



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **TGF $\beta$ signaling in cancer progression**

Liu, S.

### **Citation**

Liu, S. (2020, May 28). *TGF $\beta$  signaling in cancer progression*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/92349>

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/1887/92349>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/92349> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Liu, S.

**Title:** TGF $\beta$  signaling in cancer progression

**Issue Date:** 2020-05-28

## Nederlandse Samenvatting

Ontregeling van “transforming growth factor- $\beta$ ” (TGF $\beta$ )-signalering in kankercellen kan leiden tot verlies van groeiremming en een toename in zogenaamde epitheliale naar mesenchymale overgang (EMT), celmigratie en metastase. Remming van TGF $\beta$  signalering wordt momenteel onderzocht in de kliniek als een potentiële therapie tegen invasieve en metastatische kankertypen. Echter, de huidige TGF $\beta$  remmers blokkeren alle effecten, goed en slecht, van TGF $\beta$  en vertonen schadelijke bijeffecten. Het ubiquitine systeem is een belangrijk post-translatieel regulatiemechanisme voor de TGF $\beta$ -route en biedt als zodanig aangrijpingsmogelijkheden voor de ontwikkeling van nieuwe anti-TGF $\beta$  therapieën. In plaats van het TGF $\beta$  ligand of de TGF $\beta$  receptor direct te remmen, kunnen de componenten van het ubiquitine systeem worden geremd die specifiek de expressie of activiteit van TGF $\beta$  signaleringscomponenten stimuleren in agressieve tumoren. **Hoofdstuk 2** geeft een samenvatting van de rol die deubiquitinerings enzymen (DUBs) spelen in TGF $\beta$ -signalering bij kanker en worden DUB-remmers besproken waarvan de effecten nu worden geanalyseerd in preklinische kanker studies.

Uitzaaiingen (metastasen) zijn de onderliggende doodsoorzaak voor de meerderheid van kankerpatiënten. Er zijn talloze knaagdiermodellen beschikbaar voor het onderzoeken van metastase van kanker, maar om snel toegang te krijgen tot het potentiële effect van (epi) genetische veranderingen of farmacologische verbindingen zijn er efficiënte, betrouwbare en goedkope *in vivo* kankermodellen nodig. In **hoofdstuk 3** wordt weergegeven hoe zebraavis xenograft-modellen kunnen worden gebruikt om dit te bewerkstelligen. Er wordt in detail beschreven hoe de kwaadaardige uitzaaiing van menselijke borstkankercellen kan worden bestudeerd in zebraavis embryo's.

Van alle gevallen van borstkanker blijft triple negatieve borstkanker ((TNBC) de meest uitdagende borstkankersubtype om te behandelen. Om nieuwe therapeutische doelen te ontdekken, worden in **hoofdstuk 4** de globale DUB-activiteiten in borstkankercellijnen en tumormonsters geanalyseerd. Hierin is UCHL1 geïdentificeerd als kandidaat-onco-eiwit. Er is gevonden dat UCHL1 de TGF $\beta$ -geïnduceerde metastase mogelijk maakt door de TGF $\beta$  receptor en intracellulaire SMAD2 effector te beschermen tegen ubiquitineren en afbraak. Er is verder gevonden dat een UCHL1-covalente activiteitsremmer 6RK73 heel specifiek de UCHL1-activiteit remde en metastase van TNBC blokkeerde. Tevens is er vastgesteld dat de sera van TNBC-patiënten hoge UCHL1-niveaus bevatten. UCHL1 is daarmee een potentiële op bloed gebaseerde biomarker voor de diagnose van metastasering van TNBC.

Om de activiteit van UCHL1 *in vivo* te bestuderen, is er in **hoofdstuk 5** een celpermeabele fluorescente activiteits-gebaseerde probe voor UCHL1 ontwikkeld. Deze probe 8RK59 bindt zich op een activiteitsafhankelijke manier en onomkeerbaar aan de cysteïne in de actieve site van het UCHL1 enzym. De toepasbaarheid van de probe werd gedemonstreerd door UCHL1-activiteit *in vitro* en in levende cellen te labelen. Verder hebben we de activiteitsprobe toegepast bij het volgen van de UCHL1-activiteit tijdens de ontwikkeling van zebraavis embryo's. Deze probe kan echter potentiële andere doelen hebben, zoals PARK7. Aanvullende studies zijn daarom nodig om de selectiviteit van de probe te verhogen.

## Appendix

---

Voor het gemetastaseerd melanoom is de mediane overleving van BRAF (V600E) patiënten verbeterd door toepassing van BRAF-remmers, maar resistentie tegen geneesmiddelen blijft een probleem voor ongeveer 40% van melanoompatiënten. Recente studies hebben aangetoond dat TGF $\beta$ -signaling is verhoogd in melanoom dat resistent is tegen BRAF-remmers. In **hoofdstuk 6** is het effect onderzocht van het remmen TGF $\beta$ -signaling in resistente melanoom cellen. Er is gevonden dat farmacologische of genetische remming van T $\beta$ RI in BRAF-mutante melanoomcellen de invasie blokkeerde in het xenograft zebravismodel.

Samenvattend, één van de belangrijke doelen van dit onderzoek was het verkrijgen van nieuwe inzichten in de onderliggende mechanismen van TNBC metastasering. Er zijn methoden ontwikkeld om DUB-activiteiten te profileren in bostkanker cellijnen en klinisch materiaal. UCHL1 is geïdentificeerd als een kandidaat-onco-eiwit dat de TGF $\beta$ -geïnduceerde metastase van borstkanker bevordert. Belangrijk is dat de UCHL1-activiteitsremmer als een potentieel medicijn voor TNBC-therapie is gevonden en een op UCHL1-activiteit gebaseerde probe is ontwikkeld. Voor vemurafenib-resistente huidkankers hebben we aangetoond dat het remmen van TGF $\beta$ -signaling kan helpen om de resistentie tegen het geneesmiddel te overwinnen.

Hopelijk zullen de fundamentele en translationele studies beschreven in dit proefschrift uiteindelijk bijdragen aan een verhoogde overleving en verbeterde kwaliteit van leven voor kankerpatiënten.