



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Regulation of BMP and TGF $\beta$ signaling pathway in cancer progression

Ren, J.

### Citation

Ren, J. (2020, June 24). *Regulation of BMP and TGF $\beta$  signaling pathway in cancer progression*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/123057>

Version: 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/1887/123057>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/123057> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Ren, J.

**Title:** Regulation of BMP and TGF $\beta$  signaling pathway in cancer progression

**Issue Date:** 2020-06-24

# **Addendum**

Nederlandse Samenvatting

List of Abbreviations

List of Publications

Curriculum Vitae

Acknowledgments

## Nederlandse Samenvatting

Het belangrijkste doel van mijn proefschrift was het onthullen van de rol van BMP/TGF $\beta$ -signalering tijdens invasie en uitzaaiingen bij borstkanker en daarnaast mogelijke therapeutische interventies te onderzoeken. In **hoofdstuk 2** geven we een inleidende beschouwing over de rol van BMP in kanker.

Hiervoor hebben we eerst een snel en goedkoop model in ons laboratorium opgezet waarmee de (potentiële) functionele rol van genen en eiwitten werd onderzocht die de tumoronderdrukkende en tumorbevorderende effecten van TGF $\beta$ -familieleden in borstkankercellen reguleren. We kozen voor zebra vis embryo modellen, waarin we fluorescent-gemarkeerde kankercellen injecteerden (**hoofdstuk 2**). Door embryo's te gebruiken waarin het immuunsysteem zich nog niet heeft ontwikkeld, worden de menselijke/muizencellen niet opgeruimd. In het embryonale stadium kunnen de getransplanteerde cellen gemakkelijk worden gevisualiseerd, aangezien de zebra vissen transparant zijn. Door genetisch gemanipuleerde Fli1:EGFP-zebra vissen te gebruiken, worden alle vaten in het groen gemarkeerd, zodat de migratie en invasie van kankercellen gemakkelijk kan worden gevolgd. Er zijn twee zebra vismodellen opgezet: (1) cellen werden via het kanaal van Cuvier in circulatie gebracht, wat ons in staat stelde om extravasatie van kankercellen te onderzoeken, (2) cellen werden in de perivitelline ruimte geïnjecteerd, waardoor we intravasatie konden bestuderen. Bovendien maakte het laatste model het ook mogelijk om tumor angiogenese te volgen (**hoofdstuk 2**). Verder hebben we het perivitelline ruimte model gebruikt voor co-injectie van borstkankercellen met fibroblasten / kanker geassocieerde fibroblasten (CAFs) in **hoofdstuk 3**. Dit heeft ons in staat gesteld om de interactie van borstkankercellen en CAFs te bestuderen.

Na het goedkope en snelle model zijn we vervolgens uitgescheiden BMP-antagonisten in een klinische model voor borstkanker gaan onderzoeken. Expressieniveaus van BMP-antagonisten in borstkanker samples werden geanalyseerd, waaruit bleek dat er een sterke correlatie is tussen hoge *GREM1* mRNA expressie en een slechte metastase-vrije overleving van borstkanker patiënten (**hoofdstuk 3**). Uit verdere analyse van verschillende borstkanker omgevingscellen bleek dat *GREM1* uitsluitend en hoog tot expressie kwam in CAFs aan het invasiefront. Wij vonden dat *Grem1* stamceleigenschappen handhaaft en invasie van borstkankercellen op een paracrine wijze bevordert. Ook stimuleert *Grem1* de fibrogene activering van CAFs op een

autocrine wijze. TGF $\beta$  uitgescheiden door tumorcellen bleek een sterke promotor van GREM1 expressie in CAFs, en Grem1 bleek in staat te zijn CAFs tot TGF $\beta$  secretie aan te zetten.

Nadat was aangetoond dat Grem1 een factor is in de tumor micro-omgeving die BMP-signalering zou kunnen beperken en CAF-activatie kan bevorderen, onderzochten we de intrinsieke cellulaire factoren die BMP-signalering in borstkankercellen reguleren (**hoofdstuk 4**). We ontdekten dat onderdrukking van BMP-SMAD1/5 signalering door TGF $\beta$ -geïnduceerde activering van MAPK/ERK een belangrijke factor kan zijn voor de ontwikkeling van gemetastaseerde kanker. Parallele studies toonden aan dat het medicijn FK506 het BMP signaal krachtig activeert in borstkankercellen. Vervolgens hebben we aangetoond dat door de medicijnen U0126 en FK506 te combineren bij suboptimale concentraties, een sterke stimulatie van het BMP-signaal plaatsvindt. De combinatie van U0126 en FK506 gaf een sterke remming van kanker celuitzaaiing.

In **hoofdstuk 5** onderzochten we de effectorfunctie van JUNB, een component van het AP1-transcriptiecomplex, waarvan de expressie sterk wordt geïnduceerd door TGF $\beta$  in borstkankercellen. We vonden dat JUNB nodig is voor expressie van vele late invasie-betrokken genen, en dat in het bijzonder signaleringscomponenten van het WNT-traject werden geïnduceerd.

De kankerimmunotherapie ontpopt zich als een efficiënte kankerbehandeling, die de prognose verbetert van patiënten met een breed scala aan hematologische en solide maligniteiten. In het bijzonder is dit aangetoond door behandeling van kankerpatiënten met immuun controle remmers zoals aPD-L1 (immunotherapie). Echter, nog steeds het merendeel van de kankerpatiënten reageren niet op deze immunotherapie. TGF $\beta$  is een krachtige immuunsuppressor, en het falen van immunotherapie kan te wijten zijn aan hoge expressie van TGF $\beta$  in tumoren. Onze belangrijkste bevinding in **hoofdstuk 6** is dat tumorimmunogeniciteit een dominant kenmerk is wat responsiviteit voorspelt op dubbele remming van TGF $\beta$ -signalering en aPD-L1. In een hoog immunogeen colorectaal tumormodel (MC38) gaf de additionele remming van TGF $\beta$  signalering een verdere verbetering op de algehele overleving na behandeling met aPD-L1. Echter, dit verbeterde effect van combinatie therapie werd niet waargenomen in het laag immunogene pancreas kanker (KPC1) tumor model.

Samenvattend, heb ik door gebruik te maken van verschillende (pre)-klinische modellen, de rol van verschillende componenten van de BMP/TGF $\beta$ -signaleringscascade tijdens

tumorceluitzaaiingen onderzocht. Ik heb de moleculaire mechanismen van twee therapeutische interventies die metastasen verminderen in deze cascade achterhaald, en ik heb de rol van TGF $\beta$ -gedieerde eiwitten JUNB en Gremlin in borstkankercellen en tumor-omgevingscellen bestudeerd. Ik hoop dat de resultaten van mijn onderzoek in de toekomst zullen bijdragen tot een meer efficiëntere behandeling van kankerpatiënten.