

Nucleoli en kanker: dangerous liaisons

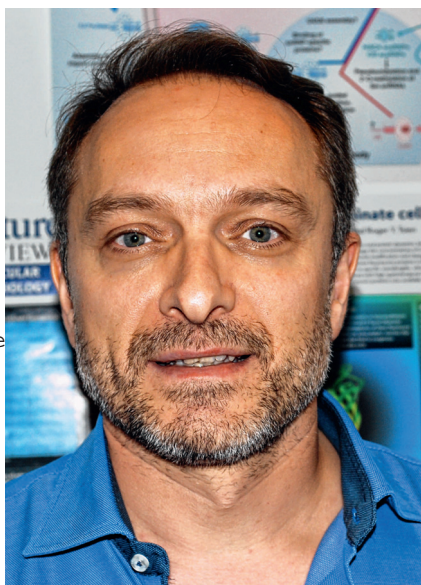
Nucleoli zijn organellen die de ribosomen assembleren. Ribosomen zijn biologische nanomachines, die eiwitten synthetiseren. De structuur en het aantal nucleoli veranderen bij kanker. In een artikel dat werd gepubliceerd in juni 2016 in Nature Communications, heeft een groep vorschers van de ULB aangetoond dat enkele ribosomale eiwitten de integriteit van de nucleoli regelen.¹ Twee van die eiwitten spelen overigens ook een sleutelrol bij de regeling van p53, een antitumoraal eiwit. De groep, die wordt geleid door professor Denis Lafontaine, heeft ook een index van de gezondheidstoestand van de nucleoli opgesteld, die door oncologen kan worden gebruikt voor diagnostische en prognostische doeleinden. |Philippe Lambert

Professor Denis Lafontaine, directeur onderzoek van het F.R.S.-FNRS en hoofd van de dienst moleculaire biologie van het RNA aan de Université Libre de Bruxelles (ULB), voert al een twintigtal jaar onderzoek uit naar ribosomen. Ribosomen zijn nanomachines, die de eiwitten in de levende cellen synthetiseren. Professor Lafontaine heeft zijn onderzoek aanvankelijk uitgevoerd op een speciale gist, *Saccharomyces cerevisiae*, een soort basismodel, maar onderzoekt sinds zes jaar ook humane cellen.

Bij de mens is het ribosoom een zeer complexe machine, die 84 bestanddelen bevat, waarvan vier belangrijke structurele elementen, de ribosomale RNA's, die als het ware het skelet van het ribosoom vormen. Daarop zitten dan 80 ribosomale eiwitten, die zelf worden gefabriceerd door andere al bestaande ribosomen. Hoe dat systeem ontstaan is, is niet meer te achterhalen (de eeuwige vraag van de kip of het ei). "De 84 bestanddelen van het ribosoom zijn verspreid over twee subeenheden, die samen eiwitten synthetiseren na ontcijfering van de informatie die in het boodschapper-RNA vervat ligt", preciseert Denis Lafontaine.

Elke cel bevat miljoenen ribosomen. De levensduur van de ribosomen bedraagt enkele dagen. De ribosomen worden gefabriceerd door de nucleoli, die een driedimensionale puzzel van 84 stukken in elkaar steken. Nucleoli zijn organellen die een gesofistikeerd, sequentieel productieproces volgen. Tijdens de synthese van een ribosoom moeten de 84 bestanddelen zich op een gegeven ogenblik op een gegeven plaats in de cel bevinden om in interactie te kunnen treden met andere bestanddelen teneinde het substraat te vormen voor binding van het volgende bestanddeel.

De nucleoli werden in 1781 ontdekt door de Italiaanse fysicus en naturalist Felice Fontana. We weten al tientallen jaren dat het aspect van de nucleoli een goede indicator



▲ Professor Denis Lafontaine

is van de gezondheidstoestand van de cel. De vorm, de grootte en het aantal nucleoli kunnen sterk variëren als een cel onder stress staat of ziek is. Kankercellen en cellen die geïnfecteerd zijn met een virus, vertonen typisch afwijkingen van de nucleoli. "Een gezonde humane cel in cultuur bevat gemiddeld vijf of zes regelmatige, ronde nucleoli", zegt professor Lafontaine. "In kankercellen kan het aantal nucleoli stijgen tot een tiental. Ook kan hun vorm veranderen: ze worden groter en minder regelmatig. En ze kunnen met elkaar versmelten."

Kankercellen vermenigvuldigen zich wanordelijk en kunnen duidelijk meer eiwitten synthetiseren dan gezonde cellen. Het is dan ook geen verrassing dat ze meer ribosomen produceren. De nucleoli moeten zich dan ook aanpassen aan de nieuwe vraag. En ze kwijten zich haastig en vrij chaotisch van die taak.

iNo score

Theoretisch vormen afwijkingen van de nucleoli een biomarker van de gezondheid van de cel. Helaas kunnen kankerpathologen dat nog niet in de klinische routine toepassen

omdat ze niet beschikken over een betrouwbaar en gebruiksvriendelijk kwalitatief en kwantitatief instrument. Vorschers van de dienst moleculaire biologie van het RNA van de ULB hebben die klip omzeild door een softwareprogramma op te stellen om ondubbelzinnig uit te maken of een nucleolus al dan niet normaal is en in voorkomend geval hoe abnormaal hij is. Daarvoor heeft professor Lafontaine een beroep gedaan op het Centre de Microscopie et d'Imagerie Moléculaire (CMMI/ULB), dat mede door hem werd opgericht en waarvan hij lid is, om een zeer performant screeningplatform te ontwikkelen, een robotmicroscopie die duizenden beelden van nucleoli in zeer korte tijd kan maken. In samenwerking met ingenieurs-programmeurs van de groep van professor Christophe De Vleeschouwer van de Université catholique de Louvain (UCL) is de dienst voor moleculaire biologie van het RNA erin geslaagd om een algoritme op te stellen dat de nagestreefde doelstelling kan verwezenlijken: uitgaande van de beelden een aantal morfometrische parameters analyseren in alle betrokken nucleoli, de toestand van de nucleoli beschrijven en in voorkomend geval becijferen hoe abnormaal ze zijn.

Met een combinatie van de verschillende parameters hebben ze een "index van afwijkingen van de nucleoli" opgesteld, die ze de naam hebben gegeven van iNo score. Die score geeft statistisch gevalideerde informatie over de ernst van eventuele schade van de nucleoli. Mogelijk biedt dat diagnostische en prognostische perspectieven in de oncologie. "Via het programma BioWin van de Fédération Wallonie-Bruxelles onderzoeken we nu of de graad van een kanker correleert met de nucleolaire afwijkingen", rapporteert Denis Lafontaine. "Met onze score kan je die afwijkingen snel opsporen. Informatie over de ernst van die afwijkingen kan bijdragen tot het diagnosticeren van kanker en zal hopelijk ook een prognostische waarde hebben, zodat we

op grond daarvan een behandeling kunnen vastleggen. Uiteraard dient dat eerst in klinische studies te worden onderzocht."

De nucleolus is een entiteit, die onvolledige voor diagnostische en prognostische doeleinden wordt gebruikt in de oncologie. Bij optische microscopie met het blote oog kan je alleen een onderscheid maken tussen perfect normale nucleoli en volledig gedesorganiseerde nucleoli. Tussenstadia en vooral de vroege stadia van destructurering zijn niet te zien. De iNo score zal daar verandering in brengen. De zone gaat van 0 tot 2 op een numerieke schaal. Nul: de nucleolus is perfect. Twee: de structuur van de nucleolus is volledig ontaard. Tussen die extremen ligt er een continuüm van tussenstadia.

Integriteit van de nucleoli

In 2012 heeft de groep van prof. Ross Hannan van de Australian National University de scheikundige stof CX-5461 toegediend aan kankercellen.² CX-5461 remt de functie van de nucleoli. Na toediening van die stof verminderde de productie van ribosomale RNA's, essentiële bestanddelen van de ribosomen, het "chassis van het voertuig", om het met de beeldspraak van professor Lafontaine te zeggen. Er werden minder ribosomen geproduceerd en de kankercellen werden specifiek gedood, waarbij de gezonde cellen intact bleven. Het moet dus mogelijk zijn om selectief tumorcellen te elimineren met een farmacologische behandeling die gericht is tegen de nucleoli. "De nucleoli vormen dus wel degelijk een therapeutische target. Dat verhoogt het belang van de studies die wij uitvoeren, nog meer", merkte Denis Lafontaine op.

De groep zoekt niet alleen naar een klinische toepassing (de iNo score), maar voert ook fundamenteel onderzoek uit. De biologen van de ULB proberen inderdaad na te gaan welke principes de integriteit van de nucleoli bepalen, en vooral welke celbestanddelen belangrijk zijn voor de architectuur van de nucleolus.

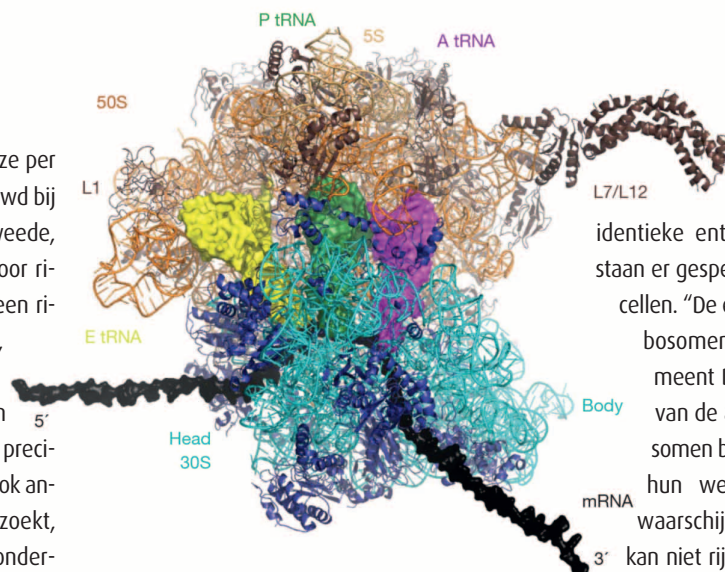
Met hun performante screeningtechniek en het begeleidende softwareprogramma hebben de vorschers alle ribosomale eiwitten van de nucleoli één voor één verwijderd om na te gaan of dat al dan niet invloed had op de structuur van de nucleoli. De wetenschappers hebben eerst gekeken naar de ribosomale eiwitten en wel om drie redenen. Ten eerste, de ribosomale eiwitten zijn de eiwitten die het

meest voorkomen in de nucleoli, waar ze per definitie stuk voor stuk worden ingebouwd bij de fabricatie van de ribosomen. Ten tweede, mutaties van de genen die coderen voor ribosomale eiwitten, veroorzaken vaak een ribosomopathie (zie verder). Ten derde, we weten dat ribosomale eiwitten de expressie regelen van de genen die een rol spelen bij kanker. Denis Lafontaine preciseert evenwel dat zijn groep sinds kort ook andere eiwitten van de nucleoli onderzoekt, maar de resultaten van die tweede onderzoeksfase zijn nog niet gepubliceerd.

Een onverwachte link

Laten we even terugkeren naar de eerste fase, het onderzoek van ribosomale proteïnen. "We moesten als het ware wat mikado spelen", commentarieert de directeur van de dienst voor moleculaire biologie van het RNA. "Als je een nucleolus zou vergelijken met een autofabriek, zou de vraag geweest zijn: welke elementen van de fabriek zijn belangrijk voor de werking van de fabriek? Als je een venster van het gebouw wegneemt, zal de autoproduktie er niet fundamenteel onder lijden, maar als je de voorraad wielen opgebruikt, ligt de productie stil."

Een belangrijke conclusie van de studie is dat slechts enkele van de 80 ribosomale eiwitten noodzakelijk zijn om de structuur van de nucleoli te handhaven. Meer nog, en dat was een totaal onverwachte (en volgens Denis Lafontaine "onverhoopte") vaststelling, de belangrijkste twee eiwitten wat dat betreft, zijn eiwitten die een sleutelrol spelen bij het regelen van de concentratie van het p53-gen. p53 is een antitumoraal eiwit, waarvan bekend is dat het tumoren onderdrukt. Concreet, als een cel kwaadaardig wordt, leidt p53, dat dan sterk tot expressie wordt gebracht, tot apoptose van de zieke cel. In een normale cel daarentegen moet de p53-concentratie zeer laag blijven. Meerdere mechanismen regelen de concentratie van het p53-eiwit in de cel. Zoals we hebben gemeld, is één van die me-



chanismen gebaseerd op twee proteïnen, die ook een sleutelrol spelen in de ribosomen: uL5 en uL18. "Het HDM2-eiwit voert p53 naar het proteasoom, dat p53 afbreekt, en verlaagt dus de hoeveelheid p53", preciseert Denis Lafontaine. "In kankercellen dienen uL5 en uL18 om HDM2 te "sequesteren" zodat HDM2 p53 niet meer naar het proteasoom kan voeren. Het antitumorale eiwit kan dan in hoeveelheid toenemen en de kankercel vernietigen."

Dan rijst meteen de vraag: "Waarom zijn de twee ribosomale eiwitten die cruciaal zijn voor de integriteit van de nucleoli, net zo belangrijk bij het regelen van p53?" Dat weten we niet. "Die vraag zal ons waarschijnlijk nog enkele jaren zoet houden", gaf onze gesprekspartner toe. "We weten dat uL5 en uL18 bij de fabricatie van het ribosoom helemaal op het einde van de assemblage worden toegevoegd en dat de biologische nanomachine zonder hen gedoemd zal zijn tot dislocatie. "Een aannemelijk scenario is dat de cellen beschikken over een mechanisme voor kwaliteitscontrole, dat ervoor moet zorgen dat uL5 en uL18 worden toegevoegd op het einde van de fabricatiecyclus", vervolgt Denis Lafontaine. "Als dat niet gebeurt, zal de structuur van de nucleolus niet conform zijn en zal het lichaam de probleemcel elimineren via p53."

Een nieuwe groep ziektes

Er is nog een nieuw concept dat de aandacht van de dienst voor moleculaire biologie van het RNA trekt. Tot voor kort beschreef de

fundamentele biologische ribosomen als perfect identieke entiteiten. Maar blijkbaar bestaan er gespecialiseerde ribosomen in de cellen. "De eerste vraag is dan hoe de ribosomen onderling verschillen", meent Denis Lafontaine. "Sommige van de 84 stukken, waaruit de ribosomen bestaan, zijn primordiaal voor hun werking, terwijl andere dat waarschijnlijk minder zijn. Een auto kan niet rijden zonder zijn vier wielen, zijn motor, zijn chassis en zijn stuur, maar wel zonder sigarettenaansteker. Dat is hier waarschijnlijk ook zo."

De hamvraag is: "Herkennen verschillende ribosomen preferentieel boodschapper-RNA en fabriceren ze dan specifieke eiwitten?" De eerste aanwijzingen lijken inderdaad daarop te wijzen.

De onderzoeken van de vorsers van de ULB werpen een belangrijk licht op een nieuwe klasse van zeer recentelijk ontdekte ziektes: de ribosomopathieën. Dat zijn zeer ernstige genetische aandoeningen. Veel van die ziektes waren al lang bekend, maar de oorzaak ervan was nog niet bekend. Nu weten we dat het probleem ligt in de biogenese, de vorming van de ribosomen.

Ribosomopathieën predisponeren tot kanker. Ze verhogen de frequentie van kanker door de ontwikkeling ervan te faciliteren of te stimuleren. Ribosomopathieën hebben meestal drie punten gemeen: ze verhogen het risico op kanker en ze veroorzaken doorgaans afwijkingen bij de ontwikkeling van het skelet en de rijping van de bloedcellen. Daarbovenop komen dan nog satelliet symptomen, pancreasinsufficiëntie of nagelafwijkingen bijvoorbeeld naargelang van het type ribosomopathie.

Door sequencing van het genoom is duidelijk geworden dat de onderliggende genetische mutaties kunnen variëren. Er zijn immers verschillende genen nodig voor de fabricatie van de ribosomen. Maar soms tast de mutatie direct het ribosoom aan, wat dan typisch af-

wijkingen van de ribosomale eiwitten veroorzaakt. De bekendste ribosomopathie is de anemie van Blackfan-Diamond (ABD), een zeldzame genetische ziekte (de prevalentie wordt geraamd op 0,67 per 100.000 geboortes), waarbij het beenmerg niet in staat blijkt te zijn om voldoende rode bloedcellen te produceren.

"Een interessante observatie is dat niet alle cellen van het lichaam functioneel worden aangetast bij die ziekten, hoewel elke cel een kleiner aantal ribosomen of misvormde ribosomen bevat", onderstreept Denis Lafontaine. "Embryo's zouden a priori niet levensvatbaar moeten zijn. En toch halen ze het. Als er problemen zijn bij de assemblage van de ribosomen, worden minder ribosomen geproduceerd en sommige zijn waarschijnlijk niet functioneel. De vraag rijst dan waarom de cellen van bepaalde weefsels (bloed, skelet...) eronder lijden en cellen van andere weefsels niet."

De meest aannemelijke hypothese is dat we in het eerste geval zouden te maken hebben met cellen die om goed te kunnen werken alle ribosomen in een normale cel nodig hebben. In het tweede geval zou een kleiner aantal ribosomen kunnen volstaan. Ribosomopathieën zijn dus geen generische ziektes, maar zeer specifieke aandoeningen. En nogmaals, één van de eigenschappen daarvan is dat ze predisponeren tot kanker. ♦

Referenties:

- Nicolas, E., Parisot, P., Pinto-Monteiro, C., de Walque, R., De Vleeschouwer, C., Lafontaine, D.L.J. (2016) "Involvement of human ribosomal proteins in nucleolar structure and p53-dependent nucleolar stress". Nature Communications doi: 10.1038/ncomms11390.
- Bywater MJ, Poortinga G, Sanij E, Hein N, Peck A, Cullinane C, Wall M, Cluse L, Drygin D, Anderes K, Huser N, Proffitt C, Bliesath J, Hadadach M, Schwaebe MK, Ryckman DM, Rice WG, Schmitt C, Lowe SW, Johnstone RW, Pearson RB, McArthur GA, Hannan RD. Inhibition of RNA polymerase I as a therapeutic strategy to promote cancer-specific activation of p53. Cancer Cell. 2012 Jul 10; 22(1): 51-65. doi: 10.1016/j.ccr. 2012.05.019

Scientific Board

Prof. Ivan Borbath (UCL), Prof. Dominique Bron (Jules Bordet), Prof. Christophe Chantrain (CHC), Prof. Alain Hendlisz (Jules Bordet), Prof. Pierre Scalliet (UCL), Prof. Ann Smeets (UZ Leuven), Prof. Bertrand Tombal (UCL), Prof. Jan Van Meerbeek (UZA), Prof. Ignace Vergote (UZ Leuven)

Eindredactie:
Karolien Van de Velde
karolien.van.de.velde@roularta.be

Medewerkers: Isabelle Cazallé, Pierre Dewaele, Jean-Claude Lemaire, Michelle Cooreman, Johan Waelkens

Foto's: Belga Image

Art director & diensthoofd productie
Viviane Claes — viviane.claes@roularta.be

Lay-out Philippe Ossemann, Helga Orinx, Antonio Zamora

Adreswijziging:
Enkel via e-mail naar circulation.rhc@roularta.be

De artikels, foto's, tekeningen en andere illustraties, opgenomen in het redactionele gedeelte van "Belgian Oncology News", bevatten geen publiciteit. Bedrijven en producten worden enkel ter inlichting vermeld. Alleen de auteurs/adverteerders zijn verantwoordelijk voor de artikels, foto's, illustraties, ideeën en de advertenties die in "Belgian Oncology News" verschijnen. Alle rechten van vertaling, overname en reproductie - op welke wijze dan ook - zijn voorbehouden voor alle landen. Pagina's met een gekleurde achtergrond vallen buiten de verantwoordelijkheid van de redactie.

Regie: Roularta HealthCare nv

Sales Manager
Michele Veys

Front Office
Corry Bas © 02/7027030 -
frontoffice.rhc@roularta.be

Belgian Oncology News is een publicatie van

Roularta HealthCare

Uitgeefdirecteur
Guido Van Hoek

Operations Manager
Virginie Meysmans
virginie.meymans@roularta.be

Verantwoordelijke uitgever
Sophie Van Iseghem

Aangesloten bij de Unie Van
Uitgevers van de Periodieke
Pers en intekenaar

