



Universiteit  
Leiden

The Netherlands

## **Zebravis tegen kanker: van aquarium tot patiënt**

Snaar-Jagalska, B.E.

### **Citation**

Snaar-Jagalska, B. E. (2017). *Zebravis tegen kanker: van aquarium tot patiënt*. Leiden: Universiteit Leiden. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/64215>

Version: Not Applicable (or Unknown)

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/64215>

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

Prof.dr. B.E. Snaar-Jagalska

**Zebravis tegen kanker:  
van aquarium tot patiënt**



**Universiteit  
Leiden**

Bij ons leer je de wereld kennen

# Zebravis tegen kanker: van aquarium tot patiënt

Oratie uitgesproken door

prof.dr. B.E. Snaar-Jagalska

bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar op het gebied van

Cellulaire Tumorbioogie

aan de Universiteit Leiden

op maandag 11 december 2017



Universiteit  
Leiden



*Mijnheer de Rector Magnificus, zeer gewaardeerde toehoorders,*

In 1982 is mijn Leidse avontuur begonnen. Mijn Poolse master diploma werd niet erkend en na een lange bureaucratische procedure werd ik toegelaten tot de doctoraal fase van de opleiding Biologie. Dr. Carel Wijffelman was mijn eerste begeleider. Hier vlakbij in het lab, achter de cactussenkast in de Hortus heb ik veel geleerd over microbiologie en belangrijker, over de Nederlandse samenleving en gebruiken. Mijn eerste Sinterklaasviering in de Hortus was spectaculair. Tijdens mijn stage in het Bloembollen lab in Lisse werd ik begeleid door professor Kees Libbenga. Bij hem heb ik ook mijn eerste mondeling tentamen afgelegd in het Nederlands. Kees, bedankt voor je mooie cijfer en het vertrouwen dat je in mij had, dit inspireerde mij om in de wetenschap verder te gaan. Voor mijn dertigste had ik een jaar geneeskunde, een master in Polen, een master in Nederland, en een PhD afgerond. Na veel verschillende onderzoeken met microben, planten, amoeben, cellen en vissen sta ik hier vandaag als professor in de cellulaire tumorbiologie. Een week na mijn benoeming in april 2017, werd ik zelf getroffen door een ongevaarlijke tumor. Een specialist in opleiding vroeg aan mij: “Wat doet een cellulaire tumor bioloog?”. Mijn antwoord was kort: “Artsen proberen te genezen, biologen proberen te doorgronden.”. Voordat ik de tumorbiologie ga bespreken, zal ik eerst een historische blik werpen op het kankeronderzoek.

### **Historische terugblik op kankeronderzoek**

Kanker is de tweede meest voorkomende doodsoorzaak in de Westerse wereld. In Nederland zal één op de drie mannen en één op de vier vrouwen kanker krijgen voor zijn/haar vijfenzeventigste levensjaar. Is kanker dan een ziekte van deze tijd? Nee. Kanker bestaat al eeuwen, wellicht al sinds het bestaan van de mens en daarvoor al bij dieren. Er zijn ook beschrijvingen gevonden uit de prehistorie van een bottumor bij een holenbeer.<sup>1</sup> De beschrijvingen van enkele patiënten met borsttumoren op papyrusrollen dateren uit ongeveer 1600 v.Chr.

Het woord kanker is afgeleid van het Griekse “carcinus” of het Latijnse “cancer”, dat krab of kreeft betekent. Het beeld van een krab ziet u nog steeds terug in logo’s, onder andere van het Koningin Wilhelmina Fonds (KWF). In oude beschrijvingen werd de oorzaak van kanker toegeschreven aan de goden. Hippocrates beschreef, in 400 jaar v.Ch. kanker als een verstoorde balans tussen de zwarte lichaamsvloeistof van de milt en de drie overige lichaamsvloeistoffen: bloed, slijm en gal. Deze theorie was de eerste die de oorsprong van kanker in verband bracht met natuurlijke oorzaken en deze heeft zeer lang standgehouden. In de 18<sup>de</sup> eeuw was de Franse chirurg Le Dran de eerste die de theorie van Hippocrates aanviel. Hij beschouwde kanker als een lokale ziekte, die met chirurgie genezen kon worden. Hij stelde dat het hele lichaam besmet werd als een druppel kankerlymfe de aangrenzende lymfeklieren gepasseerd had.<sup>1,2</sup>

De ontdekking van de microscoop speelde een essentiële rol bij de verwerping van de lymfetheorie. In de 19<sup>de</sup> eeuw toonde de Duitse wetenschapper Müller aan dat kankers samengesteld zijn uit cellen en niet uit gestolde lymfe. Hij rapporteerde ook dat er een verschil is tussen normale cellen en kankercellen. Daarna heeft de Duitse arts Virchow (19<sup>de</sup> eeuw) waargenomen dat elke cel geboren wordt uit een andere cel en sindsdien werd kanker als een ziekte van de cel beschouwd.<sup>1</sup> Vanaf toen zijn veel belangrijke wetenschappelijke ontdekkingen gedaan. Sinds het laatste kwart van de vorige eeuw, weten we dat de oorzaak van kanker in het DNA van de celkern ligt en wel in de genen die gemuteerd (beschadigd) zijn. Een mutatie kan worden veroorzaakt door chemicaliën, straling of door virale besmetting. Ook hormonen kunnen een rol spelen. Bovendien berusten bepaalde kankers op erfelijke aanleg en op toevallige fouten in de DNA-replicatie.

### **Kanker is een genetische ziekte van een cel**

Om de ziekte, kanker, te kunnen begrijpen en te bestrijden is het noodzakelijk om goed te weten wat een cel precies is en hoe deze functioneert. Zoals een baksteen bij een huis is de

cel het kleinste functionerende bouwsteentje van ons lichaam. Om een lichaam op te bouwen hebben we enkele miljarden cellen nodig. Met een krachtige microscoop kunnen we direct in detail zien hoe speciaal een cel is, en dat deze natuurlijk eindeloos veel ingewikkelder in elkaar zit dan een baksteen. Elke cel is een “functionele eenheid” en is zodanig opgebouwd dat hij zelfstandig kan leven, groeien, delen, bewegen, energie leveren, communiceren met andere cellen en nog een aantal andere functies kan uitoefenen. Een cel bevat mini-orgaantjes, celorganellen, die o.a. energie of bouwstoffen maken en stoffen kunnen opnemen of uitscheiden. Cellen moeten informatie uitwisselen met elkaar en signalen van buiten ontvangen, amplificeren en vertalen tot een gerichte actie. Elke cel heeft verder nog een celkern, waarin het genetische of erfelijke materiaal, het DNA, zich bevindt. Het DNA bevat alle informatie van de cel, van vorm tot de functie. Het DNA ziet eruit als een spiraalvormige ladder (een helix), met miljoenen treden. Een stukje DNA voor belangrijke informatie noemen we een gen. Een gen bevat de opdracht voor het aanmaken van een bepaald soort eiwit. Menselijke cellen bevatten 3 miljard basenparen en ongeveer 25.000 genen. Het DNA van een cel is heel compact opgerold in chromosomen, waarvan er 46 in de kern van een menselijke cel aanwezig zijn.

Nu komt de vraag op hoe wij, beginnend van één bevruchte eicel, eindigen als een volgroeid lichaam met enkele miljarden cellen. Het antwoord is simpel: dat gebeurt door celdeling. Er moeten tijdens de ontwikkeling zeer veel cellen aangemaakt worden. Sommige cellen in het volgroeide lichaam hebben een beperkte levensduur. Elke seconde worden er in ons lichaam ongeveer 2.5 miljoen nieuwe rode bloedcellen aangemaakt, met een gemiddelde levensduur van 120 dagen. Alle dochtercellen, die ontstaan als gevolg van deling, zullen ook al het DNA bevatten wat de moedercel had. Deze deling is geen eenvoudig proces en moet strak gecontroleerd en gecorrigeerd kunnen worden. Van de vele genen die er bestaan en die overgeschreven moeten worden bij de celdelingen, zijn er twee categorieën die ik speciaal wil bespreken aangezien zij een rol spelen bij de

ontwikkeling van kanker. Elke gezonde cel heeft oncogenen en tumorsuppressorgenen. Ondanks de naamgeving hebben deze genen in eerste instantie niets met kanker te maken. Oncogenen zijn genen die ervoor zorgen dat een gezonde cel groen licht krijgt om DNA bij te maken en om zich te delen in twee nieuwe dochtercellen. Tumorsuppressorgenen doen het tegenovergestelde. Zij kunnen het aanmaken van DNA en het vermeederen van cellen blokkeren. Samen zorgen ze voor de exacte controle van de celdeling maar dit gaat helaas niet altijd perfect. Fouten bij het overschrijven van DNA noemen we mutaties. In een kankercel zijn oncogenen en/of tumorsuppressorgenen gemuteerd en daardoor begint de kankercel zeer snel en ongecontroleerd te delen en groeit door tot een gezwel of tumor.

Nu weten we dat een enkele mutatie alleen niet genoeg is om een cel te laten ontsporen in een kwaadaardige kankercel. Daarvoor zijn meerdere mutaties nodig om een kankercel sneller te kunnen laten groeien, sneller te laten migreren, te laten ontsnappen aan vernietigingsmechanismen (apoptose), om eigen bloedvaten te maken, om zuurstof en voedingsstoffen via de bloedvaten aangevoerd krijgen (angiogenese), om het metabolisme te veranderen en de interactie met de weefselomgeving van de tumor te regelen. Dit zijn de zogenaamde zeven kenmerken van tumoren van Hanahan en Weinberg.<sup>3,4</sup>

De kans op de ontwikkeling van de meeste kankers neemt toe met de leeftijd. De belangrijkste reden hiervoor is de opeenstapeling van mutaties tijdens het leven, waardoor deze vooral op oudere leeftijd kanker kunnen veroorzaken. Men schat dat 80-90% van alle tumoren ontstaat door schadelijke invloeden van buitenaf. Een veel kleiner aantal is het gevolg van erfelijke afwijkingen (5%) of spontane fouten die in de cel plaatsvinden. Belangrijke voorbeelden van schadelijke uitwendige factoren zijn tabaksrook, chemische vervuiling, asbest en uv-straling afkomstig van de zon. Volgens schattingen kan door preventie meer dan 50% van alle kankers voorkomen worden.<sup>2</sup>

### **Een kankercel groeit tot een metastase**

Een tumor kan op verschillende manieren groeien, afhankelijk van celtype en mutaties. Een gezwel dat geen uitzaaiingen veroorzaakt, noemen we een goedaardige tumor. We spreken dan niet over kanker. Bij een groeiende tumor kunnen agressieve cellen loskomen. Via de lymfe- of bloedbanen kunnen deze zich dan verspreiden over het gehele lichaam. Deze cellen komen elders vast te zitten, bijvoorbeeld in de lymfeklieren of in andere organen, zoals de longen en kunnen daar nieuwe kankerhaarden veroorzaken. We noemen dit secundaire tumoren, uitzaaiingen of metastasen. Zo vormen borsttumoren vaak uitzaaiingen in de okselklieren en darmtumoren leiden vaak tot metastasen in de lever. Bij een kwaadaardige tumor spreken we over kanker. Helaas zijn metastasen meestal fataal voor de patiënt en daar richt ik, net als veel van mijn collega's, mijn onderzoek op.

### **Meer fundamentele kennis voor betere behandeling**

Op dit moment kan gemiddeld iets meer dan de helft van alle kankerpatiënten volledig genezen. Voor de andere helft zijn er vaak goede behandelingsmogelijkheden beschikbaar om het ziekteproces te remmen. De komende jaren zal het aantal kankergevallen blijven toenemen, o.a. door vergrijzing van de bevolking en veranderde milieu- en leefomstandigheden. In Nederland krijgen jaarlijks 87.000 mensen de diagnose kanker te horen. Naar verwachting zal dit aantal stijgen naar circa 123.000 in 2020.<sup>2</sup> De urgentie om de ziekte bijtijds op te sporen is hoog, want hoe eerder kanker wordt ontdekt, hoe groter de kans is op genezing. Bovendien zijn bij een vroege diagnose doorgaans de behandelingen minder zwaar.

Wereldwijd zijn duizenden onderzoekers bezig met wetenschappelijk kankeronderzoek. Er wordt gezocht naar nieuwe inzichten in de tumorgroei en naar nieuwe opsporingsmethoden en therapievormen, terwijl ook oorzaken en ontstaansmechanisme van kanker ontrafeld worden. Steeds vaker ontwikkelen onderzoekers nieuwe medicijnen op basis van kennis over eigenschappen van kankercellen.

Er bestaan meer dan honderd verschillende soorten tumoren, en hun oorzaken, groeiwijze, symptomen en reacties op therapie verschillen van geval tot geval. Eén algemene behandeling voor kanker zal daardoor waarschijnlijk nooit ontwikkeld worden. In plaats hiervan worden “geïndividualiseerde kankertherapieën” ontwikkeld die zijn gebaseerd op enerzijds de genetische achtergrond van de patiënt en anderzijds het genetische profiel van zijn of haar individuele tumor en immuunsysteem. Met dit idee kan in de toekomst misschien elke patiënt zijn eigen specifieke, doelgerichte therapie krijgen. Maar zo ver zijn we nog lang niet. Eigenlijk willen we weten welk specifiek medicijn de patiënt nodig heeft als behandeling voor zijn kankercellen. Er is veel meer kennis en experimenteel onderzoek in preklinische modellen nodig, om deze persoonlijke behandeling te ontwikkelen.

### **Waarom Zebravis tegen kanker?**

Zoals eerder gezegd, kanker is een systemische-genetische ziekte die ontstaat in een cel. We kunnen kankercellen kweken in het laboratorium en veel testen uitvoeren. Deze testen zijn relatief eenvoudig, controleerbaar en niet duur. Onderzoekers voegen nieuwe geneesmiddelen toe aan kweekflesjes waarin kankercellen groeien. Vervolgens bestuderen zij of de kankercellen stoppen met groeien of dood gaan. Maar kanker ontwikkelt zich in een lichaam, omgeven door andere typen cellen en bloedvaten. Daarom is bijna altijd vervolgonderzoek nodig in een proefdier, voordat klinisch onderzoek kan beginnen. Vaak worden muizen die zijn ingespoten met menselijke kankercellen gebruikt als diermodel. Men bestudeert hoe de ziekte reageert op het geneesmiddel en of er bijwerkingen optreden. Uit dit onderzoek kan blijken dat het middel bij de dieren wel of niet dezelfde werking heeft als in het kweekflesje. Proeven in muizen zijn duur en worden daarom uitgevoerd in kleine groepen. Daarnaast blijkt dat veel potentiële kankermedicijnen, die zijn geselecteerd na onderzoek in muizenmodellen, niet werkzaam blijken bij mensen. Van 1.000 drugs geselecteerd voor klinisch onderzoek op basis van muizenproeven, wordt ongeveer één stof goedgekeurd als nieuw medicijn.<sup>5</sup> Het is een van

de redenen dat het ontwikkelen en op de markt brengen van een nieuw kankergeneesmiddel, meer dan tien jaar kan duren en meer dan één miljard dollar kan kosten.

Wat we nodig hebben is een betaalbaar model van levende dieren met tumoren, waarop we nieuwe kankermedicijnen kunnen testen. Ik zal uitleggen waarom de zebravis een belangrijk hulpmiddel is. De zebravis is een relatief nieuw en absoluut uniek proefdiermodel met een aantal voordelen. Het kweken van zebravissen is betaalbaarder dan het fokken van muizen. Een vissepaar produceert 100-300 eitjes per week. Dit maakt experimenten op grote schaal mogelijk. Bovendien is de embryonale ontwikkeling van de zebravis snel en vindt plaats buiten het lichaam van de moeder. Om embryo's te verkrijgen hoeven daarom geen ingewikkelde operaties uitgevoerd te worden. Ongeveer 18 uur na het ontstaan van een ei is het al duidelijk dat zich een vis ontwikkelt, bovendien is het mogelijk om zebravis ontwikkeling op cellulair niveau te volgen middels kleuring van celkernen. De zebravis is een gewerveld dier waarbij de organen van de zebravis, die binnen vijf dagen zijn aangelegd, goed vergelijkbaar zijn met die van een mens. Het genoom van de zebravis is bekend. In het genoom van de zebravis is 70% van alle humane genen terug te vinden, net als in het genoom van de muis en 84% van genen geassocieerd met ziektes in een mens, zijn ook aanwezig in een zebravis. Embryo's zijn transparant en de organen en cellen die wij willen bekijken kunnen gelabeld worden met behulp van fluorescerende eiwitten, zoals groen fluorescent eiwit, GFP. Aan de ontdekker van de toepassing van GFP, Roger Chen, is in 2008 de Nobelprijs toegekend. Op dit moment zijn er meerdere fluorescente kleuren mogelijk waarbij alle biologische processen met behulp van een microscoop in een levend embryo in beeld gebracht worden.

In mijn groep volgen wij alle stappen van de ontwikkeling van kanker zoals cel migratie, celdeling, invasie, interactie tussen kanker en immuuncellen en cellen van het bloedvatstelsel. Om het gedrag van kankercellen in een zebravis goed te kun-

nen bekijken, spuiten wij 200-400 roodgekleurde menselijke kankercellen in de bloedbaan van zebravis-embryo's van twee dagen oud, met groene bloedvaten. Doordat we vooraf de kankercellen rood hebben gekleurd kunnen we precies bepalen of de cellen zich goed- of kwaadaardig gedragen. We kijken of de kankercellen de bloedvaten verlaten en zich gaan uitzaaïen naar andere organen. In de zebravis is dit meestal in de staart. De vorming van micrometastasen werd soms al drie dagen na de injectie waargenomen, maar meestal pas na vier of zes dagen. Als we dat willen, dan volgen we ook de immuuncellen van de zebravis: deze worden dan blauw gekleurd en zo kunnen we het gedrag van het aangeboren immuunsysteem volgen.<sup>6</sup>

De groei van menselijke cellen in de zebravis is mogelijk dankzij de scheiding in tijd tussen de ontwikkeling van het aangeboren en adaptieve immuunsysteem. Tot vier weken na bevruchting van het ei is er geen volledig ontwikkeld adaptief immuunsysteem, wat het toelaat om humane kankercellen te implanteren zonder noodzaak om immuunsysteem te onderdrukken. Wij kunnen zo specifiek de rol van het aangeboren immuunsysteem onderzoeken.

We beschikken over een grote hoeveelheid van transgene en mutant zebravislijnen, hetgeen uitkomst biedt bij het onderzoek naar de interactie tussen tumorcellen en het bloedvatstelsel, het immuunsysteem en andere componenten van de tumor micro-omgeving in de gastheer. Dit zijn aantrekkelijke kenmerken van de zebravis. Bovendien is dankzij de ontwikkeling van het CRISPR/Cas9 systeem, gericht op het blokkeren en modificeren van genen in het DNA, het produceren van mutant zebravislijnen, een relatief snel en makkelijk proces geworden.

Een ander voordeel van het gebruik van een zebravismodel is dat je heel weinig kankercellen nodig hebt om het gedrag van de cellen in beeld te brengen tijdens de vorming van tumorbloedvaten of metastasering. Om dit te kunnen waarnemen



hebben we geavanceerde microscopen nodig, zoals we in Leiden in het Cell Observatory gebruiken, voor ons onderzoek. Wat we dan te zien krijgen is spectaculair.<sup>7</sup> Shuning He en Gerda Lamers waren, na vele uren achter de microscoop, in staat het ontstaan van de groene tumorbloedvaten te filmen. Hierbij kunnen we waarnemen dat rode kankercellen de ontwikkeling van groene bloedvaten induceren wat zorgt voor tumorgroei. De animatie gemaakt door Maciej Olszewski en Lanpeng Chen met de “light sheet” microscoop in Warsaw laat zien hoe losse rode kankercellen de groene bloedbaan verlaten om te metastaseren naar een andere plaats, in dit geval de staart en dat alles gebeurt binnen vier dagen na de injectie. Het is een prachtig en zeer illustratief beeld van kankerontwikkeling.

Om het effect van medicijnen op de groei van kankercellen te kunnen bepalen, is het zeer belangrijk dat jonge vissen in staat zijn om chemische stoffen op te nemen uit het water waarin ze zwemmen. We plaatsten zes larven met geïnjecteerde humane kankercellen in één ml water met het opgelost anti-kankermiddel en na twee tot vier dagen zien we of het medicijn werkt. Dit kan in een zebravismodel sneller dan in een muizenmodel en mede daarom leent het zebravismodel zich uitstekend voor de screening van nieuwe medicijnen. Door gebruik te maken van het zebravismodel, voor het testen van nieuwe medicijnen kunnen wij basiskennis over kankerprocessen ontwikkelen en behandelmethoden versnellen. Wij willen een bijdragen leveren aan de kennis voor het ontwikkelen van nieuwe medicijnen ter bestrijding van humane tumoren. Meer erkenning van de zebraavis als waardevol preklinisch proefdier zou hierbij helpen.

### **Modellen van humane kankers in zebraavis**

Wat heeft ons onderzoek naar kanker met gebruik van het zebravismodel tot nu toe opgeleverd? Dankzij de Europese subsidie van ZF-Cancer (2008-2012) hebben we verschillende technieken ontwikkeld, om alle stappen van de kankerontwikkeling van cel tot metastasering te volgen en te bestrijden. Samen met consortium partners van het LACDR: prof. Bob van de Water, dr. Erik Danen en twee PHD studenten: Veerander Ghotra en

Shuning He, is een geautomatiseerd platform ontwikkeld om migratie en deling van kankercellen in de zebraavis te kwantificeren en te gebruiken als snelle screening methode, op zoek naar nieuwe behandelingen.<sup>8</sup> Dankzij het gebruik van het zebravismodel hebben wij samen met partners van LACDR, Galapagos en LUMC een nieuw gen gevonden dat betrokken is bij de ontwikkeling van prostaatkanker.<sup>9</sup> De resultaten verkregen in de vis zijn gevalideerd in een muismodel en in humane kankerweefsels, waarmee is bewezen dat de zebraavis een relevant preklinisch model is voor het bestuderen van kanker en het ontwikkelen van nieuwe therapieën.

Shuning He heeft een model ontwikkeld om bloedvatenvorming bij kanker en metastasering in zes dagen te volgen.<sup>7</sup> In haar model versnellen de witte bloedcellen, neutrofielen, de uitzaaing van kanker door de plek van uitzaaing te prepareren. Ze maken de plaats klaar door weefsel af te breken waar kanker gaat groeien.<sup>7</sup> Recent hebben we gevonden dat een chemokine receptor op de witte bloedcellen de beweeglijkheid en interactie met kankercellen reguleert. We hadden veel moeite om dit uitstekende pionierswerk te publiceren, omdat zebravisonderzoek toen nog in de startblokken stond en alleen ontdekkingen in de muismodellen werden geaccepteerd in toonaangevende tijdschriften. Momenteel is bewezen dat witte bloedcellen betrokken zijn bij onder andere de ontwikkeling van borstkanker en ons artikel uit 2012, in het “Journal of Pathology”, wordt vaak geciteerd. Langzaam begon onderzoek met een vis als nieuw kankermodel, meer nationale en internationale erkenning te krijgen, wat heeft geresulteerd in het verkrijgen van veel medische subsidies voor mijn onderzoek. In samenwerking met prof. Pancras Hoogendoorn en Wietske van der Ent hebben we, met financiering van een KIKa beurs, een bottumor-Ewing sarcoma model gegeneerd en een combinatie behandeling gevonden door tumorsuppressorgen p53 te activeren met de chemische stof (Nutlin-3) en de functie van tumor oncogen EWS-FLI1 te blokkeren met een ander stofje (YK-4-279). Beide stoffen waren toegevoegd aan het water waarin zebraavis-patiëntjes rondzwommen.<sup>10</sup>

Het krijgen van de TOP-NWO Grant, samen met prof. Pancras Hogendoorn (LUMC), prof. Thomas Schmidt (LION) en prof. Annemarie Meijer (IBL) heeft het mogelijk gemaakt om onze studies naar de interactie tussen immuun- en tumorcellen in het zebravismodel verder te bestuderen. Claudia Tulotta heeft aangetoond dat humane borstkankercellen met chemokine receptor (CXCR4) in staat zijn om zebraavis ligand (CXCL12) te herkennen en vervolgens gerekruteerd worden naar de plaats waar deze chemokine in hoge mate tot expressie komt.<sup>6</sup> Deze bevindingen zijn een grote doorbraak in het zebravisonderzoek, omdat zij de validiteit ondersteunen van het zebravis-humane transplantatiemodel, waarin humane kankercellen reageren op chemokinen van de zebraavis. Voor het eerst hebben we de communicatie tussen humane kankercellen en de signaalmoleculen van de zebraavis gevonden. Het onderzoek heeft tevens aangetoond dat zowel farmacologische als genetische inhibitie van de CXCR4 receptor in “triple negative” borstkankercellen de ontwikkeling van micro-metastasen in CXCL12-verrijkte weefsels kan verhinderen. Het gebruik van een CXCR4-antagonist (IT1t) is door ons voorgesteld als een potentiële behandeling voor “triple negative” borstkanker.<sup>6</sup>

Recentelijk heeft mijn groep, in samenwerking met LUMC en LACDR, met succes cel transplantatie modellen ontwikkeld voor verschillende soorten kanker.<sup>8-14</sup>

De volgende stap is om zebraviskankeronderzoek nog meer klinisch relevant te maken, wat men noemt translationeel, en daarmee te participeren in de ontwikkeling van geïndividualiseerde kankertherapieën.

### **Zebraavis-Patiënt Afgeleide Xenograft model voor translationeel onderzoek**

Het kweken van primaire patiënten cellen is zeer moeilijk. Voor veel tumoren biedt de organoïden technologie een goede oplossing om de therapierespons te testen. Organoïden zijn mini-tumoren in kweekflesjes die volledig de interactie met cellen in de tumoromgeving missen. Dit kan de uitkomst van een behandeling beïnvloeden. Recent zijn we begonnen met de

injectie van kankercellen verkregen uit biopten van patiënten om zebraavis-patiënt-transplantatie modellen (ZF-PDX) te genereren.<sup>15</sup> Hiermee kunnen we snel verschillende behandelingen in vissen testen en de beste behandeling voor de patiënt selecteren. De eerste trials in zebraavis embryo's met leukemie cellen van een patiënten zijn in Canada gestart. Wij hopen dat de directe injectie van cellen uit een biopt of van organoïden, in zebravissen kan helpen om de optimale behandeling te vinden. Onze eerste resultaten met borst- en prostaatkanker en oogmelanoomcellen van patiënten in een zebraavis zijn veel lovend en dankzij subsidies van KWF-Propere en Horizon2020-UM Cure zijn we in nationaal en internationaal verband bezig om nieuwe specifieke behandelingen voor prostaatkanker in botten en melanoom in het oog te vinden. Beide projecten zijn mogelijk dankzij zeer goede samenwerking met mijn collega's van het LUMC. Het KWF-Propere project wordt geleid door dr. Gabri van der Pluijm en in UM Cure verband werken we samen met prof. Martine Jager, dr. Aart Jochemsen, dr. Peter van der Velden en vele anderen. Onze zeer vruchtbare samenwerking bewijst dat integratie van fundamenteel, preklinisch en klinisch onderzoek de goede weg is om kanker tot een goed behandelbare en volledig geneesbare aandoening te maken.

### **Toekomstplannen**

Ik wil nog te veel doen, om alles in mijn resterende loopbaan te realiseren.

We gaan focussen op onderzoek naar de heterogeniteit van tumoren en in welke mate de gastheer in staat is de dynamische verandering van een tumor, ook plasticiteit genoemd, te beïnvloeden. Arwin Groenewoud gebruikt de vis als een incubator om via herhaalde transplantaties van borstkankercellen de meest invasieve cellen te selecteren. Deze cellen zijn super agressief in muizen en maken botten volledig kapot. We zijn bezig om de invasieve markers genetisch in kaart te brengen en uit te schakelen. Lanpeng Chen bestudeert in welke mate verandering van het cytoskelet in stamcellen van prostaatkanker de metastasering doet toenemen. We willen met het cre/

lox systeem beter zien en begrijpen wat de interactie is tussen kankercellen, celdeeltjes (ook wel exosomen genoemd) en cellen van de gastheer met name immuuncellen en fibroblasten. In het micromilieu van de tumor komen immuuncellen voor zoals u in het blauw kunt zien op mijn uitnodiging. Deze cellen, macrofagen en neutrofielen, kunnen zowel tumor-onderdrukkende als tumor-bevorderende functies hebben. Om nog meer effectieve therapieën te kunnen ontwikkelen, is meer inzicht nodig in de interactie tussen kanker en het immuunsysteem. Quanchi Chen bestudeert de mechanismen die de plasticiteit van de immuuncellen reguleren en de metastasering van kankercellen beïnvloeden. In de zebavis is het mogelijk om deze cellen te zien en genetisch en chemisch uit te schakelen.

Biologie master student Jannica Swieringa, begeleid door Arwin Groenewoud, heeft de Unilever Research Prijs in 2016 gewonnen voor haar onderzoek om de effectiviteit van kanker-geneesmiddelen te verbeteren. We willen in de toekomst zebavismodellen inzetten voor de ontwikkeling van nano-medicijnen om geneesmiddelen doelgericht af te leveren aan de tumor. De initiële resultaten die samen met de groep van prof. Alexander Kros zijn verkregen, zijn veelbelovend en nieuwe subsidies zijn nodig voor verder onderzoek.<sup>16</sup>

De ontwikkeling van de zebavis Patiënt Afgeleide Xenograft, blijft centraal staan in ons onderzoek naar meer kankerbehandeling op maat en mijn groep werkt verder aan het bewijzen van de meerwaarde van de relatie tussen zebavis in het aquarium en patiënt.

### **Wetenschappelijke vrijheid om te excelleren**

Ik ben blij en dankbaar dat ik mijn werk mag doen aan de Universiteit Leiden, die als kernwaarden hanteert: “Praesidium Libertatis” ofwel bolwerk van vrijheid.

De Universiteit Leiden staat voor academische vrijheid van geest, denken en spreken en voor een ongebonden ontwikkeling van onderzoek en onderwijs. Elke vraag is mogelijk, elk

mens is welkom. Gezien mijn opvoeding in communistisch Polen kan ik dit extra waarderen.

Ik ben bezorgd dat de nieuwe politieke ontwikkelingen in mijn land van herkomst en in Hongarije de academische vrijheid aldaar gaan beperken. Ik zie het als onze plicht om samen in Europees verband met andere LERU-partners onze kernwaarden te propageren in alle Europese lidstaten. Vanuit mijn kant ga ik, als voorzitter van het Oost-Europa platform, de samenwerking met andere Europese partners intensiveren. Om krachten te bundelen, maar ook vanwege het toenemende belang van interdisciplinaire samenwerking en financiering over de grenzen van de universiteit of het land heen.

### **Dankwoord**

Tot slot wil ik een woord van dank uitspreken. Ik dank U, mijnheer de Rector Magnificus, het College van Bestuur, het Faculteitsbestuur en het bestuur van het Instituut Biologie Leiden voor het in mij gestelde vertrouwen en de totstandkoming van mijn benoeming.

Mijn promotor, prof. Theo Konijn, wil ik bedanken voor zijn belangrijke rol als leermeester en zijn vertrouwen in mijn Poolse vooropleiding. Theo heeft mij de kans gegeven om mijzelf te ontplooiën, eerst als AIO en later als docent in zijn groep. Mijn copromotor, prof. Peter van Haastert, heeft mijn voorkeur voor fundamentele celbiologie bepaald.

Aan prof. Peter Devreotes ben ik dank verschuldigd voor het grote voorbeeld dat hij voor mij is geweest tijdens mijn postdoctorale periode aan Johns Hopkins Medical School in Baltimore. Dankzij hem heb ik veel moleculaire technieken geleerd om basale cel migratiemechanismen te bestuderen. Veel van zijn lessen komen mij in mijn huidige werk erg goed van pas.

Een speciaal woord van waardering gaat naar prof. Herman Spaik. Beste Herman, bedankt voor je enthousiasme en de gegeven ruimte om mijn eigen lijn van onderzoek op te bou-

wen. Ik heb veel van je geleerd en ben je zeer dankbaar voor je enorme steun bij de ontwikkeling van mijn loopbaan. Samen met Annemarie, Marcel, Hans, Christian, Jeroen, Anna-Pavlina, Michael en Fons hebben we Leiden op kaart gezet als belangrijk centrum voor preklinisch onderzoek met de zebravis als model. Ik ben overtuigd dat onze "Zebrafish Disease Models Society Meeting" die wij in Leiden zullen organiseren in 2018 een groot succes wordt.

Ik wil graag prof. Thomas Schmidt bedanken voor onze prettige samenwerking. We hebben het migratiegedrag van individuele fluorescente receptoren, G- en Ras eiwitten in *Dictyostelium* en andere cellen gevolgd. Dit onderzoek heeft geleid tot een TOP-NWO Grant, hiermee was het mogelijk om de migratie van kankercellen bij een chemokine gradiënt te onderzoeken. Samen hebben we zes promovendi begeleid. We gaan onze samenwerking voortzetten om de krachten en de mechanische eigenschappen van kankercellen beter te bestuderen.

10

Mijn dank gaat ook uit naar prof. Bob van der Water voor zijn onmisbare steun tijdens het schrijven van ons ZF-Cancer project dat de fundering heeft gelegd voor mijn verdere onderzoek. Dr. Erik Danen en onze postdoc-Gabri Krents en promovendi: Verander Ghotra en Shuning He hebben hieraan zeer belangrijke bijdragen geleverd. Ik wil ook alle partners van ZF-Cancer consortium (dr. Elizabeth Patten (University of Edinburgh, UK), prof. Philip Heisenberg (Institute of Science and Technology, Austria), prof. Juan Carlos Izpisua Belmonte (Center of Regenerative Medicine in Barcelona, Spain), prof. Jeroen Hertog (Hubrecht Institute, Utrecht), dr. Ron Dirks (ZF-screens, NL), dr. Richard Janssen en dr. Annemarie Lekkerkerker (Galapagos N.V.) bedanken voor hun zeer productieve bijdragen aan het succes van ZF-Cancer project. Mijn speciale waardering gaat naar Yvonne Kerkhof voor haar perfecte management van het project. Yvonne, zonder jouw hulp en de fantastische financiële begeleiding van Ton Brouwer zou ik de afronding van het project niet overleefd hebben.

Prof. Pancras Hogendoorn wil ik bedanken voor zijn steun en vertrouwen dat kankeronderzoek in de zebravis nuttige bijdragen kan leveren aan het klinisch onderzoek. Ik vergeet nooit het moment dat Pancras onmiddellijk naar ons lab fietste om Ewing cellen te zien groeien in een zebravis embryo. Het was natuurlijk voordat hij decaan bij het LUMC werd. Het opzetten van ons zebravismodel van Ewing sarcoma door Wietske van der Ent, dankzij een KIKA subsidie, is een internationaal succes en ik hoop dat Wietske dit onderzoek in Leiden kan voortzetten na haar postdoc in Parijs.

Mijn speciale woord van waardering gaat naar mijn collega's van het LUMC. Samenwerking met dr. Gabri van der Pluijm, dr. Marianna Kruithof-de Julio en Geertje van der Horst heeft geleid tot het verkrijgen van een KWF subsidie voor onderzoek aan prostaatkanker. Met professor Peter ten Dijke hebben we het zebravis borstkankermodel ontwikkeld.<sup>11,12</sup>

Met prof. Martine Jager, dr. Aart Jochemsen en dr. Pieter van der Velden heeft Wietske van der Ent een zebravismodel van oogmelanoom opgezet. Dit was zeer belangrijk voor het starten van het UM Cure consortium met als doel nieuwe behandelingen te ontwikkelen tegen ongeneselijke uitzaaiingen van het zeldzame oogmelanoom.<sup>13,14</sup>

Ik wil dr. Sylvia Le Dévédec en dr. Marianna Kruithof-de Julio, dr. Sylvestre Bonnet, dr. Luuk Hawinkels en prof. Alexander Kros bedanken voor zeer stimulerende discussies over lopende en toekomstige projecten. Het is altijd een feestje om met jullie wetenschappelijke ideeën te delen en verschillende expertises te combineren.

Onderzoek is teamwork en ik heb veel te danken aan alle promovendi, postdocs, technici en studenten met wie ik heb mogen werken, zowel in mij vroegere "Dicty" jaren als in het recente zebravisonderzoek. Jullie hebben mijn succes mogelijk gemaakt.

Een speciaal woord van waardering gaat naar onze diervorzorgers, microscopie, lab- en instituut managers, secretaresses en financieel ondersteuners.

Zonder hulp van prof. Martine Jager, Kick Moors en Laura Zondervan zou mijn oratie tekst nooit dit niveau van Nederlands hebben bereikt en zou ik hopeloos verloren zijn in de vertaling. Alleen buitenlanders onder ons snappen hoe veel moeite het kost om niet in je eigen taal te functioneren. Geïnteresseerden wil ik het boek aanraden van Eva Hoffman “Lost in translation: a life in a new language”, waarin ze de onmacht beschrijft om te nuanceren en om emoties uit te drukken in een andere taal.

Lieve vrienden en kennissen, fijn dat jullie met zovelen zijn gekomen.

Veel dank aan Danka, Asia, Ewa voor de gezellige en waardevolle gespreken in het Pools en mijn excuses dat onze afspraken vaak onmogelijk waren door mijn werk. Mijn burens zijn mijn rots in de branding en zijn geweldig gezelschap om te lachen en te zorgen voor ontspanning.

Dear prof. Jacek Kuźnicki, my seminar in 2011 at The International Institute of Molecular and Cell Biology headed by you, resulted in your institute becoming the first Polish scientific center, which introduced zebrafish as an important research model. In 2013, we celebrated the kick-off meeting of the FP7 EC granted FishMed project in Warsaw where I presented the keynote lecture: Disease modeling in zebrafish, and was interviewed by Polish TV and radio. I have to admit that this success gave me courage and strength to push on my carrier in my own institution. Last year, we signed a memorandum of understanding between your IIMCB and the Science Faculty of Leiden University. The visit of a faculty delegation to celebrate this event and explore the possibilities for future collaboration was a big success. I am very grateful that my colleagues have seen the quality of research and the historical/ cultural context

explaining Poland’s strong position and determination in science and beyond.

My twin partner position in the FishMed project, your sabbatical in Leiden, my visits in Warsaw and scientific discussion with your wife- Monika, MD and professor, built not only a fantastic scientific interaction but also our friendship. I am very grateful to have you around today together with my dear Polish sister-in-law and my niece.

En als laatste: mijn allerbelangrijkste dankwoord gaat uit naar mijn familie. Lieve Leo, al meer dan 35 jaar mijn liefde, maatje, maar ook steun en toeverlaat. Zonder jouw hulp en geduld zou ik hier niet staan. Hoeveel keer heb ik niet beloofd, dat ik het volgende jaar wat het rustiger aan ging doen. Jij wist dat het een fabel was. Samen, zonder opa’s en oma’s hebben we twee fantastische kinderen groot gebracht. Het waren tropenjaren maar zeer de moeite waard en nog steeds zijn onze bourgondische dinertjes en vakanties met kinderen super gezellig. Lieve Kevin en Linda: ik was niet altijd bij jullie maar ik hoop dat ik als zwoegende mam, jullie met mijn ambitie en doorzettingsvermogen heb geïnspireerd. Het jaar 2017 is een iconisch jaar voor ons gezin. Kevin heeft werktuigbouwkunde aan de TU Delft afgerond; Linda is bijna klaar met haar bachelor in geneeskunde aan de Universiteit Maastricht en mam is eindelijk prof en alles dankzij de onvoorwaardelijke steun van paps. Mijn benoeming is het bewijs dat leeftijd, origine en moederschap niemand in de weg hoeven te staan om professor te worden. Ik hoop nu met mijn nieuwe waardigheid mijn werk nog beter te kunnen doen.

Ik heb gezegd.

## Referenties

- 1 Wagener DJT (2008) De geschiedenis van de oncologie. Bohn Stafleu van Loghum.
- 2 Lardon F (2011) Een duidelijke kijk op kanker. Standaard uitgeverij
- 3 Hanahan D and Weinberg (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100: 57-70.
- 4 Hanahan D and Weinberg RA (2011) Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144: 646-674.
- 5 Hay M, Thomas DW, Craighead JL, Economides C, Rosenthal J (2014) Clinical development success rates for investigational drugs. *Nat biotechnol.* 32: 40-51.
- 6 Tulotta C, Stefanescu C, Beletkaia E, Busmann J, Schmidt T and Snaar-Jagalska BE (2016) Inhibition of signaling between human CXCR4 and zebrafish ligands by the small molecule IT1t impairs the formation of triple-negative breast cancer early metastases in a zebrafish xenograft. *Dis. Model Mech.* 9: 141-153.
- 7 He S, Lamers GEM, Beenakker JWM, Cui C, Ghotra VPS, Danen EHJ, Meijer AH, Spaik HP and Snaar-Jagalska BE (2012) Neutrophil-mediated experimental metastasis is enhanced by VEGFR inhibition in a zebrafish xenograft model. *J. Pathology* 227: 431-45.
- 8 Ghotra VPS, He S, De Bont H, Van der Ent W, Spaik HP, Van de Water B, Snaar-Jagalska\* BE, Danen EHJ\* (2012) Automated whole animal bio-imaging assay for human cancer dissemination. *PlosOne* 7: 1-13.
- 9 Ghotra VPS, He S, Van der Horst G, Nijhoff S, De Bont H, Lekkerkerker A, Janssen R, Van der Pluijm G, Jenster G, Van Leenders GJLH, Van de Water B, Snaar-Jagalska BE\* and Danen EHJ\* (2015) In vivo RNAi screen identifies SYK as a candidate drug target for prostate cancer. *Cancer Res.* 75: 230-240.
- 10 Van der Ent W, Jochemsen AG, Teunisse AF, Krens FG, Szuhai K, Spaik HP, Hogendoorn PCW, Snaar-Jagalska BE (2014) Ewing sarcoma inhibition by disruption of EWSR1-FLI1 transcriptional activity and reactivation of p53. *J. Pathology*, 233: 415-24.
- 11 Drabsch Y, He S, Zhang L, Snaar-Jagalska BE\* and Ten Dijke P\* (2013) Transforming growth factor- $\beta$  signalling controls human breast cancer metastasis in a zebrafish xenograft model. *Breast Cancer Res.* 15: 1-13.
- 12 Zhang L, Zhou FF, Drabsch Y, Snaar-Jagalska BE, Micanin C, Huang H, Sheppard K, Lu CX, Ten Dijke P (2012) USP4 is regulated by Akt phosphorylation and directly deubiquitylates TGF- $\beta$  type I receptor. *Nature Cell Biol.* 17: 717-26.
- 13 van der Ent W, Burrello C, Teunisse AF, Ksander BR, Van der Velden PA, Jager MJ, Jochemsen AG, Snaar-Jagalska BE (2014) Modeling of human uveal melanoma in zebrafish xenograft embryos. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 55: 6612-6622.
- 14 Van der Ent W, Burrello C, Van der Velden PA, Jochemsen AG, Jager MJ and Snaar-Jagalska BE (2015) Embryonic Zebrafish: different phenotypes after injection of human uveal melanoma. *Ocul. Oncol. Pathol.* 3: 170-181.
- 15 Mercatali L, La Manna F, Groenewoud A, Casadei R, Recine F, Miserocchi G, Pieri F, Liveran C, Bongiovanni A, Spadazzi C, De Vita A, Van der Pluijm G, Giorgini A, Biagini R, Amadori D, Ibrahim T and Snaar-Jagalska BE (2016) Development of a patient-derived xenograft (PDX) of breast cancer bone metastasis in a zebrafish model. *Int. J. Mol. Sci.* 17: 1-11.
- 16 Yang J, Shimada Y, Olsthoorn R, Snaar-Jagalska BE, Spaik H, Kros A (2016) Application of Coiled Coil Peptides in Liposomal Anti-Cancer Drug Delivery using Zebrafish Xenograft Model. *ACS Nano* 10: 7428-35.



- 1 april 2017 Benoeming tot hoogleraar Cellulaire Tumorbioogie, bij het Instituut Biologie Leiden van de faculteit Wiskunde en Natuurwetenschappen, Universiteit Leiden
- 2010-2017 Universitair hoofddocent, Instituut Biologie Leiden. Projectleider van kankeronderzoek in zebraavis binnen KIKa-, EU-, TOP-NOW-, KWF-, en Horizon 2020-gesubsidieerde projecten
- 2003-2009 Projectleider van Zebraavis Kankerbiologie-groep in de sectie Moleculaire Celbiologie, Instituut Biologie Leiden. Coördinator EU-project "Developing high-throughput bioassays for human cancers in zebrafish"
- 2000-2002 Projectleider van Signaaltransductie-onderzoek in de sectie Moleculaire Celbiologie, Instituut Biologie Leiden
- 1989-1999 Universitair docent en projectleider van *Dictyostelium*-onderzoek in de sectie Celbiologie en Genetica, Universiteit Leiden
- 1988-1989 Postdoctoraal onderzoeker, Johns Hopkins University, Medical School, Baltimore, USA
- 1988 Promotie Universiteit Leiden. Titel van het proefschrift: "G-protein in signal-transduction of *Dictyostelium discoideum*"
- 1984 Doctoraal Biologie, Universiteit Leiden
- 1980-1981 Wetenschappelijk assistent, Warsaw Universiteit
- 1980 Master Biologie, Warsaw Universiteit

Kanker is een genetische ziekte die ontstaat in een cel. We kunnen kankercellen kweken in het laboratorium en veel testen uitvoeren. Deze testen zijn relatief eenvoudig, controleerbaar en niet te duur. Onderzoekers voegen nieuwe geneesmiddelen toe aan kweekflesjes waarin kankercellen groeien. Vervolgens bestuderen zij of de kankercellen stoppen met groeien of dood gaan. Maar kanker ontwikkelt zich in een lichaam, omgeven door andere typen cellen en bloedvaten. Daarom is bijna altijd vervolgonderzoek nodig in een proefdier voordat klinisch onderzoek kan beginnen. Vaak worden muizen die zijn ingespoten met menselijke kankercellen gebruikt als diemodel. Proeven in muizen zijn lang, duur en worden uitgevoerd in kleine groepen. Ewa Snaar-Jagalska gebruikt de zebraavis al een innovatief modelorganisme voor kankeronderzoek. De zebraavis is geschikt als model voor humane kanker vanwege de overeenkomsten in zowel tumorstructuur als activiteit van genen. Doordat de zebraavissen op jonge leeftijd doorzichtig zijn, kunnen processen live in beeld worden gebracht, zoals de ontwikkeling van uitzaaiingen en de reactie van cellen in het immuunsysteem op de tumorcellen. Door dit gedetailleerd te volgen wordt er fundamentele kennis over kankerontwikkeling verkregen. Ook kan het effect van mogelijke behandelingsmethodes met chemische stoffen of genetische ingrepen op kanker- en gezonde cellen binnen enkele dagen live gemeten worden. Het zebraavis implantatiemodel is een snelle, nuttige techniek in de zoektocht naar nieuwe behandelmethodes ter bestrijding van tumoren in patiënten.

