



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Composition and function of integrin adhesions

Zuidema, A.C.

### Citation

Zuidema, A. C. (2022, October 20). *Composition and function of integrin adhesions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3484364>

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/1887/3484364>

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

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het menselijk lichaam bestaat uit miljarden cellen die samen moeten werken om één gecoördineerd geheel te vormen. Deze samenwerking begint al vroeg tijdens de embryonale ontwikkeling, nadat één bevruchte eikel uit gaat groeien tot een groot organisme waarin elke cel een eigen specialisatie krijgt. Om samen te werken moeten cellen met elkaar communiceren. Dit gebeurt door middel van receptoren; een soort antennes die uit de celmembraan steken en informatie kunnen ontvangen die door andere cellen wordt verstuurd (bijvoorbeeld in de vorm van hormonen). Een receptor die informatie heeft ontvangen wordt geactiveerd en geeft de informatie verder door aan de celkern door stapsgewijs verschillende eiwitten te activeren (signaaltransductie). In de celkern ligt de genetische code, het DNA, verpakt. De signaaltransductie kan ervoor zorgen dat bepaalde stukken van het DNA “aan” of “uit” worden gezet, wat leidt tot een verandering in het gedrag van de cel.

Behalve communicatie tussen cellen vindt er ook communicatie plaats tussen cellen en de extracellulaire matrix (ECM) waarin cellen zich bevinden. De ECM is een verzameling van verschillende eiwitten en suikers die structuur geeft aan de weefsels in ons lichaam. Integrinereceptoren maken de communicatie tussen de ECM en cellen mogelijk door te binden aan eiwitten in de ECM. Tegelijkertijd reguleren ze aan de binnenkant van de cel signaaltransductie en maken ze een verbinding met het celskelet. Het bijzondere aan integrines is dat ze ook door signaaltransductie in de cel geactiveerd kunnen worden en zo makkelijker aan ECM-eiwitten kunnen binden. Zo zorgen cellen ervoor dat ze zich kunnen vasthechten aan hun omgeving en winnen ze informatie in over hoe deze omgeving eruitziet. Daarnaast zijn integrines gevoelig voor mechanische krachten en kunnen ze, door hun verbinding met het celskelet, de cel laten trekken aan de ECM. De interactie tussen cellen en de ECM is belangrijk voor verschillende biologische processen, zoals de beweging, deling en differentiatie van cellen. Het is dan ook niet verwonderlijk dat het niet goed functioneren van integrines kan leiden tot ernstige ziektes.

Er zijn 24 verschillende soorten integrinereceptoren die voorkomen in allerlei type cellen. Voor hun functie zijn integrines afhankelijk van vele andere eiwitten in de cel die de verbinding met het celskelet en de signaaltransductie tot stand brengen. Samen met deze eiwitten vormen integrines de “celadhesiecomplexen”. Er is in de afgelopen jaren al veel onderzoek gedaan naar de functie en werking van integrines, met name in fibroblasten. In deze cellen vormt de integrinereceptor  $\alpha 5\beta 1$  samen met zijn geassocieerde eiwitten een specifiek celadhesiecomplex, namelijk de focale adhesie (FA).

In de epitheelcel (cel die in contact staat met de buitenwereld en weefsels bedekt, zoals in de huid en darm) is de situatie wat complexer. Epitheelcellen kunnen namelijk wel vijf verschillende cel-ECM adhesiecomplexen vormen. Dit proefschrift begint met een overzicht van de verschillende type celadhesiecomplexen die voorkomen in epitheelcellen en

beschrijft hoe deze samenwerken om te reageren op mechanische krachten in de ECM (**hoofdstuk 1**). Vervolgens worden vijf studies gepresenteerd over de opbouw en functie van de verschillende celadhesiecomplexen in epitheelcellen. Voor dit onderzoek hebben we veelvuldig gebruik gemaakt van een relatief nieuwe methode genaamd "BioID". Bij BioID fuseer je je favoriete eiwit (voor ons dus de integrine) met een enzym dat alle eiwitten die in de buurt komen een biotine-label geeft. De eiwitten met dit label kan je vervolgens isoleren en identificeren. BioID stelt ons zo in staat om met een resolutie van 20 nanometer (gelijk aan een miljardste van een meter) onderzoek te doen naar de verschillende eiwitten die onderdeel uitmaken van celadhesiecomplexen. In combinatie met microscopie-experimenten krijgen we zo een goed beeld van de opbouw van celadhesiecomplexen. Vervolgens kunnen we cellen genetisch manipuleren om onderzoek te doen naar de functie van celadhesiecomplexen en kunnen we vaststellen welke eiwitten noodzakelijk zijn voor de opbouw van de verschillende celadhesiecomplexen. In **hoofdstuk 2 en 3** gebruiken we deze methoden om onderzoek te doen naar de "flat clathrin lattice" (FCL), een celadhesiecomplex dat nog nauwelijks bestudeerd was. We tonen aan dat FCLs gevormd worden doordat integrine  $\alpha\beta5$  het ECM-eiwit vitronectine bindt. Aan de binnenkant van de cel zijn de eiwitten ARH, Numb, EPS15/EPS15L1 en MARK2 nodig om de FCL op te bouwen. Het bijzondere aan de integrine  $\alpha\beta5$  is dat deze integrine zowel onderdeel kan zijn van FCLs als van FAs. Het celadhesiecomplex dat gevormd wordt is afhankelijk van het celtype en hangt af van de hoeveelheid contractiliteit van het celskelet die is opgebouwd in de cel. Een hoge contractiliteit zorgt ervoor dat integrine  $\alpha\beta5$  zich meer in FAs bevindt dan in FCLs. Integrine  $\alpha\beta5$  reguleert binding aan het ECM-eiwit vitronectine en stimuleert celdeling. Het maakt voor de functie niet uit in welk adhesiecomplex de integrine zich bevindt. De opbouw van de FCL vindt echter wat langzamer plaats dan die van de FA, waardoor de FA sneller zorgt voor een sterke hechting aan een vitronectinematrix.

In **hoofdstuk 4** ontdekken we dat hemidesmosomen (HDs) de opbouw van mechanische kracht door FAs en actomyosine tegenwerken. De integrine  $\alpha6\beta4$  vormt de kern van HDs en maakt een connectie met het intermediaire filament netwerk via het eiwit plectin. Deze connectie heeft een bufferende werking op de activiteit van actomyosine, waardoor de cel minder contractiliteit genereert en minder druk uitoefent op de ECM. Indirect reguleren HDs hiermee ook de opbouw van FCLs met de integrine  $\alpha\beta5$ .

In **hoofdstuk 5** doen we onderzoek naar de opbouw van FAs. Hier was al veel over bekend, maar er was nog weinig consensus tussen de verschillende studies. Door gebruik te maken van BioID hebben we de lange lijst van eiwitten die ooit in FAs zijn gevonden kunnen reduceren tot vijf eiwitten die zich in de nabijheid van de integrine subunits  $\beta1$  en  $\beta3$  bevinden en de basiscomponenten vormen van FAs. Bij dit onderzoek hebben we ook het eiwit PEAK1 geïdentificeerd, waarvan nog niet bekend was dat het onderdeel uitmaakt van adhesiecomplexen. PEAK1 gaat indirect, via tensin-3, een interactie aan

met de integrine  $\beta 1$ ,  $\beta 3$  en  $\beta 5$  subunits. Voor deze interactie is het belangrijk dat Src eiwitten een aanpassing maken aan PEA1 (namelijk fosforylering van het aminozuur tyrosine-635). Vervolgens zorgen PEA1, tensin-3 en integrines ervoor dat cellen zich sneller kunnen voortbewegen over een fibronectinematrix.

In **hoofdstuk 6** beschrijven we de start van een nog lopend onderzoek over de rol van PEA1 bij de progressie van dikkedarmkanker. Onze collega's van de onderzoeksgroep van Beatriz Carvalho en Gerrit Meijer hebben namelijk ontdekt dat de fosforylering van PEA1 op tyrosine-635 bij patiënten veel vaker voorkomt in kwaadaardige carcinomen dan in goedaardige adenomen in de dikke darm. We maken gebruik van verschillende cellijnen en muismodellen met DNA-mutaties die vaak voorkomen bij patiënten en waarin we PEA1 in de heft van de modellen verwijderd hebben. Uit deze modellen blijkt dat PEA1 zorgt voor een snellere deling van dikkedarmkankercellen met een mutatie in het gen voor *APC* die gestimuleerd zijn met de epidermale groeifactor. Daarnaast reguleert PEA1 ook de 3D organisatie van deze cellen. De deling van dikkedarmkankercellen met extra mutaties in de genen voor *KRAS* of *PTEN* wordt echter niet beïnvloed door de aanwezigheid van PEA1. Daarnaast speelt PEA1 ook geen rol bij de ontwikkeling van tumoren in muismodellen met mutaties in *APC* en *KRAS* of *PTEN*. Wij vermoeden daarom dat PEA1 betrokken zou kunnen zijn bij de groei van het colorectaal adenoom, maar geen (grote) rol speelt bij de progressie naar een kwaadaardig carcinoom.

**Hoofdstuk 7** is een algemene discussie van het werk gepresenteerd in dit proefschrift.

Samengevat is het mogelijk om een goed beeld te krijgen van de verschillende eiwitten die geassocieerd zijn met integrines in celadhesiecomplexen door gebruik te maken van BioID en microscopie. Dit proefschrift presenteert onderzoek naar de opbouw en functie van verschillende celadhesiecomplexen (FAs, FCLs en HDs) in epitheelcellen en toont de samenwerking tussen deze complexen in respons op mechanische krachten. Daarnaast beschrijft het de identificatie van het eiwit PEA1 in FAs en laat het zien dat PEA1 een rol speelt bij de beweging van epitheelcellen en bij de deling van een bepaald soort dikkedarmkankercellen.