

VU Research Portal

Applied bioinformatics: Genomics of human and murine retinoblastoma

Kooi, E.I.

2017

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Kooi, E. I. (2017). *Applied bioinformatics: Genomics of human and murine retinoblastoma*. Ipskamp Drukkers B.V.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Chapter 7

Summary in Dutch

Nederlandse samenvatting

7

153

Retinoblastoom is een zeldzaam type kanker van het netvlies, dat vrijwel uitsluitend bij jonge kinderen voorkomt. Omdat retinoblastoom vaak in een relatief vroeg stadium wordt gediagnosticeerd, vooral in ontwikkelde landen, blijft de tumor vaak beperkt tot het oog. Als therapeutische middelen om de tumor te verdelgen niet werken, moet het oog chirurgisch verwijderd worden (enucleatie), om te voorkomen dat patiënten overlijden aan uitzaaiingen. Een behandeling die overleving garandeert zonder dat het oog verwijderd hoeft te worden, geniet uiteraard de voorkeur. In dit proefschrift wordt beschreven hoe wij het DNA en de daaraan gerelateerde gen-activiteit van retinoblastoom cellen hebben onderzocht in mensen en muizen, in de hoop dat onze resultaten aanleiding geven tot een verbetering van de huidige oog-sparende behandelingen.

Voor vele andere kankertypes, zoals borst-, darm- of longkanker, is gebleken dat niet alle tumoren vergelijkbare DNA afwijkingen hebben, wat kan betekenen dat patiënten baat hebben bij verschillende behandelingen. In het geval van retinoblastoom is er echter discussie over de vraag of er een vergelijkbare diversiteit is tussen verschillende retinoblastoom tumoren. Hoewel één studie concludeerde dat retinoblastoom tumoren zeer vergelijkbaar zijn op basis van hun DNA en gen-activiteit, concludeerde een meer recente studie dat er juist twee groepen zijn met verschillende eigenschappen en mogelijk een verschillende ontstaansgeschiedenis. In **hoofdstuk 2** staat ons onderzoek beschreven waaruit blijkt dat retinoblastoom tumoren wel degelijk sterke verschillen vertonen, en dat die verband houden met onder andere de leeftijd van diagnose, de grootte van de tumor en de mate waarin cellen lijken op voorloper cellen van “kegeltjes”, de lichtgevoelige cellen van het netvlies die verantwoordelijk zijn voor kleurwaarneming. Naarmate patiënten op latere leeftijd werden gediagnosticeerd, grotere tumoren hadden en de cellen minder leken op voorlopers van kegeltjes, bleken hun tumoren meer afwijkingen te hebben in het aantal kopieën van verschillende genen. Aan de hand van deze bevindingen suggereerden wij dat de diversiteit in retinoblastoom tumoren mogelijk verband houdt met het verschil in het stadium van tumor progressie. In plaats van retinoblastoom te categoriseren in twee groepen, denken wij dat retinoblastoom beter kan worden geclassificeerd op een geleidelijke schaal, aan de hand van tumor

progressie markers.

Een normale cel heeft twee kopieën van elk gen. Afname of toename van het aantal kopieën kan een sterke invloed hebben op de gen-activiteit en uiteindelijk de eigenschappen van een cel, bijvoorbeeld hoe snel de cel zich kan vermenigvuldigen. In het geval van retinoblastoom hebben gemiddeld 2.500 van de ongeveer 25.000 genen (10%) een afwijking in het aantal kopieën. Echter, niet voor elk gen heeft de afwijking in het aantal kopieën gevolgen voor de cel en uiteindelijk progressie van de tumor. Er zijn meerdere studies uitgevoerd waarin is onderzocht welke van de genen met een afwijkend aantal DNA kopieën, een oorzakelijk verband hebben met retinoblastoom ontwikkeling. In **hoofdstuk 3** hebben wij de data van deze studies samengevoegd met data die wij zelf verzameld hadden van 45 retinoblastoom monsters om zo nauwkeurig mogelijk te bepalen welke van de 2.500 genen met afwijkingen in het aantal kopieën de groei van de tumor ondersteunen. Mede door een relatie te leggen met gegevens over gen-activiteit, waren we in staat om een lijst op te stellen van een select aantal genen (<100 genen) die het meest waarschijnlijk relevant zijn voor retinoblastoom progressie. In vervolgstudies kan worden getest of dat moleculen die zijn gericht om het functioneren van deze genen tegen te werken, de ontwikkeling van retinoblastoom kan stoppen of zelfs kan omkeren. Daarnaast beschrijven we in **hoofdstuk 3** aanwijzingen dat de afwijkingen in DNA kopie aantallen niet in alle cellen van de tumor aanwezig waren. Dit kan duiden op diversiteit in de tumorcelpopulatie, maar kan mogelijk ook worden veroorzaakt door verontreiniging met niet-tumor cellen. Naast afwijkingen in het aantal DNA kopieën, kunnen veranderingen van de inhoud van het DNA, zogenoemde DNA mutaties, kanker veroorzaken en tumor progressie aandrijven. Als er een DNA monster van een retinoblastoom beschikbaar is, kan in ongeveer 95% van de gevallen worden aangetoond dat de tumor is ontstaan door een mutatie in het *RB1* gen. Echter, wij en anderen veronderstelden dat voor de tumor ontwikkeling meerdere genen gemuteerd moeten zijn. In **hoofdstuk 4** beschrijven we DNA onderzoek van 71 monsters van retinoblastoom tumoren en vonden dat afgezien van *RB1*, zeer weinig andere genen gemuteerd waren. Er waren slechts twee genen die in ten minste twee afzonderlijke tumoren gemuteerd waren, namelijk

CREBBP (in 2/71 tumoren) en *BCOR* (in 7/71 tumoren). Daarnaast vonden we ook in deze dataset dat de DNA afwijkingen in retinoblastoom, afgezien van *RB1*, niet in alle tumor cellen voorkomen. Aangezien de *RB1* mutatie wél in alle cellen van de tumor aanwezig waren, konden we verontreiniging met niet-tumor cellen uitsluiten. Dit geeft aan dat er diversiteit bestaat tussen verschillende tumorcellen van dezelfde tumor.

Om te kunnen experimenteren met retinoblastoom behandelingen en om de ziekte nader te kunnen onderzoeken zijn proefdieren uitermate belangrijk. Muizen kunnen zodanig genetisch gemanipuleerd worden, dat ze retinoblastoom ontwikkelen. Daarvoor is nodig dat er een mutatie in het *Rb* gen (equivalent aan het menselijk *RB1* gen) én ofwel *Rb1* of *Rb2* in het netvlies aanwezig is, voordat het netvlies van een muis volledig is ontwikkeld. Eerder is aangetoond dat in het muismodel waarbij *Rb* en *Rb1* gemuteerd is, additionele DNA afwijkingen, waaronder *Trp53*-inactiverende mutaties, bijdragen aan de ontwikkeling van retinoblastoom. Dit in tegenstelling tot retinoblastoom in mensen, waarbij *RB1* mutaties voldoende zijn, en waarbij bovendien de additionele afwijkingen die gevonden worden niet *Trp53*-inactiverende mutaties zijn. Deze tegenstrijdigheden zijn de aanleiding van de vraag of dat muizen met *Rb* en *Rb1* mutaties wel een goed model zijn voor retinoblastoom in mensen. In **hoofdstuk 5** staat beschreven dat ons onderzoek heeft aangetoond dat DNA afwijkingen niet beslist noodzakelijk zijn voor de ontwikkeling van retinoblastoom tumoren in muizen met *Rb* en *Rb2* mutaties, in overeenstemming met retinoblastoom in mensen. Ook vonden we geen *Trp53* inactiverende mutaties, maar wel een verlies van het *Cdh11* gen, wat ook in menselijk retinoblastoom eerder is gevonden. Tevens waren muizen, die DNA afwijkingen vertoonden in de tumor, op een latere leeftijd gediagnosticeerd ten opzichte van muizen die tumoren hadden zonder DNA afwijkingen, wat ook in overeenstemming is met menselijk retinoblastoom. Op basis van het DNA profiel, concludeerden wij dat muizen met *Rb* en *Rb2* mutaties een beter model zijn voor menselijk retinoblastoom dan muizen met *Rb* en *Rb1* mutaties.

Ons onderzoek heeft aangetoond dat onder invloed van DNA afwijkingen, retinoblastoom tumoren zich kunnen ontwikkelen van kwaad tot erger. Daarnaast heeft ons onderzoek in zekere mate kunnen

vaststellen welke genen onder invloed staan van die DNA afwijkingen en verantwoordelijk zijn voor de tumor ontwikkeling. We stellen daarom voor dat toekomstig onderzoek naar op maat gemaakte behandeling van retinoblastoom mede wordt gestoeld op basis van deze bevindingen. Daarnaast heeft ons onderzoek laten zijn dat er diversiteit kan bestaan tussen individuele cellen van eenzelfde tumor, wat mogelijk kan betekenen dat individuele retinoblastoom cellen anders reageren op behandeling. Terwijl wij de moleculaire biologie van retinoblastoom onderzochten om aanknopingspunten te vinden voor oog-sparende behandeling, zijn er grote vooruitgangen geboekt op ander gebied. Door chemokuur ofwel direct in het glasvocht te spuiten, of toe te dienen via een de oogslagader met behulp van een katheter, kan met een relatief lage dosis van onder andere een stikstof-mosterd verbinding (melfalan) retinoblastoom vaak worden genezen. Mogelijk kan in de toekomst op, basis van ons onderzoek, op maat gemaakte geneesmiddelen worden ontworpen en met behulp van de innovatieve toedieningstechnieken worden gebruikt, om uiteindelijk retinoblastoom zo effectief mogelijk te behandelen met zo min mogelijk bijwerkingen.