



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Using functional genetic screens to understand and overcome PARP inhibitor resistance

Paes Lobo Lopes Dias, M.

Citation

Paes Lobo Lopes Dias, M. (2023, January 18). *Using functional genetic screens to understand and overcome PARP inhibitor resistance*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3512289>

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/1887/3512289>

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

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Dragers van heterozygote kiembaanmutaties in *BRCA1* en *BRCA2* zijn vatbaar voor verschillende soorten kanker, waarbij het resterende wildtype allel verloren gaat. Vanwege hun rol bij het foutloos repareren van dubbelstrengs DNA-breuken via homologe recombinatie (HR), resulteert het verlies van *BRCA1/2* in deze tumoren defecten in DNA-schadeherstel die leiden tot hypergevoeligheid voor remming van poly-(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1). PARP1 is een belangrijke sensor van DNA-schade en de remming ervan resulteert in het selectief doden van *BRCA1/2*-deficiënte tumorcellen, terwijl de (*BRCA1/2*-proficiënte) lichaamscellen van de patiënt worden gespaard. Het succes van deze aanpak heeft geresulteerd in de goedkeuring van vier PARP-remmers (PARPi) voor de behandeling van eierstok-, borst-, prostaat- en alvleesklierkanker. Geneesmiddelresistentie vormt echter een groot obstakel, aangezien patiënten die PARPi krijgen, na een initiële respons vaak resistentie tegen de behandeling ontwikkelen. Het is daarom belangrijk om de oorzaken van de resistentie tegen PARPi te identificeren teneinde combinaties van behandelingsstrategieën te vinden om de ontwikkeling van PARPi-resistentie te voorkomen of te vertragen, of om tumoren te behandelen nadat PARPi-resistentie is opgetreden.

In dit proefschrift hebben we nieuwe inzichten in PARPi-resistentie verkregen door moleculaire profilering uit te voeren op borsttumoren bij muizen die PARPi-resistentie hebben ontwikkeld en door functionele genetische screens uit te voeren in PARPi-resistente cellijnen. **Hoofdstuk 2** biedt een algemeen overzicht van onze huidige kennis omtrent de mechanismen achter PARPi-respons en -resistentie, evenals mogelijke strategieën om PARPi-resistentie te kunnen overwinnen. In **Hoofdstuk 3** beschrijven we de PARPi-resistentiemechanismen die optreden in *BRCA1/2*-deficiënte borsttumoren die geen resistentie kunnen verwerven via reactivatie van *BRCA1/2*. We laten zien dat, hoewel het herstel van HR een frequent PARPi-resistentiemechanisme is in *BRCA1*-deficiënte tumoren, HR niet kan worden gereactiveerd in *BRCA2*-deficiënte tumoren. Bovendien suggereren onze resultaten dat 53BP1-verlies het meest voorkomende PARPi-resistentiemechanisme is in *BRCA1*-deficiënte tumoren, terwijl resistentie in *BRCA2*-deficiënte tumoren voornamelijk wordt veroorzaakt door PARG-verlies. In **Hoofdstuk 4** en **5** gebruiken we functionele genetische screens om kwetsbaarheden van PARPi-resistente *BRCA1/53BP1* dubbel-deficiënte cellen te identificeren, die mogelijk kunnen worden gebruikt om resistentie te overwinnen. In **Hoofdstuk 4** identificeren we DNA-ligase III (LIG3) als een cruciale mediator van PARPi-resistentie in *BRCA1/53BP1* dubbel-deficiënte cellen. We laten zien dat LIG3 een potentieel therapeutisch doelwit is omdat verlies van LIG3 de PARPi toxiciteit in *BRCA1*-deficiënte en *BRCA1/53BP1*-dubbel-deficiënte tumorcellen verhoogt. Bovendien laten we zien dat verlies van LIG3, cellen blootstelt aan MRE11-gemedieerde post-replicatieve gaten van enkelstrengs DNA (ssDNA) na behandeling met PARPi, en suggereren dat gaten van ssDNA een nieuwe determinant zijn van de PARPi-respons. In **Hoofdstuk 5** presenteren we een uitgebreide lijst van potentiële therapeutische 'targets', waaronder verschillende subeenheden van het mitochondriale complex I (MCI)

en genen die geassocieerd zijn met DNA-schade herstel routes, zoals *SWSAP1*. Hoewel individuele validatie van de MCI-subeenheden technisch moeilijk bleek en verdere validatie vereist, laten we zien dat verlies van *SWSAP1* de toxiciteit van PARPi verhoogt. Ten slotte beschrijven we in **Hoofdstuk 6** een gedetailleerd protocol voor het gebruik van driedimensionale muistumoroïden (van tumoren afgeleide organoïden) om functionele genetische screens uit te voeren voor de identificatie van kandidaat-targets voor nieuwe therapieën en voor snelle *in vivo* validatie van deze kandidaten.

Het in dit proefschrift beschreven werk draagt bij aan onze kennis omtrent de mechanismen achter PARPi respons en resistentie, en identificeert potentiële therapeutische kandidaten om de gevoeligheid voor PARPi te verbeteren. In **Hoofdstuk 7** bespreken we de resultaten van ons onderzoek in de context van de huidige literatuur, en belichten daarnaast enkele van de resterende vragen.