

# Selectieve accumulatie van DNA-schade in stamcellen en de vorming van huidcarcinomen

G.C. van de Glind, H.G. Rebel, M.J. van Kempen, C.P. Tensen en F.R. de Gruijl

*Afdeling Dermatologie, Leids Universitair Medisch Centrum, Leiden*

*Correspondentieadres:*

*Gerline van de Glind*

*E-mail: G.C.van\_de\_Glind@lumc.nl*

Tumoren komen waarschijnlijk voort uit stamcellen. We hebben eerder aangetoond dat *quiescent* stamcellen in de epidermis bij chronische blootstelling aan lage UV-doses DNA-schade accumuleren. Dit in tegenstelling tot omliggende cellen die voortdurend vernieuwd worden. Deze cellen met geaccumuleerde DNA-schade zijn ook aangetroffen in menselijke huid. Onze vraag was of deze cellen een verhoogd risico vormen op huidkanker als zij tot deling worden aangezet, waarbij de kans op mutaties verhoogd is. Om dit te testen hebben we twee groepen haarloze muizen vergeleken: één groep

kreeg een bepaalde UV-dosis in één keer toegediend en de andere groep kreeg dezelfde dosis verspreid over veertig dagen. De enkele hoge dosering resulteerde in een sterke 'zon'-verbranding (zonder wonden), terwijl de lage dagelijkse dosering ver (7x) onder de drempel van een zonverbranding lag. Alleen in de tweede groep vormden zich cellen die DNA-schade accumuleerden. Een week na de laatste UV-blootstelling werd de UV-blootgestelde huid twee keer per week behandeld met de irriterende stof TPA (12-O-Tetradecanoylforbol-13-acetaat). Deze behandeling zet aan tot celdeling en leidt tot epidermale hyperplasie. Het is de klassieke manier om tumorgroei te stimuleren. In de niet-zonnebrandgroep ontstonden iets meer tumoren, maar het grootste verschil ontstond na het stopzetten van de TPA-behandeling. Vrijwel alle tumoren in de zonnebrandgroep gingen in regressie, terwijl tumoren in de niet-zonnebrandgroep doorgroeiden (0,06 versus 2,50 plaveiselcelcarcinomen en voorstadia

$\geq 4\text{mm/muis}$  na 280 dagen,  $p=0,03$ ). Verrassend genoeg vonden we geen van de genen gemuteerd die gewoonlijk betrokken zijn bij het ontstaan van plaveiselcelcarcinomen (*p53*, *Notch1/2* en *H/K/N-Ras*). Dit wijst erop dat andere, onbekende mutaties een rol spelen bij de vroegste initiatie van de tumoren. Het was opvallend dat de meeste doorgroeiende tumoren in-situcarcinomen bleken te zijn. Dit in tegenstelling tot tumoren die ontstaan bij levenslange chronische UV-blootstelling, waarbij de grote meerderheid plaveiselcelcarcinoom is.

### **DNA DAMAGE-RETAINING STEM CELLS AND THE FORMATION OF SKIN CARCINOMAS**

Tumors are likely to originate from stem cells. We have previously shown that quiescent stem cells in the epidermis accumulate DNA damage upon chronic low-level UV exposure in contrast to neighboring cells that are continuously renewed. Such cells retaining DNA damage were also observed in human skin. The question is whether these cells pose an increased risk of skin cancer if they are forced to divide thus inherently increasing the chance of mutations. To investigate this we compared two groups of hairless mice: one group received a single dose of UV and the other the same total dose spread

over 40 days. The single high dose resulted in “sunburn” without wounding, while the low daily dose in the other group was far (7x) below the threshold for sunburn. The DNA damage-retaining cells only occurred in the non-sunburn group. One week after the last UV exposure the skin was treated with the irritant TPA (12-O-Tetradecanoylforbol-13-acetaat). This treatment results in cell proliferation and epidermal hyperplasia, and is the traditional method to stimulate tumor growth. In the non-sunburn group slightly more tumors developed, but the largest difference occurred after discontinuation of the TPA treatment. Virtually all tumors in the sunburn group regressed, while tumors continued to grow in the non-sunburn group (0.06 vs 2.50 squamous cell carcinomas and precursors  $\geq 4\text{mm/mouse}$  after 280 days,  $p=0,03$ ). Surprisingly, we found no mutated genes that are usually involved in the development of squamous cell carcinomas (*p53*, *Notch1/2* and *H/K/N-Ras*). This shows that other, as yet unknown, mutations are responsible for the earliest initiation of the tumors. It was apparent that most of the persistently growing tumors turned out to be in situ carcinomas. This is in contrast to the tumors caused by life-long chronic UV exposure, of which the large majority are squamous cell carcinomas.