

**Ulrika Kahl**, institutionen för medicinsk epidemiologi och biostatistik, Karolinska institutet, Stockholm  
([ulrika.kahl@meb.ki.se](mailto:ulrika.kahl@meb.ki.se))

## Kompensatoriska genmekanismer kan ta över vid cancer

II Cancerceller bildas genom att mutationer uppstår i de onk-gener och olika tillväxtreglerande gener som normalt håller cellernas proliferering i schack. Forskning har visat att andra gener kan ta över om en viss tillväxtreglerande gen muteras, men det är oklart hur denna kompensatoriska mekanism exakt fungerar. För att få klarhet i saken gjorde man en studie, som presenterades i Nature nyligen [1], på en av dessa tillväxtreglerande gener, retinoblastomgenen – Rb.

Rb uttrycks i alla celler, men inaktivering av genen leder till utveckling av tumörer endast i vissa organ, främst i näthin-nan och skelettet. Retinoblastom är en recessiv form av can-cer, dvs båda allelerna måste vara muterade för att en tumör ska uppstå. En intressant sak med retinoblastom i näthinnan är att tumören i genomsnitt diagnostiseras redan vid 18 må-naders ålder [2]. Nyare undersökningar visar dock att ärftliga tumörer kan observeras redan så tidigt som vid 6 månaders ål-der [3]. Sjukdomen beskrevs redan i slutet av 1600-talet, men först när narkosen uppfanns i mitten av 1800-talet började man kunna operera bort ögat hos de drabbade, vilket var den enda räddningen för patienten. Idag behandlas retinoblastom vanligen med enukleation, varvid tumören avlägsnas. Beroende på tumörens storlek kan dock alternativa behand-lingsformer användas, som strålbehandling, applikatorbe-handling, kryobehandling eller fotokoagulation.

Den aktuella artikeln handlar dock egentligen inte om re-tinoblastom, utan om den funktion som Rb har i kroppens celler i allmänhet [1]. Man frågar sig vad som händer om Rb inaktiveras. Rb tillhör gruppen »tumor-suppressor genes« och var den första av dessa som klonades [4]. Forskning har visat att Rb och det protein som Rb kodar för, pRb, är inblandade i flera viktiga cellulära processer, såsom cellers diffe-rentiering, reglering av cellcykeln, samt replikation och re-paration av DNA [5]. pRb har visats skydda även mot apo-ptos. Över 100 olika intracellulära proteiner har så här långt visat sig interagera med pRb [6].

### Bättre kontroll med CK-möss

Ett sätt att studera geners beteende är att använda sig av ge-netiskt modifierade möss. Man muterar helt enkelt den gen man är intresserad av och ser vad som händer. Problemet med den strategin är att om mutationen görs i de celler som bildar ägg och spermier betyder det att varenda cell i den transgena organismen kommer att bära på den muterade genen. I fallet med Rb leder detta till att embryot inte kommer att överleva.

### Sammanfattat

Cancerceller bildas genom att mutationer uppstår i de onk-gener och olika tillväxtreglerande gener som normalt håller cellernas proliferering i schack.

Retinoblastomgenen är en sådan tillväxtreglerande gen.

Andra gener kan ta över om en viss tillväxtreglerande gen muteras, men det är oklart hur denna kompen-satoriska mekanism exakt fungerar.

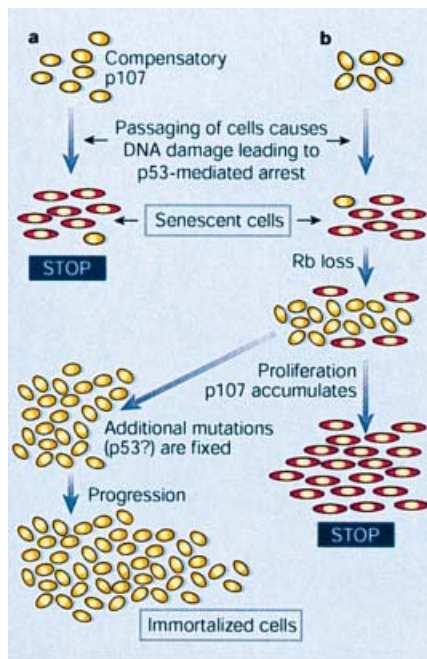
Kompensatoriska mekanismer studeras bäst i »con-ditional knockout«-möss.

Dessutom, även om mutationen inte skulle vara letal, kom-mer genen att förbli muterad och inaktiv under musens hela livstid. Man har alltså ingen möjlighet att slå på och av akti-viteten.

Ett alternativ är därför att använda sig av »conditional knockout«-möss (CK-möss) [7]. Dessa är modifierade på ett sådant sätt att gener på ett kontrollerat vis kan inaktiveras bara under vissa perioder och i vissa utvalda typer av celler. Exempelvis är CK-möss användbara för att studera om andra, kompensatoriska gener slås på om en viss gen slås av. Denna aktivering av ersättningsgener kan ske antingen som en direkt följd av att den första genen slås av, eller indirekt, genom me-kanismer som förändrar kromatinets struktur.

### Fibroblastceller från tidiga musembryon

I den aktuella studien har författarna använt sig av fibro-blastceller (MEFs) som isolerats från tidiga musembryon och sedan odlats i kultur. Man isolerade dels MEFs från traditio-nella transgena möss, där Rb är muterad i samtliga celler och inte går att aktivera igen. Man tog även MEFs från CK-möss, i vilka man kan slå av och på Rb som man önskar. Cellernas proliferering studerades sedan, och nivåerna av vissa tran-skriptionsreglerande faktorer mättes för varje passage (en ny passage innebär att ett litet antal celler tas från kulturen och



**Figur 1a.** I celler som isoleras från transgena möss som helt saknar Rb kommer kompensatoriska mekanismer genast att aktivera andra tillväxtreglerande gener när man börjar odla dem i kultur. Efter ett antal passager börjar dock skador på DNA uppstå, vilket leder till att p53-maskineriet slås på och celledelningen hämmas, samtidigt som cellerna fortfarande är metaboliskt aktiva. Cellerna hamnar i ett tillstånd av åldrande – senescens. **1b.** Celler från CK-möss som har Rb kvar kommer också att inträda i senescens när de odlas i kultur. När man sedan inaktiverar Rb kommer en del av cellerna att hinna börja dela på sig, då det tar ett tag innan de kompensatoriska mekanismerna slås på. Denna fördröjning leder till att mutationer hinner uppstå i det tillväxtreglerande maskineriet. Cellerna blir immortaliserade och fortsätter dela på sig. I en del av cellerna hinner de kompensatoriska generna dock slås på efter att Rb inaktiverats. Dessa celler kommer efter ett tag att återinträda i senescens.

Bilden är hämtad från ref 10: Berns A. Tumour suppressors: Timing will tell. *Nature* 2003;424:140-1 och publiceras med tillstånd från tidskriften *Nature*, <http://www.nature.com>.

överförs till en annan skål med nytt, fräscht odlingsmedium, där cellerna får fortsätta dela på sig).

Vissa skillnader kunde observeras mellan de två typerna av MEFs i fråga om proliferering. Man kunde genast se en ökning i nivåerna av vissa tillväxtreglerande proteiner, som p107, cyklin E och p19<sup>Aif</sup>, i de celler som kom från de traditionella transgena mössen. Detta tyder på att dessa proteiner kompenserar för pRb och ser till att cellerna inte utvecklas till cancerceller. I stället försätts de efter ett tag, som ett svar på att mutationer börjar uppstå i DNA, i ett tillväxthämmat tillstånd, där cellerna visserligen är metaboliskt aktiva men inte delar på sig. Dessa celler kan lätt särskiljas från de celler som fortfarande prolifereras, eftersom de är märkbart större och plattare. Man brukar säga att cellerna är i en fas av åldrande, senescens.

Innan Rb inaktiverats i CK-cellerna delade dessa på sig på samma sätt som de celler som isolerats från de möss där Rb redan från början var muterad. Efter ett antal passager slutade också de att dela på sig. När Rb sedan inaktiverades kunde man först inte se några ökning i nivåerna av p107 och andra tillväxtreglerande faktorer. Efter ett antal passager började nivåerna dock stiga även i dessa celler.

Man kunde också se att, på grund av fördröjningen i akti-

veringen av de kompensatoriska generna, en hel del av cellerna började utvecklas till cancerceller. Orsaken är sannolikt att fler och fler mutationer börjar uppstå i det maskineri som normalt kontrollerar celledelningen [8]. Bland annat har man funnit att den gen som kodar för p53, ett annat protein som kontrollerar celledelningen, muteras [9]. Detta leder till att cellerna börjar växa ohämmat och slutligen utvecklas till skimmertaliga cancerceller. En del av cellerna hinner dock aldrig utvecklas till cancerceller, och när p107 och andra kompensatoriska faktorer efter ett tag börjar produceras, slutar de dela på sig.

### Timing betyder allt

Det verkar alltså som om det tar en stund innan de kompensatoriska mekanismerna aktiveras. I celler från möss där Rb redan från början är inaktiverad, aktiveras produktionen av p107 genast. Om Rb däremot plötsligt aktiveras krävs det flera passager innan produktionen kommer igång. Som Anton Berns uttrycker det i sin kommentar i samma nummer av *Nature*: »Timing is everything« [10].

Man gjorde även experiment för att ta reda på om celler slutat dela på sig på grund av att man låtit bli att tillsätta några tillväxtfaktorer i odlingsmediet. Vilande celler, eller på engelska »quiescent cells«, uppträdde på samma sätt som de åldrande cellerna. Resultaten visar att om Rb plötsligt inaktiveras i vilande CK-celler kunde en ökad syntes av DNA observeras, vilket tyder på att cellerna återigen blivit aktiva och börjat dela på sig. Detta var inte fallet hos de celler som isolerats från de traditionella transgena Rb-mössen. Man kunde vidare visa att denna effekt i de transgena cellerna förmedlades av kompensatoriska proteiner som p107 och p19<sup>Aif</sup>.

Mycket av den cancerforskning som sker idag är fokuserad på att kartlägga den genetiska bakgrunden till cancer. Förhoppningarna är stora om att i framtiden kunna behandla cancer med hjälp av genterapeutiska mediciner och behandlingsmetoder. De observationer som görs i den aktuella studien är ett viktigt steg på vägen mot detta mål. En sak bör dock påpekas. De slutsatser man drar är baserade på försök med celler från möss. Det är möjligt att mekanismerna i människa skiljer sig från dem i mus. Vidare forskning på området kan förhoppningsvis ge svar på den frågan.

### Referenser

1. Sage J, Miller AL, Perez-Mancera PA, Wysocki JM, Jacks T. Acute mutation of retinoblastoma gene function is sufficient for cell cycle re-entry. *Science* 2003;424:223-8.
2. Bishop JO, Madson EC. Retinoblastoma: Review of the current status. *Surv Ophthalmol* 1975;19:342-66.
3. Abramson DH, Mendelsohn ME, Servodidio CA, Tretter T, Gombos DS. Familial retinoblastoma: where and when? *Acta Ophthalmol Scand* 1998;76(3):334-8.
4. Lee WH, Bookstein R, Hong F, Young LJ, Shew JY, Lee EY. Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification, and sequence. *Science* 1987;235:1394-9.
5. Classon M, Harlow E. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:910-7.
6. Morris EJ, Dyson NJ. Retinoblastoma protein partners. *Adv Cancer Res* 2001;82:1-54.
7. Vooijs M, van der Valk M, te Riele H, Berns A. Flp-mediated tissue-specific inactivation of the retinoblastoma tumor suppressor gene in the mouse. *Oncogene* 1998;17:1-12.
8. Parrinello S, Samper E, Krtolica A, Goldstein J, Melov S, Campisi J. Oxygen sensitivity severely limits the replicative lifespan of murine fibroblasts. *Nat Cell Biol* 2003;5:741-7.
9. Dirac AM, Bernards R. Reversal of senescence in mouse fibroblasts through lentiviral suppression of p53. *J Biol Chem* 2003;278:11731-4.
10. Berns A. Tumour suppressors: Timing will tell. *Nature* 2003;424:140-1.