

SAMENVATTING

Kanker is het resultaat van een meerstaps proces van geleidelijke verandering van gezonde cellen in onsterfelijke cellen. Dit wordt ook wel oncogene transformatie genoemd en vereist het ontduiken van cel-eigen beschermingsmechanismen die ongecontroleerde proliferatie (groei) beperken. Het stoppen van de celcyclus in reactie op oncogene stress, 'oncogengeïnduceerde senescence (OIS)', is een voorbeeld van zo'n ingebouwd tumor-onderdrukkend mechanisme. Recent onderzoek, onder andere door onze onderzoeksgroep, heeft aangetoond dat OIS een belangrijke pathofysiologische kanker-onderdrukkende rol heeft, zowel in diermodellen als bij mensen. Daarnaast blijkt dat de factoren die OIS controleren ook tumor-onderdrukkende activiteit laten zien en vaak afwezig of gemuteerd zijn bij kanker. Om factoren te kunnen vinden die van belang zijn voor oncogene transformatie, hebben wij voor dit proefschrift OIS genen en 'signaalpaden' bestudeerd.

In **Hoofdstuk 1** introduceren we enkele belangrijke cellulaire stofwisselingsroutes en geven een overzicht van metabole veranderingen in tumorcellen. Ook bespreken we de huidige kennis over het metabolisme in cellen die in een staat van senescence verkeren. Enkele studies naar metabole regulatie in senescence geven aan dat het metabolisme van cellen in staat van senescence dusdanig wordt aangepast dat oncogene transformatie onmogelijk wordt gemaakt. Vandaar dat de antitumorfunctie van OIS zich ook manifesteert op het niveau van stofwisselingregulering.

In **Hoofdstuk 2** geven we een verslag van wat de relatie is tussen cellulaire groeipaden, de werking van de celcyclus en de samenhang daarvan met de regulering van metabolisme in cellen. We laten zien dat moleculaire mechanismen van metabolische herprogrammering niet alleen veranderingen in meerdere groeiwegen omvatten, met PI3K/AKT/mTOR signalen als een eerste voorbeeld, maar ook de directe communicatie tussen de componenten van het celcyclus-apparaat en metabole enzymen beïnvloeden.

Hoofdstuk 3 bevat onze analyse van metabole veranderingen in OIS. Door middel van 'massabalans-analyse' en 'metabolische flux profilering' laten we zien dat OIS cellen een ander metabool profiel hebben dan groeiende cellen. Om precies te zijn, OIS gaat gepaard met een verhoogde oxidatie van glucose in de mitochondriën, minder opname van glutamine en een hoger percentage van vetzuuruitscheiding. Opmerkelijk is dat deze veranderingen in senescence tegenovergesteld zijn aan die van kanker.

In **Hoofdstuk 4** laten we zien dat de verhoogde glucose-oxidatie in mitochondriën in OIS wordt aangestuurd door de mitochondriale 'poortwachter' pyruvate dehydrogenase (PDH). In OIS is PDH geactiveerd wanneer gelijktijdig zijn remmende kinase PDK1 wordt afgeschakeld en de PDH activerende fosfatase PDP2 gestimuleerd wordt. Belangrijk is dat het ontsnappen aan OIS gepaard gaat met een omkering van deze processen. Dit toont aan dat PDH (de)regulering een directe schakel is in deze signaleringsroute, in plaats van slechts een met OIS geassocieerd fenomeen. Deze belangrijke rol voor PDH in OIS blijkt ook uit

het feit dat als we de niveaus van PDK1 of PDP2 normaliseren, PDH wordt geïnactiveerd. Zo wordt het OIS programma verstoord, en kunnen cellen uitgroeien tot een melanoom. Tenslotte, het onderdrukken van het niveau van PDK1 veroorzaakt regressie van melanomen met een BRAF mutatie en zelfs melanomen die resistent zijn geworden tegen remmers. Deze resultaten tonen een mechanistische relatie aan tussen OIS en een belangrijke metabole signalerings-as, die therapeutisch zou kunnen worden benut.

Hoofdstukken 5, 6 en 7 beschrijven krachtige screeningsmethoden, gericht op het identificeren van onbekende OIS mechanismen met een potentiële tumor-onderdrukkende functie. In **Hoofdstuk 5** hebben we met een zogenaamde short hairpin (sh) RNA screen zeven genen geïdentificeerd die, wanneer ze geïnactiveerd worden, de senescente staat van cellen opheffen. Met behulp van een genoom-brede promoter methylatie analyse hebben we ontdekt dat één van die genen, RASEF, gehypermethyleerd is in melanomen in vergelijking tot senescente naevi (moedervlekken). Terwijl het inactiveren van RASEF leidt tot opheffing van OIS, en daarmee tot ongebreidelde celproliferatie, werkt het herstellen ervan in melanoma cytostatisch (groeiremmend). Dit is in overeenstemming met een potentiële tumor-onderdrukkende rol van RASEF. In **Hoofdstukken 6 en 7** beschrijven we onze op massa-spectrometrie gebaseerde analyse van proteoom en fosfoproteoom in delende, senescente en aan senescence ontsnapte cellen. Hiermee vonden we meerdere eiwitten met een tot nu toe onbekende functie in OIS.

In **Hoofdstuk 8** bespreken we de bevindingen uit dit proefschrift in meer detail en speculeren we over mogelijke toekomstige implicaties. Daarnaast formuleren we resterende en nieuw ontstane vragen over het mechanisme dat OIS en oncogene transformatie aanstuurt. Die vragen zullen beantwoord moeten worden om beter inzicht in de complexiteit van tumorvorming te krijgen en daarmee nieuwe aanknopingspunten voor therapeutische interventie te ontdekken.