

og der arbejdes på højtryk i disse år for at finde relevante antitelomerase-medikamenter.

Hvad angår aldersrelaterede sygdomme og livslængde er telomerernes betydning fortsat uafklaret, men vi formoder, at telomererne har en større betydning i væv med høj proliferation. Da erhvervede telomerskader som ovenfor nævnt kan persistere uden at manifestere sig i mange år og først herefter »dukke op« til overfladen som et problem, er det blevet foreslået, at telomerer er en biomarkør for den type liv, vi har levet, og afspejler hvor meget skade vores celler har været udsat for. Set i dette lys kan enkelte korte telomerer tænkes at spille en rolle i en lang række sent debuterende sygdomme.

KORRESPONDANCE: Laila Bendix, Hans Appels Vej 14, 5260 Odense S.
E-mail: laila.bendix@slb.regionssyddanmark.dk

ANTAGET: 9. januar 2010

FØRST PÅ NETTET: 19. april 2010

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterne har overdraget deres patent på en ny metode til måling af telomerer til Tinna Holding A/S. Efterfølgende har firmaet givet økonomisk driftsstøtte til validering af metoden.

LITTERATUR

- Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 2006;12:1133-8.
- Muller HJ. The remaking of chromosomes. *The Collecting Net* 1938; 8: 182-195.
- McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in zea mays. *Genetics*. 1941;26:234-82.
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961;25:585-621.
- Olovnikov AM. A theory of marginotomy. *J Theor Biol* 1973;41:181-90.
- Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972;239:197-201.
- Blackburn EH. The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annu Rev Biochem* 1984;53:163-94.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990;345:458-60.
- Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 1985;43:405-13.
- Greider CW, Blackburn EH. The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell* 1987;51:887-98.
- Podlevsky JD, Bley CJ, Omana RV et al. The telomerase database. *Nucleic Acids Res* 2008;36:D339-D343.
- Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999;97:503-14.
- De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005;19:2100-10.
- Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG et al. Replicative senescence: a critical review. *Mech Ageing Dev* 2004;125:827-48.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- Sfeir AJ, Chai W, Shay JW et al. Telomere-end processing the terminal nucleotides of human chromosomes. *Mol Cell* 2005;18:131-8.
- Rufer N, Brummendorf TH, Kolvraa S et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocyte subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med* 1999;190:157-67.
- Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D et al. Extensive allelic variation and ultrashort telomeres in senescent human cells. *Nat Genet* 2003;33:203-7.
- Rubelj I, Vondracek Z. Stochastic mechanism of cellular aging – abrupt telomere shortening as a model for stochastic nature of cellular aging. *J Theor Biol* 1999;197:425-38.
- Von Zglinicki T, Saretzki G, Docke W et al. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Exp Cell Res* 1995;220:186-93.

Telomerers rolle i cancer

Laila Bendix¹ & Steen Kølvråa²

STATUSARTIKEL

1) Dansk Center for Aldringsforskning (DARC) og 2) Vejle Sygehus, Klinisk Genetisk Afdeling

Eukaryote celler, heriblandt humane celler, har lineære kromosomer, der ender i de såkaldte telomerer. Telomerernes funktion er at forhindre, at kromosomerne bliver genkendt som dobbeltstrengsbrud af DNA'et. Dette opnås ved at telomer-DNA'et danner en lassiformet struktur, der er kendt som t-loop. Telomererne fungerer også som buffer for det, der kendes som *the end-replication-problem*, nemlig at kromosomerne ikke bliver fuldstændigt duplikeret i enderne inden celledeling. I stedet bliver de en anelse kortere for hver celledeling, hvilket begrænser antallet af celledelinger. En hypotese er, at telomererne herved fungerer som et værn mod cancer. Telomerer er dog formentlig et tvæægget sværd, når det kommer til cancer [1]. For selv om telomerer kan begrænse antallet af celledelinger, kan korte telomerer også initiere den kromosominstabilitet, der er karakteristisk for cancerceller.

Vi vil i denne statusartikel introducere læserne til, hvorledes telomerer menes at være involveret i initiering og progression af cancer. Denne viden danner baggrund for at forstå, hvorfor telomerer ventes at vinde indpas i klinikken både som en prognostisk markør ved cancer og som en del af cancerbehandling.

TELOMERERNES DOBBELTE ROLLE VED INITIERING AF CANCER

Kromosomer med meget korte telomerer kan fusionere *end-to-end* med andre kromosomer med korte telomerer. Dette sker sandsynligvis, når telomererne er blevet for korte til at danne beskyttelseshætten – t-loop – idet cellen nu opfatter den åbne telomer som et DNA-brud, der skal repareres. Denne fusionering af to kromosomer kan i den efterfølgende celledeling medføre, at kromosomerne rives

over, når de skal fordeles til dattercellerne. Dette medfører dannelsen af nye ikkebeskyttede ender, der fusionerer, hvorved processen gentages. Dette fænomen kendes som *breakage-fusion-bridge*-cykli (B-F-B), og resultatet er genomisk ustabilitet med både duplikationer og deletioner til følge.

Processen vil dog kun foregå i celler, hvor de normale senescens/apoptose checkpoints er defekte. Dette overvågningssystem vil nemlig ved fremkomst af korte telomerer normalt signalere celledelings-stop og dermed limitere cellens delingspotentiale. Det er denne funktion, der gør, at telomerer normalt anses for at være et værn mod cancer.

Ved inaktivering af et sådant checkpoint (f.eks. p53, der er en hovedaktør i senescens/apoptose-overvågningssystemet) er det til gengæld vist, at celler fortsætter med at dele sig på trods af tiltagende korte telomerer [2]. En sådan inaktivering vides at være en tidlig hændelse i cancerudviklingen. På denne måde formodes korte telomerer i kombination med tab af checkpoints at kunne fremme den genomiske instabilitet, som er en hjørnesteen i cancerudviklingen (Figur 1) [3].

De samme korte telomerer ville imidlertid være en hæmsko for den videre cancerudvikling, da telomererne – som følge af accelereret celledeling – bliver tiltagende korte og herved udløser flere B-F-B-cykli, hvilket resulterer i en så høj grad af kromosominstabilitet, at cellen vil gå i krise og dø. Udviklingen til egentlig tumor fortsætter derfor kun, hvis et telomerforlængelsessystem på dette tidspunkt aktiveres. Det kan enten være en reaktivering af telomerase eller aktivering af den såkaldte ALT *Alternative Lengthening of Telomeres Pathway*. Aktiveringen sker formentlig via den genomiske instabilitet og resulterer i forlængelse af telomererne og dermed et genvundet delingspotentiale.

Telomerer menes således at have to funktioner i cancerudviklingen (især for epiteliale cancere), en tidlig funktion, der er knyttet til korte telomerer, som giver genomisk instabilitet, og en senere funktion, der er knyttet til telomerforlængelse, som giver en vis stabilisering af genomet og dermed et øget delingspotentiale.

IN VIVO-EVIDENS FOR TELOMERERNES ROLLE I INITIERING AF CANCERE

Teorien om, at korte telomerer kan initiere cancerudvikling gennem B-F-B-cykler, bygger hovedsageligt på in vitro-eksperimenter og dyremodeller, mens det har været sværere at vise betydningen af dette hos mennesker.

Undersøgelser af telomerlængder hos cancerpatienter er foretaget i flere studier med varierende



FAKTABOKS

Telomerer er formentlig et tveægget sværd, når det kommer til cancer. For mens afkortning af telomerer kan begrænse antallet af celledelinger, kan korte telomerer være med til at initiere den kromosominstabilitet, der er karakteristisk for cancerceller.

Fleere studier har vist, at telomerlængden i leukocytter generelt er kortere i cancerpatienter end hos raske, men telomerlængder har ikke kunnet prædiktere, hvem der udvikler cancer.

Telomerase har klare fordele som target for cancerterapi, idet telomerase spiller en kritisk rolle for vedligeholdelse af telomerer i de fleste cancerceller, inklusive cancerstamceller.

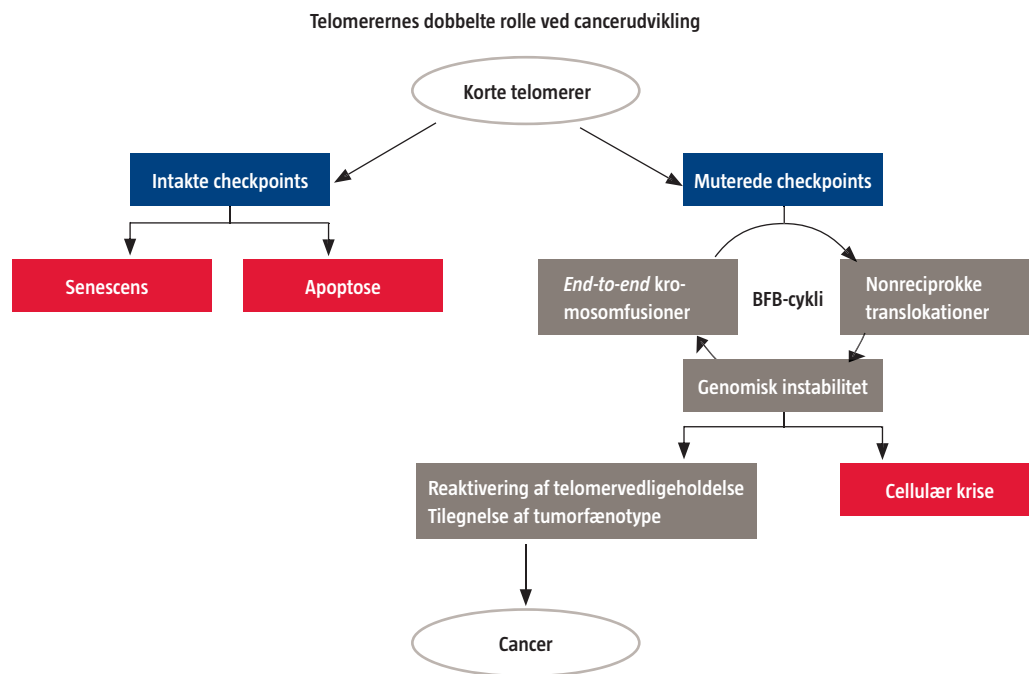
konklusioner. En indgangsvinkel er at antage, at telomerlængden generelt (den nedarvede telomerlængde) kan være medvirkende til, at nogle udvikler cancer og andre ikke. Til støtte for denne teori har resultaterne fra flere studier vist, at telomerlængden i leukocytter generelt er kortere hos cancerpatienter end hos raske. Dette gælder for en bred vifte af cancere [4-6]. En vigtig indvending mod disse studier er dog, at det er uvist, om de korte telomerer i blodceller hos cancerpatienter skyldes »medfødt« korte telomerer eller blot er et udtryk for en telomerforkortende påvirkning af det immunologiske system pga. sygdomstilstanden.

For delvist at omgå denne problemstilling har man udført større epidemiologiske studier, hvor man har målt telomerlængder i perifert blod hos raske for at se, om denne telomerlængde er en prædiktor, for hvem der senere udvikler cancer. I den type studier kunne telomerlængden ikke prædiktere, hvem der udviklede cancer [7-9]. Endelige konklusioner er dog fortsat svære at drage, da det er uvist, hvorvidt telomerlængden i perifere blodceller kan bruges som en proxy for telomerlængden i de væv, hvor canceren initieres.

Telomerlængdens indflydelse på cancerrisiko er også undersøgt i patientgrupper med kendt a priori-cancerrisiko. Her bliver billedet noget klarere. Et eksempel er patienter med langvarig colitis ulcerosa, som netop vides at have en øget risiko for colon-cancer sent i forløbet [10, 11]. Det er vist, at disse patienter udviser accelereret telomernedslidning i de afficerede colonocytter inden cancerudviklingen, formentlig pga. øget celleomsætning og muligvis forværret af den kroniske inflammation, som skaber et miljø med højt niveau af *reactive oxygen species* (ROS), der formodes at afkorte telomererne ved at forårsage strengbrud. Yderligere er der fundet en korrelation mellem telomerforkortelse og kromosominstabilitet hos disse patienter [12]. Det samme billede gør sig gældende for patienter med den sjældne genetiske

FIGUR 1

Korte telomerer kan opstå enten pga. aktiv celledeling eller pga. oxidative skader på cellen. Ved et intakt *surveillance*-system vil cellen herefter enten gå i senescens eller apoptose. I få tilfælde vil dette *surveillance*-system være muteret, og cellen tillades at fortsætte med at dele sig. Dette vil føre til mange korte telomerer, der vil have tendens til at danne *end-to-end*-fusioner. Dette vil initiere de såkaldte *breakage-fusion-bridge*-cykli (B-F-B). Dette giver anledning til overrevne kromosomer og hermed translokationer og genomisk instabilitet. Denne instabilitet vil som regel være uholdbar for cellen, som vil gå i krise og dø. Hvis cellen imidlertid både kan overvinde den genomiske instabilitet gennem en inaktivering af *surveillance*-systemet og herefter en aktivering af en telomervedligeholdelsesmekanisme, kan den udvikle sig til en cancercelle.



sygdom dyskeratosis congenita. Disse patienter har trods deres korte levealder en høj (11-fold) risiko for cancerudvikling, især i form af solide tumorer [13].

TELOMERER SOM PROGNOSTISK MARKØR VED CANCERE

På trods af at tumorceller som beskrevet ovenfor nødvendigvis har aktiveret en telomer-elongeringsmekanisme (ALT eller telomerase), er de fleste cancere kendetegnet ved at have korte telomerer. Dette afspejler formentlig balancen mellem på den ene side telomerelongeringen og på den anden side telomernedslidningen som følge af den øgede proliferation og formentlig også de oxidative skader, cellen udsættes for i tumormiljøet. Man har ikke desto mindre foreslået, at telomerer kunne bruges som en biomarkør for prognosen hos cancerpatienter, idet telomerlængden er foreslået at være et surrogatmål for den fænotypiske variabilitet, der ses i tumorer. Denne variabilitet, som er drevet af forskelle i genekspression, påvirker tumors evne til vækst, invasion og metastasering. Idet dysfunktionelle telomerer, som tidligere beskrevet, formodes at kunne drive både den genomiske instabilitet, der påvirker genekspressionen og begrænse proliferationshastigheden i cancercellerne, er der således teoretisk belæg for at undersøge, om telomerer kan bruges som en klinisk anvendelig prognostisk markør [14].

For hæmatologiske cancere er billedet tydeligt:

Korte telomerer i maligne hæmatopoetiske celler indikerer progressivt sygdomsstadie og dermed dårlig overlevelse [15]. Dette kan forklares med, at korte telomerer er et resultat af kraftig celleproliferation og dermed en øget ekspansion af de maligne celler.

For solide tumorer er billedet mindre klart, selv om resultaterne fra de fleste studier antyder, at forandringer i telomerlængde (enten afkortelse eller forlængelse i forhold til det normale væv) er associeret med dårligt udfald. I studier af mammacancer, prostatacancer og Ewing sarkom er det vist, at telomerforkortelse er associeret med en dårlig prognose [16], mens telomerforlængelse var associeret med dårlig overlevelse for colon, hepatocellulær og øsofagus cancer samt for hoved- og halscancer [17]. For lungecancer og neuroblastomer er der fundet modstridende resultater. Grunden til denne diskrepans er fortsat uafklaret, men det er foreslået, at den skyldes forskelle i, hvorvidt vævet udtrykker telomerase konstitutivt eller ikke [14]. En anden forklaring kan være metodologiske problemer, idet studierne bruger forskellige metoder til at måle telomerer, ligesom der er forskelle i, hvorvidt alene det afficerede væv analyseres, eller om der sammenlignes med telomerlængder i perifert blod.

TERAPI RETTET MOD TELOMERER OG TELOMERASE

Cancere kan, som beskrevet ovenfor, kun fortsætte den ukontrollerede vækst, hvis en telomerforlæn-

gende mekanisme aktiveres, som oftest i form af reaktivering af telomerase. Telomerase er derfor fri-stende som *target* for cancerterapi, idet telomerase udover at spille en kritisk rolle for vedligeholdelse af telomere, samtidig er næsten universelt udtrykt i cancerceller, inklusive cancerstamceller.

Flere forskellige angrebsvinkler bliver forsøgt (se f.eks. [18]), hvoraf især to metoder synes at være lovende: direkte enzyminhibering med små molekyler og aktiv immunterapi. Begge disse metoder bliver p.t. afprøvet i kliniske forsøg alene og i kombination med anden behandling.

Det molekyle, der er længst fremme som direkte enzyminhibering, er GRN163. Dette molekyle er en modificeret oligonukleotid, der er komplementær til *human telomerase RNA* (hTR)-sekvensen i den aktive region af telomerase. Det betyder, at oligonukleotiden blokerer for telomerernes adgang til telomerase, hvilket medfører telomerforkortelse og ultimativt celledød.

Også immunterapi rettet mod telomeraseproteinet afprøves [19]. Dette gøres enten *ex vivo* eller *in vivo* ved at udsætte antigenpræsenterende celler for et relativt højt niveau af peptidfragmenter eller andre genprodukter, der koder for *human telomerase reverse transcriptase* (hTERT). De antigenpræsenterende celler kan herefter ved parenteral indgift aktivere og ekspandere poolen af memory-T-celler, der netop er rettet mod hTERT. Ideen er, at cancerceller i en vis udstrækning vil præsentere fragmenter af nedbrudte telomerasemolekyler på sin overflade og derfor også vil blive mål for disse T-celler.

KONKLUSION

Det er åbenbart, at telomere/telomerase spiller en vigtig rolle i cancerudvikling, en rolle som man i disse år søger at udnytte såvel til monitorering af cancer-sygdommen som til terapi. Hvorvidt der kan udvikles strategier – baseret på telomerernes formodede tidlige rolle i cancerudvikling – der kan fremme cancerforebyggelse, er endnu uafklaret.

KORRESPONDANCE: Laila Bendix, Hans Appels Vej 14, 5260 Odense S.
E-mail: laila.bendix@slb.regionsyddanmark.dk

ANTAGET: 25. februar 2010

FØRST PÅ NETTET: 3. maj 2010

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatterne har overdraget deres patent på en ny metode til måling af telomere til Tinna Holding A/S. Efterfølgende har firmaet givet økonomisk driftsstøtte til validering af metoden.

LITTERATUR

- Rodier F, Kim SH, Nijjar T et al. Cancer and aging: the importance of telomeres in genome maintenance. *Int J Biochem Cell Biol* 2005;37:977-90.
- Artandi SE, DePinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. *Carcinogenesis* 2010;31:9-18.
- Londono-Vallejo JA. Telomere instability and cancer. *Biochimie* 2008;90:73-82.
- Broberg K, Bjork J, Paulsson K et al. Constitutional short telomeres are strong genetic susceptibility markers for bladder cancer. *Carcinogenesis* 2005;26:1263-71.
- Jang JS, Choi YY, Lee WK et al. Telomere length and the risk of lung cancer. *Cancer Sci* 2008;99:1385-9.

- Kruk PA, Bohr VA. Telomeric length in individuals and cell lines with altered p53 status. *Radiat Oncol Invest* 1999;7:13-21.
- Martin-Ruiz CM, Gussekloo J, Van Heemst D et al: Telomere length in white blood cells is not associated with morbidity or mortality in the oldest old: a population-based study. *Aging Cell* 2005;4:287-90.
- Nordfjall K, Svenson U, Norrback KF et al. The individual blood cell telomere attrition rate is telomere length dependent. *PLoS Genet* 2009;5:e1000375.
- Zee RYL, Castonguay AJ, Barton NS et al. Mean telomere length and risk of incident colorectal carcinoma: a prospective, nested case-control approach. *Cancer Epi Bio Prev* 2009;18:2280-2.
- Cottliar A, Fundia A, Boerr L et al. High frequencies of telomeric associations, chromosome aberrations, and sister chromatid exchanges in ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2301-7.
- Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M et al. Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 1998;33:343-8.
- O'Sullivan JN, Bronner MP, Brentnall TA et al. Chromosomal instability in ulcerative colitis is related to telomere shortening. *Nat Genet* 2002;32:280-4.
- Alter BP, Giri N, Savage SA et al. Cancer in dyskeratosis congenita. *Blood* 2009;113:6549-57.
- Bisoffi M, Heaphy CM, Griffith JK. Telomeres: prognostic markers for solid tumors. *Int J Cancer* 2006;119:2255-60.
- Svenson U, Roos Gr. Telomere length as a biological marker in malignancy. *Biochim Biophys Acta* 2009;1792:317-23.
- Fordyce CA, Heaphy CM, Bisoffi M et al. Telomere content correlates with stage and prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2006;99:193-202.
- Engelhardt M, Drullinsky P, Guillem J et al. Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 1997;3:1931-41.
- Harley CB. Telomerase and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2008;8:167-79.
- Kyte JA. Cancer vaccination with telomerase peptide GV1001. *Exp Opi Invest Drugs* 2009;18:687-94.



LÆGEMIDDELSTYRELSEN

TILSKUD TIL LÆGEMIDLER

Lægemedelstyrelsen meddeler, at der pr. 4. oktober 2010 ydes generelt tilskud efter sundhedslovens § 144 til følgende lægemidler:

- (G-04-CB-02) Avodart kapsler*, Singad Pharma ApS
(J-01-FA-10) Azithromycin 2care4 tabletter*, 2care4 ApS
(N-07-AA-02) Mestionin tabletter*, Orifarm A/S
(C-10-AA-03) Pravastatin »2care4« tabletter*, 2care4 ApS

gruppe uden klausulering over for bestemte sygdomme.

Denne bestemmelse trådte i kraft den 4. oktober 2010.

*) Omfattet af tilskudsprissystemet.