FACULTEIT GENEESKUNDE EN GEZONDHEIDSWETENSCHAPPEN

Towards the discovery of extracellular vesicle-associated biomarkers in breast cancer

Sofie Van Dorpe

Proefschrift voorgelegd tot het bekomen van de graad 'Doctor in de Gezondheidswetenschappen'

2025

UNIVERSITEIT GENT

Promotoren

Prof. Dr. An Hendrix
Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent

Prof. Dr. Hannelore Denys
Vakgroep Inwendige ziekten en Pediatrie
Universiteit Gent

Prof. Dr. Philippe Tummers
Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent

Voorzitter van de examencommissie

Prof. Dr. Nicolaas Lumen
Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent

Examencommissie

Prof. Dr. Sylvie Rottey
Vakgroep Fundamentele en Toegepaste Medische Wetenschappen, Universiteit Gent

Dr. Bert Dhondt
European Organisation for Research and Treatment of Cancer, Brussel

Dr. Pekka Rappu
Department of Life Technologies
University of Turku, Finland

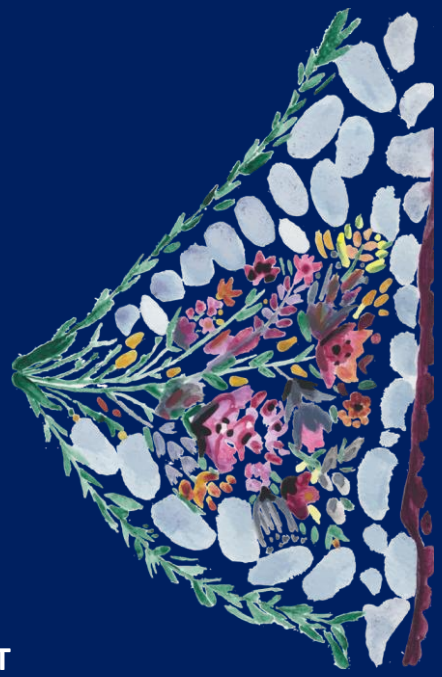
Dr. Martina Pannetta
Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent

Dr. Rawand Salihi
Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent

Samenvatting

Extracellulaire vesikels (EV) zijn kleine, membraan-omsloten deeltjes die door zowel eukaryote (EEV) als bacteriële cellen (BEV) worden afgegeven. In kanker weerspiegelen tumor-afgeleide EV de moleculaire kenmerken van de tumor en circuleren ze stabiel in lichaamsvloeistoffen, zoals bloed. Daardoor vormen ze veelbelovende biomerkers voor vroege detectie, prognose en therapierespons via niet-invasieve *liquid biopsies*. De klinische implementatie wordt echter belemmerd door de aanzienlijke heterogeniteit van EV, de complexiteit van lichaamsvloeistoffen en de methodologische variabiliteit in EV-analyse. Verbetering van de reproduceerbaarheid en een systematische, transparante rapportage van technische variabelen zijn daarom cruciaal. Deze dissertatie richt zich op het bevorderen van standaardisatie van EV-analyse in het biomerkeronderzoek bij kanker.

In het eerste deel van dit onderzoek werden drie biobanken (NACT-BREAST, OVARIAN en EV-TRACE) tot stand gebracht met als doel de invloed van pre-analytische variabiliteit in staalafname, verwerking en opslag te beperken. De NACT-BREAST en OVARIAN biobanken bestaan uit longitudinaal verzamelde bloed- en fecesstalen van patiënten met respectievelijk borst- en ovariumcarcinoom tijdens diagnose, behandeling en follow-up. Deze collecties bieden de mogelijkheid tot analyse zowel BEV als EV als mogelijke voorspellers van therapierespons en prognose. In de EV-TRACE biobank worden bloedplasmastalen gecollecteerd van patiënten met in



CONTACT

Vakgroep Structuur en Herstel van de Mens
Universiteit Gent
Laboratorium voor Experimenteel Kankeronderzoek
sofie.vandorpe@ugent.be
T +32 496 97 24 68
www.ugent.be

Een elektronische versie van het proefschrift is beschikbaar op vraag

UNIVERSITEIT GENT

situ en invasief borstcarcinoom, patiënten met benigne borstaandoeningen en gezonde controles met het oog op screeningsgerichte EV-geassocieerde biomerkerstudies.

In het tweede deel van deze dissertatie werd een laboratoriumrobot geïmplementeerd voor de separatie van EV uit bloed en urine. Deze automatisatie resulteerde in een verbetering van de reproduceerbaarheid, specificiteit en kostenefficiëntie van EV-analyse. Automatisering resulteerde in een behoud of verbetering van EV-opbrengst, een significante reductie van eiwitcontaminanten en een substantiële afname van operator-afhankelijke variabiliteit. Deze resultaten werden gevalideerd door eiwitkarakterisering en elektronenmicroscopie.

Het derde deel van dit werk bestond uit een systematische meta-analyse van 845 publicaties (3338 experimenten) met betrekking tot BEV, uitgevoerd met behulp van de EV-TRACK-kennisbank. Deze analyse bracht aanzienlijke methodologische heterogeniteit, inconsistente terminologie en gebrekkige rapportage van de uitgevoerde experimenten aan het licht. Op basis hiervan werden aanbevelingen geformuleerd, met het oog op de bevordering van reproduceerbaarheid en transparantie binnen het BEV-onderzoek.

Voortbouwend op deze inzichten richt het lopende onderzoek zich op circulerende EV bij triple-negatief borstcarcinoom. Voorlopige resultaten suggereren dat een subtype EV, gekenmerkt door de aanwezigheid van NOTCH1 en ARRDC1, correleert met een verbeterde respons op immunotherapie. Deze bevindingen wijzen erop dat EV-geassocieerde biomerkers kunnen bijdragen aan een verfijndere patiëntstratificatie en een optimalisatie van behandeluitkomsten bij triple-negatief borstcarcinoom.

Publicaties

Van Dorpe S*, De Langhe N*, Guilbert N, et al. Mapping bacterial extracellular vesicle research: insights, best practices and knowledge gaps. *Nat Commun.* 2024 151. 2024 Oct 31;15(1):1–13. (*Equally contributing authors)

Van Dorpe S, Tummers P, Denys H, Hendrix A. Towards the Clinical Implementation of Extracellular Vesicle-Based Biomarker Assays for Cancer. *Clin Chem.* 2024 Jan 4;70(1):165–78.

Van Dorpe S, Lippens L, Boiy R, et al. Integrating automated liquid handling in the separation workflow of extracellular vesicles enhances specificity and reproducibility. *J Nanobiotechnology.* 2023 May 19;21(1):157.

Financiering

Dit werk werd medegefinancierd door doctoraatsbeurzen Aspirant fundamenteel onderzoek van het Fonds Wetenschappelijk Onderzoek (FWO) en Emmanuel van der Schueren beurs van Kom Op Tegen Kanker.

fwo Research Foundation Flanders
Opening new horizons

Kom op tegen Kanker