

CHAPTER 8

Samenvatting

Alvleesklierkanker kan ontstaan uit exocriene cellen die onder andere vertering-senzymen produceren, of endocriene cellen die hormonen produceren. In insuline producerende endocriene pancreastumoren (EPTs), zogenaamde insulinomen, kan een ongecontroleerde hormoonproductie leiden tot levensbedreigende symptomen zoals een lage bloedglucose.

Op dit moment zijn er geen goede klinisch bruikbare assays beschikbaar die goedaardige van kwaadaardige tumoren kunnen onderscheiden.

Het doel van dit promotieonderzoek was om een beter inzicht te krijgen in de moleculaire processen die ten grondslag liggen aan het ontstaan van insulinomen. Verder werd gezocht naar moleculaire markers die een betrouwbaar onderscheid kunnen maken tussen goedaardige en kwaadaardige tumoren en de prognose van insulinoma patiënten kunnen voorspellen.

Hoofdstuk 1 introduceert de klinische en moleculaire karakteristieken van insulinomen.

In **hoofdstuk 2** is een serie van 62 sporadische insulinomen bestudeerd om de rol van mutaties in het multi-pele endocriene neoplasie type 1 (*MEN1*) gen en chromosomale afwijkingen in de ontwikkeling en de maligne progressie van deze tumoren te bestuderen. Er werd slechts 1 tumor met een *MEN1* mutatie gevonden, wat impliceert dat mutaties in dit gen geen belangrijke rol spelen in de ontwikkeling van insulinomen. Met behulp van de conventionele “comparative genomic hybridization” (CGH) techniek hebben we gevonden dat het totaal aantal chromosomale afwijkingen per tumor sterk verschilt tussen benigne en maligne tumoren (4.2 versus 14.1, $p < 0.0001$). Door gebruik te maken van de aanwezigheid van tenminste 8 chromosomale afwijkingen per tumor als een grenswaarde voor chromosomale instabiliteit (CIN), bleek deze parameter een sterke indicator voor maligniteit. Verder bleek winst van chromosoom 9q de meest frequente afwijking te zijn in zowel benigne als maligne insulinomen en bleken verlies van chromosoom 6q en winst van chromosoom 12q, 14q en 17pq sterk geassocieerd te zijn met metastasering.

Om de resolutie van de conventionele CGH techniek (5-10 Mb) te verbeteren en tevens de betrouwbaarheid van de analyse van DNA kopieaantal veranderingen in de repetitieve regio's te verhogen, hebben we gebruik gemaakt van de CGH techniek op microarrays met 3700 genomische DNA klonen (resolutie ~1 Mb). Met behulp van deze array CGH techniek hebben we een serie van 27 insulinomen bestudeerd (**hoofdstuk 3**). De meest frequent gedetecteerde afwijkingen met behulp van array CGH waren verlies van chromosoom 11q en 22q en winst van chromosoom 9q met als kritische regio's 11q24.1 (56%), 22q13.1 (67%), 22q13.31 (56%), en 9q32 (63%). Evaluatie van de aanwezigheid van de verschillende afwijkingen per tumor toonde aan dat winst van chromosoom 9q32 en verlies van

22q13.1 vroege genetische afwijkingen zijn in de ontwikkeling van insulinomen en onafhankelijk van de andere afwijkingen kunnen voorkomen. In tumoren met een toegenomen genomische complexiteit worden deze afwijkingen vaak samen aangetroffen in dezelfde tumorcellen. Verlies van 11q24.1 en 22q13.31 worden ook geassocieerd met deze verder gevorderde tumoren. De geïdentificeerde chromosomale regio's bevatten hoogstwaarschijnlijk cruciale kandidaatgenen met een belangrijke rol in de tumorigenese van insulinomen.

In **hoofdstuk 4** zijn verschillende voorgestelde prognostische markers in de tumorigenese van EPTs, zoals proliferatie index, tumorgrootte, p53, cytokeratine 19 status en CIN, geëvalueerd om metastasering te voorspellen in een serie van 22 insulinomen. Omdat slechts 1 van de 10 maligne tumoren een *TP53* mutatie bleek te bezitten en cytokeratine 19 immunopositiviteit gedetecteerd werd in 3 maligne tumoren en 1 tumor met onzeker gedrag, werden deze markers als niet geschikt bevonden. Array CGH analyse toonde aan dat ≥ 20 chromosomale afwijkingen van tenminste 10 Mb grootte en ≥ 6 verliezen van klonen aan de telomeer uiteinden de beste voorspellers zijn van maligne progressie.

In **hoofdstuk 5** is de waarde van CIN, tumorgrootte, proliferatie index en cytokeratine 19 status getest om de klinische prognose van 47 insulinoma patiënten en 24 patiënten met andere EPTs te voorspellen. Zowel CIN als specifieke chromosomale afwijkingen, zoals verlies van chromosoom 3p en 6q en winst van chromosoom 12q, bleken de sterkste indicatoren te zijn voor een slechte tumorvrije overleving ($p \leq 0.0004$) en tumorspecifieke dood ($p \leq 0.0113$) in insulinomen. CIN, chromosoom 7q winst en een proliferatie index $\geq 2\%$ bleken betrouwbaar in het voorspellen van een slechte tumorvrije overleving in de andere EPTs ($p \leq 0.0181$), terwijl cytokeratine 19 expressie de meest optimale voorspeller was van tumorspecifieke dood in deze tumoren. Dus de DNA kopieaantal status bleek de meest sensitieve en efficiënte prognostische marker te zijn voor insulinomen en tevens een potentiële marker voor de andere EPTs. Deze markers zouden gebruikt moeten worden om de klinische diagnose van deze tumoren te verfijnen.

Tenslotte wordt in **hoofdstuk 6** de vooruitgang die geboekt is in het insulinoma onderzoek bediscussieerd samen met de resultaten die beschreven zijn in dit proefschrift. Tevens worden de toekomstplannen beschreven. Deze bestaan uit het ontwikkelen van een eenvoudige test om de klinische prognose van insulinomen te voorspellen, alsmede de verdere evaluatie van kandidaatgenen in de betrokken chromosomale regio's. De geïdentificeerde genen zullen onze kennis van de moleculaire pathogenese van insulinomen vergroten en, uiteindelijk, bijdragen aan de ontwikkeling van nieuwe therapeutische strategieën in de toekomst.