

## Projektbeskrivelse: Non invasiv kræftdiagnostik

### Introduktion og mål

Kræft er rammer en tredjedel af befolkningen på et eller andet tidspunkt i deres liv. Antallet der kureres er steget over de sidste år, og der er meget der tyder på at kræftbehandling vil blive meget bedre i fremtiden. En af de vigtige faktorer for at en behandling af kræft går godt er at kræften opdages i god tid. Diagnosticering af kræft er svært at udføre tidligt. Da diagnosen i dag oftest først fastlægges ved alvorlige symptomer for kræftformen, hvor det i nogen tilfælde for sent at behandle. I dag findes der screeningsprogrammer for eksempelvis brystkræft som indkalder kvinder mellem 50 og 69år bliver tilbudt mammografiundersøgelse. Dog er det ikke alle kræftformer som kan screenes på denne måde. De typer screening, man har i dag er meget specifikke og undersøger oftest kun for en type kræft. Dermed kan andre typer af kræft, end dem man screener for gå usete hen. Det vil man kunne lave om på i fremtiden, ved at benytte viden om extracellulært miRNA. Med viden om at miRNA sekres fra cancerceller, vil man kunne detektere anormale mængder af miRNA i blod, urin eller spyt og dermed kæde det sammen med eksempelvis kræft. I denne opgave vil det undersøges hvordan man non-invasivt vil kunne opdage prostatakræft tidligere ved den fremgangsmåde.

### Baggrund

Cancerceller har en anden epigenetisk regulering af genekspression end normale celler. Dermed har cancerceller en anden ekspression af miRNA end normale celler. miRNA og miRISC der cirkulerer i cellers cytoplasma sekres, fra celler i form af exosomer eller extracellulære vesikler (EV), ud i det extracellulære matrix og diffunderer derfra over i blodbanen. I blod er miRNA i exosomer og EV meget stabile og bliver ikke nedbrudt af RNase. Grundet meget store ændringer i ekspresionen af bestemte miRNA i flere kræfttyper kan man måle signifikante ændringer af disse i exosomer og EV i blodet af disse i forhold til hos normale individer. Exosomer og EV kan fra blodet komme i urin og spyt og kan detekteres der (1). Derfor ser extracellulært miRNA lovende som en bred non-invasiv biomarkør for kræft. Dog er der udfordringer idet at det er vist at myeloid og lymphoid celler naturligt sekres store mængder af exosomer og EV med flere af de samme miRNA som er udtrykt meget i flere cancerceller (2). Da exosomer og EV har samme plasmamembran som de celler de stammer fra vil de også udtrykke de samme overfladeproteiner som disse, det vil kunne bruges til at selekttere hvilken exosomer og EV man ønsker at undersøge.

For at undersøge extracellulært miRNA's biomarkørpotentiale for kræft, ses på prosta kræft. I prostatakræft er miR-141 er kraftigt opreguleret(3)

### Hypoteser

At extracellulært miRNA kan bruges som biomarkør for kræft.

At man ved statistisk test, ikke vil finde kohærens mellem middelværdien for extracelulært miRNA sekret, i form af exosomer og EV, fra henholdsvis normale celler og prostatacancerceller.

At man med et kendt antal miR-141 kopier pr. mikrolitter serum, vil kunne bestemme, om en prøve kommer fra et normalt individ eller et individ med prostatakræft.

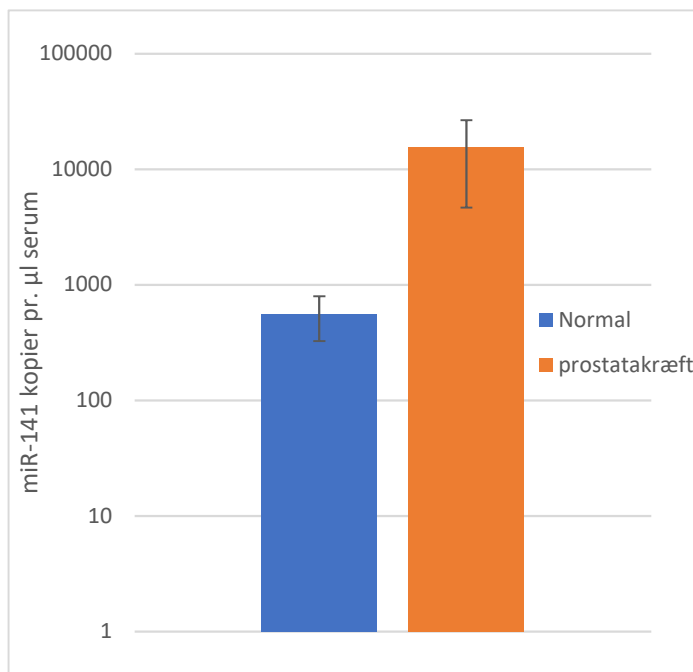
### Metode

Jeg har ikke selv kunne lave forsøg på prøver fra patienter men jeg har været på DTU bioingeniering og lavet et qPCR forsøg med simulerede prøver. Resultaterne vil der vil blive brugt er fra artikel (3). Metoden hvormed miRNA blev ekstraheret fra exosomer og EV, var med en lysesbuffer.

Dette er ikke så effektivt. Siden er ExoQuick kommet. ExoQuick er en polymer som binder sig til exosomer og danner et precipitat, som kan isoleres og lyses og dermed give stort udbytte. Måden hvorpå mængden af miRNA kan kvantificeres er via qPCR (uddybet i rapport).

## Resultater

Resultaterne er lavet på baggrund af faktiske patientdata, bestående af 25 normale individer og 25 individer med prostatakræft, som har fået målt deres niveau af extracellulært miR-141 i blodet. I figur 1 er forskel i middelværdi mellem illustreret med indsatte beregnede konfidensintervaller for middelværdi. Med Welchs t-test for middelværdi har jeg måtte forkaste at de to middelværdier er ens med 5% signifikansniveau. For at man må forkaste at en stikprøve stammer fra et normalt individ med 5% signifikansniveau skal prøven, bestående af et triplikat, have 1607 kopier miR-141 eller flere. Signifikansniveau sættes på 5% for at undgå for stor risiko for type 1 eller 2 fejl.



## Diskussion og konklusioner

- Databehandling viser at der ikke er signifikant sammenhæng mellem middelværdi af miR-141 hos raske individer og individer med prostatakræft. Hvilket er det ønskede resultat
  - Ønsket resultat, men med stor mulighed for større præcision i fremtiden.
- Derfor er det muligt, ud fra en ukendt prøve, at bestemme om den med størst sandsynlighed stammer fra en rask person eller en person med prostatakræft ud fra miR-141.
  - Dette kan overføres til andre kræfttyper med andre miRNA.
- Det er derfor muligt at bruge extracellulært miRNA som biomarkør fra kræft
  - Dog kræver det større datasæt for at bringe usikkerheden ned, hvis det skal blive et bedre alternativ til de metoder som der bruges i dag.

## Referencer

1. **Thind, Arron and Wilson, Clive.** Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets. *Journal of Extracellular Vesicles*. 2016.
2. **Pritchard, Colin and Kroh, Evan.** Blood cell origin of circulating microRNAs: a cautionary note for cancer biomarker studies. *Cancer Prevention Research*. 2011.
3. **Mitchell, Partrick and Parkin, Rachael.** Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008.