



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Virusorsakad uppkomst av juvertumörer/bröstcancer

Lotta Siverhall



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Virusorsakad uppkomst av juvertumörer/bröstcancer

Virus as a cause in the origin of mammary tumors/breast cancer

Lotta Siverhall

Handledare:

Eva Hellmén, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Eva Tydén, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2013

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2013: 26
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: virus, MMTV, infektion, juvertumör, bröstcancer, uppkomst, orsak

Key words: virus, MMTV, infection, mammary tumor, breast cancer, origin, causal factor

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING.....	1
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER	3
LITTERATURÖVERSIKT	3
Murine mammary tumor virus	3
<i>Infektion</i>	3
<i>Skyddsmekanism?</i>	4
<i>Hormonell påverkan</i>	4
Tumörutveckling	5
<i>Onkogener av betydelse</i>	5
Bröstcancer hos människa.....	5
<i>Humant juvertumörvirus</i>	6
Hund och katt	7
Behandling	8
<i>Immunisering</i>	8
<i>Vitamin A-analoger</i>	8
DISKUSSION	8
LITTERATURFÖRTECKNING.....	13

SAMMANFATTNING

Bröstcancer/juvertumörer hör till de vanligast förekommande tumörsjukdomarna hos människa, hund och katt, men vad som orsakar uppkomsten av sjukdomen är till största delen okänt. Hos möss har man funnit ett virus – MMTV – som orsakande faktor. MMTV, *Murine Mammary Tumor Virus*, är ett retrovirus som kan verka som ett endogent virus eller som exogent agens med möjlighet att nedärvas till avkomman, bland annat via modersmjölk. Infektion sker via aktivering av B-celler, T-celler och andra lymfocyter som tar sig till juervävnaden och infekterar denna. Viruset inkorporeras i värdens genom och aktiverar onkogener vilket i sin tur leder till tumörutveckling.

Mina frågeställningar för denna litteraturstudie har varit hur MMTV verkar, och huruvida detta eller något annat virus kan spela en roll i uppkomsten av bröstcancer hos människa och juvertumörer hos hund och katt. Jag har också undersökt vilka behandlingsalternativ som finns för sjukdomen.

Ett antal studier har identifierat gensekvenser upp till 99% homologa med gensekvenser hos MMTV. Vidare finns studier vars resultat indikerat att påvisande av dessa gensekvenser i bröstcancerprover från människa korrelerar med förekomsten av husmus i det undersökta området, vilket antyder att viruset kan överföras från mus till människa. Även hos hund och katt har man identifierat MMTV-liknande gensekvenser både i juvertumörprover och i normal juervävnad, och man föreslår möjligheten för smittspridning till människa via våra husdjur. Frågan om en human variant av MMTV är kontroversiell och det finns studier vars resultat talar emot förekomsten av MMTV eller ett MMTV-liknande virus hos andra djurslag än möss. Dessa studier har inte kunnat detektera några gensekvenser som liknar MMTV i bröstcancerprover från människa. Man har inte heller funnit några specifika antikroppar mot viruset, vilket borde ha funnits om infektion hade skett.

Tydligt är att bröstcancer/juvertumörer är en heterogen cancerform, både morfologiskt och etiologiskt, varför en rad olika faktorer kan spela in i sjukdomsförloppet. Det faktum att sjukdomen är multifaktoriell komplicerar frågan om behandling, då metoden måste anpassas till tumörtyp. Antiöstrogener används i stor utsträckning på hormonberoende tumörer, medan östrogenbehandling har visat sig hämma utvecklingen av hormonberoende tumörer. Immunisering och vitamin A-analoger är exempel på behandlingsmetoder som kan verka tumörhämmande i ett tidigt skede av sjukdomsförloppet. Det är av stort intresse att utreda frågan om sjukdomens etiologi vidare, för möjligheten att ta fram nya diagnostiska verktyg samt nya och förbättrade behandlingsalternativ, vilka i slutänden förhoppningsvis kommer kunna gagna människor såväl som andra djurslag.

SUMMARY

Breast cancer/mammary tumors are one of the most frequently appearing cancers in humans, dogs and cats, but the cause to the origin of the disease is largely unknown. In mice a virus – MMTV – has been identified as a causal factor. MMTV, *Murine Mammary Tumor Virus* is a retrovirus that can act as an endogenous virus or an exogenous pathogen, able to infect offspring through milk. Infection is propagated through B-cells, T-cells and other lymphocytes that infect mammary tissue. The virus is incorporated into the host genome where it activates oncogenes, leading to tumorigenesis.

The questions I had before this literature study was how MMTV acts and if this or any other virus might play a role in the origin of breast cancer in humans and mammary tumors in dogs and cats. I have also looked over the treatment options for this disease.

A number of studies have identified gene sequences up to 99% homologous to gene sequences in MMTV. Further research has shown that detection of these gene sequences in breast cancer specimens from humans correlates with the occurrence of house mouse in the investigated area. This implies that the virus can be transferred from mouse to human. MMTV-like gene sequences have also been identified in mammary tumor specimens and in normal mammary tissue in dogs and cats, which suggests the possibility of transfer of the pathogen between humans and our pets. The question about a human form of MMTV is controversial, and there are studies that argue against the existence of MMTV or an MMTV-like virus in other species than mice. These studies have not been able to identify any gene sequences similar to MMTV-genes, and there has been no detection of specific antibodies against the virus in specimens from breast cancer patients, which would have been there if infection had occurred.

Clearly, breast cancer/mammary tumor is a heterogenous disease, both morphologically and etiologically, and a number of factors might play a role in the pathogenesis. The fact that the disease is multifactorial complicates the question about treatment, which will have to be adapted to the tumor type. Antiestrogen therapy is widely used on hormone dependent tumors, while estrogen therapy inhibits tumor growth in hormone independent tumors. Immunization and vitamin A-analogues are examples of treatments that might have a tumor inhibiting effect in an early stage of pathogenesis. It is important to further investigate the etiology, to find new diagnostic tools and new and improved methods of treatment, which hopefully will benefit humans as well as other species.

INLEDNING

Hos människa såväl som hos hund och katt är bröstcancer/juvertumörer en av de vanligaste tumörsjukdomarna. Defekter i vissa gener kan öka risken för tumörutveckling, och dessa defekter kan även nedärvas till avkomman. Ärftlighet förklarar dock endast cirka 5% av sjukdomsfallen hos människa, hund och katt, vad som orsakar uppkomsten av resterande 95% är fortfarande okänt (Labat, 1998). Hos möss är ett virus identifierat som orsak till de flesta fall av juvertumörer – *Murine Mammary Tumor Virus* (MMTV) (Wang et al., 1995), ett retrovirus som både finns endogent hos mössen och som kan överföras mellan individer som ett exogent agens, bland annat via modersmjölk (Labat, 1998; Callahan & Smith, 2000). Syftet med denna litteraturstudie är att ta reda på mer information om detta virus, samt undersöka om det, eller något liknande virus, skulle kunna förklara den höga prevalensen av bröstcancer/juvertumörer hos människor, hundar och katter.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning har gjorts i SLU-bibliotekets söktjänst Primo och i databaserna PubMed samt Web of Knowledge. Sökorden MMTV, "Murine Mammary Tumor Virus", infection, origin, human, canine, feline, HMTV och "risk factors" har använts i olika kombinationer. Vissa källor har jag hittat via referenslistor i andra vetenskapliga artiklar eller översiktsartiklar. Jag har även använt mig av Google, samt fått länk till en artikel av min handledare.

LITTERATURÖVERSIKT

Murine mammary tumor virus

Musens juvertumörvirus (*Murine Mammary Tumor Virus* – MMTV) upptäcktes 1936 av J.J. Bittner, som i modersmjölk från möss fann ett infektiöst agens som orsakade juvertumörer (Callahan & Smith, 2000). Majoriteten av alla juvertumörer hos möss orsakas av detta virus (Wang et al., 1995). MMTV är ett (beta)retrovirus (Ford et al., 2003), som finns både i en exogen och en endogen form. Det kan alltså verka både som ett infektiöst ämne och som en gensekvens med möjlighet att föras vidare till avkomman (Golovkina et al., 1993; Park et al., 2010; Labat, 1998). Retrovirusens genom med enkelsträngat RNA omvandlas till dubbelsträngat DNA med hjälp av enzymet omvänt transkriptas varpå det provirala DNA:t inkorporeras i värdens genom. Detta leder till en permanent förändring i genomet, och vid infektion av könsceller förs proviruset vidare till avkomman. Inkorporationen av proviralt DNA orsakar en mutation som kan aktivera protoonkogener (Labat, 1998; Mok et al., 2008).

Infektion

Vid exogen infektion överförs MMTV från mor till ungar via mjölken, eller från en annan exogen källa (Callahan & Smith, 2000). Viruset tar sig igenom epitelceller i juvervävnaden och utsöndras sedan i mjölken vid laktation (Johal et al., 2011). Viruset passerar tarmepitelet via M-celler och infekterar sedan B-celler i Peyerska plack (Indik et al., 2005). MMTV kräver ett lågt pH (pH 5) och transferrinreceptor 1 (TfR1) för att ta sig in i celler och viruset kan binda till både musens TfR1 och till den humana varianten (Wang et al., 2008). TfR1 har

dock inte kunnat detekteras på ytan av vilande B-celler, vilka är virusets primära målceller, och Indik et al. (2005) föreslår att viruset kan använda även andra receptorer för att ta sig in i celler. Aktiveringen av B-cellerna sker via toll-like receptor 4 (TLR4), en komponent i det medfödda immunsystemet, då virusets höljeprotein (*env*) binder till TLR4. (Rassa et al., 2001). Den virusinducerade aktiveringen av B-cellerna leder till uttryck av ett protein som kallas superantigen (Sag), som då presenteras med hjälp av MHC II (Major Histocompatibility Complex class II) på ytan av B-cellerna. De Sag-presenterande B-cellerna aktiverar vidare fler B-celler samt T-celler, varpå spridning av viruset till andra typer av lymfocyter sker (Callahan & Smith, 2000; Rassa et al., 2001). Så småningom överförs viruset från de infekterade cellerna till juvarepitelceller (Indik et al., 2005). MMTV kan även infektera andra typer av epitel men det är, med få undantag, bara juvarepitelet som tumöromvandlas. En anledning till detta antas vara juvarepitelets förmåga att regenerera. Detta epitel ökar ungefär 30 gånger i storlek varje graviditet, och krymper lika mycket vid slutet av laktationen. Studier har visat på förekomst av multipotenta juverstamceller som infekteras av MMTV. Eftersom stamceller normalt krävs för uppbyggnad av ny vävnad, kommer dessa infekterade stamceller att persistera i området och den normala förnyelseprocessen kan istället bli en tumörbildande process (Callahan & Smith, 2000).

Skyddsmekanism?

MMTV kan, som beskrivits tidigare, inkorporera sitt genom i värdens DNA (Labat, 1998). Detta har visat sig fungera som ett skydd mot exogen virusinfektion. Försök har gjorts med transgena möss som fått superantigen-proteinet från exogent MMTV inkorporerat i sitt genom. Mössen modifierade sitt immunsystem och visade ingen produktion av virus i juvervävnaden efter infektion med mjölkburet exogent virus. De utvecklade dock juvertumörer efter integrationen med de nya kopiorna av exogent virus, men efter 4 generationer var detta virus eliminerat från den transgena musstammen. (Golovkina et al., 1993).

Hormonell påverkan

Östrogener anses vara carcinogena hos möss med MMTV. Man har även påvisat att MMTV-promotorn har enheter med hormonreglerande effekt (Labat, 1998). Kliniska studier visar att patienter med tumörer som uttrycker östrogenreceptorer (ER-positiva) har bättre prognos än de med tumörer som saknar uttryck av dessa receptorer, då de ER-positiva tumörerna svarar på antiöstrogenbehandling (exempelvis tamoxifen). ER-negativa tumörer svarar däremot inte på denna typ av behandling. Antiöstrogenbehandling har visat sig vara överksam när tumörerna redan börjat växa, men i tidiga stadier av sjukdomsförloppet kan tamoxifen vara effektivt och inhibera tumörutvecklingen (Fuchs-Young et al., 2010).

En annan studie har visat att hos en stam transgena möss med MMTV-inducerade hormonoberoende (ER-negativa) tumörer bidrar östrogen till fördröjning av tumörtillväxten genom att blockera utsöndring av virus till extracellulärt matrix, vilket är ett steg i MMTVs mognadsprocess (Soler & Aoki, 1988).

Tumörutveckling

Virus kan aktivera cellulära proto-onkogener via en rad olika mekanismer: Genom somatisk mutation, det vill säga en förändring i DNA-sekvensen, genom amplifikation då det bildas ett flertal kopior av en gen som sedan uttrycks i högre grad, eller genom att verka som en promotor och aktivera näraliggande gener. Tumörer i juvervävnad bildas sannolikt genom klonal utväxt av de celler som fått proviralt DNA inkorporerat (Labat, 1998). Östrogenreceptoraktivitet stimulerar proliferation i juvervävnaden och kan därmed fungera som en promotor för juvertumöraktivitet. Receptorerna har även visats uppreglera uttryck av tumörsuppressorgen p53, som bland annat hindrar proliferation och inducerar apoptos, och man tror att denna feedback-loop är en del i kontrollen av juvervävnadens tillväxt (Fuchs-Young et al., 2010).

Onkogener av betydelse

Studier har visat att främst 4 onkogenfamiljer påverkas av virusets integration i möss: *Wnt* (en signalväg som styr bland annat proliferation och celldifferentiering), *FGF* (fibroblast tillväxtfaktor), *Notch*-genen (en signalväg inblandad i en rad genreglerande processer, bland annat neuronal utveckling) samt *eIF-3p48* (gen som kodar för en komponent hos eIF - ”eukaryotic translation initiation factor-3”, vilken är involverad i translationsprocessen hos eukaryoter, när mRNA translateras till protein). Aktivering, mutation och/eller rearrangering av någon av dessa gener har visats medverka till tumörutveckling hos möss. (Mok et al., 2008).

Bröstcancer hos människa

Bröstcancer är den tumörsjukdom som orsakar flest dödsfall hos kvinnor i världen (Mok et al., 2008). Den ärftliga formen svarar för cirka 5% av alla bröstcancerfall. De resterande fallen benämns som sporadisk bröstcancer, och studier har visat att denna form ger sämre prognos än den ärftliga formen (Labat, 1998). Trots omfattande forskning har ännu ingen etiologisk faktor identifierats (Mok et al., 2008) som kan förklara den höga prevalensen av sporadisk bröstcancer, men man vet att även hos människor påverkas sjukdomsförloppet av hormoner såsom östrogen (Fuchs-Young et al., 2010). Labat (1998) menar att retrovirus är goda kandidater till att spela en roll i uppkomsten av sjukdomar som kan vara antingen ärftliga eller sporadiska, såsom bröstcancer. Endogena retrovirus finns i genomet hos alla däggdjur och hos människa har en rad sådana identifierats (Human Endogenous Retroviruses - HERVs). De flesta av dessa virus är inaktiva då de samutvecklats med värden över miljontals år under vilken tid ett flertal försvarsmekanismer har utvecklats. Överföring av retrovirus från ett djurslag till ett annat är dock med stor sannolikhet patogen, då inget försvar mot det nya viruset hunnit utvecklas (Martinez Barrio et al., 2011). Att endogena retrovirus kan finnas med i den etiologiska bilden hos bröstcancer bekräftas av Frank et al. (2008), vilka har funnit ökad transkription av ett flertal HERVs i bröstcancerprover. Studier har gjorts för att undersöka om musens juvertumörvirus (MMTV) skulle kunna infektera människor, eller om det finns en human motsvarighet till detta virus (Indik et al., 2005). Vissa av de onkogener man funnit orsaka MMTV-inducerade juvertumörer hos möss har även identifierats i human bröstcancer (Labat, 1998). Indik et al. (2005) har i sin studie lyckats infektera en rad olika

humanceller, bland annat bröstcancerceller, med MMTV. De har efter sekvensering av PCR-produkter från de integrerade provirusen även sett att omvänd transkription har skett och att det virala genomet har integrerats i de infekterade cellerna. Studien påpekar därför att MMTV skulle kunna spela en roll i bröstcancers etiologi.

Humant juvertumörvirus

MMTV-lik gensekvenser

En studie har analyserat 314 humana bröstcancerprover och funnit unika MMTV *env*-gensekvenser i 38,5% av dessa. De har även analyserat 151 arkiverade prover och i 39,7% av dessa fann man ovan nämnda gensekvenser. I normal vävnad, i lymfocyter från bröstcancerpatienter samt i prover från andra cancerformer fann man inte dessa sekvenser, vilket enligt studien utesluter att det skulle röra sig om polymorfism hos endogena retrovirus. Så enligt författarna är det mest troliga ursprunget till dessa gensekvenser integration av en gensekvens från ett exogent agens till 95-99% likt MMTV, och de föreslår att detta kan vara ett humant juvertumörvirus (Wang et al., 1995). Liknande resultat har Pogo et al. (2010) funnit i analyser av sporadiska brösttumörer, och kallade detta MMTV-lik virus för HMTV (Human Mammary Tumor Virus). Ytterligare en studie fann dessa MMTV-lik *env*-gensekvenser i 56% av 50 analyserade bröstcancerprover och i 87,5% av 8 cellinjer från bröstcancer (Mok et al., 2008). Undersökning av prover från inflammatorisk bröstcancer (IBC) påvisade virala sekvenser i 71% av fallen. Eftersom IBC är en särskilt invasiv, malign form av bröstcancer, antyder författarna att HMTV kan associeras med hög malignitet (Pogo et al., 2010). Denna association mellan MMTV-lik gensekvenser och hög malignitet bekräftas av Ford et al. (2003). Däremot har Mok et al. (2008) inte funnit något signifikant samband mellan MMTV-lik gensekvenser och tumörgrad, dödlighet, ER-uttryck eller p53-uttryck. Samtliga av de i detta stycke nämnda studier menar att de MMTV-lik gensekvenser man hittat distinkt skiljde sig från de kända humana endogena retrovirusen (HERVs).

Miljöbetingelser

Ford et al. (2003) fann MMTV-lik gensekvenser i 42.2% av analyserade bröstcancerprover från australiensiska kvinnor, men endast i 0.8% av prover från vietnamesiska kvinnor. I prover från normal bröstvävnad fann man dessa gensekvenser endast i 1.8% hos australiensiska kvinnor och inte alls hos vietnamesiska kvinnor. Detta antyder att utbredningen av MMTV-lik gensekvenser är koncentrerad till vissa populationer, och att de sällan finns i normal bröstvävnad vilket tyder på att de normalt inte ingår i det humana genomet utan att det vid något tillfälle har förvärvats (Ford et al., 2003). Ännu en observation angående detta är att epidemiologiska studier pekar på vikten av miljöbetingelser som riskfaktor för utveckling av bröstcancer. Hos kvinnor som flyttar från så kallade lågriskområden (Kina, Vietnam, Mellanöstern) till högriskområden (USA och Europa) ökar incidensen av bröstcancer inom en till två generationer. *Mus domesticus* (husmus), en reservoar för MMTV, finns i högre grad i USA och Europa än i de nämnda lågriskområdena, vilket leder författarna till att antyda en möjlig enzootisk överföring av MMTV från möss till människor (Indik et al., 2005).

Smittoväg

MMTV-lik gensekvenser har identifierats i 4 av 91 (5%) bröstmjölkprover från friska kvinnor, vilket skulle kunna vara en möjlig smittkälla för detta virus då det är en känd smittväg hos möss. Man tror att koncentrationen av MMTV-lik virus är högst i colostrum och smittorisken skulle då vara störst direkt efter födseln (Johal et al., 2011). Det har i andra studier visats att det inte finns något samband mellan amning och risk för bröstcancer (Titus-Ernstoff et al., 1998), men enligt författarna kan detta bero på att man inte studerat det direkta sambandet mellan denna risk och just colostrum (Johal et al., 2011).

HMTVs vara eller icke vara

En studie demonstrerar att HMTV inte är ett unikt "människovirus" utan tillhör MMTV-familjen. De har undersökt tre olika bröstcancer-cellinjer utan att hitta något DNA från HMTV, och inte heller i bröstcancerbiopsier har något proviralt DNA från MMTV/HMTV funnits. Vidare har de inte funnit någon signifikant likhet mellan MMTV/HMTV-sekvenser och det humana genomet. Författarna till denna studie avskriver inte förekomsten av HMTV, men fastslår att det i så fall handlar om ett exogent agens, olikt den endogena formen av MMTV hos möss (Mant et al., 2004).

Det finns även en hel del studier som helt talar emot förekomsten av HMTV, eller att exogena retrovirus såsom MMTV skulle kunna orsaka bröstcancer hos människor, då man efter analys av bröstcancerprover inte funnit några spår av MMTV eller något MMTV-lik virus (Frank et al., 2008; Park et al., 2010). I en analys av prover från 91 kvinnor med bröstcancer har man inte hittat några specifika antikroppar mot MMTV, vilket enligt författarna borde ha funnits om de skulle ha blivit smittade av detta virus. Detta antyder att seroprevalensen av MMTV hos kvinnor med bröstcancer inte överstiger 3% (Goedert et al., 2006).

Hund och katt

Juvertumörer utgör upp till 50% av alla tumörsjukdomar hos tigar, och förekommer även i hög grad hos katter. Hos hund kan sjukdomsförloppet se ut på olika sätt, men hos katter är sjukdomen nästan alltid extremt aggressiv. Likt situationen hos människor är de bakomliggande orsakerna till juvertumörer hos dessa djurslag till allra största delen okänd. Man vet dock att hormoner spelar en stor roll även hos dessa djurslag, och hos hund har man också funnit en motsvarighet till människans inflammatoriska bröstcancer (Novosad, 2003). Eftersom hund och katt är våra vanligaste sällskapsdjur finns intresse att utreda etiologin i syfte att få fram nya behandlingsmetoder, samt att undersöka om dessa djur skulle kunna smittas av ett juvertumörvirus och eventuellt i så fall bidra till överföring av viruset till människa (Hsu et al., 2010).

En studie gjord på hundar och katter har funnit gensekvenser 94-98% lika MMTV i både juvertumörer och normal juvervävnad. Dessa sekvenser fanns i 3,49% av de maligna tumörerna hos hund och i 22,22% av de maligna tumörerna hos katt. Författarna fann ingen skillnad mellan normal juvervävnad och tumörvävnad gällande MMTV-lik gensekvenser, och inget samband mellan förekomsten av dessa sekvenser och kliniskt stadie, histologisk morfologi och grad av tumör. Studiens huvudsyfte var dock att påvisa dessa gensekvenser,

vilket man lyckades med och även om hundarna och katterna själva inte alltid utvecklar tumörer efter infektion med MMTV skulle sällskapsdjuren kunna överföra viruset till människor (Hsu et al., 2010).

Behandling

Förutom kirurgi, strålning och cellgiftbehandling, som används frekvent inom juvertumör/bröstcancerbehandling är antiöstrogenerbehandling en vanlig metod vid konstaterade ER-positiva tumörer. Nedan följer beskrivning av två andra tänkbara strategier för behandling av juvertumörer i tidigt skede.

Immunisering

Immunisering med inaktiverat MMTV har visat sig vara effektivt mot exogen MMTV-infektion hos en stam MMTV-fria möss. Studien visar att endast 20% av de vaccinerade mössen utvecklade juvertumörer, medan 65% av de icke-vaccinerade mössen gjorde det. Man använde renat MMTV gp55, vilket är det främsta glykoproteinet hos viruset, och resultatet visade att effekten var dosberoende. För fullgott skydd mot exogen infektion krävdes mellan 1-10 mikrogram av vaccinet per mus (Sarkar & Moore, 1978).

Vitamin A-analoger

Vitamin A-analoger som binder till vitamin A-syra receptorn eller retinoid X receptorn (RXR) spelar en viktig roll i regleringen av cellproliferation, apoptos och differentiering. Man har undersökt om retinoider, vilka selektivt binder RXR, skulle kunna fungera i förebyggande behandling av bröstcancer, och fann att cancerutvecklingen inhiberades. Detta berodde på reducerad proliferation, men ingen induktion av apoptos. Eftersom tidigare studier visat att antiöstrogenerbehandling endast är effektiv mot ER-positiv bröstcancer finns stort intresse av att hitta en behandlingsform mot den ER-negativa formen, då denna motsvarar en tredjedel av alla bröstcancerfall och har särskilt dålig prognos. Retinoid bexarotene har i denna studie visats kunna förhindra utveckling av ER-negativa juvertumörer, främst via inhibering av proliferation av normala och premaligna juverepitelceller (Li et al., 2008).

DISKUSSION

Att ”lösa cancers gåta” är drivkraften bakom en stor mängd forskning. Musens juvertumörvirus (MMTV) upptäcktes redan på 1930-talet, och dess roll i juvertumörutvecklingen hos möss är väl studerad. Hos människa, hund och katt däremot, är majoriteten av alla fall av bröstcancer/juvertumörer sporadiska och utan känd etiologisk faktor. Det står klart att det handlar om en multifaktoriell sjukdom och forskningen kring sjukdomen är intensiv. Jag hittade en stor mängd publicerade artiklar i ämnet, och det var stundtals svårt att sälla bland dessa. Jag har valt att ägna huvuddelen av min diskussion åt oklarheterna kring uppkomsten av bröstcancer hos människa, men berör även situationen hos mus, hund och katt. Frågeställningarna jag sökt svar på har varit hur MMTV verkar och huruvida detta eller ett närbesläktat virus skulle kunna orsaka bröstcancer/juvertumörer hos andra djurslag än mus. Under litteraturstudiens gång har ytterligare frågeställningar dykt upp, såsom huruvida det finns anledning att tro att någon annan typ av virus kan spela en roll i

uppkomsten av sjukdomen, och slutligen vilka typer av nya behandlingsmetoder man kan tänka sig.

Frågan om en möjlig virusrelaterad orsak till uppkomsten av bröstcancer/juvertumörer tycks vara kontroversiell. Många forskare menar att musens juvertumörvirus är djurslagsspecifikt och inte smittar människa, hund eller katt. Eventuell forskning på andra djurslag än de nyss nämnda har jag inte tagit hänsyn till i denna studie. Man har funnit gensekvenser som liknar MMTV hos både hund och katt, men att dessa sekvenser var lika vanligt förekommande i normal juvervävnad som i tumörvävnad kan betyda att MMTV eller ett närbesläktat virus inte orsakar juvertumörer hos dessa djur (Hsu et al., 2010). Ett flertal studier har identifierat MMTV-liknande gensekvenser hos människa, och en del påstår att detta är ett annat virus som man valt att kalla HMTV (Human Mammary Tumor Virus) (Wang et al., 1995; Mok et al., 2008; Pogo et al., 2010). Andra menar att det är samma virus som då överförts från möss till människa, och att ett bevis för detta är att prevalensen av bröstcancer korrelerar med förekomsten av husmus i området. Det vill säga, inom vissa områden där husmusen finns i hög grad är risken för att utveckla bröstcancer större (Indik et al., 2005). Att man framgångsrikt infekterat humanceller med MMTV ger ytterligare bevis för att viruset skulle kunna smitta från mus till människa (Indik et al., 2005). Det råder delade meningar om detta, och ett antal forskargrupper har efter analyser inte hittat några spår av MMTV eller MMTV-liknande gensekvenser i humana bröstcancerprover, och betvivlar därmed virusets roll i sjukdomsutvecklingen hos människa (Frank et al., 2008; Park et al., 2010). I studien gjord av Park et al. (2010) har man analyserat bröstcancerprover från australiensiska kvinnor utan att hitta några MMTV-liknande gensekvenser, medan Ford et al. (2003) tvärtom menar att just Australien är något av ett riskområde för infektion av detta virus. Så vad ska man tro på? Studierna använder sig av PCR (Polymerase Chain Reaction) för att få fram ökad mängd DNA-material, vilket är en teknik som kan vara känslig för kontamination. Trots vidtagna försiktighetsåtgärder finns möjligheten att de forskargrupper som funnit MMTV-liknande gensekvenser har haft prover kontaminerade med exempelvis gnagarrelaterat material. Då man i de studier jag refererat till inte hittat någon gensekvens som är 100% homolog med MMTV kan man ställa sig frågan om de så kallade MMTV-liknande sekvenserna egentligen måste vara virusrelaterade? Höljprotein (*env*) är en virusspecifik struktur, men möjligheten borde finnas att andra icke-virusrelaterade protein kan ha liknande gensekvenser. Bröstcancer är en komplex sjukdom och bara för att MMTV kan infektera humanceller som Indik et al. (2005) visat, betyder inte detta att det alltid leder till tumörutveckling. Studien visar att MMTV skulle kunna spela en roll i denna multifaktoriella etiologi. Hänsyn bör dock tas till att detta är ett *in vitro*-försök och förutsättningarna *in vivo* kan vara annorlunda.

Jag anser det inte troligt att amning/digivning är en riskfaktor för uppkomst av bröstcancer/juvertumörer hos människa, hund och katt. Man har i studier inte funnit någon korrelation mellan amning och bröstcancerförekomst (Titus-Ernstoff et al., 1998), och förslaget som Johal et al. (2011) kommer med att colostrum är den stora smittorisken ställer jag mig tveksam till då jag tror att de barn som ammas (eller de valpar/kattungar som diar) i de flesta fall får i sig även colostrum. Åtminstone i Sverige förespråkar man att nyfödda barn bör få i sig denna mjölk då den anses extra näringsrik samt innehåller en stor mängd

antikroppar. Även om amningen inte är någon riskfaktor för uppkomst av bröstcancer kan man inte helt avskriva en virusorsakad, mjölkburen form av sjukdomen. Man kan spekulera kring möjligheten att viruset överförs via bröstmjölk, men att mjölken även innehåller andra komponenter, såsom antikroppar, som då eventuellt skulle kunna motverka virusets onkogenaktiverande förmåga, eller något annat steg i den tumörbildande processen. Det kan även finnas andra smittvägar för viruset. Att inga nya viruspartiklar bildades efter exogen MMTV-infektion hos de möss som hade endogent MMTV i sitt genom tyder på att det skulle kunna fungera som ett slags skydd (Golovkina et al., 1993). Sarkar & Moore (1978) visade att immunisering med inaktiverat MMTV var effektivt mot exogen virusinfektion, vilket talar för att infektionen aktiverar bildning av antikroppar. De antikroppar som mössen med endogent MMTV har skulle sedan kunna nedärvas till kommande generationer. Det sätt på vilket MMTV finns endogent hos möss liknar förhållandet för andra endogena retrovirus, som inaktiverats med tiden. En latent virusinfektion kan eventuellt triggas till att bli patogen av diverse andra endogena faktorer, eller vid ny exogen infektion kombinerat med låg immunstatus.

Om jag utgår från att ett musrelaterat virus kan smitta människa, vilket antyds i artikeln av Indik et al. (2005) där de funnit en högre incidens bröstcancer bland kvinnor som lever i områden där det finns mycket mus, och om även hund och katt kan smittas och smittan också kan överföras mellan alla nämnda djurslag så borde smittorisken vara större för de människor som har husdjur. Katter, främst utekatter och till viss del även hundar har med stor sannolikhet mer kontakt med möss än vad människor har. Att man hittat MMTV-liknande gensekvenser i juvertumörer hos både hund och katt såväl som hos människa skulle kunna betyda att våra sällskapsdjur kan fungera som en slags mellanvärd för viruset. För att vilt spekulera vidare kring detta skulle man kunna föreslå en studie för att undersöka om incidensen av bröstcancer är större hos exempelvis kattägare än hos människor utan daglig kontakt med djur.

Drivkraften att hitta en orsak till bröstcancer, kanske framför allt hos människa, är givetvis stor. Eventuellt kan detta leda till att man läser in för mycket i sina resultat. Som till exempel när man hittat liknande gensekvenser i människans genom som de som finns hos MMTV, så drar man snabbt slutsatsen att detta är ett närbesläktat virus. Men varför har man då ännu inte kunnat bekräfta detta? MMTV hittades redan på 1930-talet och sedan dess har en uppsjö av studier gjorts, men fortfarande har man inte hittat något man kan säga definitivt orsakar denna sjukdom, som hos ett flertal djurslag är så pass vanlig. En förklaring kan vara att etiologin, som nämnts tidigare, är multifaktoriell. Det kan finnas virus, såväl som andra agens, kemikalier, strålning och så vidare, som samverkar och medierar uppkomst av juvertumörerna. Labat (1998) påpekar att MMTV visat sig vara involverat även i andra sjukdomar hos möss, såsom T-cell lymfom, och om detta hade upptäckts först hade viruset troligen kallats musens T-cell leukemi-virus istället (MTLV). Ett humant T-cell leukemi-virus (HTLV) är känt, men det hade inte upptäckts genom att analysera det virus som man valt att kalla MMTV, då dessa två virus inte visar någon homologi i gensekvenser. Därför menar författaren att jakten på en eventuell retroviral orsak till human bröstcancer inte bör utgå från

musens juvertumörvirus, utan att det borde innebära sökandet efter ett helt nytt humant retrovirus.

Forskare på Karolinska institutet har tidigare i år analyserat bröstcancerprover och funnit cytomegalovirus (HCMV), i samtliga av dessa prover. Vidare fann de inga spår av detta virus i näraliggande frisk vävnad, och föreslår därför att detta virus kan spela en roll tumörutvecklingen hos bröstcancer (Taher et al., 2013). HCMV tillhör herpesvirusfamiljen och är således inte släkt med MMTV, men som ett virus med koppling till bröstcancer vill jag ändå i korthet ta upp det här. HCMV är väldigt vanligt och 70-90% av världens befolkning bär på viruset, som även utsöndras i bland annat bröstmjölk, precis som MMTV hos möss. HCMV inducerar även inflammation och ökar uttryck av bland annat COX-2 som kan verka som en tillväxtfaktor för tumörbildningen (Taher et al., 2013), vilket antyder att detta virus skulle kunna vara en av orsakerna till den särskilt maligna inflammatoriska formen av bröstcancer (IBC). Denna studie indikerar att virus kan finnas med i den etiologiska bilden hos bröstcancer. Det vore intressant med forskning kring cytomegalovirus och dess eventuella roll i canceruppkomst hos andra djurslag såsom hund och katt.

Bröstcancer/juvertumörer är uppenbarligen en heterogen sjukdom och därför kan man inte sträva efter endast en behandlingsmetod som alltid fungerar. Kirurgi, strålning och kemoterapi tar jag inte upp här, utan fokuserar på forskning kring andra och eventuellt nya behandlingsstrategier. Det är viktigt att så långt som möjligt undersöka vilken typ av bröstcancer det handlar om. Enligt studier svarar hormonberoende (ER-positiva) tumörer på antiöstrogener (Fuchs-Young et al., 2010), medan behandling med östrogen/östradiol har visat sig sakta ner tumörutvecklingen hos hormon-oberoende (ER-negativa) tumörer (Soler & Aoki, 1988). Eftersom patienter med ER-negativa tumörer har sämre prognos än de med ER-positiva tumörer är det av stort intresse att vidare undersöka behandlingsmetoder med effekt på just ER-negativa tumörer. Att behandla bröstcancer med östrogen kan verka motsägelsefullt, då just östrogen visat sig vara en riskfaktor för uppkomst av denna sjukdom. Det kan dock vara så att det främst är en långvarig påverkan av hormonet som utgör en risk, då risken visat sig öka med antalet menstruationscykler samt vid långvarig användning av p-piller (som innehåller östrogen). Därför behöver kanske inte kortvarig behandling med östrogen vid konstaterat ER-negativa tumörer utgöra någon egentlig risk för utveckling av den ER-positiva varianten. Som nämnts i litteraturoversikten har även vitamin A-analoger – retinoider – visat sig fungera hämmande på den ER-negativa tumörutvecklingen då dessa reducerade proliferationen av tumörceller. Retinoiderna inducerade dock ingen apoptos, vilket leder till antagandet att denna typ av behandling har bäst effekt i ett väldigt tidigt skede av sjukdomsförloppet. Den inflammatoriska formen av bröstcancer, som är särskilt aggressiv, kan delvis behandlas med antiinflammatoriska medel. IBC-tumörerna uttrycker höga nivåer av COX-2 och prostaglandiner, och både selektiva och icke-selektiva COX-hämmare har visat sig minska cancerincidensen (Taher et al., 2013). Vidare öppnar forskning kring en eventuell virusrelaterad orsak till bröstcancer upp för nya behandlingsmöjligheter, såsom antivirala medel och immunisering. Kanske bör man ta fram en standardiserad metod för att i rutinundersökningen av bröstcancerprover kontrollera eventuell virusförekomst. Detta för att kunna utöka möjligheterna till effektiv behandling.

Att bröstcancer/juvertumörer är så vanligt kan bero på att juervävnaden i hög grad är regenererande och därför kanske extra ”känslig”, som föreslås av Callahan & Smith (2000). Därtill kommer den hormonella påverkan som är svår att undgå, då östrogener bildas endogent och spelar roll i diverse normala kroppsliga funktioner. Varför det är just vissa djurslag som i hög grad drabbas kan eventuellt förklaras med att vi människor, hundar, katter och till viss del även möss, lever under liknande förhållanden/nära varandra, samt rör oss i samma miljöer och äter liknande typ av mat – i högre grad än andra djurslag.

Om MMTV eller en närbesläktad humanvariant av detta virus är orsak till bröstcancer hos människa eller inte får jag låta vara osagt, men jag anser att det finns en hel del som tyder på att det skulle kunna finnas en viral/retroviral etiologi. Det skulle kunna vara en co-infektion med olika virus, eller med andra agens som i sin tur ingår i ett samspel med exempelvis miljöfaktorer, hormoner och immunstatus. Mer forskning krävs för att få ett säkert svar på frågan om vad som orsakar uppkomsten av bröstcancer hos människa och juvertumörer hos hund och katt. Även om forskningen kring sjukdomen är starkt fokuserad på människa så kommer de eventuella framsteg man gör antagligen gagna även andra djurslag. Genom vidare insikt i hur bröstcancer/juvertumörer uppstår hoppas man kunna ta fram nya diagnostiska verktyg och nya behandlingsmetoder. Detta skulle vara av stort värde, då sjukdomen skördar en mängd liv varje år, bland människor såväl som bland våra sällskapsdjur.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Callahan, R. & Smith, G.H. (2000). MMTV-induced mammary tumorigenesis: gene discovery, progression to malignancy and cellular pathways. *Oncogene*, 19, 992-1001.
- Ford, C.E., Tran, D., Deng, Y., To Ta, V., Rawlinson, W.D. & Lawson J.S. (2003). Mouse Mammary Tumor Virus-like Gene Sequences in Breast Tumors of Australian and Vietnamese Women. *Clinical Cancer Research*, 9, 1118-1120.
- Frank, O., Verbeke, C., Schwarz, N., Mayer, J., Fabarius, A., Hehlmann, R., Leib-Mösch, C. & Seifarth, W. (2008). Variable Transcriptional Activity of Endogenous Retroviruses in Human Breast Cancer. *Journal of Virology*, 82, 1808-1818.
- Fuchs-Young, R., Shirley, S.H., Lambertz, I., Colby, J.K.L., Tian, J., Johnston, D., Gimenez-Conti, I.B., Donehower, L.A., Conti, C.J. & Hursting, S.D. (2011). P53 genotype as a determinant of ER expression and tamoxifen response in the MMTV-Wnt-1 model of mammary carcinogenesis. *Breast Cancer Res Treat*, 130, 399-408.
- Goedert, J.J., Rabkin, C.S. & Ross, S.R. (2006). Prevalence of serologic reactivity against four strains of mouse mammary tumour virus among US women with breast cancer. *British Journal of Cancer*, 94, 548-551.
- Golovkina, T.V., Prescott, J.A. & Ross, S.R. (1993). Mouse Mammary Tumor Virus-Induced Tumorigenesis in *sag* Transgenic Mice: a Laboratory Model of Natural Selection. *Journal of Virology*, 67(12), 7690-7694.
- Hsu, W-L., Lin, H-Y., Chiou, S-S., Chang, C-C., Wang, S-P., Lin, K-H., Chulakasian, S., Wong, M-L. & Chang, S-C. (2010). Mouse Mammary Tumor Virus-Like Nucleotide Sequences in Canine and Feline Mammary Tumors. *Journal of Clinical Microbiology*, 48, 4354-4362.
- Indik, S., Günzburg, W.H., Salmons, B. & Rouault, F. (2005). Mouse Mammary Tumor Virus Infects Human Cells. *Cancer Research*, 65, 6651-6659.
- Johal, H., Ford, C., Glenn, W., Heads, J., Lawson, J. & Rawlinson, W. (2011). Mouse mammary tumor like virus sequences in breast milk from healthy lactating women. *Breast Cancer Res Treat*, 129, 149-155.
- Labat, M.L. (1998). Possible retroviral etiology of human breast cancer. *Biomed & Pharmacother*, 52, 6-12.
- Li, Y., Zhang, Y., Hill, J., Kim, H-T., Shen, Q., Bissonnette, R.P., Lamp, W.W. & Brown, P.H. (2008). The rexinoid, bexarotene, prevents the development of premalignant lesions in MMTV-erbB2 mice. *British Journal of Cancer*, 98, 1380-1388.
- Mant, C., Gillett, C., D'Arrigo, C. & Cason, J. (2004). Human murine mammary tumour virus-like agents are genetically distinct from endogenous retroviruses and are not detectable in breast cancer cell lines or biopsies. *Virology*, 318, 393-404.
- Martinez Barrio, A., Ekerljung, M., Jern, P., Benachenhou, F., Sperber, G.O., Bongcam-Rudloff, E., Blomberg, J. & Andersson, G. (2011) The First Sequenced Carnivore Genome Shows Complex Host-Endogenous Retrovirus Relationships. *PloS ONE*, 6, 1-10.
- Mok, M.T.S., Lawson, J.S., Iacopetta, B.J. & Whitaker, N.J. (2008). Mouse mammary tumor virus-like *env* sequences in human breast cancer. *Int. J. Cancer*, 122, 2864-2870.
- Novosad, C.A. (2003). Principles of Treatment for Mammary Gland Tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 107-109.

- Park, D.J., Southey, M.C., Giles, G.G. & Hopper, J.L. (2010). No evidence of MMTV-like *env* sequences in specimens from the Australian Breast Cancer Family Study. *Breast Cancer Res Treat*, 125, 229-235.
- Pogo, B.G-T., Holland, J.F. & Levine, P.H. (2010). Human Mammary Tumor Virus in Inflammatory Breast Cancer. *Cancer*, 116, 2741-2744.
- Rassa, J.C., Meyers, J.L., Zhang, Y., Kudaravalli, R. & Ross, S.R. (2001). Murine retroviruses activate B cells via interaction with toll-like receptor 4. *PNAS*, 99, 2281-2286.
- Sarkar, N.H. & Moore, D.H. (1978). Immunization of Mice against Murine Mammary Tumor Virus Infection and Mammary Tumor Development. *Cancer Research*, 38, 1468-1472.
- Soler, A.P. & Aoki, A. (1989). Estrogen Influence on Maturational Pathway of Murine Mammary Tumor Virus: An Immunoelectron Microscopy Study. *Experimental and Molecular Pathology*, 50, 16-25.
- Taher, C., de Boniface, J., Mohammad, A-A., Religa, P., Hartman, J., Yaiw, K-C., Frisell, J., Rahbar, A. & Söderberg-Naucler, C. (2013). High Prevalence of Human Cytomegalovirus Proteins and Nucleic Acids in Primary Breast Cancer and Metastatic Sentinel Lymph Nodes. *PLoS ONE*, 8, 1-8.
- Titus-Ernstoff, L., Egan, K.M., Newcomb, P.A., Baron, J.A., Stampfer, M., Greenberg, E.R., Cole, B.F., Ding, J., Willett, W. & Trichopoulos, D. (1998). Exposure to Breast Milk in Infancy and Adult Breast Cancer Risk. *J Natl Cancer Inst*, 90, 921-924.
- Wang, E., Obeng-Adjei, N., Ying, Q., Meertens, L., Dragic, T., Davey, R.A. & Ross, S.R. (2008). Mouse mammary tumor viruses uses mouse but not human transferrin receptor 1 to reach a low pH compartment and infect cells. *Virology*, 381, 230-240.
- Wang, Y., Holland J.F., Bleiweiss, I.J., Melana, S., Liu, X., Pelisson, I., Cantarella, A., Stellrecht, K., Mani, S. & Pogo, B.G-T. (1995). Detection of Mammary Tumor Virus *ENV* Gene-like Sequences in Human Breast Cancer. *Cancer Research*, 55, 5173-5179.