

Kasvajate tüvirakud – kas mõtteviisi muutus?

Toivo Maimets¹

Eesti Arst 2011;
90(10):474–480

Saabunud toimetusse:
31.01.2011
Avaldatud internetis:
30.11.2011

¹ TÜ molekulaar- ja
rakubioloogia instituut

Korrespondeeriv autor:
Toivo Maimets
toivo.maimets@ut.ee

Võtmesõnad:
vähk, kasvajate geneetika,
onkogeenid, kasvajate
supressorgeenid, tüvirakud,
rinnakasvaja

Viimase neljakümne aasta jooksul on meie teadmised kasvajate geneetikast, onkogeenide ja kasvajate supressorgeenide olemusest ning tegevusmehhanismidest olulisel määral edenenud. Ometigi ei ole probleemi lõplikule lahendusele palju lähemale jõutud ning seetõttu otsitakse lisaks geneetilisele kontseptsioonile ka alternatiivseid vaatenurki. Kasvaja tüvirakkude kontseptsioon on uus võimalik lähenemine kasvajaprotsesside mõistmisele ja seetõttu ka diagnoosile ning ravile. Selle kohaselt ei ole kasvajakasv mitte niivõrd meie „geenide haigused“, vaid eelkõige häired rakkude individuaalses arengus. Kasvajate rakumass ei ole homogeenne, vaid koosneb erineval arenguastmel olevatest rakkudest ning vaid üsna väike osa neist, kasvaja tüvirakud, on need, kes kannavad edasi kasvaja fenotüüpi ning tekitavad metastaase. Artiklis on kirjeldatud kasvajate tüviraku kontseptsiooni konkreetse näite, rinnanäärme kasvaja kontekstis.

1971. aasta jõululapäeval allkirjastas tollane USA president Richard Milhous Nixon dokumendi „National Cancer Act“ (1), mis sai tuntuks kui avalööök sõjale kasvajate vastu. Eesmärgiks oli oluliselt suurendada investeeringuid uurimistöösse ja uute ravimipõlvkondade arendamisse ning algne siht oli juba kümne aasta jooksul – aastaks 1981 – täielikult kaotada see haigus, mis on üks põhilisi surmapõhjusi arenenud maailmas. Järgnevate aastakümnete jooksul investeeriti väga suuri summasid nii USA Riikliku Vähiinstituudi uurimisprogrammidesse kui ka paljude teiste uurimisasutuste teadustöösse ning probleemiga tegelesid paljud maailma tippteadlased. USA algatusega ühinesid kiiresti paljud teisedki riigid, sealhulgas Nõukogude Liit. Nüüd, ligi nelikümmend aastat hiljem, tuleb nentida, et edusammud on jäänud tolaeagsetest optimistlikest lootustest oluliselt maha. Paljud kasvajakasv vormid (näiteks pankreasevähk) on seni ravimatud ning alates 1970. aastatest ei ole vähisuremus oluliselt vähenenud. Maailma Terviseorganisatsioon prognoosib, et kohe-kohe hakkab vähk suremise põhjusena ületama südame-veresoonkonnahaigusi (2).

ONKOGEENID JA KASVAJATE SUPRESSORGEENID

Muidugi ei saa öelda, et kogu see töö ja raha luhta oleks läinud. Selle aja jooksul

on tohutult täienenud meie teadmised neist protsessidest, mis kontrollivad olulisi etappe rakkude elus ning mille häired võivad muu hulgas onkogeneesini viia. 1970. ja 1980. aastatel arendati välja vähi geneetiline kontseptsioon, mille kohaselt on vähk meie geenide haigus. Avastati suur hulk genee, mille mutatsioonid või ekspressiooni häiritus tekitab rakkude kasvu ja paljunemise kontrolli häireid ning seetõttu potentsiaalse kasvaja tekke võimaluse.

Kasvajatega seotud genee on kahte moodi (vt tabel 1). Ühed neist nimetati onkogeenideks, näiteks *HER-2* või *BRCA1*, mille valkproduktid stimuleerivad rakkude kasvu. Nende geenide liigne avaldumine (näiteks mutatsioonide või geneetiliste ümberkorralduste tõttu) tekitabki kasvajaohu seetõttu, et rakkude kasvu stimuleeritakse liiga palju. *HER-2* (lühendit sõnadest *human epidermal growth factor receptor*) produktiks on rakumembraani valk, mis tunneb ära rakuvälise kasvufaktori olemasolu ning signaaliseerib tänu oma ensümaatilisele (proteiinkinaas-seele) aktiivsusele raku sisemehhanismidele n-ö korralduse kasvada ja paljuneda. Pea kolmandiku rinnavähi patsientide puhul toodetakse geeni amplifikatsiooni tõttu liiga palju valku *HER-2*, mistõttu vastavatele rakkudele signaaliseeritakse kasvukorraldusi ebanormaalselt aktiivselt. Just seetõttu on *HER-2*-positiivsete rinnakasvajate ravis saavutatud edu ravimiga trastusumaab.

Tabel 1. Onkogeenide ja kasvajate supressorgeenide võrdlus

| | Onkogeenid | Kasvajate supressorgeenid |
|-------------------------------|--|---|
| Geeni produktide funktsioonid | <ul style="list-style-type: none"> • aktiveerivad rakkude jagunemist • vähendavad rakkude adhesiooni • takistavad rakkude surma | <ul style="list-style-type: none"> • inhibeerivad rakkude jagunemist • suurendavad rakkude adhesiooni • indutseerivad jagunevate rakkude surma (apoptoosi) |
| Kasvaja tekitamise mehhanism | <ul style="list-style-type: none"> • geenid aktiveeritakse kas mutatsioonide või vale metülatsiooni tõttu | <ul style="list-style-type: none"> • geenid inaktiveeritakse kas mutatsioonide või vale metülatsiooni tõttu |
| Näited | HER-2, BRCA-1 | p53 |

See ravim sisaldab valgu HER-2 vastaseid antikehasid, mis seondudes inhibeerivad HER-2 aktiivsuse ning seetõttu hoiavadki rakkude kasvu kontrolli all.

Veel üks näide onkogeenidest on *BRCA-1* (*breast cancer susceptibility gene*), mille mutatsioonid on seotud rinnaäärme ja munasarja kasvajatega. Ehkki selle valgu roll ei ole täielikult selge, on tal teada mitmeid rakusisesed funktsioone, mis on seotud DNA ahelate katkemiste parandamisega (3). Mutatsioonid selles geenis (ja temale lähedases geenis *BRCA-2*) suurendavad väga oluliselt riski haigestuda rinna- või munasarjavähki.

Teist rühma kasvajatega seotud gene nimetatakse kasvajate supressorgeenideks. Nende geenide produktid on erinevalt onkogeenide omast vajalikud rakkude kasvu ja paljunemise inhibitsiooniks ning on seetõttu negatiivsed regulaatorid. Kui mutatsioonide või muude geenimuutuste tõttu kasvajate supressorvalke enam ei toodeta, ongi tee lahti rakkude kontrollimatule kasvule. Tuntuimaks selles mitmekümneliikmelises geeniperekonnas on geen *p53*, mis täidab rakkudes erinevaid funktsioone, sealhulgas kontrollib rakkude DNA kahjustusi (4). See geen on muteeritud umbes pooltes kõigist inimese kasvajatest ning paljudel kasvajaseoselistel viirustel (*SV40*, papilloomiviirused) on olemas valgud *p53* inaktiveerimiseks. Sir David Lane, üks valgu *p53* avastajatest, on seda nimetanud genoomi vahimeheks: see aktiveerub siis, kui raku DNAd on tabanud kahjustused, ning peatab rakutsükli kulgemise, et anda aega kahjustuse parandamiseks või – kui see osutub liiga suureks – suunata rakk kontrollitud hävimise teele (5). Kui n-ö vahimees on ise vigastatud (nagu paljudes kasvajates), siis on muidugi tee lahti kontrollimatule DNA vigade paljundamisele järgmistesse rakupõlvkondadesse.

Võib öelda, et kasvajate tekke klassikalise, geneetilise teooria järgi on kasvajad

tekinud juhuslikult seetõttu, et mis tahes rakk mingis elundis, näiteks rinnanäärmes, muudetakse kasvajakaks teatud sobilike mutatsioonide kombinatsiooniga. Kõik kasvajakad on klonaalised, s.t. selle ühe muteerunud raku järglased. Seega peaks enamik kasvajakoe rakkudest olema ühtmoodi pahaloomulised ning kasvajast jagusaamiseks on vaja kõik need pahaloomulised rakud hävitada.

Erinevat geneetilist infot on kogunenud palju ja võiks öelda, et tänu neljakümneaastasele intensiivsele teadustööle on meil hakanud tekkima pilt sellest, kui palju on siin valdkonnas veel teadmata. Tänu neile teadmistele on välja töötatud mitmeid uut tüüpi vähiravimeid: membraansete proteiinkinaaside inhibiitorid nagu eelnimetatud trastusumaab rinnaäärme kasvaja või erlotiniib mitteväikeserakulise kopsukasvaja raviks või ka geenitranslokatsiooni tõttu konstitutiivselt aktiveerunud türosiinkinaasi inhibiitor imatiniib kroonilise müelogeense leukeemia raviks. Erinevates katsetuste faasides on veel parkümmend ravimikandidaati. Tuleb aga tunnistada, et ehkki teatud edu on saavutatud, on see algset ambitsiooni ja kulutatud ressursi arvestades siiski tagasihoidlik.

KASVAJATE TÜVIRAKUD – ALTERNATIIV GENEETILISELE MUDELILE?

Just seetõttu on hakatud aktiivselt otsima kasvajate mõistmiseks ka teistsuguseid lähtekohti. Üks neist on kasvajate tüviraku kontseptsioon, mille kohaselt kasvajad ei ole mitte niivõrd meie „geenide haigused“ (ehkki DNA on muidugi suvalise raku eluks vajalik), vaid eelkõige häired rakkude individuaalses arengus. Aastakümneid valitsenud kasvajate tekke geneetilisel kontseptsioonil on kahte tüüpi probleeme, mis tekitavad tõsiseid raskusi selle kontseptsiooni tegelikult rakendamisel. Esiteks, ehkki kasvajad

tekivad oletatavasti ühestainsast rakust, ei ole kasvajate sees tegemist kaugeltki ühtemoodi rakkudega. Kasvajakude on väga heterogeenne ja sisaldab erineva proliferatsioonipotentsiaaliga ning erineval diferentseerumisastmel olevaid rakke (6). Teiseks, kui kõik kasvajakud on klonalsed ja samasuguse võimega tekitada uusi kasvajakke, siis peaks kasvajate ülekandmiseks ühest katseloomast teise piisama vaid ühestainsast (või mõnest) rakust. Ometi ei ole see nii: tihti on selleks vaja tuhandeid rakke (7, 8). Seda saab seletada nii, et kasvajakud sisaldavad erinevaid rakke, millest ainult mõned on võimelised uuenema (tütarrakke andma) ja seega uusi kasvajakke tekitama. Ülejäänud kasvajakud on küll valesti diferentseerunud, ent on piiratud replikatiivse võimega ja seega suhteliselt kahjutud.

Siin tulebki mängu tüvirakk. Tüvirakk on oma olemuselt pluripotentne rakk, mis on võimeline paljunemisel andma nii endotaolisi pluripotentsid rakke kui ka diferentseerunud rakutüüpe. Pluripotentsus tähendabki võimet anda järglastena kõiki organismi rakutüüpe. Organismi normaalse arengu jooksul on tõeliselt pluripotentseks nn sisemise rakumassi (ICM) rakud 4–5 päeva vanuses blastotsüstis, kus on toimunud esimene diferentseerumine trofektodermik (millest tekivad platsenta lootepoolsed koed) ja ICM rakkudeks. Edasises arengus toimub ICM rakkude järkjärguline pooldumine ja diferentseerumine, mille käigus enamik rakke diferentseerub lõplikult (klassikaliseks lõplikult diferentseerunud raku näiteks on erütrotsüüdid, kus rakutuumgi kaotatud ning seetõttu diferentseerumispotentsiaal ammendatud). Ometigi on ka täiskasvanud organismis terve hulk nn täiskasvanu tüvirakke: soole, naha, hematopoeetilised, neutraalsed tüvirakud jm, mis säilitavad teatud määral oma võime diferentseeruda erinevateks rakutüüpideks. Tõsiasi, et rakud on tegelikult palju plastilisemad oma diferentseerituses ning üleminekud ühest tüübist teise suhteliselt lihtsad, on selgeks saanud mõne viimase aasta jooksul seoses inimese indutseeritud tüvirakkude loomisega (9). Osutub, et diferentseerunud rakust algse pluripotentsu raku saamiseks läheb vaja vaid mõne üksiku valgu aktiivsust ning üleminekud ühest rakutüübist teise on palju lihtsamad, kui me seni oleme arvanud.

Kasvajate tüviraku kontseptsioon on põhimõtteliselt erinev nn geneetilise kontseptsioonist. Selle kohaselt tekivad kasvajakud normaalselt väga täpselt reguleeritud rakkude uuenemise häiretest. Vastavalt sellele sisaldavad kasvajakud erinevat tüüpi rakke. Ühed on võimelised tüviraku kombel ise uuenema ja diferentseeruma ning need ongi võimelised uusi kasvajakke tekitama. Teised on enam diferentseerunud, ehkki tihti ebanormaalselt, ning moodustavad üsna kahjututena kasvajate põhimassi. Esimene kasvaja tüvirakk eraldati akuutsest müelogeensetest leukeemiast (10, 11). Nüüdseks on neid leitud veel mitmesugustest kasvajatüüpidest: rinna-, käärsoole-, eesnäärme-, pankrease-, pea- ja kaelakasvajatest ning melanoomidest. Tihti moodustab tüvirakkude osa kogu kasvajakumassist vaid üliväikese osa – sajandiku, tuhandiku või isegi miljondiku.

Geneetilises mudelis ja tüvirakkude mudelis käsitletakse tegelikult erinevalt kasvajate massi heterogeensuse põhjuseid. Asjaolu, et kasvaja sees olevad rakud on morfoloogiliselt erinevad, oli selge juba varajastele eksperimentaalpatoloogidele nagu Virchow või Maximov. Alates rakkude radioaktiivse märgistamise meetodist 1946. aastal (12) oli selge, et kasvajates asuvad rakud on heterogeensed ka funktsionaalselt – rakkude võime poolest paljuneda ning tekitada uusi kasvajakke transplantaatsioonitestides. Sellist heterogeensust saab seletada kahe teineteist välistava mudeliga. **Stohhastilise (juhusliku) mudeli** puhul eeldatakse, et kasvajakumass koosneb bioloogiliselt ühesugustest rakkudest ning ajutised erinevused rakkude vahel on tingitud juhuslikest sisemiste (näiteks transkriptsioonifaktorite ja signaalvalkude ekspressiooni tase) või väliste (mikrokeskkond, immuunvastused, teiste rakkude mõju) tegurite toimest. Keskne on siin arusaam, et sellistele juhuslikele mõjudele võib mingil ajahetkel reageerida kasvaja mis tahes üksikrakk ning need rakud võivad üle minna ühest olekust teise, kuna muudatused ei sisalda pöördumatuid sündmusi. Rakkude **hierarhilise mudeli** puhul eeldatakse aga, et kasvaja tekib normaalse koe arengu häirete tõttu, kus rakud on normaalselt hierarhiliselt organiseeritud. Näiteks on teada, et vererakkude areng algab multipotentsest hematopoeetilisest tüvirakust, millest võivad tekkida enam diferentse-

runud müeloidsed eellasrakud ja lümfoidsed eellasrakud. Esimestest omakorda tekivad punased ja valged vererakud, teistest aga lümfotsüüdid. Hierarhilise (tüviraku) mudeli järgi ei ole kasvajakud tekkinud mitte juhuslike mutatsioonide tõttu mis tahes neist rakkudest (nagu väidab geneetilise mudel), vaid on rakkude arengutee enese häire tulemus, mis viib n-ö valede rakkude iseuenemise ja ebaõige diferentseerumiseni. Kusjuures – ja see on siin eriti tähtis – see arenguhäire võib olla tingitud nii sisemistest (sealhulgas DNAGA seotud) põhjustest kui ka hoopis välistest, rakkude arengukeskkonnaga seotud põhjustest. Seega ei ole DNA mutatsioon kasvaja tekkeks ilmingimata vajalik.

Veelgi enam, päris hiljuti avastati, et näiteks glioblastoomi puhul võivad need samad kasvaja tüvirakud diferentseeruda ka endoteelirakkudeks (13, 14). See tähendab, et tüvirakkudest ei teki mitte ainult uus kasvajakude, vaid võivad tekkida ka vereooned, mis seda kude toitainete ja hapnikuga varustama hakkavad!

Kasvajate tüvirakkude mudeli illustreerimiseks vaatame rinnanäärme rakkude normaalset arengut ja neid põhjuseid, mis võivad viia rinnanäärme kasvajani, lähtudes siin eelkõige Kakarala ja Wicha (15) kirjeldustest.

NORMAALSED RINNANÄÄRME TÜVIRAKUD

Normaalsete täiskasvanu tüvirakkude olemasolu imetaja rinnanäärmes näidati esimest korda 1998. aastal (16). Hiire rinnanäärme pärit üksainus rakk oli võimeline tekitama retsipienthiires erinevatest rakkutüüpidest koosneva terve funktsionaalse rinnanäärme: seega oli tegu tüvirakuga. Sellised tüvirakud jagunevad kahte moodi: sümmeetrilise jagunemise tulemusena tekib kaks uut tüvirakku ning asümmeetrilise jagunemise tulemusena üks tüvirakk ja üks diferentseerunud rakk. Viimane liigub algsest asukohast (seda nimetatakse ka tüviraku nišiks) eemale ning areneb kas piimajuha epiteelirakuks, alveooli epiteelirakuks (piima tootvad rakud) või müoepiteeli rakuks (kontraktilised rakud, mis vooderdavad juhasid ja alveole) (vt joonis 1).

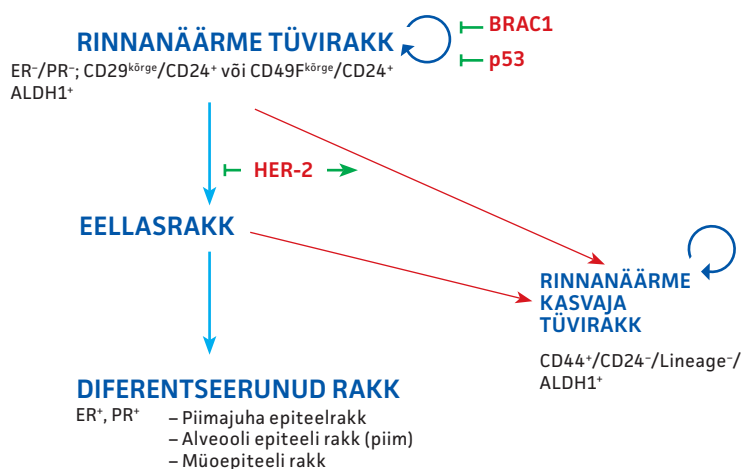
Erinevas arengu- ja diferentseerumisejärgus rakke on võimalik iseloomustada nn markervalkudega, mille ekspressioonimuster on iseloomulik vaid kindlale

rakutübile ning antikehade abil on neid valke võimalik detekteerida. Ekspressioonimustrit võib kirjeldada „+/-“ süsteemis (valk kas on olemas või teda ei ole üldse) või ka „kõrge-madal“ süsteemis (mis siis iseloomustab valgu taset rakus). Näiteks iseloomustab hiire tüvirakke kõrge valkude CD29 (β1-integriin), CD49F (α6-integriin) ja CD24 (ühe kemokiini retseptori negatiivne regulaator) tase. Üksainus rakk, mis ekspresseerib valgukombinatsioone CD29^{kõrge}/CD24⁺ või CD49F^{kõrge}/CD24⁺, suudab tekitada uues katsehiires tervikliku piimanäärme, mis koosneb kõigist kolmest rakutübist. Hiire piimanäärme tüvirakk ei suuda toota östrogeeni või progesterooni retseptoreid (seega on neil fenotüüp ER⁻PR⁻), ent tema järglased võivad muutuda diferentseerumise käigus neid retseptoreid tootvateks ER⁺PR⁺ rakkudeks (vt joonis 1).

Inimese rinnanäärme tüvirakkudest on vähem teada. Hiljuti on siiski taoliste rakkude isoleerimine õnnestunud ning näidatud nende võimet toota aldehüüdi dehüdrogenaasi (ALDH1⁺), mis on iseloomulik marker ka hematopoeetilistele ja neuraalsetele tüvirakkudele (15).

RINNAKASVAJA TÜVIRAKUD

Esimesed inimese rinnakasvaja tüvirakud õnnestus eraldada sama meetodiga, mida



CD29 – β1 integriin; CD49F – α6 integriin; CD44 – adhesioonmolekul, mis osaleb rakkude seandumisel hüaluroonhappega; CD24 – kemokiini retseptori CXCR4 inhibiitor. ER – östrogeeni retseptor, PR – progesterooni retseptor, ALDH1 – aldehüüdi dehüdrogenaas.

Joonis 1. Rinnanäärme tüvirakk võib diferentseeruda kolme tüüpi rinnanäärmerakuks või ennast uuendada (sinised nooled). Diferentseerumise regulaatori häired võivad viia rinnanäärme kasvaja tüviraku tekkeni (punased nooled). Onkogeeni *BRCA1* ja *HER-2* või kasvaja supressorgeeni *p53* produktid võivad neid radasid kas aktiveerida (roheline nool) või inhibeerida (roheline tupik).

Bonnet ja Dick kasutasid leukeemia tüvirakkude eraldamisel (17). Need rakud ekspresseerisid valku CD44 (adhesioonimolekul, mis osaleb rakkude sidumises hüaluroonhappega), ent valgu CD24 tase oli võrreldes normaalsete rinnanäärme tüvirakkudega väga madal. Samuti ei ekspresseerinud nad veel kaheksat valku, mis esinevad normaalsetes rakuliinides – seda väljendatakse fenotüübi kirjeldusega Lineage⁻. Et tekitada retsiipendis kasvaja, piisas vähem kui 20-st CD44⁺/CD24⁻/Lineage⁻/ALDH1⁺ rakust: seega oli nende võime uusi kasvajaid tekitada umbes 1000 korda suurem kui rinnakasvaja rakkudes, mis neid markereid ei omanud. Nii leidis kinnitust tõsiasja, et sarnaselt leukeemiatega on ka rinnanäärme kasvajas rakud organiseeritud hierarhiliselt ja vaid väike hulk rakke on võimelised tekitama uusi kasvajakarakke.

Valgud, mida rinnanäärme kasvaja tüvirakud ekspresseerivad, osutavad ka selgelt nende metastaatilise potentsiaali põhjustele. CD44, mida nad toodavad, on otseselt seotud rakkude adhesiooniga, mis võimaldab rakkudel ilmselt teiste vahelt läbi tungida ning uusi paikmeid asustada. CD24 aga, mille tase alaneb spetsiifiliselt just kasvaja tüvirakkudes, on kemokiini retseptori CXCR4 inhibiitor, too retseptor on aga otseselt seotud rinnakasvaja metastasidga (18).

On oluline märkida, et kasvajakasv ei pruugi tekkida ainult normaalse koe tüvirakkudest. Samamoodi võivad arenguregulatsiooni häired tabada vahevorme (nn eellasrakke), mis ei ole enam tüvirakk, ent ka veel mitte täisväärtuslik diferentseerunud rakk (vt joonis 1). Sel juhul omandab juba diferentseeruma hakanud rakk taas võime enese uuendamiseks sarnaselt tüvirakuga.

Lisaks põhimõtteliselt uutele võimalustele esitada küsimusi kasvajakasvade mehhanismide kohta võimaldab kasvajakasv tüviraku kontseptsioon ka ümber hinnata olemasolevaid teadmisi, mis on saadud geneetilise kontseptsiooni raamides. Vaatleme siin vaid mõnda onkogeeni ja kasvajakasv supressorgeeni, millest oli juttu juba eespool.

BRCA1 JA PÄRILIKUD RINNAKASVAJAD

Geeni *BRCA1* heterosügootsed mutatsioonid idutee rakkudes tekitavad naistel kuni 80% suuruse riski haigestuda elu jooksul rinnakasvajas (19). Enamik neist

kasvajatest on basaalsed tüüpi, ekspresseerides müoepiteliaalseid markereid, ent mitte östrogeneeni, progesterooni ega valgu ERBB2 retseptoreid (ER⁻/PR⁻/ERBB2⁻). Ehkki *BRCA1* on tuntud kui DNA parandamise, rakutsükli ja kromosoomide stabiilsuse regulaatorvalk, ei suuda need tema omadused seletada muteerunud *BRCA* geeniga kasvajakasv elundispetsiifilisust – need omadused peaksid olema olulised ju mis tahes koetüübis ja nende häire tekitama kasvajaid kõikjal, mitte ainult rinnanäärmes! Paari aasta eest näidati aga, et *BRCA1* on otsene rinnanäärme tüviraku regulaator (20). Normaalse *BRCA1* on vajalik selleks, et ER⁻ tüvirakk (või tema veidi diferentseerunud vahevorm) suudaks diferentseeruda lõplikult ER⁺ rakuks (vt joonis 1). Muteerunud *BRCA* puhul on patsientide piimanäärmetes rakud, mis näevad küll morfoloogiliselt normaalsed välja, ent ekspresseerivad *ALDH1* ja mitte *ERi* (*ALDH1⁺/ER⁻*). Seega jätkub *BRCA* mutatsiooni puhul rinnanäärme tüvirakkude iseuuenemine, kuid need rakud ei suuda diferentseeruda ning võivad edasiste onkogeensete molekulaarsete sündmuste mõjul muutuda kasvaja tüvirakkudeks.

HER-2 INHIBIITORID ON ESIMESED KASVAJA TÜVIRAKKUDELE SUUNATUD RAVIMID

Sporaadilise rinnakasvaja puhul esineb üsna tihti geeni *HER-2* amplifikatsioon ja tema üleekspressioon, mille tulemusena seda epidermaalse kasvufaktori retseptori perekonna valku on 20–25%-l patsientidest tavalisest tasemest palju rohkem. Kõrge *HER-2* tasemega kasvajakasv on agressiivne kliiniline kulgu ning tihti annavad nad metastaase (näiteks ajusse). *HER-2* inhibiitoritel nagu eespool mainitud trastusumaabil või ka lapatiniibil on sellistes kasvajakasvades väga hea raviefekt: nad vähendavad adjuvantravi korral haiguse kordumist 50% (21). Hulk andmeid (15) näitab, et tegelikult võib *HER-2* olla rinnanäärme tüvirakkude populatsiooni regulaator, mis takistab tüvirakkude normaalset diferentseerumist sarnaselt *BRCA1*-ga ja soodustab nende muutumist kasvaja tüvirakkudeks (vt joonis 1). Sel juhul on *HER-2* retseptori antikehaliste inhibiitorite puhul tegemist esimeste kasvaja tüvirakkudele suunatud ravimitega, mis õnnekombel leiti juba enne vastavate arengumehhanismide avastamist!

p53 – TÜVIRAKKUDE PROLIFERATSIOONI INHIBIITOR

p53 on väga paljude funktsioonidega valk, reguleerides kõige olulisemaid raku elusündmusi: proliferatsiooni, diferentseerumist ja apoptoosi. Seetõttu ei ole ka imeks pandav, et enam kui 50%-l kasvajatest on selle valguga muteerunud või on ta inaktiveeritud mingite muude mehhanismidega. Me oleme uurinud selle valguga toimet inimese embrüonaalsetes (pluripotentsetes) tüvirakkudes ja näidanud, et selle genoomi vahimehena tuntud valguga aktiveerimine tüvirakkudes viib nende kiire diferentseerumiseni (22). Seejuures aktiveerub väga kiiresti ka tema transkriptsiooniline märklaud valk p21, mis on oluline rakutsükli kontrollivalk ega lase rakkudel siseneda uue proliferatsioonitsükli S-faasi. S-faas on rakutsükli faas, mille jooksul toimub uute DNA ahelate ja teiste rakkude pooldumiseks vajalike molekulide süntees. Kuna rakud ei saa sünteesifaasi minna, siis nad kogunevad sellele eelnevasse G1-faasi ning tekibki ajaline „aken“, mis laseb neil suunduda rakutsüklis üldse välja, diferentseerumisrajale. Valgu p53 omadusega tekitab tüvirakkude eelistatud diferentseerumist võib seostada ka tema võimet kasvajaid ära hoida ehk olla kasvajate nn supressor geen.

KASVAJA TÜVIRAKUD JA KASVAJATE RAVI

Kasvaja tüvirakkude kontseptsioonist tuleneb ka hulk olulisi järeldusi kasvajate diagnoosimiseks ja raviks. On teada, et kasvajate tüvirakud – nii nagu tüvirakud üldse – on väga resistentsed kiirituse ja kemoterapias kasutatavate ainete suhtes. Põhjuseid on siin mitu: tüvirakud on üldiselt väga aeglaselt proliferatsioonivõimelised ja seetõttu ei reageeri paljudele rakutsükli inhibiitoritele, mis vajavad toimeks aktiivselt proliferatsioonivõimelisi rakke. Samuti on tüvirakkudes väga aktiivsed membraanipumbad (nn ABC-pumbad), mille ülesanne ongi rakkudest välja viia mitmesuguseid võõrühendeid (sellel omadusel põhineb muide ka hematopoetiliste tüvirakkude eraldamine nn kõrvalpopulatsioonina). Samuti on mitmed tüvirakkude poolt kõrgel tasemel ekspresseeritavad ensüümid võimelised kemoterapeutikume aktiivselt lagundama, näiteks on ALDH1 aktiivne tsüklofosfamidi lagundaja. Lisaks kõigele ekspresseerivad kasvajate tüvirakud ka mitmesuguseid

antiapoptootilisi valke, näiteks surviviini ja BCL-2 perekonna valke. Kõik need toimed kokku võivad seletada, miks artikli alguses mainitud ambitsioonikad eesmärgid kasvajate täielikuks likvideerimiseks ei ole praeguseks täitunud.

Mida siis teha nende uute ideede valguses? Praegusaajaga ravimikatsed onkoloogias põhinevad tavaliselt kasvajate massi vähenemise (regressiooni) testimisel: kui mingi kemikaal suudab vähendada katseloomades ja patsientidel kasvaja massi, siis on tegu loodetavasti potentsiaalse ravimiga. Siin on näiteks laialt levinud kriteeriumi RECIST (*response evaluation criteria in solid tumors*) kasutamine uute raviühendite otsimisel. Samas, kui arvestada, et kasvaja tüvirakke võib olla vaid imeväike osa kasvaja tegelikust massist, siis ei pruugi see test meid aidata, sest ravim hävitab vaid suhteliselt süütuid veidi valesti diferentseerunud rakke, mis moodustavad kasvaja põhimassi. Tegelikud kasvajakasvaja n-ö süüdlased – tüvirakud – võivad aga jääda likvideerimata. Tõepoolest on nii rinnavähi kui ka muude kasvajate puhul näidatud, et korrelatsioon kasvajate regressiooni ja patsiendi elulemuse vahel on väike ning efekti annab vaid kasvaja täielik eemaldamine (23, 24). Seda, et pärast kemoterapiat jäävad järele just tüvirakud, on võimalik näha CD44⁺/CD24⁻ populatsiooni suurenemisest pärast keemiaravi (15).

Tundub, et tuleviku jaoks lootust andvaks on siin just kogemused HER-2 inhibiitoritega, mis paistavad olevat suunatud õigele sihtmärgile – kasvajate tüvirakkudele. Mida enam me saame teada valgulistest signaalaradadest, mis kontrollivad kasvajate tüvirakkude iseuuenemist ja diferentseerumist, seda enam on meil ka võimalik laiendada uute ja palju efektiivsemate ravimite väljatöötamist.

SUMMARY

Tumour stem cells – a change of the paradigm?

Toivo Maimets¹

Over the last forty years our knowledge of the genetics of human tumours, nature of oncogenesis and tumour suppressor genes and their mechanisms of action has improved considerably. Still, as the final solution of the problem of human tumours

¹ Department of Molecular and Cell Biology, University of Tartu, Tartu, Estonia

Correspondence to: Toivo Maimets
toivo.maimets@ut.ee

Keywords: cancer, tumour genetics, oncogenesis, tumour suppressor genes, stem cells, breast tumour

has not been solved alternative approaches are being developed. The concept of human tumour stem cells is one possible way to understand the nature of tumours and to design principally new modalities of diagnosis and treatment. According to this concept, tumours are not „diseases of our genes“ but are rather caused by abnormal individual development of cells. The bulk mass of tumours is heterogeneous, containing cells in different stages of development and only a relatively small proportion of them, namely tumour stem cells, are the ones able to carry on the tumour phenotype to recipient animals and cause metastases. In this paper we describe the concept of tumour stem cells in the context of breast tumours.

KIRJANDUS/REFERENCES

1. The National Cancer Act of 1971. <http://legislative.cancer.gov/history/phsa/1971>.
2. Boyle P, Levin B. World Cancer Report 2008. Geneva: WHO Press; 2008.
3. Diamond JR, Borges VF, Eckhardt SG, et al. BRCA in breast cancer: from risk assessment to therapeutic prediction. *Drug News Perspect* 2009;22:603–8.
4. Maimets T. Valgu p53 kasutusvõimalused molekulaarse markerina erinevate kasvajate puhul. *Eesti Arst* 2000;1:34–43.
5. Lane DP. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15–6.
6. Park CH, Bergsagel DE, McCulloch EA. Mouse myeloma tumor stem cells: a primary cell culture assay. *J Natl Cancer Inst* 1971;46:411–22.
7. Bruce WR, Van der Gaag H. A quantitative assay for the number of murine lymphoma cells capable of proliferation in vivo. *Nature* 1963;199:79–80.
8. Hamburger AW, Salmon SE. Primary bioassay of human tumor stem cells. *Science* 1977;197:461–3.
9. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–76.
10. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994;367:645–8.
11. 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.
12. Bélanger LF, Leblond CP. A method for locating radioactive elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion. *Endocrinology* 1946;39:386–400.
13. Ricci-Vitiani L, Pallini R, Biffoni M, et al. Tumour vascularization via endothelial differentiation of glioblastoma stem-like cells. *Nature* 2010;468:824–8.
14. Wang R, Chadalavada K, Wilshire J, et al. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature* 2010;468:829–33.
15. Kakarala M, Wicha MS. Implications of the cancer stem-cell hypothesis for breast cancer prevention and therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:2813–20.
16. Kordon EC, Smith GH. An entire functional mammary gland may comprise the progeny from a single cell. *Development* 1998;125:1921–30.
17. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:3983–8.
18. Rhodes LV, Short SP, Neel N, et al. Cytokine receptor CXCR4 mediates estrogen-independent tumorigenesis, metastasis, and resistance to endocrine therapy in human breast cancer. *Cancer Res* 2010;71:603–613.
19. Van Garderen E, Schalken JA. Morphogenic and tumorigenic potentials of the mammary growth hormone/growth hormone receptor system. *Mol Cell Endocrinol* 2002;197:153–65.
20. Liu S, Ginestier C, Charafe-Jauffret E, et al. BRCA1 regulates human mammary stem/progenitor cell fate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:1680–5.
21. Slamon D, Pegram M. Rationale for trastuzumab (Herceptin) in adjuvant breast cancer trials. *Semin Oncol* 2001;28:13–9.
22. Maimets T, Neganova I, Armstrong L, et al. Activation of p53 by nutlin leads to rapid differentiation of human embryonic stem cells. *Oncogene* 2008;27:5277–87.
23. Brekelmans CT, Tilanus-Linthorst MM, Seynaeve C, et al. Tumour characteristics, survival and prognostic factors of hereditary breast cancer from BRCA2-, BRCA1- and non-BRCA1/2 families as compared to sporadic breast cancer cases. *Eur J Cancer* 2007;43:867–76.
24. Arnould L, Arveux P, Couturier J, et al. Pathologic complete response to trastuzumab-based neoadjuvant therapy is related to the level of HER-2 amplification. *Clin Cancer Res* 2007;13:6404–9.