

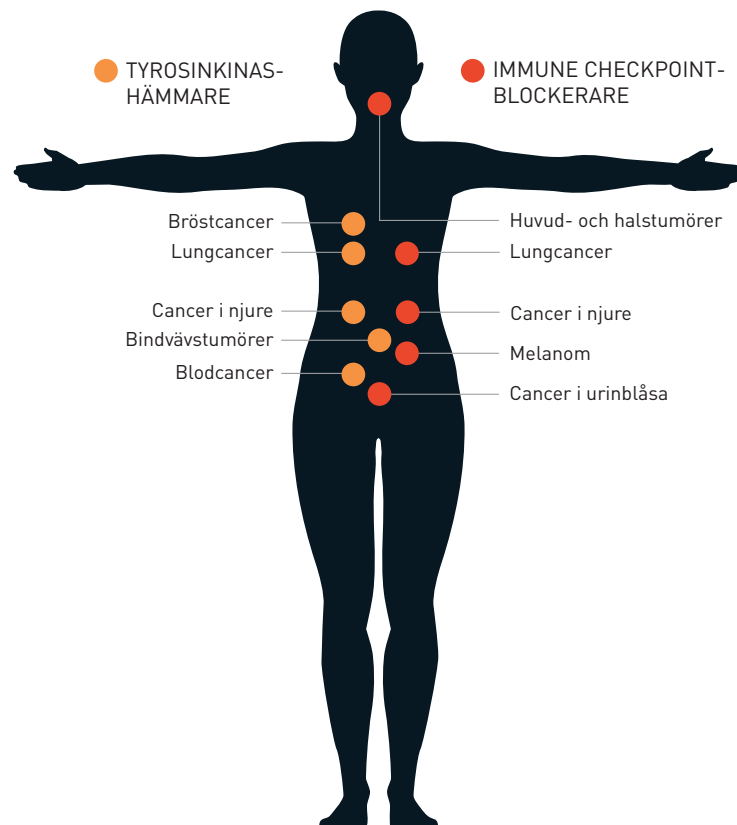
Två helt nya vägar till effektiv cancerbehandling

Så länge människor har funnits har cancer varit en önskad följeslagare, och att hantera denna lömska sjukdom är fortfarande en av mänsklighetens stora utmaningar. Sjöbergpriset 2017 tilldelas **James Allison** och **Tony Hunter**, vilkas forskning har lagt grunden till nya och effektiva cancerläkemedel.

Enligt Världshälsoorganisationen WHO återfinns cancer bland de främsta orsakerna till sjukdom och död. De senast sammanställda siffrorna, som gäller år 2012, visar 14 miljoner nya fall och drygt 8 miljoner dödsfall. Antalet fall per år beräknas dessutom öka till 22 miljoner under de närmaste 20 åren.

Strålning och cellgifter är trubbiga vapen som slår mot alla delande celler, vilket orsakar skador även på frisk vävnad. Därför är idén att kunna få immunsystemets egna försvarsceller att vända sig mot tumörceller lockande. Sådan behandling har James Allisons forskning om de vita blodkroppar som kallas T-celler lagt grunden för. Dessa immunceller kan effektivt angripa tumörceller efter att nya läkemedel lättat på immunsystemets broms.

På liknande vis är det tilltalande att med hjälp av riktade hämmare kunna stänga av händelsekedjor inuti cellen, vilka i förlängningen ger upphov till cancer. Här har Tony Hunters avgörande upptäckt av så kallad tyrosinfosorylering öppnat för utveckling av en helt ny grupp av cancerläkemedel.



Deras upptäckter räddar liv. Pristagarnas upptäckter har gett upphov till två helt nya klasser av läkemedel, tyrosinkinashämmare och immune checkpoint-blockerare, som visat sig effektiva i behandlingen av många typer av cancer.

Dessa två forskningsspår har det gemensamt att de baseras på nyfikenhetsdriven grundforskning, att forskarna identifierat viktiga, cellulära mekanismer och att upptäckterna har lett till nya och effektiva cancerläkemedel. Men medan James Allisons forskning handlade om hur celler samverkar med varandra, blickade Tony Hunter in i cellen för att förstå hur de kan omvandlas till tumörceller.

Virus visar vägen

Det finns virus som kan få normala celler att förändras till tumörceller, så kallade onkovirus. Det var redan på 1950-talet känt att dessa virus kan sätta in egna gener i celler. Genom att studera onkovirusens gener hoppades forskare kunna lösa mysteriet med hur cancer uppkommer. De ville dra nytta av det faktum att ett virus har en mycket begränsad arvsmassa med få gener, jämfört med en mänsklig cell. Det innebär att intressanta gener och mekanismer borde vara lättare att identifiera i ett virus.

Tony Hunter studerade biokemi vid Cambridge University i Storbritannien och ägnade sig där, i mitten av 1960-talet, åt de tidigaste formerna av molekylärbiologi. Den genetiska koden hade avslöjats, DNA-strukturen var klarlagd och de första proteinstrukturerna började uppdagas. Han insåg att det krävs förståelse för vad de molekyler som verkar inuti cellerna egentligen gör, för att till fullo begripa hur en cell eller en organism fungerar.

År 1971 flyttade Tony Hunter till USA och Salk Institute, och började där arbeta med polyomavirus, känt för att kunna orsaka tumörer. Under sin tid vid Salk Institute lärde sig Tony Hunter hur DNA-syntesen i polyomavirus fungerade i detalj, men han flyttar sedan tillbaka till Cambridge. Här fortsatte han att arbeta med virus, och sökte parallellt en rad jobb i Storbritannien, men utan framgång, varför han återvände till Salk Institute i februari 1975. Det var här han skulle komma att göra de banbrytande upptäckter som lade grunden för en helt ny form av cancerbehandling.

Jakten på ett nytt enzym

Väl på plats i USA igen fortsatte han att studera polyomavirus. Det var redan känt att ett speciellt protein som viruset tillverkade, som kallades T-antigen, kunde omvandla normala celler till tumörceller. Frågan var vad detta protein egentligen gjorde. Resultat från en forskargrupp som studerade ett annat virus gav honom idén att T-antigen kunde vara associerat med kinasaktivitet. Kinaser kan förändra andra proteiner genom att på specifika aminosyror, som utgör proteinernas byggstenar, sätta fast en fosfat-molekyl. Denna förändring gör att proteinets form ändras och därmed även dess funktion. Denna förändring kallas fosforylering och är reversibel. Det innebär att om fosfatmolekylen tas bort, återfår proteinet sin ursprungliga form.

En serie biokemiska experiment visade att det gäckande T-antigenet faktiskt var kopplat till kinasaktivitet. Tony Hunter skrev då ihop en vetenskaplig artikel som skickades till tidskriften Cell. En detalj hoppade han dock över. Vid den här tiden var det känt att två olika aminosyror kunde fosforyleras, serin och treonin, men i sin rapport hade han inte angett vilken av dem det handlade om. I efterhand har han skrivit att det var viktigt att få in artikeln snabbt och vilken aminosyra det gällde ”kunde vi reda ut under tiden som vår artikel granskades”.

Gammal buffertlösning gav ny upptäckt

För att se vilken aminosyra det var som hade blivit fosforylerad använde han så kallad elektrofores, där aminosyrorna ska passera genom en cellulosa-gel. Denna metod utnyttjar att olika aminosyror, under en viss tidsrymd, hinner vandra olika långt genom gelen då man applicerar elektrisk spänning. Gelen ligger i en buffertlösning med surt pH, och för sitt försök tog han buffertlösning ur den flaska som fanns färdigblandad. Tillsammans med markörer för fosforylerat serin respektive treonin analyserade han det okända provet på gelen. Resultatet var oväntat. Provet ”överensstämmer varken med serin eller treonin”, noterar han i sina anteckningar.

Här kom dock hans gedigna biokemikunskaper väl till pass – det finns en tredje aminosyra som har potential att fosforyleras, nämligen tyrosin. Kunde han visa att det var tyrosin som hade fosforylerats vore det en sensation, så han gjorde om experimentet, men såg denna gång till att blanda

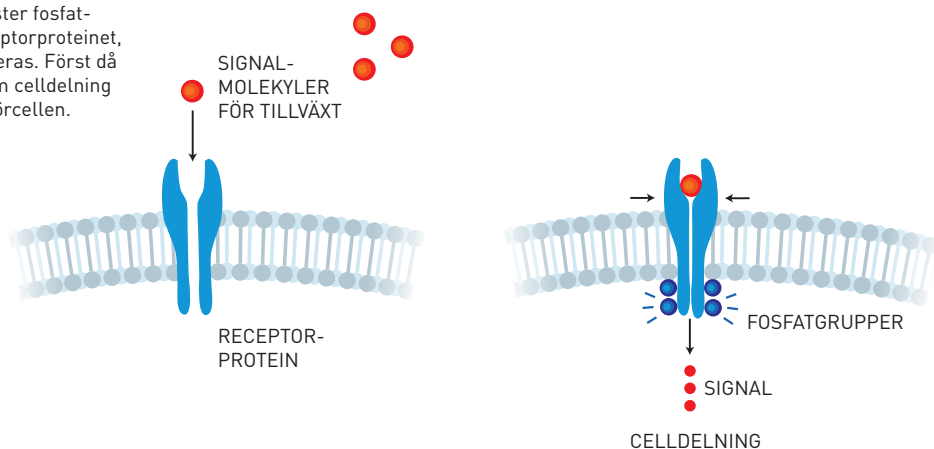
ny buffertlösning. Till sin fasa fick han nu ett helt annat resultat – nu pekade det på fosforylerat treonin. Han insåg att skillnaden var buffertlösningen och lät den åldras innan han återigen utförde experimentet. Och nu fick han samma resultat som den första gången. Det visade sig att när buffertlösningen fått stå, förändrades dess pH en aning, från 1.9 till 1.7, vilket gav bättre separation.

Att stänga av kinas gav nya läkemedel

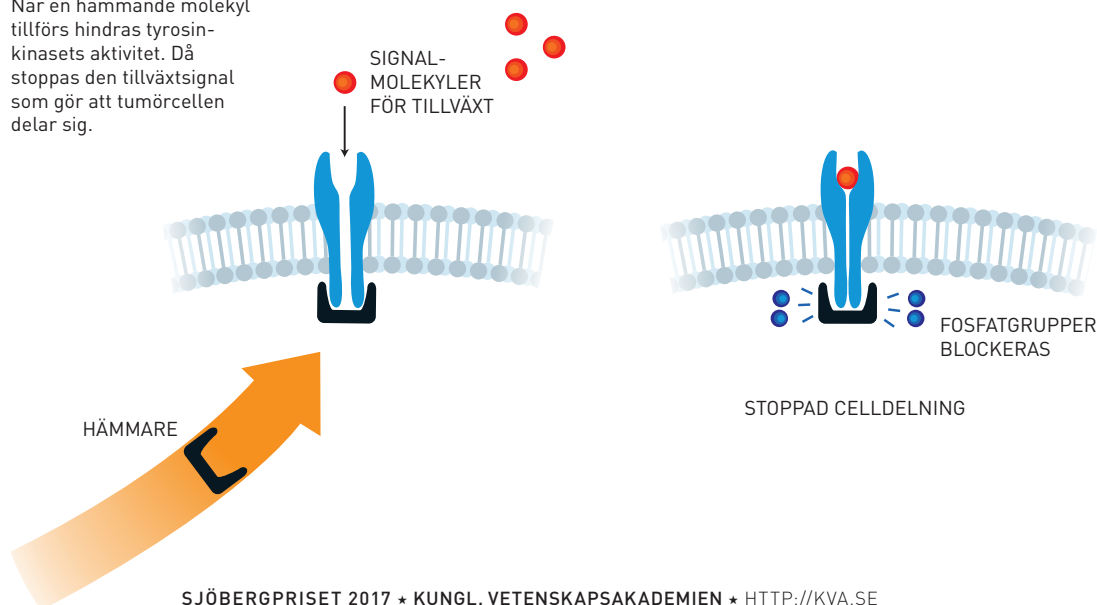
Ryktet om den gamla buffertlösningen och att aminosyran tyrosin kunde fosforyleras spred sig snabbt i forskarvärlden. Inom ett år från det att studien publicerats i Cell i december 1979, stod det klart att fosforylering av tyrosin var ett viktigt regleringssystem för en rad cellulära processer, inte minst celltillväxt. I en uppföljande studie, publicerad i tidskriften PNAS 1980, kunde Tony Hunter dessutom slå fast att tyrosinkinaset var direkt kopplat till omvandling av normala celler till tumörceller.

Att tyrosin kunde fosforyleras och att det tyrosinkinaset som utförde reaktionen kunde kopplas till att förvandla friska celler till tumörceller innebar ett paradigmskifte. Forskarna i fältet undersökte sina egna favoritproteiner och det framkom då att även andra proteiner som kunde omvandla normala celler till tumörceller var tyrosinkinaser. I slutet av året hade forskarna funnit fyra olika varianter. Tanken väcktes också att denna nya kunskap skulle kunna användas vid cancerbehandling. Om ett tyrosinkinaset med förmåga att omvandla normala celler till tumörceller kunde stängas av, skulle det vara ett sätt att hindra den kaskad av händelser som leder fram till bildandet av tumörceller. Detta angreppssätt gav upphov till en ny klass av cancerläkemedel som kallas tyrosinkinashämmare (se nedan).

1 Tyrosinkinaset fäster fosfatgrupper på receptorproteinet, som då fosforyleras. Först då kan en signal om celledelning sändas in i tumörcellen.



2 När en hämmande molekyl tillförs hindras tyrosinkinaset av aktivitet. Då stoppas den tillväxtsignal som gör att tumörcellen delar sig.



En av de tyrosinkinashämmare som Tony Hunters upptäckte lade grunden för kallas imatinib och den har följts av ett tjugotal andra, som blockerar tillväxtstimulerande signaler inuti cellen. Särskilt dramatisk är effekten vid en blodcancerform kallad kronisk myeloisk leukemi, KML. Tidigare var prognosen mycket dålig och den behandling som stod till buds var benmärgstransplantation. I dag kan dessa patienter leva nästan lika länge som normalpopulationen. Även vid så kallad gastrointestinal stromacelltumör, eller GIST, har tyrosinkinashämmare revolutionerat behandlingen. Behandlingen gör också stor nytta vid icke-småcellig lungcancer, även i de fall där sjukdomen har spritt sig.

Immunsystemets roll vid cancer

Men nu lämnar vi Tony Hunters studier av cellens inre, för att istället fokusera på hur cellerna i immunsystemet samverkar och dessa interaktioners betydelse vid cancer.

Människans immunförsvar är mycket effektivt när det gäller att hitta och oskadliggöra sådant som skiljer sig från kroppens egna normala vävnader och celler, likt inkräktande mikroorganismer som virus, bakterier och parasiter. Cancerceller är en större utmaning. En stor skillnad är att mikroorganismer kommer utifrån, medan cancerceller har sitt ursprung i kroppens egna celler. Det gör det mer komplicerat att särskilja cancerceller som främmande. Att immunsystemet skulle kunna hitta och avlägsna tumörer har dock funnits som tankegodts länge – immunsystemet är mycket kraftfullt och kan exempelvis stöta bort ett helt transplanterat organ. Svårigheten är att kunna styra immunsystemets celler för att få en sådan effekt, utan att skada resten av kroppen.

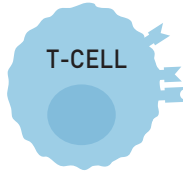
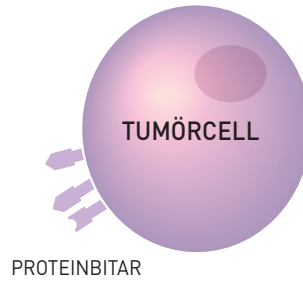
Immunsystemet byggs upp av vita blodkroppar med olika roller. Vita blodkroppar som kallas T-celler skolas till att känna igen sådant som är kroppsfrämmande, genom att bedöma strukturer som exponeras på cellernas yta. När T-cellerna upptäcker mikroorganismer eller tumöromvandlade celler kan de aktiveras. Då går dessa T-celler från att fungera som immunsystemets vakter, till att istället bli krigare, med målet att oskadliggöra den främmande cellen.

Allison lärde sig allt om T-celler

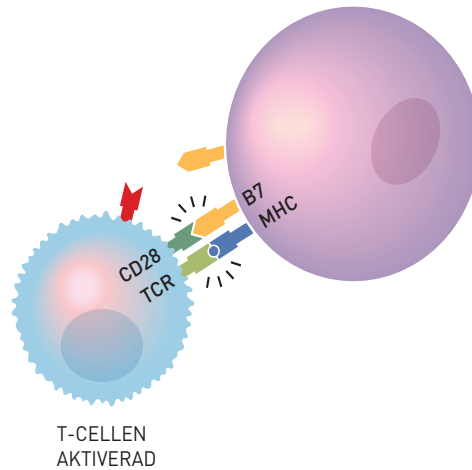
James Allison inledde sin forskarbana som biokemist, men sahlade om till att studera immunsystemet i början av 1980-talet. Målet för hans intresse var just T-celler och den stora utmaningen vid denna tid var att finna den mottagare på T-cellernas yta som gjorde dem aktiva, den så kallade T-cell antigenreceptorn. James Allison blev, med sina egna ord, ”totalt fångad av att förstå hur T-celler aktiveras”. I mitten av 1980-talet kom han till University of California i Berkeley. Nya resultat från andra forskare visade att det inte räckte att enbart stimulera T-cellens antigenreceptor för att få ett aktiverat immunsvär, utan det behövdes någon ytterligare signal. Frågan var vilken.

Det visade sig att signalen kom från en hjälpreceptor på T-cellens yta, som kallas CD28. Denna behövde bli stimulerad samtidigt som antigenreceptorn – först då kunde T-cellen bli aktiv. Men det fanns ytterligare en bit i pusslet. Det var CTLA-4, en T-cells molekyl som visat sig finnas på aktiva T-celler, men vars funktion gäckade forskarna. Vissa forskare, däribland James Allison, spekulerade i att CTLA-4-proteinet skulle kunna ha en hämmande funktion vid T-cellernas aktivering, något som också visade sig stämma. Nu hade forskarna funnit en broms som hindrade immunsystemet att aktiveras (se höger).

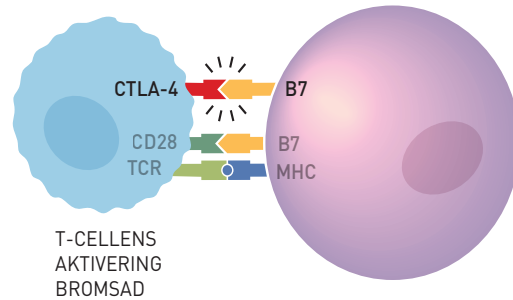
- 1 T-celler kan känna igen proteinbitar, antigener, som andra celler visar upp. Är bitarna främmande, som de kan vara på tumörcellen, ska T-cellen bli aktiv.



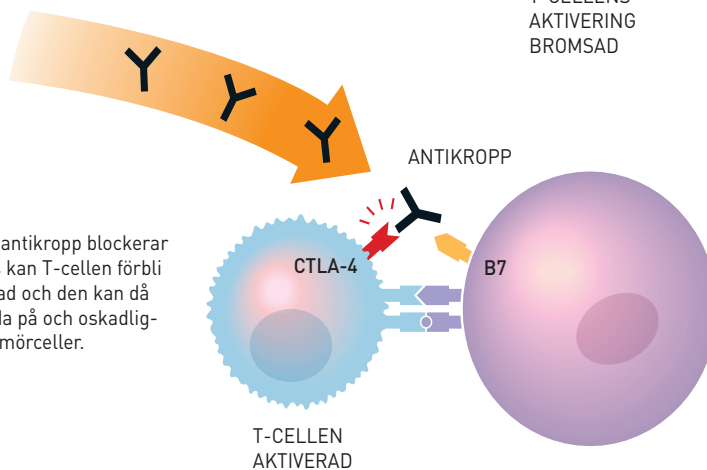
- 2 Främmande ämnen gör att T-cells-receptorn, TCR, och hjälpreceptorn CD28 binder till sina motparter hos den antigenpresenterande cellen, och T-cellen aktiveras.



- 3 Receptorn CTLA-4 fungerar som en broms. Om den binder samtidigt som de båda andra receptorerna, hindras aktiveringen och T-cells aktivering bromsas.



- 4 När en antikropp blockerar CTLA-4 kan T-cellen förbli aktiverad och den kan då leta reda på och oskadliggöra tumörceller.



Immune checkpoint-blockering. När den hämmande signalen från en ytmolekyl på T-cellen som kallas CTLA-4 blockeras, innebär det att immunsystemets broms tas bort. Först då kan T-cellerna med full kraft vända sig mot och oskadliggöra tumörceller. Allison tog fram en antikropp som specifikt band sig till och blockerade CTLA-4. Detta har gett upphov till en ny klass av cancerläkemedel, så kallade immune checkpoint-blockerare.

Att lätta på bromsen

James Allison såg sig från början inte som cancerforskare, utan som en forskare som ägnade sig åt grundforskning och ville förstå hur T-celler styrs. Samtidigt var han engagerad i cancerfrågan, delvis av personliga skäl: hans mor, två morbröder och sedermera även hans bror föll alla offer för cancer. Han hade på nära håll sett verkningarna av de behandlingar som stod till buds, strålning och cellgifter.

”Jag gjorde då det som varje forskare bör göra: att då och då stanna upp och tänka på vad dina grundläggande fynd skulle kunna ha för betydelse vid mänsklig sjukdom” skriver han senare. Det slog honom då att om T-cellen får en aktiveringssignal av T-cellens antigenreceptor och CD28, men samtidigt hämmas av CTLA-4, innebär det att den inte kan agera med full kraft mot exempelvis tumörer. Om det däremot gick att blockera CTLA-4 skulle kanske T-cellsreaktionen vara tillräckligt stark, resonerade han.

Denna strategi var lockande. För det första var det inte tumören som var målet för behandlingen, utan immunsystemet, vilket betydde att metoden skulle kunna fungera som ett universellt cancerläkemedel. För det andra var det inte nödvändigt att identifiera den enskilda tumörens fingeravtryck för att kunna behandla, utan det skulle räcka att frigöra immunsystemet så att dess celler på egen hand kunde attackera tumören.

Övertygande experiment i möss

Han har själv skrivit om de inledande försöken 1994 där möss i vissa burar fick antikroppen som blockerade CTLA-4, medan andra möss fick icke-verksamma injektioner. När hans medarbetare visade honom de första resultaten trodde han inte på dem: Mössen som fått antikropp uppvisade minskade tumörer, medan de andra mössen dog. ”Det var för bra för att vara sant”, skriver han senare. Experimentet upprepades därför över julhelgen. Nu gjordes det blint, vilket innebar att en medarbetare injicerade mössen, medan Allison studerade dem utan att veta vilka möss som hade fått vilken behandling. Han beskriver hur det under två veckors tid inte var någon skillnad, utan tumörerna växte hos alla möss, något som han besviken noterade. Så plötsligt hände något. Hos en grupp möss började tumörerna krympa, för att sedan försvinna helt. Det visade sig vara de möss som injicerats med antikroppen som blockerar CTLA-4.

Han hade verkligen funnit ett sätt att aktivera immunförsvaret och få dess celler att kraftfullt attackera tumörcellerna. År 1996 publicerade James Allison de banbrytande resultaten i tidskriften Science.

Vägen mot klinisk nytta

Framgången gjorde Allison ivrig att tillverka en typ av antikroppar som skulle kunna testas på människa. Han ägnade mycket tid åt att försöka övertyga olika läkemedelsföretag om att ta sig an projektet, men intresset var svalt. Till slut blev det ett litet bioteknikföretag som vågade sig på att försöka. År 2000 fanns en blockerande antikropp framtagen, men det skulle ta ett drygt decennium att förädla upptäckten till ett läkemedel, en resa där Allison deltog mycket aktivt.

Elva år efter det att han först publicerade resultaten av sina banbrytande försök, träffar James Allison en av de patienter som fått tidig behandling med en CTLA-4-blockerande antikropp – från att ha haft ett par månader kvar att leva, var kvinnan nu flera år senare helt symptomfri.

År 2010 kunde häpnadsväckande studieresultat rapporteras: för första gången visades en signifikant ökad medianöverlevnad för patienter med spridd melanom; om de fick antikroppen kunde de

överleva nästan dubbelt så länge som patienterna i kontrollgruppen. Det allra mest slående var att nästan en fjärdedel av deltagarna överlevde i minst två år, vilket innebar att deras förväntade livslängd fyrfaldigats. Ytterligare uppföljning har visat att ungefär var femte individ blir långtidsöverlevande med den nya behandlingen.

År 2011 godkändes antikroppen ipilimumab i USA och Europa för behandling av spridd melanom. Denna har följts av antikroppar riktade mot andra hämmande signaler i immunsystemet och de kallas med ett gemensamt namn immune checkpoint-blockerare. Vid spridd melanom har denna klass av läkemedel haft avgörande betydelse. Om ipilimumab kombineras med en annan immune checkpoint-blockerare går det att hålla sjukdomen i schack under längre tid hos ungefär 40 procent av patienterna. Även vid en rad andra cancerformer har behandling med denna typ av läkemedel visat sig ha goda effekter hos vissa patienter. Några exempel är vid icke-småcellig lungcancer, cancer i njure eller urinblåsa samt huvud- och halstumörer. Det pågår också kliniska prövningar för många andra cancerformer.

Deras upptäckter räddar liv

I dag används de läkemedelsklasser som Tony Hunters och James Allisons forskning lett fram till för att behandla cancer hos patienter över hela världen. Tumörceller kan dock utveckla motståndskraft, resistens, mot läkemedel. När det gäller tyrosinkinashämmare har ytterligare läkemedel inom gruppen tagits fram, och dessa kan användas när förstahandsmedlet inte längre fungerar. Med målet att få ännu bättre effekt av immune checkpoint-blockerare bedrivs försök där denna behandling kombineras med exempelvis cellgiftbehandling eller specifik vaccinering mot tumörcellerna.

Dessa båda läkemedelsklasser har gjort stor nytta, men flera utmaningar återstår. En är att bättre förstå varför inte behandlingarna ger effekt på alla patienter. En annan utmaning är att även dessa nyskapande behandlingar, på samma sätt som annan cancerbehandling, dras med biverkningar. För att effektivt kunna hjälpa de människor som drabbas av cancer krävs mer forskning och i detta viktiga arbete är James Allison och Tony Hunter fortsatt aktiva.

LÄNKAR OCH LÄSTIPS

Mer information om årets pris finns på Kungl. Vetenskapsakademiens webbplats, <http://kva.se/sjobergpriset>

Populärvetenskapliga artiklar

Intervju med Tony Hunter, Journal of Cell Biology, maj 2008.

<http://jcb.rupress.org/content/181/4/572>

Intervju med James Allison, Scientific American, september 2015.

<https://www.scientificamerican.com/article/cancer-immunotherapy-pioneer-nets-major-prize>

Översiktsartiklar

The discovery of Tyrosine Phosphorylation: It's all in the buffer! Tony Hunter. Cell, Vol. S116, S35-S39, January 23, 2004.

https://www.researchgate.net/publication/8644813_The_discovery_of_tyrosine_phosphorylation_It's_all_in_the_buffer

Checkpoints. James P. Allison. Cell 162, September 10, 2015.

[http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(15\)01099-5](http://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(15)01099-5)

Vetenskapliga artiklar

An Activity Phosphorylating Tyrosine in Polyoma T Antigen Immunoprecipitates. Walter Eckhart, Mary Anne Hutchinson and Tony Hunter. *Cell*, Vol. 18, 925-933, December 1979.

[http://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674\(79\)90205-8.pdf](http://www.cell.com/cell/pdf/0092-8674(79)90205-8.pdf)

Enhancement of Antitumor Immunity by CTLA-4 Blockade. Dana R. Leach, Matthew F. Kummel and James P. Allison. *Science*. 271:1734-1736, 1996

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8596936> [abstract]

PRISTAGARNA



Foto: The University of Texas MD Anderson Cancer Center

JAMES P. ALLISON

Född 1948 i Alice, Texas, USA. Professor och Vivian L. Smith Distinguished Chair in Immunology vid The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA.

http://faculty.mdanderson.org/James_Allison

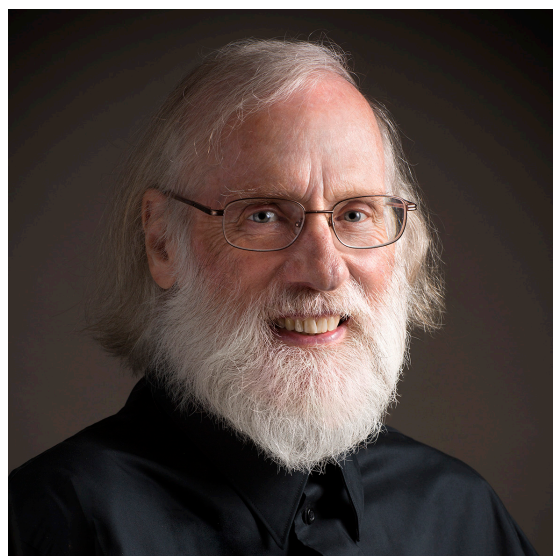


Foto: Joe Belcovson, Salk Institute for Biological Studies

TONY HUNTER

Född 1943 i Ashford, Kent, Storbritannien. American Cancer Society Professor, Renato Dulbecco Chair och Deputy Director vid the Salk Institute Cancer Center, Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, Californien, USA.

www.salk.edu/scientist/tony-hunter

Redaktion:
Sakkunniga: ledamöter av priskommittén
Text: Lotta Fredholm
Illustrationer: Johan Jarnestad/Infographics.se
Redaktör: Fredrik All
©Kungl. Vetenskapsakademien