



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Understanding the complexity of TGF-beta signaling in cancer

Marvin, D.L.

Citation

Marvin, D. L. (2023, September 26). *Understanding the complexity of TGF-beta signaling in cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3642408>

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/1887/3642408>

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



APPENDIX

Nederlandse samenvatting
Curriculum vitae
List of publications
Acknowledgements

Nederlandse samenvatting

Communicatie tussen cellen is essentieel voor het correct functioneren van weefsels in het menselijk lichaam. In kanker is deze cellulaire communicatie verstoort, wat kan zorgen voor een ongeremde celdeling, migratie van cellen en verlies van groeiremming. De signaleringsroute geïnitieerd door Transforming Growth Factor β (TGF- β) signaleringsmoleculen (cytokines) controleren veel processen in cellen, waaronder celdeling, celdifferentiatie en celmigratie. Het resultaat van TGF- β signalering is afhankelijk van het celtype en de cellulaire context. Disregulatie van TGF- β signalering draagt bij aan de formatie en ontwikkeling van vele soorten kanker. In vroege stadia van kanker kan TGF- β signalering functioneren als tumor suppressor, door tumorgroei te verhinderen. In agressieve tumorcellen kan TGF- β signalering werken als tumor promotor door bij te dragen aan de vorming van uitzaaiingen. Het inhiberen van de TGF- β signaleringsroute is een aantrekkelijke manier om uitzaaiingen van kankercellen te remmen, en het gebruik van TGF- β remmers als potentiële therapie voor kankerpatiënten wordt onderzocht in de kliniek. Helaas resulteren deze therapieën in vele bijwerkingen. Aangezien TGF- β cytokines meerdere processen in het menselijk lichaam aansturen, is het belangrijk om TGF- β signalering in gezonde cellen en kankercellen goed te begrijpen om therapieën gebaseerd op TGF- β inhibitie te optimaliseren.

Om de complexiteit van TGF- β signalering beter te begrijpen, kan er gebruik worden gemaakt van fluorescerende hulpmiddelen die de dynamiek van TGF- β signalering in levende cellen kunnen weergeven. In **Hoofdstuk 2** wordt een nieuwe fluorescerende tool beschreven, de CAGA₁₂-dynGFP reporter, welke rapporteert voor de specifieke transcriptionele response die wordt geïnduceerd door TGF- β signalering. Wanneer TGF- β signalering actief wordt, wordt een groen fluorescerend eiwit aangemaakt met dynamische eigenschappen. Dit maakt het mogelijk om TGF- β -geïnduceerde transcriptie accurater te reflecteren in individuele cellen in real-time. In dit hoofdstuk laten we zien hoe deze tool kan worden toegepast in verschillende cellijnen om TGF- β signalering te volgen *in vitro* en *in vivo* met behulp van microscopische technieken. In **Hoofdstuk 3** wordt een andere nieuwe fluorescerende tool beschreven. Deze tool markeert cellen waarin TGF- β activiteit plaatsvindt, door een permanente kleurverandering in cellen te induceren wanneer TGF- β signalering actief is. De geschiedenis van TGF- β activatie kan hierdoor achterhaald worden in afstammelingen van gemarkeerde cellen. Hierdoor kan het effect van de activatie van TGF- β signalering over langere processen geanalyseerd worden.

TGF- β speelt een rol in de progressie en uitzaaiing van verschillende soorten kanker. Melanoom is een zeer agressieve vorm van huidkanker. Wanneer een melanoom niet uitzaait, hebben deze patiënten een goede prognose. Echter, als melanoom uitzaait naar andere organen verslechtert deze prognose aanzienlijk, waarbij melanoom patiënten met leveruitzaaiingen een specifiek slechte prognose hebben. Het is daarom belangrijk om het ontstaan en progressie van melanoom leveruitzaaiingen beter te begrijpen. In **Hoofdstuk 4** zetten we uiteen welke functies TGF- β speelt in de gezonde lever en uitzaaiing-bevattende lever. Om leveruitzaaiingen van melanoom te kunnen bestuderen, presenteren we in **Hoofdstuk 5** een methode om leveruitzaaiingen in immunocompetente muizen te induceren. Door muizen melanoom cellen in te spuiten in kleine mesenteriale aders, groeien melanoom cellen specifiek uit in de lever. Het gedrag van deze melanoom cellen kan vervolgens bestudeerd worden in de lever van levende muizen, door intravitale microscopie toe te passen. In **Hoofdstuk 6** gebruiken we deze methode om de rol van TGF- β in melanoom leveruitzaaiingen te onderzoeken. In dit hoofdstuk wordt gebruik gemaakt van genetisch gemanipuleerde melanoom cellen die, onder controle van doxycycline behandeling, overactieve of inactieve TGF- β receptor type I tot expressie brengen, wat resulteert in de activatie of remming van TGF- β signalering. Wanneer TGF- β signalering wordt geactiveerd in melanoom cellen *in vitro*, worden deze cellen geremd in hun groei en migratie. In tegenstelling, wanneer TGF- β signalering wordt aangezet in lever uitzaaiingen *in vivo*, groeien melanoom cellen beter uit in de lever. De omgeving van TGF- β actieve lever uitzaaiingen laten veranderingen zien, onder andere een verminderde aanwezigheid van T-lymfocyten. TGF- β activatie in tumorcellen zorgt voor de secretie van onder meer matrix remodellerende eiwitten, wat direct of indirect kan zorgen voor een verbeterde uitgroei van tumorcellen in de lever. Welk proces hier precies aan ten grondslag ligt, moet nog worden ontrafeld.

TGF- β signalering speelt ook een rol in andere vormen van kanker. In **Hoofdstuk 7** worden twee subtypen van baarmoederhalskanker, plaveiselcelcarcinoma en adenocarcinoma, beschreven, waarbij onderzocht wordt of de response op TGF- β signalering deze twee subtypen kan onderscheiden. Patiënten met baarmoederhals adenocarcinoma hebben een slechtere prognose en patiënten in deze subgroep reageren anders op standaardbehandelingen. In dit hoofdstuk bestuderen we zowel de genexpressie van TGF- β gerelateerde genen als de eiwit expressie van TGF- β signalering en TGF- β response eiwitten in weefsels van deze patiënten. We zien dat deze subgroepen gescheiden kunnen worden op basis van genexpressie van TGF- β gerelateerde genen. Op eiwit niveau zien

we voornamelijk verschillen in de mate van expressie, waarbij adenocarcinoma baarmoederhalskankerpatiënten lagere expressie van TGF- β gerelateerde eiwitten laten zien. Deze data suggereert dat baarmoederhals adenocarcinoma anders kan reageren op TGF- β signalering, wat invloed kan hebben op een mogelijke behandeling van baarmoederhals adenocarcinoma patiënten met TGF- β inhibitoren.

Bone Morphogenetic proteins (BMP) maken deel uit van de familie van TGF- β cytokines. BMP cytokines activeren andere TGF- β activator eiwitten dan TGF- β cytokines, en kunnen net zoals TGF- β , zowel als tumor promotor als tumor suppressor functioneren. In **hoofdstuk 8** wordt de rol van TRAF4, een regulator van BMP signalering, onderzocht in blaaskanker. Een lage TRAF4 expressie correleert met een slechtere prognose in blaaskanker. TRAF4 onderdrukt BMP signalering door SMURF1, een negatieve regulator voor BMP signalering, te downreguleren. Lage TRAF4 expressie en daarmee lagere BMP signalering correleert met mesenchymale en agressieve kankercellen, en tumor progressie.

Het onderzoek beschreven in mijn proefschrift richt zich op het beter begrijpen van TGF- β signalering in verschillende soorten kanker. De gepresenteerde onderzoeken benadrukken de complexiteit van TGF- β signalering en de noodzaak om TGF- β signalering in verschillende contexten volledig te begrijpen. De ontwikkelde methodes beschreven in dit proefschrift kunnen hiervoor gebruikt worden. Ik hoop dat met de nieuwe methodes en resultaten gepresenteerd in dit proefschrift, therapieën gebaseerd op TGF- β inhibitie in de kliniek verbeterd kunnen worden.

protein degradation.