



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Exploring the world of non-coding genes in stem cells and autoimmunity.

Messemaker, T.C.

Citation

Messemaker, T. C. (2018, April 3). *Exploring the world of non-coding genes in stem cells and autoimmunity*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/61075>

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/1887/61075>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/61075> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Messemaker, T.C.

Title: Exploring the world of non-coding genes in stem cells and autoimmunity

Issue Date: 2018-04-03

Chapter 9

Addendum:

Nederlandse samenvatting

List of publications

Curriculum Vitae

Dankwoord

Nederlandse samenvatting

Auto-immuunziekten staan bekend als ziekten waarbij het immuunsysteem cellen of stoffen van ons eigen lichaam herkent als lichaamsvreemd en daarbij dus het eigen lichaam aanvalt. Auto-immuunziekten zijn veel voorkomend en kunnen een grote impact hebben op het dagelijkse leven van een patiënt. Ondanks dat er veel verschillende medicijnen zijn om het immuunsysteem onder controle te houden, is het genezen van deze ziekten nog niet mogelijk. Om auto-immuunziekten te voorkomen en/of genezen is het begrijpen van het ziekteproces cruciaal. In de afgelopen 60 jaar is door onderzoek al veel duidelijk geworden over de ontwikkeling van auto-immuunziekten. Zo zijn er verschillende omgevingsfactoren geïdentificeerd die een rol spelen bij het ontstaan van auto-immuunziekten. Meerdere studies hebben laten zien dat roken een verhoogde kans geeft op het ontwikkelen van bijvoorbeeld reumatoïde artritis en blootstelling aan kwarts (ook wel siliciumdioxide genoemd) wordt geassocieerd met het ontwikkelen van systemische sclerose. Daarnaast wordt ook gedacht dat de dagelijkse interactie tussen het immuunsysteem en pathogenen (zoals bacteriën en virussen) een rol speelt bij auto-immuunziekten en het immuunsysteem uit balans kan halen. Tot slot weten we ook dat een genetische aanleg de kans op het ontstaan van auto-immuunziekten verhoogt. Deze ontdekkingen hebben bijgedragen aan onze kennis over auto-immuunziekten en heeft direct geleid tot nieuwe, succesvolle medicijnen die momenteel gebruikt worden in de kliniek om deze ziekten te behandelen. Echter meer onderzoek is nodig om de auto-immuunziekten nog beter te begrijpen zodat we in de toekomst deze aandoeningen volledig kunnen voorkomen en genezen. In het in dit proefschrift beschreven onderzoek staat het ontdekken en begrijpen van factoren die een rol kunnen spelen in auto-immuunaandoeningen reumatoïde artritis en systemische sclerose centraal.

Uit voorgaand onderzoek is gebleken dat hoge niveaus van de factoren TNF α en IL6 in het bloed van reumapatiënten circuleren, factoren die bijdragen aan de activatie van het immuunsysteem. In **hoofdstuk 2** is de hypothese onderzocht of reumapatiënten deze hoge levels TNF α en IL6 hebben door een afwijkende regulatie van deze genen. Epigenetica speelt een belangrijke rol bij de regulatie van genen en staat bekend als de omkeerbare erfelijke veranderingen die niet de DNA-sequentie zelf beïnvloedt. Deze epigenetische veranderingen kunnen een

lange tijd aanwezig blijven op bepaalde genen en daardoor bijdragen aan consistent hogere levels van deze genen. Om te onderzoeken of dit het geval is bij reumapatiënten, zijn epigenetische veranderingen van de genen *TNFA* en *IL6* onderzocht in cellen van reuma patiënten en gezonde controles. Omdat monocytten bekend staan als producenten van *TNFA* en *IL6* is dit celtype onderzocht in beide groepen. Hieruit blijkt echter dat deze monocytten afkomstig uit het bloed geen verschillen laten zien op het gebied van gen regulatie en evenredige niveaus van deze epigenetische modificaties aanwezig waren. Dit resultaat werd verder bevestigd door te laten zien dat monocytten van de geteste reuma patiënten en gezonde mensen ook na stimulatie vergelijkbare niveaus van *TNFA* en *IL6* lieten zien.

Naast epigenetische veranderingen, zijn in dit proefschrift ook veranderingen in het DNA (genetisch) die een risico op het ontwikkelen van reuma geven onderzocht. **Hoofdstuk 3** geeft een overzicht van de literatuur van de genetische bijdragen aan reuma. Samengevat zien we dat genen die in genetische geassocieerde gebieden liggen vooral een rol spelen in immunologische gerelateerde processen zoals T-cel signalering, JAK-STAT signalering en NF- κ B signalering. Verder worden in dit hoofdstuk mogelijk nieuwe bijdragende genen geïntroduceerd, ook wel bekend als niet-coderende genen. Recentelijk is ontdekt dat de meerderheid van de genen in ons genoom wel wordt afgeschreven naar RNA maar niet vertaald wordt naar een functioneel eiwit. Deze niet-coderende RNA moleculen worden belangrijke cellulaire functies toegedicht maar zijn tot nu toe vaak buiten beschouwing gebleven.

In **hoofdstuk 4 en 5** is een specifiek genetisch risicogebied voor reuma die zowel de genen *TRAF1* als ook *C5* bevat verder onderzocht. Genetische varianten in dit gebied (*TRAF1-C5* locus) treffen alleen niet-coderende nucleïnezuren waardoor de bijdrage van dit genetisch gebied aan reuma vooralsnog speculatief is. In **hoofdstuk 5** wordt een nieuw niet-coderend gen in dit gebied beschreven en is onderzocht hoe dit gen bij zou kunnen dragen aan reuma. Dit gen (genaamd *C5T1-lcnRNA*) wordt met name afgeschreven in lever- en immuuncellen en de niveaus van dit gen gaan omhoog na immuun-activatie. De functie van *C5T1-lcnRNA* lijkt gerelateerd aan regulatie van het nabij gelegen gen genaamd *C5* welke een prominente rol heeft in het afweersysteem. Twee genetische varianten die associëren met reuma liggen in *C5T1-lcnRNA* en kunnen dus

mogelijk zo de functie van *C5T1/ncRNA* beïnvloeden en daardoor wellicht bijdragen aan het ziekteproces van reuma.

Om verdere betrokkenheid van niet-coderende genen en auto-immuunziekten te bepalen zijn in **hoofdstuk 6** van dit proefschrift de expressieniveaus van alle genen in huidbiopten van patiënten met systemische sclerose onderzocht. De expressieniveaus van zo'n 60.000 genen zijn gemeten en er is met name bepaald welke niet-coderende genen anders tot expressie komen in de huidbiopten van patiënten. Voor het eerst is onderzocht welke niet-coderende genen anders zijn in patiënten en hoe deze genen mogelijk betrokken kunnen zijn bij het ziekteproces. Wij hebben aangetoond dat coderende en niet-coderende genen anders tot expressie komen in patiënten. In dit hoofdstuk komt naar voren dat verschillende antisense-genen verhoogd of verlaagd tot expressie komen in patiënten gepaard met gedereguleerde coderende sense genen, dat zijn genen die in de buurt van een antisense gen tot expressie komen. Een deel van de betrokkenheid van deze niet-coderende genen werd bevestigd in een onafhankelijke studie met Amerikaanse patiënten.

Tot slot is in dit proefschrift onderzocht hoe niet-coderende genen functioneren. Niet-coderende genen zijn niet alleen betrokken bij het ontstaan van ziekten maar ook bij allerlei belangrijke processen in ons lichaam en de ontwikkeling van een organisme. Stamcellen spelen een belangrijke rol bij ontwikkeling van organismes omdat deze cellen in staat zijn naar verschillende celtypes te veranderen. Verschillende genen zijn betrokken bij de instandhouding van stamcellen en de verandering naar andere celtypes, waaronder *Sox2*. Het *Sox2* gen wordt overlapt door een niet-coderend gen *Sox2ot* en in **hoofdstuk 7** is het mechanisme onderzocht hoe *Sox2ot* het coderende *Sox2* gen kan beïnvloeden. Wij hebben laten zien dat de expressie van *Sox2ot* negatief gecorreleerd is met de expressie *Sox2*. Het mechanisme dat dit bepaald lijkt afhankelijk te zijn van de enhancer-activiteit van het niet-coderende *Sox2ot*.

Concluderend, in dit proefschrift laten we zien dat naast coderende genen ook niet-coderende genen een rol spelen in auto-immuunziekten. We verwachten dat in de nabije toekomst de functies die niet-coderende genen uitoefenen verder ontrafeld worden en dat hun betrokkenheid in ziekten beter in kaart wordt gebracht. Daarnaast zien we de potentie van niet-coderende genen om te

fungeren als biomarkers en als targetgenen van toekomstige medicijnen. Zulke medicijnen kunnen dus niet-coderende genen onderscheppen of herstellen waardoor het ontstaan van ziekten kan worden uitgesteld of zelfs kan worden uitgesloten.