

p53 in diagnose en behandeling van het hoofd-hals carcinoom.

A. Kropveld



Het p53 gen vervult een cruciale rol in de celcyclus regulatie. Bij DNA schade wordt het p53 gen geactiveerd en treedt celcyclus arrest op, gevolgd door apoptose of DNA reparatie. Bovendien is het gen in $\pm 60\%$ van de hoofd-hals (HH) plaveiselcelcarcinomen gemuteerd. Gezien deze eigenschappen wordt in het proefschrift een

tweetal klinische vraagstellingen onderzocht. Zijn p53 afwijkingen met gangbare DNA exon mutatie-analyse (exon 5-9) in combinatie met p53 immunohistochemie van voorspellende waarde bij radiotherapie en kan p53 als clonale merker gebruikt worden bij de differentiatie tussen additionele primaire tumor en metastase?

De aanwezigheid van p53 afwijkingen blijkt niet van predictieve waarde bij in opzet curatief bestraalde T2 larynx carcinoom patiënten met en zonder recidief. Overexpressie van p53 eiwit zonder een genmutatie blijkt geen fysiologische respons van wildtype p53 eiwit op genotoxische stress. p53 eiwit overexpressie en p53 mutatieanalyse bij 15 patiënten met een primair HH- carcinoom met halskliermetastase worden bepaald, waarbij p53 mutaties in slechts 13% van de patiënten overeenkomen. In beide studies is de concordantie tussen p53 eiwit overexpressie en -genmutatie slechts 50%. Geconcludeerd wordt dat exonanalyse waarschijnlijk onvoldoende betrouwbaar is en dat een verbeterde mutatieanalyse techniek ontwikkeld dient te worden.

Derhalve wordt de p53 Sequenced Based Mutation Analysis (SBMA) ontwikkeld. Het gehele p53 DNA en -mRNA wordt direct gesequenced. Data worden opgeslagen in een p53 databank, waarmee kleine klonen van sequentie artefacten kunnen worden onderscheiden. Met SBMA worden 6 p53 polymorfismen geïdentificeerd en wordt de p53 sequentie aan-

gepast, hetgeen directe gevolgen heeft voor primer-ontwikkeling.

Met SBMA kunnen alle typen mutaties op deze manier in zowel DNA als mRNA gevonden worden. Aanvullend kan mutatiespecifieke detectie middels een Oligo Ligatie Assay (OLA) plaatsvinden. Twee patiënten met multipele tumoren en metastasen op afstand worden gedemonstreerd, waarbij onderscheid gemaakt kan worden tussen tweede primaire tumor en metastase(n).

Bij 25 HH-carcinoom patiënten blijkt het p53 mutatiepercentage met SBMA 91% te zijn, hetgeen zeer hoog is. Alhoewel mutaties buiten het core domein volgens de (schaarse) literatuur zelden voorkomen, vinden wij 33 % van de mutaties buiten deze regio. Met SBMA is de concordantie tussen het type mutatie en p53 eiwit overexpressie duidelijk verbeterd (96%). Verlies van heterozygotie (LOH) voor p53 wordt in 52% gevonden.

Met SBMA en OLA lijkt p53 dus een bruikbare clonale merker te zijn. De gerapporteerde mutatiefrequentie van 91% is hierbij een groot voordeel, terwijl dit tegelijkertijd een predictieve rol onwaarschijnlijk maakt. De bruikbaarheid van p53 mRNA- en OLA-analyse als clonale merker moet nog verder gevalideerd worden in grotere groepen. Nadien kan het probleem van de diagnostiek van multipele primaire tumoren onderzocht worden. Voor OLA analyse is een rol weggelegd bij de beoordeling van resectieranden en in de follow-up van de patiënten. Het gehele p53 gen dient geanalyseerd te worden. SBMA kan als uitgangspunt dienen voor p53 getherapie, omdat onderscheid tussen kleine tumorclonen en sequentie artefacten mogelijk is.

Samenvatting van het proefschrift "p53 in Treatment and Diagnosis of Head and Neck Cancer"

A. Kropveld

Verdedigd op 17 juni 1998 te Utrecht

Promotores: prof. Dr. P.J. Slootweg en

prof. Dr. G.J. Hordijk

Co-promotor: dr. M.G.J. Tilanus

Dr A. Kropveld, arts-assistent
Academisch Ziekenhuis Utrecht
Heidelberglaan 100
3584 CX Utrecht