

# OPLOSSINGEN IN HET PROTEOOM

Eiwitanalyses leveren kennis om **kanker** doelgerichter en patiëntvriendelijker te bestrijden, maar ondanks verbeterde diagnostiek en nieuwe therapieën blijkt de sprong tussen validatie in het lab en toepassing in de kliniek soms groot. Drie onderzoekers vertellen hun verhaal.

ARNO VAN 'T HOOG

## HOE VERANDER JE DE KLINISCHE PRAKTIJK?

“**P**roteomics in het kankeronderzoek levert zowel nieuwe diagnostiek als nieuwe aanknopingspunten voor behandeling”, vertelt Arzu Umar, hoofd van de Breast Cancer Proteomics groep van het Erasmus MC Kanker Instituut. Vorig jaar publiceerde haar groep een proteoomanalyse van agressieve, zogenaamde triple-negatieve borstkanker.

Bij dit type tumoren ontbreken diverse celreceptoren op het oppervlak, waardoor gerichte therapieën met hormonen en antilichamen geen effect hebben. De standaardbehandeling voor dit soort kanker is opereren en verwijderen van lymfeklieren gevolgd door preventieve chemotherapie om eventuele achtergebleven onzichtbare uitzaaiingen aan te pakken.

Maar omdat slechts dertig procent van de triple-negatieve borstkankerpatiënten uiteindelijk een uitzaaiing krijgt, stellen behandelaars het merendeel van de patiënten onnodig bloot aan een zware chemotherapie. Het is dus interessant om die twee klassen van patiënten van elkaar te scheiden. Umar deed dat met een proteomicsanalyse, op tussen 1985 en 2006 verzamelde stukjes tumor. De uitkomst van het ziekteverloop was dus voor elke patiënt bekend.

Kleine weefselmonsters van circa vierduizend cellen ontrafelde ze met nano LC-MS/MS. Uit dit onderzoek blijkt dat tumoren met een gunstige prognose een iets ander proteoom hebben dan tumoren met een neiging tot uitzaaien. “Met een profiel van elf eiwitten kun je dat onderscheid maken”, vertelt Umar. “Als je patiënten

### ‘Met elf eiwitten kun je een onderscheid maken’

test op dit profiel hoef je niet iedereen even rigoureus te behandelen. Het is voor het eerst dat er op deze schaal zo’n eiwitprofiel is gevalideerd.”

Toch levert validatie voorlopig geen nieuwe klinische aanpak. Umar: “De oncologen zeggen: *‘better safe than sorry’*. Zij geven liever alle patiënten dezelfde behandeling, want stel dat je iemand niet behandelt die toch een uitzaaiing krijgt. Dat is een terecht dilemma.”

#### BEGRIP

Bewijs uit trials met patiënten is onontbeerlijk om de klinische praktijk te veranderen. “Dat levert in het geval triple-negatieve borstkanker een bijkomend probleem op,” stelt Umar, “omdat men tegenwoordig in het kankeronderzoek geen

klinische trials meer uitvoert waarbij je een deel van de patiënten niet behandelt.”

Los van diagnostiek leverde het eiwitprofiel de onderzoekers ook beter begrip van de tumorbiologie. Zo is een van de profieleiwitten (FTH-1) betrokken bij het

ijzermetabolisme in de cel. Tumoren met een gunstige prognose hebben veel van het ijzerbindende eiwit in het cytoplasma. Ze trekken daardoor interferon producerende afweercellen aan. Umar: “Waarschijnlijk zet dit ijzereiwit het cyto-

toxische immuunsysteem aan, gericht tegen de tumor. Dat wil ik graag verder onderzoeken. Mijn visie is dat je een tumor niet alleen met remmers de baas kunt; je zult ook het immuunsysteem van de patiënt moeten inschakelen.” |

## BIOCHEMISCHE TRUKENDOOS

“Kankercellen zijn van nature **K**ontsnappingskunstenaars”, zegt Connie Jimenez, hoofd OncoProteomics Laboratorium van het VUmc in Amsterdam. “Zelfs wanneer een antitumormiddel in eerste instantie heel effectief de groei remt, blijkt dat uiteindelijk vaak van tijdelijke aard. Kankercellen gebruiken namelijk allerlei *escape pathways*, waarmee ze de werking van het middel kunnen omzeilen. De tumor wordt resistent en begint weer te groeien.”

De flexibiliteit van tumorcellen levert de verklaring waarom nieuwe antikankermiddelen relatief weinig opleveren. Behandeling met cetuximab, een antilichaam tegen een EGF-receptor op het oppervlak van darm- en keeltumoren, resulteert bijvoorbeeld in een paar maanden progressievrije overleving. Het middel werkt aanvankelijk effectief, maar uiteindelijk geneest geen enkele patiënt door resistentievorming van de tumor.

“Oncologen willen weten welke alternatieve celbiologische paden de tumor tijdens de behandeling gaat benutten”, zegt Jimenez. Want als je die routes kent, kun je ze blokkeren. “Met de juiste combinatie van remmers zou je een nieuwe therapie kunnen ontwerpen.”

Wie een goed beeld wil krijgen van de biochemische trukendoos van tumoren duikt in de proteomics. Knip alle eiwitten uit tumorweefsel in stukjes, scheid ze met vloeistofchromatografie en jaag de resulterende peptiden door een massaspectrometer. De enorme datastroom die uit de MS komt, kun je *in silico* terugvertalen naar de oorspronkelijke eiwitten.

### ‘We willen vals-positieven uit de screening halen’

Omdat bij kanker de celdeling centraal staat is het vaak interessant om naar kinases te kijken. Zij vormen de sleutelenzymen die signaalroutes activeren door andere eiwitten van een fosfaatgroep te voorzien. Het OncoProteomics-lab voert fosfoproteomics uit op diepgevroren biopten die oncologen verzamelden bij patiënten tijdens diagnostiek en therapie. Dit retrospectieve onderzoek brengt volgens Jimenez veranderingen in het proteoom voor en tijdens de behandeling duidelijk in beeld.

Jimenez: “Met fosfoproteomics kun je inzoomen op de signaaltransductieroutes

in een cel. Je kunt zien of een bepaalde kinase te hard aanstaat, of dat een feedbackmechanisme in werking is gezet.”

Een kandidaat vinden voor een nieuwe therapie is een eerste stap in een lange weg naar de kliniek. Jimenez: “Wat je retrospectief vindt in biopten, moet je uiteraard bevestigen in een prospectieve klinische trial. Dat kost tijd en geld en zonder private financiering van farmaceutische bedrijven is zo iets niet mogelijk.”

### SPECIFIEKER

Het verst gevorderd is het Amsterdamse lab met vroege detectie van darmkanker aan de hand van tumoreiwitten in ontlasting. Op dit moment vindt darmkankerscreening plaats aan de hand van sporen van het bloedeiwit hemoglobine in de ontlasting. Die aanpak werkt, maar is niet erg specifiek, omdat hemoglobine niet per se op een tumor wijst. Een eiwitanalyse kan veel specifiek inzoomen op tumoreiwitten.

Jimenez: “We valideerden deze test inmiddels in driehonderd patiënten. We gaan nu de prospectieve fase in, waarbij we meeliften op de monsters uit het bevolkingsonderzoek naar darmkanker. We willen de bestaande bloedtest niet vervangen, maar wel de vals-positieve en vals-negatieve uitslagen uit de eerste screening halen.” Ongeveer de helft van de positieve diagnoses blijkt namelijk vals-positief. |

## HETEROGENITEIT

**M**assaspectrometrie kun je ook als beeldvormende techniek inzetten om de heterogeniteit van tumoren in kaart te brengen. Zo liet Maarten Altelaar van de Biomolecular Mass Spectrometry and Proteomics groep van het Bijvoet centrum voor biomoleculair onderzoek in Utrecht begin dit jaar in *The Journal of Pathology* zien dat een tumor vaak uit subpopulaties van verschillende cellen bestaat. Altelaar gebruikte een MALDI-MS om het oppervlak van tumorbiopten te analyseren. De Utrechtse onderzoeker stelt dat je hiermee de heterogeniteit van tumoren kunt screenen. “Het voordeel is dat je geen monsterbewerking hoeft te doen, maar je krijgt daardoor ook geen gedetailleerd beeld van het proteoom.”

Deze aanpak levert letterlijk een oppervlakkig beeld van de tumor. Om echt zicht te krijgen op de cellulaire processen is LC-MS/MS onontbeerlijk, waarbij je eiwitten eerst scheidt van de rest van de celinhoud. Met die aanpak spoorde de Utrechtse groep vorig jaar een kinase (ROCK1) in resistente tumoren op dat een interessant startpunt vormt voor een nieuwe melanoomtherapie.

