

FUNCTIONELE MOLECULAIRE BEELDVORMING VAN DE ONTWIKKELING VAN KANKER EN REGENERATIE DOOR STAMCELLEN IN HET CENTRAAL ZENUWSTELSEL

Een hersentumor is een ernstige ziekte die een grote impact heeft op patiënten. Een glioblastoom is een hooggradig glioom met een uiterst slechte prognose, terwijl patiënten met een medulloblastoom een beter vooruitzicht hebben. Desondanks zijn cognitieve effecten als gevolg van de behandeling aanzienlijk en vermindert de kwaliteit van leven van een patiënt met een medulloblastoom aanzienlijk. Terwijl de pijn in de onderrug (lumbago) wordt beschouwd als een ziekte die aanzienlijk minder invloed heeft op patiënten in vergelijking met hersentumoren, maakt de relatief hoge incidentie het een ziekte met grote sociaaleconomische gevolgen.

Er wordt verondersteld dat hersentumoren kunnen voortvloeien uit afwijkende stamcellen en klonale selectie, wat resulteert in heterogene tumorontwikkeling. Tumor heterogeniteit en klonale selectie blijft een van de belangrijkste uitdagingen bij het ontwikkelen van geschikte therapieën. Terwijl in hersentumoren de stamcellen de oorzaak van ziekte progressieve kunnen zijn, is stamceltransplantatie een mogelijke oplossing voor weefselregeneratie in bijvoorbeeld gedegenererde tussenwervelschijven.

Om een methode te ontwikkelen om tumor heterogeniteit te bestuderen hebben we een serie functionele bioluminescente reporters gemaakt die gebruikt kunnen worden in een multiplex analyse. Daarom hebben we de van nature gesecreteerde *Gaussia* luciferase reporter gefuseerd met epitoopt labels. Vervolgens hebben we gebruik gemaakt van een immuun-bindingsassay waarmee we met label-specifieke antilichamen elke uitgescheiden reporter van cel medium of bloed afzonderlijk kunnen meten. We hebben aangetoond dat we met deze methode meerdere hersentumorcellijnen konden volgen, elk met expressie van een ander gelabelde reporter in co-culture *in vitro* en *in vivo*. Vervolgens hebben we deze methode gebruikt om de functie van potentiële tumor suppressorgenen in glioblastomen te bestuderen.

Eerst hebben we een uitgebreide lijst samengesteld met mogelijke tumor suppressor genen en deze vergeleken met genexpressiedata van medulloblastomen om vermeende tumor suppressor genen te identificeren die lager tot expressie worden gebracht. Op deze manier hebben we DAB2IP geïdentificeerd, een RAS-GTPase activerend eiwit dat wordt onderdrukt door EZH2-geïnduceerde methylering. We hebben ook aangetoond dat DAP2IP expressie in medulloblastomen een positieve marker is voor overleving van de patiënt. Vervolgens hebben we deze lijst gebruikt om in glioblastomen naar beneden gereguleerde, vermeende, tumor suppressor genen te identificeren. We hebben vervolgens neurale voorloper cellijnen gemaakt die short hairpin RNA tegen geselecteerde vermeende tumor suppressor genen en een specifieke gelabelde reporter tot expressie brachten. Vervolgens hebben we deze

cellen samen geïnjecteerd in het striatum van de muis en hebben we de ontwikkeling van tumoren geanalyseerd. We vonden dat RASAL1 mogelijk kan fungeren als een tumor suppressor in neurale voorloper cellen en dat het verminderen van de expressie ervan mogelijk kan leiden tot tumorinductie.

Vervolgens hebben we luciferase reporters gebruikt om uit vetweefsel geïsoleerde mesenchymale stamcellen over langere tijd te imageren in tussenwervelschijven van grote zoogdieren om stamcelregeneratie te bestuderen. We hebben daarom uit vetweefsel geïsoleerde mesenchymale stamcellen een luciferase reporter tot expressie laten brengen en geïnjecteerd in tussenwervelschijven van de geit en ze gekweekt onder gesimuleerde beladingscondities om fysieke belasting na te bootsen. We waren in staat om bioluminescente beeldvorming van stamcellen in geit tussenwervelschijven toe te passen, ondanks bijkomende factoren die hierin verstoringen kunnen veroorzaken. We vonden ook dat Gaussia luciferase beter geschikt is voor bioluminescente beeldvorming van cellen in tussenwervelschijven in vergelijking met Firefly luciferase.

Dit onderzoek kan nieuwe inzichten in de ontwikkeling van hersentumoren en tumorheterogeniteit en in stamcelbiologie geven, waarmee het aanknopingspunten zou kunnen geven voor nieuwe mogelijkheden voor therapeutische toepassingen.