



Samenvatting

De gemiddelde overleving voor patiënten met hoofdhals kanker ligt rond de 50%, maar varieert sterk tussen verschillende groepen patiënten met verschillende eigenschappen. Voor het maken van behandelkeuzes worden momenteel alleen klinische eigenschappen gebruikt. De beslissing over welke behandeling gegeven moet worden, vaak onder andere bestaande uit radiotherapie, wordt gebaseerd op de locatie van de tumor en TNM stadiëring, eigenschappen die overigens maar een klein percentage van de variatie in overleving kunnen verklaren. Het onderzoek dat wordt gepresenteerd in dit proefschrift beschrijft studies naar individuele biologische eigenschappen van hoofdhals tumoren. Messenger- en microRNA data worden gebruikt om te voorspellen welke tumoren ongevoelig zijn voor bestraling en wat het mechanisme hier achter is. Uiteindelijk moet dit leiden tot een beter begrip van de oorzaken van resistentie tegen bestraling, zodat een behandeling hier van te voren op kan worden aangepast en hoofdhals kanker patiënten de best mogelijke overlevingskans hebben met zo min mogelijk toxiciteit.

Hoofdstuk 1 geeft een algemene beschrijving van hoofdhals kanker en een overzicht van de bekende factoren die kunnen bijdragen aan het falen van radiotherapie. De doelstellingen en hoofdlijnen van dit proefschrift worden ook beschreven in dit hoofdstuk.

De eerste te beantwoorden vraag was of gen expressie data iets kunnen toevoegen aan klinische factoren bij het voorspellen van de uitkomst van een behandeling met (chemo-)radiotherapie voor hoofdhals kanker. In **hoofdstuk 2** laten we zien dat de toevoeging van gen expressie data het voorspellen van de recidiefkans na behandeling verbetert en waardevolle informatie toevoegt aan de bestaande klinische factoren die gebruikt worden om een inschatting te maken van de kans op locale controle na chemoradiotherapie voor gevorderde stadia van hoofdhals kanker.

Gen expressie data gemeten vóór behandeling van 75 hoofdhals kanker patiënten met een gevorderd stadium behandeld met chemoradiotherapie werden geanalyseerd. In deze serie werden een gepubliceerd hoog-risico profiel (Chung high-risk) en een HPV expressie profiel (Slebos) geanalyseerd in een model met bekende klinische voorspellers van locale controle: leeftijd ten tijde van diagnose, geslacht, tumor locatie, tumor volume, T-stadium en N-stadium. Alleen tumor locatie (mondholte vs. farynx, hazard ratio 4.2 [95% CI 1.4–12.5]), Chung gen expressie status (hoog vs. laag risico profiel, hazard ratio 4.4 [95% CI 1.5–13.3]) en HPV profiel (negatief vs. positief profiel, hazard ratio 6.2 [95% CI 1.7–22.5]) waren significante voorspellers van locale controle na chemoradiotherapie in een multivariaat model.

Hoofdstuk 3 beschrijft de analyse van een meer homogene serie patiënten, behandeld met alleen radiotherapie. De hypothese was dat deze serie een beter inzicht zou geven in de oorzaak voor stralingsongevoeligheid, zonder ruis veroorzaakt door heterogeniteit of het effect van klinische factoren.

Gen expressie werd bepaald op biopten genomen voor start van de bestraling van 52 patiënten met een T1-2 larynxcarcinoom. Aangezien het recidiefpercentage laag is in deze populatie, werden patiënten met een lokaal recidief 1:2 gematcht met patiënten zonder recidief voor de volgende factoren: T-stadium, locatie, behandeling, geslacht en leeftijd. Gen expressie profielen voor hypoxie, proliferatie en intrinsieke stralingsgevoeligheid correleerden niet met het krijgen van een recidief. Daarentegen was er een correlatie tussen de kans op recidief en een hoge expressie van vermeende stamcelmarker CD44 (odds ratio 20.2 [95% CI 3.4-172.3]). Met behulp van immunohistochemie werd deze bevinding in een onafhankelijke serie van 76 patiënten met kleine larynxtumoren gevalideerd.

Om meer inzicht te krijgen in de functie van CD44 werden gen expressie data van acht larynxcarcinoom cellijnen met een bekende gevoeligheid voor bestraling geanalyseerd. In deze cellijnen werd gezien dat CD44 expressie niet correleert met intrinsieke stralingsgevoeligheid, maar met plating efficiency, wat past bij een verband met kankerstemcellen.

In geen van de patiënten series in **hoofdstuk 2 en 3** waren eerder gepubliceerde gen sets voor stralingsgevoeligheid significant gecorreleerd met recidiefkans na (chemo-)radiotherapie. Dit was een onverwachte bevinding, aangezien het bekend is voor hoofdhalstumoren dat een ex vivo meting van stralingsgevoeligheid overeenkomt met recidiefkans na bestraling. Er werd daarom geconcludeerd dat er voor hoofdhalskanker geen adequaat gen expressie profiel bestond voor het voorspellen van intrinsieke stralingsgevoeligheid.

Hoofdstuk 4 beschrijft de zoektocht naar een gen set voor intrinsieke stralingsgevoeligheid. Deze set zou niet alleen nuttig zijn voor het voorspellen van stralingsgevoeligheid voor de start van een behandeling, maar zou ook kunnen bijdragen aan het ontdekken van processen die gericht kunnen worden aangepakt om intrinsieke stralingsgevoeligheid op te heffen. MicroRNA en messenger RNA expressie werden gemeten in bestraalde en onbestraalde cellen. In het totaal werden 32 hoofdhalshoofdelelcarcinoom cellijnen meegenomen in de analyse. De metingen in onbestraalde cellen correleerden met stralingsgevoeligheid, terwijl de gemeten respons op bestraling niet voorspelde welke cellen stralingsgevoelig waren. De aanwezigheid van epitheliale-naar-mesenchymale transitie (EMT) en een lage expressie van microRNAs die EMT inhiberen, waren belangrijke voorspellers van stralingsgevoeligheid. Deze bevinding werd bevestigd in twee onafhankelijke cellijn paren, waarin EMT werd geïnduceerd, leidend tot een verminderde gevoeligheid voor bestraling. Lage expressie van de belangrijkste microRNA (miR-203) correleerde sterk met intrinsieke stralingsgevoeligheid in cellijnen en tevens met een hoger recidief percentage na radiotherapie in een serie van 34 larynxcarcinoom patiënten.

In **hoofdstuk 5** laten we zien dat er verschillende sets van genen zijn gepubliceerd om hypoxie aan te tonen met haast geen overlappende genen tussen de verschillende sets. Niettemin komen deze zeer verschillende genen sets tot dezelfde conclusie. Vier gepubliceerde genen sets werden vergeleken met behulp van gen expressie data van 224 hoofdhalskanker patiënten uit drie verschillende datasets. Hoewel in de vier gevalideerde hypoxie profielen maar 2% van de genen in alle vier voorkwam, waren de onderlinge correlaties bij het categoriseren van de 224 patiënten erg hoog. De meeste auteurs gingen er van uit dat hun profiel een maat was voor acute en chronische hypoxie, maar de

gepubliceerde sets correleerden alleen met een *in vitro* gegenereerd chronisch hypoxie profiel en niet met een acuut hypoxie profiel. Bovendien voorspelde het acute hypoxie profiel beter welke patiënten een lokaal recidief kregen na chemoradiotherapie.

Hoofdstuk 6 betreft een algemene discussie van het onderzoek beschreven in dit proefschrift. In dit hoofdstuk worden mogelijke tekortkomingen van dit onderzoek bediscussieerd. In het laatste gedeelte worden perspectieven voor toekomstig onderzoek besproken.