

er således både spændende og lovende, men der skal stadig en stor grundforskningsindsats til, før det kan komme på tale med kliniske forsøg, og behandling med iPSC ligger således stadig en del år ude i fremtiden [9]. I mellemtiden kan man til gengæld forestille sig, at iPSC kan anvendes til at udvikle og teste medicin til specifikke patienter. Eksempelvis kan der skabes cardiomyocytter ud fra en hjertepatientens hudceller, og derved kan der dannes celler til forsøg i laboratoriet. Denne type forsøg kan give ny information om specifikke sygdomme på celleniveau samt forbedre eksisterende behandlingsformer. Derudover følger mange nye muligheder for grundforskning i cellebiologi og sygdomsforståelse i kølvandet på udviklingen af den inducerede pluripotens.

Samlet set er stamcelleforskningen et spændende felt, der er i rivende udvikling, og som i fremtiden med stor sandsynlighed vil resultere i nye behandlingsformer til mange patienter verden over. I stedet for symptombehandling vil der sandsynligvis komme kure til mange sygdomme og skader, der i dag dårligt lader sig behandle. Selv om der næppe er tvivl om, at

stamceller vil revolutionere mange sygdommes behandling i fremtiden, fordres der tålmodighed hos patienter og læger, før disse nye koncepter udvikles, og vi kan se cellernes fulde potentiale udfolde sig (Tabel 1).

KORRESPONDANCE: Claus Yding Andersen, Reproduktionsbiologisk Laboratorium, Afsnit 5712, Rigshospitalet, 2100 København Ø. E-mail: yding@rh.dk

ANTAGET: 3. juni 2010

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

LITTERATUR

1. Kuci S, Kuci Z, Latifi-Pupovci H et al. Adult stem cells as an alternative source of multipotential (pluripotential) cells in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009;4:107-17.
2. Brentjens RJ. Cellular therapies in acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Mol Ther* 2009;11:375-82.
3. Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther* 2008;15:109-16.
4. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
5. Trounstein A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocr Rev* 2006;27:208-19.
6. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-72.
7. Wolftjen K, Michael IP, Mohseni P et al. PiggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009;458:766-70.
8. Patel M, Yang S. Advances in reprogramming somatic cells to induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rev* 2010, 25. marts (Epub ahead of print).
9. Robbins RD, Prasain N, Maier BF et al. Inducible pluripotent stem cells: not quite ready for prime time? *Curr Opin Organ Transplant* 2010;15:61-7.

Kræftstamceller i det hæmopoietiske system

Læge Thomas Urup, læge Gitte Madsen, stud.med. Sofie Hallager, cand.scient. Alexander Schmitz, cand.scient. Kirsten Fogd, cand.stat. Martin Bøgsted, cand.scient. Mette Nyegaard, cant.scient. Karen Dybkær Sørensen & professor Hans E. Johnsen

Konceptuelt er maligne sygdomme i det hæmopoietiske system afhængige af såkaldte kræft- eller cancer-stamceller (CSC), som ud over at initiere og forny også vedligeholder væksten af det syge væv. Dette blev oprindeligt beskrevet som *sleeper-feeder*-teorien [1].

Disse sygdomsinitierende cellers natur og biologi er fortsat ukendt, men det er åbenbart, at en identifikation og karakteristisk af dem vil øge vores forståelse af den initiale maligne transformering, progression og spredning – hvilket vil have direkte eller indirekte indflydelse på valget af individualiseret målrettet terapi.

Fænomenologisk beskrives normale stamceller som lavfrekvente, selvfornyende og med potentiale til multilinjedifferentiering (Tabel 1).

Denne beskrivende definition synes ikke at dække CSC, idet de synes at være linjespecifikke og frekvente.

Det er vores opfattelse, at en forståelse af de normale stamcellers biologi kan give ny indsigt i cancer-

biologien og medvirke til at afdække stamcellefunktioner og karakterisere initiale, transformerende mutationer eller balancerede translokationer, som dysregulerer kræftstamcellens genetiske maskineri.

I denne statusartikel gives der først en beskrivelse af stamcellekonceptet og dets fænomenologi hos raske, og dernæst fokuseres der på konceptet for CSC ved leukæmi og myelomatose.

Slutteligt omtales det gennemgående begreb inden for stamcelleforskning *selvfornyelse*, som formentlig er den mekanisme, der forklarer, at størstedelen af kræftframte patienter recidiverer trods kemoterapi.

STAMCELLEKONCEPTET HOS RASKE OG VED KRÆFTSYGDOM

Den normale hæmopoietiske stamcelle

Regeneration af knoglemarv efter letal bestråling af mus gav de første indikationer af tilstedeværelsen af hæmopoietiske stamceller (HSC) [2]. Siden er eksistensen af et cellulært hierarki bestående af stam-

STATUSARTIKEL

Århus Universitets-hospital,
Aalborg Sygehus,
Hæmatologisk Afdeling



TABEL 1

Sammenligning af normale og syge stamceller.

| Karakteristik | Normale hæmopoietiske stamceller | Cancer-stamceller |
|-------------------|----------------------------------|-------------------|
| Hyppighed | Få | Flere |
| Selvfornyelse | Ja | Ja |
| Linjespecificitet | Pluripotente | Unipotente |
| Differentiering | Ja | Stop |

celler, tidlige forstadier til effektorceller og effektorceller blevet karakteriseret. De normale stamceller defineres i dag som lavfrekvente celler, der har evne til at forny sig selv og producere forstadier til en eller flere mere specialiserede modne celler i det organsystem, de tilhører. Den vigtigste egenskab er fænomenet selvfornyelse, hvis funktion er usikkert beskrevet i litteraturen, idet det er en kompleks funktion, der er afhængig af forudsætningerne.

Selvfornyelse observeres i stamcellen, når en asymmetrisk deling resulterer i 1) en ny identisk modercelle, der er i hvile og har bevaret sin evne til selvfornyelse samt 2) en dattercelle med evne til yderligere celledeling og differentiering, hvormed evnen til selvfornyelse gradvist reduceres og mistes.

Den selvfornyede stamcelle, som er identisk med modercellen, opretholder en cellebestand, der sikrer kontinuerlig blodcelledannelse gennem et helt liv [3].

Cancerstamcellekonceptet

Samtidig med at eksistensen af HSC blev sandsynliggjort, blev der beskrevet forskelle i tumorcellers evne til kolonidannelse *in vitro* og *in vivo*. Studieresultater viste, at mindre end 1% af myelomatose-, lymfom- og leukæmiceller dannede kolonier af cancerceller [4].

Ligesom normalt væv består de fleste tumorer af linjespecifikke, men heterogene cellepopulationer, som inkluderer tumorceller, der har stamcellernes evne til asymmetrisk deling og derfor bærer kimen til kræftsvulsten. Det er sandsynligt, at disse celler er de ovenfor beskrevne kolonidannende celler.

Herved er kræftstamcellekonceptet skabt, i hvilket det postuleres, at der findes en lavfrekvent population af kræftceller, der er kimen til vækst- og formeringspotentialer for hele svulsten.

DEN TRINVISE ONKOGENESE OG DET CELLULÆRE HIERARKI

Den patogenetiske model for hæmatologisk kræft involverer en serie selektivt erhvervede mutationer

med indflydelse på fundamentale biologiske funktioner som cellecyklus, apoptose, differentiering og selvfornyelse. Den maligne proces resulterer i en heterogen population af kræftceller, hvilket skyldes den trinvis proces, i hvilken hvert skridt er drevet af en eller flere mutationer. Det synlige resultat er genetiske dysfunktioner på grund af selektive vækstfordele og ændring af det cellulære hierarki.

Placeringen af CSC i dette hierarki er studeret i *in vivo*-dyremodeller, hvor isolerede subpopulationer transplanteres og studeres for at belyse deres evne til at regenerere tumorer med den oprindelige geno- og fænotype. En anden model omfatter *in vitro*-studier, i hvilke man analyserer for erhvervede mutationer, onkogener eller normale linjespecifikke genetiske markører for eksempel B-cellereceptoren i enkeltcellesubpopulationer fra det cellulære hierarki. Begge modeller har givet vigtig information om stamcellepopulationer fra forskellige kræftsygdomme.

Modellernes fundament er, at kræft opstår og udvikles ved klonal evolution, og at klinisk erkendelige rearrangementer eller mutationer primært er etableret i en celle, som bliver kimen til de dominerende klonale populationer af *end-stage*-celler i svulsten. Med andre ord vil enhver celle, som overlever en ny erhvervet mutation på et hvilket som helst trin i sygdommen, deltage i den trinvis progression og derfor definere den tumorinitierende CSC med bevaret evne til selvfornyelse. Sygdomsprogressionen vil bestå af klonale ekspansioner, som kan erkendes som en del af den genetiske profil af *end-stage*-tumorceller.

Erfaringer fra akut lymfoblastær leukæmi

En hierarkisk model er beskrevet for akut lymfoblastær leukæmi (ALL), i hvilken den maligne klon i knoglemarven består af lavfrekvente, umodne leukæmiske forstadier eller stamceller samt højfrekvente, prolifererende leukæmiske tumorceller. De prolifererende celler synes at stamme fra hvilende leukæmiske stamceller, der opfattes som kemoterapiresistente. Analogt til teorien om den trinvis onkogenese, opstår ALL som en konsekvens af en række mutationer i lavfrekvente knoglemarvsceller, som menes at være stamceller eller datterceller. Det vides endnu ikke, på hvilket eller hvilke niveauer af den hæmopoietiske differentiering den initiale og/eller leukæmisk transformerende genetiske begivenhed opstår, men den maligne udvikling leder til modningsstop og akkumulering af umodne dysdifferentierede celler fra en eller flere cellelinjer.

Grundet forbedrede metoder til identifikation, karakterisering og sortering af mindre subpopulationer, er det inden for de seneste år blevet påvist, at

en leukæmisk stamcelle eksisterer. Dette blev f.eks. vist med diagnostiske prøver fra patienter, som blev sorteret og transplanteret til *non-obese diabetic severe combined immunodeficiency*-mus. Humane celler fra transplantationsrecipientens knoglemarv blev efterfølgende isoleret og sekundært transplanteret til en ny recipientmus. Resultaterne fra disse eksperimenter viste, at potentialet for at overføre human ALL til recipientmus udelukkende var til stede i fraktionen af celler, der havde en overfladeprofil, som svarede til den normale HSC.

Samtidig viste studiet, at CSC i B-celle-ALL manglede mere modne B-cellemarkører [5]. Initiale og/eller transformerende mutationer i udviklingen af ALL sker med andre ord på forskellige tidlige trin i den hæmopoietiske differentiering inden for det lymfoide hierarki.

Erfaringer fra myelomatose

Myelomatose (MM) er en B-celle-sygdom, der er karakteriseret ved ukontrolleret vækst af plasma-celler (PC) i knoglemarven, som forudgås af et præmalignt stadium kaldet *monoclonal gammopathy of undetermined significance* (MGUS). Onkogenesen initieres af translokationen i immunoglobulin tung kæde (IgH)-loket, da translokationen allerede er til stede i MGUS-stadiet [6]. Denne translokation involverer en række gener af betydning for den begyndende trinvis onkogenese. Det ikkeinvolverede IgH-allel fungerer normalt og resulterer i den karakteristiske klonotypiske fænotype med monoklonale B-celle-receptorer i membranen og sekretion af monoklonalt protein kaldet M-komponenten.

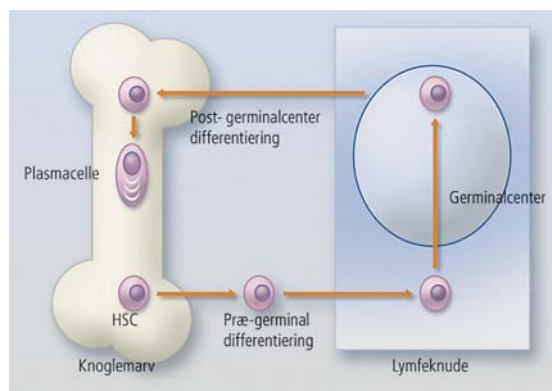
Myelomcellerne udtrykker ingen intraklonal variation i de komplementære hypervariable regioner, hvilket tyder på, at MM udgår fra lymfeknudens germinalcenter, og at onkogenesen pågår i den efterfølgende B-celle-differentiering. Under den normale differentiering kan germinalcentrets B-celler differentiere både til *memory*-B-celler og PC. For nylig er der identificeret populationer af klonotypiske celler med en overfladeprofil, der svarer til en *memory*-B-celle eller en præplasmablast. Disse potentielle CSC må erhverve sig yderligere mutationer for at transformere til maligne PC (**Figur 1**). Dette understøttes af, at der kun er fundet tidlige mutationer og ikke sene i *memory*-B-celler i patientprøver, mens både tidlige og sene mutationer er påvist i de tilsvarende patienters PC [7]. Det er endnu ikke klart, fra hvilken del af B-cellehierarkiet myelom-CSC har sin oprindelse.

SELVFORNYELSE – DEFINITION OG KARAKTERISTIK

Der forskes i dag intensivt i at forstå de mekanismer, som regulerer selvfornyelsen i normale stamceller og

FIGUR 1

Den normale B-celle-differentiering og den trinvis udvikling af akut lymfoblastær leukæmi og myelomatose. En hæmopoietisk stamcelle i knoglemarven differentierer til en lymfoid stamcelle og efterfølgende en naiv prægerminal B-celle, som opsøger lymfeknuden. I forbindelse med præsentation for et relevant antigen i lymfeknudens germinalcenter differentierer den postgerminale B-celle videre til enten en hukommelses-B-lymfocyt eller til en plasmacelle med ansvar for det humorale immunsystem. Kræftinitierende og/eller transformerende mutationer kan ske på flere niveauer af B-celle-hierarkiet. Den celle, der er ansvarlig for udvikling af akut lymfoblastær leukæmi, optræder tidligt i B-celle-differentieringen tæt på den normale hæmopoietiske stamcelle i knoglemarven. Modsat vil initiale mutationer ved myelomatose opstå i germinalcenteret og transformerende mutationer i de efterfølgende postgerminale B-celler i knoglemarven.



HSC = hæmopoietisk stamcelle.

cancerstamceller. Disse studier er primært baseret på genmodificerede in vitro- og in vivo-modellsystemer, hvor man kan henholdsvis op- og nedregulere interessante gener. Efterfølgende vurderes cellernes stamcellepotentiale i tidligere nævnte in vivo- og in vitro-assays.

Således har man vist, at genet *BMI-1* regulerer selvfornyelse i humane HSC og akut myeloide leukæmiske celler [8]. Ligeledes har gener fra genfamilierne *Wnt*, *Hox* og *Notch* vist sig at regulere selvfornyelse af HSC [9-11], og disse er også impliceret i onkogenesen ved flere cancertyper [11-13]. Således lader det til, at gener, som styrer selvfornyelse i normale stamceller, også er involveret i den trinvis onkogenese og reguleringen af selvfornyelse i CSC.

SAMMENFATNING OG PERSPEKTIV

Et af kræftgældens vigtigste spørgsmål er, hvordan det cellulære hierarkis stamceller, datterceller og modne blodceller udvikles og reguleres. Trods mange års forskning har vi fortsat kun et begrænset kendskab til opbygningen og kontrollen af den proces, som fører fra en hvilende, selvfornyende celle til et dynamisk cel-

lulært kompartment af ondartede celler, som deler sig, selvfornyr sig og differentierer uhæmmet og invasivt.

En hierarkisk model er beskrevet for maligne sygdomme eksemplificeret ved ALL og MM. Ifølge modellen indeholder den maligne klon umodne stamceller, som er til stede i den prolifererende marv. Disse prolifererende celler udvikles fra et ikkedelende kompartment af hvilende kræftstamceller, som kan være skyld i kemoterapieresistens og sygdomsrelaps efter behandling. Disse CSC er endnu ikke isoleret og karakteriseret.

Fremtidig identifikation og karakteristik af kræftstamcellers regulering vil sandsynligvis medvirke til at udvikle nye, potentielt kurative behandlinger til patienterne.

KORRESPONDANCE: Hans E. Johnsen, Forskningshus, Sdr. Skovvej 15, 9000 Aalborg. E-mail: haej@rn.dk

ANTAGET: 15. juli 2010

INTERESSEKONFLIKT: Ingen

LITTERATUR

1. Killmann SA. Acute leukaemia: development, remission/relapse pattern, relationship between normal and leukaemic haemopoiesis, and the 'sleep-to-feeder' stem cell hypothesis. *Baillieres Clin Haematol* 1991;4:577-98.

2. Main JM, Prehn RT. Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow. *J Natl Cancer Inst* 1955;15:1023-9.
3. Morrison SJ, Weissman IL. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity* 1994;1:661-73.
4. Park CH, Bergsagel DE, McCulloch EA. Mouse myeloma tumor stem cells: a primary cell culture assay. *J Natl Cancer Inst* 1971;46:411-22.
5. Cox CV, Evely RS, Oakhill A et al. Characterization of acute lymphoblastic leukemia progenitor cells. *Blood* 2004;104:2919-25.
6. Guikema JE, Vellenga E, Bakkus MH et al. Myeloma clonotypic B cells are hampered in their ability to undergo B-cell differentiation in vitro. *Br J Haematol* 2002;119:54-61.
7. Rasmussen T, Haaber J, Dahl IM et al. Identification of translocation products but not K-RAS mutations in memory B cells from multiple myeloma patients. *Haematologica* 29. maj 2010.
8. Lessard J, Sauvageau G. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature* 2003;423:255-60.
9. Lawrence HJ, Helgason CD, Sauvageau G et al. Mice bearing a targeted interruption of the homeobox gene HOXA9 have defects in myeloid, erythroid, and lymphoid hematopoiesis. *Blood* 1997;89:1922-30.
10. Reya T, Duncan AW, Ailles L et al. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 2003;423:409-14.
11. Stier S, Cheng T, Dombkowski D et al. Notch1 activation increases hematopoietic stem cell self-renewal in vivo and favors lymphoid over myeloid lineage outcome. *Blood* 2002;99:2369-78.
12. Jamieson CH, Ailles LE, Dylla SJ et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med* 2004;351:657-67.
13. Nakamura T, Largaespada DA, Lee MP et al. Fusion of the nucleoporin gene NUP98 to HOXA9 by the chromosome translocation t(7;11)(p15;p15) in human myeloid leukaemia. *Nat Genet* 1996;12:154-8.

Basal stamcellebiologi og cancer

Lektor Bo T. Porse, professor Ole W. Petersen & professor Kristian Helin

STATUSARTIKEL

Københavns Universitet,
Biotech Research and
Innovation Centre (BRIC)

De seneste års kræftforskning har resulteret i mange nye erkendelser, som giver os mulighed for bedre at forstå de underliggende mekanismer, der er ansvarlige for udviklingen af denne gruppe af sygdomme. En af de vigtigste, er den stigende erkendelse af, at nogle celler i tumoren deler egenskaber med normale stamceller, hvorfor studier inden for basal stamcellebiologi og kræft bør udføres i snævert samspil.

Vores organer er generelt opbygget i cellulære hierarkier [1-3]. I toppen af disse sidder de somatiske stamceller, som via adskillige differentieringstrin kan give ophav til alle »progenitor«- og modne celler i det pågældende organ (**Figur 1**). Disse stamceller er ansvarlige for den livslange vedligeholdelse af de fleste af kroppens organer, og forskningsresultater tyder på, at deres gradvist nedsatte evne til dette er en vigtig komponent i diverse aldringsprocesser. Somatiske stamceller skal således være både multipotente, dvs. de skal kunne give ophav til alle de forskellige celleder i det pågældende organ, og de skal endvidere kunne vedligeholde sig selv gennem det meste af livet.

Ved hver enkelt celledeling står stamcellerne

altså overfor et valg om at dele sig med henblik på selvfornyelse, selvekspansion eller med henblik på at opfylde organets behov for modne celler. Desuden kan stamcellen undergå programmeret celledød, trække sig ud af celledøds cyklus og gå i proliferativt hi, eller helt forlade den specialdesignede niche, som den normalt opholder sig i – alt sammen som svar på organets tilstand og krav [3].

Ikke overraskende er stamcellens mange muligheder under stram og kompleks regulatorisk kontrol – en regulering, som styres ved hjælp af såvel indre som ydre faktorer. Af ydre faktorer kan bl.a. nævnes stamcellernes interaktion med deres niche samt påvirkning fra cytokiner. Begge disse komponenter føder ind i selve stamcellen og er medvirkende til at påvirke dens genekspressionsprogrammer. Her styres bl.a. cellens transkriptionelle program både af transkriptionsfaktorer, som via deres direkte interaktion med DNA finder frem til de gener, som enten skal aktiveres eller undertrykkes. Et yderligere lag af regulering kommer fra kromatinbindende faktorer og ikkekodende ribonukleinsyre (RNA), som begge er