



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Cell-autonomous and host-dependent CXCR4 signaling in cancer metastasis : insights from a zebrafish xenograft model**

Tulotta, C.

### **Citation**

Tulotta, C. (2016, June 14). *Cell-autonomous and host-dependent CXCR4 signaling in cancer metastasis : insights from a zebrafish xenograft model*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/40160>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/40160>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/40160> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Tulotta, C.

**Title:** Cell-autonomous and host-dependent CXCR4 signaling in cancer metastasis : insights from a zebrafish xenograft model

**Issue Date:** 2016-06-14

# Chapter 8

## Dutch summary (Nederlandstalige samenvatting)

Kankercellen ontstaan ten gevolge van mutaties in de gezonde cellen. Deze genetische veranderingen resulteren in ongecontroleerde celdeling waardoor een tumor ontstaat. Tumoren kunnen invasief groeien in het omringende weefsel en bloedvaten aantrekken om de delende kankercellen van zuurstof en voedsel te voorzien. Bij een kwaadaardige tumor zijn er cellen die losraken en zich door het lichaam gaan verspreiden om uiteindelijk in andere weefsels uitzaaiingen oftewel metastasen te vormen, die meestal fataal zijn. Kankercellen zijn niet geïsoleerd van hun omgeving, maar overleven en prolifereren in een complex micromilieu onder invloed van de signaalmoleculen die daar worden geproduceerd. Er is toenemend bewijs dat de interactie tussen kwaadaardige cellen en het micromilieu de tumorontwikkeling kan bevorderen. Daarom zou het blokkeren van de communicatie tussen de tumor en het omringende weefsel een veelbelovende strategie kunnen zijn voor het bestrijden van kanker.

In dit proefschrift wordt de rol van de chemokinereceptor CXCR4 bij tumorprogressie beschreven. Chemokinen zijn signaalmoleculen (chemotactische cytokinen) die de gerichte migratie van cellen opwekken tijdens normale fysiologische processen en tijdens ziekteprocessen. In het geval van kanker worden chemokinen geproduceerd door zowel de tumor als door de cellen van het omringende weefsel (stromacellen) en activering van de corresponderende chemokinereceptoren induceert vervolgens celmigratie. In het micromilieu van de tumor komen immuuncellen voor (macrofagen en neutrofielen) die zowel tumor-onderdrukkende (anti-tumorogene) als tumor-bevorderende (pro-tumorogene) functies kunnen hebben. De macrofagen en neutrofielen beïnvloeden het ontstaan van tumoren, tumorgroei, angiogenese, invasie, metastasering, de interactie met het adaptieve immuunsysteem en de effectiviteit van anti-tumortherapieën. Recente ontwikkelingen binnen de oncologie en de kankerimmunologie hebben tot betere prognoses voor kankerpatiënten geleid. Om nog effectievere therapieën te kunnen ontwikkelen, is er meer inzicht nodig in de signaaltransductieroutes die een rol spelen bij de interactie tussen kanker en het immuunsysteem, met name in de mechanismen die de plasticiteit van immuuncellen reguleren en de metastasering van kankercellen beïnvloeden.

Het zebavis-xenotransplantatiemodel wordt gebruikt om de interactie tussen immuuncellen en tumorcellen te kunnen bestuderen vanaf het niveau van de individuele cellen tot aan het niveau van het gehele organisme. In dit model worden humane kankercellen waarin fluorescerende eiwitten tot expressie zijn gebracht, geïnjecteerd in de bloedbaan van twee dagen oude zebavisembryo's die fluorescerende immuuncellen of endotheelcellen hebben. Vervolgens kan de ontwikkeling van micro-metastasen geobserveerd en gekwantificeerd worden met behulp van microscopie en software voor data-analyse (Hoofdstuk 3). De eitjes van de zebavis worden buiten het lichaam bevrucht en de embryo's ontwikkelen zich binnen enkele dagen tot een larve waarin alle belangrijke organen zijn aangelegd. Omdat de embryo's en larven optisch transparant zijn, is het zeer goed mogelijk om het gedrag van de kankercellen en hun interactie met de cellen van het immuunsysteem en het endotheelweefsel te visualiseren. Parallel

aan xenotransplantatiemodellen zijn er ook transgene zebrawismodellen ontwikkeld waarmee verschillende typen tumoren in volwassen vissen bestudeerd kunnen worden, evenals de vroege stadia van kwaadaardige transformatie in zebrawislarven. Met deze onderzoeksmogelijkheden is de zebrawis een krachtig pre-klinisch model geworden voor het bestuderen van kanker en het ontwikkelen van nieuwe therapieën (Hoofdstuk 2).

In dit proefschrift wordt in het bijzonder aandacht besteed aan de rol van CXCR4, de receptor voor het chemokine CXCL12. Het onderzoek heeft zich enerzijds gericht op de functie die de CXCR4-receptor van de humane tumorcellen heeft bij het ontstaan van metastasen, oftewel de cel-autonome functie van CXCR4. Anderzijds is er onderzoek gedaan naar de rol die de Cxcr4-receptor van de zebrawis speelt bij de interactie die de neutrofielen en macrofagen aangaan met de kankercellen in de vroege metastatische niche, oftewel de gastheer-afhankelijke functie van Cxcr4. Het onderzoek heeft aangetoond dat zowel farmacologische als genetische inhibitie van de CXCR4-sigtaaltransductie in zogenoemde “triple negative” borstkankercellen de ontwikkeling van micro-metastasen in CXCL12-verrijkte weefsels kan verhinderen. Deze bevindingen ondersteunen de validiteit van het zebrawis-xenotransplantatiemodel waarin humane kankercellen reageren op chemokinen van de zebrawis. Het gebruik van een recent beschreven CXCR4-antagonist (IT1t) wordt voorgesteld als een potentiële behandeling voor “triple negative” borstkanker (Hoofdstuk 4).

In zebrawislarven komt Cxcr4 hoog tot expressie in neutrofielen en macrofagen. Het onderzoek in dit proefschrift heeft aangetoond dat de uitschakeling van deze immuuncellen of de mutatie van Cxcr4 in beide gevallen resulteert in een verminderde metastasering van humane kankercellen. Neutrofielen van zebrawislarven zonder functionele Cxcr4-receptor vertonen ontwikkelingsafwijkingen en een veranderde reactie op kankercellen. Ook werd er in zebrawislarven met de Cxcr4-mutatie een verminderd aantal macrofagen aangetroffen in de omgeving van kankercellen. Door de neutrofielen en macrofagen uit Cxcr4-mutanten te isoleren en hun expressieprofielen (het transcriptoom) te vergelijken met die van zebrawislarven zonder de mutatie (wildtype) kon worden aangetoond dat Cxcr4 de beweeglijkheid en adhesie van immuuncellen reguleert (Hoofdstuk 5).

Net zoals bij borstkankercellen, leidt de inhibitie van CXCR4 in Ewing-sarcomacellen tot een vermindering van de vorming van micro-metastasen na xenotransplantatie in zebrawislarven. Ook bij mutatie van de Cxcr4-receptor van de zebrawis werd weer een remmend effect op de verspreiding van Ewing-sarcomacellen gevonden. Een interessante waarneming in dit onderzoek was dat de expressie van CXCR4 toeneemt bij genetische inhibitie van MDMX, een negatieve regulator van de bekende tumorsuppressor P53. Bij kankercellen komen mutaties van P53 zeer frequent voor, maar Ewing-sarcoma's bezitten daarentegen vaak de wildtype-vorm van P53. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat stabilisering van P53 leidt tot apoptose van in zebrawisembryo's getransplanteerde Ewing-sarcomacellen. In overeenstemming hiermee reduceert de blokkade van MDMX de proliferatie van Ewing-sarcomacellen in het zebrawismodel. Op

grond van deze resultaten stellen wij een anti-MDMX/anti-CXCR4- combinatietherapie voor als potentiële behandeling voor Ewing-sarcoma om zowel de proliferatie van de tumorcellen als de vorming van micro-metastasen tegen te gaan (Hoofdstuk 6).

Concluderend, het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven heeft tot nieuw inzicht geleid in de centrale rol van de chemokinereceptor CXCR4 bij de metastasering van kankercellen. Op grond van de resultaten die verkregen zijn door onderzoek met het zebravis-xenotransplantatiemodel suggereren wij dat de ontwikkeling van anti-CXCR4-therapieën noodzakelijk is om de pro-tumorigene functie van het micromilieu van tumoren te beperken en zodoende kanker te bestrijden.



