

Biologische markers in hersentumoren bij kinderen

Auteur J.M. de Bont

Trefwoorden biologische factoren, eiwitexpressie, ependymoom, genexpressie, hersentumoren, kinderen, medulloblastoom

Samenvatting

Op 19 september 2008 promoveerde mw. drs. J.M. de Bont aan de Erasmus Universiteit Rotterdam op het promotieonderzoek getiteld 'Biologische markers in hersentumoren bij kinderen' onder begeleiding van de promotor prof. dr. R. Pieters. Hersentumoren zijn veel voorkomende tumoren bij kinderen. Kennis over de genetische en biologische factoren van deze tumoren zijn van belang om de behandeling en de overleving te verbeteren. Dit proefschrift beschrijft de identificatie van verschillende nieuwe genen en eiwitten bij hersentumoren bij kinderen die mogelijk kunnen worden gebruikt ter verbetering van de diagnostiek en risicostratificatie of voor de ontwikkeling van nieuwe therapie. Een genoombrede screening van genexpressieprofielen liet zien dat de expressie van SOX-genen en genen van het 'insulin-like growth factor' (IGF)-transductiesysteem belangrijk zijn

bij het medulloblastoom en ependymoom. Bestudering van de eiwitexpressieprofielen van tumorcellen toonde overexpressie van stathmine in het medulloblastoom en van annexine A-I en calcyphosine in het ependymoom. Door middel van analyse van de eiwitexpressie in de liquor werd apolipoproteïne A-II geïdentificeerd als marker voor een verstoorde bloed-hersenbarrière bij hersentumorpatiënten en 'insulin-like growth factor binding protein 3', betrokken bij het IGF-transductiesysteem als mogelijke marker voor het opsporen van restziekte of een recidief bij het medulloblastoom. Toekomstig onderzoek naar de functionele kenmerken en prognostische invloed van de geïdentificeerde genen en eiwitten zal moeten uitwijzen of de markers kunnen worden gebruikt ter verbetering van de overleving van kinderen met een hersentumor.

(Ned Tijdschr Oncol 2009;6:136-8)

Hersentumoren bij kinderen

Tumoren van het centraal zenuwstelsel zijn de meest voorkomende solide tumoren bij kinderen. In Nederland wordt per jaar bij ongeveer 100 kinderen een hersentumor gediagnosticeerd. Veelal berusten de klachten op een verhoogde intracraniale druk (hoofdpijn, braken) en lokale symptomen die samenhangen met functiestoornissen ter plaatse van de tumor door verplaatsing of beschadiging van het normale hersenweefsel. Met de huidige behandeling, die veelal bestaat uit een combinatie van chirurgie, radiotherapie en chemotherapie, geneest ruwweg 60% van de kinderen met een hersentumor.

Medulloblastomen en ependymomen zijn veel voorkomende hersentumoren bij kinderen.¹ Het medulloblastoom is een embryonale tumor die vrijwel altijd gelokaliseerd is in de achterste schedel-

groeve. De tumor metastaseert dikwijls binnen het centraal zenuwstelsel. Met de huidige therapie overleeft 30-80% van de patiënten, afhankelijk van de uitgebreidheid van de ziekte. Jonge leeftijd, leptomenigeale metastasering en incomplete chirurgische resectie zijn ongunstige prognostische factoren.

Ependymomen ontstaan uit de ependymcellen in de ventrikelwand en worden vaak in de achterste schedelgroeve of in het spinale kanaal gezien.² Van de patiënten bij wie de tumor volledig verwijderd kan worden, overleeft 50-70%, terwijl maximaal 30% van de patiënten overleeft wanneer geen complete resectie mogelijk is. Naast chirurgie vormt radiotherapie een belangrijk onderdeel van de behandeling van ependymomen. Chemotherapie lijkt voornamelijk niet bij te dragen aan de verbetering van de overleving.

De overlevingskansen van kinderen met een hersentumor zijn de laatste jaren sterk toegenomen. Helaas vormen hersentumoren echter nog steeds de belangrijkste doodsoorzaak bij kinderen met kanker. De genetische en biologische kenmerken van hersentumoren kunnen worden gebruikt om de risicoclassificatie te verbeteren en nieuwe doelgerichte therapie te ontwikkelen. Verschillende technieken op genomisch en eiwitniveau zijn de laatste jaren ontwikkeld om deze karakteristieken te identificeren.

Genexpressie in tumorcellen

In het proefschrift wordt een genoombrede screening van genexpressieprofielen van medulloblastomen en ependymomen beschreven.³ Verschillende leden van de *SOX*-transcriptiefactorfamilie werden geïdentificeerd als discriminatieve genen in medulloblastomen en ependymomen. mRNA- en eiwitexpressieniveaus van *SOX4* en *SOX11* waren sterk verhoogd in medulloblastomen en in ependymomen gold dit voor *SOX9*. In medulloblastomen en ependymomen was onder andere een verhoogde expressie van *SOX4* en *SOX9* gecorreleerd met een betere overleving. De mRNA-expressie van *BCAT1* bleek gecorreleerd met de aanwezigheid van leptomeningeale metastasen in medulloblastomen, maar dit kon op eiwitniveau niet bevestigd worden. Een specifieke genexpressieanalyse van het 'insulin-like growth factor' (IGF)-transductiesysteem, betrokken bij de normale hersenontwikkeling, toonde overexpressie van verschillende genen waaronder IGF 'binding protein' (*IGFBP*)-2, -3 en -5 en IGF-2, in medulloblastomen en ependymomen.⁴

Eiwitexpressie in tumorcellen

Eiwitten bepalen de uiteindelijke functie die genen in de cel vervullen. Middels 2-dimensionale differentieële gelelektroforese (2D-DIGE) gecombineerd met massaspectrometrie werd daarom ook de expressie van bekende en nieuwe eiwitten in medulloblastomen en ependymomen bestudeerd.⁵ Stathmine kwam verhoogd tot expressie in medulloblastomen en annexine A1 en calcyfosine in ependymomen. De afwijkende expressie van deze eiwitten werd bevestigd door middel van immunohistochemie. Genexpressiestudies bevestigden een afwijkende expressie op mRNA-niveau. Overexpressie van calcyfosine werd specifiek waargenomen in ependymomen die worden gekenmerkt door epitheliale differentiatie en correleert mogelijk met een nieuwe subgroep van ependymomen.

Eiwitexpressie in de liquor

De eiwitexpressie in de liquor van hersentumoren controlepatiënten werd middels eiwitarrays en massaspectrometrie bestudeerd om nieuwe hersentumormarkers te identificeren die door de tumorcellen worden uitgescheiden of geïnduceerd worden door de aanwezigheid van een tumor.⁶ Met behulp van de geïdentificeerde eiwitclusters konden hersentumorpatiënten van controlepatiënten worden onderscheiden met een nauwkeurigheid van 88%. Een eiwitcluster dat tot overexpressie kwam in de liquor van hersentumorpatiënten werd geïdentificeerd als apolipoproteïne (APO) A-II. Overexpressie van dit eiwit is meest waarschijnlijk het gevolg van een verstoorde bloed-hersenbarrière, aangezien de expressie van APO A-II in de liquor correleerde met de expressie van albumine, terwijl specifieke APO A-II-aankleuring in de tumorcellen ontbrak.

Meer specifieke eiwitmarkers in de liquor werden geïdentificeerd door de bestudering van het IGF-transductiesysteem.⁵ In de liquor van ependymoompatiënten was de eiwitexpressie van de bestudeerde IGF's en IGFBP's normaal, terwijl er een verhoogde eiwitexpressie en een verhoogde proteolytische activiteit van IGFBP-3 werden waargenomen in de liquor van medulloblastoompatiënten. IGFBP-3 is dus mogelijk een marker voor minimale restziekte in medulloblastomen en zou nuttig kunnen zijn in de follow-up van deze patiënten.

Conclusies en toekomstperspectieven

Om de prognose van kinderen met een hersentumor te verbeteren, is meer kennis nodig over de biologische kenmerken van deze tumoren. In dit proefschrift werden verschillende nieuwe potentiële biologische markers geïdentificeerd in de tumorcellen en liquor van kinderen met een hersentumor. Zowel voor medulloblastomen als ependymomen blijken *SOX*-genen van belang. Voor medulloblastomen was daarnaast de overexpressie van stathmine specifiek. Dit kan van klinisch belang zijn omdat stathmine een rol speelt in de organisatie van de microtubuli en dus een mogelijke marker is voor de gevoeligheid voor chemotherapeutica die aangrijpen op microtubuli, zoals de vinca-alkaloïden en taxanen. APO A-II is een mogelijke nieuwe marker voor het opsporen van een verstoorde bloed-hersenbarrière. Meer tumorspecifieke markers, zoals IGFBP-3, zouden nuttig kunnen zijn bij het opsporen van minimale restziekte of een recidief. Een nadere analyse van de functionele kenmerken en prognos-

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Onderzoek naar biologische kenmerken van hersentumoren bij kinderen is van belang om de overleving van deze patiënten te verbeteren.
2. SOX-transcriptiefactoren lijken een belangrijke rol te spelen in medulloblastomen en ependymomen bij kinderen en zijn mogelijk van voorspellende waarde voor de overleving.
3. 'Insulin-like growth factor binding protein 3' is een potentiële nieuwe marker voor de follow-up van medulloblastoompatiënten.

tische invloed van de geïdentificeerde genen en eiwitten is noodzakelijk om de toepassing als tumor-marker, prognostische marker of nieuw therapeutisch target te bepalen.

Referenties

1. Packer RJ. Childhood medulloblastoma: progress and future challenges. *Brain Dev* 1999;21:75-81.
2. Packer RJ. New insights into childhood ependymomas. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2005;5:107-9.
3. De Bont JM, Kros JM, Passier MM, Reddingius RE, Sillevius Smitt PA, Luider TM, et al. Differential expression and prognostic significance of SOX genes in pediatric medulloblastoma and ependymoma identified by microarray analysis. *Neuro Oncol* 2008;10:648-60.
4. De Bont JM, Van Doorn J, Reddingius RE, Graat GH, Den Boer ML, Pieters R. Various components of the insulin-like growth factor system in tumor tissue, cerebrospinal fluid and peripheral blood of pediatric medulloblastoma and ependymoma patients. *Int J Cancer* 2008;123:594-600.
5. De Bont JM, Den Boer ML, Kros JM, Passier MM, Reddingius RE, Smitt PA, et al. Identification of novel biomarkers in pediatric

primitive neuroectodermal tumors and ependymomas by proteome-wide analysis. J Neuropathol Exp Neurol 2007;66: 505-16.

6. De Bont JM, Den Boer ML, Reddingius RE, Jansen J, Passier MM, Van Schaik RH, et al. Identification of apolipoprotein A-II in cerebrospinal fluid of pediatric brain tumor patients by protein expression profiling. *Clin Chem* 2006;52: 1501-9.

Ontvangen 27 oktober 2008, geaccepteerd 22 december 2008.

Correspondentieadres

Mw. dr. J.M. de Bont, AIOS neurologie

Erasmus MC
Afdeling Neurologie
Postbus 2040
3000 CA Rotterdam
E-mailadres: j.debont@erasmusmc.nl

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.