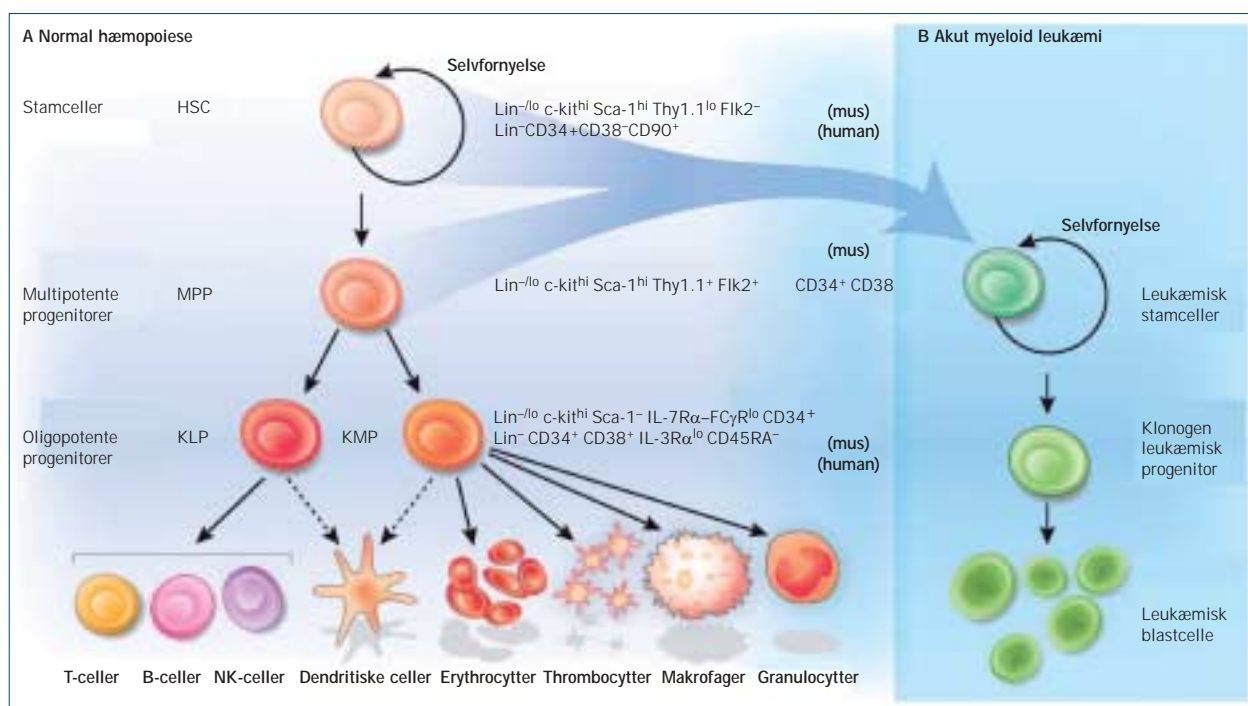
Professor Ole William Petersen & professor Julio E. Celis

Københavns Universitet, Institut for Cellulær og Molekylær Medicin, og
Kræftens Bekæmpelse, Institut for Biologisk Kræftforskning,
Danish Centre for Translational Breast Cancer Research

Et af de mest markante træk ved kræft i almindelighed og ved brystkræft i særdeleshed er tumorheterogenicitet. Tumorer varierer både indbyrdes mellem forskellige patienter og på det mikroskopiske niveau mellem individuelle celler. Variabiliteten tilskrives helt overvejende genetisk instabilitet som følge af aktivitet i onkogener og tab af tumorsuppressorgener samt epigenetiske forandringer med deraf afledt fænotypisk drift. Hele dette scenarium indskrives i en trinvis evolution, der omfatter initiering udløst af karcinogener eller hereditære forhold, efterfølgende promotion med et betydeligt element af vækst, egentlig transformation, som markerer skellet mellem godartet og ondartet, og slutteligt progression, hvis mest fatale konsekvens er metastasering. Denne biologisk trinvis udvikling af cancer søges til stadighed korreleret til specifikke hændelser på det molekulære niveau. Muligheden for at foretage denne korrelation er blevet ganske betydeligt forbedret

gennem de senere år med fremkomsten af *micro-array*-teknologien. Man har således alene på baggrund af det, man kunne kalde den molekulære profil eller signatur, kunnet opdele brystkræft i fem forskellige undertyper [1]. Som det nyeste inden for brystkræft arbejder man i disse år med en teori om, at både de forskellige klasser af tumorer, men også variabiliteten på det cellulære niveau kan forklares ved initiering og progression i formodede relativt umodne brystepitelceller (stamceller) og deres umiddelbare efterkommere (progenitorceller) [2]. Hvis dette er korrekt, stiller det helt nye krav til målrettet terapi mod den såkaldt cancerinitierende celle for at imødegå recidiv [2].

Cancerinitierende celler eller cancerstamceller (CSC) er defineret som de sjældne cancerceller i en tumor, som har ubegrænset evne til selvfornyelse ved seriel passage i immundeficiente mus og evnen til uindskrænket at rekapitulere den oprindelige tumors variabilitet [2]. I teorien kan CSC enten opstå i normale stamceller, hvis stamcellelignende egenskaber derved »kapses«, eller de kan opstå i progenitorceller, som generhverver stamcelleegenskaber som følge af transformation. I nærværende artikel vil vi forsøge at belyse den aktuelle viden på området med inddragelse af forskning fra både leukæmi, musemammakirtlen og fra brystkirtelceller fra mennesker.



Figur 1. A. Sammenligning mellem det normale hæmopoietiske stamcellehierarki (a) og det leukæmiske stamcellehierarki (b). Hæmopoietiske stamceller (HSC) er karakteriseret ved selvfornyelse og multipotens. På lignende vis har cancerstamceller (CSC) selvfornyende egenskaber, evnen til at danne klonogene progenitorer og som regel et abortivt, linjebegrænset differentieringsprogram.

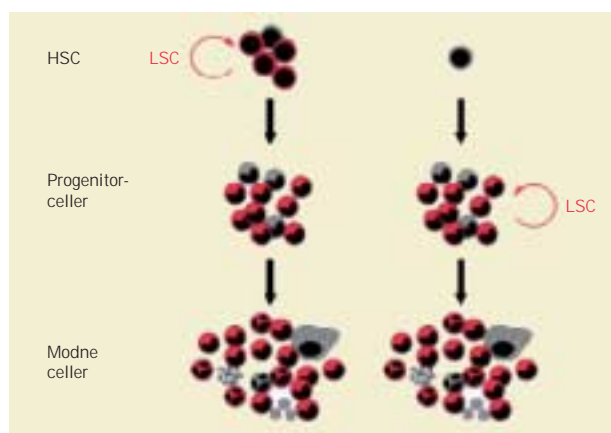
MPP: multipotente progenitorer, KLP: klonogene leukocytprogenitorer, KMP: klonogene myelocytprogenitorer, Lin/c-kit/Sca/CD/m.fl.: overflademærker [4].

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

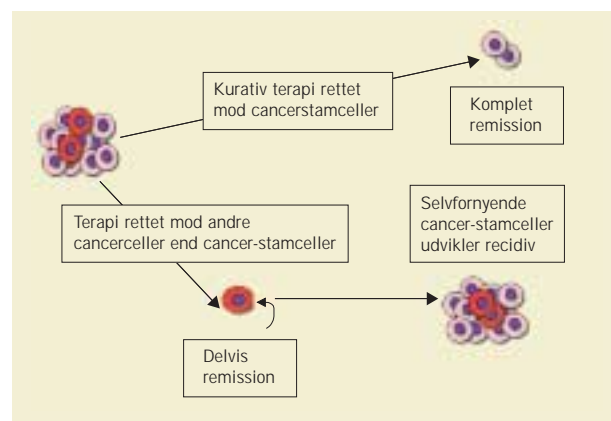
Cancerstamceller – erfaringer fra leukæmi

Lige siden den tyske patolog *Rudolf Virchow* samtidig med fremkomsten af lysmikroskopien for tæt ved 150 år siden formulerede sin berømte tese om, at alle celler kommer fra en enkelt celle (*omnis cellula e cellula*), har man ledt efter det cellulære ophav til cancer. Det forhold, at cancer udvikler sig trinvist over en lang årrække som følge af akkumulerede genetiske mutationer, betyder, at celleforstadier til cancer skal forblive i organismen i overordentlig lang tid – formentlig livslangt. Da genetisk instabilitet endvidere kun har praktisk betydning for celler i deling, fordres et væv med en vis omsætning af celler. Kombinationen af bevarede forandringer og cellulær omsætning har fået mange til at spekulere over, om kræft opstår i somatiske stamceller. Somatiske stamceller er netop karakteriseret ved en vis celledeling, uden at den ene af dattercellerne forsvinder fra vævet eller organet. Disse celler repræsenterer med andre ord et åbenlyst reservoir for akkumulation af genetiske forandringer, fordi de både er langlivede og indimellem deler sig. Det er velkendt, at viden om leukæmi både hvad angår indsigt i patogenese og rationel behandling altid har været årtier foran viden om de solide tumorer. Det gælder også, når det kommer til den evolutionære forståelse af den cellulære oprindelse fra umodne celler i knoglemarven. Det var imidlertid først, da fluorescensaktiveret celledeling (FACS)-analyse af overfladeantigenprofiler blev mulig, at egentlige leukæmiske stamceller blev isoleret baseret på en CD34 + CD38-fænotype [3]. Ligheden mellem CSC og hæmopoietiske stamceller (HSC) er slående, både hvad angår CD34 + CD38-profil og selvfornyende evne in vivo, hvilket er påvist ved ortotopisk xenotransplantation og seriel transplantation i *nonobese diabetic, severe-combined immunodeficient* (NOD/SCID)-mus [4]. Der er nu betydelig evidens for, at det kun er en meget lille fraktion af cancerceller, CSC eller de cancerinitierende celler, der besidder evnen til selvfornyelse og tumorslag. Den egentlige forståelse af den molekulære baggrund for det transformerende trin i cancer skal således, som tiden foreskriver det, aktuelt søges i en snæver sammenligning mellem CSC og HSC (Figur 1).

Det er meget fristende at ekstrapolere videre fra det normale stamcellehierarki til forskellige subtyper af leukæmi, og for nylig har man både hos mus og mennesker udfordret den næsten dogmatiske opfattelse af cancers opståen i langlivede stamceller ved at spore CSC til progenitorceller med erhvervede, selvfornyende egenskaber. For menneskers vedkommende drejer det sig om bestemte former for akut lymfatisk leukæmi karakteriseret ved *ETV6-RUNX1 (TEL-AML1)* og visse *BCR-ABL1* translokationsgener (Figur 1B) [6]. Hele leukæmifeltet har dannet skole for en intens jagt på det cellulære ophav til cancer også i andre organsystemer. Med hensyn til de kliniske implikationer er det klart, at såfremt teorierne har hold i virkeligheden, må genetisk instabilitet suppleres med epigenetiske modningsfænomener, når tumorsubtyper og fænotypisk drift skal forklares. Imidlertid er langt



Figur 1. B. Skematisk oversigt over den formodede forskel mellem cancerinitierende celler i akut myeloid leukæmi (til venstre) og visse former for akut lymfatisk leukæmi (til højre). I sidstnævnte tilfælde menes B-celle-progenitorerne at være tilstrækkeligt langlivede til, at de kan akkumulere de transformerende mutationer og dermed erhverve stamcellelignende egenskaber, hvoraf den uendeligt selvfornyende egenskab er den væsentligste (HSC: hæmopoietiske stamceller; LSC: leukæmistamceller; De transformerede celler er markeret med rødt [5]).

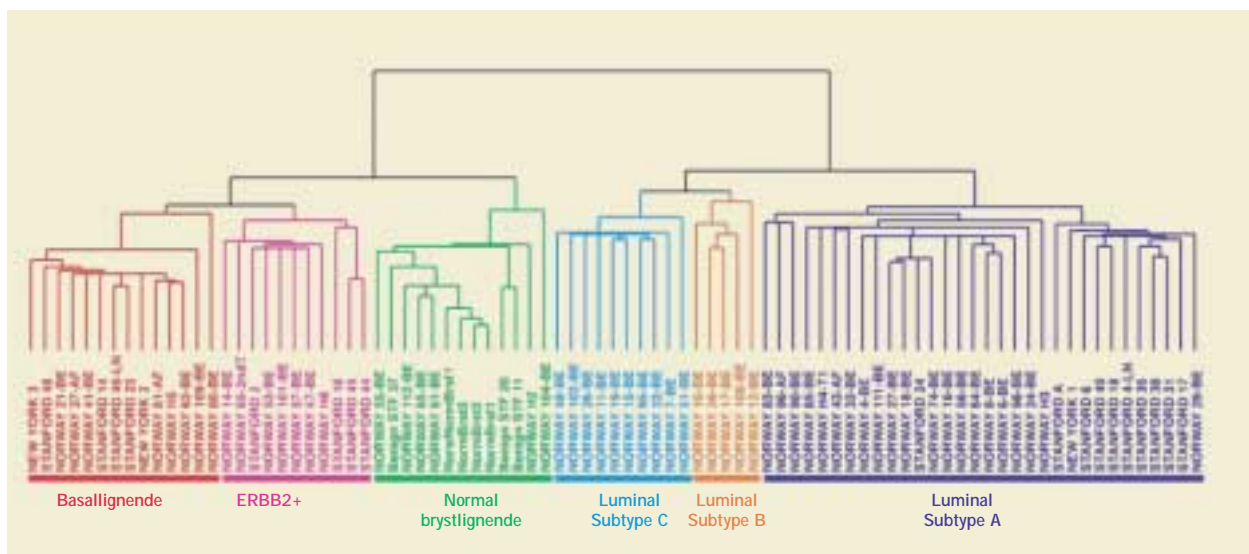


Figur 1. C. I henhold til cancerstamcellehypotesen vil traditionel terapi sædvanligvis ikke eliminere hele populationen af cancerstamceller. Denne terapi er rettet mod hurtigt delende celler af transit amplifying-typen og eliminerer derfor ikke de langlivede celler af stamcelletypen (den nederste arm i diagrammet), som derfor kan give anledning til recidiv. Hvis omvendt terapien rettes specifikt mod den formodede cancerinitierende celle, vil kilden til ny vækst være afbrudt og resttumor vil forsvinde permanent med deraf følgende helbredelse (den øverste arm i diagrammet) [2].

den vigtigste implikation, at terapi potentielt kan målrettes mod den cancerinitierende celle, samtidig med at traditionel, fejlslagen behandling kan forklares med recidiv i den overlevende stamcellepopulation (Figur 1C) [2].

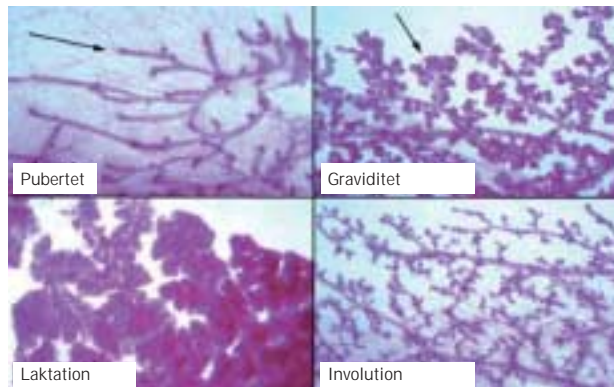
Brystkirtelstamceller og cancerinitierende celler

Når det kommer til solide tumorer er det først inden for de seneste år, at stamcelleteoriene har vundet indpas. Vendepunktet er indtruffet, efterhånden som overflademærker i lighed med CD34 og CD38 har fundet anvendelse som redskaber til FACS-baseret, prospektiv isolering af formodede stamceller. Det drejer sig især om CD133 til prospektiv sortering af cancerstamceller i glioblastomer og coloncancer. Men



Figur 2. A. Dendrogram med subtyper af brystkræft hos mennesker baseret på omfattende mRNA-ekspressionsanalyse [7].

udviklingen har også været drevet frem af forbedrede resultater med transplantation af celler til NOD/SCID-mus, idet *en-graftment* og seriel transplantationskriterierne fra leukæmi er blevet adopteret som guldstandard ved definition af CSC også fra solide tumorer [2]. Når det kommer til brystkræft, er hele feltet betydeligt kompliceret af den meget varierede patologi, som denne cancerform frembyder. Baseret på molekylære signaturer blev det imidlertid for nylig muligt at klassificere i hvert fald fem forskellige brystkræftformer med molekylære profiler, hvoraf flere kunne føres tilbage til fænotyper i det normale bryst (Figur 2A) [1]. Ligesom for cellerne i det normale bryst kan man med ekspressionsprofiler inddele brystkræft i en østrogenreceptor (ER)-positiv (højre arm i Figur 2A) og en ER-negativ variant (venstre arm i Figur 2A).

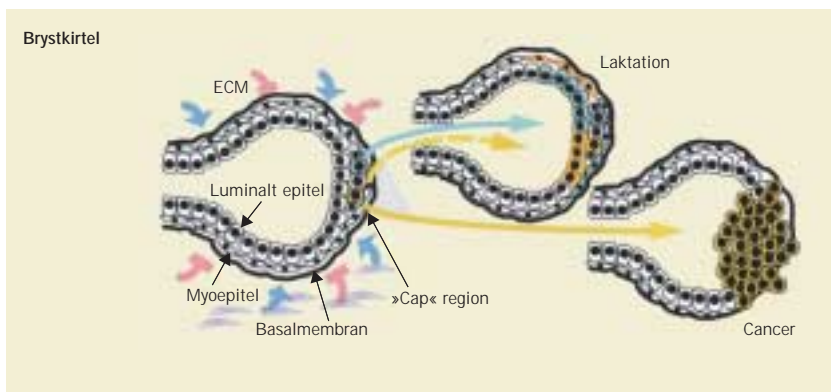


Figur 2. B. »Wholemouts« af musemammarkirtlen. Fedtvæv, som indeholder mammarkirtlen fra puberteten over graviditet til laktation og involution, er farvet og gennemlyst i mikroskopet. Bemærk den betydelige dynamik i epitelet (pile) – en dynamik man dårligt kan forestille sig uden tilstedeværelse af »somatisk stamceller«. Hos mennesker forekommer der involution efter graviditet og denne involution forstærkes yderligere ved menopausen (<http://mammary.nih.gov/atlas/histology/Wellings001/Srwtxt/index.htm>).

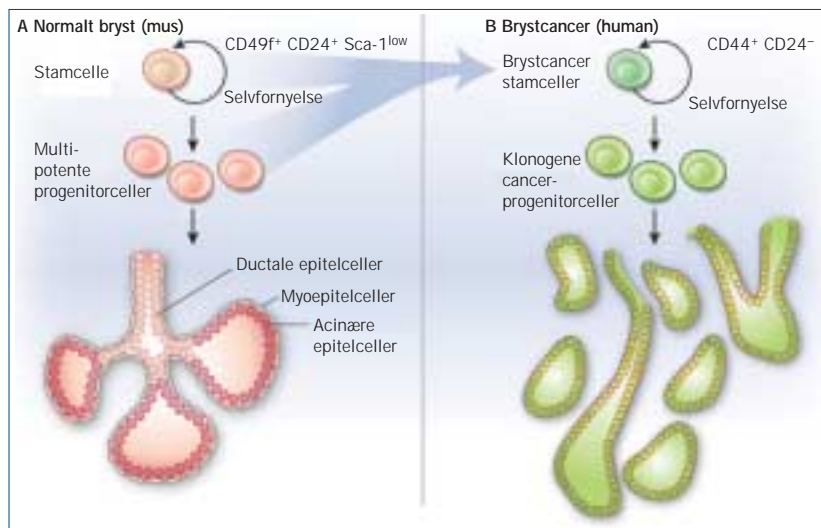
Den ER-negativ variant kan yderligere inddeles i tre subtyper: en med *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2)-overekspression, en normalt lignende og en basallignende, som er karakteriseret ved at udtrykke *epidermal growth factor* (EGF)-receptor, men mangler ER, progesteronreceptor (PGR) og HER2 (den tripelnegative subtype). Den dominerende luminal variant er A-typen, som er ER-positiv og PGR-positiv, men HER2-negativ. Luminal type B er både positiv for ER og/eller PGR samt HER2. De to dominerende former den basal-lignende type og luminal A-typen er så forskellige, at de forekommer med en aldersfordeling på henholdsvis 51 år og 71 år, en dårlig henholdsvis relativ god prognose og ikke mindst forskellige repons på kemoterapi. Ud fra de fænotypiske paralleller til cellerne i det normale bryst har man intensiveret jagten på det cellulære ophav til brystkræft ud fra en hypotese om, at normal udvikling og vævshomøostase varetages af en om end simpel form for stamcellehierarki i lighed med det, man kender fra hæmopoiesen – også henvist til som »mammopoiesen«. Hvis det er tilfældet, vil man direkte kunne sammenligne de molekylære mekanismer, som er årsag til normal linjeudvikling, med de mekanismer, som er årsag til udvikling af de forskellige mammacancersubtyper. Udviklingen af det normale bryst kendes bedst fra musen. Det er imidlertid karakteristisk, at hovedparten af udviklingen finder sted postnatalet omkring puberteten. Endvidere er det karakteristisk, at mammarkirtlen kan undergå yderligere vækst og vævsspecifik differentiering i forbindelse med graviditet og laktation (Figur 2B). Som det ses af Figur 2C består mammarkirtlen hos mus helt overvejende af forgrenede gange, som ender i kolbeformede fortykkelser *endbuds*. Man har i flere årtier haft mistanke til tilstedeværelsen af stamceller i *endbuds*, nærmere betegnet til et bestemt perifert lag af såkaldte *capceller* i *endbuds*. Man har desuden haft mistanke til, at disse

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

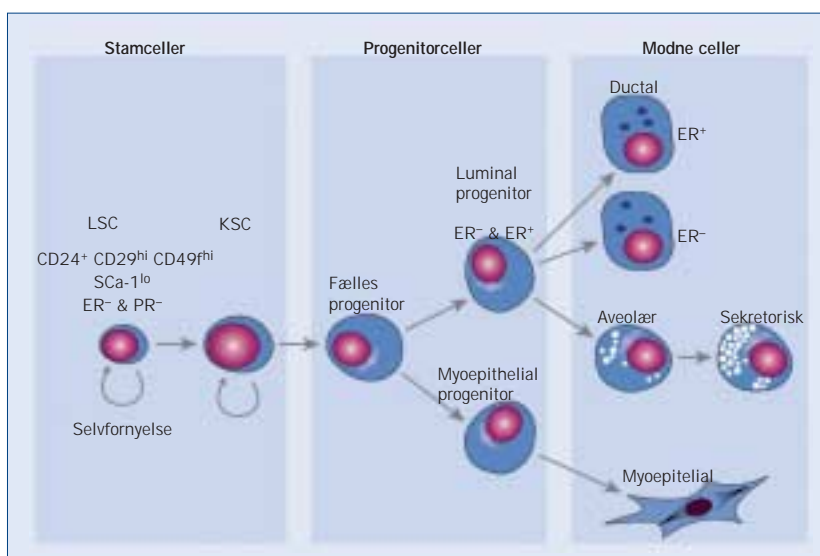
Figur 2. C. »Endbuds« i mammakirtlen omkring puberteten. Normale stamceller (blå) giver ophav til lumnalt epitel og myoepitel i mammakirtlen. Initierede celler (gule) kan give ophav til kræft eller blive holdt i skak af modningsfænomener betinget af cancerfremmende (blå pile) eller cancerhæmmende (røde pile) faktorer i mikromiljøet [8].



Figur 2. D. Diagram af et formodt stamcellehierarki, som det formentlig tager sig ud i musemammarykirtlen og i menneske brystkræft (CD/Sca: overflademærker) [4].



Figur 2. E. Prospektiv sortering af normale musemammarykirtelstamceller og menneskecancerinitierende celler baseret på unikke overfladeantigenprofiler. (ER: østrogenreceptor; PR: progesteronreceptor; LSC: langvarig selvfornyende celle; KSC: kortvarig selvfornyende celle; CD/SCA: overflademærker) [9].



capceller eller deres nærmeste datterceller er udgangspunktet for brystkræft (Figur 2C). På den baggrund lykkedes det sidste år for to uafhængige grupper prospektivt i mus at isolere

mammakirtelstamceller [10, 11]. Næsten samtidig lykkedes det prospektivt at isolere selvfornyende, formodede brystkræftinitierende celler hos mennesker [2, 4]. De to opdagelser

er begge baseret på FACS-sortering af celler med specifikke overfladeprofiler. De normale musestamceller var karakteriseret ved deres udtryk af CD24 (*heat stable antigen*), CD49f (alpha 6 integrin) og CD29 (beta 1 integrin). De cancerinitierende celler hos mennesker var karakteriseret ved en profil baseret på lav CD24-udtryk og høj CD44-udtryk (hyaloranreceptoren). Opdagelserne er opsummeret i **Figur 2D**. Et lignende hierarki er nu beskrevet for brystkirtlen hos mennesker [12]. Det betyder, at man nu langt om længe er blevet i stand til at indplacere den normale luminal ER-positive brystepitelcelle i et tentativt hierarki sammen med flere forskellige andre modne celler i brystet (**Figur 2E**). Overraskende er den ER-positive celle et relativt sent fænomen i dette hierarki, og tilsvarende gælder for både myoepitelceller og kirtlepitelceller [12]. Det rejser naturligt nok det indlysende spørgsmål, om den luminal A-type af brystkræft overhovedet er en stamcellesygdom eller om ER-positive celler er langlivede nok til at kunne ophobe mutationer i voksenlivet til at overskride den transformerende tærskel analogt med B-celleprogenitoren i hæmatopoiesen [2]. Det rejser også spørgsmålet, om basalcelletypen af brystkræft rent faktisk opstår i en stamcelle, som bliver delvist blokeret i sit differentieringsprogram og derfor ikke formår at udtrykke ER, men omvendt er mere aggressiv i lighed med andre stamcelletyper af cancer og akut myeloid leukæmi. De nye teknikker muliggør nu, at disse og en række tilsvarende spørgsmål bliver besvaret forhåbentlig med den skelsættende konsekvens, at vores viden om forebyggelse, diagnose og behandling af brystkræft bliver markant forbedret [13]. Forventningen til kommende opdagelser inden for brystkræft er relateret til opdagelsen af en lille, veldefineret zone af celler i de terminale gange, som både på det molekylære og det funktionelle niveau udviser stamcellelignende egenskaber [12]. Nogle af disse egenskaber (f.eks. keratin K15) kan følges videre i specifikke forstadier til brystkræft [14] og dermed inden for en af de store, solide tumorformer

måske bringe os et væsentligt første skridt på vejen i retning af eksperimentel dokumentation for *Rudolf Virchows* 150 år gamle hypotese om kræftpatogenese.

Korrespondance: Ole William Petersen, Institut for Cellulær og Molekylær Medicin, Panumbygningen, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, DK-2200 København N. E-mail: o.w.petersen@mai.ku.dk

Antaget: 9. juli 2007
Interessekonflikter: Ingen angivet

Artiklen bygger på en større litteraturgennemgang.
En fuldstændig litteraturliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

Litteratur

1. Sørlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer* 2004;40:2667-75.
2. Al-Hajj M, Clarke MF. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene* 2004;23:7274-82.
3. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997;3:730-7.
4. Tan BT, Park CY, Ailles LE et al. The cancer stem cell hypothesis: a work in progress. *Lab Invest* 2006;86:1203-7.
5. Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE et al. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci (U S A)* 2003;100(suppl 1):11842-9.
6. Castor A, Nilsson L, Astrand-Grundstrom I et al. Distinct patterns of hematopoietic stem cell involvement in acute lymphoblastic leukemia. *Nat Med* 2005;11:630-7.
7. Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 2001;98:10869-74.
8. Bissell MJ, LaBarge MA. Context, tissue plasticity, and cancer: are tumor cells also regulated by the microenvironment? *Cancer Cell* 2005;7:17-23.
9. Visvader JE, Lindeman GJ. Mammary stem cells and mammapoiesis. *Cancer Res* 2006;66:9798-801.
10. Stingl J, Eirew P, Ricketson I et al. Purification and unique properties of mammary epithelial stem cells. *Nature* 2006;439:993-7.
11. Shackleton M, Vaillant F, Simpson KJ et al. Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature* 2006;439:84-8.
12. Villadsen R, Fridriksdottir AJ, Rønnov-Jessen L et al. Evidence for a stem cell hierarchy in the adult human breast. *J Cell Biol* 2007;177:87-101.
13. Polyak K, Hahn C. Roots and stems: stem cells in cancer. *Nature Med* 2006;12:296-300.
14. Celis JE, Moreira JMA, Gromova I et al. Characterization of breast precancerous lesions and myoepithelial hyperplasia in sclerosing adenosis with apocrine metaplasia. *Mol Oncol* 2007;1:97-119.

Arvelig brystkræft: behandling og forebyggelse

Overlæge Bent Ejlersen & professor Anne-Marie A. Gerdes

Rigshospitalet, Finsencentret, Onkologisk Klinik, og Odense Universitetshospital, Farmakologi og Genetik, Afdeling for Biokemi

Et landsdækkende program for genetisk udredning og rådgivning til familier med arvelig brystkræft blev for ti år siden startet på initiativ af Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). Nogle få år tidligere var *BRCA1* og *BRCA2* blevet

klonet, og siden er der påvist mere end 750 forskellige risikogivende mutationer i de to gener. Bærere af disse *BRCA1/2*-mutationer har en høj livstidsrisiko for bryst- og æggestokkræft. Eftersøgning af mutationer i *BRCA1/2* er blevet en integreret del af klinisk praksis, og resultatet kan have betydning for såvel kræftpatienterne som de raske slægtninge. Hos 20-30% af familierne med tilsyneladende dominant arvegang af bryst- eller bryst- og æggestokkræft kan der påvises en risikogivende *BRCA1/2*-mutation [1]. Nedarvede mutationer i *TP53* hos familier med Li-Fraumeni syndrom, i *PTEN* hos familier med Cowdens syndrom og i *STK11* hos familier med