UNIVERSITY OF AMSTERDAM

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Molecular regulation of neural stem cell quiescence by FoxO transcription factors

Draijer, S.

Publication date
2022

Link to publication

Citation for published version (APA):
Draijer, S. (2022). *Molecular regulation of neural stem cell quiescence by FoxO transcription factors*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

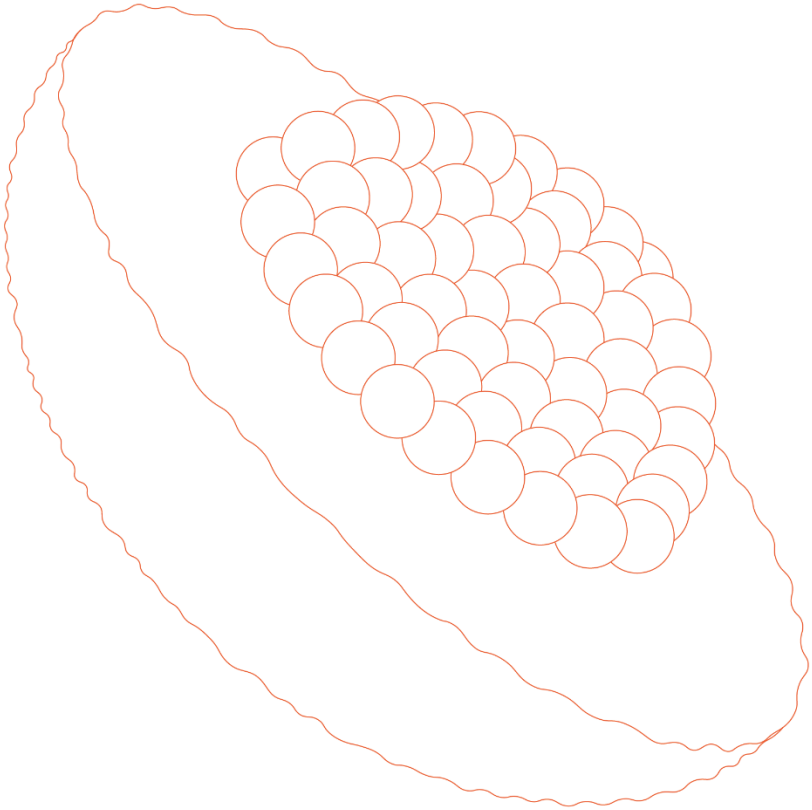
General rights
It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations
If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: https://uba.uva.nl/en/contact, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (https://dare.uva.nl)

Download date:07 Dec 2025

Chapter 8
Nederlandse samenvatting



Nederlandse samenvatting

In dit proefschrift staat de vraag hoe neurale stamcellen, de stamcellen in het brein, worden gereguleerd, centraal. Neurale stamcellen zijn de bron van nieuwe hersencellen, waaronder neuronen, astrocyten en oligodendrocyten. In de volwassen hersenen liggen deze stamcellen ondermeer in de hippocampus, een hersengebied met een belangrijke rol in leren en geheugen. Zodoende worden neurale stamcellen geacht een rol te spelen bij deze hersenfuncties. Al tijdens de vroege embryonale ontwikkeling wordt een voorraad neurale stamcellen klaargelegd voor gebruik in het volwassen brein.

Het vormen van nieuwe hersencellen gaat ten koste van een stamcel waardoor de voorraad, of populatie, neurale stamcellen langzaam slinkt gedurende het leven. Om ervoor te zorgen dat niet te snel verloopt bevindt de meerderheid van de neurale stamcellen in een volwassen brein zich in een slaapstand (*quiescence*). Enkel bij activatie verlaten de cellen deze modus en treden de celcyclus binnen. Geleidelijk verliezen deze cellen eigenschappen van stamcellen, zoals de hoge mate van zelfvernieuwing, en verkrijgen ze eigenschappen van hersencellen zodat ze kunnen functioneren binnen een neuraal circuit. Het is essentieel om de activatie van hersencellen cellen te bewaken. Wanneer te veel neurale stamcellen worden gebruikt wordt de populatie te snel uitgeput en ontstaat er een tekort aan nieuwe hersencellen op latere leeftijd. Anderzijds is activatie nodig om nieuwe hersencellen te verkrijgen. Bovendien liggen neurale stamcellen aan de basis van hersentumoren. Indien deze cellen hun stamceleigenschappen behouden kunnen ze, door een hoge mate van zelfvernieuwing, een onuitputtelijke bron vormen voor hersentumorcellen.

De activatie vanuit *quiescence* hangt van de juiste omstandigheden af: enkel wanneer er voldoende voedingsstoffen, signalen om te groeien en het risico op DNA-schade minimaal is, zullen deze cellen de celcyclus doorlopen. FoxO transcriptie factoren vormen hierin een belangrijke schakel. Bij afwezigheid van signalen zijn deze eiwitten actief en bevinden zich in de celkern waar ze toegang hebben tot het DNA van genen die betrokken zijn bij de celcyclus, celdood en metabolisme en de expressie van deze groep genen reguleren. Zodoende remmen FoxOs de celcyclus, stimuleren ze celdood of zetten ze specifieke metabole programma's aan, zoals glycolyse bij de afwezigheid van zuurstof. Op die manieren beperken FoxOs de activatie van veel verschillende

soorten stamcellen, waaronder neurale stamcellen, en zijn ze essentieel in het behouden van populaties stamcellen gedurende het leven. Wanneer er wél genoeg signalen zijn om de celcyclus in te gaan, worden FoxOs gemodificeerd door middel van fosforylatie, de plaatsing van een fosfaatgroep op het eiwit, waardoor ze inactief worden en de celkern verlaten.

Toch geldt dit niet voor alle FoxOs. In zoogdieren bestaan er vier varianten: FoxO1, FoxO3, FoxO4 en FoxO6. Terwijl FoxO1, FoxO3 en FoxO4 de celkern verlaten na fosforylatie, blijft FoxO6 overwegend in de kern aanwezig. Het is echter onbekend of FoxO6 een rol speelt in de regulatie van neurale stamcellen in het volwassen brein. In **Hoofdstuk 2**, onderzoeken we daarom de rol van FoxO6 in het behoud van neurale stam cellen (NSCs) gedurende het leven.

Door zowel de hoeveelheid totale stamcellen als de hoeveelheid delende stamcellen in het brein van muizen met én zonder het FoxO6-gen te bepalen, ontdekten we dat zonder FoxO6, neurale stamcellen minder delen. Dit effect is leeftijdsafhankelijk, maar trad in muizen zonder FoxO6 al op veel vroegere leeftijd op. Deze afname in celdeling zagen we ook in neurale stamcellen geïsoleerd uit muizen met én zonder FoxO6. Bovendien bleken neurale stamcellen zonder FoxO6 beter in staat om in kweek meer identieke stamcellen te genereren en beschikten zodoende over een grotere mate van zelfvernieuwing. Deze aanpak stelde ons ook in staat om het transcriptoom, de gezamenlijke expressie van alle genen te bepalen in neurale stamcellen waarin FoxO6 aanwezig of afwezig was. Dit gezamenlijke profiel van genexpressie wees ook op minder activatie in neurale stamcellen zonder FoxO6. Het was opvallend dat de expressie van genen die normaal gesproken geactiveerd worden door FoxOs was toegenomen in neurale stamcellen zonder FoxO6, dit in tegenstelling tot neurale stamcellen zonder FoxO3 waar de expressie van deze genen was afgenomen. Bovendien bleek FoxO3 minder gefosforyleerd te zijn in neurale stamcellen zonder FoxO6.

Onze resultaten wijzen er dus op dat FoxO6 een belangrijke regulator van neurale stamcellen is en dat het, door de activiteit van FoxO3 in toom te houden, kan bijdragen aan een gezonde balans tussen *quiescence* en activatie.

Neurale stamcellen zonder FoxO6 beschikten over een verhoogde mate van zelfvernieuwing. Aangezien dit één van de eigenschappen van

hersentumorstamcellen is, probeerden wij in **Hoofdstuk 3** een antwoord op de vraag te geven of FoxO6 betrokken is bij de transformatie van normale neurale stamcel tot hersentumorstamcel. Deze stamcellen liggen aan de basis van hersentumoren, waaronder de zeer agressieve glioblastoma en laaggradige gliomen, die nog altijd grotendeels ongeneeslijk zijn. Dat komt deels door de aanwezigheid van *quiescent* hersentumorstamcellen binnen een tumor. Deze cellen zijn in staat chemotherapie, straling en operatieve behandelingen te overleven en zodoende te leiden tot terugkeer van een hersentumor. Neurale stamcellen zonder FoxO6 bleken qua transcriptoom veel overeenkomsten te vertonen met hersentumorstamcellen. Dit ging vooral om genen betrokken bij glucose metabolisme.

Een algemene eigenschap van kankercellen, het zogeheten “Warburg effect”, is de overgang van oxidatieve fosforylering naar glycolyse, zonder dat er een tekort aan zuurstof is. De toegenomen expressie van genen die coderen voor cruciale enzymen gerelateerd aan glycolyse wijst erop dat dit ook het geval is in neurale stamcellen waarin FoxO6 ontbreekt. Ook was de expressie van de genen *Idh1* en *Idh2* toegenomen in deze cellen. Dat is interessant omdat deze genen vaak gemuteerd zijn in hersentumoren en bovendien zijn het FoxO *targets* die, coderend voor het enzym isocitraat dehydrogenase, bijdragen aan het metabolisme van tumorcellen. Vervolgens analyseerden wij *FOXO6* expressie in een dataset van verschillende vormen van hersentumoren: glioblastoma en laaggradige gliomen. Lage *FOXO6* expressie bleek te correleren met een slechte prognose voor glioblastomen, maar niet voor laaggrade gliomen. Omdat IDH1 en IDH2 vaak gemuteerd zijn in laaggradige gliomen, maar niet in primaire glioblastoma, zou dit erop kunnen wijzen dat de rol van *FOXO6* in hersentumoren afhangt van de mutatiestatus.

FOXO6 kan daarom als tumor suppressor werken in hersentumoren door de expressie van genen te beperken die het behoud en metabolisme van hersentumorstamcellen stimuleren.

In **Hoofdstuk 4** bestudeerden we de regulatie van *Hmgn2*, een gen waarvan de expressie sterk was afgenomen in neurale stamcellen zonder FoxO6. *Hmgn2* codeert voor een eiwit dat bindt aan nucleosomen en zodoende epigenetische modificaties die de identiteit van stamcellen bepalen bewerkstelligt. Bovendien bleek uit recente studies dat expressie van Hmgn2 sterk verrijkt is in de zogeheten *intermediate neural progenitor* cellen die zich halverwege de route

van neurale stamcel naar neuron bevinden. Echter is het nog onbekend hoe tijdens dit proces de genexpressie van *Hmgn2* wordt gereguleerd.

Allereerst bepaalden we de expressie van Hmgn2 in het volwassen brein *in vivo*. We ontdekten dat de meerderheid van neurale stamcellen en *intermediate neural progenitor* cellen (NSC/NPCs) Hmgn2 tot expressie bracht en tevens dat tijdens veroudering van het brein deze populatie van Hmgn2-positieve cellen in aantal was afgenomen. Daarnaast ontdekten we dat NSC/NPCs in de nog in ontwikkeling zijnde hippocampus in een pasgeboren muis Hmgn2 tot expressie brachten. Zodoende bleek Hmgn2 een belangrijke regulator die een brug vormt tussen het volwassen brein en het brein in ontwikkeling. Daarna analyseerden we verschillende datasets van de transcriptie factoren FoxO3, Ascl1 en Olig2 en hun bindingsplaatsen op het DNA om te bepalen hoe de *Hmgn2* expressie wordt gereguleerd in neurale stamcellen. Deze transcriptiefactoren bleken alledrie een bindingsplaats te hebben in een intron van het *Hmgn2* gen en aansluitende experimenten lieten zien dat FoxO3 de expressie van *Hmgn2* direct remt.
Samenvattend concluderen wij dat Hmgn2 een centrale rol speelt binnen het gen regulatoire netwerk dat neurale stamcellen reguleert in het postnatale brein, in het volwassen brein en tijdens de veroudering van het brein.

Hoofdstuk 5 bestaat uit een literatuurstudie aangaande de invloed van dag- en nachtritmes, ook wel circadiane ritmes, op de regulatie van neurale stamcellen. Circadiane ritmes komen voor in de fysiologie en het metabolisme van vrijwel alle organismen. Een cellulaire circadiane klok die cyclische genexpressie bewerkstelligt is aanwezig in de meeste cellen van zoogdieren waaronder een scala aan orgaan-specifieke stamcellen. Recente studies laten zien dat neurale stamcellen delen volgens een circadiaan ritme. Wij hebben dit samengevat in een model waarin een belangrijke rol is weggelegd voor de cellulaire circadiane klok om neurale stamcellen gedurende het leven te behouden. Verlies van de circadiane klok leidt tot verlies van *quiescence* en een toegenomen mate van uitputting van de populaties van neurale stamcellen wat kan leiden tot verouderingsverschijnselen.

Wij stellen voor dat SIRT1, een belangrijke sensor van cellulair metabolisme, uitputting van de neurale stamcelpopulatie tegengaat door het stimuleren van de activiteit van de circadiane klok. Het ontrafelen van een dergelijk mechanisme kan een waardevol inzicht bieden in hoe verstoring van

metabolisme en circadiane ritmes, zoals bij jet lags en in ploegendiensten, het levenslange behoud van neurale stamcellen kan beïnvloeden.

Hieropvolgend gingen wij in **Hoofdstuk 6** na, hoe FoxO3, als onderdeel van dit model, circadiane ritmes in neurale stamcellen reguleert. Veel cellulaire processen zoals metabolisme en celcyclus zijn onderhevig aan een circadiaan ritme. FoxO3 is een belangrijke schakel tussen metabolisme en celcyclus en daarom een belangrijke regulator van neurale stamcellen. Daarom is het interessant dat FoxO3 circadiane ritmes in de lever beïnvloedt door directe regulering van genexpressie van *Clock*, één van de componenten van de cellulaire circadiane klok. Het was echter nog onduidelijk of FoxO3 ook circadiane ritmes van neurale stamcellen reguleert. Daarom onderzochten wij of dat het geval was door FoxO3 uit te schakelen in neurale stamcellen. Dit leidde tot een reductie in expressie van *Clock* en de afwezigheid van circadiane oscillaties in expressie van *Bmal1*, een ander cruciaal onderdeel.

Daarentegen vertoonden individuele cellen waarin FoxO3 is uitgeschakeld nog steeds circadiane oscillaties. Dat suggereert dat FoxO3 van belang is voor de synchronizatie van individuele cellulaire circadiane klokken. Daarnaast was het een interessante vondst dat het *FoxO3* gen zelf ook op een circadiane manier gebonden wordt door componenten van de circadiane klok zoals Clock en Bmal1. FoxO3 staat daarmee centraal binnen dit circadiane genregulatoire netwerk. Daarnaast hebben wij gedurende een cyclus van dag en nacht de mate van celdeling van neurale stamcellen in de hippocampus bepaald in muizen met en zonder FoxO3. Hoewel wij in beide gevallen een circadiane cyclus in de celdeling terugvonden, bleken de muizen zonder FoxO3 een verschuiving van deze oscillatie te vertonen. Een dergelijke verschuiving kan leiden tot een verstoorde koppeling tussen metabolisme en celcyclus.

Wij concluderen daarom dat de rol die FoxO3 speelt in het levenslange behoud van neurale stamcellen deels te wijten is aan diens bijdrage in de modulatie van de circadiane klok. Dit kan van groot belang zijn wanneer jet lags, ploegendiensten en ziekte circadiane ritmes verstoren en de regulatie van neurale stamcellen in het geding komt.