



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Adhesion signaling in mammary gland development, tumorigenesis and progression

Miltenburg, M.H.A.M.

Citation

Miltenburg, M. H. A. M. (2010, May 11). *Adhesion signaling in mammary gland development, tumorigenesis and progression*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/15359>

Version: Corrected Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/15359>

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

Nederlandse samenvatting

Cel-cel en cel-matrix interacties zijn belangrijk voor celoverleving, proliferatie, migratie en behoud van polariteit van cellen in een borstklier. Verlies van polarisatie, verhoogde celoverleving en proliferatie, met als gevolg dat de holte van een borstklier gevuld wordt met cellen is één van de eerste stappen in borsttumor vorming. Wanneer een primaire tumor eenmaal gevormd is kunnen er nog meer veranderingen binnen deze tumor optreden zoals verlies van cel-cel interactie. Het verlies van deze interactie is één van de karakteristieken van epitheliaal-naar-mesenchymale transitie, een proces waarbij tumor cellen de mogelijkheid verwerven om de primaire tumor te verlaten en ergens anders in het lichaam metastasen te vormen. In dit proefschrift worden onze bevindingen beschreven over de rol van een cel adhesie molecuul focal adhesion kinase (FAK) in borstklierontwikkeling evenals borstkanker vorming. Tevens wordt de identificatie van Annexin A1 (AnxA1) beschreven als mogelijke marker voor basale borst kanker en de rol van AnxA1 in borstkanker progressie.

Signalen geïnitieerd door cel adhesie zijn belangrijk voor behoud van organisatie en structuur van de borstklier. Deletie van integrin- $\beta 1$, een cel-matrix adhesie eiwit, in de borstklier verstoort de normale structuur en functie van de borstklier zowel tijdens normale ontwikkeling alsook melkproductie. FAK is een belangrijke component in de cel adhesie structuren omdat het signalen van groeifactor receptoren en integrines doorstuurt naar andere eiwitten en op deze manier processen reguleert als proliferatie, celoverleving, dynamiek van adhesie en celmigratie.

In **hoofdstuk 2** hebben we de rol van FAK in de ontwikkeling van de borstklier bestudeerd. Hiervoor hebben we een model opgezet waarbij we een deletie van FAK konden induceren specifiek in borstepitheel cellen. Deze cellen alsook wildtype cellen werden vervolgens getransplanteerd in de borstklier van immuun deficiënte muizen om zodoende in één muismodel het gevolg van FAK deletie ten opzichte van wildtype te bestuderen. Wij vonden dat borstepitheel cellen met een FAK deletie moeilijk spreiden wanneer deze worden gekweekt. Tevens vertoonde deze cellen verhoogde ROCK-gemedieerde contractiliteit vertoonde en reageerde niet op receptor-gemedieerde cytoskelet verandering. Het verlies van cytoskelet dynamiek in FAK nul borstepitheel cellen *in vitro*, zou ook ten grondslag kunnen liggen aan de veranderingen in borstklierontwikkeling die we hebben waargenomen *in vivo*. Transplantatie van FAK nul borstepitheel cellen resulteerde in ontwikkeling van nieuwe maar verwijde borstklier structuren, waarbij de structuur van het borstklier epitheel verstoord was. Tevens was er verminderde aanmaak en ontwikkeling van borstepitheel tijdens zwangerschap en melkproductie. Ook *in vitro* in een drie dimensionale celkweek setting vonden we verminderde ontwikkeling (branching) van borstepitheel structuren. Dit gebrek

kon deels opgeheven worden door toevoeging van een remmer van ROCK. Onze bevindingen suggereren dat FAK-gemedieerde cytoskelet reorganisatie tijdens borstklierontwikkeling in delicaat proces is waarbij op het ene moment ontspanning van een cel nodig is maar op andere momenten juist tensie.

Verhoogde FAK expressie en activiteit wordt vaak gevonden in verschillende typen kanker, inclusief borstkanker en correleert met progressie van deze ziekte. Ook veranderingen in het tumor suppressie eiwit p53 wordt in meer dan 50% van humane borstkanker waargenomen. Door binding van p53 aan de promotor regio van FAK kan p53 de transcriptie van FAK remmen en daardoor de expressie van FAK reguleren. In **hoofdstuk 3** van dit proefschrift beschrijven we de rol van FAK in borstkanker wat geïnduceerd wordt door verlies van p53. Om de rol van FAK te kunnen bestuderen hebben we gebruik gemaakt van een spontaan borsttumor muizenmodel waar p53 deletie gecombineerd wordt met deletie van FAK. We laten zien dat verlies van FAK expressie zorgt voor vermindering van de ontwikkeling van borsttumoren. Ook in muizen waar een heterozygote expressie van FAK, en dus vermindering van FAK expressie is, vinden we een vermindering in borsttumoren.

In humane borstkanker wordt zelden compleet verlies van p53 gevonden; in een overgroot deel van de borstkanker weefsels worden wel vaak mutaties in het p53 gen aangetroffen. Zogenaamde 'hot-spot' mutaties, mutaties die de transcriptionele functie van p53 beïnvloeden, kunnen resulteren in een dominant negatief effect op wildtype p53 wat uiteindelijk kan leiden tot kanker. Hoewel verhoogde FAK expressie in humane borstkanker correleert met mutaties in het p53 tumor suppressie gen, is de rol van FAK in p53 mutant geïnduceerde borstkanker nog niet opgehelderd. In **hoofdstuk 4** beschrijven we ons onderzoek naar de rol van FAK in p53-mutant geïnduceerde borstkanker. Hiervoor hebben we gebruikt gemaakt van een spontaan borstkanker muizenmodel waarbij borsttumoren werden geïnduceerd door middel van expressie van de p53 mutatie R270H, een equivalent van de veel gevonden humane p53 mutatie R273H. De inductie van expressie van de p53 mutatie ging simultaan met de deletie van FAK. Ook in p53 mutant geïnduceerde borstkanker werd het ontstaan van borstkanker gereduceerd in afwezigheid van FAK.

Samenvattend heeft FAK een duidelijke rol in het ontstaan of stimuleren van p53-geïnduceerde borstkanker vorming. FAK zou dus een potentiële target kunnen zijn voor borstkanker therapie. Er is echter nog meer onderzoek nodig om de veiligheid van specifieke FAK remmers in kaart te brengen. Wij hebben ontdekt dat de cel-cel adhesie marker E-cadherin verlaagd tot expressie komt in FAK deficiënte tumoren. Verlies van cel-cel adhesie is een van de stappen in metastasering. FAK remmers zouden dus indirect kunnen bijdragen aan het metastaseringsproces.

Verlies van polariteit en organisatie van de borstklier wordt vaak waargenomen tijdens de initiatie van borsttumor vorming. Borstkanker progressie is (deels) afhankelijk van de mogelijkheid van cellen om te ontsnappen uit de primaire tumor en metastasen te vormen. Deze metastasering kan worden geïnitieerd door een cel morfologische switch. Tijdens zo'n proces veranderen de cellen van een rustig epitheliaal fenotype naar een bewegelijke mesenchymale cel, een proces wat vaak gestimuleerd wordt door HGF of TGF β /Smad signaling.

Annexin A1 (AnxA1) is een calcium/fosfolipide bindingseiwit en reguleert het actine cytoskelet, en kan daar deze eigenschappen mogelijk een oncogen-gemedieerde cel morfologische switch reguleren. In **hoofdstuk 5** onderzoeken we of de invloed van AnxA1 op het actine cytoskelet invloed heeft op morfologische veranderingen die we vinden tijdens migratie en invasie van tumor cellen. Wij laten zien dat AnxA1 expressie correleert met een agressief borstkanker type, basal-like borst kanker. Verlies van AnxA1 expressie reduceert het aantal longmetastasen. Tevens laten we zien dat AnxA1 het agressieve karakter van tumor cellen reguleert door aansturing van de TGF β signaleringsroute wat resulteert in cytoskelet veranderingen die nodig zijn voor migratie en invasie van cellen, processen die belangrijk zijn bij metastasering.

Samengevat laat het onderzoek beschreven in dit proefschrift zien dat zowel FAK als AnxA1 een belangrijke rol spelen in borstkanker vorming en progressie. Het in detail bestuderen van deze eiwitten in relatie tot borstkanker zal bijdragen aan het begrijpen van mechanismen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van borstkanker en progressie. Tevens zal de mogelijkheid van remming van deze eiwitten, of door deze eiwitten gereguleerde pathways, als borstkanker therapie verder moet worden onderzocht.

