

Titel proefschrift: Molecular mechanisms in the development of Barrett's esophagus

Door: Jantine W.P.M. van Baal

Promotiedatum: 15 december 2006

Promotor: Prof.dr. M.P. Peppelenbosch; afdeling cel biologie; UMCG, Groningen

Co-promotor: Dr. K.K. Krishnadath; afdeling Gastroenterology; AMC; Amsterdam

Barrett oesofagus is de metaplastische verandering van normale plaveisel epitheel van de distale slokdarm in een cilindrisch type epitheel als gevolg van chronische langdurende reflux van de zure en gallige maaginhoud in de slokdarm. Patienten met een Barrett oesofagus hebben een significant verhoogde kans om slokdarm kanker te ontwikkelen. De laatste 3 decennia is de incidentie van Barrett oesofagus en de daarmee gerelateerde kanker het sterkst gestegen van alle kankers in de Westerse wereld. Ondanks al het onderzoek op het gebied van Barrett oesofagus is de biologische basis van deze mucosale transformatie in de slokdarm niet goed begrepen.

In dit proefschrift wordt de biologische basis van Barrett esophagus onderzocht met verschillende "high-through-put" technieken. In een gedeelte van dit proefschrift wordt met behulp van gen expressie profiel analyses (gebruikmakende van de techniek SAGE) onderzocht welke genen specifiek een rol spelen in Barrett epitheel in vergelijking met normaal slokdarm epitheel en cardia epitheel van de maag. Er worden verschillende genen beschreven, die een rol kunnen spelen in de metaplastische transformatie van normaal plaveisel epitheel in een cilindrisch type epitheel. Uit de studie concluderen we dat Barrett epitheel overeenkomsten heeft met beide onderzochte epithelia en dat dit epitheel incompleet gedifferentieerd is. In deze studie beschrijven we verder een uniek Cytokeratine expressie profiel voor ieder epitheel.

Eén van de genen die specifiek tot expressie komt in Barrett oesofagus, BMP4, is gebruikt voor verder onderzoek naar de rol van BMP4 en de BMP signaal transductie route in de metaplastische transformatie van normaal slokdarm epitheel naar een Barrett oesofagus. De resultaten laten zien dat in esophagitis en Barrett epitheel de BMP route is geactiveerd. Verder laten gekweekte plaveisel cellen geïncubeerd met BMP4 zien dat de BMP route door middel van upregulatie van ID2 en phosphorylering van Smad 1/5/8 is geactiveerd. Vervolgens zijn de veranderingen in Cytokeratine patroon en gen expressie profielen onderzocht. De resultaten hiervan laten zien dat BMP4 incubatie een verschuiving in Cytokeratine expressie patroon en in gen expressie patroon van een plaveisel specifiek patroon naar een Barrett specifiek patroon veroorzaakt. Deze resultaten laten zien dat BMP4 een rol speelt in de ontwikkeling van een Barrett slokdarm.

Om de signaal transductie routes belangrijk in Barrett oesofagus te onderzoeken, hebben we de cellulaire kinase activiteit in Barrett slokdarm bestudeerd en deze vergeleken met de kinase activiteit profielen van normaal slokdarm epitheel en cardia epitheel van de maag. De activiteit van verschillende kinases blijkt significant verandert te zijn in vergelijking met de andere epithelia. Een opvallende bevinding was de verhoogde glycolytische activiteit in Barrett in vergelijking met zowel normaal slokdarm en cardia weefsel van de maag.

Om specifiek die genen die belangrijk zijn in de epithiale cel laag van een Barrett oesofagus te onderzoeken, hebben we SAGE gebruikt om de gen expressie profielen van primaire celkweken van Barrett en normaal slokdarm epitheel te analyseren en te vergelijken met biopten van respectievelijk Barrett oesofagus en normaal slokdarm epitheel dat niet alleen epitheel cellen bevat, maar ook stroma en

ontstekingscellen. Deze studie laat zien dat bepaalde genen specifiek tot expressie komen in de epitheel cellen (bijvoorbeeld Lipocalin 2, SOX4, Cytokeratin 7, Galectin 7 en Cyclin D1), terwijl andere alleen in de biopten worden gevonden en waarschijnlijk door de stromale, niet epitheliale weefsel cellen, in het biopt tot expressie komen (bijvoorbeeld Annexin A10, TFF1 en TFF2).

Vervolgens is er onderzoek gedaan naar de gen expressie profielen van slokdarm adenocarcinoom en plaveisel carcinoom in vergelijking met de profielen van respectievelijk Barrett oesofagus en normaal slokdarm weefsel. De transcriptoom analyse laat zien dat de moleculaire basis van deze kankers totaal verschillend is en dat beide weefsels hun eigen specifieke karakteristieken hebben.

Het hierboven beschreven promotieonderzoek is verricht op het Laboratorium voor Experimentele Inwendige Geneeskunde (LEIM), tegenwoordig Center voor Experimentele en Moleculaire Geneeskunde (CEMM), van het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam en de afdeling Cel Biologie van het Universitair Medisch Centrum Groningen, onder leiding van Prof. Dr. M.P. Peppelenbosch en Dr. K.K. Krishnadath.