

# VU Research Portal

## An Odyssey towards personalised medicine in breast cancer

Ikink, G.J.

2018

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

### **citation for published version (APA)**

Ikink, G. J. (2018). *An Odyssey towards personalised medicine in breast cancer: From discovering new cancer genes to revealing drivers of therapeutic resistance.*

### **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](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Kanker wordt veroorzaakt door foutjes (mutaties) in de genetische code (DNA). De mutaties in kanker zetten genen (harder) aan of ze veranderen de functie van genen, waardoor processen in de cel uit balans raken en zo kanker kunnen veroorzaken. Mutaties kunnen er ook voor zorgen dat genen uitgezet worden die als functie hebben om kankerprocessen te verhinderen. Kanker is dus een genetische ziekte, of beter gezegd: het een verzameling van allemaal verschillende genetische ziekten. Kanker kan namelijk veroorzaakt worden door een grote verscheidenheid aan mutaties in allerlei verschillende genen. Ook de verschillende soorten kanker, zoals borstkanker, bestaan elk uit verschillende ondersoorten met verschillende genetische oorzaken, wat geïntroduceerd wordt in **hoofdstuk 1**.

Hoofdstuk 1 legt verder uit dat verschillende patiënten meestal niet door dezelfde therapie behandeld kunnen worden doordat de genetische oorzaken verschillend zijn. Daarom is borstkanker opgedeeld in vier grote genetische ondersoorten van tumoren met vergelijkbare behandelmogelijkheden. Helaas reageren binnen deze ondersoorten niet alle tumoren even goed op de behandeling en sommigen zelfs helemaal niet (resistentie). Dat komt omdat er naast de mutaties in genen die de ondersoort bepalen, vrijwel altijd nog meer mutaties in andere genen in de tumoren voorkomen. De mutaties in deze andere genen hebben elk hun eigen effect op de tumor, waaronder bijvoorbeeld op de gevoeligheid voor een medicijn. Dit betekent vaak dat een tumor dan met meerdere verschillende therapieën zal moeten worden behandeld, elk gericht tegen een (of meerdere) van de verschillende genetische oorzaken.

De ondersoorten zullen dus nog verder opgedeeld moeten worden in kleinere groepen van tumoren met vergelijkbare behandelmogelijkheden. In sommige gevallen zullen die groepen zo klein moeten worden dat het (bijna) op het niveau van een individuele patiënt wordt. Daarom wordt er bij deze strategie ook wel gesproken van 'gepersonaliseerde therapie'. Om gepersonaliseerde therapie te kunnen bereiken, moet er goede kennis zijn over welke genen een rol kunnen spelen

in de verschillende ondersoorten borstkanker en wat hun effecten zijn op therapieën. En als deze genen zorgen voor resistentie tegen een medicijn, dan moet bekend zijn welke andere behandelingen mogelijk zijn of hoe deze resistentie omzeild kan worden.

Een van de meest agressieve ondersoorten borstkanker is de zogenaamde 'HER2-positieve' (HER2+) borstkanker. Deze ondersoort wordt veroorzaakt door een vermeerdering van het gen *ERBB2* (die ook wel *HER2* wordt genoemd), waardoor deze te actief is (overexpressie) en er teveel van zijn eiwit wordt gemaakt. Het ERBB2-eiwit staat aan het begin van een hele keten processen die de cel aansturen (signaleringsroute). Te veel van dit eiwit zorgt voor een te sterk signaal (overactivatie) van de zogenaamde RAF/MEK/ERK/MAPK-sigaleringsroute, waardoor de cel uit controle raakt en zo een kankercel wordt. Momenteel worden patiënten met deze HER2+ borstkanker behandeld met een antilichaam tegen dat ERBB2-eiwit ('Trastuzumab') of een medicijn die het signaal van het ERBB2-eiwit remt ('Lapatinib'). Beide therapieën zijn erg effectief en hebben de prognose van patiënten met HER2+ borstkanker sterkt verbeterd. Helaas komt vroeg of laat vaak resistentie voor, waarna de tumor niet meer reageert op de behandeling.

Om genen op te sporen die een rol spelen bij HER2+ borstkanker en deze resistentie, hebben we enkele screens uitgevoerd in experimentele modellen die overexpressie van het *ERBB2* gen hebben. Hierbij hebben we een virus (MMTV) gebruikt om het ontstaan van mutaties in borstkanker na te bootsen, wat 'insertiemutagenese' genoemd wordt. Het MMTV-virus integreert namelijk willekeurig in het DNA, waar het genen in de buurt kan aanzetten. In sommige gevallen zijn dat genen die kanker kunnen veroorzaken (oncogenen). In het DNA van de tumoren die daardoor uitgroeien kan de locatie van het geïntegreerde MMTV-virus worden achterhaald. Als het MMTV-virus in verschillende tumoren op dezelfde locatie in het DNA wordt aangetroffen, wijst dat erop dat er op deze locatie waarschijnlijk een oncogen zit.



**Hoofdstuk 2** beschrijft de resultaten van deze insertiemutagenese screens. Het oncogen dat in deze screens het sterkst gecorreleerd was met de genetische oorzaak van HER2+ borstkanker is *ERAS*. Dit oncogen was nog nooit eerder in verband gebracht met borstkanker. Hoofdstuk 2 laat zien dat het *ERAS*-gen normaal gesproken uit staat in alle weefsels, inclusief borstweefsel, en alleen in embryonale cellen aan staat. Als het gen om wat voor reden dan ook (zoals een mutatie) toch aan komt te staan, dan zorgt het resulterende ERAS-eiwit voor overactivatie van de zogenaamde PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute. Deze signaleringsroute speelt een zeer belangrijke rol bij vele vormen van kanker. In hoofdstuk 2 wordt bevestigd dat overactivatie van deze PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute door ERAS zorgt voor snellere celdeling en tumorgroei. Ook wordt er aangetoond dat het *ERAS*-gen aan staat in ruim 10% HER2+ borsttumoren uit de kliniek.

Uit de resultaten van hoofdstuk 2 en eerdere screens in ons lab, werden ook twee andere oncogenen gevonden die de PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute activeren, namelijk *IGF2* en *IRS4*. *IGF2* was al een bekend oncogen in borstkanker en de vondst van *IGF2* in onze screens is daarmee een bevestiging dat de screens klinisch relevante resultaten genereren. **Hoofdstuk 3** laat zien dat *IRS4* een nieuw oncogen is in borstkanker. Net als bij *ERAS* staat het *IRS4*-gen normaal uit in vrijwel alle weefsel, inclusief borstweefsel. Ook zorgt het aanzetten van het gen voor sterke tumorgroei door overactivatie van de PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute. Het *IRS4*-gen blijkt vrijwel alleen aan te staan in twee ondersoorten borstkanker, waaronder de HER2+ ondersoort, waar het gen in zo'n één op de tien tumoren aan blijkt te staan. Hoofdstuk 3 laat ook zien dat het IRS4-eiwit uniek is in vergelijking met zijn familieleden (*IRS1* en *IRS2*), omdat het continu actief is. *IRS1* en *IRS2* moeten daarentegen eerst geactiveerd worden door signalen van hoger in de signaleringsroute en worden later weer gedeactiveerd door het enzym SHP2. Er wordt aangetoond dat het deactiverende SHP2-enzym niet kan binden met *IRS4* doordat de bindingsplaats voor SHP2 zoals die op *IRS1* en *IRS2* niet voorkomt op *IRS4*. Daardoor zorgt *IRS4* voor een permanente overactivatie van de PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute.



Zowel ERAS (hoofdstuk 2) als IRS4 (hoofdstuk 4) blijken een versterkende werking (synergie) te hebben met ERBB2 op het aandrijven van celdeling en tumorgroei. Dit is een zeer forse toename ten opzichte van ERBB2 alleen, dat van zichzelf dus al kanker veroorzaakt. De belangrijkste oorzaak daarvoor is de overactivatie van de PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute door ERAS of IRS4. In **hoofdstuk 4** wordt bovendien aangetoond dat deze overactivatie door ERAS of IRS4 er ook voor zorgt dat cellen en tumoren met *ERBB2* overexpressie resistent zijn tegen Trastuzumab en Lapatinib: de standaardtherapieën voor HER2+ borstkanker. Ook blijken cellen die normaal gevoelig zijn voor Trastuzumab en Lapatinib, na herhaaldelijke suboptimale behandeling, snel resistent te worden door het aan zetten van het *ERAS*- of *IRS4*-gen. HER2+ borsttumoren lijken dus al vanaf het begin resistent zijn of tijdens behandeling resistent te kunnen worden door ERAS en IRS4. Hoofdstuk 4 laat ook zien dat deze resistentie mogelijk tegengegaan kan worden door de activiteit van het PI3K-eiwit in de PI3K/AKT/mTOR-signaleringsroute te remmen.

In **hoofdstuk 5** worden al deze resultaten in een breder perspectief geplaatst en worden mogelijke klinische oplossingen bediscussieerd. Zo wordt er besproken welke verbeteringen in diagnostiek en klinische tests kunnen bijdragen om gepersonaliseerde therapie te kunnen bereiken. Ook worden mogelijke behandelingsmogelijkheden in HER2+ borstkanker besproken die verder onderzocht zouden moeten worden. Er worden hypothesen voorgesteld over het onderliggende mechanisme waardoor de genen *ERAS*, *IRS4* en *IGF2* in tumoren van patiënten mogelijk aan komen te staan. Daarnaast wordt er opgemerkt dat *ERAS*, *IRS4* en *IGF2* alle drie een rol spelen in zowel kanker als embryonale ontwikkeling en de mogelijke link daartussen: kankerstemcellen, wat verder uitgezocht zal moeten worden.

De 'oude' techniek van insertiemutagenese met het MMTV-virus is vroeger al niet veel gebruikt en is in de afgelopen decennia steeds verder overschaduwd door nieuwere methodes voor screens. Dit proefschrift laat echter zien dat MMTV-insertiemutagenese nog een grote toegevoegde waarde heeft voor het ontdekken van oncogenen in borstkanker, zeker binnen de verschillende ondersoorten



borstkanker. In hoofdstuk 5 worden bovendien enkele belangrijke technische en praktische voordelen van MMTV-insertiemutagenese ten opzichte van de nieuwere screening methodes besproken, waaronder dat MMTV verreweg het meest onbevooroordeeld is waar het integreert in het DNA. Het concludeert dat de kennis uit MMTV-insertiemutagenese screens ongetwijfeld zal blijven bijdragen aan het bereiken van gepersonaliseerde therapie.



## Op de omslag

Een menselijke cel weergegeven als een printplaat van een computer. Het elektronisch circuit stelt de belangrijkste signaleringsroutes in de cel voor. De meest relevante signalerings-eiwitten zijn hierin weergegeven als cirkel (in de cel) en vierkant (van buiten de cel). De hoofdrolspelers van dit proefschrift staan hier rechts aangegeven. De andere componenten in het schema zijn de celorganellen (de 'hardware'), waaronder de celkern met het DNA (de 'software'). Zowel in computers als in cellen kunnen foutjes in de schakeling of verwerking van informatie (vaak veroorzaakt door mutaties) het hele systeem in de war sturen. Zo is kanker het gevolg van dergelijke defecten in cel signalering. Gelukkig zijn zowel computers als cellen programmeerbaar, dus kunnen foutjes weer hersteld worden. Het systeem is echter erg complex en ons overzicht ervan nog onvolledig. Dit proefschrift maakt dit schema iets completer, zodat we beter begrijpen wat voor effecten bepaalde veranderingen in signalerings-netwerken van een cel hebben op het ontstaan en bestrijden van kanker.

