

# 'Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ' in carcinogenese en progressie van mammacarcinoom

**Auteur** R. Bos

**Trefwoorden** HIF-1, carcinogenese, progressie, mammacarcinoom

## Samenvatting

Op 23 november 2004 promoveerde drs. R. Bos cum laude aan de Universiteit van Utrecht op het promotieonderzoek 'Hypoxia inducible factor 1-alpha in carcinogenesis and progression of breast cancer'. Hij deed dit onder begeleiding van de

promotoren prof. dr. E. van der Wall en prof. dr. P.J. van Diest. Hieronder staan de belangrijkste bevindingen van het proefschrift weergegeven.

(*Ned Tijdschr Oncol* 2005;2:120-1)

## Inleiding

Deze proefschriftbespreking gaat voornamelijk over de rol van 'hypoxia-inducible factor 1' (HIF-1) bij mammacarcinoom. In 1995 werd deze factor ontdekt door prof. dr. Greg Semenza uit het Johns Hopkins Cancer Center in Baltimore. Hierna werd snel duidelijk dat HIF-1 een belangrijke, in de evolutie sterk geconserveerde transcriptiefactor is. Deze transcriptiefactor is in alle zoogdiercellen aanwezig en reguleert nauwlettend de homeostase van een cel. Bij hypoxie of glucosegebrek wordt deze overlevingsfactor actief, waardoor onder andere de aanmaak van nieuwe bloedvaatjes (voor energie- en zuurstoftoevoer) en glycolyse worden geïnitieerd. HIF-1 kan al deze processen reguleren, omdat het veelal alleen actief is bij zuurstof- of energietekort. Dan komen twee subunits (HIF-1 $\alpha$  en HIF-1 $\beta$ ) bij elkaar om het actieve eiwitcomplex HIF-1 te vormen. Omdat HIF-1 $\beta$  altijd intracellulair aanwezig is, maar HIF-1 $\alpha$  in principe alleen bij zuurstof- of energiegebrek, wordt dit eiwit als de zuurstof- en energiemeter van de cel gezien.

Daar hypoxie bij veel maligniteiten voorkomt, veronderstelden wij dat HIF-1 ten grondslag kan liggen aan angiogenese (bloedvatnieuwvorming) en mede daarom mogelijk prognostische en therapeutische implicaties kan hebben.

## HIF-1 in mammacarcinoom

Allereerst werd in een progressiemodel voor mammacarcinoom de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$  aangetoond met behulp van immunohistochemie. HIF-1 $\alpha$  kwam niet voor in normaal borstweefsel en ductale hyperplasie, indien er geen tumor in de nabije omgeving aanwezig was. Alleen in ductaal carcinoma in situ en invasief carcinoom, en dan vooral in de slecht gedifferentieerde vormen, werd HIF-1 $\alpha$  aangetroffen.

Bij 150 mammacarcinomen werd een sterke associatie

tussen HIF-1 $\alpha$  en de proliferatiegraad (cycline A, Ki-67), 'vascular endothelial growth factor' (VEGF) en *p53* gevonden. Deze associatie werd niet gevonden bij de oestrogenreceptor (OR)-positieve tumoren. In deze subgroep was HIF-1 $\alpha$  alleen geassocieerd met *p21*, wat suggereert dat het fysiologisch veronderstelde celcyclus-'arrest' tijdens hypoxie alleen met behulp van hormonale invloeden (OR) via *p21* (een bekend targetgen van HIF-1) kan plaatsvinden. Tevens werd een sterke samenhang tussen HIF-1 $\alpha$  en *HER-2/neu* aangetoond. Dit betekent dat, naast zuurstof en energietekort, ook genetische afwijkingen kunnen leiden tot activering van HIF-1.

Om een beter beeld van de rol van HIF-1 bij mammacarcinoom te krijgen, werd naar factoren van angiogenese en groeistimulatie gekeken. De groeifactoren 'platelet derived growth factor' (PDGF-BB), 'basic fibroblast growth factor' (bFGF) en epidermale groeifactorreceptor (EGFR) bleken geassocieerd met de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$ . Onduidelijk is nog hoe deze factoren op HIF-1 ingrijpen, maar mogelijk wordt HIF-1 door deze factoren gestimuleerd (zonder zuurstof- of energiegebrek). Op deze manier zal ook een genetische afwijking of een groeifactor, geproduceerd door de tumor, HIF-1 kunnen activeren. Momenteel worden er medicijnen onderzocht die sommige van deze groeifactoren kunnen blokkeren. Mogelijk hebben deze nieuwe middelen een goed antitumoreffect, doordat ze daarmee ook HIF-1 onderdrukken.

Vooral in de groep vrouwen met mammacarcinoom die geen lymfklierenmetastasen hadden, bleek dat de aanwezigheid van veel HIF-1 $\alpha$  een onafhankelijke voorspeller is voor een recidief, metastase of vroegtijdig overlijden. Verdere studies naar de waarde van HIF-1 als indicator voor adjuvante chemotherapie lijken daarom gerechtvaardigd.

### BCL-6 bij mammacarcinoom

Bij lymfomen zijn genetische afwijkingen beschreven die de aanwezigheid van BCL-6 verklaren. Omdat BCL-6 een belangrijke rol bij de regulatie van celdeling en celdood heeft, postuleerden wij dat BCL-6 ook bij mammacarcinoom betrokken zou kunnen zijn. Inderdaad werd de aanwezigheid van BCL-6 bij deze tumorsoort geconstateerd. Met behulp van 'comparatieve genomische hybridization' (CGH) bleek een deel van de patiënten met overexpressie van het BCL-6-eiwit ook genetische afwijkingen te hebben in de buurt van het *BCL-6*-gen. Uitvoeriger onderzoek naar de oorzaak van BCL-6-aanwezigheid bij mammacarcinoom lijkt gerechtvaardigd.

In tegenstelling tot de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$  lijkt de aanwezigheid van BCL-6 echter niets over de levensverwachting van een mammacarcinoompatiënt te zeggen (niet gepubliceerde gegevens).

Verrassend genoeg bleek dat de aanwezigheid van BCL-6 geassocieerd is met de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$ . Of en hoe beide factoren elkaar beïnvloeden is niet duidelijk. Om meer zekerheid over deze bevinding te krijgen, werd gekeken naar de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$  in lymfomen. Overexpressie van HIF-1 trad inderdaad samen met BCL-6 op. Verder is al eerder beschreven dat lymfomen met BCL-6 veel lactaatdehydrogenase (LDH) produceren. LDH wordt onder andere gestimuleerd door HIF-1, dus een directe relatie tussen beide lijkt zeker niet uitgesloten. Ook hiervoor geldt dat meer onderzoek nodig is.

BCL-6 bleek tevens geassocieerd met p53 en cycline D1. Cycline D1 is een celcyclusregulatie-eiwit dat vaak verhoogd aanwezig is bij mammacarcinoom. Het is mogelijk dat een genetische afwijking in BCL-6 ook leidt tot cycline-D1-activatie.

### PET en mammacarcinoom

Bij mammacarcinoom komt het soms voor dat bij een patiënt op een positronemissietomografie (PET)-scan geen 'aankleuring' wordt gezien, terwijl er bij operatie wel een grote tumor in de borst gevonden wordt. Ook het omgekeerde komt voor. Dit heeft bij veel nucleaire geneeskundigen vraagtekens opgeroepen. Daarom werd tijdens het promotieonderzoek onderzocht welke factoren een belangrijke rol spelen bij het wel of niet zichtbaar worden van een mammacarcinoom op een PET-scan. PET maakt veelal gebruik van 2-[<sup>18</sup>F]fluoro-2-deoxy-d-glucose (FDG). Meerdere factoren die van belang zouden kunnen zijn om het verschil in glucoseopname te verklaren, werden onderzocht bij 55 mammacarcinoompatiënten, nadat ze een PET-scan hadden ondergaan en waren geopereerd. Bij patiënten met een sterk PET-signaal kwamen de volgende factoren naar voren; een groot aantal bloedvaatjes in de tumor (aanvoer van glucose), aanwezigheid van glucosetransporter-1 (Glut-1, een

eiwit dat glucose vanuit het bloed de cel in vervoert), aanwezigheid van hexokinases (enzymen die nodig zijn voor verbranding van glucose tot energie), de hoeveelheid tumorcellen per oppervlak (er is een groot verschil qua compositie tussen verschillende borstcarcinomen), een hoge mate van celdeling, veel aanwezige afweercellen en indirect ook de aanwezigheid van HIF-1 $\alpha$  (stimuleert de bloedvaatjesgroei, productie van Glut-1 en verbranding van glucose). Hiermee waren wij de eerste die een duidelijke verklaring hadden voor de onderlinge verschillen tussen patiënten op een PET-scan. Nieuw was ook dat we een associatie vonden tussen de bloedvaatjesdichtheid en een sterk PET-signaal.

Een lobulair mammacarcinoom heeft vaak een zwak PET-signaal. Dit kunnen we nu goed begrijpen aan de hand van de hierboven beschreven factoren, omdat lobulaire tumoren meestal niet snel delen en niet compact of bolvormig, maar juist heel diffuus zijn.

### Aanbevelingen

Veel onderzoeken hebben laten zien dat de levensverwachting van een patiënt met mammacarcinoom slechter is wanneer er veel bloedvaatjes in de tumor aanwezig zijn. Dit proefschrift toont aan dat deze aanwezigheid van veel bloedvaatjes samengaat met HIF-1-activiteit.

Gesuggereerd kan worden dat naast de zogenaamde antiangiogenesemiddelen (medicijnen tegen bloedvatvorming) meer geneesmiddelen die tegen HIF-1 gericht zijn, ontwikkeld en bij patiënten getest zouden moeten worden. Hiermee worden namelijk veel meer onderliggende tumormechanismen aangepakt, met mogelijk een hogere effectiviteit. Bovendien blijkt dat HIF-1 $\alpha$  niet alleen door hypoxie, maar ook door groeifactoren en oncogenen geïnduceerd kan worden.

Ontvangen 14 april 2005, geaccepteerd 4 mei 2005.

### Correspondentieadres

Dr. R. Bos, internist in opleiding

Universitair Medisch Centrum Groningen

Afdeling Interne Geneeskunde

Hanzeplein 1

Postbus 30001

9700 RB Groningen

Tel.: 050 361 23 55

E-mail: r.bos@int.umcg.nl

Belangenconflict: geen gemeld.

Financiële vergoeding: AEGON Inc. maakte al het beschreven onderzoek mogelijk.