



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Familial Melanoma and Pancreatic Cancer: studies on genotype, phenotype and surveillance

Potjer, T.P.

Citation

Potjer, T. P. (2019, May 29). *Familial Melanoma and Pancreatic Cancer: studies on genotype, phenotype and surveillance*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/73760>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/73760>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/73760> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Potjer, T.P.

Title: Familial Melanoma and Pancreatic Cancer: studies on genotype, phenotype and surveillance

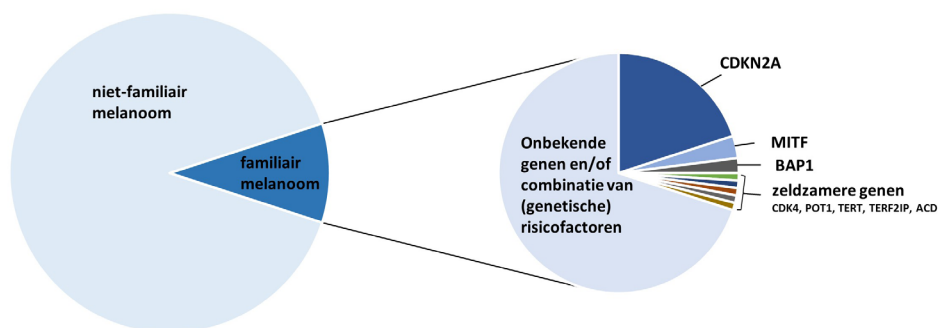
Issue Date: 2019-05-29

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Melanoom is de meest agressieve vorm van de frequent voorkomende typen huidkanker. Als melanoom niet vroegtijdig ontdekt en behandeld wordt, kan het in potentie uitzaaien naar andere organen zoals hersenen, longen, lever en botten. In Nederland worden er jaarlijks ongeveer 6000 patiënten met melanoom gediagnosticeerd. Van alle patiënten met melanoom heeft ongeveer 5-10% een naast familielid die ook melanoom heeft gehad. Bij maximaal 30-40% van deze patiënten met een familiale belasting kan een erfelijke aanleg voor het ontwikkelen van melanoom worden vastgesteld (zie *figuur*). De belangrijkste erfelijke eigenschap (gen) waarin afwijkingen (mutaties) worden gevonden in deze families is het *CDKN2A*-gen. *CDKN2A*-mutatiedragers hebben een sterk verhoogd risico (tot 70%) op het ontwikkelen van melanoom en krijgen vaak meerdere melanomen. De gemiddelde leeftijd waarop het eerste melanoom wordt vastgesteld is 39 jaar; ruim 15 jaar jonger dan de gemiddelde leeftijd van diagnose in de algemene bevolking. Naast een verhoogd risico op melanoom hebben *CDKN2A*-mutatiedragers ook een verhoogd risico op andere vormen van kanker, met name alvleesklierkanker (*pancreatic cancer*). Daarom spreekt men in dit kader ook wel van het “*familial melanoma-pancreatic cancer syndrome*”. In Nederland komt een hele specifieke mutatie in het *CDKN2A*-gen veel voor, namelijk een 19 baseparen deletie in exon 2 die p16-*Leiden* wordt genoemd. Van alle families met een *CDKN2A*-mutatie gaat het in 80% om de p16-*Leiden* mutatie. Deze specifieke mutatie is terug te voeren tot een gemeenschappelijk verre voorouder (anno 1707) woonachtig in de omgeving van Leiden en heeft zich verspreid onder vele nakomelingen waarvan het merendeel in de regio is blijven wonen. De p16-*Leiden* mutatie wordt daarom een *founder mutatie* genoemd, en de regio waar de meeste p16-*Leiden* mutatiedragers wonen een *genetisch isolaat*. Omdat het merendeel van de p16-*Leiden* mutatiedragers in de regio Leiden woont, is een groot deel van deze personen onder periodieke dermatologische controle in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC).

Het is gebleken dat het risico op alvleesklierkanker bijzonder hoog is voor p16-*Leiden* mutatiedragers, ongeveer 15-20% met een gemiddelde leeftijd van diagnose op 58 jaar. Alvleesklierkanker is een van de meest dodelijke vormen van kanker. Het wordt meestal pas in een gevorderd stadium ontdekt en heeft dan een zeer slechte prognose (5-jaars overleving <5%). Vanwege dit sterk verhoogde risico en de sombere prognose komen alle personen met een aangetoonde p16-*Leiden* mutatie in aanmerking voor periodiek onderzoek (surveillance) naar alvleesklierkanker vanaf de leeftijd van 45 jaar. In het LUMC bestaat deze surveillance uit een jaarlijks MRI-onderzoek gecombineerd met *magnetic resonance cholangiopancreatography* (MRCP) en optioneel een endo-echografie (EUS). Het doel van dit onderzoek is om alvleesklierkanker of voorlopers daarvan (precursors) in

een zo vroeg mogelijk stadium te ontdekken en te behandelen. De belangrijkste precursors van alvleesklierkanker zijn *pancreatic intraepithelial neoplasms* (PanIN, graad 1 tot 3) en *intraductal papillary mucinous neoplasms* (IPMN). Deze precursors, in het bijzonder IPMN, kunnen worden gedetecteerd met beeldvorming van de alvleesklier omdat ze zich manifesteren als kleine cysteuze afwijkingen van de afvoerkanalen van de alvleesklier. Een eerste evaluatie van het Leidse surveillanceprogramma voor alvleesklierkanker in 2011 toonde aan dat kleine tumoren en mogelijke precursors ontdekt en geopereerd kunnen worden, maar dat p16-Leiden mutatie dragers ook vaak agressieve (snelgroeïende) tumoren hebben.



FIGUUR Bij ongeveer 5-10% van alle mensen met melanoom komt melanoom ook in de familie voor. Bij slechts een deel hiervan kan een erfelijke oorzaak worden vastgesteld, meestal een verandering (mutatie) in het *CDKN2A*-gen.

Hoewel het *CDKN2A*-gen het belangrijkste hoog-risico gen voor melanoom is, en als zodanig ook altijd getest zou moeten worden in families met een reële verdenking op een erfelijke aanleg voor melanoom, zijn er een aantal andere, veelal nieuw ontdekte genen die eveneens een sterke of matig-sterke associatie hebben met familiair melanoom. Dit zijn: *CDK4*, *BAP1*, *MITF*, *TERT*, *POT1*, *ACD* en *TERF2IP* (zie *figuur*). Mutaties in deze genen zijn echter veel zeldzamer dan mutaties in het *CDKN2A*-gen en voor de meeste van deze genen is er nog veel onduidelijk over de precieze risico's op melanoom en eventuele andere vormen van kanker. Bovendien is het nog niet bekend wat de frequentie is van mutaties in deze genen in de Nederlandse populatie. Ook zijn er meerdere kandidaat melanoomgenen beschreven die vaak gevonden zijn met genoombrede sequencing (*whole exome sequencing*; *WES*) van grote melanoomfamilies, maar waarvan nog niet duidelijk is wat hun precieze rol is in de erfelijkheid van melanoom. Samen met het *CDKN2A*-gen kunnen deze nieuwe (kandidaat)melanoomgenen worden opgenomen in

een genenpanel voor erfelijk melanoom en worden getest in melanoomfamilies. Hierdoor kan de opbrengst van genetisch onderzoek naar erfelijk melanoom verbeteren.

Dit proefschrift heeft drie doelstellingen:

- 1) Het bestuderen van het gehele spectrum aan kankers bij *p16-Leiden* mutatiedragers, en onderzoeken of er andere genetische en niet-genetische factoren van invloed zijn op de hoogte van het risico op alvleesklierkanker
- 2) Het evalueren en verbeteren van het surveillance programma voor alvleesklierkanker bij *p16-Leiden* mutatiedragers
- 3) Het evalueren en verbeteren van genetische tests voor erfelijk melanoom

De studies in het eerste deel van dit proefschrift (hoofdstukken 2 tot en met 6) zijn gericht op personen met de *p16-Leiden* mutatie en hebben betrekking op de eerste twee doelstellingen. De studies in het tweede deel (hoofdstukken 7 en 8) zijn gericht op personen met familiair melanoom in het algemeen, het merendeel zonder *CDKN2A/p16-Leiden* mutatie, en hebben betrekking op de derde doelstelling.

Hoofdstuk 1 is een inleiding waarin de huidige kennis over familiair en erfelijk melanoom, de *p16-Leiden* founder mutatie in het *CDKN2A*-gen en het surveillance programma voor alvleesklierkanker in Leiden wordt besproken.

In **hoofdstuk 2** bestuderen we het risico op kanker in een cohort van 150 *p16-Leiden* mutatiedragers die in de tijd werden gevolgd (prospectief). Zoals verwacht kwamen melanoom en alvleesklierkanker het meeste voor, maar er werd ook een globaal verhoogd risico op andere vormen van kanker gezien, met name kankers in het hoofd-hals gebied (lip, mond- en keelholte). Daarnaast had een hoger dan verwacht aantal (niet-verwante) personen een carcinoïde tumor of een medische voorgeschiedenis van sarcoïdose. Het is bekend dat zowel alvleesklierkanker als kanker in het hoofd-hals gebied sterk geassocieerd is met roken in de algemene bevolking. In deze studie hadden *p16-Leiden* mutatiedragers die rookten een viermaal verhoogd risico op deze vormen van kanker vergeleken met niet-rokers. We concluderen daarom dat het belangrijk is om roken actief te ontmoedigen om zo deze frequent voorkomende kankers te kunnen voorkomen. Bovendien moet aan *p16-Leiden* mutatiedragers geadviseerd worden om laagdrempelig contact op te nemen met hun (huis)arts als er aanhoudende klachten zijn van heesheid, slikklachten of zweren in de mond- en keelholte. Jaarlijkse inspectie van de mond- en keelholte zou kunnen helpen om kanker in dit gebied in een vroeg stadium te ontdekken.

Het aantal personen met alvleesklierkanker in een *p16-Leiden* familie kan sterk variëren. Roken zou een deel van deze variabiliteit kunnen verklaren, maar het zou ook kunnen dat

er bij sommige p16-*Leiden* mutatiedragers additionele genetische risicofactoren aanwezig zijn die het risico op alveeskliekkanker beïnvloeden. In **hoofdstuk 3** onderzoeken we in een cohort van 185 p16-*Leiden* mutatiedragers, waarvan 50 met alveeskliekkanker, of het hebben van alveeskliekkanker geassocieerd is met zeven verschillende genetische risicovarianten (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) die we selecteerden op basis van grote genomwijde associatiestudies van niet-erfelijk alveeskliekkanker. We vonden daarbij geen associatie met deze SNPs. We veronderstellen dat het cohort wellicht te klein was om een associatie te vinden, dat sommige personen ten onrechte in de controlegroep zaten omdat ze misschien op latere leeftijd alveeskliekkanker krijgen en daardoor mogelijk een vertekenend beeld hebben kunnen geven, of dat er geheel andere SNPs zijn die het risico op alveeskliekkanker bij p16-*Leiden* mutatiedragers daadwerkelijk beïnvloeden.

De studies in hoofdstukken 4 tot en met 6 zijn gericht op het surveillance programma voor alveeskliekkanker bij p16-*Leiden* mutatiedragers. In **hoofdstuk 4** vergelijken we de frequentie en het beloop van precursors van alveeskliekkanker en alveeskliekkanker zelf tussen het Leidse p16-*Leiden* surveillance cohort (n=116) en een Duits surveillance cohort van personen uit families met familiair alveeskliekkanker (*familial pancreatic cancer*; FPC) (n=125). We toonden aan dat de frequentie van alveeskliekkanker in het p16-*Leiden* cohort tien keer hoger was, maar dat op de MRI zichtbare cysteuze afwijkingen van de afvoerkanalen van de alveesklier (oftewel precursors) veel vaker voorkwamen in het FPC-cohort. Resectiepreparaten in het FPC-cohort toonden vaak IPMN en PanIN2-3 precursors, die slechts zelden werden gezien in het p16-*Leiden* cohort. P16-*Leiden* mutatiedragers ontwikkelden echter vaker alveeskliekkanker uit een precursor. Precursors bij p16-*Leiden* mutatiedragers hebben daarom mogelijk een hogere kwaadaardigheid in vergelijking met precursors bij personen uit FPC-families. We concluderen daarom dat een intensiever surveillance programma kan worden overwogen voor p16-*Leiden* mutatiedragers.

In **hoofdstuk 5** beschrijven we twee hoog-risico patiënten (één p16-*Leiden* mutatiedragers en één *BRCA2* mutatiedragers) die een tweede primaire alveeskliekkanker ontwikkelden na een gedeeltelijke alveesklierverwijdering vanwege een vroeg-stadium (T1-2N0M0) kanker twee tot vier jaar eerder. Deze gevallen illustreren dat er zeer waarschijnlijk een verhoogd risico is voor het ontwikkelen van een tweede primaire alveeskliekkanker bij hoog-risico patiënten die lang genoeg overleven na de eerste diagnose. We hebben daarom de voor- en nadelen van een totale alveesklierverwijdering (totale pancreatectomie; TP) besproken en geconcludeerd dat een TP moet worden overwogen bij hoog-risico patiënten (p16-*Leiden* mutatiedragers in het bijzonder) die gediagnosticeerd worden met een vroeg-stadium en prognostisch gunstige vorm van alveeskliekkanker.

Een belangrijke beperking van huidige surveillance programma's voor alvleesklierkanker is het feit dat de gebruikte beeldvormende technieken (MRI/MRCP en EUS) een suboptimaal vermogen hebben om relevante afwijkingen in de alvleesklier betrouwbaar te detecteren of te onderscheiden van minder relevante afwijkingen. De beslissing of een patiënt wel of geen alvleesklieroperatie moet ondergaan kan daarom soms erg moeilijk zijn. In **hoofdstuk 6** bestuderen we of een eerder geïdentificeerde, op eiwitten gebaseerde (*proteomics*) biomarker signatuur voor alvleesklierkanker in bloed toegevoegd zou kunnen worden aan het Leidse surveillance programma, als een additionele niet-invasieve test bovenop de gebruikte beeldvormende technieken. We konden met deze biomarker signatuur een nauwkeurig onderscheid maken tussen p16-*Leiden* mutatie dragers met alvleesklierkanker (*cases*; n=5) en p16-*Leiden* mutatie dragers zonder alvleesklierkanker (*controles*; n=61). De enige patiënt met histologisch (door de patholoog) bevestigde precursors (meerdere PanIN1-2 en IPMN) kon ook onderscheiden worden van andere controles. Bovendien werden de biomarker profielen niet verstoord door een (recente of niet-recente) diagnose van melanoom. Hoewel de resultaten veelbelovend zijn, is dit is een kleine voorstudie met een beperkt aantal patiënten. Er is daarom meer onderzoek met een groter aantal patiënten nodig voordat deze biomarker test ingevoerd kan worden in het huidige surveillance programma voor alvleesklierkanker.

De hoofdstukken 7 en 8 vormen het tweede deel van dit proefschrift, waarin we ons richten op personen met familiair melanoom in het algemeen met als doel het verbeteren van genetische tests voor erfelijk melanoom. In **hoofdstuk 7** bestuderen we de associatie tussen *CDKN2A*-mutaties en de aanwezigheid van vijf klinische kenmerken in een melanoomfamilie, namelijk 1) het aantal familieleden met melanoom, 2) het aantal familieleden met multipele melanomen, 3) gemiddelde leeftijd van diagnose van melanoom in een familie, 4) aanwezigheid van alvleesklierkanker in een familie en 5) aanwezigheid van kanker in het hoofd-hals gebied in een familie. Het laatstgenoemde kenmerk was nog niet eerder in dit kader onderzocht. Met een specifieke statistische analyse (multivariate regressieanalyse) vonden we significante associaties voor elk klinisch kenmerk in een groot cohort van 1227 Nederlandse melanoomfamilies (13.7% met een *CDKN2A*-mutatie). Op basis van dit regressiemodel ontwikkelden we een praktisch en niet-computergestuurd scoresysteem genaamd *CM-Score*. Met behulp van een grotendeels Zweeds validatiecohort (n=421 melanoomfamilies; 9.0% met een *CDKN2A*-mutatie) toonden we aan dat *CM-Score* goed onderscheid kan maken tussen families met en zonder een *CDKN2A*-mutatie (*Area under the Curve* 0.94). In de praktijk wordt, voor het verrichten van genetisch onderzoek in een familie met een mogelijke erfelijke aanleg voor kanker, vaak een drempelwaarde van 10% kans op het vinden van een mutatie aangehouden. Deze drempelwaarde werd bereikt bij een *CM-Score* van 16

uit 49 punten. De kans op een *CDKN2A*-mutatie is erg laag bij families met een lagere score (<4%). We concluderen daarom dat analyse van het *CDKN2A*-gen in ieder geval aangeboden moet worden aan families met een *CM-Score* van 16 punten of meer.

In **hoofdstuk 8** onderzoeken we wat de opbrengst is van een multi genen paneltest bij 451 Nederlandse melanoomfamilies zonder mutatie in het *CDKN2A*(of *CDK4*)-gen. In totaal includeerden we 30 genen in de paneltest, bestaande uit 9 bekende hoog-risico en matig-hoog risico melanoomgenen en 21 kandidaat melanoomgenen. In 18 families vonden we een pathogene (ziekte veroorzakende) mutatie in een van de 9 bekende melanoomgenen, wat resulteerde in een diagnostische opbrengst van 4.0%. Drie van deze families hadden een pathogene mutatie in het *BAP1*-gen en 15 families hadden een pathogene mutatie in het *MITF*-gen (p.E318K variant). Het *BAP1*-gen is geassocieerd met verschillende vormen van kanker, waaronder huidmelanoom. De twee belangrijkste en meest frequent voorkomende vormen van kanker bij *BAP1*-mutatiedragers, namelijk oogmelanoom en maligne mesothelioom (borstvlieskanker), kwamen opmerkelijk genoeg niet voor in onze drie *BAP1*-families. Op basis van deze resultaten concluderen we dat *BAP1* en *MITF* altijd moeten worden opgenomen in een multi genen paneltest voor erfelijk *huidmelanoom*. In de vier bekende melanoomgenen die een functie hebben in de integriteit van telomeren (*POT1*, *ACD*, *TERF2IP*, *TERT*) vonden we slechts twee varianten van onduidelijke betekenis (in *ACD* en *TERF2IP*). Waarschijnlijk spelen deze telomeergenen dus maar een kleine rol in de Nederlandse melanoompopulatie. Daarnaast vonden we diverse varianten in de 21 kandidaat melanoomgenen, in het bijzonder in *OCA2*, *BRIP1* en *POLE*. Er is echter meer onderzoek nodig voordat deze genen of andere kandidaatgenen in de reguliere genetische diagnostiek naar erfelijk melanoom opgenomen kunnen worden.

Tot slot bespreken we in **hoofdstuk 9** de belangrijkste bevindingen van de studies in dit proefschrift in de context van recente literatuur. We introduceren in dit hoofdstuk de term “*CDKN2A*-geassocieerd tumorpredispositie syndroom” en doen een voorstel voor aanpassing van de huidige verwijscriteria voor *CDKN2A* analyse bij familiair melanoom. Ook benadrukken we de bijzondere positie die *CDKN2A* mutatiedragers hebben binnen surveillanceprogramma’s voor alvleesklierkanker en we bespreken wat dat zou kunnen betekenen voor de klinische praktijk. In de toekomst zal een verbetering van de verwijscriteria in combinatie met de toenemende mogelijkheden van multi genen paneltests ons in staat stellen om personen met een genetisch hoog risico op melanoom en andere vormen van kanker beter te kunnen identificeren. Samen met een verdere verbetering van complexe surveillanceprogramma’s zoals dat voor alvleesklierkanker zal dat uiteindelijk leiden tot een betere overleving én een betere kwaliteit van leven van deze personen.