



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## TGF- $\beta$ signaling dynamics in epithelial-mesenchymal plasticity of cancer cells

Fan, C.

### Citation

Fan, C. (2024, June 26). *TGF- $\beta$  signaling dynamics in epithelial-mesenchymal plasticity of cancer cells*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3765351>

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/1887/3765351>

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

## Nederlandse Samenvatting

In kankercellen kan het afwijkend functioneren van de transformerende groeifactor (TGF)- $\beta$ -signalering migratie en metastase bevorderen, gedeeltelijk door de inductie van epitheliale-mesenchymale transitie (EMT). Hoewel strategieën gericht op manipulatie van TGF- $\beta$ -signalering worden onderzocht voor betere behandeling van kankerpatiënten, beperken de ontarget bijwerkingen veroorzaakt door langdurige systemische TGF- $\beta$ -signaleringsremming de klinische goedkeuring. Daarom kan het ontrafelen van de regulerende mechanismen van TGF- $\beta$ -signalering in kankercellen (en normale cellen) nieuwe mogelijkheden bieden om kankerpatiënten te behandelen.

Lange niet-coderende RNA's (lncRNA's) zijn een klasse transcripten zonder coderingspotentieel, maar sommige blijken een cruciale rol te spelen bij het reguleren van signaaltransductieroutes via verschillende mechanismen. In **Hoofdstuk 2** hebben we RNA expressie profilering uitgevoerd om te screenen op TGF- $\beta$ -geïnduceerde lncRNAs in borstkankercellen. Vervolgstudies naar functieverlies identificeerden lncRNA geïnduceerd door TGF- $\beta$  en antagoniseert TGF- $\beta$  Signaling 1 (*LITATSI*) als een beschermer van epitheelcellen om de door TGF- $\beta$  geïnduceerde EMT te onderdrukken. Mechanistisch gezien dient *LITATSI* als een platform om de interactie tussen TGF- $\beta$  type I-receptor (T $\beta$ RI) en de SMAD-specifieke E3 ubiquitineligase 2 (SMURF2) te versterken, wat leidt tot de toename van polyubiquitinatie en proteasomale afbraak van T $\beta$ RI. *LITATSI* kan ook de locatie van SMURF2-eiwit in het cytoplasma stimuleren. Analyse van kankerpatiëntenmonsters toonde aan dat *LITATSI*-expressie correleert met een gunstig overlevingsresultaat bij borst- en niet-kleincellige longkankerpatiënten. Dit laatste benadrukt het potentieel van *LITATSI* als een veelbelovende prognostische kankermarker. De herintroductie van *LITATSI* in zeer agressieve borstkankercellen remt de migratie en invasie, wat suggereert dat *LITATSI* een therapeutisch middel tegen kanker zou kunnen zijn.

lncRNA's die TGF- $\beta$ -signalering in kankercellen activeren, kunnen worden onderzocht als alternatieve therapeutische doelen om selectief TGF- $\beta$ -geïnduceerde EMT in kankercellen te remmen. In **Hoofdstuk 3** hebben we beschreven hoe lncRNA Enforcing TGF- $\beta$  Signaling 1 (*LETSI*) TGF- $\beta$ -geïnduceerde EMT en kankeremigratie bevordert door transcriptieel een T $\beta$ RI-stabiliserend mechanisme te activeren. In deze studie hebben we aangetoond dat door TGF- $\beta$ /SMAD geïnduceerde nucleaire *LETSI* een interactie aangaat met de nucleaire factor van geactiveerde T-cellen (NFAT5) om de transcriptie van de nucleaire hormoonreceptor *NR4A1* te stimuleren. *NR4A1* remt de polyubiquitinatie van T $\beta$ RI en versterkt de stabiliteit van T $\beta$ RI door remmende (I)-SMAD7-eiwitafbraak te faciliteren. Dit leidt tot een activering van TGF- $\beta$ /SMAD-signalering, door TGF- $\beta$  geïnduceerde EMT en migratie en invasie van kankercellen. Zo hebben we een nieuw mechanisme ontrafeld waarmee TGF- $\beta$ /SMAD-signalering op receptorniveau wordt verfijnd via een niet-geannoteerd lncRNA *LETSI*.

Ovo-achtige transcriptionele repressor 1 (OVOL1) is een cruciale bepalende factor voor de epitheliale cel identiteit en stimulator van de mesenchymale-epitheliale transitie (MET). **Hoofdstuk 4** laat zien dat botmorfogenetische proteïne (BMP) de expressie van OVOL1 sterk induceert, wat op zijn beurt de BMP-signalering versterkt. Deze positieve feedback wordt bereikt door OVOL1-gemedieerde onderdrukking van TGF- $\beta$ /SMAD-signalering. OVOL1 bindt zich aan het remmende SMAD7 en verdringt de interactie met E3-ligasen die zich op SMAD7 richten. OVOL1 voorkomt daardoor de polyubiquitinatie en proteasomale afbraak van SMAD7. Als gevolg hiervan wordt T $\beta$ RI gdestabiliseerd door OVOL1, wat resulteert in de verzwakking van TGF- $\beta$ -signalering en TGF- $\beta$ -geïnduceerde EMT-migratie in

borstkankercellen. Daarnaast hebben we 6-formylindolo(3,2-b)carbazol (FICZ) geïdentificeerd die de expressie van OVOL1 kan stimuleren en daardoor (tenminste gedeeltelijk) TGF- $\beta$ -getriggerde EMT en migratie bij borstkanker kan tegenwerken. We hebben met deze bevindingen een mechanisme blootgelegd hoe OVOL1 de epitheliale identiteit van borstkankercellen handhaaft door TGF- $\beta$ - en BMP-signalering te beïnvloeden.

Alles bij elkaar hebben we verschillende nieuwe modulators van TGF- $\beta$ /SMAD-signalering geïdentificeerd. We bestudeerden de rol van deze modulators in TGF- $\beta$ -geïnduceerde EMT en migratie in borst- en longkankercellen, en onderzochten de mechanismen waarmee ze TGF- $\beta$ /SMAD-signaleringstransductie verfijnen. Deze onderzoeken dragen bij aan een beter begrip van de regulerende netwerken van TGF- $\beta$ -signalering en kunnen nieuwe therapeutische mogelijkheden bieden voor patiënten met borst- of longkanker door heel gericht op TGF- $\beta$ -signalering in kankercellen in te grijpen.