

## University of Groningen

### Pim1 kinase: a double-edged sword

de Vries, Maaïke

**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:*

2015

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

*Citation for published version (APA):*

de Vries, M. (2015). *Pim1 kinase: a double-edged sword: The divergent roles of a survival kinase in environment-airway epithelium interaction*. University of Groningen.

**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.*

# Appendix

Summary, Nederlandse samenvatting, Dankwoord,  
Curriculum Vitae, Publication list

## Summary

Asthma is a complex heterogeneous disease, characterized by chronic airway inflammation and airway hyper-responsiveness. The inception of asthma is still not completely understood and especially inter-individual differences in the susceptibility to develop asthma is a topic of high interest. While both genetic and environmental factors have been postulated to play a role in the susceptibility to develop asthma, the rapid increase in the prevalence of asthma in the last half decade points towards an important role for the environmental factors herein. While the mechanisms by which different environmental triggers contribute to asthma are quite divergent, they all have in common that their initial effect is exerted through contact with and the response evoked in airway epithelial cells. By forming a chemical, physical and immunological barrier, airway epithelial cells are the interface between the external environment and the internal respiratory tissue. Therefore, airway epithelial cells are key regulators of the response to environmental triggers like cigarette smoke (CS), respiratory viral infections and aero-allergens such as house dust mite (HDM). Next to the fact that these three environmental triggers are strongly associated with the inception and exacerbations of asthma, they all affect in their own specific way the survival of airway epithelial cells. Until now, the role of airway epithelial cell survival in asthma has only moderately been explored. Therefore, we took advantage of the high expression of Pim1 kinase in airway epithelial cells and its well-known role in cell survival to expand the current understanding of the importance of cell survival of airway epithelial cells to the inception and exacerbations of asthma. However, through its ability to phosphorylate a wide range of proteins on serine and/or threonine residues, Pim1 kinase is involved in a broader variety of cellular processes, including cell growth, cell differentiation and inflammation processes. Hence, in this thesis we not only explored the role of Pim1 kinase on cell survival of airway epithelial cells upon exposure to environmental triggers, but also revealed the effects of Pim1 kinase in the anti-viral inflammatory response and innate immune response upon exposure to respiratory viruses and HDM, respectively.

The role of Pim1 kinase in the response of the airway epithelium upon exposure to CS has been studied in detail *in vivo* as well as *in vitro* in **chapter 2**. We showed that the increased neutrophilic airway inflammation and release of damaged-associated molecular patterns (DAMPs) observed in *Pim1*-deficient mice *in vivo* might be a consequence of enhanced cell death of airway epithelial cells as revealed *in vitro*. These data suggests that Pim1 kinase activity protects the airway epithelium against CS-induced damage and subsequent neutrophilic airway inflammation, thereby implying that reduced cell survival sensitizes airway epithelial cells for CS-induced damage. In **chapter 3**, we studied the effect of Pim1-dependent cell survival of primary bronchial epithelial cells (PBECs) from healthy individuals in monolayer cultures upon infection with HRV-16. We showed that reduced viral replication and release of viral particles upon pharmacological inhibition of Pim1 kinase activity was associated with enhanced induction of cell death. These results indicate a protective role of cell death of airway epithelial cells in respiratory viral infections. In addition, in **chapter 4** we observed reduced viral replication in air-liquid interface cultures of PBECs from healthy and severe asthmatic individuals. In these studies, we revealed that reduced viral replication was a consequence of an augmented interferon-induced anti-viral response upon viral infection in the absence of Pim1 activity. Interestingly, by combining two mechanisms suppressing viral replication in one single target, inhibition of Pim1 kinase could be a promising new therapeutic approach for the treatment of virally induced asthma exacerbations. In **chapter 5**, we assessed the role of Pim1 kinase in the airway epithelium exposed to HDM. We showed that inhibition of Pim1 kinase activity *in vitro* prolongs the HDM-induced loss of barrier function and increases the release of pro-inflammatory mediators. In line herewith, we observed an exaggerated epithelial innate and adaptive Th2 response to HDM in *Pim1*-deficient mice *in vivo*. These data suggest a facilitative role for Pim1 kinase in the regulation of airway epithelial barrier integrity, important for the pathogenesis of asthma.

Taken together, with this thesis we show that Pim1 kinase is not merely involved in cell survival of airway epithelial cells exposed to cigarette smoke and human rhinovirus but also plays a role in the anti-viral IFN-induced inflammatory response and in the HDM-induced innate immune response. The effects of Pim1 kinase on the different cell processes upon exposure to environmental triggers are rather divergent. While pharmacological inhibition of Pim1 kinase activity might be a highly interesting novel therapeutic approach in respiratory viral infections and eventually in virally induced asthma exacerbations, the detrimental effects of inhibition of Pim1 upon exposure to CS and HDM makes it difficult to predict the drawbacks and benefits of treatment with a pharmacological inhibitor. However, the studies described in this thesis unambiguously demonstrate that further studies on the potential of inhibition of Pim1 kinase activity as novel therapeutic approach in asthma are absolutely warranted.

## Nederlandse samenvatting

### Introductie

Astma is een chronische ziekte van de luchtwegen die veel voorkomt in Nederland. Meer dan een half miljoen mensen in Nederland heeft astma en bijna een kwart van deze patiënten zijn kinderen. In de longen van astmapatiënten zijn doorlopend ontstekingen aanwezig, welke in ernst kunnen toenemen. Door deze ontstekingen zijn de longen van mensen met astma gevoeliger voor verschillende prikkels in de leefomgeving, zoals sigarettenrook, virussen en allergenen waaronder huisstofmijt (HDM). Blootstelling aan dit soort prikkels kan ervoor zorgen dat de slijmvliezen van de longen extra slijm produceren en de spieren van de luchtwegen samentrekken. Hierdoor worden de luchtwegen nauwer en wordt het moeilijker om adem te halen, wat een astma aanval wordt genoemd. Een astma aanval gaat vaak gepaard met een benauwd gevoel, piepende ademhaling en hoest en is in de meeste gevallen van tijdelijke aard. Hoewel astma tot op heden niet genezen kan worden, is in het algemeen de benauwdheid en de ontsteking met medicatie goed te behandelen.

Ondanks het vele onderzoek naar astma dat in de afgelopen decennia is gedaan, is op dit moment nog steeds niet volkomen duidelijk hoe astma ontstaat. Ook kan de belangrijke vraag waarom mensen verschillen in de gevoeligheid voor het ontwikkelen van astma nog niet volledig worden beantwoord door artsen en onderzoekers. Wat wel bekend is, is dat astma deels erfelijk is. In de afgelopen jaren is dan ook geprobeerd genen te vinden die betrokken zijn bij het ontstaan van astma en de gevoeligheid voor het ontwikkelen van astma. Verschillende studies hebben een aantal kandidaat genen ontdekt, waaronder ORMDL3, TSLP, SMAD3 en PCDH1, die verschillen tussen mensen met en zonder astma. Helaas verklaren deze genen slechts gedeeltelijk waarom sommige mensen astma krijgen en andere mensen niet. Waarschijnlijk speelt naast de erfelijk bepaalde gevoeligheid om astma te kunnen ontwikkelen ook blootstelling aan verschillende schadelijke stoffen aanwezig in de ingeademde lucht, de zogeheten omgevingsprikkels, een belangrijk rol.

De meest bekende en best bestudeerde omgevingsprikkels zijn sigarettenrook, virussen en allergenen zoals HDM. Alhoewel deze omgevingsprikkels heel verschillend zijn, hebben ze één ding gemeen: ze komen na inademing als eerste in contact met de epitheelcellen van de long. Epitheelcellen bekleden weefsels en organen en beschermen deze daarmee tegen schadelijke invloeden van buitenaf. Individuele epitheelcellen zijn met elkaar verbonden door eiwitten, zoals Occludine, ZO-1 en E-cadherine. Hierdoor vormen de epitheelcellen een nauwsluitende laag van cellen, welke voorkomt dat de omgevingsprikkels via de longen in het lichaam kunnen doordringen. Naast het vormen van deze fysieke barrière, scheiden epitheelcellen ook mucus en verschillende antimicrobiële eiwitten uit. Dit zorgt ervoor dat de omgevingsprikkels worden wegvangen voordat ze in aanraking komen met de epitheelcellen. Verder is bekend dat omgevingsprikkels een ontstekingsreactie in de longen kunnen veroorzaken. Epitheelcellen kunnen verschillende anti-ontsteking stoffen produceren, die een belangrijke rol spelen bij deze ontsteking.

Het is gebleken dat bovengenoemde beschermende mechanismen van de epitheelcellen minder goed werken in de longen van mensen met astma. De verbindingen tussen de epitheelcellen zijn vaak aangetast en de epitheelcellen zijn minder goed in staat om ontstekingen te verminderen. Daarnaast tonen verschillende onderzoeken aan dat deze beschadigingen in de beschermende werking van de epitheelcellen kunnen worden verergerd door blootstelling aan sigarettenrook, virussen of HDM. Dit geeft aan dat epitheelcellen erg belangrijk zijn voor de longen en dat veranderingen in de epitheelcellen waarschijnlijk een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van astma. Wat echter minder goed onderzocht is, is de invloed van sigarettenrook, virussen en HDM op de overleving van de epitheelcellen. Ze beïnvloeden ieder op hun eigen manier hoe snel en op welke manier een epitheelcel doodgaat en wat de gevolgen hiervan zijn voor de longen. Wanneer bijvoorbeeld sigarettenrook de epitheelcellen zodanig beschadigt dat ze dood gaan, komt de inhoud van de cellen vrij. Hierin bevinden zich ook schadelijke stoffen, die wanneer ze aanraking komen met nog levende epitheelcellen, een ontsteking in de longen opwekken. Van virussen is bekend dat ze zich in de epitheelcellen

kunnen vermenigvuldigen. Virussen zorgen er echter ook voor dat de epitheelcellen pas doodgaan als er veel virusdeeltjes zijn gevormd, waardoor het virus zich goed kan verspreiden. Een 'gezonde' reactie op een virusinfectie is dus dat de epitheelcel juist snel dood zou moeten gaan. Het doodgaan van epitheelcellen zorgt er dan voor dat de longen minder geïnfecteerd worden met virus en beschermd de longen daarmee tegen virusinfecties. Ook HDM kan ervoor zorgen dat epitheelcellen doodgaan, zonder dat er schadelijke stoffen vrijkomen. Wanneer deze dode epitheelcellen vervolgens worden opgenomen door nog levende epitheelcellen, gaan deze epitheelcellen meer anti-ontsteking stoffen produceren. Op deze manier wordt de ontsteking veroorzaakt door HDM vermindert en beschermt het doodgaan van epitheelcellen als gevolg van blootstelling aan HDM de longen. Maar wat nu exact de rol van overleving dan wel celdood van de epitheelcellen voor het ontstaan en verergeren van astma is, is op dit moment nog onduidelijk. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift heeft als doel om de huidige kennis van de rol van overleving van epitheelcellen te vergroten.

Om goed te kunnen bestuderen hoe belangrijk de overleving van de epitheelcellen is in astma, hebben we gebruik gemaakt van een eiwit waarvan bekend is dat het betrokken is bij de overleving van verschillende soorten cellen. Dit eiwit, Pim1 kinase, is vooral bekend van onderzoek naar uiteenlopende vormen van kanker. Hierin is veelvuldig aangetoond dat Pim1 kinase ervoor kan zorgen dat cellen minder snel doodgaan. Pim1 kinase behoort tot de groep van de zogenaamde kinases. Eiwitten in deze groep kunnen andere eiwitten in het lichaam aan- of uitzetten. Door deze boodschapper functie zijn ze betrokken bij vele processen in het lichaam en op deze manier speelt Pim1 kinase ook een rol in de overleving van cellen. Door hiervan gebruik te maken, en vooral van de mogelijkheid Pim1 kinase specifiek te kunnen remmen, kunnen we de rol van celdood van epitheelcellen blootgesteld aan verschillende omgevingsfactoren in detail bestuderen.



## Doelstelling van het proefschrift

Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift is om de huidige kennis over celdood van epitheelcellen blootgesteld aan sigarettenrook, luchtwegvirussen of HDM en het belang hiervan voor het ontstaan en verergeren van astma te vergroten.

## Experimentele technieken

Om een antwoord te kunnen geven op de vraag wat het belang van celdood van epitheelcellen blootgesteld aan sigarettenrook, luchtwegvirussen en HDM is, hebben we verschillende experimentele methodes gebruikt. We hebben onder andere gebruik gemaakt van dierproeven met muizen, de zogenaamde *in vivo* experimenten. Door groepen muizen die zijn geboren zonder Pim1 kinase te vergelijken met muizen die wel Pim1 kinase hebben, kunnen we bestuderen wat de invloed van Pim1 kinase is wanneer de longen worden blootgesteld aan omgevingsprikkelers. Deze manier geeft ons mogelijkheid om de effecten van de betreffende prikkels op de longen te onderzoeken, terwijl de longen nog in het lichaam zitten.

Daarnaast hebben we gekeken naar geïsoleerde epitheelcellen, met behulp van *in vitro* experimenten. Deze epitheelcellen zijn afkomstig van mensen en kunnen op twee verschillende manieren worden gebruikt. Bij de eerste methode zijn de epitheelcellen zodanig behandeld dat ze onbeperkt kunnen groeien. Deze cellen worden cellijnen genoemd en het grote voordeel van deze cellijnen is dat er veel cellen beschikbaar zijn. Het nadeel is dat de epitheelcellen als gevolg van de behandeling om onbeperkt te groeien wel kunnen veranderen en niet meer helemaal goed te vergelijken zijn met de oorspronkelijke cellen zoals aanwezig in het menselijk lichaam. Om deze reden hebben we ook experimenten gedaan met cellen die niet behandeld zijn om onbeperkt te groeien, de zogenaamde primaire humane epitheelcellen. Deze primaire cellen lijken meer op de cellen aanwezig in de longen van mensen en experimenten met deze primaire cellen zijn beter te vertalen naar de werkelijke situatie in het lichaam.

## Blootstelling aan sigarettenrook

In **hoofdstuk 2** beschrijven we de rol van celdood in epitheelcellen die blootgesteld zijn aan sigarettenrook. Met behulp van muizen die zijn geboren zonder Pim1 kinase hebben we gekeken of deze muizen ook gevoeliger waren voor de schadelijke effecten van sigarettenrook. Onze resultaten laten zien dat na rookblootstelling de muizen zonder Pim1 kinase meer ontstekingscellen in de luchtwegen hebben dan muizen met Pim1 kinase. Vervolgens hebben we gekeken of humane epitheelcellen van een cellijn eerder doodgaan wanneer ze worden blootgesteld aan sigarettenrook, terwijl ze zijn behandeld met een Pim1 kinase remmer. Dit bleek inderdaad het geval te zijn, maar we konden helaas niet aantonen dat dit ook het geval was voor de cellen van de muizen. Omdat de inhoud van de epitheelcellen vrijkomt wanneer deze cellen doodgaan, hebben we gekeken of we ook verschillen in de hoeveelheid schadelijke stoffen konden aantonen, de zogenaamde damage-associated molecular patterns (DAMPs). Hoewel we niet precies dezelfde DAMP konden vinden in de menselijke cellen als in muizen, hebben we wel gevonden dat twee verschillende DAMPs beide verhoogd zijn wanneer er geen of geremde activiteit van Pim1 kinase is. De algemene conclusie van dit hoofdstuk is dat het verhinderen van celdood een belangrijk mechanisme van de epitheelcellen blijkt te zijn om zich te beschermen tegen de schadelijke effecten van sigarettenrook.

## Blootstelling aan luchtwegvirussen

Het onderzoek beschreven in hoofdstuk 3 en 4 is gericht op luchtwegvirussen, en dan met name het humane rhinovirus (HRV), als omgevingsprikkel. In **hoofdstuk 3** beschrijven we experimenten met primaire humane luchtwegepitheelcellen gekweekt als een enkele laag cellen, die we vervolgens geïnfecteerd hebben met HRV-16. We laten zien dat wanneer we deze cellen behandelen met de Pim1 kinase

remmer, het virus zich minder vaak vermenigvuldigd. Dit lijkt niet te komen door een verschil in anti-virale reactie van de epitheelcellen, maar doordat de cellen die behandeld zijn met de Pim1 kinase remmer eerder doodgaan, wat het vermenigvuldigen van het virus tegengaat. Uit de resultaten beschreven in hoofdstuk 3 kunnen we dan ook concluderen dat celdood vermenigvuldiging van HRV-16 remt.

In **hoofdstuk 4** hebben we gekeken naar het effect van remming van de activiteit van Pim1 kinase op de vermenigvuldiging van HRV-16 in een ALI celweek model. Wij hebben primaire epitheelcellen gebruikt afkomstig van zowel gezonde mensen als van mensen met ernstig astma. In dit ALI model zijn epitheelcellen aan de bovenkant blootgesteld aan lucht en aan de onderkant aan vloeistof voor 21 dagen, waardoor ze zodanig gaan groeien dat ze vergelijkbaar zijn met epitheelcellen in de longen van de mens. Dit model biedt de mogelijkheid om virusinfecties in de logen na te bootsen in een model dat erg lijkt op de situatie in de mens. Uit deze experimenten kwam naar voren dat de Pim1 kinase remmer ook in dit model de vermenigvuldiging van HRV-16 onderdrukte, zowel in de cellen van gezonde mensen als in de cellen van mensen met ernstig astma. In dit hoofdstuk hebben we specifiek gekeken naar de anti-virale reactie van de epitheelcellen. We zagen dat al kort na de infectie de anti-virale reactie was verhoogd in de cellen behandeld met de Pim1 kinase remmer, waardoor de vermenigvuldiging en de daaropvolgende verspreiding van HRV-16 wordt geremd. Dit biedt mogelijkheden voor een nieuwe therapie om exacerbaties van astma als gevolg van virusinfecties te behandelen.

## **Blootstelling aan HDM**

In **hoofdstuk 5** hebben we bestudeerd wat de rol van Pim1 kinase op de epitheelcellen is na blootstelling aan HDM. Blootstelling aan HDM zorgde ervoor dat de muizen astma ontwikkelden, waarbij het niet uitmaakte of de muizen met of zonder Pim1 kinase waren geboren. We waren niet in staat verschillen aan te tonen in de hoeveelheid ontstekingscellen in de longen en de gevoeligheid van de luchtwegen om samen te trekken tussen muizen geboren met en zonder Pim1. Wanneer we vervolgens de ontstekingsreactie onderzochten aan de hand van de productie van ontstekingsstoffen, vonden we een toegenomen productie van deze

stoffen in de muizen geboren zonder Pim1 kinase. Met behulp van zowel primaire humane cellen als cellen van een luchtwegepitheelcellijn hebben we aangetoond dat de Pim1 kinase remmer de verminderde barrière functie van de luchtwegepitheelcellen door blootstelling aan HDM versterkt. Aangezien we ook een toename van de ontstekingsstoffen zagen vergelijkbaar met de muizen geboren zonder Pim1 kinase, veronderstellen we dat het verminderen van de barrière functie van de epitheelcellen ervoor zorgt dat er meer ontstekingsstoffen worden geproduceerd. Uit het onderzoek beschreven in hoofdstuk 5 kunnen we concluderen dat Pim1 kinase de barrière functie van de epitheelcellen beschermt en dat in afwezigheid van Pim1 kinase er een grotere ontstekingsreactie ontstaat na blootstelling aan HDM.

### **Algemene conclusies**

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift laat zien dat de overleving van epitheelcellen een rol speelt in de blootstelling van epitheelcellen aan sigarettenrook en luchtwegvirussen. Daarnaast laten we in dit proefschrift zien dat het remmen van Pim1 mogelijkheden biedt voor het ontwikkelen van nieuwe medicijnen gericht op het onderdrukken van de vermenigvuldiging van virussen. Dit medicijn zou dan de klachten van astma exacerbaties door virusinfecties kunnen verminderen.

Wel blijft de vraag bestaan of celdood van epitheelcellen goed of slecht is. Wanneer de epitheelcellen worden blootgesteld aan sigarettenrook kan dit zorgen voor extra ontstekingen, terwijl het bij blootstelling aan een luchtwegvirus juist voor vermindering van de gevolgen van de virusinfectie kan zorgen. Oftewel, wanneer een rokende astma patiënt een virusinfectie oploopt, zorgt celdood van epitheelcellen dan voor meer of juist minder klachten? Een vergelijkbare vraag kan worden gesteld voor Pim1 kinase. Zou je een rokende patiënt een Pim1 kinase remmer geven om de schadelijke effecten van de virusinfectie te verminderen? Of vererger je hiermee alleen maar de astma doordat de patiënt ook rookt? Een eenduidig antwoord hierop is op dit moment nog niet te vinden en verder onderzoek zal moeten worden gedaan om hierop een antwoord te kunnen geven.

## Dankwoord

En dan, na ruim 4 jaar, is het tijd om ook het laatste en naar wat men zegt het meest gelezen hoofdstuk van mijn proefschrift te gaan schrijven. En misschien zelfs wel het belangrijkste hoofdstuk, want als ik een ding zeker weet is dat er zonder alle hulp en steun om mij heen helemaal geen proefschrift was geweest. De afgelopen 4 jaar zijn voorbij gevlogen en ik kijk met veel plezier terug op een ontzettend leuke en leerzame PhD periode.

Als eerste moet ik natuurlijk Pim bedanken. Pim1, zonder jou was mijn promotie-onderzoek niet mogelijk geweest en je bent dan ook echt de rode draad van mijn proefschrift. Hoewel ik je met enige regelmaat wel kon schieten, ben ik nu toch blij dat ik je de afgelopen 4 jaar trouw ben gebleven.

Na Pim kom ik natuurlijk al heel snel bij mijn copromotor terecht. Beste Martijn, dit project gaf jou de mogelijkheid om je Amsterdamse hobby mee te nemen naar Groningen en ik denk dat we nu wel kunnen zeggen dat dit best een goed idee was. Als mijn dagelijkse begeleider en 'Pim specialist' is het toch echt dankzij jou dat dit proefschrift er ligt. Door jouw positieve en optimistische kijk op de resultaten, ook toen ik in Southampton zat, wist je mij altijd weer te overtuigen om door te gaan met de experimenten. Door mijn versies van de manuscripten te voorzien van rode arceringen en commentaren heb je mij naast het uitvoeren van wetenschappelijk onderzoek ook geleerd om deze de resultaten publicatiewaardig op te schrijven. Ik weet zeker dat jouw enthousiasme voor onderzoek er mede voor heeft gezorgd dat ik in de research wil blijven. Ik wil je bij deze heel erg bedanken voor de fijne begeleiding en samenwerking. En wie weet kunnen we ooit nog eens uit gaan zoeken wat de potentie is van een Pim1 inhibitor bij virus geïnduceerde astma exacerbaties.

Beste Irene, helaas nog een paar maanden te vroeg om mijn promotor te kunnen zijn, maar ik ben blij dat je nu mijn copromotor bent. Met jouw focus op epitheelcellen wilde je altijd mee denken over de epitheelstukken van de Groninger hoofdstukken van mijn proefschrift.

Jouw gedreven en kritische kijk waren altijd erg prettig en ik heb veel van jou geleerd. Daarnaast is ook jouw enthousiasme voor de wetenschap erg inspirerend en je hebt mij laten zien hoe leuk onderzoek kan zijn. Bedankt voor je hulp bij mijn proefschrift en voor de gezelligheid tijdens de lunch, borrels en congressen.

Beste Antoon, ik ben nog steeds erg blij dat ik ruim 4 jaar geleden op het LIAL lab als PhD student mocht beginnen. Jouw inbreng in mijn project tijdens onze maandelijkse besprekingen gedurende de eerste 2 jaar van mijn PhD was altijd heel verhelderend. Hoewel jouw bijdrage aan mijn proefschrift nadat ik naar Southampton en jij vervolgens naar Londen vertrok niet meer zo actief voorgezet kon worden, ben ik blij dat jij nu toch nog mijn promotor wilt zijn.

Dear Donna, from this place I would like to take the opportunity to thank you for your enormous contribution to my thesis. As my host supervisor during the ERS Fellowship, I learned so much from all your research experience on epithelial cells and respiratory viruses. Due to all the excellent facilities in your lab we were able to successfully investigate the role of Pim1 kinase in viral infections. I'm very happy that you will attend my thesis defence as one of my promotors.

I would also like to thank the assessment committee, Prof. dr. H. Meurs, Prof. dr. C. Lloyd and Prof. dr. I. Sabroe for the critical reading and approval of my thesis.

Uiteraard wil ik ook graag iedereen op het EXPIRE lab bedanken! Wat heb ik veel van jullie geleerd en wat was het labwerk dankzij jullie leuk en gezellig. Ondanks, of misschien juist wel dankzij jullie 'geweldige' humor en veilige sfeer heb ik mij altijd enorm thuis gevoeld op het lab. Ook de borrels en andere activiteiten na het werk hebben hier zeker aan bijgedragen. Het is ook niet voor niets dat ik nog graag even bij jullie binnen loop. Uilke, ik voel mij soms nog schuldig over de enorme hoeveelheid vragen die ik op jouw heb afgevuurd, gelukkig konden we er het laatste jaar tenminste enigszins over discussiëren. Ik hoop dat jullie een geweldige

reis door Amerika maken en dat je volgend jaar weer gewoon op het lab zit. Harold, ook jij was een van mijn favoriete vraagbakens en jou heb ik minstens zoveel vragen gesteld. Ik heb dankbaar gebruik gemaakt van al je kennis over labzaken en ik weet niet wat ik zonder jouw antwoorden had gemoeten. Marnix, elk cel- of ECIS gerelateerde vraag stelde ik bij voorkeur aan jou en ik wacht nog steeds op de eerste keer dat je me geen antwoord geeft. Jacobien, ik weet zeker dat jij zo nu en dan gek werd van mijn vragen, maar wat heb ik veel geleerd van jouw celkweek ervaring. En ik beloof je, ik ruim binnenkort echt mijn vriezers op. Sharon, ook al hebben wij niet heel lang samengewerkt, je bent een goede aanvulling op het lab en ik weet zeker dat je samen met Susan het testosteron gehalte op het lab in evenwicht kunt houden. Theo, beloofd is beloofd, bedankt voor je hulp tijdens de eerste jaren van mijn PhD en gezellig dat je inmiddels ook weer op hetzelfde lab zit. Ook wil ik nog graag Janneke, Renée en Simone bedanken voor de hulp en gezelligheid tijdens de eerste twee jaar van mijn promotie. Dan kan ik natuurlijk Marco ook niet overslaan, ook al behoor je nu professioneel gezien tot de vijand. Uiteindelijk vond ik jouw provocerende opmerkingen meestal toch wel leuk, alleen geloof ik dat verhaal over jouw homostad tijdens de ERS in Barcelona nog steeds niet.

Natuurlijk wil ik mijn collega PhD-studenten hier bedanken. Laura, ongelofelijk hoe strak jouw experimenten zijn gepland, terwijl je zelf altijd zo flexibel bent. Ik vond het erg gezellig om in ieder geval het grootste gedeelte van mijn PhD tegelijkertijd met jou te doorlopen en ik ben benieuwd waar jij over een paar jaar manager bent. Daan, wat strakke PhD planning en de invulling daarvan betreft kan ik van jou ook nog wel het een en ander leren. Veel succes met de laatste loodjes van jouw PhD en het vinden van een uitdagende Post-doc in het buitenland. Emmanuel, hopefully I can send my thesis to Vancouver and don't have to hand it over to you personally. Wish you all the best in Vancouver and hope that you will enjoy it there as much as you enjoyed working and living in Groningen. Grissel, I don't know anyone who complains more than you do, but luckily you are a funny complainer. I hope you had a great wedding in Peru and that I can attend your thesis defence soon. En Roland, Jan, Dennie en Néomi, ik wacht nog steeds op jullie promotiefeestje.

Alen, as the only post-doc in the lab I think you need your own paragraph in my acknowledgements, especially since I desperately need your help for my first post-doc. I really appreciate all your help and knowledge about genetics and research in general and I hope you will enjoy the rest of your stay in Groningen and The Netherlands.

Verder wil ik graag iedereen van de Medische biologie bedanken voor de fijne sfeer op de afdeling. Speciaal wil ik Annet, Susan en Hans bedanken voor al die keren dat ze mijn account weer deblokkeerden of mijn aanstellingen hebben aangepast. And Monique, Ee Soo and Ran Ran, thank you for the nice atmosphere in our room during the last couple of months of my PhD. Ook iedereen binnen de GRIAC wil ik graag bedanken voor de inspirerende onderzoeksomgeving in het Groninger longveld.

I would also like to thank everybody in the Brooke lab for making me feel so at home. I think we all share some similar feelings about Southampton, but thanks to you I had a good time in Southampton. Natalie, thanks for the all the ALI culturing supported by Graham and Rob, you guys made my live so much easier. Angela, as you can see I made it. Now we should really start planning a visit. Nicole, Emily, Cornelia and Becky, thanks for all the post-doctoral viral and culturing advice. Lizzie and Jess, I miss our early morning talks and Lyndsy, I'm still looking for an office neighbour like you. Hopefully I don't forget anyone, but Richard Jewell, Matt, Alison, Leanne, (awesome) Richard, Franco, Jo , Jim and Mark thank you for all your help and support. And David, though I still couldn't understand most of your jokes after a year, your sense of humour made it to one of my propositions.

Naast alle mensen op het werk waren er gelukkig ook veel vrienden en familie die mij de afgelopen jaren hebben gesteund en mij eraan hielpen herinneren dat er veel meer is dan werk. Alleen al het feit dat er zoveel mensen bij mij langs zijn geweest toen ik in Engeland woonde, heeft mij het gevoel gegeven dat ik er nooit alleen voor stond.



Allereerst Marianne, mijn gedoodverfde paranimf vanaf het begin. En terecht, want ik weet niet of ik zonder jouw gepush de apotheek voor het onderzoek had verruild en wat ben ik blij dat ik deze keuze heb gemaakt. Ik denk alleen dat jij in ruil daarvoor ook het meeste geklaag aan hebt moeten horen, maar dit was gelukkig in de zomer meestal wel tijdens een rondje op de racefiets of in de winter onder het genot van een fles rode wijn. Helemaal nu jij ook halverwege je PhD bent, denk ik dat het zeker de moeite waard was geweest om financiële tegemoetkoming aan te vragen voor al deze flessen wijn. Ik vind het heel fijn dat je mij ook tijdens het laatste uur van mijn PhD bij wilt staan. Rosalie, ik ben blij dat ook jij mij als vriendin, altijd geïnteresseerd in mij en mijn werk, ongeacht hoe het thuis gaat, als paranimf bij wilt staan. De borrels en etentjes waren altijd erg gezellig en ik hoop dat er, ook nu jullie Groningen hebben verruild voor Assen, nog vele zullen volgen.

Ik wil ook graag alle andere ISO meiden, Mirte, Daphne, Femke, Jenny, Mieke, Evi, Mariet en Johanna en Francien en Marloes bedanken voor de nodige ontspanning tijdens de vele gezellige weekenden, weekjes wintersport en wat al niet meer. Ook al wonen we nu allemaal behoorlijk verspreid door het land, het is altijd erg leuk om elkaar weer te zien en bij te kletsen.

Ook mijn vriendinnen van de middelbare school, Elske, Ineke en Hiske en vriendinnen uit Weidum Anje, Sjoukje, Karin en Sietske wil ik graag bedanken voor de gezelligheid en steun afgelopen jaren. Al zien we elkaar inmiddels al lang niet meer elke dinsdagavond of zaterdagavond, afspreken met jullie is veel meer dan louter afleiding van het werk.

En tot slot mag ik dan mijn familie bedanken. Ik hoop dat dit boekje jullie eindelijk een beetje een idee geeft van wat ik de afgelopen vier jaar heb gedaan. Maar ondanks dat deze wereld jullie onbekend is, hebben jullie mij altijd onvoorwaardelijk gesteund en ik ben dan ook ontzettend blij dat jullie mijn familie zijn. Sible, Christina, Boudien en Folmer, mijn tweede thuis in Friesland, bedankt dat ik altijd bij jullie binnen kan lopen, bij voorkeur tijdens het eten. Ik zal proberen mijn naam als 'mielrinner'

hoog te houden. Beppe, hoe bijzonder dat ik Beppe mijn boekje kan geven en dat Beppe bij de verdediging ervan aanwezig zal zijn. Lieve Francisca, Pier en Margriet, bedankt voor jullie steun, hoe klein soms ook. Het is zo fijn om te weten dat jullie er altijd voor mij zijn. Lieve Anna, als je later groot bent leg ik het je nog wel een keertje uit. En dan als allerlaatste Heit en Mem. Lieve Heit en Mem, wat ik ook doe en ongeacht waar ik dat doe, jullie staan altijd volledig en vol trots achter mij. Het is zo'n voorrecht om jullie als ouders te hebben, ik weet gewoon niet hoe ik jullie daarvoor moet bedanken!

*Maaike*

## **Curriculum Vitae**

Maaïke de Vries was born on February 7, 1985 in Leeuwarden, The Netherlands. In 2003, she finished her pre-university education at the Piter Jelles Aldlân Lyceum in Leeuwarden and started with the Bachelor of Pharmacy at the University of Groningen. She obtained her bachelor in 2006 and graduated for her Master of Pharmacy degree with honours (cum laude) in 2009. Her master thesis on Toxicity of proteins and protein-drug conjugates in liver slices was performed at the Department of Pharmacokinetics, Toxicology and Targeting of the University of Groningen. During her training, she was teaching assistant at the Institute of Life Sciences of the University of Groningen. She worked for over a year as pharmacist before starting her PhD in 2011 in the Experimental Pulmonology and Inflammation Research group of the department of Pathology and Medical Biology of the University Medical Center Groningen under supervision of Dr. Martijn Nawijn. Here, she investigated the role of Pim1 kinase on the airway epithelium exposed to environmental triggers. A total of 15 months of her PhD training were performed in the Brooke Laboratory of Professor Donna Davies in Southampton, UK, which was financially supported by a European Respiratory Society Long Term Research Fellowship. The results of the shared University of Groningen and University of Southampton PhD studentship are presented in this thesis. Recently, Maaïke started as Post-doctoral researcher at the Pathology department and GRIAC research institute of the University Medical Center Groningen to explore gene expression changes in lung aging and accelerated lung aging in COPD.

## Publication list

### Articles

**de Vries M**, Smithers NP, Howarth PH, Nawijn MC and Davies DE. Inhibition of Pim1 kinase reduces viral replication in primary bronchial epithelial cells. *Eur Respir J*, 2015; 45: 1745-1748

**de Vries M**, Bedke N, Smithers NP, Howarth PH, Nawijn MC and Davies DE. Inhibition of Pim1 kinase, new therapeutic approach in virally induced asthma exacerbations. *Eur Respir J*, 2015; *in revision*.

**de Vries M**, Hesse L, Van Den Berge M, van Oosterhout AJM, Heijink IH and Nawijn MC. Pim1 kinase affects allergic asthma in a HDM-driven mouse model by preserving airway epithelial integrity. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015; *in revision*.

Faura Tellez G, Willemse BWM, Brouwer U, Noordhoek JA, Heijink IH, **de Vries M**, Smithers NP, Postma DS, Timens W, Wiffen L, Holloway JW, Lackie PM, Nawijn MC and Koppelman GH. Protocadherin-1 localization and cell-adhesion function in airway epithelial cells in asthma. *Submitted*, 2015.

Pouwels SD, Zijlstra GJ, Gras R, ten Hacken NHT, Krysko DV, **de Vries M**, van Oosterhout AJM, Heijink IH and Nawijn MC. Cigarette smoke-induced necroptosis and DAMP release trigger neutrophilic airway inflammation in mice. *Submitted*, 2015.

**de Vries M**, Heijink IH, Gras R, den Boef LE, Reinders-Luinge M, Pouwels SD, Hylkema MN, van der Toorn M, Brouwer U, van Oosterhout AJM and Nawijn MC. Pim1 kinase protects airway epithelial cells from cigarette smoke induced damage and airway inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2014; 307(3):L240-51.

## Published abstracts

**de Vries M**, Bedke N, Smithers NP, Howarth PH, Nawijn MC and Davies DE. Late-breaking abstract: Inhibition of Pim1 kinase augments the anti-viral response to rhinovirus infection. *Eur Respir J* 2014 44; Suppl 58, P519.

**de Vries M**, Heijink IH, Hesse L, van Oosterhout AJM and Nawijn MC. Pim1 kinase affects allergic asthma in a HDM-driven mice model. *Eur Respir J* 2014 44; Suppl 58, P1024.

**de Vries M**, Gras R, den Boef LE, van der Toorn M, van Oosterhout AJM and Nawijn MC. LSC 2012 abstract – The protective role of Pim1 in cigarette smoke induced damage of airway epithelium. *Eur Respir J* 2012 40; Suppl 56, P3116.

**de Vries M**, Gras R, den Boef LE, van der Toorn M, van Oosterhout AJM and Nawijn MC. The protective role of Pim1 in cigarette smoke induced damage of airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 185; 2012:A5110.

## Presentations at (inter)national conferences

Longdagen 2015, Utrecht, The Netherlands. Inhibition of Pim1 kinase, a new therapeutic approach in virus induced asthma exacerbations. Oral presentation.

ERS 2014, Munich, Germany. Late-breaking abstract: Inhibition of Pim1 kinase augments the anti-viral response to rhinovirus infection. Poster presentation.

ERS 2014, Munich, Germany. Pim1 kinase affects allergic asthma in a HDM-driven mice model. Poster presentation.

Bronchitis IX 2014, Groningen, The Netherlands. Pim1 kinase affects allergic asthma in a HDM-driven mice model. Poster presentation.

ERS 2012, Vienna, Austria. The protective role of Pim1 in cigarette smoke induced damage of airway epithelium. Oral presentation.

Longdagen 2012, Utrecht, The Netherlands. Inhibition of Pim1 kinase augments cigarette smoke induced damage of airway epithelium. Poster presentation.

ATS 2012, San Francisco, USA. The protective role of Pim1 in cigarette smoke induced damage of airway epithelium. Oral presentation.

ERS Lung Science Conference 2012, Estoril, Portugal. The protective role of Pim1 in cigarette smoke induced damage of airway epithelium. Poster presentation.

## **Grants**

Research grant from the Jan Kornelis de Cock Stichting (2015-88). Pim1 kinase affects allergic asthma by maintaining the integrity of the airway epithelial barrier.

NVVI Travel grant to visit the ERS 2014 in Munich, Germany (2014-237).  
ERS Long Term Research Fellowship (LTRF 2013-2135). Pim1 kinase, a new therapeutic target in virus-induced asthma exacerbations.

ERS Long Term Research Fellowship (LTRF 2013-2135). Pim1 kinase, a new therapeutic target in virus-induced asthma exacerbations.

Travel grant of the Dutch Asthma Foundation for attending the ATS 2012 conference in San Francisco, USA.

ERS Bursary for attending the 10th ERS Lung Science Conference 2012, Estoril, Portugal (40200/12040).

Research grant from the Stichting Asma Bestrijding (2011/038). The role of Pim1 kinase in cigarette smoke induced inflammatory response in airways.