



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Advancements in cancer imaging: receptor-targeted approaches for enhanced precision and therapy guidance
Rezaei, S.

Citation

Rezaei, S. (2026, March 31). *Advancements in cancer imaging: receptor-targeted approaches for enhanced precision and therapy guidance*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4300445>

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/1887/4300445>

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

Chapter 6

Summary

English summary

This PhD thesis explores challenges in cancer diagnosis and treatment, emphasizing nanotechnology's role in enhancing drug delivery through nanoparticles (NPs). It discusses NP uptake by tumor cells and active tumor-targeting by using cancer cell membrane-coated NPs and peptide-based probes for precise tumor detection and therapy. Additionally, it examines cancer-associated membrane proteins as diagnostic and therapeutic targets and the role of peptides in molecular imaging. This PhD research advances cancer imaging through receptor-targeted approaches, improving precision and guiding therapy for better diagnosis and treatment.

Erythrocyte-cancer hybrid membrane-coated reduction-sensitive nanoparticles for enhancing chemotherapy efficacy in breast cancer

In **Chapter 2**, the physicochemical properties of coated DOX-loaded chitosan nanoparticles (NPs) were characterized, including their size, surface charge, and morphology. The study explored how coating these NPs with cancer cell membranes (CCMs), red blood cell membranes (RBCMs), or hybrid erythrocyte-cancer membranes (RBC-4T1CMs) influenced their uptake and therapeutic effects in breast cancer cells. *In vitro* experiments demonstrated that membrane coating significantly enhanced NP uptake and cytotoxicity, particularly when cancer cell membranes were used. By optimizing the ratio of RBCMs to CCMs, homotypic targeting was further improved, leading to more effective drug delivery. *In vivo* studies, using a breast cancer model, revealed that coated NPs exhibited superior tumor-targeting ability, effectively inhibiting tumor growth and metastasis compared to uncoated NPs or free DOX. Among the tested formulations, cancer cell membrane-coated NPs demonstrated the strongest therapeutic effect. Additionally, membrane coating reduced NP clearance by macrophages and minimized accumulation in the liver and lungs. These findings highlight the importance of tumor-specific membrane coatings in enhancing drug delivery, suggesting that cancer cell membrane-coated NPs offer a promising strategy for improving breast cancer treatment.

Rectal Cancer Molecular Tumor Imaging using Nanoparticles targeted by a Novel GRPR-binding Peptide for Fluorescence Image-guided Surgery

Chapter 3 addresses the challenges of rectal cancer surgery, particularly due to the complex anatomy of the distal colon. Surgical success depends on complete tumor removal while preserving critical structures. To enhance precision, fluorescence-guided surgery (FGS) has been developed, using fluorescent dyes or probes administered before or during surgery to help visualize and accurately resect tumors. The expression of gastrin-releasing peptide receptor (GRPR) in rectal cancer cells was confirmed through immunofluorescence (IF), immunohistochemistry (IHC), and western blot analysis. Given its high expression in rectal cancer, GRPR was selected as a target for molecular imaging.

A novel GRPR-targeting peptide, GRP-derived peptide (GRP-DP), demonstrated strong *in vitro* targeting of rectal cancer cells. Additionally, the Near-Infrared (NIR) dye Indocyanine green (ICG) encapsulated in poly(lactic-co-glycolic acid)-polyethylene glycol (ICG/PLGA-PEG) nanoparticles (NPs) functionalized with GRP-DP showed efficient internalization and enhanced fluorescent delivery. These findings highlight the potential of GRPR-targeted ICG/PLGA-PEG for improving fluorescence-guided surgery and tumor visualization in rectal cancer.

Expression of Cholecystokinin B receptor in Rectal Cancer: Clinical Significance and Tumor-targeting with the PP-F11 CCK2R-Binding Peptide

In **Chapter 4**, the role of the cholecystokinin type 2 receptor (CCK2R) in rectal cancer (RC) is explored. CCK2R, which mediates the effects of gastrin and cholecystokinin (CCK), promotes cancer proliferation in advanced stages of colorectal cancer (CRC). While its role in gastric and pancreatic cancers is well-established, its involvement in rectal cancer is less studied. We first evaluated CCK2R expression in rectal and colorectal cancer cell lines using qRT-PCR. Data showed variable CCK2R expression across colorectal cancer cell lines, with SW620 exhibiting the highest levels, SW480, SW116, and HT29 showing lower expression, and HRA19 and SW1463 displaying intermediate levels. A431+CCK2R served as a positive control.

To enhance near-infrared (NIR) imaging for tumor visualization, we developed the modified CCK2R-binding peptide, Cy5@PP-F11, for targeting CCK2R-positive tumors in fluorescence-guided surgery. Live cell imaging showed strong fluorescence in the cytoplasm of CCK2R-positive cells, indicating effective binding and internalization of the Cy5@PP-F11 peptide.

Additionally, CCK2R expression was assessed in 495 Stage I-IV rectal cancer patients using tissue microarrays (TMAs) and immunohistochemistry (IHC). This study found significantly elevated CCK2R expression in both epithelial and stromal compartments of rectal cancer tissues compared to normal rectal tissue. While previous studies focused mainly on epithelial expression, this is the first to highlight its dual localization and clinical relevance. Stromal CCK2R was associated with tumor grade, TNM stage, and lymphoid infiltration, suggesting a role in immune modulation. Although epithelial CCK2R showed limited correlation with clinical features, low stromal expression was linked to earlier recurrence, metastasis, and poorer prognosis. These findings position stromal CCK2R as a potential prognostic biomarker and therapeutic target in rectal cancer, reflecting its impact on tumor progression and the immune microenvironment.

This PhD research has deepened our understanding of targeted therapeutic and imaging strategies for cancer treatment, focusing on enhancing efficacy through innovative nanoparticle systems and receptor-targeted imaging probes. The thesis presents a comprehensive approach to advancing cancer diagnosis and therapy, utilizing nanotechnology and molecular targeting techniques, with a particular emphasis on breast and rectal cancers.

Nederlands samenvatting

Dit proefschrift onderzoekt de uitdagingen bij de diagnose en behandeling van kanker, met een bijzondere focus op de rol van nanotechnologie bij het verbeteren van medicijnafgifte via nanopartikels (NPs). Het behandelt de opname van NPs door tumorcellen en de actieve tumorgerichte targeting met behulp van met kankercelmembranen gecoate NPs en peptide-gebaseerde probes voor nauwkeurige tumordetectie en therapie. Daarnaast worden membraaneiwitten die geassocieerd zijn met kanker onderzocht als diagnostische en therapeutische doelwitten, evenals de rol van peptiden in moleculaire beeldvorming. Dit promotieonderzoek draagt bij aan de ontwikkeling van kankervisualisatie via receptorgerichte benaderingen, waardoor de precisie en begeleiding van therapie worden verbeterd voor een effectievere diagnose en behandeling.

Erythrocyten-kanker hybride membraangecoate reductie-gevoelige nanopartikels ter verbetering van de chemotherapie-efficiëntie bij borstkanker

In Hoofdstuk 2 zijn de fysisch-chemische eigenschappen van met DOX beladen chitosan-nanopartikels (NPs) gekarakteriseerd, waaronder hun grootte, oppervlaktlading en morfologie. Er werd onderzocht hoe coating met kankercelmembranen (CCMs), rodebloedcelmembranen (RBCMs) of hybride erythrocyt-kanker membranen (RBC-4T1CMs) de opname en therapeutische effecten in borstkankercellen beïnvloedde. In vitro experimenten toonden aan dat membraancoating de opname en cytotoxiciteit van NPs significant verbeterde, vooral bij gebruik van kankercelmembranen. Door de verhouding tussen RBCMs en CCMs te optimaliseren werd homotypische targeting verder versterkt, wat leidde tot effectievere medicijnafgifte. In vivo studies met een borstkankermodel toonden aan dat gecoate NPs superieure tumortargetingcapaciteiten vertoonden en tumorprogressie en metastasering effectiever remden dan ongecoate NPs of vrije DOX. Onder de geteste formuleringen vertoonden NPs gecoat met kankercelmembranen het sterkste therapeutische effect. Bovendien verminderde membraancoating de klaring door macrofagen en de accumulatie in lever en longen. Deze bevindingen benadrukken het belang van tumorspecifieke membraancoatings voor het verbeteren van medicijnafgifte, en suggereren dat met kankercelmembranen gecoate NPs een veelbelovende strategie vormen voor de behandeling van borstkanker.

Moleculaire tumorbeeldvorming bij rectumkanker met behulp van nanopartikels gericht op een nieuw GRPR-bindend peptide voor fluorescentie-geleide chirurgie

Hoofdstuk 3 behandelt de uitdagingen bij rectumkankerchirurgie, vooral vanwege de complexe anatomie van het distale colon. Chirurgisch succes hangt af van volledige tumorresectie met behoud van vitale structuren. Ter vergroting van de precisie is fluorescentie-geleide chirurgie (FGS) ontwikkeld, waarbij fluorescente kleurstoffen of probes vóór of tijdens de operatie worden toegediend om tumoren visueel nauwkeuriger te verwijderen. De expressie van de gastrine-releasing peptide receptor (GRPR) in rectumkankercellen werd bevestigd via immunofluorescentie (IF), immunohistochemie (IHC) en western blot-analyse. Vanwege de hoge expressie in rectumkanker werd GRPR gekozen als doelwit voor moleculaire beeldvorming. Een nieuw GRPR-targeting peptide, GRP-afgeleid peptide (GRP-DP), vertoonde sterke in vitro targeting van rectumkankercellen. Bovendien toonden poly(lactic-co-glycolic acid)-polyethyleenglycol (ICG/PLGA-PEG) NPs met het

nabij-infrarood kleurstof Indocyanine Green (ICG), functioneel gemaakt met GRP-DP, efficiënte internalisatie en verhoogde fluorescentie-intensiteit. Deze resultaten benadrukken het potentieel van GRPR-gerichte ICG/PLGA-PEG-NPs voor verbeterde fluorescentiegeleide chirurgie en tumordetectie bij rectumkanker.

Expressie van de cholecystokinine B-receptor in rectumkanker: klinische relevantie en tumorgerichte targeting met het PP-F11 CCK2R-bindende peptide

In Hoofdstuk 4 wordt de rol van de cholecystokinine type 2 receptor (CCK2R) bij rectumkanker onderzocht. CCK2R, die de werking van gastrine en CCK bemiddelt, stimuleert de tumorgroei in gevorderde stadia van colorectale kanker (CRC). Hoewel de rol van CCK2R goed gedocumenteerd is bij maag- en pancreaskanker, is deze minder bekend bij rectumkanker. De CCK2R-expressie werd eerst onderzocht in verschillende CRC-cellijnen via qRT-PCR. De resultaten toonden variabele expressie: SW620 had de hoogste, SW480, SW116 en HT29 een lagere, en HRA19 en SW1463 een intermediaire expressie. A431+CCK2R werd gebruikt als positieve controle. Voor NIR-beeldvorming ontwikkelden we het gemodificeerde CCK2R-bindende peptide Cy5@PP-F11, gericht op CCK2R-positieve tumoren voor fluorescentiegeleide chirurgie. Live celbeeldvorming toonde sterke fluorescentie in het cytoplasma van CCK2R-positieve cellen, wat wijst op effectieve binding en internalisatie van het peptide. Daarnaast werd CCK2R-expressie onderzocht in tumorweefsel van 495 patiënten met rectumkanker stadium I-IV via weefselmicroarrays (TMA's) en IHC. De expressie van CCK2R was significant verhoogd in zowel epitheliale als stromale compartimenten van rectumtumoren vergeleken met normaal rectaal weefsel. Waar eerdere studies zich richtten op epitheliale expressie, benadrukt dit onderzoek voor het eerst de dubbele lokalisatie en klinische betekenis. Stromale CCK2R-expressie correleerde met tumorgraad, TNM-stadium en lymfoïde infiltratie, wat wijst op een rol in immuunmodulatie. Lage stromale expressie was geassocieerd met eerdere recidieven, metastasering en slechtere prognose. Deze bevindingen positioneren stromale CCK2R als een potentieel prognostisch biomarker en therapeutisch doelwit in rectumkanker, vanwege de invloed op tumorprogressie en het immuunmicro-omgeving.

Conclusie

Beeldvormingsstrategieën bij kanker verdiept, met nadruk op effectiviteitsverhoging via innovatieve nanopartikele systemen en receptorgerichte beeldvorming. Het proefschrift biedt een geïntegreerde benadering voor de verbetering van kankerdiagnostiek en therapie, waarbij nanotechnologie en moleculaire targeting centraal staan, met bijzondere aandacht voor borst- en rectumkanker.

