

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Microsatelliet instabiliteit (MSI) is de voornaamste vorm van genetische instabiliteit in tumoren van Lynch syndroom patiënten en deze vorm van instabiliteit wordt ook gevonden in 15 tot 25% van sporadische colorectale, endometrium en maagtumoren. MSI ontstaat door een defect in de zogenaamde MisMatch Repair (MMR) route. MSI karakteriseert zich onder andere door de accumulatie van mutaties in korte repeterende DNA sequenties, zogenaamde microsatellieten. Deze mutaties kunnen optreden in zowel niet-coderende als coderende microsatellieten. Voor dit proefschrift is MSI bestudeerd in tumoren van patiënten met erfelijke colorectale en endometrium carcinomas (Lynch syndroom) en hun sporadische tegenhangers.

In hoofdstuk 1 wordt algemene achtergrondinformatie gegeven over het Lynch syndroom, microsatelliet instabiliteit, en over kankers die van oudsher geassocieerd zijn met MMR defecten. In hoofdstuk 2 beschrijven we een studie die laat zien hoe microsatelliet instabiliteit zich ontwikkelt met betrekking tot de adenoma-carcinoma sequence van colorectaal kanker. We hebben vergelijkbare MSI profielen gevonden in sporadische adenomas en carcinomas. MSI profielen zijn gemeten door de relatieve frequentie van instabiele mono- en dinucleotide markers te bepalen. Voor patiënten met een truncerende mutatie in één van de MMR genen hebben we echter wel verschillen gevonden: colorectale adenomas hebben vrijwel alleen instabiliteit in mononucleotide repeterende sequenties, terwijl in colorectale carcinomas de instabiliteit in dinucleotide markers aanzienlijk is verhoogd. We concluderen dat MSI profielen verschillen tussen erfelijke en sporadische kanker en dat mononucleotide marker instabiliteit voorafgaat aan dinucleotide marker instabiliteit tijdens de ontwikkeling van een colorectale tumor in Lynch syndroom patiënten. We stellen daarom voor dat met name mononucleotide markers getest moeten worden om mogelijke Lynch syndroom patiënten te kunnen identificeren.

In hoofdstuk 3 gaan we in op de vraag of de MSI profielen verschillen tussen colorectale en endometrium tumoren die MSI zijn (dit noemen we MSI-High of MSI-H). We hebben de MSI frequentie bepaald, het type mutatie (deleties of inserties) en de grootte van de microsatelliet mutatie die optreedt in drie mononucleotide

repeterende sequentie markers en in drie dinucleotide markers zowel in colorectale als endometrium tumoren. De mononucleotide en dinucleotide mutatiefrequentie die in beide weefsels is gevonden, was vergelijkbaar, evenals de mutatiefrequentie in de mononucleotide en de dinucleotide markers. We laten zien dat het type mutatie marker specifiek is en niet weefsel specifiek. In mononucleotide markers treden vrijwel alleen deleties op, terwijl in dinucleotide markers deleties en inserties voorkomen. De grootte van de deleties/inserties verschilt tussen colorectale en endometrium tumoren, waarbij bij in endometrium tumoren de deleties en inserties kleiner zijn dan bij colorectaal tumoren. We concluderen dat er geen substantieel verschil is tussen het MSI profiel van colorectale en endometrium tumoren. Bovendien laten onze data zien dat dezelfde MSI testen gebruikt kunnen worden voor beide tumortypes.

Hoofdstuk 4 is gewijd aan een studie naar nieuwe 'targetgenen' voor MSI-H endometrium kanker. Zoals hierboven vermeld, wordt MSI gekarakteriseerd door de accumulatie van mutaties in korte herhalende DNA sequenties in zowel niet-coderende als coderende DNA sequenties. Genen die herhalende sequenties bevatten, zijn de beste 'targets' voor mutaties in MMR-deficiënte tumoren. Vooral van mutaties die optreden in belangrijke regulatiegenen, die noemen we 'targetgenen' wordt aangenomen dat deze zeer belangrijk zijn voor de ontwikkeling van MSI-H gerelateerde tumoren. Wij hebben een endometrium-specifieke strategie gebruikt om nieuwe 'targetgenen' te identificeren. Mutatie analyse is uitgevoerd op die genen die daadwerkelijk in normaal endometriumweefsel tot expressie komen (10x hoger dan het achtergrond signaal) en die daarnaast herhalende DNA sequenties bevatten. Uit een lijst van 2338 genen die tot expressie komen in normaal endometriumweefsel, bleken 382 genen 496 herhalende sequenties te hebben. Van deze genen is de sequentie bepaald. In 44 genen hebben we mutaties gevonden. Het is discutabel of alle 44 genen ook daadwerkelijk bijdragen aan de ontwikkeling van een tumor. Een belangrijk criterium om genen aan te merken als 'targetgenen' die bijdragen aan tumorontwikkeling is de mutatiefrequentie. Over het algemeen wordt een 'cut off' waarde van 15% genomen om een gen als target gen aan te merken. Genen met een lagere mutatiefrequentie worden als 'bystanders' beschouwd. We hebben zeven nieuwe targetgenen gevonden, gebaseerd op een cut off waarde van 15%.

Daarnaast hebben we deze zeven target genen plus drie genen die bijna in 15% van de tumoren gemuteerd zijn in MSI-H endometrium tumoren, in MSI-H colorectale en maag carcinomas getest. Onze studie laat zien dat sommige targetgenen specifiek voor een bepaald weefsel zijn, terwijl andere een meer algemene rol lijken te spelen in de ontwikkeling van MSI-H tumoren onafhankelijk van het type weefsel.

Het gen met de hoogste mutatiefrequentie in endometrium tumoren was *NRIP1* (34%). Dit gen codeert voor een co-repressor eiwit met een rol in de oestrogeen-receptor (ER) route, een heel belangrijke signaal route in het goed functioneren van het endometrium. Dit gen liet ook hoge mutatiefrequenties in colorectaal tumoren zien (24 %), duidend op ook een mogelijke rol van de ER route in de ontwikkeling van MSI colorectaal tumoren. Onze data suggereren daarnaast dat de genen van de ER route goede kandidaat 'targetgenen' in MSI-H tumoren kunnen zijn. Dit niet alleen voor weefsels die door oestrogenen worden gereguleerd, zoals het endometrium, maar ook voor weefsels van een andere oorsprong, zoals colonweefsel.

De resultaten die beschreven staan in hoofdstuk 4 hebben aanleiding gegeven om een review artikel te schrijven waarin we de mechanismen beschrijven die de rol van hormonen in de ontwikkeling van Lynch syndroom geassocieerde tumoren verklaren, vooral de rol van hormonen in MSI tumorontwikkeling.

Concluderend leiden onze data tot nieuwe inzichten in het proces van MSI-H tumorontwikkeling. We hebben aangetoond dat er geen substantiële verschillen bestaan tussen colorectale en endometrium tumoren. Daarnaast hebben we mutaties gevonden in 7 genen die mogelijk allemaal op directe of indirecte wijze invloed hebben op de ontwikkeling van de tumoren waarin ze zijn gemuteerd. Belangrijk was de bevinding dat het hoogst gemuteerde gen dat werd gevonden codeert voor een co-repressor van de oestrogeen-receptor route. Onze data suggereren dat genen in de ER route de perfecte kandidaat-genen zijn voor mutatie analyse in MSI-H tumoren en wellicht ook in tumoren die microsatelliet stabiel zijn. De laatstgenoemde resultaten kunnen van belang zijn voor de ontwikkeling van nieuwe therapeutische behandelingen.