



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Take it personal! Genetic differences in G protein-coupled receptors as studied with label-free technology

Hillger, J.M.

### Citation

Hillger, J. M. (2017, December 7). *Take it personal! Genetic differences in G protein-coupled receptors as studied with label-free technology*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/59477>

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/1887/59477>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/59477>

**Author:** Hillger, J.M.

**Title:** Take it personal! Genetic differences in G protein-coupled receptors as studied with label-free technology

**Issue Date:** 2017-12-07

## Samenvatting

Historisch gezien richt zich medische behandeling op het voorschrijven van één geneesmiddel om alle patiënten met een specifieke ziekte of aandoening te behandelen, ook bekend als 'one-size-fits-all'. Het wordt echter steeds duidelijker dat verschillen tussen personen, zoals in levensstijl of genen, zowel het verloop van een ziekte als het effect van een geneesmiddel kunnen veranderen. Om medische behandeling en medicijnontwikkeling hierop aan te kunnen passen, een concept bekend als 'precision medicine', is het essentieel om te identificeren hoe en welke genetische verschillen, d.w.z. polymorfismen, de geneesmiddelenrespons beïnvloeden. Dit proefschrift richt zich op het bestuderen van genetische verschillen in een bepaalde klasse van doelwitten voor geneesmiddelen, de G-eiwit gekoppelde receptoren (GPCRs), door gebruik te maken van een combinatie van een persoonlijk cellulair model en een recent ontwikkelde label-vrije meettechnologie.

In **hoofdstuk 1** worden de hoofonderwerpen en concepten rondom precision medicine, GPCRs en genetische verschillen, die in dit proefschrift aan bod komen, geïntroduceerd. **Hoofdstuk 2** gaat verder met de discussie over het concept om persoonlijke cellulaire modellen te gebruiken en belicht de voordelen die de label-vrije meettechnologie biedt om deze te onderzoeken. Om de geneesmiddelwerking en ziekteprocessen in het menselijke individu beter te kunnen begrijpen, zijn meer fysiologische representatieve model systemen nodig. Hiervoor bieden cellulaire modellen afkomstig van patiënten specifieke voordelen. Traditionele GPCR bepalingmethoden zijn vaak gebaseerd op labels, wat nadelen met zich meebrengt als het doel is om de fysiologische situatie zo goed mogelijk te benaderen. Recent ontwikkelde label-vrije cellulaire bepalingmethoden maken het bestuderen van complexe biologische processen in hun natuurlijke omgeving mogelijk. Voorbeelden en voordelen van de combinatie van deze twee worden in **hoofdstuk 2** besproken.

**Hoofdstuk 3** beschrijft de optimalisatie en toepassing van een dergelijke, op weerstand gebaseerde label-vrije technologie, de xCELLigence, voor een bepaald type persoonlijke cellijnen, de lymfoblastoïde cellijnen (LCLs) van individuen van het Nederlandse Tweelingen Register (NTR), voor directe meting van de cellulaire effecten van GPCR stimulatie. Over het algemeen wordt deze label-vrije technologie alleen toepasbaar op hechtende cellen geacht, terwijl LCLs suspensie cellen zijn. Daarom werd de methodologie geoptimaliseerd en toegepast om zowel de cellulaire eigenschappen en GPCR activatie in LCLs te kunnen

bestuderen. Een GPCR die in LCLs aanwezig is, de Cannabinoïde receptor 2 (CB<sub>2</sub>R), werd geselecteerd als voorbeeld ter demonstratie. De effecten van verschillende typen chemische verbindingen werden bestudeerd en bleken vergelijkbaar tussen LCLs van twee niet verwante individuen met hetzelfde genotype, wat het proof-of-principle leverde dat deze technologie en het cellulaire model systeem goed geschikt waren om genetische invloeden op GPCR-gemedieerde geneesmiddelrespons te onderzoeken.

**Hoofdstuk 4** laat het voorbeeld van een andere GPCR, de Adenosine A<sub>2A</sub> receptor (A<sub>2A</sub>R) zien. De A<sub>2A</sub>R is een mogelijk aangrijpingspunt voor geneesmiddelen voor een breed aantal van ademhalings- en ontstekingsaandoeningen, waaronder de ziekte van Parkinson, en is ook de receptor voor cafeïne. Na het bepalen van welke subtypes van adenosinereceptoren aanwezig waren in LCLs, werden de cellulaire effecten van verschillende typen chemische verbindingen die op de A<sub>2A</sub>R aangrijpen vergeleken tussen de LCLs van een familie van vier, bestaande uit ouders en hun eeneiige tweelingkinderen. Bij aanwezigheid van een bepaalde genetische variant, een Single Nucleotide Polymorphism (SNP) in een intron die eerder in verband is gebracht met cafeïne-gerelateerde slaapstoornissen, werden afwijkende cellulaire effecten gezien voor een bepaald type verbinding, namelijk een partiële agonist, maar niet bij andere typen verbindingen zoals volle agonisten of antagonist. Hoewel dit geen direct causaal verband aantoont tussen de verschillen in respons en de genetische variatie, laat het wel zien dat de gekozen methode geschikt is om individuele verschillen in GPCR effecten te detecteren.

Na deze demonstratie werden genetische verschillen in andere GPCRs bestudeerd. De CB<sub>2</sub>R is een GPCR die intensief onderzocht wordt als mogelijk therapeutisch doelwit vanwege zijn belangrijke rol in het immuunsysteem. In **hoofdstuk 5** werd de respons op agonisten, partiële agonisten en antagonist van verschillende chemische klassen in LCLs van meerdere individuen met verschillend CB<sub>2</sub>R genotype gekarakteriseerd. Één van de interessante bevindingen was dat endogene cannabinoïdes zoals 2-AG duidelijk andere cellulaire effecten induceerden dan alle synthetische cannabinoïdes, vooral in hun tijdsprofiel. Nog belangrijker is dat ook werd gevonden dat verbindingen van verschillende chemische signatuur verschillend reageerden op een veel voorkomende aminozuur-veranderende polymorfisme in de CB<sub>2</sub>R, de Q63R variant.

Genetische verschillen kunnen echter niet alleen de effecten van geneesmiddelen beïnvloeden, maar ook de vatbaarheid van een persoon voor een ziekte of het verloop van een ziekte veranderen. In **hoofdstuk 6** wordt het geval van de Glucose-afhankelijke Insulinotrope Polypeptide receptor (GIPR) gepresenteerd, waarin een aminozuur-veranderende SNP, die al vaak met ziektes geassocieerd werd, de cellulaire effecten van het

endogene ligand veranderde. De GIPR speelt een belangrijke rol in het metabolisme in het hele lichaam, en deze aminozuur-veranderende SNP, E354Q, wordt onder andere met diabetes geassocieerd. Tijdens het bestuderen van deze receptor in een panel van meerdere individuen met verschillende genotype van E354Q, werd een verhoogde potentie van de endogene agonist GIP op Q354 homozygote individuen aangetoond. Dit onderzoek verschaft hiermee meer inzicht in hoe polymorfismen in GPCRs de fysiologie in een menselijk individu kunnen veranderen.

Samengevat wordt in dit proefschrift een nieuwe cellulaire aanpak voor het bestuderen van genetische effecten op GPCRs onderzocht en beschreven. Meerdere GPCRs en diverse soorten genetische verschillen werden bestudeerd, en de bevindingen tonen aan dat verschillende soorten van genetische variatie in GPCRs, bijvoorbeeld veel voorkomend of juist zelden, verscheidende effecten kunnen hebben. Deze verschillende effecten kunnen afhankelijk zijn van het type ligand of de chemische signatuur van een verbinding, en van invloed zijn op de endogene signaalverwerking. De algemene conclusie uit de resultaten van dit proefschrift en de daaruit ontstaande mogelijkheden voor geneesmiddelenonderzoek en behandeling wordt uitgebreid in **hoofdstuk 7** besproken en van commentaar voorzien. Samen kunnen de bevindingen in dit proefschrift bijdragen tot vooruitgang in de mogelijkheden om 'precision medicine' op de GPCR-klasse der geneesmiddeldoelwitten toe te passen en zo ook tot de ontwikkeling van effectievere, op de persoon toegesneden geneesmiddelen.

