



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Modulating the behaviour of pancreatic tumour cells

Vlecken, D.H.W.

Citation

Vlecken, D. H. W. (2015, January 28). *Modulating the behaviour of pancreatic tumour cells*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/31599>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/31599>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/31599> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Vlecken, Daniëlle

Title: Modulating the behaviour of pancreatic tumour cells

Issue Date: 2015-01-28

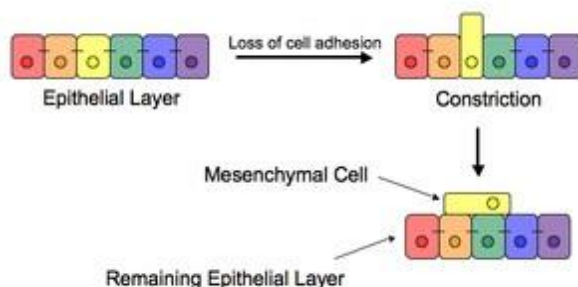
Beïnvloeding van het gedrag van kwaadaardige pancreas cellen

De pancreas (alvleesklier) is een orgaan in het abdomen dat bestaat uit een exocrien - en een endocrien deel, die verschillende functies hebben. De meest voorkomende vorm van alvleesklier kanker is de adenocarcinoom hoewel ook tumoren bestaande uit andere celtypen voorkomen. Alvleesklier kanker wordt doorgaans in een laat stadium opgemerkt, zodra lichamelijke klachten zich presenteren. Vaak hebben de tumorcellen zich ergens anders in het menselijk lichaam kunnen vestigen waar ze tot een nieuwe tumor kunnen uitgroeien. Als de patiënt zich meldt voordat metastatische ziekte geïnitieerd is, kan chirurgie een optie zijn. Echter door de complexe positionering van de alvleesklier in het abdomen (gedeeltelijk intraperitoneaal, draait om de aorta heen) is resectie niet altijd mogelijk.

Cellulaire processen in kwaadaardige tumoren

Voordat er een tumor ontstaat, groeit en zich uitzaait, moet zich eerst een aantal processen in de cel voltrokken hebben, voortkomend uit veranderingen (mutaties) in het DNA. Daarna vinden de drie hieronder beschreven stappen plaats.

1. Epitheel-mesenchym transitie (EMT): Bij EMT heeft een epitheelcel de vorm aangenomen van een mesenchymale cel (Figuur 1). Dit betekent dat de anders zo immobiele epitheelcel los kan breken uit het rigide weefsel en op een invasieve manier omliggende structuren kan binnendringen, waaronder de bloedbaan. Een transformatie is vaak een lange-termijn proces waarbij er adaptatie (aanpassing) plaatsvindt van de cel aan een “veranderde” en/of chronisch-irriterende omgeving.



Figuur 1: Processen die een EMT kenmerken: Een intacte epitheliale laag ondergaat een mutatie waarbij de adhesieve kenmerken van de cel aan de basale laag verloren gaan. Hierdoor wordt de cel eerst uit zijn vorm gedrukt waardoor hij vervolgens los kan komen uit het epitheel weefsel. Langzaam verandert de cel nu van een kubische, vaak gespecialiseerde, in een langerechte cel die in staat is tot migratie, maar hierdoor zijn vermenigvuldigings-integriteit en (secretieve) functies verloren is.

(Overgenomen van http://en.wikipedia.org/wiki/Epithelial%E2%80%93mesenchymal_transition)

2. Zodra er een tumor groeit, moet er, net als bij een orgaan, aanvoer van nutriënten en zuurstof zijn en afvoer van afvalstoffen en koolzuurgas. Zolang de tumor nog klein is, kan deze zichzelf van zuurstof en nutrienten voorzien door gebruik te maken van diffusie. Maar bij een toegenomen omvang kan er zuurstof tekort (hypoxie) optreden in de kern van het tumorweefsel. Hypoxie activeert via een aantal door de tumor afgescheiden signaal moleculen de aanleg van vasculatuur (angiogenese). Dit is een proces waarbij er vanuit bestaande bloed- en lymfevaten, een nieuw vaatstelsel aangelegd wordt, in de tumor. Dit proces mag niet verward worden met vascularisatie waarbij er vanuit een enkele haemopoietische stamcel een bloedvat aangelegd wordt. De tumorcellen werden behandeld met short interference RNA (si-RNA) en aansluitend werden ze gekleurd. Hierdoor konden de cellen gevolgd worden na transplantatie in de perivitelline ruimte van de dooierzak. Voor het angiogenese experiment werden de cellen voorafgaand aan transplantatie gesuspenderd in Matrigel®. Dit is een stof die lijkt op de basale laag in weefsels, met als eigenschap dat de cellen erin blijven zitten en niet migreren.

3. Op het moment dat er vaten van en naar de tumor zijn aangelegd, kan een van tumorcellen een bloedvat binnendringen (intravasatie) en het vervolgens op een andere locatie verlaten (extravasatie). Op deze plek kan de cel uitgroeien tot een nieuwe tumor. Deze gebeurtenis wordt aangeduid als metastase. Door aanvullende mutaties die de kwaadaardige cellen verworven hebben kunnen ze overleven in vreemde of vijandige omstandigheden. Hiervoor moeten cel-cel contacten en cel-matrix contacten doorbroken worden in de tumor. De metastaserende cel maakt dan gebruik van de aangelegde vasculatuur om door het lichaam te reizen en zich mogelijk elders te vestigen. De overlevingskansen van de patient zijn dan aanzienlijk slechter geworden, omdat operatie niet meer mogelijk is. Dat betekent dat de patient aangewezen is op andere behandelmethoden.

In deze studie is het gedrag van pancreas-tumorcellen onderzocht om meer zicht te krijgen op de impact die verschillende behandelingen hebben. In het eerste deel van de thesis is de verandering in

gedrag ten gevolge van het uitschakelen van genen bestudeerd. In het tweede deel zijn de effecten van diverse experimentele stoffen geanalyseerd op het moment dat ze bij de cellen gevoegd werden.

Genetische veranderingen in kwaadaardige pancreascellen

HOX genen zijn van essentieel belang voor segmentatie en patroonvorming van het lichaam tijdens de ontwikkeling van bijna alle dieren. HOX genen hebben vele functies tijdens de embryonale ontwikkeling en zijn sterk geconserveerd tussen soorten en in de tijd. De rol die HOX genen spelen in metastase en angiogenese van alvleesklier-tumorcellen wordt beschreven in het **tweede hoofdstuk**. Alle 39 HOX genen werden onderzocht door middel van *in vitro* en *in vivo* experimenten in zebravis embryo's. Niet alle HOX genen leken betrokken te zijn bij metastase en angiogenese. Daarnaast is het zo dat Hox genen in staat zijn elkaars functie over te nemen, dit is gebleken doordat uitschakeling van meerdere HOX genen resulteerde in gewijzigde mate van metastase en / of angiogenese, terwijl uitschakeling van de afzonderlijke genen niet altijd in een effect resulteerde.

In het **derde hoofdstuk** wordt de invloed van LIM kinase 1 en - 2 onderzocht in alvleesklier-tumorcellen, wederom gebruik makende van zowel *in vitro* als *in vivo* modelsystemen en platforms. Deze assays werden uitgevoerd door LIMK1 en -2 mRNA uit te schakelen met toevoeging van si-RNA's tegen LIMK1 en -2 in de cellen, een dag voor de analyse. De Lim-kinases zijn betrokken bij de motiliteit van de cel doordat ze de celspiertjes (actine) kunnen beïnvloeden. Als de Lim-kinases uitgeschakeld zijn, doen zich er significant minder maligne processen voor. Als beide tegelijk uitgeschakeld werden, konden er geen kenmerken meer ontdekt worden van metastaserende – of angiogenese inducerende cellen in de zebravis embryos.

De impact van natuurlijke en synthetische bio-actieve stoffen op het gedrag van alvleesklier tumor cellen wordt beschreven in het **vierde hoofdstuk**. Dit is gebaseerd op een drugs-screen waarbij gezocht werd naar mogelijke verbindingen die eerder werden geïmpliceerd een remming te hebben in tumor cellen en een effect op angiogenese en vascularisatie. Iridium complexen zijn in staat gebleken kwaadaardige processen te remmen binnen hun therapeutische breedte.

Hoewel om van deze verbinding een succesvol geneesmiddel te maken moeten toedieningsroutes worden onderworpen aan vervolg- onderzoek. Ook moeten adjuvantia worden geoptimaliseerd of moeten ze opnieuw ontworpen worden voor toepassing in de mens.

Het vijfde hoofdstuk geeft meer inzicht in de eigenschappen van slangengif als het toegevoegd wordt aan tumorcellen of vissen waarin tumorcellen getransplanteerd zijn. Uit de experimenten die werden gedaan wordt duidelijk dat bepaalde slangengiften (zoals bijvoorbeeld dat van de koningscobra) als heel mengsel remmende effecten heeft op tumor cel metastase en angiogenese in

de *in vitro* en *in vivo* systemen. Opvallend hierbij is, dat in vergelijking tot de andere onderzoeksprojecten, er een afwijkend resultaat ontstond: Als de cellen werden behandeld met een gif alvorens transplantatie, werd er geen significant effect waargenomen, maar als de zebravis embryos na celtransplantatie in hun water giften toegediend kregen, werd er wel een effect waargenomen.

De conclusie die hieruit getrokken kan worden is dat alvleesklier kanker alleen terug gedrongen kan worden als er een drastische verandering van de leefstijl doorgevoerd wordt. Het veranderen van de omgeving van de tumor door andere voeding in te nemen, kan resulteren in afname van de celmassa, zoals eerder werd aangetoond.