

University of Groningen

Breaking barriers: new insights into the contribution of the protocadherin-1 (PCDH1) gene in asthma

Martin-Faura Tellez, Grissel

DOI:
[10.33612/diss.565603673](https://doi.org/10.33612/diss.565603673)

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:
2023

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

Citation for published version (APA):

Martin-Faura Tellez, G. (2023). *Breaking barriers: new insights into the contribution of the protocadherin-1 (PCDH1) gene in asthma*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.565603673>

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.

APPENDICES

Nederlandse samenvatting

Resumen en español

Acknowledgements /

Agradecimientos

Curriculum vitae

List of abbreviations

Nederlandse samenvatting

Barrières doorbreken: nieuwe inzichten in de bijdrage van het Protocadherine-1 (PCDH1) gen bij astma

Astma is een wereldwijd gezondheidsprobleem dat 1 tot 18% van de bevolking treft. Deze heterogene ziekte wordt gekenmerkt door een chronische ontsteking van de luchtwegen die kan worden behandeld maar niet genezen. Astma wordt veroorzaakt door een combinatie van omgevings- en genetische factoren. Veel astma-genen komen tot expressie in het luchtwegepitheel, wat het belang van het luchtwegepitheel bij de ontwikkeling van astma benadrukt.

In dit proefschrift onderzochten we de rol van Protocadherine-1 (PCDH1), een nieuw gen dat is gerelateerd aan astma en bronchiale hyperreactiviteit, in het luchtwegepitheel. Het PCDH1-gen codeert mogelijk voor een adhesiemolecuul; maar bij de aanvang van dit onderzoeksproject was de functie onbekend. Onze hypothese was dat dysfunctie van PCDH1 de barrièrefunctie van het luchtwegepitheel in gevaar brengt en zo bijdraagt aan de gevoeligheid voor astma. De studies in dit proefschrift onderzochten de mogelijke mechanismen waardoor astma-geassocieerde PCDH1 gen-varianten PCDH1 DNA methylering en PCDH1 expressie veranderen; en beschrijven de rol van PCDH1 als adhesiemolecuul in epitheelcellen: verlies van PCDH1 expressie verminderde de epitheliale barrière-functie. Tenslotte beschrijven wij de interactie van PCDH1 met SMAD3, een ander

belangrijk astma-gen, dat een rol speelt bij de remodelering van de luchtwegen.

Her verkrijgen van beter inzicht in de rol van PCDH1 bij de vorming van en het herstel van de epitheliale barrière is noodzakelijk om therapieën te ontwikkelen die remodelering van de luchtwegen kunnen voorkomen en normaal epitheliaal herstel kunnen bevorderen.

Resumen en español

El asma es una enfermedad compleja caracterizada por el estrechamiento e inflamación crónica de las vías respiratorias y una respuesta bronquial exagerada. La susceptibilidad a desarrollar asma tiene un fuerte componente genético, es decir hereditario, los que sumados al estilo de vida (factores ambientales) aumentan la posibilidad de que se manifieste la enfermedad.

Muchos de los genes que causan asma se expresan en el tejido epitelial (la piel) que recubre las vías respiratorias, lo cual resalta la importancia de estudiar el tejido que recubre las vías respiratorias para así poder obtener un mejor entendimiento de cómo se desarrolla el asma. A la fecha, se desconoce la secuencia exacta de los eventos que conducen a desarrollar asma, es por esto que es muy importante llevar a cabo estudios genéticos funcionales que brinden mayor información sobre el papel exacto que cumple el tejido epitelial de las vías respiratorias durante el desarrollo de la enfermedad del asma. El objetivo de esta tesis se enfocó en estudiar la función biológica del gen conocido como Protocadherina-1 (PCDH1). Este gen se expresa en el tejido epitelial de las vías respiratorias el tejido epitelial de las vías respiratorias y al inicio de este proyecto había sido identificado como un contribuyente en el desarrollo de la enfermedad de asma y vinculado con la hiperactividad bronquial. No obstante, el mecanismo exacto de como la Protocadherina-1 pudiera estar contribuyendo al desarrollo de la enfermedad del asma. no se conocía, sin embargo, se

especulaba que Protocadherina-1, al encontrarse en el tejido epitelial pudiese tener una función de adhesión intercelular.

El contenido de esta tesis describe los resultados obtenidos durante la investigación de la expresión, regulación y función de PCDH1 durante el proceso de la reparación del tejido de las vías respiratorias ya fuese en condiciones normales (sin enfermedad) o en presencia de asma [Capítulos 2 a 5 de esta tesis]. A su vez, esta tesis también incluye una discusión sobre mi interpretación de las observaciones anterior. Por último, proporciono sugerencias para futuras investigaciones.

El **Capítulo 2**, incluye un análisis de todos los datos públicos disponibles en relación a los estudios genéticos que relacionan las diferentes variaciones del gen PCDH1, variaciones también conocido como polimorfismos o SNP, con la respuesta exagerada bronquial, también llamado hiperreactividad bronquial (HRB), el asma y el eczema para responder a las siguientes preguntas: cuales son las variaciones genéticas o polimorfismos presentes en el gen PCDH1 y cuál de estos polimorfismos están asociaciones con síntomas clínicos relevantes? El resultado de este análisis no logro identificar un polimorfismo dominante en PCDH1 que estuviese fuertemente asociado con la enfermedad del asma o eczema. Sin embargo, se concluyó que el gen PCDH1 alberga diferentes polimorfismos que individualmente contribuyen al asma, el eczema y la HRB, especialmente durante los primeros años de vida. Curiosamente, la asociación identificada de PCDH1 con asma mostró evidencia de una

interacción con la exposición al tabaquismo pasivo en diferentes poblaciones.

El **Capítulo 3**, tuvo principalmente dos objetivos: el primero fue identificar si las variantes del gen PCDH1 previamente asociadas con el asma también estaban asociadas con diferentes niveles de metilación del ADN que permitiesen activar o desactivar la expresión del gen PCDH1; y el segundo objetivo, consistió en analizar si la exposición al humo del cigarrillo pudiera afectar la metilación del ADN del PCDH1 y en consecuencia la expresión total de nuestro gen de estudio PCDH1 en el tejido epitelial de las vías respiratorias. Muchos polimorfismos genéticos tienen la posibilidad de modificar directamente sus secuencias de codificación, alterando de esta manera la secuencia de aminoácidos y posiblemente la función de una proteína. En el caso de la exposición al humo de cigarrillo, es posible que los polimorfismos genéticos en respuesta a estas exposiciones ambientales, responsable de las interacciones gen-ambiente en el asma, afectase la metilación del ADN en determinados sitios, los cuales están asociados con “posibles” cambios en su expresión génica. Con el fin, de realizar esta investigación, cientos de muestras de tejidos epiteliales humanos de las vías respiratorias a nivel nasal y/o pulmonar fueron recolectados. Este estudio reporto por primera vez que las variaciones/polimorfismos de PCDH1 que confieren susceptibilidad para desarrollar asma si están asociados con la metilación del ADN específicamente en el tejido epitelial de las vías respiratorias derivados de los pulmones. Mas aun, se confirmó que algunas de estas variaciones genéticas o SNP están también asociados

con diferentes cantidades de expresión génica. Adicionalmente, se concluyó que los individuos que presentaban la variación del gen PCDH1 conocida como SNP rs11167761, la cual confiere mayor riesgo de desarrollar asma, estaba asociado con la expresión reducida de PCDH1 en el tejido proveniente a nivel pulmonar. En segundo lugar, se identificó que la metilación del ADN de sitios específicos de PCDH1 en muestras de tejido epiteliales nasales podrían estar ligeramente asociados con la exposición al humo del cigarrillo, sin embargo, en muestras provenientes de pulmón si se observó una asociación significativamente. Adicionalmente, también se identificó una asociación significativa entre la expresión de la proteína de PCDH1 y la exposición activa al humo del cigarrillo. En base a lo anterior, concluimos que algunos de los polimorfismos de PCDH1 asociados con el asma tienen como resultado una variedad de efectos: entre ellos la metilación del ADN y la expresión génica de las diferentes variantes de PCDH1, lo cual puede conferir mayor susceptibilidad a desarrollar asma y/o BHR graves. Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual la exposición al humo pudiese afectar la función de PCDH1 en sujetos que tienen el SNP de riesgo de asma sigue siendo desconocido.

En el **Capítulo 4**, tuvo como objetivo primordial identificar la expresión y localización de la proteína PCDH1 en el tejido epitelial de las vías respiratorias y comparar estos resultados usando tejidos epiteliales de sujetos con y sin asma. Así como también, estudiar la función biológica de PCDH1 y sus variantes en el tejido epitelial de las vías respiratorias. Es interesante mencionar, que las diferentes

variantes del gen PCDH1 presentan grandes diferencias en la estructura de la proteína, por ejemplo, la variante-1 de PCDH1 carece de los dominios de señalización intracelular que están presentes en la variante 2 de PCDH1. Por lo tanto, gran parte de este estudio se enfocó en identificar la ubicación subcelular exacta de las diferentes variantes de PCDH1 en las células del tejido epitelial en las vías respiratorias usando como referencia otras proteínas de adhesión y cuerpos ciliados. El resultado de esta investigación confirmo que las variantes 1 y 2 de PCDH1 se localizan en la membrana celular en las células del tejido epitelial, posiblemente mediando interacciones entre células de una misma familia(homotípicas). En segundo lugar, se identificó que PCDH1 se localiza en la membrana celular lateral, posicionada de manera basolateral a uniones adherente en células epiteliales bronquiales polarizadas cultivadas en condiciones de interface aire-líquido (ALI), la cual permite el desarrollo de la polarización apico-basal del epitelio. Interesantemente, la intensidad de tinción de PCDH1 aumenta durante la diferenciación de las células epiteliales bronquiales primarias en este tipo de cultivo.

En tercer lugar, es importante mencionar que la expresión reducida de PCDH1 reduce su función de barrera epitelial, tanto durante el establecimiento de la barrera como durante la reparación epitelial después de generarse un daño. Los resultados de este capítulo, respaldan un papel para PCDH1 dentro de la función de barrera epitelial y la adhesión de célula-célula. Sin embargo, queda pendiente investigar el mecanismo molecular exacto que le permite a PCDH1

llevar a cabo esta función y a si existen roles específicos de las diferentes variantes de PCDH1.

Finalmente, en el **capítulo 5**, se continuo con la caracterización funcional de PCDH1 mediante un análisis profundo de la interacción proteína-proteína de PCDH1 con el producto de otro gen contribuyente del asma, SMAD3. Estudios previos a este estudio, reportaron una interacción de ambos genes utilizando una técnica del doble híbrido en levadura. SMAD3 es un intermediario en la vía de señalización del factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF β 1), relevante para la función de barrera epitelial. En este capítulo, se estudió la posibilidad de que PCDH1 y SMAD3 interactúen físicamente y actúen en una sola vía en las células epiteliales bronquiales humana. A su vez, también se investigó si PCDH1 pudiese influir en la vía de señalización de TGF β 1 al interactuar con SMAD3 mediante la cuantificación de la expresión génica de metaloproteinasa-2 de matriz (MMP2) y fibronectina (FN1).

Las observaciones realizadas en este capítulo mostraron que las variantes 1 y 2 de la proteína PCDH1 en humanos interactúan con la SMAD3 a niveles de proteína endógena en una línea celular epitelial bronquial humana. Además, se encontró evidencia de que esta interacción regula negativamente la activación de SMAD3 inducida por TGF- β , tanto en estudios de sobreexpresión de PCDH1 como a niveles de proteína PCDH1 endógena. Finalmente, se demostró que la inducción de genes sensibles a TGF- β endógenos se atenúa por la sobreexpresión de PCDH1, mientras que la eliminación de PCDH1 en

células epiteliales bronquiales humanas primarias induce un aumento en la expresión génica de fibronectina.

En conclusión, este estudio permitió establecer una interacción física directa entre los productos de los genes del asma PCDH1 y SMAD3, lo que indica que las proteínas de estos dos genes actúan juntas en una sola vía de señalización que contribuye a desarrollar la susceptibilidad al asma.

Acknowledgements / Agradecimientos

This PhD adventure started more than ten years ago in 2011. Can you believe it? And, yes, for more than ten years, I have been trying my best to answer the million-euro question: *How is your PHD going?* Now, the sun is about to shine, and I am closing this extraordinary chapter of my life and owning with proudness my Doctor degree and gown. This PhD journey has taken me across two countries and three cities: Southampton, Groningen, Amsterdam and back to Groningen again. It was the end of 2010. I lived in Goteborg. I had just received my master's degree in Biomedicine. The happy news arrived that I was accepted to this joint PhD Southampton/Groningen. So, this cosmopolitan Lima girl, who was still getting used to the bright snowy streets of Goteborg, packed her three big suitcases to start all over again in Southampton-England. And after this time, two years later, I moved again and arrived at Schiphol airport for the next chapter in this adventure, now with two backpacks, my carry-on, purse and laptop around midnight. My first experience trying to communicate with the locals was begging the staff in Schiphol train station to please, please stop the trains so I could rescue my purse that I had dropped on the train tracks.

When I finally arrived in Groningen, I was welcomed by a strange and wonderful individual and his equally strange and wonderful girlfriend and children – my landlord in this new town. It was a house full of unknown people, a mix of family and foreign students, where my attic bedroom had no door. Oh God, so many stories!!!

And from then a monthly rental room rotation started in Groningen as finding a permanent student room in this city is the most ridiculous thing I have ever encountered. However, when I returned earlier this year to Groningen, I was blessed with a welcome host Antoinette and

her sweet doggo companion “Kick”, who kept me awake many nights with energetic barking and the one-night-stand visit on my window of some kind of ferret /stoat who drove Kick the doggo crazy.

The decade since I first arrived in Groningen has been filled with stories, anecdotes, magic moments, and crazy happenings. I really am not sure if I will remember everything and so hope I will not leave anybody behind in these thank-you notes.

First things first, I would like to start by thanking my promoters, not only for your guidance but also for not giving up on me and continuing to believe in me. I cannot thank you enough!

Gerard, thanks for always pushing me to do better and for putting your trust in me. You did it on day 1 and you did it on day 3650x and you did it on every day in between. And you made it possible for me to come back to Groningen earlier this year, which was essential to me finishing this PhD.

Martijn thank you so much for your support, for your guidance for always being so practical and bringing structure to my chaotic mind and removing the abstract. I needed it so much and couldn't have done this without you!

John thank you for the support, for always being a helping hand, for being always so positive and fast to react.

Peter Lackie: thank you very much for being there on a daily basis at the beginning of my PhD and introducing me to the immunofluorescence and microscopy techniques. Amazing!

I would also like to thank the reading committee for their time and suggestions Prof Forkers, Prof Sayers and special thank you to Prof Irene, for all the nice memories.

In the UK, also, I was blessed with open-hearted and supportive colleagues. David, what can I say, you are really an incredible person, I cannot thank you enough for sharing all your knowledge regarding confocal microscopy and for the long hours in the dark room showing how to take beautiful images in the SP5 microscope but also on the live image microscope learning the repair process, for the nice stories, and helping me to move houses. Trish, my favorite Irish colleague, you were so much fun to be around, always up for having a laugh and giving advice. Sweet Claire, thank you so much for introducing me to ALIs and cilia, to sharing your research, for the nice talks and for inviting me to my first English wedding event. John Ward, you were so much fun to hang out with and learn so much from regarding IHC and making IHC pictures. I will never forget the nice ride to London when my time in Southampton was done and all the jokes regarding my many suitcases that would not even fit in the back of your car.

Anton how to forget your stories, the bike from freecycle that you arranged for me and, most importantly, teaching me this beautiful and delicate technique of electron microscopy from sample preparation to staining and imaging. Lissie, Janice and Matt how can I forget the nice coffee breaks with all your weekend stories and making me jealous of your diamond knives.

Carolina, Danya and Jess thank you for all the dinners and for all the nice stories, especially the ones complaining about our research. I hope we will see each other again one day. Jessy and Sammy, I still remember your visit to cheer me up in Southampton and the bike journey we took together to the New Forest (I don't think we even made it there after Jess fell off). It was a great trip including the random guy lending his bike to Sammy. Johana, my sweet Uruguayan friend, you were only there for a few weeks in the summer but you definitely lightened up my days. Thank you for the chats, the dinners

and day trips with your old friend, especially complaining about my salt taste levels.

Brigitte Willemsen thank you for being a supportive ear when I arrived to Groningen, for opening the doors of your house on my first visit to Groningen and sharing your IF technique and your findings. It was very nice to briefly catch up with your earlier this year.

Irene, or shall I say Professor Heijink, I always found it so easy to talk to you, and had so much fun around you, special during borrel, social events, for the long chats during our trip to San Diego including getting some new clothes after your luggage got lost. Thank you so much for all the tips and suggestions to improve my research, for donating ALI material, for being part of the revision committee, and for doing your best to not miss our parties

Uiki my good friend, how could I even manage when I moved to Groningen without all your lab teaching, for accompanying me in all Gerard's suggestions like the peptide cloning story? What a wonderful soul you are! Such a pity we live so far away! I cannot thank you enough for all the coffee breaks, the toasties, all the borrels, the visits to the Toeter to recharge, for opening the doors of your house back in Assen, to bringing Jolien into my life (collateral damage 😊), for being there for me earlier this year, for introducing me to your missy and your lovely girls. Last but not least for accepting to being my paranymp. I cannot wait to stand next to you and celebrate this big achievement.

Haroldito, Marnix, Robin, Sharon and Susan: so much fun when entering the lab and seeing you there, always up for giving a hand, a tip, a scold for not using the lab coat 😊, up for having a big laugh including to tease Emmanuel. How could I ever forget when we had to evacuate the building thanks to Emmanuel spilling some mercapto-

ethanol? out of the hooded bench! Jacobien, I will always remember you as the big mum of the lab. Thank you for all your help with the ALI technique, and for forcing me to learn Dutch!

Monique, you were my first PhD buddy when I arrived in Groningen and my first social contact with a Dutchie. You are a very inspirational and clever lady, always sharing good tips and shortcuts. Thank you for giving me a 1-minute of your time for my complaints as long as you could, for inviting me to sport with you, to have dinner with you, for making me take salsa lessons with that strange 1-2-3 salsa teacher at Zernike campus. For always staying in touch, visiting me in Amsterdam, and being very welcome when I went back to Groningen this year. Maaike, we were only colleagues for a bit, as we keep missing each other first in Southampton and then in Groningen. It was nice to sit in the same room with you and try to learn from your research even if it only lasted a short time. I still remember when you came for dinner to my small room in my tiny house, and you helped me pick up the desk and your nice cooking. Nicole, thanks for always sitting late in the evenings in our student office room at the dark and ghostly Triade, for always making the effort to have a nice girls' room, and for inviting me for dinner. I still remember our night out with the ladies and the medical student getting super drunk and screaming my MILKSHAKE is better than yours. Albertito, I missed you deeply, even though you were always late to all our appointment, as I was, what a dupla, lol, my only Peruvian friend in Groningen, the chef, the dancer. You were even at my wedding and our pre-wedding party. I hope to see you one day again!

Jolien: you have been a true friend during all this year. Whenever I needed you, you came to the rescue. I am so happy we stayed closed, and even with all the busy agendas we still managed to see each other. Thank you for inviting me to your house, the trip to France, and

making me do crazy things like walking around Groningen dressed like the Mad Hatter. I look forward to celebrating you and your own achievements and then for you to join me in mine.

Levi, what would I do without you my good friend, and your patient ear and clever responses? Who could say you won't make a bestie while going to the toilet in a backpacker bar? 😊 I am so happy I met you, and that you are always close and checking in on me, especially during these last hard years. You always found a way to cheer me up! Thank you for that and for accepting to be my paranymph. I hope you are also studying my research for the defence 😊.

Jassie, thanks for always poking my brain with your DIY teaching and asking about the status of my PhD. It always feels like some drama music being attached to the question when you asked LOL.

Antoinette, thank you so much for opening the doors to your home, for literally making my life easy, for feeding me, and for smoking outside during my stay. Last but not least thank you for all the late night with direct, sharp conversations coming from your beautiful heart.

Mama and Papa muchas gracias por siempre estar ahí, y preguntar por mis estudios, por fastidiarme con el tema, aunque ni entiendan el tópico de mis estudios o lo que el título de tener un doctorado. Franco, mi gordo bello, hermano que te puedo decir, muchas gracias por el ultimo empujón, por decirme que tenía que volver al punto de quiebre. Fueron gracias a estas palabras que me mande a la piscina y reinicio la discusión de retornar a Groningen a terminar my PhD.

Daddy, thanks for not making the PhD a big deal, for always bringing the scale to the fun side complaining that I am always studying and even when I said I could finally get my doctor and degree, not making it a biggie, that was very funny and I loved it.

A mis abues: que, aunque ya no estén aquí con nosotros, sé que estarían super orgullosos de este logro. Quetita, mi segunda madre, Rommy, mi dulce abuelita and abuelito Cesar, que coincidencia que siempre me llamabas mi holandesa 😊. Primita, “Carla”, muchas gracias por todas tus palabras de aliento, especialmente durante estos últimos años que ha sido super challenging en mi vida. TQM y espero vernos pronto. Maite y Mimi muchas gracias por venir al rescate a editar las palabras del sumario de español. ¡Y por sus palabras de empuje durante estos largos años, vamos con fe! como decía el Piero.

David my love, thanks for putting up with me and my PhD drama. You know more than anybody how hard this struggle was all these years. Thank you for pushing me to finish it, for admiring me, for bringing me up, for taking care of Ginger while I was away earlier this year. I am so thankful for your unconditional love and support. I cannot wait to close this chapter and finally celebrate together.

Last but not least: I would like to give special thanks to the thesis writing boot camp. It was super important to know we are not alone in our thesis writing struggle. This is a very helpful resource for students that helped me get in the right mindset. Stealing the wise words from Monica: special thanks to the mentors Dr. Nicolien Wieringa and Dr. José Heesink for their guidance, as well as the other classmates for the encouraging WhatsApp messages throughout the years: Marloes, Erley, Monica, Lies, Mariana, Martijn and Sreekanth Madhavan.

Gracias Totales!

Grissel

Curriculum vitae

The author of this thesis was born in Lima - Peru on December 27, 1984. She completed her Bachelor's degree in Biological Sciences at Ricardo Palma University in Lima, Peru, and graduated with distinction in 2006. From 2006 to 2007, Grissel performed internships at the Peruvian National Cancer Hospital in the Genetics division and GlaxoSmithKline pharmaceutical company in the division of vaccines clinical trials. From 2007 to 2009, Grissel worked at NGO Inmensa and PPD Peru as a clinical research assistance in the division of clinical trials. In 2009, she was accepted for her Master studies in Sweden where she completed her Biomedical Science Masters' degree (MSc.) at Skovde University, and passed many courses with distinction in 2010. Later she was offered a paid internship at the university of Goteborg in the genetics departments where she performed the laboratory work for her Master's thesis.

After that, she commenced her doctoral studies in 2011 at the University of Groningen, Netherlands in collaboration with Southampton University, England, under the supervision of Dr. Peter Lackie, Prof. Dr. John Holloway, Prof. Dr. Martijn Nawijn and Prof. Dr. Gerard Koppelman. Here, she worked on investigating the contribution of the Protocadherin-1 (PCDH1) gene in asthma. In July 2022, Grissel started a new job, where she is currently learning about the educational gaps of liver diseases in the international medical community in order to organize and deliver educational workshops/conferences to fill those educational needs.

List of abbreviations

5mC	5-methylcytosine
AHR	Airway hyperresponsiveness
AJ	Adherens junctions
ALI	Air-liquid interface
BEGM	Bronchial epithelial growth media
BHR	Bronchial hyperresponsiveness
CEC	Ciliated epithelial cells
CM	Conserved intracellular motifs
Cq	Quantification cycle
CCSP	Club cell secretory protein
CV	Confidence values
DC	Dendritic cells
DNMT	DNA methyltransferase
ECIS	Electrical Cell substrate Impedance Sensing
ECM	Extracellular matrix
ECs	Extracellular cadherin
EMT	Epithelial to mesenchymal transition
EMTU	Epithelial-mesenchymal trophic unit
eQTLs	Expression quantitative trait locus
ETS	Environmental tobacco smoke
EWAS	Epigenomewide association studies
FDR	False discovery rate
FN1	Fibronectin
GFP	Green fluorescent protein
GWAS	Genome-wide association studies
HDM	House-dust mite (HDM)
HLCA	Human Lung Cell Atlas
IP	Immunoprecipitation
KO	Knock-out

LCM	Laser capture microscopy
LD	Linkage disequilibrium
m	Mouse
MAF	Minor allele frequency
MC	Mast cell
MCC	Mucociliary clearance
MMP2	Matrix metalloproteinase-2
mQTLs	Methylation quantitative trait loci
PBECs	Primary human bronchial epithelial cells
PCDH1	Protocadherin-1
PNECs	Pulmonary neuroendocrine cells
PP1 α	Protein phosphatase 1 α
PP1 α	Protein phosphatase-1 α
PRS	Polygenic risk score analyses
RSV	Respiratory Syncytial Virus
siRNA	Small-interfering RNA
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
SNPs	Single nucleotide polymorphisms
SVA	Surrogate variable analysis
TEER	Transepithelial electrical resistance
TGF- β	Transforming growth factor- β
TJ	Tight junctions
TLS	Troublesome lung symptoms
TSS	Transcription start site
WB	Western blot