

1 Fundamentele aspecten van kanker

F.T. Bosman, J.H.J.M. van Krieken

1.1 Inleiding

Groei en differentiatie zijn essentiële eigenschappen van levende organismen. Normale groei is gereguleerd. In het volwassen organisme wordt onder fysiologische omstandigheden in de meeste weefsels geen groei meer waargenomen: de aanmaak van nieuwe cellen is in evenwicht met het celverlies. Op celniveau gaat de groei in de meeste weefsels echter levenslang door: voortdurend worden oude cellen vervangen door nieuw aangemaakte. In sommige weefsels, zoals beenmerg of darmslijmvlies, is de celgroei zeer actief. Deze weefsels worden gekenmerkt door de aanwezigheid van stamcellen die ongedifferentieerd zijn en proliferatieve eigenschappen behouden. In andere, zoals hersen- of spierweefsel, is celgroei (nagenoeg) afwezig. In weer andere weefsels kan onder bepaalde omstandigheden, zoals na weefselverlies (partiële leverresectie is hiervan een bekend voorbeeld), echter de celgroei worden geactiveerd. Deze weefsels hebben zogenaamde facultatieve stamcellen, die zich uitsluitend manifesteren bij verhoogd celverlies. Na herstel van het celtekort treedt weer een evenwicht in en keert de celproductie tot normale waarden terug. Bij tumoren is sprake van ontregeling van de celgroei en -differentiatie. Gezwollen zijn wat hun groei betreft in meer of mindere mate autonoom en reageren niet adequaat op de groei-regulerende mechanismen waaraan de overige weefsels van de drager van de tumor onderworpen zijn. Deze ontregeling van het groeiproces vinden we zowel bij goedaardige tumoren, hoewel in mindere mate, als bij kwaadaardige tumoren. Kanker is niet één ziekte, maar moet beschouwd worden als een verzamelnaam voor een grote verscheidenheid aan ziekten, die per orgaan sterk verschillen van origine, celtype, biologisch gedrag, behandeling en prognose.

1.2 Kenmerken van gezwelgroei

1.2.1 Goedaardige en kwaadaardige gezwellen

Bij kanker denkt men meestal aan een tastbaar gezwel. Het is belangrijk te beseffen dat sommige vormen van kanker zich niet als een tastbaar gezwel voordoen. Bloedkanker is daarvan het meest kenmerkende voorbeeld: bij leukemie worden meestal geen tumorhaarden gevonden. Omgekeerd zijn niet alle tastbare gezwellen te beschouwen als kanker. Er zijn reactieve celwoekeringen die zich als kanker kunnen voordoen, zoals inflammatoire pseudo-tumoren en reactieve lymfekliervergrotingen. Er zijn goedaardige en kwaadaardige gezwellen, waarvan alleen de

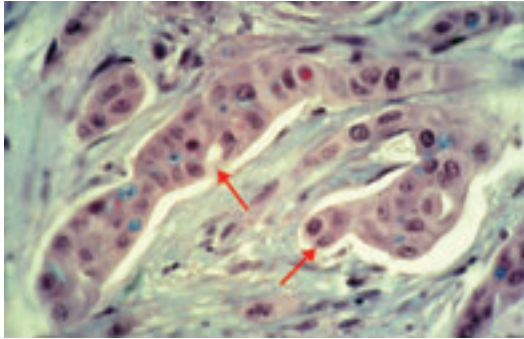
Tabel 1.1 Verschillen tussen goedaardige en kwaadaardige tumoren

<i>kenmerk</i>	<i>goedaardig</i>	<i>kwaadaardig</i>
begrenzing	scherp	onscherp, onregelmatig
(pseudo-)kapsel	frequent	zelden
groeiwijze	expansief	infiltratief
groeisnelheid	laag	hoog
necrose	zelden	frequent
differentiatie	hoog	matig tot slecht
cel/kernatypie	gering	sterk
mitotische activiteit	gering	hoog

laatste categorie met de term kanker wordt aangeduid. Tussen goedaardige en kwaadaardige gezwellen bestaan vrij karakteristieke verschillen, die het mogelijk maken ze goed van elkaar te onderscheiden. Deze verschillen worden samengevat in tabel 1.1. Van deze kenmerken is histologisch infiltratieve groei het meest betrouwbaar voor een diagnose maligniteit. Van infiltratieve groei spreekt men als de tumorcellen penetreren buiten het weefselcompartiment waarin ze zijn ontstaan. Epitheliale tumorcellen in een coloncarcinoom, bijvoorbeeld, kunnen infiltreren in de submucosa en de muscularis mucosae van de darmwand en zelfs de serosa bereiken. Infiltratieve groei verleent aan tumorcellen het vermogen tot uitzaaien of metastaseren. Niet alle infiltratief groeiende tumoren metastaseren echter. Bekende uitzonderingen zijn het basalecellencarcinoom van de huid en de gliomen in de hersenen. Soms is het moeilijk te differentiëren tussen goedaardige en kwaadaardige laesies. Bij sommige organen wordt daarom een tussengroep onderscheiden die met de naam ‘borderline laesie’ wordt aangeduid. Men bedenke zich hierbij dat bij het ontstaan van sommige vormen van kanker er een geleidelijke overgang is van een goedaardig voorstadium naar een kwaadaardig gezwel en dat in die situatie een scherp onderscheid niet gemakkelijk kan worden gemaakt.

1.2.2 Architectuur van gezwellen

Gezwellen groeien niet als een ongestructureerde massa cellen, maar tonen vaak een karakteristieke microscopische architectuur die het mogelijk maakt de tumor te classificeren en daarmee een voorspelling te doen over het te verwachten biologische gedrag. Belangrijk is te beseffen dat gezwellen niet alleen uit tumorcellen bestaan, maar ook uit gastheercellen, zoals bij epitheliale tumoren (carcinomen) het met de tumorcellen meegroei-



Figuur 1.1 Microscopische opname van een ductaal carcinoom van de mamma. De tumorcellen (solide roodgekleurde strengen, zie pijlen) worden omgeven door een tumorstroma met veel extracellulaire matrix (blauwachtige tussenstof).

ende bindweefsel (tumorstroma) waaronder de cellen van bloedvatwanden (fig.1.1). Het tumorstroma ontwikkelt zich als gevolg van de afgifte van groeifactoren door tumorcellen. Veel belangstelling genieten de groeifactoren die de tumorvascularisatie (angiogenese) bevorderen. Hiertoe behoren de ‘vascular endothelial growth factor’ (VEGF)-familie en basische fibroblasten-groeifactor (bFGF of FGF-2). Een lid van de VEGF-familie (VEGF-C) is verantwoordelijk voor de lymfangiogenese in tumoren.

Architecturale kenmerken spelen een belangrijke rol bij de classificatie van tumoren. Carcinomen worden vaak als zodanig herkend omdat de tumorcellen in (aaneengesloten) epitheliaal verband liggen. De vorming van buisjes wijst op een adenocarcinoom. Cellen in neuro-endocriene tumoren liggen veelal in balkjes of celnesten (‘Zellballen’). Architecturale kenmerken worden ook in de nomenclatuur gebruikt (bijv. cystadenocarcinoom als de tumor cysten bevat, papillair carcinoom als de tumorcellen papillaire structuren vormen).

Ook de architectuur en de samenstelling van de stromale component spelen een rol. Bij menggezwellen van de speekselklieren domineert vaak een op mesenchym gelijkende tumorcelcomponent met veel (vezelige of chondroïde) tussenstof (strikt genomen is dit overigens een tumorproduct en geen stroma). Bij adenoïd-cystische tumoren van de speekselklieren is er vaak een opvallende depositie van basaalmembraanmateriaal rond de tumorcelnesten. Veel epitheliale tumoren vertonen een sterke stromareactie (die wel met de term desmoplastische reactie wordt aangeduid) die soms in de nomenclatuur een rol speelt, bijvoorbeeld desmoplastisch carcinoom van de mamma (zie fig.1.1). Het is de afzetting van dit collageenrijke stroma die aan veel kwaadaardige tumoren de typische, vaste consistentie verleent.

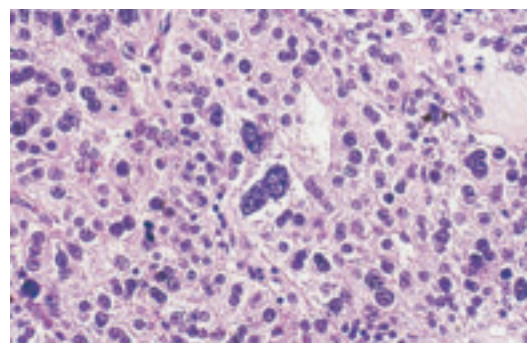
De aard van de extracellulaire matrix speelt een belangrijke rol bij de classificatie van maligne mesenchymale tumoren, de sarcomen. Wordt uitsluitend kraakbenige tussenstof gevormd, dan is er sprake van een chondrosarcoom, wordt door de tumorcellen bot gevormd dan is er sprake van een osteosarcoom.

1.2.3 Morfologie van kankercellen

De cellen in een tumor verschillen wat hun morfologie betreft in meer of mindere mate van de cellen in het weefsel waarin de maligne transformatie heeft plaatsgevonden. Ze missen vaak de hoge graad van differentiatie en onderlinge regelmatige rangschikking, die het normale weefsel karakteriseert. Tumoren ontstaan door transformatie van normale cellen. Met de term ‘transformatie’ wordt het geheel van morfologische en functionele celveranderingen aangeduid dat van een normale cel een kanker cel maakt. Aangenomen wordt dat vooral ongedifferentieerde reserve- of stamcellen in het weefsel doelwit zijn van oncogenese. Tumorcellen kunnen in wisselende mate differentiëren. Differentiatie vindt onder meer plaats onder invloed van gastheerfactoren. Soms is de differentiatiegraad zo hoog dat de structuur van het weefsel waarin de tumor ontstond vrijwel wordt bereikt; een voorbeeld hiervan is het folliculaire schildkliercarcinoom. Bij weinig gedifferentieerde tumoren bestaat vrijwel geen gelijkenis met het oorspronkelijke weefsel. Het is dan vaak niet mogelijk iets te zeggen over de herkomst en men spreekt in dat geval van een anaplastische tumor. Kankercellen tonen een aantal min of meer specifieke morfologische kenmerken, die daarom ook in de histo/cytologische diagnostiek worden gebruikt (fig. 1.2). De kernen zijn veelal groot en wisselen sterk in vorm en grootte (poly- of pleomorfie). De kern-cytoplasmaverhouding is verhoogd. De hoeveelheid DNA in de kern is doorgaans toegenomen, hetgeen resulteert in een verhoogde kleurbaarheid met basische kleurstoffen zoals hematoxyline (hyperchromasie). Er bestaat een grove verdeling van chromatine over de kern. Vaak is het aantal nucleoli in de kern toegenomen en zijn ze groter dan die in de niet-maligne cel. Het aantal kernelingen (mitosen) is meestal verhoogd en soms komen afwijkende mitosen voor.

1.2.4 Classificatie van gezwellen

Bij de classificatie van gezwellen wordt van architecturale en cytonucleaire kenmerken gebruikgemaakt: hoe is de tumor opgebouwd en hoe zien de tumorcellen eruit? Ten aanzien van de tumorcelmorfologie zijn differentiatierichting en -graad van de tumorcellen zwaarwegende criteria. Daarbij wordt gepoogd



Figuur 1.2 Morfologie van kankercellen. Opvallend is de variatie in kernvorm en -grootte (kernpolymorfie), de sterke kernkleuring (hyperchromasie) en de grove klontering van het kernchromatine. Er zijn mitosefiguren zichtbaar.

Tabel 1.2 *Classificatie van gezwellen*

<i>differentiatierichting</i>	<i>benigne</i>	<i>maligne</i>	<i>voorbeeld</i>
<i>epitheliaal</i>			
klierweefsel	adenoom	adenocarcinoom	adenocarcinoom van de long adenocarcinoom van de maag
plaveiselcel	papilloom	plaveiselcelcarcinoom	plaveiselcelcarcinoom van de huid
overgangscel	papilloom	overgangscelcarcinoom	overgangscelcarcinoom van de blaas
<i>mesenchymaal</i>			
vetcel	lipoom	liposarcoom	
fibroblast	fibroom	fibrosarcoom	
skeletspiercel	rabdomyoom	rabdomyosarcoom	
endothelcel	hemangioom	hemangiosarcoom	
bloedcel		leukemie	myeloïde leukemie lymfatische leukemie
lymfocyt		maligne lymfoom	ziekte van Hodgkin non-Hodgkin-lymfoom (B-cellymfoom, T-cellymfoom)
<i>neuro-ectodermaal</i>			
pigmentcel	naevus	melanoom	
zenuwcel	ganglioneuroom	neuroblastoom	
gliacel	glioom	glioblastoom	astrocytoom

de tumorcelkenmerken te vergelijken met die van normale cellen.

Een eerste vraag is of de tumor goed- of kwaadaardig is. De hierbij gebruikte morfologische criteria zijn in de vorige paragraaf behandeld (zie tabel 1.1). Soms tonen de tumorcellen individueel kenmerken die bij maligniteit worden gezien, zoals polymorfie en hyperchromasie, maar nog geen infiltrerende groei. Dan spreekt men van carcinoma in situ. Soms laat het histologisch onderzoek geen uitspraak toe over het te verwachten gedrag van de tumor. Men spreekt dan wel van een ‘borderline’-tumor. Er is een neiging om de generieke term ‘tumor’ te hanteren voor die gezwellen waarover op grond van het histologisch onderzoek geen gefundeerde uitspraak kan worden gedaan ten aanzien van het te verwachten gedrag. Voorbeelden zijn gastro-intestinale stromale tumor (GIST, zie hoofdstuk 18) of neuro-endocriene tumor (zie hoofdstuk 28).

Een tweede vraag is van welk type tumor er sprake is. Daarbij wordt gelet op het celtype en op de onderlinge samenhang van de tumorcellen. Zijn de tumorcellen epitheliaal, dan wordt een goedaardige vorm papilloom of adenoom genoemd en een kwaadaardige vorm carcinoom. Een kwaadaardig bindweefselgezwel wordt sarcoom genoemd. Op grond van individuele celkenmerken kunnen deze categorieën verder worden onderverdeeld. Een carcinoom met plaveiselcellige differentiatie wordt plaveiselcelcarcinoom genoemd en een carcinoom met klierbuisdifferentiatie een adenocarcinoom. Naar de mate van differentiatie kan een verdere verdeling plaatsvinden (goed, matig, slecht gedifferentieerd).

Sarcomen zijn onder te verdelen naar het celtype dat de tumor vormt, bijvoorbeeld vetcellen (liposarcoom), endothel (angiosarcoom), gladde spiercellen (leiomyosarcoom), enzovoort. Maligne lymfomen kunnen worden onderverdeeld naar B- of

T-cel-origine. Een samenvatting van de meest voorkomende tumortypen wordt gegeven in tabel 1.2. Sommige tumoren vertonen zowel epitheliale als mesenchymale kenmerken (men noemt dit wel bifasisch). Hiervan zijn het synoviosarcoom en het mesothelioom voorbeelden.

1.3 Klinische verschijnselen van gezwelgroei

Tumoren kunnen zich op heel verschillende manieren voordoen. Een overzicht van de belangrijkste symptomen wordt gegeven in tabel 1.3. De symptomen kunnen worden onderscheiden in lokale en systemische. Belangrijk is op te merken dat bij kwaadaardige tumoren de metastasen zelf ook weer dergelijke symptomen veroorzaken. Bij goedaardige tumoren blijven de gevolgen meestal beperkt tot compressie van omgevend weefsel. Dit kan belangrijke symptomen veroorzaken, zoals intermenstrueel bloedverlies door compressie van vaten bij een leiomyoma uteri of gezichtsvelduitval door compressie van de oogzenuwen bij een hypofyseadenoom. Van goedaardige (d.w.z. niet infiltratief

Tabel 1.3 *Symptomen van gezwelgroei*

lokaal	zwellingsymptomen obstructie (van een bloedvat of hol orgaan) ulceratie (van huid of slijmvlies) bloedverlies (manifest of occult)
systemisch	gewichtsverlies paraneoplastische verschijnselen

groeïende en derhalve niet metastaserende) tumoren kan de lokalisatie soms een ernstig probleem vormen bij de behandeling (bijv. bij sommige meningiomen) waardoor de prognose ondanks het goedaardige karakter ongunstig kan zijn.

De lokale effecten van kwaadaardige gezwellen zijn meestal het gevolg van ingroei in omliggende structuren of organen. Een huidcarcinoom of een carcinoom in de tractus digestivus zal zich vaak presenteren als een ulcus door necrose in de tumor. Uit een ulcus kan bloedverlies optreden. Ingroei in organen kan leiden tot pijn (bijv. botpijn bij primaire of metastatische tumoren in het skelet) of tot functieverlies (bijv. icterus bij uitgebreide tumorgroei in de lever).

De systemische effecten van kwaadaardige gezwelgroei omvatten gewichtsverlies en de zogenaamde paraneoplastische syndromen. Deze laatste worden niet veroorzaakt door lokale effecten van tumorcelgroei maar door de afgifte van actieve stoffen aan de circulatie door de tumorcellen. Een typisch voorbeeld daarvan is hormoonproductie door tumorcellen. Op deze syndromen wordt in hoofdstuk 4 nader ingegaan. Het gewichtsverlies kan veroorzaakt worden door lokale effecten van een tumor, bijvoorbeeld afsluiting van de oesophagus. Gewichtsverlies kan ook het gevolg zijn van ineffektieve stofwisseling, bijvoorbeeld door de productie in de tumor van stoffen die leiden tot een verhoogd katabolisme. Een voorbeeld van een dergelijke stof is tumor necrosis factor (TNF- α).

1.4 Tumorcelgroei

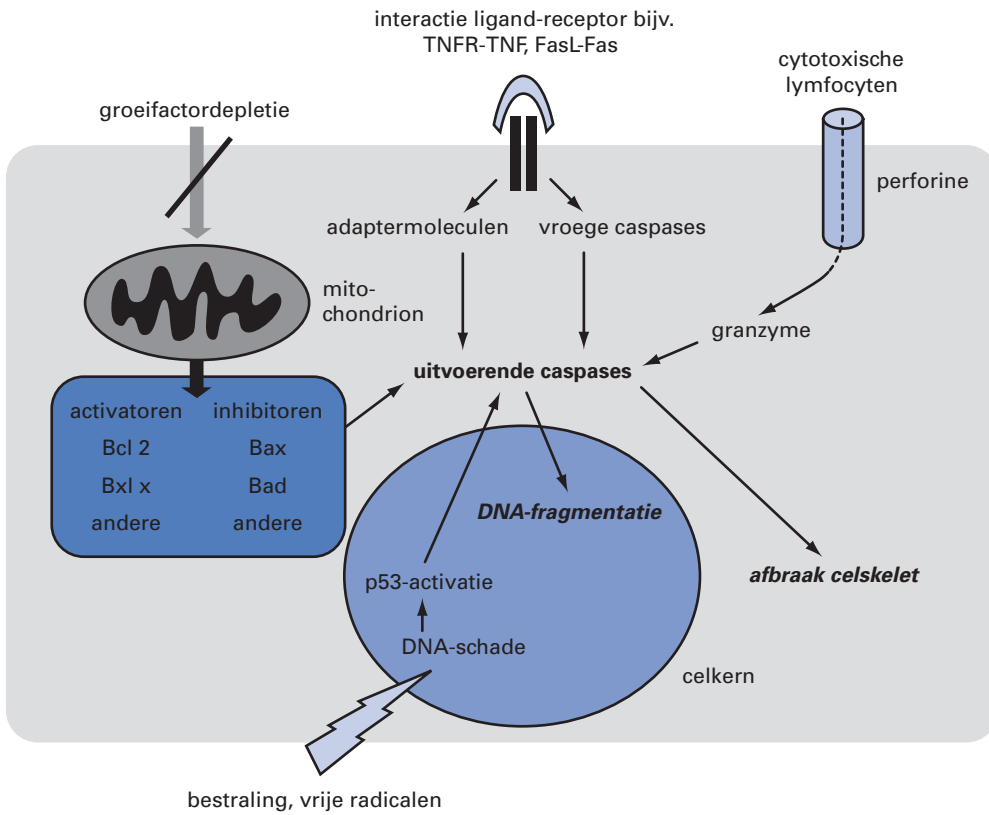
Bij een volwassen persoon bestaat onder normale omstandigheden in de meeste weefsels een evenwicht tussen celaanmaak en celverlies. Celverlies vindt vooral plaats door geprogrammeerde celdood, ook wel apoptose genoemd. Celaanmaak vindt plaats door celdeling (mitose). Bij weefsels zoals beenmerg, darm-slijmvlies en epidermis is er constant celverlies en derhalve ook constante celaanmaak uit het compartiment ongedifferentieerde stamcellen. Sommige hematopoëtische stamcellen zijn pluripotent: ze zijn in staat te differentiëren in allerlei verschillende richtingen (bijv. zenuwcellen en hartspiercellen). Sommige cellen in het lichaam zijn zo ver gedifferentieerd dat ze niet meer kunnen delen (postmitotische cellen). Voorbeelden van postmitotische cellen zijn zenuwcellen en spiercellen. Dergelijke cellen kunnen niet regenereren. Andere cellen delen regelmatig en zijn dan of tussen twee delingen in (intermitotisch, in de G0-fase van de celcyclus) of in deling (in de celcyclus). De meeste lichaamscellen zijn intermitotisch. Voor weer andere celtypen geldt dat ze langdurig inactief zijn en alleen bij een sterke regeneratiebehoefte in deling gaan. Dat geldt bijvoorbeeld voor levercellen.

Bij tumorgroei is het evenwicht tussen celafbraak en celaanmaak gestoord; er worden meer cellen gevormd dan er te gronde gaan. Dat kan zowel door vermeerderde celaanmaak als door verminderde apoptose. De proliferatiesnelheid van tumorcellen is hoog, maar meestal lager dan die van normale foetale cellen en regenererende cellen. De volumetoename van een tumor blijkt bijna zonder uitzondering langzamer te verlopen dan ver-

wacht zou worden op grond van de delingsactiviteit van de tumorcellen. Dat wordt verklaard door celverlies. Bij snelgroeïende tumoren treedt veelal in het tumorcentrum door onvoldoende bloeddorstrooming weefselnecrose op. Belangrijker is vermoedelijk tumorcelverlies door apoptose. Deze fysiologische vorm van celdood treedt in alle weefsels op en is normaal in evenwicht met celaanmaak. Van een apoptotische cel condenseert de kern, wordt in een energiegebruikend specifiek proces het DNA afgebroken en wordt het celrestant afgevoerd (veelal via fagocytose door macrofagen). Apoptose speelt een belangrijke rol in de tumorbiologie, enerzijds omdat verlies van het vermogen tot apoptose tot tumorgroei kan leiden en anderzijds omdat het werkingsmechanisme van veel chemotherapeutica en van radiotherapie ten minste ten dele het aanschakelen van apoptose omvat. Er zijn diverse mechanismen waarlangs in tumorcellen apoptose kan worden geïnduceerd. Deze worden schematisch samengevat in figuur 1.3.

De tijd die een tumor nodig heeft om zijn volume te verdubbelen, kan – afhankelijk van het tumortype en de omstandigheden – variëren van dagen tot jaren. Deze volumetoename is afhankelijk van de tijd die verloopt tussen twee celdelingen, de groeifractie (het percentage cellen dat actief groeit) en het aantal cellen dat in een bepaalde periode afsterft. Het tijdsverloop tussen twee celdelingen is van groot belang. Opmerkelijk is dat de duur van de celcyclus zelf tamelijk constant is. Uit de G0-fase kan de cel bij een adequate stimulus in de G1-fase terugkeren. Postmitotische cellen keren niet terug naar de G1-fase. De G1-fase gaat over in de S-fase, waarin de cel DNA gaat synthetiseren ter verdubbeling van het genetische materiaal als voorbereiding op de deling. Deze overgang is van groot belang omdat cellen als het ware een drempel over moeten om in de S-fase te raken; men spreekt wel van een restrictiepunt. Zijn de cellen hier voorbij, dan loopt de celcyclus verder geprogrammeerd af. Voordat de cel zich gaat delen (mitose- of M-fase) is er een G2-fase; de kern bevat nu de dubbele hoeveelheid DNA. De minimumtijd van een celcyclus, gemeten aan cellen in weefselweek, bedraagt ongeveer 16 uur. In vivo is deze voor darmepitheel 12 uur, voor de epidermis 21 dagen en voor de lever 160 dagen. De duur van de S-fase en de G2-fase is vrij constant. De grote variabiliteit, ook voor tumorcellen, ligt in de G0-fase en de G1-fase. De gedifferentieerde cellen met één specifieke functie (zoals zenuw- en spiercellen) blijven jarenlang of altijd in de G0-fase. Tumorcellen vertonen soms ook deze eigenschap. Ze kunnen jarenlang in G0 in weefsels verborgen blijven ('dormant'), om plotseling onder invloed van onbekende groeistimuli metastasen te vormen. Late metastasen bij het mammacarcinoom zijn van dit verschijnsel een bekend voorbeeld. Vermeldenswaard is nog dat gedurende de verschillende fasen van de celcyclus cellen een geheel verschillende gevoeligheid hebben voor exogene invloeden, zoals ioniserende stralen en cytostatica. Hiervan wordt gebruikgemaakt bij de ontwikkeling van doseringsschema's voor chemo- en radiotherapie.

De celcyclus en de belangrijkste regulatoren ervan zijn schematisch samengevat in figuur 1.4. De toegang van de cel tot de celcyclus (overgang van de G0- naar de G1-fase) en de voortgang van de cel in de cyclus worden geregeld door een groep eiwit-

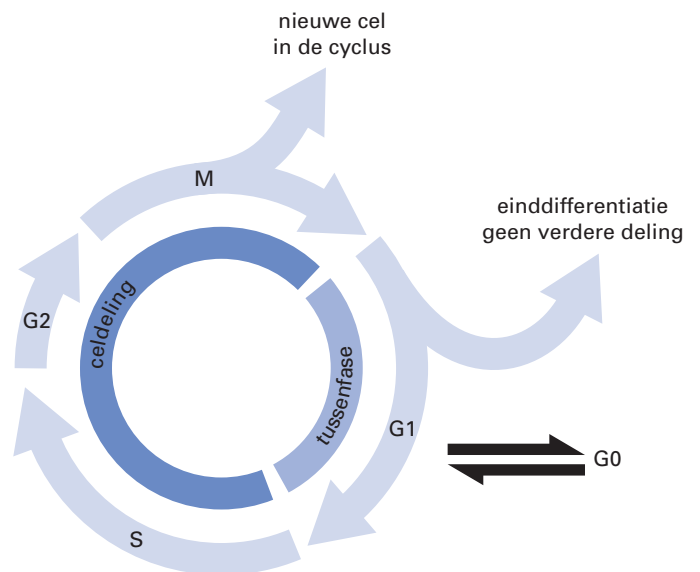


Figuur 1.3 Schematische weergave van de mechanismen die apoptose activeren in de cel, de intracellulaire processen die apoptose inleiden en de uiteindelijke afloop van het apoptoseproces. Gebrek aan groeifactoren heeft een effect op mitochondriaal niveau, waardoor apoptoseactivatoren worden vrijgemaakt. Apoptoseremmers bevinden zich eveneens op mitochondriaal niveau. Receptoractivatie (met name van de TNFR-familie) leidt via intermediaire stappen tot caspaseactivatie. Granzyme-injectie in de cel door cytotoxische T-cellen activeert eveneens caspases. Ook activatie van p53 kan caspase activeren. In de effectorfase van apoptose speelt afbraak van DNA en celskeleteiwitten een rol.

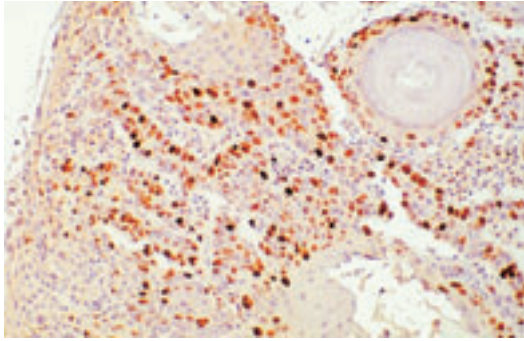
ten, cyclines genaamd. In de G1- en de S-fase spelen de cyclines D en E een rol. In de G2- en de S-fase is cycline A actief en in de G2- en de M-fase cycline B. De cyclines vormen een complex met de cycline-afhankelijke kinasen (CDK's): voor elk van de fasen van de celcyclus is er een specifiek cycline/CDK-complex. Dit complex activeert door fosforylering transcriptiefactoren, die op hun beurt de voor de voortgang van de cel door de celcyclus essentiële genen activeren. De cycline/CDK-complexen worden geremd door CDK-remmers, zoals de eiwitten p21 en p27. Het evenwicht tussen het cycline/CDK-complex en de CDK-remmer bepaalt of de cel verdergaat in de celcyclus. In de M-fase spelen eiwitten een rol die de opbouw van de kernspoel regelen en de condensatie van de chromosomen. Na de celcyclus worden al deze eiwitten verwijderd door binding aan het eiwit ubiquitine, waarna ze in het proteasoom van de cel worden afgebroken. Het belang van deze celcyclusregulatoren in de oncologie is groot: bij veel vormen van kanker is het evenwicht verstoord waardoor de cellen ongehinderd blijven prolifereren. Veel nieuwe vormen van medicamenteuze kankertherapie zijn dan ook gericht op celcyclus regulerende eiwitten.

Omdat in de S-fase de cellen een verhoogd DNA-gehalte hebben (tussen de diploïde en tetraploïde hoeveelheid) kan door meting van de hoeveelheid DNA via statische of flow-cytometrie in de kern het aantal cellen in de S-fase van de celcyclus worden bepaald. Dit is een maat voor de delingsactiviteit in de tumor. De prolifererende celfractie kan in weefselcouples worden aangetoond met behulp van immunohistochemische technieken. Daarbij wordt gebruikgemaakt van antilichamen die antigenen herkennen die alleen in de kern van delende cellen tot

expressie komen. Bekend is vooral het Ki-67-antigeen, dat met een monokonaal antilichaam (MIB-1) ook in routinematig bewerkt (in formaline gefixeerd en in paraffine ingebed) weefsel kan worden aangetoond (fig. 1.5). Het kunnen bepalen van de groeifractie in een tumor is van belang omdat deze prognos-



Figuur 1.4 Schematische voorstelling van de celcyclus. De M(itose)-fase omvat mitose en de feitelijke celdeling. De G(ap)1-fase gaat vooraf aan de S(ynthese)-fase waarin de cel het DNA replicateert. Tussen S en M is er een G2-fase. Na de M-fase kan een nieuwe celcyclus worden doorlopen; ook kunnen cellen wat betreft deling in rust gaan (G0).



Figuur 1.5 Ki-67-kleuring van een plaveiselcelcarcinoom van de huid (MIB-1-antilichaam). Het merendeel van de tumorcellen toont kernkleuring, wat een hoge delingsactiviteit van de tumorcellen impliceert.

tische betekenis heeft: tumoren met een hoge S-fasefractie (zeer actief delend) hebben meestal een slechtere prognose dan tumoren met een lage S-fasefractie. Ze reageren daarentegen beter op (radio- of chemo)therapie.

De groeisnelheid van tumoren in vivo is niet eenvoudig uit de groeifractie en de celcyclusduur af te leiden omdat er belangrijk celverlies is door necrose en/of apoptose. Van longmetastasen is de groeisnelheid onderzocht door metingen te verrichten aan opeenvolgende röntgenfoto's. Daarbij bleek dat deze tumoren een opvallend constante verdubbelingstijd vertonen. Men kan berekenen dat, uitgaande van één tumorcel met een gemiddeld volume, voor het ontstaan van een tumor met een volume van 1 cm^3 dertig verdubbelingen nodig zijn (fig. 1.6).

Indien in een bepaald geval de verdubbelingstijd honderd dagen bedraagt en constant blijft, vergt dit ongeveer acht jaar. Gedurende de volgende tien verdubbelingen zal het volume toenemen

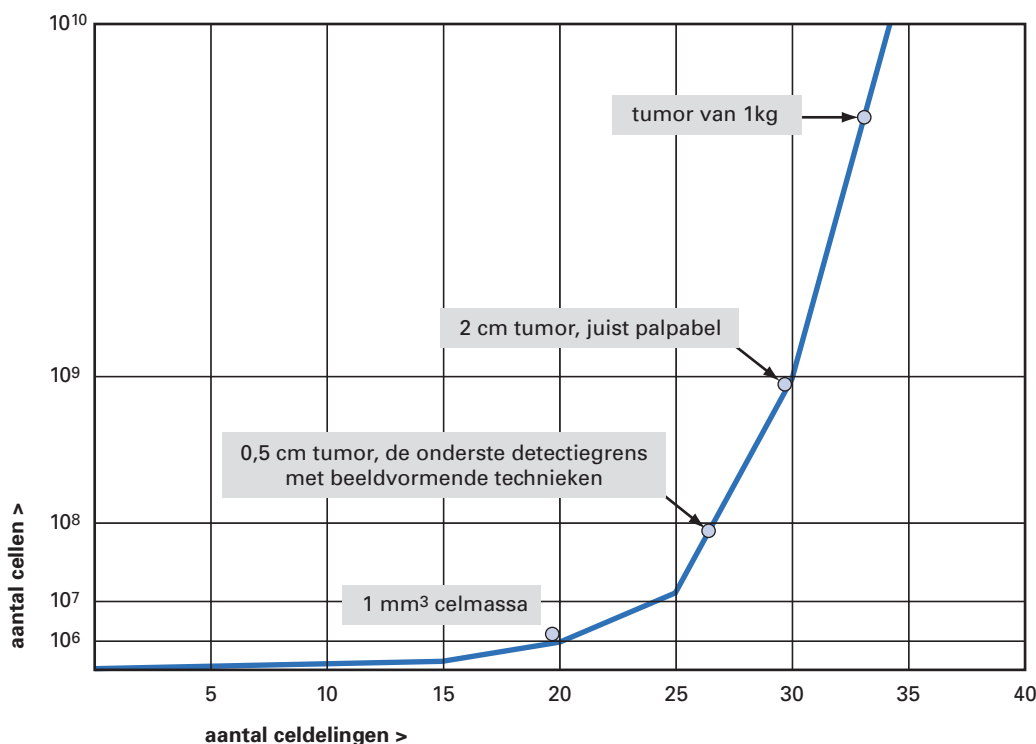
met 1 cm^3 tot 1000 cm^3 . Dat betekent dat tumoren vaak al jarenlang aanwezig zijn, voordat we ze met de meest verfijnde diagnostische hulpmiddelen kunnen vaststellen. De hele periode van de klinische observatie, diagnostiek en behandeling speelt zich in het algemeen af na de dertigste tumorcelverdubbeling. Screening en vroegdiagnostiek hebben hierop slechts een beperkte invloed.

1.5 Invasie en metastasering

Van kanker is een van de belangrijkste kenmerken het vermogen tot infiltrerende groei in omliggende weefsels. Door dit vermogen kunnen kankercellen zich toegang verschaffen tot lymfebanen en verslept worden naar lymfeklieren. Ze kunnen ook de wanden van bloedvaten passeren en dan verslept worden naar andere organen. Uitgroei in lymfeklieren en organen op afstand wordt metastasering (lymfogeen resp. hematogeen) genoemd. Het vermogen tot infiltratieve groei kan ook leiden tot ingroei in aanliggende organen (uitbreiding per continuitatem) of in lichaamsholten, waar zich tevens metastasen kunnen vormen. Metastasering is klinisch het belangrijkste kenmerk van kwaadaardige gezwelgroei, omdat de metastasen veelal onbehandelbaar zijn en in hoge mate de prognose bepalen.

1.5.1 Infiltratieve groei

Infiltratief groeiende kankercellen hebben het vermogen zich buiten de grenzen te begeven van het weefselcompartment waarin ze zijn ontstaan. Het duidelijkst spreekt dat bij epitheliale tumoren (carcinomen) waarbij de tumorcellen de epitheliale basaalmembraan kunnen passeren. Voor sommige normale cel-



Figuur 1.6 Schematische weergave van de groeisnelheid van tumoren als functie van de delingsactiviteit van tumorcellen. Op de X-as het aantal doorgemaakte celdelingen, op de Y-as het daarmee bereikte tumorvolume.

len is infiltratief vermogen fysiologisch: zonder deze eigenschap zouden lymfocyten, macrofagen en granulocyten niet goed kunnen functioneren. Gebleken is dat kankercellen bij infiltratieve groei van dezelfde mechanismen gebruikmaken als deze normale cellen. Invasief en migrerend gedrag van cellen is als zodanig dus niet pathologisch; het is pathologisch als epitheliale carcinoomcellen of mesenchymale sarcoomcellen dat doen. Bij infiltratie in de omgeving kunnen de volgende cellulaire processen worden onderscheiden: losraken van de cel uit het weefselverband; proteolyse van extracellulaire matrixcomponenten; migratie van de infiltratieve kanker cel. We zullen hierna deze processen wat meer in detail bespreken.

Losraken uit het weefselverband

Epitheliale cellen zijn in normale weefsels hecht met elkaar verbonden. Bij deze adhesie spelen cel-cel- en cel-matrix-adhesiemoleculen een rol. Van de celadhesiemoleculen zijn inmiddels zo'n vier verschillende families bekend. In dit kader zijn van belang E-cadherine (behorend tot de zgn. immunoglobuline superfamilie) en de integrinen.

E-cadherine is een groot transmembraan glycoproteïne dat homotypische verbindingen vormt, dat wil zeggen dat de extracellulaire domeinen van twee E-cadherinemoleculen een hechte verbinding kunnen vormen. Bij het totstandkomen van complexe verbindingen tussen epitheelcellen (zoals desmosomen) speelt E-cadherine een cruciale rol. Het in het cytoplasma gelegen einde van het molecuul is verbonden met het celskelet. Uit recent onderzoek is gebleken dat infiltratieve cellen verlies van E-cadherine-expressie tonen (fig. 1.7). Sterk infiltratieve tumorcellen met een totaalverlies van het vermogen tot het vormen van een weefselverband, zoals het zegelringcelcarcinoom van de maag of het lobulaircarcinoom van de mamma, vertonen frequent mutaties in het E-cadherine-gen. Bij familiale vormen van het zegelringcelcarcinoom van de maag zijn kiembaanmutaties in het E-cadherine-gen gevonden.

De integrinen zijn heterodimere (met een α - en een β -keten) transmembraanmoleculen die receptoren vormen voor extracellulaire matrixmoleculen. Specifieke heterodimeren hebben voor specifieke matrixmoleculen hoge affiniteit (bijv. $\alpha_6\beta_1$ - en $\alpha_6\beta_4$ -integrinen voor het basale membraaneiwit laminine). Bij infil-

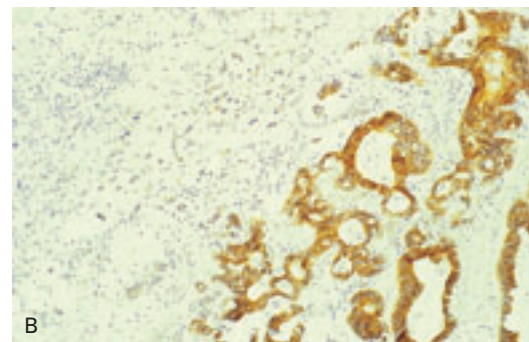
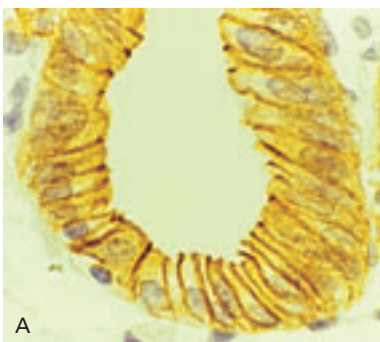
tratieve groei raken de cellen los van hun basale membraan en hechten zich, om te kunnen migreren, aan interstitiële extracellulaire matrixcomponenten. De cellen gebruiken hiervoor integrinen. Bij infiltratieve groei zijn dan ook op tumorcellen kenmerkende veranderingen in de expressie van integrinen gevonden.

Proteolyse van extracellulaire matrixcomponenten

Bij de afbraak van de extracellulaire matrix in het proces van infiltratieve groei zijn diverse enzymssystemen betrokken. Tumorcellen maar ook ontstekingscellen (zoals macrofagen) produceren niet-specifieke proteasen zoals trypsine en cathepsinen. Er worden echter ook specifieke proteasen geproduceerd waaronder de matrix-metalloproteïnase (MMP) en plasminogeenactivatoren. Vooral MMP-2 en MMP-9 zijn van belang omdat die het collageen type IV van de basale membraan kunnen afbreken. De activiteit van MMP's wordt onder meer gereguleerd door specifieke remmers, de 'tissue inhibitors' van metalloproteïnase of TIMP's. MMP's worden niet alleen door tumorcellen geproduceerd maar ook door stromacellen. Tumorcellen hebben receptoren op hun oppervlak waaraan deze MMP's binden. Bij de afbraak van de matrix door MMP's komen groeifactoren vrij die in de matrix liggen opgeslagen. Naast het scheppen van ruimte voor migrerende tumorcellen bevorderen MMP's derhalve ook de groei van infiltratieve tumorcellen.

Van de plasminogeenactivatoren (PA) is vooral het urokinase (uPA) uitvoerig onderzocht in het kader van infiltratieve groei. Ook daarbij is gebleken dat weliswaar soms tumorcellen uPA produceren maar veelal juist de stromacellen. De tumorcellen dragen dan receptoren voor uPA (uPAR) op hun celoppervlak waardoor uPA wordt geconcentreerd en geactiveerd. PA zetten plasminogeen om in plasmine, dat betrokken is bij de bloedstolling maar ook bij de activatie van pro-enzymen door afsplitsing van een peptide.

Met al deze factoren in het spel is de afbraak van de extracellulaire matrix bij invasieve groei een uiterst complex proces van interactie tussen tumorcellen en hun omgevende stroma. Veel aandacht bestaat er momenteel voor specifieke remmers van matrixproteasen als chemotherapeutica. Van sommige hiervan, zoals batimastat, is een specifiek tumorgroeiremmend effect vastgesteld.



Figuur 1.7 E-cadherine kleuring van tumorcellen.

a Colonadenoom. Deze goed gedifferentieerde cellen tonen alle een celmembraan intens aankleurend voor dit celadhesie-eiwit.

b Coloncarcinoom. Rechts in het beeld een gebied met goed gedifferentieerde carcinoomcellen die sterk aankleuren. Links in het beeld diffuus infiltrerende weinig gedifferentieerde cellen die hun onderlinge samenhang verloren hebben omdat E-cadherine niet langer tot expressie komt.

Migratie

Gebleken is dat tumorcellen in vitro ten opzichte van normale cellen een verhoogde motiliteit bezitten. Invasief groeiende tumorcellen zijn in deze in-vitromodellen weer actiever dan niet-invasieve tumorcellen. Bij deze verhoogde motiliteit is activatie van het celskelet betrokken. Bij migratie door de ECM maken tumorcellen gebruik van integrinen op hun celoppervlak voor het (tijdelijk) hechten aan collagenen in de ECM. Er zijn verschillende factoren gevonden in tumorcellen die migratie bevorderen, waaronder de zogenaamde 'autocrine motility'-factor. Deze activeren het celskelet van de tumorcellen, die daardoor actief in beweging komen. Eenmaal infiltratief hebben de kankercellen het vermogen in lymfebanen en bloedvaten binnen te dringen. Dit vormt het begin van metastasering.

1.5.2 Metastasering

Via lymfebanen worden tumorcellen verslept naar het eerste regionale lymfeklierstation. Via de afferente baan komen ze in de randsinus terecht vanwaar ze tot een metastatische tumor kunnen uitgroeien. Van daaruit kan een volgend lymfeklierstation worden bereikt dan wel een bloedvat. Ook kunnen uit lymfekliermetastasen hematogene metastasen optreden.

Hematogene metastasen ontstaan als de tumorcellen in de bloedbaan terechtkomen. In veel gevallen bepaalt het gepeneetreerde vat waar de metastase zal ontstaan, namelijk in het eerstvolgende capillairbed, waar de circulerende tumorcellen als tumorcelemboli vastlopen. Dit principe verklaart mede het bestaan van specifieke metastaseringspatronen. Tumoren in de buikviscera zullen (via de v.portae) veelal levermetastasen vormen. Tumoren uit huid, bewegingsapparaat en dergelijke zullen via de v.cava veelal longmetastasen veroorzaken. Tumoren in de long zullen via de vv.pulmonales en de systemische arteriële circulatie metastasen in de perifere organen veroorzaken.

Van een metastase wordt pas gesproken als de tumorcellen in het 'doelwit' orgaan een nieuwe tumor hebben gevormd. Bij losse tumorcellen in de randsinus van een lymfeklier of in een leversinus spreekt men dus niet van metastase. Pas wanneer de tumorcellen de vaatwand penetreren, lokaal uitgroeien en een fibrovasculair stroma wordt gevormd, spreekt men van een metastatische haard. Sommige tumoren metastaseren in de eerste plaats hematogeen (sarcomen) en andere meer lymfogeen (carcinomen, melanoom). In het algemeen zullen tumorcellen via lymfevaten vanuit de primaire tumor worden getransporteerd naar het eerste lymfeklierstation. Vaak zullen deze lymfeklieren als filter functioneren. Van deze filterfunctie wordt gebruikgemaakt bij het zoeken naar de schildwachtklier. Door in een tumor een radioactieve tracer of een vitale kleurstof in te spuiten kan namelijk peroperatief de eerste lymfeklier die de lymfestroom bereikt worden geïdentificeerd. In deze (schildwacht)lymfeklier vindt men de eerste lymfekliermetastasen. Als in deze lymfeklier geen metastasen worden gevonden, zijn er in het algemeen in andere lokale lymfeklieren ook geen metastasen aanwezig en kan het lymfekliertoilet achterwege gelaten worden. Bij de behandeling van het mammacarcinoom en sommige melanomen is de schildwachtlymfeklierprocedure standaard geworden. Dit wordt uitvoeriger besproken in latere hoofdstukken.

De filterfunctie van lymfeklieren is niet zo effectief als men wel gedacht had. Tumorcellen kunnen deze klieren namelijk passeren. De filterfunctie neemt af na lokale bestraling. Anderzijds zullen zeker niet alle tumorcellen die in het eerste lymfeklierstation worden gevangen, in staat zijn zich te handhaven en te vermeerderen. Als wel een lymfekliermetastase ontstaat, kan de lymfeklier soms geheel worden vervangen door tumorweefsel, waarvan een retrograde lymfestroom het gevolg kan zijn. Vanuit lymfekliermetastasen kan niet alleen verdere lymfogene verspreiding optreden, maar kan ook hematogene disseminatie ontstaan.

Het probleem van in het bloed circulerende tumorcellen heeft een tijd lang grote belangstelling genoten. Bij een groot aantal kankerpatiënten kunnen tumorcellen worden aangetoond in het bloed van de venen die het tumorgebied draineren, en soms ook in bloed elders. Vooral met uiterst gevoelige molecuulair-biologische methoden (de polymerasekettingreactie of PCR), kunnen tumorcellen in een groot aantal gevallen in de circulatie worden aangetoond. Manipulatie van het tumorgebied, zoals palpatie, massage en curettage, verhoogt de kans op het voorkomen van deze cellen in het bloed. Bij patiënten met een weinig gedifferentieerde tumor worden vaker tumorcellen in het bloed aangetroffen dan wanneer de primaire tumor een hoge differentiatiegraad bezit. De aanvankelijke verwachting dat het aantreffen van tumorcellen in bloed een infauste prognose betekent, is niet bevestigd. Circulerende tumorcellen geven kennelijk niet steeds aanleiding tot aantoonbare metastasen. Ook op grond van experimentele waarnemingen is het waarschijnlijk dat het merendeel van deze in het bloed aanwezige cellen wordt vernietigd, hetgeen echter niet betekent dat niet moet worden getracht deze uitzaaiing te analyseren bij het diagnostisch en therapeutisch handelen. Metastasering is alles bij elkaar een uiterst selectief proces: weinig tumorcellen slagen erin. Echter, ondanks het vermogen van het organisme om circulerende tumorcellen te vernietigen, zal een aantal nog vitale cellen in het capillaire en precapillaire netwerk terechtkomen en daar worden vastgehouden. De cellen 'kleven' vermoedelijk aan het endotheel en worden omgeven door een netwerk van fibrine, bloedplaatjes en leukocyten, voordat zij de vaatwand penetreren. Anticoagulantia en fibrinolytische enzymen kunnen, na injectie van tumorcellen in de circulatie, het aantal metastasen verminderen.

Of de tumorcellen die de vaatwand gepasseerd zijn, in hun nieuwe omgeving blijven leven en zich zullen vermeerderen, hangt in hoge mate af van de vascularisatie van het gebied waar ze terechtkomen en hun vermogen angiogene factoren te produceren. Tumorfragmenten, geïmplanteerd in de voorste oogkamer van een konijn, waar de vascularisatie minimaal is, gaan te gronde. Dezelfde tumor, geënt in het gebied van de iris, met een rijke vascularisatie, groeit echter snel uit. Ook bij de mens kan het beloop van metastasen onverwacht zijn. De groeisnelheid kan tijdelijk of permanent afnemen en spontane regressie is, hoewel zeldzaam, onder andere bij metastasen van niercarcinomen en melanomen waargenomen. Anderzijds manifesteren metastasen zich soms vele jaren nadat een primaire tumor, voorzover is na te gaan, volledig is verwijderd, zoals bij mammacarcinoom. Men spreekt dan van 'dormant' metastasen. Wat hier precies gebeurt is nog niet duidelijk. Het is denkbaar dat tumorcellen langdurig in de G0-fase van de celcyclus blijven of dat trage

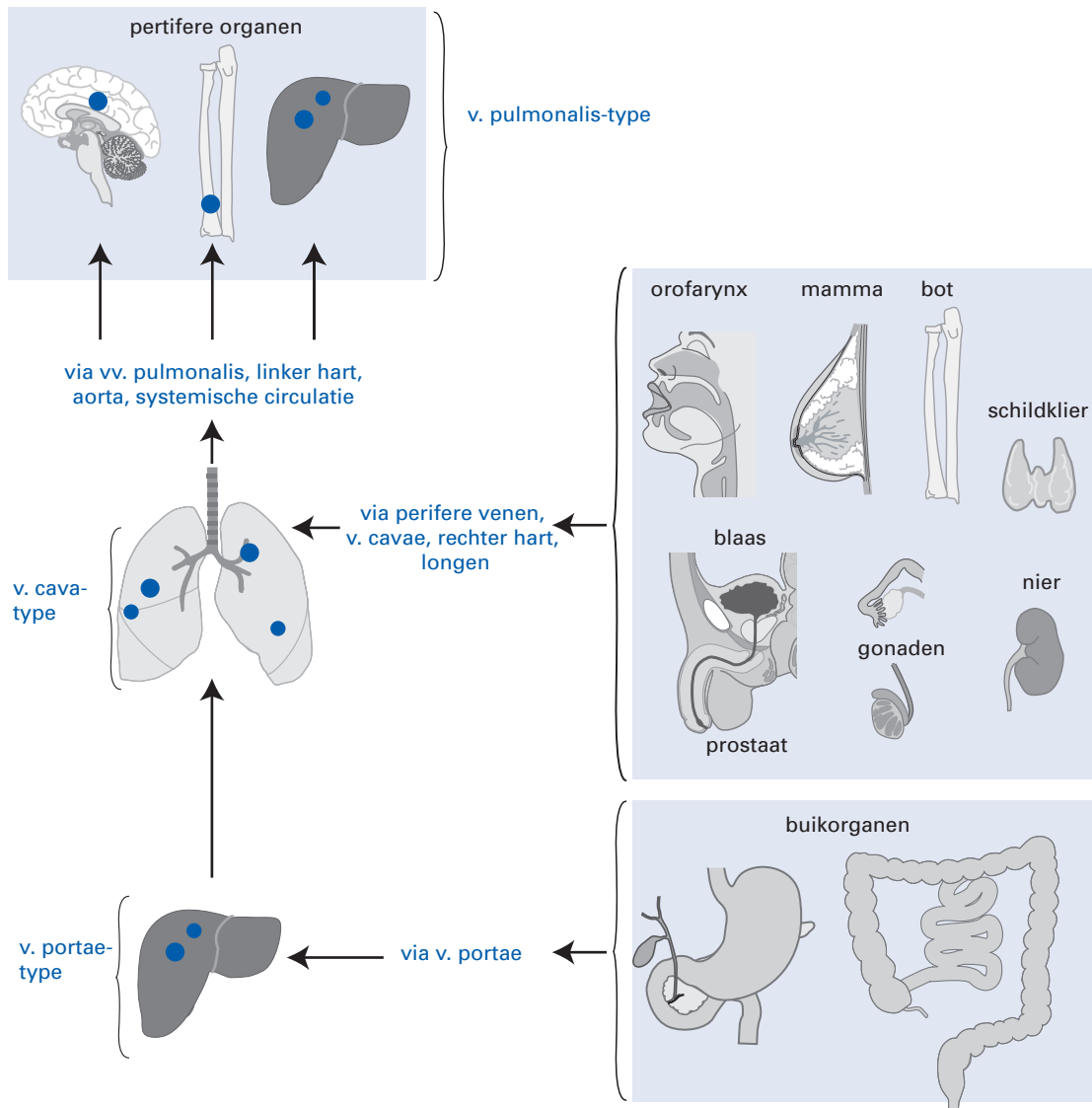
proliferatie (geheel) wordt tenietgedaan door apoptose. Er ligt in dat geval een lange periode tussen het ‘aanslaan’ van de verslepte tumorcellen en het moment waarop ze tot een diagnosticeerbare tumorhaard zijn uitgegroeid.

Zoals reeds is vermeld, is de lokalisatie van de eerste hematogene metastase vaak bepaald door de lokalisatie van het eerste capillaire netwerk dat door de tumorcellen via de bloedbaan wordt bereikt (tabel 1.4). Indien de hematogene disseminatie plaatsvindt via het cava-systeem (o.a. nier-, testis-, en bottumoren), is de long het eerste station dat wordt bereikt (vena-cava-type). Bij vervoer via de vena portae (o.a. maag-, pancreas- en colontumoren) is dit de lever (vena-portae-type). Tumorcellen die via de longvenen in het arteriële systeem terechtkomen (longtumoren), kunnen metastasen vormen in elk orgaan met een capillair netwerk, met als voorkeurslokalisaties hersenen, lever, botten en bijniere (vena-pulmonalis-type); dit wordt samengevat in figuur 1.8. In de tweede fase van de metastasering bepaalt de lokalisatie van de eerste metastasen de verdere disseminatie.

Tabel 1.4 Lokalisatie van hematogene metastasen*

tumortype	long	lever	skelet	hersenen
coloncarcinoom	25-40	60-70	05-10	< 1
cervixcarcinoom	20-30	20-35	10-20	< 5
ovariumcarcinoom	05-10	10-15	02-05	< 1
prostaatacinoom	15-50	05-10	50-70	< 1
niercarcinoom	50-75	30-40	25-50	5-10
Wilms-tumor (nier)	10	30-40	10	0
blaascarcinoom	25-30	30-50	0	
Ewing-sarcoom (bot)	70	30	60	< 5
osteosarcoom	80-95	< 5	35-50	< 5
testis	70-80	50-80	20-25	< 10
	<i>bijnier</i>			
long	25-35	35-40	10-15	20-25

* Bij obductie, % van het totale aantal gevallen.



Figuur 1.8 Metastaseringspatronen. De organen waar men hematogene metastasen kan verwachten, worden in eerste instantie bepaald door de bloedstroom: tumorcellen worden in veneus bloed afgevoerd en lopen vervolgens in het eerstvolgende capillaire vaatbed vast.

Hoewel de lokalisatie van de metastasen zich in veel gevallen, zoals te verwachten, manifesteert op grond van de eerder besproken vaatverhoudingen, worden we zo vaak met lokalisa-ties geconfronteerd die hierdoor niet worden verklaard, dat meer factoren een rol moeten spelen. Klinische, anatomische en experi-mentele waarnemingen kunnen althans ten dele deze afwij-kende metastaseringspatronen verklaren. Tumorcellen kunnen een capillair netwerk passeren en worden dan dus niet vastge-houden in het eerste netwerk dat op hun weg komt, bijvoorbeeld de longen, waardoor de metastasen uiteindelijk niet worden gevonden in de longen maar in andere organen. De eerste aan-wijsbare metastasen van een prostaatacarcinoom bijvoorbeeld, worden niet zelden gevonden in de lumbale wervelkolom. Men heeft dit wel verklaard door een retrograde bloedstroom bij ver-hoging van de intra-abdominale druk. Wanneer dit gebeurt, kan bloed uit de plexus prostaticus, die anastomosen heeft met de veneuze plexus vertebralis, in deze laatste terechtkomen. Deze verklaring is echter wat op de achtergrond geraakt. Momenteel wordt aangenomen dat het micromilieü in het 'ontvangende' orgaan, bijvoorbeeld door de aanwezigheid van bepaalde groei-factoren, bepalend kan zijn voor het al dan niet uitgroeien van een in een bepaald capillairbed vastgelopen tumorcel.

Dat metastaseringspatronen niet alleen verklaard worden door de bloedstroom, blijkt ook uit het feit dat in sommige organen opvallend weinig metastasen worden aangetroffen. De harts-pier ontvangt in rust ongeveer 25% van het hartminuutvolume, maar tumormetastasen in de harts-pier zijn tamelijk ongewoon. Derge-lijke waarnemingen hebben aanleiding gegeven tot de zoge-noemde voedingsbodentheorie ('seed and soil'). Het lijkt waar-schijnlijk dat de productie van specifieke groeifactoren in het ontvangende orgaan hiervoor verantwoordelijk is. Dit wordt geïllustreerd door onderzoek naar metastasering in de lever, waar in dierexperimenten meer metastasen worden aangetroffen na hemihepatectomie, die een sterke proliferatieve activiteit van hepatocyten tot gevolg heeft door lokale afgifte van groeifac-toeren, die ook de uitgroei van metastasen bevorderen. Specifieke metastaseringspatronen kunnen ook worden verklaard door spe-cifieke binding van tumorcellen aan endotheelcellen via interac-tie van glycoproteïnen op het tumorceloppervlak met selectinen op endotheelcellen.

Niet alle maligne tumoren metastaseren, en het moment waarop en de mate waarin dit proces plaatsvindt kunnen sterk wisselen. Basalecellencarcinomen van de huid metastaseren nagenoeg nooit. Glioblastomen in de hersenen metastaseren uiterst zelden, hoewel ze zeer sterke angiogenetische activiteit vertonen. Daar-entegen kunnen zeer kleine tumoren die nog geen enkele klacht veroorzaken, reeds aanleiding geven tot massale disseminatie, zodat de eerste symptomen worden veroorzaakt door de meta-stasen. Anderzijds kunnen metastasen ontbreken bij zeer grote primaire tumoren. Vaak is het gedrag onverwacht en onver-klaard. In het algemeen metastaseren weinig gedifferentieerde tumoren vroeger en uitgebreider dan die met een hoge differen-tiatiegraad. Dit is echter geen vaste regel, want tumoren van schildklier en bijnier met een structuur die nog in hoge mate overeenkomt met die van normaal schildklier- en bijnierweefsel, kunnen toch metastasen veroorzaken.

1.6 Ontstaan van kanker

Tumoren ontstaan als gevolg van celveranderingen, waardoor de cellen zich kunnen onttrekken aan normale groeiregulerende mechanismen. Deze celveranderingen worden samengevat met de term 'transformatie'. Aan het proces van transformatie liggen multi-pele afwijkingen (mutaties) in het genoom van de getrans-formeerde cel ten grondslag. Kanker is derhalve te beschouwen als afwijking van het genoom van de cel. Het proces van het ont-staan van kwaadaardige tumoren wordt oncogenese genoemd. Het ontstaan van maligne epitheliale gezwellen wordt met de term carcinogenese aangeduid.

Men gaat ervan uit dat de meeste tumoren ontstaan door omge-vingsfactoren. Een veel kleiner aantal is het gevolg van erfelij-ke afwijkingen in het genoom. Dit zijn de familiale tumorsyn-dromen (zoals retinoblastoom, familiaal coloncarcinoom of familiaal mammacarcinoom). Erfelijke en omgevingsfactoren werken samen bij de carcinogenese. De erfelijke factoren beper-ken zich niet tot de genen betrokken bij familiale kankersyndro-men. Ook het vermogen tot het afbreken van carcinogene stoffen of de reactie op (natuurlijke) bestraling verschilt per individu, waardoor de kans op de ontwikkeling van kanker sterk verschilt tussen individuen. De omgevingsfactoren die een rol spelen bij het ontstaan van tumoren worden carcinogene factoren genoemd. Omdat deze afwijkingen in het genoom induceren, zijn carcinogene factoren zonder uitzondering ook mutageen. In het algemeen zijn tumoren monoklonaal, dat wil zeggen dat de cellen die een gezwel bevolken allemaal zijn ontstaan uit één getransformeerde tumor-'stamcel'. Gebleken is dat niet een enkele maar meer mutaties nodig zijn om een cel te transfor-meren en zo de tumorstamcel te doen ontstaan. Carcinogenese is derhalve een complex meerstapsproces. De klonale expansie van één getransformeerde cel tot een klinisch manifeste tumor wordt bovendien door gastheerfactoren (bijv. hormonale of immunologische factoren) gemoduleerd.

1.6.1 Oncogenese

Het ontstaan van kanker is vooral aan epitheelcellen onderzocht. We spitsen daarom de bespreking van de mechanismen van het ontstaan van kanker hierop toe: carcinogenese. Carcinogenese is een zeer langdurig proces. De transformatie van een normale cel tot kankercel duurt lang omdat daartoe diverse mutaties in de zich transformerende cel moeten accumuleren. Verder is er een groot aantal celdelingen nodig om uit één enkele getransfor-meerde cel een klinisch manifeste tumor te laten ontstaan. Afhankelijk van de delingsfrequentie kan dat wel vijf tot tien jaar duren.

Initiatie en promotie

Het concept van meerstaps carcinogenese werd voor het eerst experimenteel bewezen bij onderzoek naar chemische carcinoge-nese in de huid van muizen (zie fig. 1.8). Werd de huid van mui-zen eenmalig aan een lage dosis carcinogeen (benzpyreen) blootgesteld, dan ontstond geen kanker. Werd vervolgens de huid behandeld met de irriterende stof crotonolie, waarvan

bekend is dat deze alleen nooit huidkanker veroorzaakt, dan ontstond er wel huidkanker. Deze waarneming suggereerde dat bij de eerste (niet-kankerverwekkende) behandeling wel essentiële veranderingen in de cellen waren ontstaan; dit werd ‘initiatie’ genoemd. De cellen hadden daarna kennelijk nog maar een klein zetje nodig om kankercellen te worden, wat door de crotonoliebehandeling geschiedde. Deze laatste werking werd ‘promotie’ genoemd. Het is waarschijnlijk dat initiatie en promotie ook bij het ontstaan van sommige tumoren bij de mens een rol spelen. Vaak zal er niet sprake zijn van twee stappen, maar van een hele reeks. Als initiator worden processen aangeduid die in het genoom van de cel specifieke mutaties induceren. Initiërende factoren, carcinogenen, zijn zonder uitzondering mutageen. Promotoren stimuleren proliferatieve activiteit van de geïnitieerde cel en beïnvloeden het patroon van de genexpressie, onder meer verband houdend met celdifferentiatie, waardoor het proces van carcinogenese wordt bespoedigd. In de praktijk is het vaak niet mogelijk initiatie en promotie scherp van elkaar te scheiden: veel initiatoren hebben ook een promotorwerking.

Meerstapscarcinogenese bij menselijke tumoren

Ook bij veel tumoren bij de mens is meestapscarcinogenese waarneembaar. In veel epithelia gaat aan het ontstaan van een gezwel een langdurige periode van abnormale groei en differentiatie vooraf. Vooral aan goed toegankelijke, bekleedende epithelia is dit goed bestudeerd. Het meest treffende voorbeeld is de cervix uteri, waar een plaveiselcelcarcinoom wordt voorafgegaan door metaplasie, dysplasie en carcinoma in situ. Deze ontwikkeling wordt schematisch samengevat in figuur 1.9.

Van metaplasie wordt gesproken als de differentiatierichting van een epitheel verandert. Voor de cervix uteri betekent dit dat de cilindercellige bekleding verandert in – overigens morfologisch geheel normaal – plaveiselepitheel. Metaplasie is geheel reversibel en wordt als reactie gezien in diverse epithelia op een hele scala van prikkels. Bij doorgaande prikkeling vertoont het metaplastische epitheel toegenomen proliferatieve activiteit en afnemende differentiatie. De celkernen worden groter, het chromatine verandert van textuur. Naar de ernst van de morfologische afwijkingen wordt dysplasie gegradeerd in licht, matig en ernstig. Ten slotte is het celbeeld zo atypisch dat de cellen eruitzien als kankercellen. Zolang echter geen sprake is van voor kwaadaardige groei kenmerkende infiltratieve groei, wordt gesproken van carcinoma in situ. Andere voorbeelden van premaligne afwijkingen worden genoemd in tabel 1.5.

Tumorbiologisch onderzoek heeft inmiddels uitgewezen dat in de ontwikkelingslijn metaplasie, lichte–matige–ernstige dysplasie, carcinoma in situ en plaveiselcelcarcinoom er een voortdurende toename is van afwijkingen in het genoom en van de gedragingen van de cel. Deze waarnemingen maken duidelijk dat het tweestapsconcept van initiatie en promotie voor carcinogenese bij de mens te simpel is. In de paragrafen over de afwijkingen in het genoom bij kanker komen we daarop terug.

Tabel 1.5 Voorbeelden van premaligne afwijkingen

<i>orgaan</i>	<i>afwijking</i>	<i>predispositie voor</i>
colon	adenoom (adenomateuze/ villeuze poliep)	adenocarcinoom
cervix uteri	dysplasie	plaveiselcelcarcinoom
huid	keratosis actinica	plaveiselcelcarcinoom
blaas	papilloom	overgangsepitheelcarcinoom
orofarynx	leukoplakie	plaveiselcelcarcinoom

1.6.2 Carcinogene factoren

Het is vanzelfsprekend ondenkbaar mogelijke carcinogene agentia op hun werking experimenteel te onderzoeken bij de mens. Veel van de kennis omtrent de carcinogene effecten van in ons leefmilieu voorkomende noxen is dan ook afkomstig uit epidemiologisch onderzoek. Directe causale verbanden kunnen evenwel moeilijk uit epidemiologische gegevens worden afgeleid. Daarom zijn additionele onderzoeksmethoden ontwikkeld om experimenteel bewijs te kunnen leveren voor de carcinogeniciteit van bepaalde noxen. Daartoe behoren expositie van proefdieren aan noxen, testen van mutageniciteit in bacteriecultures (zgn. Ames-test) en testen van transformerende eigenschappen in celcultures in vitro.

Carcinogene factoren omvatten chemische agentia, fysische factoren en biologische agentia.

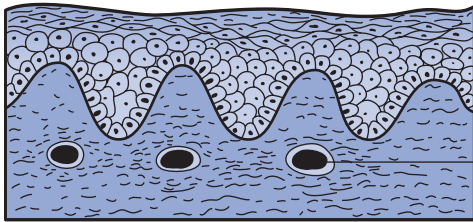
Chemische carcinogenen

Reeds eeuwen was bekend dat het voorkomen van carcinomen van het scrotum bij schoorsteenvegers vermoedelijk een gevolg was van contact met roet. Dit vermoeden werd ondersteund door de bevinding dat bij proefdieren huidcarcinoom geïnduceerd kan worden door de huid met teer te penselen. Chemisch onderzoek toonde uiteindelijk aan, dat dibenzantraceen een van de belangrijkste carcinogenen is in koolteer.

Het aantal stoffen dat in staat moet worden geacht maligne transformatie te bewerkstelligen, is zeer groot. Sommige onderzoekers menen dat het merendeel van de bij de mens voorkomende maligne tumoren mede een gevolg is van contact met dergelijke stoffen. Het zoeken naar carcinogenen die mogelijk uit voedsel en milieu geëlimineerd kunnen worden, is een belangrijk aspect van de kankerbestrijding.

De meeste carcinogenen zijn zelf niet in staat kanker te verwekken; ze moeten in het organisme worden omgezet in de effectieve carcinogene stof. Deze stoffen worden aangeduid als ‘indirecte carcinogenen’. Dat geldt bijvoorbeeld voor vinylchloride, dat wordt omgezet in een epoxide, dat covalent aan DNA kan binden en daarmee mutagene (en carcinogene) eigenschappen heeft verworven. Vinylchloride is betrokken bij het ontstaan van angiosarcomen in de lever. Bij de ‘directe carcinogenen’ is omzetting niet noodzakelijk; ze zijn direct werkzaam. De eenheid bij de grote verscheidenheid in chemische samenstelling van de carcinogene stoffen, ligt in de aard van hun onder invloed

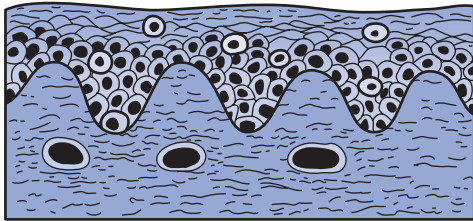
normaal



meerlagig plaveiselepitheel

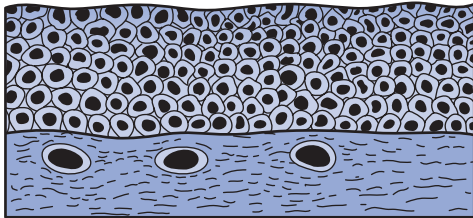
bloed- en lymfevaten

dysplasie



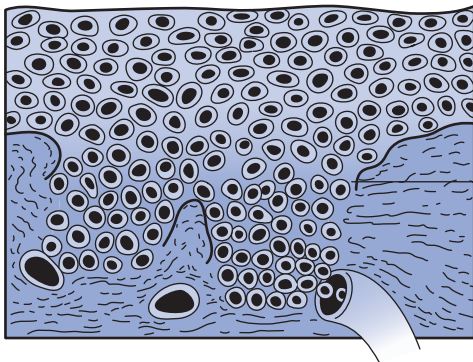
verminderde stratificatie
onrijpe cellen hoog in het epitheel

carcinoma in situ



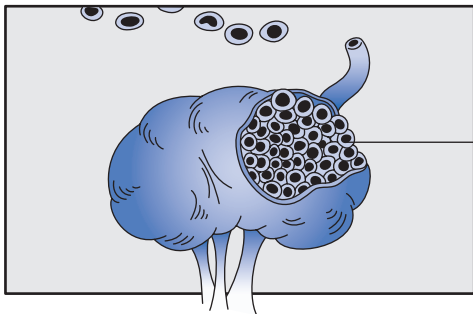
totaal verlies van stratificatie
intacte basale lamina

invasief carcinoom



doorbraak van de basale lamina
invasieve cellen kunnen in
vaten groeien

lymfekliermetastasen



via de lymfe- of bloedbaan kunnen
tumorcellen andere organen bereiken;
in die organen (solide organen, skelet,
lymfeklieren) kunnen metastasen
ontstaan

Figuur 1.9 Evolutie van een invasief carcinoom uit normaal plaveiselepitheel via dysplasie en carcinoma in situ.

van enzymen gevormde reactieve groepen. De chemische reactie van deze groepen met DNA is waarschijnlijk een belangrijke stap bij de aanvang van de carcinogenese. Deze laatste veronderstelling is in overeenstemming met de waarneming dat bijna alle chemische carcinogenen tevens mutageen zijn. Hierop berust de eerdergenoemde Ames-test voor mogelijke carcinogene eigenschappen van chemische verbindingen. De voor transformatie noodzakelijke concentratie van het carcinogeen is wisselend en afhankelijk van de stof en van het individu. Sommige carcinogenen zijn alleen werkzaam op de plaats van toediening, andere kunnen ook elders in het organisme tumoren verwekken, soms met een opvallende voorkeur voor bepaalde organen. Blaaskanker is hiervan een sprekend voorbeeld: de voor urotheel carcinogene stoffen worden in de urine geconcentreerd. De belangrijkste carcinogene stoffen kunnen op grond van hun structuur en werkzaamheid in enkele groepen worden ondergebracht (tabel 1.6).

Directe carcinogenen

Tot de groep *alkylerende agentia* behoren enkele cytostatica, onder andere cyclofosfamide. Nu bepaalde vormen van kanker kunnen worden genezen door chemotherapie, dient rekening te worden gehouden met hun oncogene werking. Een tweede maligniteit is van chemotherapie (maar ook van radiotherapie) inmiddels een bekende complicatie.

Indirecte carcinogenen

Tot de *aromatische aminen* behoren naftylamine, benzidine, acetylaminofluoreen en de azo-kleurstoffen. Deze worden door hydroxylering in de lever omgezet in carcinogene metabolieten. Naftylamine is een van de belangrijkste oorzaken van blaaskanker. Het zijn vooral arbeiders betrokken bij de productie en verwerking van anilinekleurstoffen, onder andere in de textielindustrie die hiermee in contact komen.

Tot de *polycyclische koolwaterstoffen* behoren verschillende derivaten van koolteer, zoals dimethylbenzanthracen, benzpyreen en methylcholantreen. Ze worden in de lever omgezet tot epoxiden, die een hoge affiniteit voor DNA vertonen. Deze stoffen kunnen zowel op basis van applicatie als – na absorptie – op afstand tumoren induceren. Benzpyreen speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van bronchuscarcinoom bij zware rokers.

Hoewel men dit wel vermoedt, is de betekenis van *nitrosaminen* en *nitrosamiden* voor het ontstaan van tumoren bij de mens nog niet op overtuigende wijze aangetoond. Zij zijn van grote betekenis voor de experimentele oncologie. Het zijn typische indirecte carcinogenen, die vaak een opvallende specificiteit tonen wat betreft de inductie van tumoren in bepaalde organen. Het tot deze groep behorende ethylnitrosamine kan bij zwangere ratten de placenta passeren, hetgeen het voorkomen van hersentumoren bij de jongen tot gevolg heeft.

Asbest en enkele carcinogene metalen: vooral het in verhoogde frequentie voorkomen van mesotheliomen en ook bronchuscarcinomen bij arbeiders in de asbestverwerkende industrieën heeft, ook in ons land, sterk de aandacht getrokken. Beryllium, cadmium, kobalt, nikkel en lood zijn als ion elektrofiel, waardoor zij zich waarschijnlijk aan biologisch actieve moleculen in de cel kunnen binden en mogelijk zo transformatie van de cel bewerkstelligen.

In tegenstelling tot de bovengenoemde carcinogenen zijn *natuurlijke carcinogenen* metabole producten van cellen, vooral schimmels. Ze komen zo in het ‘natuurlijke’ milieu voor. De bekendste van deze mycotoxinen is het aflatoxine, een product van *Aspergillus flavus*. Epidemiologische gegevens maken het waarschijnlijk dat deze toxinen, onder andere aanwezig in beschimmelde aardnoten, een rol spelen bij het ontstaan van levercelcarcinomen bij de mens. Inmiddels is gebleken dat aflatoxine een specifieke mutatie in het p53-tumorsuppressorgen induceert.

1.6.3 Fysische oorzaken van kanker

Het is reeds lang bekend dat ioniserende stralen kanker kunnen verwekken. Er bestaat een duidelijk verband tussen het contact met deze stralensoort in het kader van diagnostische en therapeutische handelingen in het verleden en het optreden van kanker. Bij de mens moet aan deze mogelijkheid worden gedacht onder andere bij leukemieën, schildkliercarcinomen, huidcarcinomen en mesenchymale tumoren. Het frequent en langdurig blootstaan aan natuurlijk ultraviolet licht kan mede een oorzaak zijn van huidkanker, zowel van het basale als plaatepitheeltype.

Tabel 1.6 Chemische carcinogenen

categorie	carcinogene stof	type kanker
polycyclische koolwaterstoffen	teer (sigarettenrook), benzpyreen, dibenzanthracen	huid, scrotale tumoren, kanker van de ademwegen en longen, blaaskanker
aromatische amines	benzidine, 2-naftylamine	blaaskanker
aflatoxines		hepatocellulair carcinoom
nitrosaminen		oesophagus- en maagcarcinoom
chemotherapeutica	cyclofosfamide, chloorambucil, thiotepa	leukemie
zware metalen	Ni, Chr, Ars, Cd	huidkanker (Ars)
vinylchloride		angiosarcoom van de lever
asbest		mesothelioom, longkanker

Ook melanomen kunnen op deze wijze ontstaan. De wijze waarop maligne transformatie totstandkomt, is nog steeds niet geheel duidelijk en waarschijnlijk niet steeds dezelfde. In ieder geval speelt de inductie van mutaties in het DNA een centrale rol. Ultraviolet licht leidt tot de vorming van pyrimidinedimeren (vooral van twee thymidinebasen) in het DNA en de daardoor ontstane structuurverandering kan een mutatie tot gevolg hebben. Dat is vooral duidelijk geworden uit onderzoek bij patiënten met de erfelijke aandoening xeroderma pigmentosum bij wie op de aan zonlicht blootgestelde delen van de huid reeds op jeugdige leeftijd veelvuldig carcinomen ontstaan. Onderzoek heeft uitgewezen dat bij deze aandoening het mechanisme dat de door UV geïnduceerde DNA-veranderingen herstelt (zgn. excision repair) defect is. Daardoor hopen mutaties zich op in het genoom van de cellen, hetgeen de kans op de ontwikkeling van gezwellen sterk verhoogt. Bij ioniserende straling kan een mutatie ontstaan als gevolg van een direct effect van de straling op DNA, maar ook via een reactie van DNA met zuurstofradicalen, die door radiolyse van water worden gevormd. Op chromosomaal niveau zijn deze effecten zichtbaar als breuken in de individuele chromosomen.

1.6.4 Biologische oorzaken van kanker

Van diverse micro-organismen is een rol bij het ontstaan van kanker vastgesteld of ten minste aannemelijk. Sommige parasieten zijn geassocieerd met kanker. Het bekendste voorbeeld is *Schistosoma haematobium*, die zich in de urineblaas nestelt en daar op de lange duur leidt tot plaveiselcelcarcinoom. Een momenteel sterk in de belangstelling staande bacterie is *Helicobacter pylori*, waarvan gebleken is dat deze bij maligniteiten (carcinomen, lymfomen) van de maag een rol van betekenis speelt. Het belangrijkste zijn echter de carcinogene virussen. De biologische carcinogene agentia zijn samengevat in tabel 1.7.

Rous was de eerste die (al in 1910) ontdekte dat door insputting van een celvrij extract van een kippensarcoom, het sarcoom bij een kip kon worden opgewekt. Deze bevinding leidde tot de veronderstelling dat virussen een rol spelen bij het ontstaan van kanker. Vooral tussen 1970 en 1980 is zeer uitgebreid onderzoek gedaan naar deze mogelijkheid. Bij veel van dat onderzoek speelde het Rous-sarcoomvirus (RSV) een cruciale rol. Onttrafeling van de structuur van het virale genoom leidde tot de herkenning van het ras-gen, waarmee de transformatie kon worden bewerkstelligd. Dit ras-gen is een van de eerst ontdekte oncogenen. De ontdekking van de oncogenen is dan ook het belangrijkste effect geweest van dat massale onderzoek naar virale oncogenese.

Hoewel een virusinfectie niet de meest frequente oorzaak is van kanker, zijn er bepaalde typen frequente tumoren met een virale etiologie. Dit zijn vooral het levercelcarcinoom, waarbij het hepatitis-B- of hepatitis-C-virus een rol speelt, en het carcinoom van de cervix uteri, met als belangrijke etiologische factor infectie met humaan papillomavirus. Gebleken is dat voor het optreden van gezwellen het virale genoom dient te worden geïntegreerd in het genoom van de gastheercel. Voor een DNA-virus

Tabel 1.7 Biologische verwekkers van kanker

	orgaan	type tumor
<i>parasieten</i>		
<i>Schistosoma haematobium</i>	blaas	plaveiselcelcarcinoom
<i>bacteriën</i>		
<i>Helicobacter pylori</i>	maag	carcinoom, lymfoom
<i>virussen</i>		
humaan papillomavirus (type 16, 18)	cervix uteri	plaveiselcelcarcinoom
Epstein-Barr-virus	lymfatisch systeem	Burkitt-lymfoom
	nasofarynx	plaveiselcelcarcinoom
hepatitisvirus (B, C)	lever	levercelcarcinoom
humaan T-lymfocytvirus	lymfatisch systeem	T-cellymfoom
humaan herpesvirus (type 8)	mesenchym	Kaposi-sarcoom
	lymfatisch systeem	lichaamsholtelymfoom

is dit geen probleem. Bij een RNA-virus, waartoe de meeste oncogene virussen blijken te behoren, dient het virale RNA eerst te worden geconverteerd in DNA. Daartoe bezit het virus een gen dat codeert voor een RNA-afhankelijk DNA-polymerase, ook wel *reverse transcriptase* genoemd (omdat bij transcriptie normaal RNA van DNA wordt afgelezen). Het virus brengt dit gen tot expressie in de gastheercel, deze schrijft het virale RNA om in DNA en dat kan dan in het gastheer-DNA integreren.

Het is onwaarschijnlijk dat een virale infectie alleen bij de mens gezwellen kan opwekken. Er wordt van uitgegaan dat voor het ontstaan van een gezwel ten minste twee incidenten noodzakelijk zijn. Ten aanzien van de virale oncogenen wordt deze opvatting ondersteund door het feit dat infecties met virussen geassocieerd met kanker (zoals HBV of HCV en HPV) vaak voorkomen zonder dat gezwellen optreden.

Voor de volgende gezwelsoorten is een rol van virussen bij de etiologie aannemelijk:

- De associatie tussen humaan papillomavirus en preneoplastische en neoplastische veranderingen van de cervix uteri staat momenteel sterk in de belangstelling, omdat de effectiviteit van de (sedert meer dan 50 jaar cytologische) screening wellicht via het aantonen van viraal DNA kan worden verhoogd. Bij een zeer groot deel van de patiënten met dysplasie, carcinoma in situ of invasief carcinoom van de cervix worden in de afwijkende cellen virale antigenen gevonden en met behulp van moleculair biologische technieken is ook viraal DNA in de cellen aangetoond. Een probleem hierbij is echter dat HPV ook voorkomt in onschuldige genitale wratten (condylomata) en zelfs bij een aanzienlijk deel van de vrouwen zonder enige cervicale afwijking. Er bestaat echter een groot aantal (> 70) subtypen van HPV. Hiervan komen vooral de typen 16 en 18 voor in associatie met premaligne en maligne

veranderingen en de typen 6 en 11 in associatie met goedaardige aandoeningen. Opmerkelijk is dat bij afwijkingen zonder maligne potentie (condyloma acuminatum) het HPV-genoom niet in het gastheer-DNA wordt geïntegreerd en feitelijk een normale productieve infectiecyclus doormaakt. Bij cervixcarcinoom daarentegen wordt het HPV-genoom geïntegreerd in het gastheer-DNA. Recentelijk is opgehelderd hoe expressie van virale eiwitten in cellen geïnfected met HPV 16 of 18 leidt tot chromosoominstabiliteit, mutaties in DNA en gestoorde groeiregulatie. De eiwitten E6 en E7 van het HPV kunnen zich binden aan het p53-eiwit of aan het Rb-eiwit, beide betrokken bij de regulatie van de celcyclus of van apoptose. De gevormde complexen inactiveren p53 en Rb, waardoor onder meer de celcyclus wordt ontregeld.

- Bij het ontstaan van levercelcarcinoom spelen het hepatitis-B-virus (HBV) en het hepatitis-C-virus (HCV) mogelijk een belangrijke rol. Hiervoor zijn belangrijke epidemiologische aanwijzingen. De frequentie van levercelcarcinoom is hoog in landen met een hoge besmettingsgraad met HBV of HCV. China is daarvan een goed voorbeeld: levercelcarcinoom is daar een van de meest voorkomende gezwelsorten. Ook hier geldt weer dat de virusinfectie niet de enige oorzaak kan zijn. Niet in alle gevallen van levercelcarcinoom wordt HBV of HCV gevonden en omgekeerd krijgt slechts een beperkt deel van de HBV- of HCV-geïnfecteden een levercelcarcinoom.
- Een zeldzame groep tumorgeassocieerde virussen vormen de humane T-lymfocytvirussen (HTLV). Het HTLV-I is geassocieerd met lymfomen van het T-celtype. Bekender is het humaan immunodeficiëntievirus (HIV), de veroorzaker van aids. Kenmerkend voor deze aandoening is het optreden van vaattumoren, het zogenaamde Kaposi-sarcoom. Inmiddels is duidelijk dat een herpesvirus, het humane herpesvirus type 8 (HHV-8) een rol speelt bij het ontstaan van het Kaposi-sarcoom. HHV-8 is ook gevonden in het zeldzame lymfoom van de lichaamsholten, dat bij aids-patiënten voorkomt.
- Patiënten die lijden aan de oorspronkelijk in Afrika door Burkitt beschreven lymfomen, tonen verhoogde antistofniveaus tegen antigenen van het Epstein-Barr-virus (EBV), een DNA-virus van het herpestype. Zowel EBV-DNA als nucleaire antigenen van EBV kunnen in tumorcellen worden aangetoond. In nasofarynxcarcinomen, met name van het lymfo-epitheliale type, in een kleine subgroep van maagcarcinoom en bij verschillende vormen van maligne lymfoom kan eveneens EBV worden aangetoond. Welke rol EBV bij de pathogenese van deze tumoren speelt is slechts ten dele opgehelderd. Een belangrijke rol speelt het immuunsysteem: EBV-gerelateerde vormen van kanker komen vooral bij patiënten met immuuninsufficiëntie voor.

1.7 Moleculair-genetische aspecten van carcinogenese

De laatste vijftig jaar is veel duidelijk geworden over de wijze waarop genmutaties de transformatie van een normale cel tot kankercel kunnen bewerkstelligen. Langzamerhand begint deze kennis ook invloed uit te oefenen op de diagnostiek en de medicamenteuze behandeling van kanker. Van ten minste vier groepen genen is het aannemelijk dat ze een rol spelen bij het ontstaan van kanker: oncogenen, tumorsuppressorgenen, genen die zijn betrokken bij DNA-herstelprocessen, en telomerase.

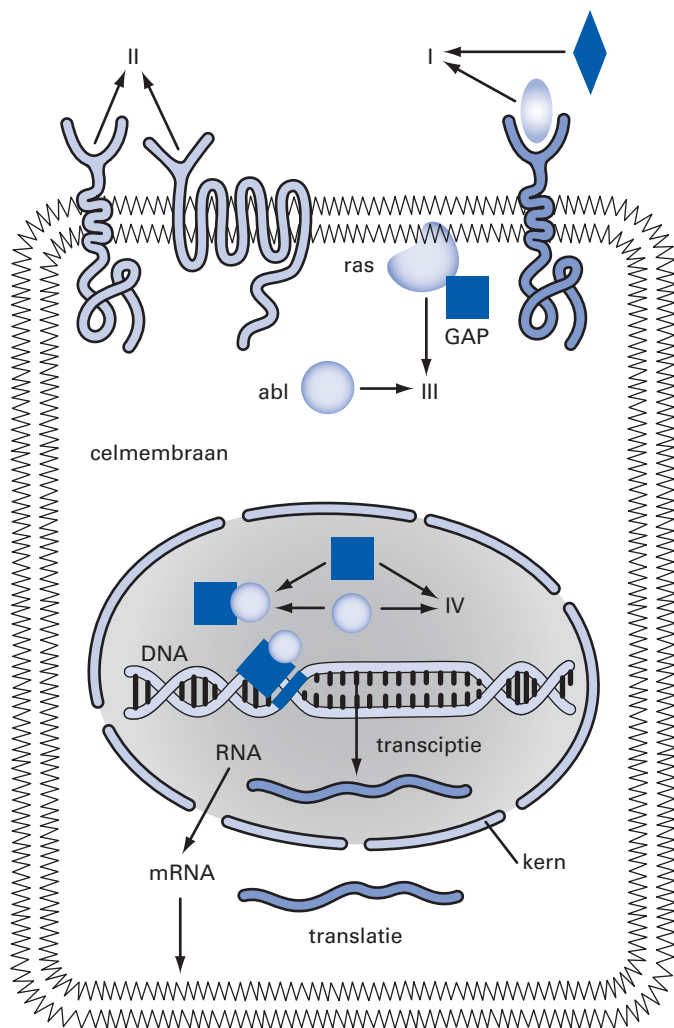
1.7.1 Oncogenen

Het verhaal van de oncogenen begint met het onderzoek naar de mogelijkheid dat virussen een rol zouden kunnen spelen bij het ontstaan van kanker. Bij dit onderzoek werd gebruikgemaakt van virussen waarvan bekend was dat ze bij bepaalde diersoorten kanker konden verwekken (zoals sarcoom bij kippen, leukemie bij katten). Ontafeling van het genoom van de betreffende virussen maakte het mogelijk die gensequenties te identificeren die voor de maligne transformatie verantwoordelijk waren. Deze genen werden oncogenen genoemd. Bishop en Varmus waren de eersten die in het midden van de jaren zeventig ontdekten dat identieke of sterk gelijkende gensequenties voorkomen in normale, niet-getransformeerde cellen. Voor deze ontdekking ontvingen zij in 1989 de Nobelprijs. Nader onderzoek wees uit dat deze genen zijn betrokken bij regulatie van celgroei en cellulaire differentiatie. De normale, aan oncogenen verwante, cellulaire genen worden proto-oncogenen genoemd. De producten van deze genen spelen een rol als groeifactor (bijv. het c-sis-gen dat homoloog is aan plaatjes-groeifactor PDGF), als receptor voor groeifactor (bijv. het c-erb-B2-gen dat homoloog is aan het gen dat codeert voor de receptor voor epidermale groeifactor EGF), als doorgever van een signaal van het celoppervlak naar de celkern (bijv. het c-H-ras gen) of als gentranscriptieregulerende factor (bijv. c-fos). Dit wordt schematisch samengevat in figuur 1.10. De bekendste oncogenen worden samengevat in tabel 1.8.

Mutaties van proto-oncogenen zijn dominant, dat wil zeggen dat de expressie van een abnormaal eiwit door één gemuteerd allel van het betreffende gen of van abnormale hoeveelheden van een normaal oncoproteïne al transformerende werking heeft. De veranderingen die cellulaire proto-oncogenen ondergaan bij activatie tot oncogen zijn steeds activerend, dat wil zeggen ze stimuleren een celfunctie die leidt tot ontregelde celgroei en -differentiatie. Voor de ontregeling van de expressie van oncogenen zijn ten minste vier mechanismen geïdentificeerd.

Genamplificatie

Het blijkt dat van bepaalde oncogenen in kankercellen in plaats van één kopie per chromosoom een sterk verhoogd aantal voorkomt. Bekende voorbeelden hiervan zijn het c-erb-B2 (ook wel neu)-oncogen dat bij een subgroep van het mamma carcinoom is geamplificeerd en het N-myc-gen dat bij neuroblastoom geam-



Figuur 1.10 Regelmechanismen in de cel, waarbij afwijkingen aan oncogenen ontregeld betrokken kunnen zijn.

I Groeifactoren (bijv. PDGF).

II Groeifactor- en hormoonreceptoren (bijv. EGFR, neu).

III Intracellulaire signaaltransductie-eiwitten (bijv. ras, abl).

IV Transcriptieregulerende eiwitten (bijv. myc, fos, jun).

plificeerd kan zijn. Van de amplificatie van het c-erb-B2 wordt therapeutisch gebruikgemaakt bij het mammacarcinoom: herceptin is een anti-c-erb-B2 (neu)-antilichaam met celdodende eigenschappen. Hoe dergelijke amplificaties totstandkomen is nog onduidelijk, maar wel is aangetoond dat dit toegenomen genetische materiaal leidt tot verhoogde aanmaak van het desbetreffende genproduct. Dit beïnvloedt het groei gedrag van de cel: zo zijn neuroblastomen met een sterk geamplificeerd N-myc-gen agressiever dan neuroblastomen zonder of met slechts geringe N-myc-amplificatie.

Chromosomale translocatie

Bij sommige vormen van kanker komen karakteristieke chromosomale veranderingen voor. Een typisch voorbeeld daarvan is het Philadelphia-chromosoom bij chronische myeloïde leukemie, waarbij in feite sprake is van een translocatie van een stukje van chromosoom 9 naar chromosoom 22. Op het stukje chro-

mosoom 9 ligt het c-abl-oncogen dat door deze locatie gefuseerd is met het bcr-gen op chromosoom 22. Het nieuwe fusie-gen leidt tot de productie van een fusie-eiwit (bcr-abl), dat veel actiever is dan het oorspronkelijke c-abl-eiwit. Het fusie-eiwit heeft tyrosinekinaseactiviteit, dat met een specifieke remmer (Glivec) kan worden geblokkeerd. Dit heeft de resultaten van de behandeling van chronische myeloïde leukemie, maar ook van andere tumoren met afwijkende tyrosinekinasereceptoren zoals gastro-intestinale stromatumoren (ook bekend als GIST), sterk verbeterd.

Puntmutatie

In een proto-oncogen kan, zoals in elk ander gen, een puntmutatie optreden. Van veel van de inmiddels geïdentificeerde puntmutaties is (nog) onduidelijk hoe ze precies ontstaan. Wel is zeker dat mutagenen invloeden uit ons leefmilieu daarvoor verantwoordelijk zijn, met als duidelijke voorbeelden ioniserende straling en chemische carcinogenen. Van deze laatste is in bepaalde gevallen vastgesteld welke mutaties zij veroorzaken. Zo is uit recent onderzoek gebleken dat benzopyrenen uit sigarettenrook bijvoorbeeld in het ras-*proto-oncogen* vooral adducten vormen met guanosine en dat deze in het DNA muteren naar adenosine (G- → A-substitutie). De bij coloncarcinomen betrokken carcinogenen veroorzaken juist G-T-substitutie. Door deze mutaties verandert de genetische code, wordt een eiwit geproduceerd met een andere aminozuurvolgorde en als dit actiever is dan het niet-gemuteerde eiwit kan de mutatie een oncogeen effect hebben.

Virale infectie

Door middel van infectie met een (oncogeen) virus kan nieuw DNA in het genoom van de cel worden geïncorporeerd. Virale genen zijn meestal vergezeld van promotor-DNA-sequenties die leiden tot actieve transcriptie van het geïncorporeerde virale DNA. Als het resulterende eiwit transformerende eigenschappen heeft, kan een gezwel zich ontwikkelen. Transformerende genen van oncogene virussen interfereren vaak met de cellulair regelsystemen van de gastheer cel. Het transformerende eiwit van SV40-virus bijvoorbeeld (het zgn. *large T-antigen*) bindt aan het cellulair p53-eiwit dat een rol speelt bij de regulatie van de celcyclus ten behoeve van DNA-herstelp processen in de celkern. Het E7-eiwit van het humaan papillomavirus bindt, zoals eerder reeds gemeld, aan het cellulair Rb-eiwit dat eveneens een regulerende functie heeft in de celcyclus.

1.7.2 Tumorsuppressorgenen

Zoals in de vorige paragraaf werd besproken, leidt abnormale expressie van een oncogen tot ontregeling van de cellulair groei en/of differentiatie en daarmee tot de transformatie tot kankercel. De laatste jaren is duidelijk geworden dat er ook genen bestaan waarvan de expressie het ontstaan van kankercellen onderdrukt. Kanker kan optreden als deze genen niet tot expressie komen of door een puntmutatie een abnormaal functioneel inactief eiwit maken. Deze genen worden tumorsuppressorgenen genoemd. Het bestaan van tumorsuppressorgenen is

Tabel 1.8 Oncogenen, activatiemechanismen en de tumoren waarbij ze een rol spelen

<i>categorie</i>	<i>proto-oncogen</i>	<i>activatiemechanisme</i>	<i>type tumor</i>
<i>groeifactor</i>			
PDGF-B	sis	overexpressie	glioom, osteosarcoom
fibroblastgroeifactor	int-1	overexpressie	mammacarcinoom
<i>groeifactorreceptor</i>			
EGF-R	erb-B1	amplificatie	glioom, vele adenocarcinomen
EGF-like-R	erb-B2 (neu)	amplificatie	mammacarcinoom, maagcarcinoom
<i>signaaltransductiefactoren</i>			
gtp-bindend eiwit	ras	puntmutaties	long-, colon-, pancreascarcinoom
tyrosinekinase	abl	translocatie	chronische myeloïde leukemie
<i>transcriptiefactoren</i>			
	myc	translocatie	Burkitt-lymfoom
	N-myc	amplificatie	neuroblastoom
			kleincellig longcarcinoom
	L-myc	amplificatie	kleincellig longcarcinoom
	fos	puntmutatie	nier-, colon-, longcarcinoom
<i>mitochondriaal eiwit</i>			
apoptoseremmer	bcl-2	translocatie	B-cellymfoom (folliculair) schildklier-, coloncarcinoom
<i>celcyclus-geassocieerd eiwit</i>			
cycline	cycline D1	amplificatie translocatie	oesophagus-, maagcarcinoom mantelcellymfoom

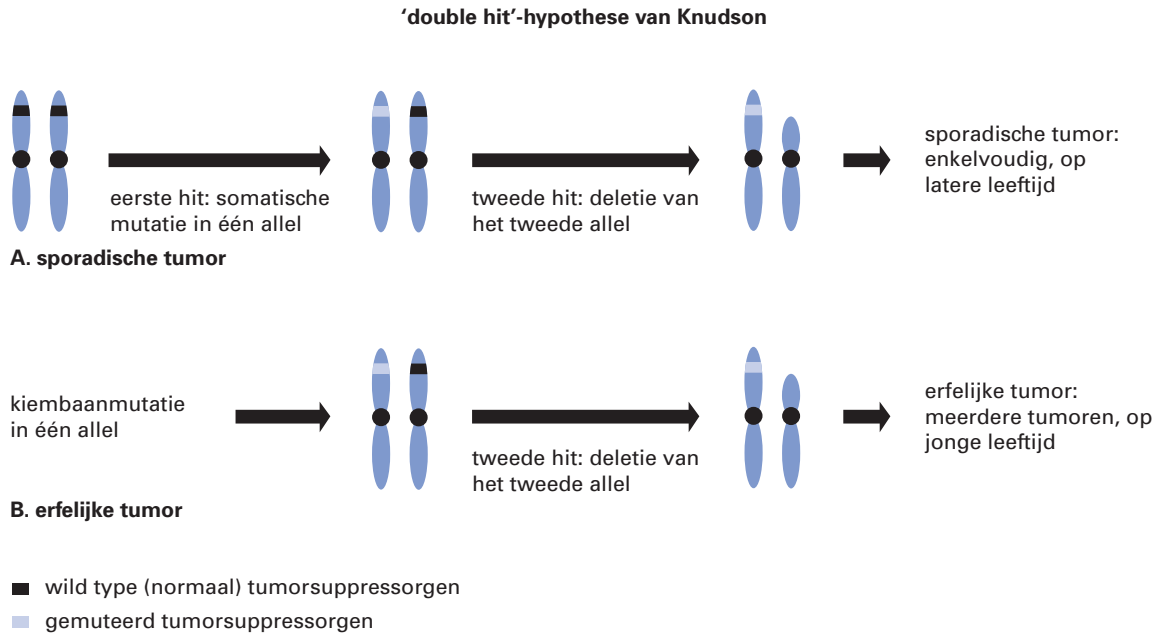
waarschijnlijk geworden door onderzoek naar erfelijke tumoren. Bekende voorbeelden hiervan zijn het retinoblastoom, familiäre polyposis coli en het familiäre mammacarcinoom. Retinoblastoom is een kwaadaardig gezwell van de pigmentcellaag van het oog, voorkomend bij kinderen. Dit tumortype komt sporadisch voor, maar is in 30% van de gevallen familiär (en is dan doorgaans dubbelzijdig). Bij de familiäre vorm bestaat een kenmerkende deletie in chromosoom 13. Deze bevinding suggereerde dat afwezigheid van een gen bij de pathogenese een rol zou kunnen spelen. Uitgebreid moleculair genetisch onderzoek heeft uitgewezen dat er inderdaad een gen bestaat dat met retinoblastoom is geassocieerd. Dit gen (Rb-1) is enkele jaren geleden geïsoleerd en blijkt te coderen voor een membraangebonden glycoproteïne dat een rol speelt in de regulatie van de celcyclus.

Ook het voor familiäre polyposis coli verantwoordelijke tumorsuppressorgen is recentelijk geïsoleerd. De tot nu toe geïdentificeerde tumorsuppressorgen worden samengevat in tabel 1.9.

Afwijkingen aan tumorsuppressorgen zijn recessief, dat wil zeggen dat pas als beide allelen afwijkend zijn of ontbreken, tumorgroei ontstaat. Voor familiär retinoblastoom betekent dat bijvoorbeeld dat niet de deletie van chromosoom 13 de tumor veroorzaakt. Deze treedt pas op als door een mutatie in het wel aanwezige allel het normale genproduct niet langer tot expressie komt. Deze werkhypothese (de zogenaamde 'double hit'-hypothese) werd door Knudson geformuleerd op grond van zijn onderzoek van retinoblastoompatiënten. Dit wordt schematisch geïllustreerd in figuur 1.11. Belangwekkend is de vinding dat

Tabel 1.9 Tumorsuppressorgen, hun functie en de tumoren waarbij ze een rol spelen

<i>categorie</i>	<i>tumorsuppressorgen</i>	<i>functie</i>	<i>type tumor</i>
celmembraaneiwit	DCC	cel-cel-communicatie	coloncarcinoom
	APC	celmembraan-celskeletinteractie, signaaltransductie	coloncarcinoom
modulator signaaltransductie transcriptiefactor	NF-1	GTP-ase-activerend eiwit	neurofibromatose type 1
	Rb-1	celcyclusbarrière (G1- → S-fase)	retinoblastoom
	p53	celcyclusbarrière, apoptose-inductie	talrijke carcinomen
	WT-1	onbekend	Wilms-tumor



Figuur 1.11 Schematische weergave van de 'double hit'-hypothese van Knudson, die postuleert dat in een cel beide allelen van een tumorsuppressorgen moeten worden geïnactiveerd alvorens een tumorcel kan ontstaan. De eerste stap is bij familiale vormen van kanker al in de kiemlijn aanwezig. Tumoren ontstaan in dergelijke families derhalve al op jonge leeftijd en zijn vaak multipel. De beide allelen moeten in een zich ontwikkelende kankercel worden uitgeschakeld door twee genetische incidenten ('hits'). Sporadische vormen van kanker doen zich daarom later voor en de tumoren zijn meestal enkelvoudig.

tumorsuppressorgen niet alleen door mutatie of door genverlies worden uitgeschakeld. Methylering van de genpromotor is in de laatste jaren geïdentificeerd als een belangrijk aanvullend mechanisme, dat epigenetisch wordt genoemd omdat het niet gaat om permanente irreversibele genafwijkingen. Van veel tumorsuppressorgen is inmiddels duidelijk dat promotor-methylering een belangrijke rol speelt bij hun inactivering. Welk mechanisme voor abnormale promotor-methylering verantwoordelijk is, is nog niet duidelijk.

De moleculair-genetische bevindingen zijn bij familiale vormen van kanker van grote betekenis, omdat de genetische afwijking kan worden vastgesteld voordat de tumor zich heeft ontwikkeld. Voor ons inzicht in de oorzaken van kanker is dit type onderzoek eveneens van doorslaggevend belang, omdat hiermee een geheel nieuw mechanisme van regulatie van celgroei is ontdekt en een geheel nieuwe categorie van cellulaire regelgenen.

1.7.3 Genen betrokken bij herstelprocessen

Er is nog een aantal aandoeningen waarbij een sterk verhoogde frequentie van bepaalde vormen van kanker voorkomt. Dit betreft onder meer de zogenaamde Fanconi-anemie, waarbij leukemie voorkomt; ataxia teleangiectasia, waarbij maligne lymfomen voorkomen; het syndroom van Bloom, waarbij leukemie voorkomt; en xeroderma pigmentosum, waarbij zich in de aan de zon blootgestelde delen van de huid in hoge frequentie plaveiselcelcarcinomen, basaliomen en melanomen ontwikkelen. Gebleken is dat de cel een complex systeem heeft om fouten in DNA, ontstaan bij de replicatie of door chemische of

fysische mutagene invloeden, ter herstellen. De mutaties geïnduceerd door (chemische of fysische) mutagene factoren worden in het proces van de zogenaamde *excision repair* hersteld. Hierbij zijn eiwitten betrokken die de mutatie herkennen, verwijderen uit DNA (vandaar 'excision') en het defect met de correcte sequentie herstellen. De ERCC-gen-familie codeert voor deze eiwitten en mutaties hierin leiden tot onder meer xeroderma pigmentosum.

Fouten die ontstaan bij de DNA-replicatie (*replication errors*) worden hersteld door het zogenaamde 'mismatch repair'-systeem. Defecten in dit systeem leiden tot instabiliteit van het microsatelliet DNA. Dit zijn niet-coderende DNA, opgebouwd uit repetitieve bi-, tri- of complexere nucleotidensequenties. Deze microsatellietinstabiliteit (MSI) komt bij een klein percentage sporadische tumoren voor maar is een essentieel kenmerk van de tumoren bij het syndroom van Lynch, ook wel hereditair niet-poliep-geassocieerd coloncarcinoom (HNPCC) genoemd. Genen waarvan mutaties verantwoordelijk zijn voor dit syndroom zijn inmiddels gekarakteriseerd (MLH-1, MSH-2, MSH-6, PMS-2). Mutaties in DNA-herstelgenen zijn niet obligaat carcinogeen. Ze leiden echter tot instabiliteit in het genoom en de begeleidende verhoogde mutatiefrequentie speelt in de tumorontwikkeling een rol. Vogelstein noemt deze genen 'caretakers', de verzorgers van de integriteit van het genoom. De genen die de delingsactiviteit van cellen regelen, en waarvan mutaties wel obligaat betrokken zijn bij de carcinogenese, noemt hij 'gatekeepers', toezichhouders op de snelheid van de celdeling.

1.7.4 Telomerase

De laatste jaren staat de vraag hoe tumorcellen een onbeperkt delingsvermogen hebben verworven sterk in de belangstelling. Normale lichaamscellen hebben een beperkt replicatief vermogen. Huidfibroblasten *in vitro*, bijvoorbeeld, verliezen dit vermogen na zo'n 60-70 verdubbelingen. Aangenomen wordt dat hierbij verlies van DNA aan de chromosomale uiteinden, de telomeren, een rol speelt. Experimenteel onderzoek heeft aangetoond dat telomeerverlies inderdaad leidt tot verlies van delend vermogen. Recentelijk is ontdekt dat sommige lichaamscellen, met name spermatogonia, hematopoëtische stamcellen en stamcellen in andere sneldelende weefsels (bijvoorbeeld darmslijmvlies) een enzymstelsel hebben dat telomeren op lengte houdt. Dit *telomerase* is een enzym dat op basis van een RNA-matrijs, die deel uitmaakt van het enzymcomplex, het verloren gegane telomere DNA aanvult. Dit telomere DNA is repetitief, dat wil zeggen het bestaat uit herhalingen van het motief TTAGGG. Telomerase is in bijna alle carcinoomcellen gevonden en in een deel van de sarcomen. De verrassende specificiteit van telomeraseactivatie voor maligne tumorcellen heeft geleid tot hoge verwachtingen ten aanzien van de mogelijkheid telomeraseactiviteit in de diagnostiek te gebruiken. Voorts zouden telomeraseremmers theoretisch vrij specifieke chemotherapeutica opleveren. Onderzoek zal moeten uitwijzen hoe waardevol telomerase als diagnostisch en therapeutisch doelwit is.

1.7.5 Grove chromosomale veranderingen

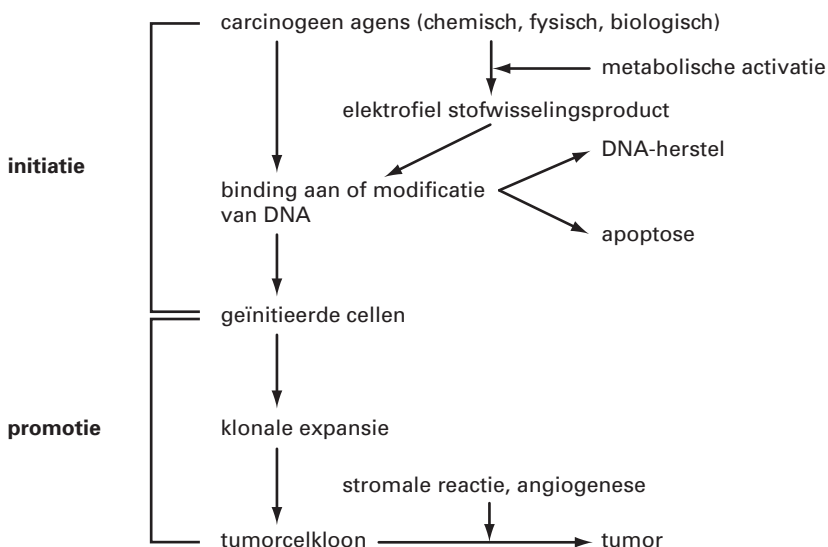
Zoals boven beschreven is het hoogst waarschijnlijk dat discrete genetische veranderingen (zoals puntmutaties of genamplificaties) een rol spelen bij het ontstaan van kanker. De meeste kankercellen zijn genetisch onstabiel, hetzij door instabiliteit van chromosomen hetzij door defect DNA-herstel. Deze zijn dus niet de oorzaak maar het gevolg van de transformatie tot

kankercel. Deze genetische instabiliteit, die kan leiden tot veranderingen in de eigenschappen van de getransformeerde cel, speelt vermoedelijk een rol bij de progressie van kanker, het proces dat uiteindelijk leidt tot een invasief groeiend en metastaserend gezwell. Het complexe proces van de carcinogenese wordt schematisch samengevat in figuur 1.12.

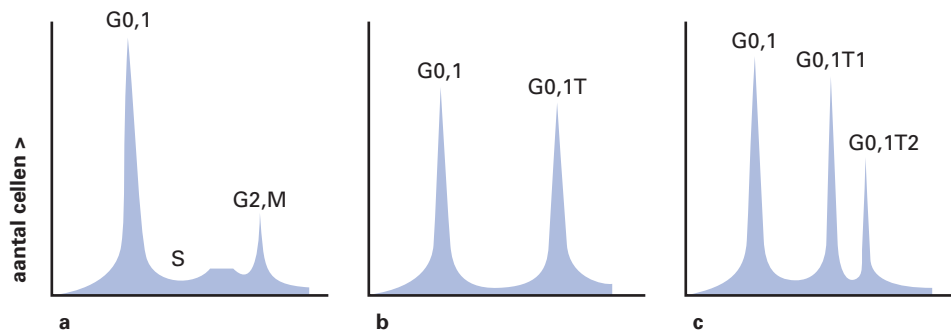
Bij chromosomaal onderzoek van kankercellen worden afwijkingen in het aantal chromosomen gevonden (monosomie bij verlies van een chromosoom of polysomie bij een teveel). Ook komen structurele veranderingen voor, zoals translocaties en deleties. Bij sommige soorten kanker komen karakteristieke veranderingen voor, zoals bij Burkitt-lymfoom (8;14-translocatie), chronische myeloïde leukemie (9;22-translocatie) en retinoblastoom (deletie chromosoom 13). Wekedelensarcomen hebben translocaties die voor sommige tumortypen bijna net zo specifiek zijn als het histologische beeld, een eigenschap waarvan bij de moleculaire kankerdiagnostiek in toenemende mate gebruik wordt gemaakt. De chromosomale veranderingen leiden veelal tot veranderingen in de hoeveelheid DNA in de celkern. Als globale maat voor de ernst van deze veranderingen kan de hoeveelheid DNA per celkern worden gemeten met behulp van statische of doorstroomcytometrie. Van deze techniek wordt in de tumordiagnostiek in toenemende mate gebruikgemaakt. Een abnormaal DNA-gehalte (aneuploidie) komt nagenoeg alleen bij kankercellen voor en voorts blijken aneuploïde kankercellen zich meestal agressiever te gedragen dan euploïde. Dit wordt geïllustreerd in figuur 1.13.

1.8 Stromareactie, angiogenese

Als in de ontspoorde cel eenmaal een zodanig aantal veranderingen in de groeiregulerende genen is opgetreden dat deze zich aan fysiologische groeiregulatie onttrekt, is er in principe sprake van een kankercel. Men gaat ervan uit dat een grote meer-



Figuur 1.12 Samenvatting van de meerstapscarcinogenese met als model expositie aan een chemisch carcinogeen.



Figuur 1.13 DNA-flowcytometrische analyse van tumorcellen.

a Een normale (delende) celpopulatie. De diploïde G₀- en G₁-fasecellen hebben een diploïde DNA-hoeveelheid. Gedurende de S-fase neemt deze gestaag toe en bij de celdeling (na de G₂- en M-fase waarin er een dubbele hoeveelheid is) ontstaan weer twee diploïde cellen.

b Als er bovendien aneuploïde tumorcellen zijn, wordt een G₁-celpopulatie gezien met een hoeveelheid DNA groter dan van de diploïde cellen (G_{1T}). De tumorcellen in de G₂/M-fase (G₂/MT) hebben een eigen piek in het histogram.

c Bij sommige tumoren bestaan verscheidene aneuploïde celpopulaties, die met verschillende DNA-hoeveelheden in het DNA-histogram vertegenwoordigd zijn (G_{1T1}, G_{1T2}).

derheid van alle goed- en kwaadaardige gezwellen ontstaat uit één cel; tumoren zijn derhalve monoklonale celpopulaties. Voor deze veronderstelling bestaat een grote hoeveelheid experimenteel bewijs. Van deze eigenschap van tumoren wordt in de immunohistochemische en moleculaire diagnostiek steeds meer gebruikgemaakt.

Eén cel is echter nog geen tumor. Klinisch manifest worden tumoren meestal pas als ze een minimumvolume van 0,5-1 cm³ hebben bereikt. Aanvankelijk vermeerderd het celklompje zich zonder duidelijke reactie van de omgeving. Bij een volume van ongeveer 1 mm³ (dit is experimenteel onderzocht) induceren de tumorcellen proliferatie van (myo)fibroblasten en endotheel-spruitjes. Dit proces is vergelijkbaar met de weefselherstelreactie bij wondgenezing en wordt gemedieerd door dezelfde groeifactoren. Met name de ontwikkeling van de vascularisatie van tumoren, de zogenaamde angiogenese, is momenteel sterk in de belangstelling. Angiogenese blijkt een delicaat gereguleerd proces waarbij groeifactoren, onder invloed van hypoxie geproduceerd door tumorcellen ('vascular endothelial growth'-factor of VEGF, fibroblastengroeifactor of bFGF en angiopoëties), maar ook remmers van vaatgroei (angiostatine en endostatine) een rol spelen. Veel onderzoek wordt momenteel gewijd aan mogelijkheden angiogenese te remmen en daarmee verdere groei van de tumor te voorkomen. Verder is gebleken dat de vaardichtheid in tumoren een belangrijke prognostische factor is.

Hoewel alle cellen in een maligne tumor uit één cel afkomstig zijn (tumorstamcel), blijken toch niet alle cellen in zo'n gezwel identiek te zijn. De cellen in één tumor kunnen verschillen vertonen in morfologie, differentiatiegraad, vermogen tot infiltratieve groei en metastaserende eigenschappen en in hun genoom. Voor een deel berusten deze verschillen op invloeden uit de omgeving van de tumorcellen: stromale componenten kunnen bijvoorbeeld differentiatie in tumorcellen induceren. Zoals gezegd worden voor een belangrijk deel deze verschillen veroorzaakt door genetische instabiliteit van maligne cellen. Door deze eigenschap ontstaan in een kankercel steeds weer nieuwe genetische veranderingen die van betekenis kunnen zijn voor het gedrag van de kankercel. Nieuwe afwijkingen die de cel een

groei voordeel zullen verschaffen, zullen leiden tot versnelde tumorgroei. Dit verschijnsel, waarbij steeds nieuwe genetische afwijkingen in een micro-evolutionair proces het ontstaan van steeds agressievere kankercellen tot gevolg hebben, wordt tumorprogressie genoemd. Tumorprogressie wordt verantwoordelijk geacht voor veel klinische verschijnselen van kanker: het resistent worden tegen hormonale en chemotherapie, het agressievere groeigedrag van metastasen ten opzichte van de primaire tumor en het agressievere groeigedrag van lokale tumorrecidieven.

1.9 Factoren die het ontstaan van kanker beïnvloeden

1.9.1 Hormonale factoren

Reeds in 1895 nam Beatson in Glasgow waar dat de verwijdering van de ovaria bij een vrouw met borstkanker regressie van het proces tot gevolg had. De rol van de hormonen bij het ontstaan en de ontwikkeling van sommige vormen van kanker is sindsdien door dierexperimenten en klinische waarnemingen overduidelijk aangetoond. Hormonen werken echter op een andere wijze dan de eerdergenoemde exogene factoren, die waarschijnlijk direct het DNA in de celkern beïnvloeden. Hormonen maken de cel gevoeliger voor de invloed van bijvoorbeeld virussen of chemische carcinogenen. Mogelijk is er ook sprake van een 'promoting effect', dat wil zeggen dat de cel reeds veranderingen heeft ondergaan die niet hebben geleid tot een autonome groei, maar dat onder invloed van het hormoon dat de gen-expressie van de doelwitcel beïnvloedt, de tumorgroei manifest wordt.

Klinische waarnemingen bij de mens maken het zeer aannemelijk dat het ontstaan en het gedrag van het mamma-, endometrium- en prostaatkarcinoom mede afhankelijk zijn van endogene of exogene hormonen. Een voorbeeld hiervan is de zeer lage frequentie van prostaatkanker bij castraten. Van de groeireguleren-

de (stimulerende, maar ook remmende) werking wordt gebruikgemaakt bij de hormonale behandeling van kanker.

Het is bekend dat sommige maligne tumoren, zoals het prostaatcarcinoom, het mamma- en mogelijk het endometriumcarcinoom, nog een duidelijke hormoongevoeligheid kunnen tonen en beïnvloedbaar zijn in hun groei door de hormonale status te wijzigen. Prostaatcarcinomen reageren vaak goed op castratie of toediening van oestrogenen. Sommige mammacarcinomen kunnen in gunstige zin worden beïnvloed door toediening van hormonen, castratie en adrenalectomie. Het tegenovergestelde effect zien we soms gedurende een zwangerschap; een bestaand mammacarcinoom kan dan sneller gaan groeien. De gevoeligheid voor deze hormonen wordt bepaald door de aanwezigheid van receptoren voor steroidhormonen.

1.9.2 Immunologische factoren

Tumorcellen zijn in het organisme zelf (autochtone gastheer) uit eigen cellen ontstaan. Men zou dus verwachten dat zij als 'eigen' worden herkend, door het ontbreken van antigene determinanten op de cellen waarvoor het organisme niet tolerant is. Dit in tegenstelling tot de situatie bij binnengedrongen micro-organismen, die wel vreemde antigenen hebben en dus als lichaamsvreemd kunnen worden herkend. Uit vroege tumortransplantatie-experimenten is echter gebleken dat tumortransplantaten frequent worden afgestoten. Deze bevinding leidde tot de conclusie dat er tumorgeassocieerde transplantatie-antigenen (TATA) moeten zijn. Inderdaad is het bestaan van TATA in experimentele modellen bevestigd. In het bijzonder kon worden aangetoond dat sommige chemisch geïnduceerde carcinomen in syngene (genetisch homogene) muizenstammen wel degelijk een immuunreactie oproepen.

Bij experimenteel opgewekte tumoren is het ontstaan van deze antigenen afhankelijk van het agens dat de tumorgroei heeft geïnduceerd. Cellen uit door virussen geïnduceerde tumoren zijn in het bezit van oppervlakteantigenen die zijn gecodeerd door het virale genoom. Vaccins gemaakt van dergelijke tumorcellen zijn in sommige gevallen in staat andere dieren te beschermen tegen de oncogene activiteit van dat virus. Dat is anders bij tumoren, geïnduceerd door chemische of fysische carcinogenen. Tumorcellen die zijn ontstaan na een dergelijke carcinogene prikkel, hebben niet steeds dezelfde specifieke antigenen op het celoppervlak. Indien specifieke antigenen ontstaan, wisselen deze sterk binnen de populatie van de tumorcellen. De antigeniciteit van tumoren, die door chemische of fysische carcinogenese in een dier zijn opgewekt, kan van tumor tot tumor sterk wisselen. Voor het ontstaan van dergelijke antigenen op tumorcellen zijn verschillende verklaringen aangevoerd. Denkbaar is dat door het carcinogene agens genetische informatie tot expressie komt die normaal niet tot expressie komt. Een andere mogelijkheid is dat door veranderde synthese van de koolhydraatcomponent van celoppervlakgebonden glycoproteïnen afwijkende antigene structuren ontstaan. Ten slotte is het denkbaar dat antigenen die normaal binnen de cel blijven, door defecte celfunctie of celnecrose op het celoppervlak terechtkomen.

Voor het bestaan van TATA in menselijke tumoren zijn slechts indirecte aanwijzingen gevonden. Bij het Burkitt-lymfoom bijvoorbeeld, dat geassocieerd is met het Epstein-Barr-virus, komen afwijkende oppervlakteantigenen voor. Een treffend voorbeeld is verder het choriocarcinoom bij de vrouw, dat uit de placenta ontstaat en derhalve lichaamsvreemde HLA-antigenen bezit. Mogelijk is het optreden van een immuunreactie tegen de tumorcellen een bijkomende reden waarom chemotherapie van choriocarcinoom bij de vrouw zo succesvol is gebleken.

Bij een immuunreactie tegen tumorcellen spelen lymfocyten een doorslaggevende rol. Een belangrijk bewijs hiervoor is dat in het diermodel lymfocyten van een tumordragend dier immuniteit tegen de tumor overdragen naar een gezonde gastheer. Vooral T-lymfocyten zijn belangrijk. T-helpercellen herkennen het tumorantigeen en produceren cytokinen (zoals interleukine-2) die de cytotoxische T-cellen aanzetten tot interactie met de tumorcel, leidend tot celdood. Van de inductie van cytotoxische eigenschappen door cytokinen wordt gebruikgemaakt bij sommige vormen van immunotherapie. Daarbij worden de patiënt eigen, in vitro door cytokinen geactiveerde killer-cellen (lymfokine activated killer of LAK-cellen) toegediend. Een andere categorie lymfocyten, de zogenoemde 'natural killer' (NK)-cellen, speelt eveneens een belangrijke rol. De celdodende eigenschappen van NK-cellen worden niet geïnduceerd door een specifieke immunologische reactie. Waaronder tumorcellen gevoeliger zijn voor NK-celactiviteit dan normale cellen is nog gedeels onbekend. Ook antilichaamafhankelijke 'killer'-cellen hebben een belangrijke rol. Dit zijn killerlymfocyten (misschien ook monocyten) die een receptor hebben voor het Fc-deel van IgG en cellen herkennen die aan hun oppervlakteantigenen IgG dragen.

Specifieke immunotherapie heeft lange tijd veel belangstelling gehad, zoals blijkt uit onderzoek naar de effectiviteit van behandeling met LAK- en TIL-cellen. Echte doorbraken zijn nog niet bereikt. Een andere vorm van specifieke immunotherapie is immunisatie van een patiënt met een preparaat gemaakt uit eigen tumorcellen. Momenteel wordt actieve immunisatie met peptiden die voorkomen op de tumorcellen van de patiënt of met DNA, coderend voor dergelijke peptiden onderzocht. Ook kunnen dendritische cellen uit lymfatisch weefsel van de patiënt worden geïsoleerd, blootgesteld aan antigene peptiden en aldus specifiek geactiveerd aan de patiënt worden teruggegeven. Dergelijke vormen van manipulatie van het immuunsysteem zijn echter nog experimenteel.

Niet-specifieke immunotherapie is eveneens uitvoerig onderzocht. Het meest toegepast is immunisatie met BCG of *Corynebacterium parvum*, die een niet-specifieke immuunreactie induceert waarmee ook de specifieke reactie tegen de tumorcellen zou kunnen worden gestimuleerd. Voor sommige vormen van kanker is daarmee enig resultaat verkregen. In opkomst is passieve immunotherapie met monoklonale antistoffen, gericht tegen tumorcellen. Deze benadering heeft, zoals eerder reeds gemeld, enig succes bij mammacarcinoom, waarbij antistoffen tegen het her-2-neu-oncogen (herceptine) worden toegepast.

Het moge duidelijk zijn dat de beperkte kwantitatieve verschillen, meer dan kwalitatieve antigenen verschillen tussen normale cellen en tumorcellen, effectieve immunotherapie niet gemak-

kelijker maken. De verschillen zijn er echter en verwacht mag worden dat immunotherapie een plaats zal verwerven in het toekomstige therapeutische arsenaal.

1.10 Conclusies

Het kankeronderzoek heeft in het laatste decennium grote vorderingen gemaakt, vooral door de toepassing van de moderne moleculair-biologische technieken. Moleculair-genetisch onderzoek leidde tot de ontdekking van de kankergeassocieerde genen. Het concept dat kanker een aandoening is van het genoom of van ontregelde genexpressie, met name van de genen die celgroei, apoptose en celdifferentiatie regelen, heeft algemeen ingang gevonden. De vraag rijst wat al deze kennis betekent in klinisch perspectief. Afgezien van de mogelijkheid met behulp van moleculair-genetische technieken familiale vormen van kanker op te sporen lijkt het verdiepte inzicht in de ontstaanswijze van kanker slechts geringe invloed te hebben op de diagnostiek en de behandeling van de meest frequente vormen van kanker. Het is belangrijk hier op te merken dat veel van het fundamentele kankeronderzoek zich heeft gericht op de rol van één of hoogstens enkele genen bij het ontstaan van één bepaalde vorm van kanker. Deze reductionistische benadering heeft zijn beperkingen. Het zou voor de hand liggen bij een aandoening die veroorzaakt wordt door een samenspel van een veelheid van factoren een wat globalere analyse te doen van afwijkingen in genexpressie. De beperkingen van de beschikbare analysetechnieken zijn er verantwoordelijk voor dat dit tot voor kort zo weinig gebeurde. Terugblikkend is het niet moeilijk te begrijpen waarom de studie van één enkel of hooguit enkele genen in een bepaald type kanker geen afdoende antwoorden opleverde op de belangrijkste vragen. Het is de combinatie van verschillende genafwijkingen en afwijkende expressie van cruciale genen die bepalend is voor het type tumor dat zich ontwikkelt en het te verwachten gedrag van de tumor.

Twee ontwikkelingen zijn in dit perspectief essentieel. In de eerste plaats betreft dat het 'pathway' concept. Het zijn niet de individuele ontregelde genen maar het is de combinatie van veranderingen in een tumor die bepalend is voor het tumorgedrag. Individuele genveranderingen treffen steeds voor de regulatie van celgroei en -differentiatie essentiële signaaltransductiemechanismen (pathways). Voorbeelden hiervan zijn de Wnt-pathway, essentieel in de colorectale carcinogenese en met als belangrijke vertegenwoordigers APC, β -catenine, Lef/Tcf, de Rb-pathway met p16, CDK enzovoort die bijvoorbeeld een rol spelen bij het ontstaan van melanoom en de TGF- β -pathway met de Smad-genen die bij colon- en pancreascarcinoom een rol spelen.

In de tweede plaats is er de ontwikkeling van de microarray-technieken voor de grootschalige analyse van eventuele mutaties of de expressie van duizenden genen in slechts enkele experimenten. Hiermee is een beter beeld verkregen van het geheel van afwijkingen op moleculair niveau in kankercellen. Dergelijke technieken zullen het op redelijk korte termijn mogelijk maken een betrouwbaarder voorspelling te doen ten aanzien van het tumorgedrag en de reactie op bepaalde vormen van therapie.

Het heeft lang geduurd voordat het fundamenteel kankeronderzoek invloed begon te krijgen op de dagelijkse diagnostiek en behandeling van kanker. Daarin komt snel verandering.

1.11 Samenvatting

Kanker is niet één ziekte, maar een uiterst heterogene groep aandoeningen die als gemeenschappelijk kenmerk hebben dat de regulatie van de celgroei en/of celdood is gestoord, waardoor een pathologische vermeerdering van cellen optreedt. In combinatie met de stromale reactie, die de groeiende tumorcellen oproepen in het weefsel waarin ze ontstaan, leidt dit tot de tumor. Van kwaadaardige tumoren, in het dagelijkse spraakgebruik met de term 'kanker' aangeduid, is het belangrijkste kenmerk dat ze uitzaaiingen (metastasen) kunnen veroorzaken. Kanker ontstaat door afwijkingen in de genen die celgroei en celdood regelen.

Een correcte classificatie van tumoren is belangrijk voor adequate therapie. De klassieke morfologische diagnostiek is in de laatste decennia verrijkt met geavanceerde diagnostische hulpmiddelen, zoals immunohistochemie en cytometrie, waarmee tumormerkmstoffen en afwijkingen in het genoom van de cel kunnen worden aangetoond. In de laatste jaren neemt het gebruik van moleculair biologische diagnostiek van kanker sterk toe. Deze aanpak is gebaseerd op een sterk verbeterd inzicht in de moleculair genetische processen die aan het ontstaan van kanker ten grondslag liggen. Deze technieken maken het bijvoorbeeld mogelijk de reactie van individuele tumoren op bepaalde behandelingsvormen te voorspellen.

Kernpunten

- Tumoren bestaan niet alleen uit kankercellen maar ook uit tumorstroma, waarin tumorvaten worden gevormd door angiogenese.
- Tumoren ontstaan niet alleen door overmatige productie van cellen (verhoogde celproliferatie), maar ook door onvoldoende celversterf (verminderde apoptose). Verstoring van de functie van celcyclusregulatoren speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van kanker.
- Metastasering is het belangrijkste kenmerk van kwaadaardige gezwelligroei, omdat de metastasen in hoge mate de prognose bepalen.
- De plaats van het ontstaan van tumormetastasen wordt bepaald door de bloedstroom (tumorcellen nestelen zich vooral in het eerstvolgende capillaire vaatbed), specifieke binding tussen tumorcellen en endotheelcellen, en groeifactoren uit het ontvangende weefsel.
- De schildwachtklie is de eerste lymfeklie die door een in een lymfebaan migrerende kankercel wordt bereikt.
- Kanker ontstaat door een combinatie van afwijkingen in het genoom van de cel.

- Carcinogenese is een complex proces dat verschillend verloopt voor verschillende tumoren; daarbij kunnen zowel chemische als fysische en biologische carcinogene noxen zijn betrokken.
- Vier groepen van genen spelen een rol bij het ontstaan van kanker: oncogenen, tumorsuppressorgenen, DNA-herstelgenen en telomerase.
- Tumorprogressie, het steeds agressiever worden van tumorcellen, is een micro-evolutionair proces waarin genetische instabiliteit van tumorcellen een centrale rol speelt.

Literatuur

- Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001; 411: 355.
- Cao Y. Antiangiogenic cancer therapy. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 139.
- Cohen SM. Cell proliferation and carcinogenesis. *Drug Metab Rev* 1998; 30: 339-57.
- Fearon ER. Human cancer syndromes: Clues to the origin and nature of cancer. *Science* 1997; 278: 1043.
- Helman LJ, Meltzer PS. Mechanisms of sarcoma development. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 685.
- Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001; 411: 366.
- Kim R, Emi M, Tanabe K, et al. The role of Fas ligand and transforming growth factor beta in tumor progression: molecular mechanisms of immune privilege via Fas-mediated apoptosis and potential targets for cancer therapy. *Cancer* 2004; 100: 2281-91.
- Kirkin V, Joos S, Zornig M. The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1644: 229.
- Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1999; 396: 643.
- Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88: 323.
- Melief CJ, Toes RE, Medema JP, et al. Strategies for immunotherapy of cancer. *Adv Immunol* 2000; 75: 235.
- Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 2004; 303: 1483.
- Oving IM, Clevers HC. Molecular causes of colon cancer. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 448.
- Pamies RJ, Crawford DR. Tumor markers: an update. *Med Clin North Am* 1996; 80: 185.
- Perera FP. Environment and cancer: who are susceptible? *Science* 1997; 278: 1068.
- Rauth AM. Radiation carcinogenesis. In: Tannock IF, Hill RP (eds). *The basic science of oncology* (2nd ed.). New York: McGraw-Hill, 1992: 119.
- Rusciano D, Burger M. Why do cancer cells metastasize into particular organs. *Bioessays* 1992; 14: 185.
- Sheer D, Squire J. Clinical application of genetic rearrangements in cancer. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 25.
- Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002; 2: 103.
- Tennant R, et al. Chemical carcinogenesis. In: Franks LM, Teich NM (eds). *An introduction to the cellular and molecular biology of cancer* (3rd ed.). Oxford: Oxford University Press, 1997: 106.
- Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 2004; 10: 789-99.
- Yamasaki L. Role of the RB tumor suppressor in cancer. *Cancer Treat Res* 2003; 115: 209.
- Young LS, Murray PG. Epstein-Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene* 2003; 22: 5108.
- Zink D, Fische AH, Nickerson JA. Nuclear structure in cancer cells. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 677.