



The hedgehog pathway in basal cell carcinoma

Target for diagnostics and therapy

M.G.H.C. Reinders

Op 15 februari 2019 promoveerde Marieke Reinders aan de Universiteit van Maastricht op het proefschrift *The hedgehog pathway in basal cell carcinoma. Target for diagnostics and therapy*. Haar promotor was prof. dr. P.M. Steijlen en haar copromotoren waren dr. K. Mosterd en dr. M. van Geel.



Marieke Reinders met haar promotor prof. dr. Peter M. Steijlen.

De *hedgehog* (Hh)-signaaltransductieroute speelt een belangrijke rol in de pathogenese van het basaalcelcarcinoom (BCC). In het overgrote deel van de BCC's worden mutaties gevonden in het *PTCH1*-gen. Dit tumorsuppressorgen codeert voor het PTCH1-eiwit dat onderdeel uitmaakt van de Hh-sigtaaltransductieroute. Het proefschrift gaat over doelgerichte systemische behandeling van het zeldzame, vergevorderde of uitgezaaide BCC met de Hh-remmer vismodegib. Daarnaast beschrijven we onderzoek naar het basaalcelnaevussyndroom (BCNS), een autosomaal dominante aandoening die gekenmerkt wordt door multipale BCC's, odontogene kaakcysten, cerebrale calcificaties en palmoplantaire pits. Het syndroom wordt onder andere veroorzaakt door kiembaanmutaties in het *PTCH1*-gen. In het proefschrift worden patiënten beschreven, bij wie deze mutatie slechts in een gedeelte van de lichaamscellen aanwezig is, zogenoemd genetisch mozaïcisme.

DEEL 1: BASAALCELNAEVUSSYNDROOM

Het eerste gedeelte van het proefschrift gaat over BCNS. Voor de totstandkoming van een nieuwe database voor het *PTCH1*-gen maakten we gebruik van de *Leiden Open Variation Database* (LOVD). Aan deze database werden 331 reeds eerder gepubliceerde *PTCH1*-mutaties en 117 nieuwe *PTCH1*-mutaties toegevoegd. Deze mutaties werden gevonden bij 141 patiënten met een positieve *PTCH1*-mutatieanalyse, uitgevoerd in het VUmc of het Maastricht Universitair Medisch Centrum. De database is vrij toegankelijk voor klinici en onderzoekers en kan online geraadpleegd worden op <http://www.LOVD.nl/PTCH1>.

De klinische kenmerken van 83 Nederlandse patiënten met een *PTCH1*-mutatie in het bloed werden verzameld, om een eventuele genotype-fenotypecorrelatie te ontdekken bij patiënten met BCNS. We maakten *heatmaps* om deze correlatie te visualiseren. In de eerste *heatmap* werd de locatie van de mutatie in het gen uitgezet tegen de klinische kenmerken. In de tweede *heatmap* werd het type mutatie uitgezet tegen de klinische kenmerken. We zagen een grote variabiliteit van zowel genotype als fenotype, zonder aanwijzingen voor een genotype-fenotypecorrelatie

Uit de literatuur is bekend dat slechts bij 40-85% van de patiënten met BCNS een *PTCH1*-mutatie in het bloed kan worden aangetoond. Dit zou verklaard kunnen worden doordat de oorzakelijke mutaties gesitueerd zijn in andere genen van de Hh-sigtaalroute of door de aanwezigheid van diep intronische mutaties die niet opgespoord kunnen worden met standaard technieken. Een andere verklaring zou de aanwezigheid van genetisch mozaïcisme kunnen zijn, waarbij slechts een deel van de lichaamscellen de pathogene mutatie bevat. Met standaard technieken, zoals Sanger-sequentiëring, kunnen mutatiepercentages kleiner dan 5% niet gedetecteerd worden. In het proefschrift worden een aantal patiënten met symptomen van BCNS beschreven, waarbij er sprake is van genetisch mozaïcisme als oorzaak van hun klachten. Bij één van deze patiënten, met op jonge leeftijd multipale BCC's en palmaire pits, vonden we in het bloed slechts een laag percentage cellen met een *PTCH1*-mutatie. De graad van het mozaïcisme werd

Dermatoloog, afdeling Dermatologie, Maastricht UMC+, Maastricht

bepaald met *Restriction Length Polymorphism Analysis en Droplet Digital Polymerase Chain Reaction*. Het percentage cellen met een mutatie was gemiddeld 16% in verschillende weefsels (bloed, wangslimvlies, urotheel). Deze bevindingen tonen aan dat een laaggradig mozaïcisme een klinisch beeld kan geven dat voldoet aan de diagnostische criteria voor BCNS. Bij twee andere patiënten met klinische verschijnselen van BCNS, konden we helemaal geen *PTCH1*-mutatie in het bloed detecteren. Bij beide patiënten werd door middel van *Next Generation Sequencing (NGS)*, in combinatie met een panel van genen uit de Hh-siginaalroute (*PTCH1, PTCH2, SUFU, SMO*), van hun BCC's aangetoond dat in verschillende tumoren identieke *PTCH1*-mutaties aanwezig waren. Bij deze patiënten was dus eveneens sprake van genetisch mozaïcisme, veroorzaakt door een postzygotische *PTCH1*-mutatie die enkel te vinden was in de aangedane huid. Bij slechts één van deze patiënten was een segmentele distributie van BCC's zichtbaar. Standaard technieken zijn niet altijd geschikt om laaggradig mozaïcisme aan te tonen. NGS van targetgenen is een sensitieve techniek en geschikt om de graad van mozaïcisme te kwantificeren. Bij patiënten met klinische kenmerken van BCNS en een negatieve *PTCH1*-mutatieanalyse in het bloed, kan genetisch mozaïcisme worden opgespoord door middel van genetische analyse van verschillende BCC's. De uitslag heeft implicaties voor de follow-up en keuze van behandelingen bij deze patiënten, maar ook voor de manier waarop genetische counseling plaatsvindt.

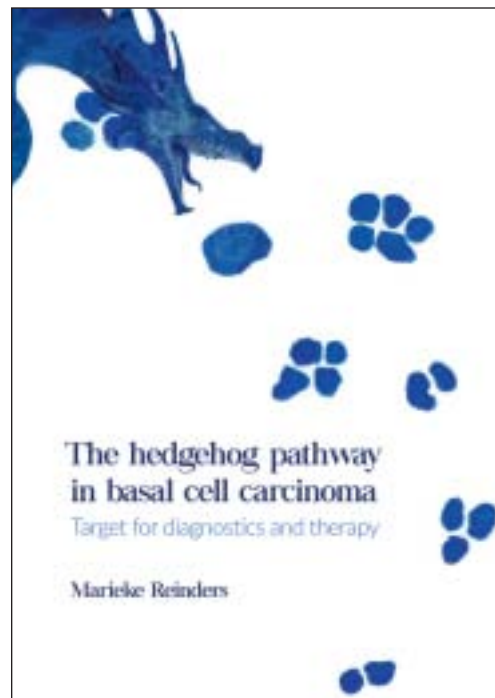
Toekomstperspectief

Implementatie van zorgpaden en een bredere inzet van genetische diagnostiek door een op NGS gebaseerd genenpanel is wenselijk voor patiënten met BCNS. Het zorgt ervoor dat we eerder de juiste diagnose kunnen stellen en dat patiënten het correcte screeningsprogramma, de juiste behandeling en een goede genetische counseling krijgen.

DEEL 2: BEHANDELING MET VISMODEGIB

Het tweede gedeelte van het proefschrift start met een beschrijving van de eerste Nederlandse patiënt die behandeld werd met de *hedgehog (Hh)*-signaaltransductieremmer vismodegib voor de indicatie gemetastaseerd BCC. Het BCC metastaseert slechts zelden, maar kent een slechte prognose. Er zijn geen prospectieve studies naar de behandeling van gemetastaseerd BCC met conventionele chemotherapie. Ten tijde van de casus waren Hh-remmers nog niet geregistreerd in Nederland voor de indicatie BCC. Patiënte kon in studieverband behandeld worden met de Hh-remmer vismodegib. Naast een aanhoudende complete remissie van de gemetastaseerde ziekte, verdwenen ook de multipole kleinere BCC's, die zij had in het kader van BCNS.

Aan de hand van drie patiëntencasussen afkomstig uit drie verschillende academische centra wordt een overzicht gegeven van de behandeling van gemetastaseerd en lokaal uitgebreid BCC met de Hh-siginaaltransductieremmer vismodegib. Ook bij sommige patiënten met BCNS heeft onderhoudstherapie met Hh-remmers een plaats. De effectiviteit van de behandeling voor de verschillende indicaties wordt besproken, evenals de bijwerkingen die kunnen optreden, zoals spierspasmen,



haar- en smaakverlies. De ontwikkeling van resistentie voor het medicijn is daarnaast een regelmatig voorkomend probleem. Behandeling van het BCC met Hh-remmers vindt bij voorkeur plaats in een multidisciplinair (hoofd-hals)team.

In de laatste hoofdstukken van het proefschrift worden twee casussen beschreven, waarbij er sprake is van resistentie voor vismodegib bij de behandeling van BCC. De eerste casus betreft een patiënte met een lokaal uitgebreid BCC op de linkerschouder, waarbij er initieel een complete respons optrad, maar tijdens behandeling een recidief ontstond. Genetische analyse van het recidief tumorweefsel, liet mutaties zien in het *smoothened* gen, die vóór de behandeling niet aanwezig waren in de tumor. Deze mutaties zijn verantwoordelijk voor de ontwikkeling van resistentie voor vismodegib. De tweede casus betreft een patiënt met een lokaal uitgebreid BCC in het gelaat, waarbij de beoordeling van het behandelresultaat werd bemoeilijkt door het ontstaan van benigne huidafwijkingen in het tumorgebied tijdens behandeling met vismodegib. Beide patiënten werden uiteindelijk chirurgisch behandeld voor het BCC.

Toekomstperspectief

Vanwege de trage groei van het BCC is te verwachten dat de incidentiestijging van het vergevorderde BCC achterloopt op die van het 'gewone' BCC. Het is daarom van belang om systemische behandeling voor deze patiëntengroep verder te optimaliseren. Hiervoor kan gedacht worden aan behandelstrategieën om de ontwikkeling van resistentie voor Hh-remmers tegen te gaan, zoals combinatie van verschillende therapieën. NGS wordt bij verschillende vormen van kanker gebruikt om het moleculaire profiel van een tumor te bepalen en de reactie op therapie te voorspellen en zou bij het BCC ook een grotere rol kunnen gaan spelen. Topicale Hh-remmers lijken een veelbelovende behandeloptie voor patiënten met BCNS en een fase 3-trial naar de werking hiervan in deze patiëntengroep is recent gestart.

CORRESPONDENTIEADRES

Marieke Reinders

E-mail: marieke.reinders@mumc.nl