

University of Groningen

## Homologous recombination-deficient cancers: approaches to improve treatment and patient selection

Talens, Francien

DOI:  
[10.33612/diss.146371913](https://doi.org/10.33612/diss.146371913)

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Talens, F. (2020). *Homologous recombination-deficient cancers: approaches to improve treatment and patient selection*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.146371913>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

Nederlandse samenvatting

Over de auteur

Dankwoord

Appendices

## Nederlandse samenvatting

### Reparatie van DNA-schade in cellen

Bijna alle cellen in ons lichaam bevatten dezelfde 46 chromosomen, bestaande uit DNA waarin alle genetische informatie ligt opgeslagen. Met behulp van kleine stukjes DNA (genen) kunnen cellen eiwitten maken die nodig zijn voor de cel om te leven en functioneren, afhankelijk van het celtype. Om cellen te laten prolifereren (ofwel delen), moet al het DNA in een cel foutloos worden gekopieerd en vervolgens over twee nieuwe dochtercellen worden verdeeld. Het kopiëren van DNA wordt ook wel replicatie genoemd. Het DNA in onze cellen krijgt echter voortdurend te maken met verschillende soorten schade, hetzij van factoren buiten (bijv. UV stralen in zonlicht) of binnen het lichaam (bijv. schadelijke bijproducten die vrijkomen bij de stofwisseling of fouten die optreden tijdens het kopiëren van het DNA). Om te zorgen dat deze schade niet leidt tot blijvende veranderingen in het DNA, zijn cellen uitgerust met een breed scala aan mechanismen die deze schade kunnen detecteren en herstellen. Deze mechanismen tezamen wordt 'de DNA-schade-respons (DDR)' genoemd.

Een zeer toxisch type DNA-schade dat moet worden gerepareerd om het DNA intact te houden en om te zorgen dat cellen blijven leven, zijn DNA dubbelstrengs breuken (DSBs). Cellen hebben twee hoofdmechanismen om DSBs te repareren, namelijk 'non-homologous end joining' (NHEJ) en 'homologous recombination' (HR). Hoewel NHEJ zeer efficiënt is, is het ook een foutgevoelige manier van breuk reparatie en kan het zelfs mutaties (veranderingen in het DNA) veroorzaken. HR is daarentegen een foutloos reparatiemechanisme dat DSBs alleen in bepaalde fasen van de celcyclus kan repareren. HR is alleen actief in de S- en G2-fase van de celcyclus, omdat dit de fasen zijn waarin al het DNA al gekopieerd is en de cel zich voorbereid om te gaan delen. HR maakt gebruik van het DNA dat al foutloos gekopieerd is om daarmee de breuk te herstellen. Een heel belangrijk eiwit aan het einde van het HR-proces is RAD51. RAD51 vormt zich rondom de breuk die gerepareerd moet worden en zal vervolgens in het al nieuw gekopieerde DNA op zoek gaan naar het juiste stukje DNA om de breuk te kopiëren en herstellen. De aanwezigheid van RAD51 rondom DNA-breuken kan gebruik worden om te kijken of een cel beschikt over functionele HR. Als DNA-schade niet goed kan worden gerepareerd in een cel, bijvoorbeeld als gevolg van defecten in de DNA-reparatie mechanismen, kan dit leiden tot structurele veranderingen in het DNA die gevolgen hebben voor het functioneren van een cel.

### Verlies van DNA-schade mechanismen in kanker

Erfelijke defecten in DNA-schade reparatie mechanismen, door het hebben van een mutatie in een gen dat heel belangrijk is in een dergelijk mechanisme, kan leiden tot een toename van DNA-schade in een cel. Verschillende erfelijke mutaties in deze DNA-schade reparatie mechanismen worden in verband gebracht met een reeks ziektebeelden, waaronder neurologische aandoeningen, versnelde veroudering en ze spelen ook een belangrijke rol bij de ontwikkeling van kanker<sup>1</sup>. Er is beschreven dat een aanzienlijk deel van alle kankers defecten heeft in DNA-schade reparatie mechanismen, waaronder in HR. Deze kankers worden 'HR deficiënt' genoemd. Defecten in DNA-schade reparatie mechanismen en de resulterende fouten in het genoom zijn daarom ook beschreven als een belangrijk kenmerk van kanker<sup>2</sup>. Een verband tussen defecten in DNA-schade reparatie mechanismen en kanker werd voor het eerst vastgesteld toen in de jaren '90 specifieke mutaties werden ontdekt die ten grondslag lagen aan het krijgen van erfelijke borstkanker. De genen waarin deze mutaties voorkwamen werden hier vervolgens ook naar vernoemd, namelijk 'breast cancer early onset-1' (BRCA1) en 'breast cancer early onset-2' (BRCA2). Personen met een erfelijke mutatie in het *BRCA1* of *BRCA2* gen hebben een verhoogd risico tot 70% om borstkanker te

ontwikkelen. Bovendien worden *BRCA1/2* mutaties ook geassocieerd met een verhoogd risico op het ontwikkelen van eierstokkanker en een reeks andere kankertypes<sup>3</sup>. In de decennia die volgden op de ontdekking van de *BRCA1/2* genen, zijn talrijke mutaties in andere HR-genen ook geassocieerd met het ontwikkelen van kanker.

In een poging om kankers te bestuderen die geassocieerd zijn met *BRCA1/2* mutaties, bleken beide *BRCA*-genen essentieel te zijn voor de ontwikkeling van muis embryo's, wat betekent dat deze genen en daarmee ook HR een essentieel proces is voor de proliferatie van normale cellen<sup>4,5</sup>. Bovendien vervullen *BRCA1* en *BRCA2* belangrijke functies bij de bescherming van vastgelopen replicatievorken, de structuur waarin DNA wordt opengebrouwen om het te kunnen repliceren. Deze waarnemingen vormden een duidelijk contrast met het idee dat kankercellen juist levensvatbaar zijn bij gebrek aan functionele HR door een *BRCA1* of *BRCA2* mutatie. Hoe deze kankercellen overleven in de afwezigheid van *BRCA1/2* is nog niet volledig begrepen en wordt de 'BRCA-paradox' genoemd<sup>6</sup>. Steeds meer onderzoek suggereert dat er secundaire gebeurtenissen hebben plaatsgevonden, zoals mutaties of verhoogde expressie van andere genen, die deze kankercellen in staat zouden kunnen stellen te overleven in de context van HR-deficiëntie. Bovendien wordt steeds meer erkend dat het immuunsysteem ook een belangrijke rol speelt bij de overleving en groei van HR-deficiënte kankercellen.

### Behandeling van HR-deficiënte kanker

Als kanker nog gelokaliseerd is, wordt deze bij voorkeur chirurgisch verwijderd. Als een operatie niet mogelijk is, worden de meeste kankersoorten behandeld met radiotherapie, chemotherapie of met een combinatie van beide. Radiotherapie en de meeste chemotherapie veroorzaken hoge niveaus van DNA-schade, die daarmee de snel delende kankercellen doodt, maar daardoor ook schadelijk is voor normale cellen. Bovendien hebben veel kankercellen, net als normale cellen, nog steeds de capaciteit om de DNA-schade te repareren en zijn ze niet gevoelig genoeg voor deze behandelingsopties of worden ze resistent.

Om de effectiviteit van kankerbehandeling te vergroten, zijn strategieën nodig die specifiek gericht zijn op kenmerken die uniek zijn voor kankercellen. Deze behandelstrategie wordt 'gerichte therapie' genoemd. Een specifiek type gerichte therapie is gebaseerd op het principe 'synthetische letaliteit'. Een combinatie van genen wordt synthetisch letaal genoemd, wanneer in beide genen een defect voorkomt (bijv. gelijktijdig verlies van gen A en gen B) en daardoor resulteert in celdood. Verlies van slechts één van deze genen is dus niet voldoende. Het principe van synthetische letaliteit kan worden toegepast in kankertherapie, wanneer in kankercellen met een mutatie in gen A, vervolgens gen B therapeutisch wordt uitgeschakeld. Een bekend voorbeeld is de synthetische letaliteit tussen *BRCA1/2* en het gen *PARP1*. Dit leidde tot de bevinding dat kankers die HR-deficiënt zijn (door een *BRCA1/2* mutatie), kunnen worden behandeld met PARP-remmers<sup>7,8</sup>. Gezonde cellen hebben nog steeds functionele HR en zullen daarom minder gevoelig zijn voor PARP-remmers. In 2014 werd de eerste PARP-remmer olaparib (Lynparza) door de 'Food and Drug Administration' (FDA) goedgekeurd voor de behandeling van patiënten met vergespreide eierstokkanker en een *BRCA1/2* mutatie. In 2016 werden de PARP-remmers rucaparib en niraparib ook goedgekeurd voor de behandeling van patiënten met terugkerende *BRCA1/2*-gemuteerde eierstokkanker. Recentelijk is olaparib ook goedgekeurd voor de behandeling van *BRCA1/2*-gemuteerde uitgezaaide borstkanker.

Helaas ontwikkelen veel kankers uiteindelijk resistentie tegen de behandeling met PARP-remmers. Resistentie kan optreden zodra kankercellen de functie van HR herstellen door genen uit te schakelen die normaal gesproken HR remmen (suppressie genen). Dit is een resistentie mechanisme dat vooral is aangetoond in *BRCA1*-mutante cellen. Bovendien kan

de oorspronkelijke mutatie verloren gaan of zorgt een nieuwe secundaire mutatie in *BRCA1* of *BRCA2* ervoor dat de functie van het gen hersteld wordt. Tot slot kan extra bescherming van vastgelopen replicatievorken in een *BRCA2*-mutante achtergrond ook leiden tot PARP-resistentie. Om resistentie te voorkomen, is het belangrijk om onze kennis over de exacte werkingsmechanismen van PARP-remmers te vergroten en hun werkzaamheid te verbeteren door combinatiestrategieën met andere geneesmiddelen te ontwikkelen. Combinatieonderzoeken waren tot dusver gericht op het combineren van PARP-remmers met chemotherapie, angiogenese-remmers (voorkomt de vorming van nieuwe bloedvaten) en meer recent met immuuntherapie. Helaas wordt toxiciteit vaak waargenomen in onderzoeken die chemotherapie combineren met PARP-remmers. Om tolereerbare en effectieve combinatietherapieën te ontwikkelen, is het ook noodzakelijk om de cellulaire en moleculaire gevolgen van BRCA-defecten in kankercellen te begrijpen. In deze context wordt de combinatie van PARP-remmers met immuuntherapie in toenemende mate bestudeerd, aangezien recentelijk wordt gesuggereerd dat de rol van het immuunsysteem een belangrijke rol speelt bij het overleven van HR-deficiënte kankercellen.

Terwijl PARP-remmers momenteel zijn goedgekeurd voor de behandeling van *BRCA1/2*-gemuteerde eierstokkanker en borstkanker, kan HR-deficiëntie in kanker ook worden veroorzaakt door mutaties in andere DNA-reparatiegenen, buiten *BRCA1* of *BRCA2*. Deze patiënten komen momenteel niet in aanmerking voor behandeling met PARP-remmers, maar kunnen wel baat hebben bij deze behandeling, zoals reeds is aangetoond in klinische onderzoeken. Daarom is selectie van patiënten die baat zouden kunnen hebben bij PARP-remmers, naast patiënten met een *BRCA1/2*-mutatie, nodig en de hulpmiddelen om dit te doen zijn nog niet optimaal. Dergelijke hulpmiddelen voor patiëntselectie zullen waarschijnlijk ook relevant zijn voor het identificeren van kankercellen die mogelijk resistent zijn geworden tegen PARP-remmers, om zo onnodige behandeling te voorkomen.

### Doel van dit proefschrift

Het algemene doel van dit proefschrift is om de moleculaire mechanismen en cellulaire gevolgen van HR-deficiënte kankercellen te identificeren om de effectiviteit van behandelingen en patiëntselectie voor PARP-remmers te verbeteren.

### Samenvatting van de hoofdstukken

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene introductie gegeven voor dit proefschrift en wordt beschreven wat er in de verschillende hoofdstukken onderzocht is.

Veranderingen in het vermogen van cellen om hun DNA te herstellen, kunnen leiden tot een instabiel genoom, wat vaak voorkomt bij kanker. Normaal gesproken hoort al het DNA in de kern van een cel te zitten, maar als gevolg van ongeprepareerde DNA-schade kan er DNA in het cytoplasma buiten de kern van cellen terecht komen. DNA in het cytoplasma wordt herkend via cGAS/STING signalering en veroorzaakt een cel-intrinsieke inflammatoire (ontsteking) en immuunrespons. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift worden verschillende mechanismen beschreven waarmee een instabiel genoom leidt tot cGAS/STING-gemedieerde inflammatoire signalering en hoe dit de kankercellen en hun omgeving positief en negatief kan beïnvloeden. Kankercellen die worden gekenmerkt door een instabiel genoom, bijvoorbeeld door verlies van HR, zijn blijkbaar geëvolueerd om aan deze immuunreactie te ontsnappen om zo te voorkomen dat ze door het immuunsysteem worden opgeruimd. Mogelijke mechanismen waarmee kankercellen zich kunnen aanpassen aan deze inflammatoire signalering zijn: toename van immuun-belemmerende eiwitten (immuun checkpoint eiwitten), expressie van oncogenen en de activering van eiwitten die de hoeveelheid

cytoplasmatisch DNA en daaropvolgende responses kunnen verlagen. Ten slotte schetsen we hoe cGAS/STING-gemedieerde inflammatoire signalering therapeutisch aangepakt kan worden om behandeling te verbeteren. Er wordt onderzocht of toediening van cGAMP (een activator van cGAS/STING) of immuuntherapie de huidige behandelingen verbeterd.

PARP-remmers zijn op dit moment een gerichte behandelstrategie voor HR-deficiënte kanker. Echter, niet alle tumoren reageren op PARP-remmers en veel tumoren ontwikkelen uiteindelijk resistentie die resulteert in groei na een initiële respons. Meer inzichten in hoe PARP-remmers kankercellen met een HR-defect doden, is nodig om de therapierespons te verbeteren en nieuwe combinatiestrategieën te ontwikkelen. In hoofdstuk 3 hebben we daarom de mechanismen van PARP-remmers bestudeerd in verschillende HR-deficiënte kankermodellen. We hebben waargenomen dat de DNA-schade die veroorzaakt wordt door PARP-remmers in BRCA2 deficiënte cellen, resulteert in defecten gedurende de verdeling van chromosomen tijdens mitose, de laatste fase van de celdeling. Er is na behandeling met PARP-remmers een toename van zogenaamde chromatinebruggen en achterblijvende chromosomen te zien die niet goed verdeeld worden over de dochtercellen. Een soortgelijke waarneming werd gezien in verschillende humane en muis cellijnen die deficiënt waren voor BRCA1 of RAD51 en behandeld zijn met PARP-remmers. Met behulp van 'time-lapse' microscopie toonden we aan dat onopgeloste chromatinebruggen resulteren in cellen met meerdere kernen (micronucleatie) en uiteindelijk celdood. Ten slotte zagen we dat cellen niet meer doodgingen door PARP-remmers zodra het eiwit genaamd EME1 geremd werd, wat ervoor zorgde dat de gehele mitose werd overgeslagen. Deze waarnemingen dragen bij aan de kennis over hoe PARP remming in HR-deficiënte kankercellen werken. Deze inzichten kunnen verder worden benut om de behandeling met PARP-remmers te versterken en om ze te combineren met middelen die mitose bevorderen.

Verrassend genoeg wordt verlies van HR-genen zoals BRCA2 getolereerd in kankercellen, terwijl deze genen essentieel zijn in normale cellen. Dit fenomeen wordt de 'BRCA-paradox' genoemd. Er wordt gesuggereerd dat BRCA-deficiënte cellen specifieke veranderingen ondergaan om te kunnen overleven in afwezigheid van BRCA1 of BRCA2. In **hoofdstuk 4** hebben we een genetische screen uitgevoerd om genen te identificeren waarvan uitschakeling ervoor zorgt dat kankercellen overleven na verlies van BRCA2. We toonden aan dat verlies van de TNF $\alpha$ -receptor (TNFR1) en SAM68 voorkomt dat cellen doodgaan na inactivatie van BRCA2. De relatie tussen BRCA2-inactivering en TNF $\alpha$ -signalering werd aangetoond door de observatie dat BRCA2 inactivatie resulteerde in verhoogde TNF $\alpha$  productie, activering van TNFR1-signalering en verhoogde gevoeligheid voor TNF $\alpha$ -behandeling. De verhoogde gevoeligheid voor TNF $\alpha$ -behandeling werd vervolgens verminderd door inactivatie van TNFR1 of SAM68. Vergelijkbare resultaten werden gezien na inactivatie van andere HR-genen, zoals *BRCA1* of *FANCD2*. Ten slotte toonden we aan dat inactivatie van BRCA2 resulteerde in activering van een interferon respons die veroorzaakt werd door de vorming van micronuclei (stukjes DNA in het cytoplasma) die vervolgens resulteert in een cGAS/STING-afhankelijke ontstekingsreactie. Concluderend toonden onze resultaten aan dat micronuclei veroorzaakt door verlies van BRCA2, een cGAS/STING-gemedieerde interferon respons veroorzaken, wat resulteerde in TNF $\alpha$ -signalering en TNF $\alpha$ -gevoeligheid.

In hoofdstuk 2 zijn meerdere mechanismen beschreven die ten grondslag zouden kunnen aan liggen aan de observatie dat genomisch instabiele kankercellen moeten ontsnappen aan de immuun surveillance, veroorzaakt door cGAS/STING signalering, om te kunnen overleven. Een van deze mechanismen is de verhoogde expressie van oncogenen, wat vaak wordt beschreven als mechanisme om proliferatie en andere routes te activeren die gunstig zijn voor de overleving van kankercellen. In het bijzonder wordt het *MYC*-oncogen vaak verhoogd tot expressie gebracht in genomisch instabiele tumoren, zoals in triple-



negatieve borstkanker (TNBC) en komt het vaak samen voor met een *BRCA1/2* mutatie. In **hoofdstuk 5** hebben we onderzocht of verhoogde expressie van MYC de immuunreacties, ofwel cGAS/STING-gemedieerde signalering, beïnvloedde in TNBC. Dit is voornamelijk onderzocht in de context van een *BRCA1/2* mutatie. Met behulp van twee humane cellijnen ontdekten we dat verschillende tot over expressie gebrachte oncogenen in staat waren om immuun gerelateerde signaturen te verminderen op basis van RNA-expressie. Analyse op basis van genexpressie in een grote database (TCGA) bevestigde dat TNBC-samples met over expressie van MYC een vermindering van immuun gerelateerde expressie signaturen vertoonden. In een *Brcr1*-mutant TNBC-muismodel, resulteerde MYC over expressie in een dramatisch verlies aan de infiltratie van lymfocyten en een verminderde tumorlatentie. Met behulp van een 3D kweekmodel en humane cellijnen, toonden we aan dat verhoogde MYC-expressie verschillende interferon-gerelateerde reacties veranderde, waaronder een verminderde cytokinesecretie, verminderde expressie van interferon-gestimuleerde genen en verminderde activatie van interferon-gereguleerde factoren (IRF3 en STAT1). Bovendien leidde een verhoogde MYC-expressie tot minder directe migratie en activatie van lymfocyten *in vitro*. Tenslotte, met behulp van chromatine immunoprecipitatie (ChIP) gevolgd door sequentie bepaling van het genoom, ontdekten we dat MYC direct de transcriptie van een netwerk aan immuun-gerelateerde genen verminderd. Concluderend ontdekten we een mogelijke rol van MYC-expressie in de ontduiking van *BRCA1/2*-gemuteerde TNBC voor het immuunsysteem door remming van interferon reacties.

In **hoofdstuk 6** hebben we de recente literatuur besproken over hoe HR mechanistisch in elkaar zit en wat de huidige behandelingsopties zijn voor HR-deficiënte kanker met een focus op PARP-remmers. Aangezien resistentie tegen PARP-remmers in de kliniek vaak voorkomt, zijn we uitgebreid ingegaan op de momenteel bekende resistentiemechanismen zoals: secundaire mutaties binnen de *BRCA1/2* genen die hun functie herstellen, mutaties in andere reparatiegenen zoals *TP53BP1*, *REV7* of *RIF1* om de HR-functie te herstellen of mutaties in *PAXIP* of *PARP1* om de bescherming van replicatievorken te herstellen. Om de behandeling met PARP-remmers in de kliniek optimaal uit te voeren, is het belangrijk dat patiënten met HR-deficiënte kanker adequaat worden geselecteerd. We hebben verschillende patiëntselectiemethoden uitgewerkt, zoals mutatieanalyses, genomische ‘scar’ analyses of het functioneel uitlezen van de HR-route, om mogelijk de juiste patiënten te kunnen selecteren die in aanmerking komen voor behandeling met PARP-remmers.

Aangenomen wordt dat een groot deel van de patiënten met eierstokkanker een HR-deficiënte kanker heeft, maar geen mutatie in *BRCA1/2* vertoont. Deze patiënten komen daarom niet in aanmerking voor behandeling met PARP-remmers, terwijl ze wel baat kunnen hebben bij deze behandeling. Om de patiëntselectie verder te verbeteren, hebben we in **hoofdstuk 7** genomische kenmerken bepaald, waaronder de *BRCA1/2*-mutatiestatus en een profiel op basis van genomische instabiliteit, in een cohort van 30 patiënt-afgeleide xenograft (PDX) muismodellen voor eierstokkanker. In een subset van de PDX-modellen beoordeelden we *ex vivo* HR-functionaliteit en replicatievorkstabiliteit en correleerden uiteindelijk alle genomische en functionele resultaten met de *in vivo* respons op de PARP remmer olaparib. We ontdekten dat veranderingen in *BRCA1/2* of genomische instabiliteitsprofielen niet volledig correleerden met de *in vivo* olaparib respons, omdat niet alle *BRCA1/2*-gemuteerde of genomische instabiele tumoren reageerden op PARP-remming. We beoordeelden het vermogen van tumorcellen om RAD51-foci te vormen bij bestraling met behulp van de *ex vivo* RECAP-assay wat diende als een uitlezing voor functionele HR. Aangezien HR-genen ook betrokken zijn bij de bescherming van replicatievorken, hebben we bovendien het vermogen van tumorcellen beoordeeld om vastgelopen replicatievorken te beschermen met behulp van een *ex vivo* ‘fiber’ analyse. De gemeten replicatievorkbescherming of replicatiesnelheid

correleerde niet met de olaparib response, terwijl de op RAD51 gebaseerde RECAP-assay alle PDX-modellen identificeerde die reageerden op *in vivo* olaparib. Tevens werden PDX-modellen geïdentificeerd zonder *BRCA1/2* mutatie, die wel reageerde op olaparib. Genomische sequentieanalyse in de PARP-remmer gevoelige modellen bracht verschillende mutaties aan het licht als mogelijke onderliggende oorzaak van HR-deficiëntie die nader onderzoek behoeven.

## Referenties

1. Jackson, S. P. & Bartek, J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* vol. 461 1071–1078 (2009).
2. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 144, 646–674 (2011).
3. Kuchenbaecker, K. B. et al. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *JAMA- J. Am. Med. Assoc.* 317, 2402–2416 (2017).
4. Hakem, R. et al. The tumor suppressor gene *Brca1* is required for embryonic cellular proliferation in the mouse. *Cell* 85, 1009–23 (1996).
5. Suzuki, A. et al. *Brca2* is required for embryonic cellular proliferation in the mouse. *Genes Dev.* 11, 1242–1252 (1997).
6. Elledge, S. J. & Amon, A. The BRCA1 suppressor hypothesis: An explanation for the tissue-specific tumor development in BRCA1 patients. *Cancer Cell* vol. 1 129–132 (2002).
7. Bryant, H. E. et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature* 434, 913–917 (2005).
8. Farmer, H. et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature* 434, 917–921 (2005).





## Over de auteur

Francien Gesina Talens werd geboren op 2 december 1990 in Groningen. Ze is opgegroeid in de gemeente Hoogezand-Sappemeer en heeft in 2009 haar VWO diploma behaald aan het dr. Aletta Jacobs College te Hoogezand.

Haar interesse in biologie, het menselijk lichaam en scheikunde leidde tot een studie Life, Science and Technology aan de Rijksuniversiteit te Groningen met als hoofdrichting Biomedische wetenschappen. De vrije keuze in het 3<sup>e</sup> jaar werd gevuld met een minor 'Misdad en Straf' aan de Faculteit Rechtsgeleerdheid.

Na een tussenjaar, waarin ze een paar maanden in Zuid-Afrika heeft doorgebracht om vrijwilligerswerk te doen, is ze in het najaar van 2013 begonnen met de masteropleiding Biomedical Sciences in Groningen. De eerste onderzoeksstage tijdens deze master werd uitgevoerd bij de afdeling Medische Oncologie in het UMCG onder leiding van Prof. dr. Frank Kruyt, waarin stamcellen in slokdarmkanker werden bestudeerd. De tweede onderzoeksstage werd uitgevoerd bij de afdeling Medische Microbiologie in het UMCG onder leiding van Prof. dr. Toos Daemen. Tijdens deze stage werd onderzocht of een DNA-vaccin kon dienen als immuuntherapie bij HPV-gerelateerde baarmoederhalskanker.

Na haar master is ze in september 2015 begonnen aan een promotietraject bij de afdeling Medische Oncologie onder leiding van Prof. dr. Marcel van Vugt en Prof. dr. Jourik Gietema. De resultaten van het onderzoek tijdens dit promotietraject staan beschreven in dit proefschrift.

Tegenwoordig is ze werkzaam als docent aan de hogeschool van Hall Larenstein te Leeuwarden bij de opleiding Forensisch Laboratoriumonderzoek.

## Dankwoord

Daar is eindelijk mijn proefschrift en ik ben er trots op. Dit proefschrift was niet tot stand gekomen zonder hulp van velen. Een aantal wil ik in het bijzonder bedanken.

Ten eerste wil ik mijn promotores, prof. dr. **Marcel van Vugt** en prof. dr. **Jourik Gietema**, bedanken voor hun begeleiding.

Beste **Marcel**, ik denk dat ik me geen betere promotor had kunnen wensen. Via Steven kwam ik bij jou in de groep solliciteren en ik heb er geen moment spijt van gehad. Je continue enthousiasme voor het onderzoek werkte erg aanstekelijk en ik kwam altijd positief en vol goede moed uit een van onze meetings. Manuscripten kwamen rood weer terug, maar ze werden altijd beter en scherper en dus had ik daar absoluut geen problemen mee. Bedankt voor de fijne samenwerking. Ik hoop dat je onderzoeksgroep zo goed en leuk zal blijven als dat hij nu is.

Beste **Jourik**, een klinische studie is er helaas (nog) niet van gekomen tijdens mijn promotie en daardoor ben je als arts wat minder betrokken geweest bij mijn projecten. Toch was je altijd geïnteresseerd en enthousiast op zowel werk- en persoonlijk vlak. Ik heb het heel fijn gevonden dat er altijd klinici over mijn schouders meekeken over hoe het onderzoek uiteindelijk toepasbaar kan zijn voor patiënten. Je staat aan het hoofd van een hele fijne afdeling. Dankjewel voor je begeleiding.

Ik wil de leden van de leescommissie, prof. dr. **Hans Nijman**, prof. dr. **Cor Calkhoven** en prof. dr. **John Martens** bedanken voor het lezen en beoordelen van mijn proefschrift.

Voor dit proefschrift is met veel mensen, afdelingen en onderzoeksgroepen samengewerkt. Ik wil daarom alle co-auteurs bedanken voor hun bijdrage aan diverse hoofdstukken. In het bijzonder wil ik de volgende mensen bedanken voor hun hulp.

Iedereen die betrokken was bij het **KWF/Alpe D'huzes consortium**, o.a. dr. Dik van Gent, dr. Maaïke Vreeswijk, prof. dr. Jos Jonkers, dr. Agnes Jager en Titia Meijer, wil ik bedanken voor de gezamenlijke bijeenkomsten en discussies die ik altijd erg leerzaam en enthousiasmerend heb gevonden. Nu is het tijd om de 'RECAP assay' verder de kliniek in te krijgen en ik wens iedereen die daarbij betrokken zal zijn heel veel succes met het vervolg.

Prof. dr. **Jos Jonkers**, **Chiara** and **Dario**, thank-you for the nice collaboration on the MYC manuscript. It wasn't an easy manuscript, but I think we combined our data into a very nice story in a relatively short time.

Prof. dr. **Zdenek Kleibl**, **Petra** and **Marketa**, thank-you for the sequencing you performed for our PDX study. Hopefully we can continue working on a gene mutation that we identified.

Beste prof. dr. **Steven de Jong** en dr. **Bea Wisman**, bedankt voor de samenwerking waarin we werkten aan de gevoeligheid van PARP-remmers in PDX-modellen. Deze biobank van PDX-modellen is heel erg waardevol voor de afdeling. Steven, bedankt voor de betrokkenheid die jij voor iedereen van de afdeling hebt en dat je ons gemotiveerd hield tijdens de maandelijkse journal club. Beste dr. **Marco de Bruyn**, relatief laat in mijn PhD traject begonnen we immuun-gerelateerde proeven te doen. Bedankt voor je bereidheid, met een goede portie enthousiasme en vrolijkheid, om ons altijd te helpen met vragen en ideeën voor deze proeven. Beste dr. **Rudolf Fehrmann**, bedankt voor de vele analyses die jij met je team voor onze groep en enkele van mijn hoofdstukken hebt gedaan. Ook dank voor je kritische en (vaak) terechte

opmerkingen tijdens onze meetings. Dat hield ons scherp.

Het liefste zou ik alle collega's van het **Medische Oncologie Laboratorium** afzonderlijk willen bedanken, want die hebben gezorgd voor een enorm fijne werksfeer. Iedereen buiten mijn werk om was altijd jaloers dat wij als collega's zoveel leuke dingen deden samen: borrels, bezoeken aan festivals, kroegtochten, wintersport, bowlen, etc. Die gezelligheid heeft er zeker voor gezorgd dat ik mijn PhD traject op een (toch best wel) ontspannen manier ben doorgekomen. Daarnaast wil ik de feestcommissies bedanken voor alle leuke activiteiten en labdagen die georganiseerd zijn. De commissie uit 2015-2016, bedankt dat jullie mij samen met Johannes in de nieuwe commissie hebben gestopt!

Al mijn **kantoorgenootjes** van F1.23 en G1.25 bedankt voor de gezelligheid, de vragen en discussies, de klaagmomentjes, de kopjes koffie, meegebrachte koekjes en pepernoten, het samen uitzitten van de hitte in de zomer zonder airco en het verzorgen van mijn plant.

**Stijn** en **Danique**, als mede-guppies uit de vissenkomp tijdens onze master hebben we samen heel wat jaartjes doorgebracht op de afdeling. Er zijn te veel leuke herinneringen om te noemen en er is een hechte vriendschap ontstaan. Hopelijk kunnen we snel onze etentjes weer voortzetten als Stijn ooit weer terug komt naar Nederland. Lieve Danique, het was vanaf het begin af aan overduidelijk dat jij mijn #1 paranimf zou zijn als goede vriendin! Daar ben ik super blij mee, dankjewel.

In het bijzonder wil ik enkele (ex)collega's van de '**DNA damage group**' bedanken, een hele leuke gevarieerde groep. We hadden elke week nuttige meetings en ik keek altijd erg uit naar onze tripjes naar Tsjechië of onze andere sociale activiteiten (forever second met bowlen...). Pepijn, Rolv, Colin, Sergi, Arko, Rico, Carlos, Stephanie & Audrey, ik vond het super gezellig met jullie. **Anne-Margriet**, jij hebt me in het begin van mijn promotietraject heel erg op weg geholpen en zorgde ervoor dat ik op de al rijdende, maar nog lange, trein van hoofdstuk 4 kon springen. Dat hebben we toch maar mooi samen geflikt en samenwerken met jou was prettig en lekker efficiënt. **Yannick**, bedankt dat jij je geworpen hebt op het maken van de mus81 mutatie uit hoofdstuk 7. Je brengt altijd sfeer en gezelligheid, waar je ook bent. Ik ga die gesprekjejes en vrolijkheid missen. **Maurits**, bedankt voor je hulp bij het analyseren van de RNA-sequencing data uit hoofdstuk 5. Je bent kritisch en dat maakt je een goede onderzoeker en collega. Succes met je eigen PDX studie. **Elles** en **Marieke**, dank voor alle ritjes naar de stikstof en jullie bereidheid om altijd te helpen als het nodig is. **Mengting**, thank you for your drive and work spirit to continue working on chapter 7. I wish you all the best during your PhD. **Vivian**, you were my lifesaver for chapter 7. Without you I wouldn't have been able to finish all the mice experiments and it became a very nice manuscript. Thank you for your help, home-made baking's and your 'gezelligheid' in the office. **Nathalie**, vanaf het moment dat je in onze groep kwam had ik door dat je een goede aanwinst en een leuk kantoorgenootje zou zijn. Ik spreek denk ik namens de hele groep dat jij als moederfiguur optreedt (ook al vind je dat misschien niet leuk om te horen), maar jij bent er altijd voor vragen, advies of een luisterend oor. Super leuk dat ook jij mijn paranimf wilde zijn! Dankjewel.

Buiten werk om hecht ik veel waarde aan mijn hobby's, andere activiteiten en gezelschap. Ik heb geprobeerd om daar zoveel mogelijk tijd voor vrij te maken tijdens mijn promotietraject. Dat betekent dat al mijn vrienden en nichtjes ook heel erg belangrijk zijn geweest en dat zij voor de goede afleiding zorgde wanneer dat nodig was.

Beste **Capriccio**, de zaterdagmorgen repetities (vrienden en collega's snappen nog steeds niets van die toewijding) zijn onmisbaar voor mij. Na inmiddels 20 jaar is dat een belangrijk moment van ontspanning en onderdeel van mijn wekelijkse routine. Altijd zal ik proberen om

zoveel mogelijk activiteiten met het orkest te blijven doen. Jullie zijn mijn tweede familie en het heeft me ook levenslange vriendschappen opgeleverd (klarinetchickies!). Ik hoop dat we nog heel lang samen muziek mogen maken.

Lieve **Jona**, ik ben zo trots dat ik het mooie schilderij van Hein heb mogen gebruiken voor de voorkant en ter inspiratie van mijn boekje. Bedankt dat jij en Irene dit ook een mooi en leuk idee vonden. En zoals we vaker zeggen: we hebben echt goede genen!

Je kunt mij gerust een familiemens noemen en daarom ben ik zo enorm blij met mijn lieve familie en schoonfamilie. **Jan** en **Sjouk**, bedankt voor jullie liefde en interesse die jullie altijd tonen in Johannes en mij. Het doet me altijd goed jullie weer te zien en hopelijk gaan we onze regelmatige etentjes nog lang voortzetten. **Piter** en **Yvonne**, we zien elkaar te weinig maar ik vind het altijd zo gezellig met jullie. Die 'cervicale dislocatie' van de muizen houdt jullie nog altijd bezig, maar ik vond het leuk dat jullie zo geïnteresseerd waren in wat ik nou allemaal deed op dat lab. **Henk-Jaap** en **Ingrid**, c'est très malheureux que vous vivez si loin et j'espère que nous pourrions vous rendre visite bientôt (sorry voor mijn Franse vertaling).

Lieve **pap** en **mam**, ha daar staan jullie dan! Het is te moeilijk om in een paar zinnen uit te drukken hoe dankbaar ik ben voor jullie steun, liefde, aanmoediging, interesse en goede zorgen. Met kerst werd altijd rekening gehouden met de locatie van het vakantiehuisje zodat ik nog naar het UMCG kon. Ik kijk er altijd naar uit om richting Kiel te komen om jullie weer te zien, bij te kletsen en te ontspannen. **Lucy** en **Dennis**, gelukkig zien we elkaar nog regelmatig, maar jullie wonen ook te ver weg! Ik geniet er altijd van als we met zijn allen compleet zijn. Luuc, bedankt voor je altijd nuchtere en relativerende blik.

Liefste **Johannes**, jij bent het belangrijkste geweest de afgelopen jaren en je bent echt mijn steun en toeverlaat. Tijdens de corona lockdown hebben we maandenlang samen aan de eettafel geschreven aan ons proefschrift en dat was super gezellig. Je kent me als geen ander en woorden zijn niet nodig. Daarnaast ben je slim en kritisch, waardoor je vaak heel relevante vragen kon stellen over mijn onderzoek of van die irritant slimme opmerkingen maakt in het algemeen. Het was fijn dat we elkaars werkzaamheden begrepen en het konden hebben over promotie struggles zo nu en dan. Ik weet zeker dat jij een mooie carrière tegemoet gaat en ik kijk heel erg uit naar onze toekomst.

*Liefs,*

*Francien*