

# Advancing regenerative medicine by generating knowledge about the nature of cadherins in human mesenchymal stem cells

Citation for published version (APA):

Passanha, F. R. (2021). *Advancing regenerative medicine by generating knowledge about the nature of cadherins in human mesenchymal stem cells*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20211206fp>

## Document status and date:

Published: 01/01/2021

## DOI:

[10.26481/dis.20211206fp](https://doi.org/10.26481/dis.20211206fp)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# SUMMARY

**T**he acquisition of a specific cell fate is one of the core aims of tissue engineering and regenerative medicine. When it comes to engineering cell environments, the focus of the field thus far has been on how cells respond to cues from the extracellular matrix, but this thesis is aimed towards generating knowledge on the importance of cell–cell adhesion proteins. More specifically, this thesis aims to better understand the role of cadherins, a family of cell–cell adhesion molecules, in the behavior of bone marrow–derived human mesenchymal stem cells (hMSCs). To this end, in Chapter 2, we examine cadherins through the lens of a tissue engineer and propose that tissue engineering could be more successful if scientists would take lessons from cadherin biology, as they are a major driving force in tissue formation and because they can influence important cell behavior. This is complementary to most efforts to date that have been inspired by cell–extracellular matrix interactions. We aim to make cadherin biology more accessible to tissue engineers by giving an overview of the diversity of the cadherin family, discussing the key characteristics that make cadherins ideal for tissue engineering approaches, and elaborating on the functional significance of cadherins in the context of tissue engineering.

There is significant evidence to suggest that aggregate cultures have a positive influence on fate decisions compared to monolayer cultures, presumably through cell–cell interactions, but little is known about the specific mechanisms. In Chapter 3, we provide insight into the critical role of the dimensionality of cell–cell interactions in determining cell fate. We demonstrate that during differentiation, there is a switch in the expression of cadherin-2 to cadherin-11 in cells cultured as a monolayer, which is not evident in the aggregate cultures. We also show that the

loss of certain cadherins influences cell fate towards the osteogenic and adipogenic lineages.

In Chapter 4, we follow up on the finding observed in Chapter 3 by providing evidence to explain how knocking down cadherin-11 in hMSCs leads to changes in the adipogenic differentiation potential. The importance of the extracellular matrix in influencing cell behavior is unquestionable, and we demonstrate that knocking down cadherin-11 changes the extracellular matrix composition via the transforming growth factor beta 1 pathway, thereby affecting cell differentiation. Chapter 5 implicates cadherin-11 in the regulation of hMSC behavior by asking how cadherin-11 brings about changes in signaling pathways despite it having no intrinsic signaling activity. We explore the cross-talk between cadherin-11 and receptor tyrosine kinases (RTKs) and we demonstrate that RTK activity changes in hMSCs lacking cadherin-11, which thereby brings about changes in cell proliferation via the mitogen-activated protein kinase pathway.

Next to studying cadherins, in Chapter 6 of this thesis, we study hMSCs as scaffold-free self-assembled aggregates of low and high cell number and compare them to cell-laden alginate hydrogels with and without arginine–glycine–aspartic acid peptides. We found that alginate hydrogels had persistently more living cells for a longer period in culture and that a weeklong culture of hMSCs in 3D culture, whether as aggregates or cell-laden alginate hydrogels, reduced their proliferation over time. The findings of this study improve our understanding of how aggregate cultures differ with or without a hydrogel carrier.

Overall, this thesis adds fundamental knowledge to our understanding of how to influence hMSC behavior and can be a stepping-stone towards improving cell- and material-based regenerative medicine approaches.

# SAMENVATTING

**H**et verwerven van een specifiek lot van een cel is een van de kerndoelen van tissue engineering en regeneratieve geneeskunde. Bij het maken van een nagebootste biologische omgeving, lag tot nu toe de focus op hoe cellen zich gedragen onder invloed van de extracellulaire matrix in die omgeving. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift is gericht op het genereren van kennis over het belang van cel-cel adhesie-eiwitten en hun invloed op cel gedrag. In het bijzonder beoogt dit proefschrift een beter inzicht te geven in de rol van “cadherins”, een specifieke familie van cel-cel adhesiemoleculen, op het gedrag van uit het beenmerg afkomstige menselijke mesenchymale stamcellen (hMSC's). In hoofdstuk 2 bekijken we “cadherins” door bril van een “tissue engineer” om met als doel de regeneratieve geneeskunde te bevorderen. Het doel is om meer inzicht te verkrijgen in de invloed van cadherins op cellen voor toepassingen in regeneratieve geneeskunde door de diversiteit van de cadherin familie te beschrijven, en daarnaast de belangrijkste kenmerken te bespreken van cadherins die een belangrijk effect kunnen hebben op cel gedrag en functie in de context van tissue engineering.

Er is significant bewijs dat suggereert dat geaggregeerde driedimensionale celkweek, cellen die in kleine bolletjes gegroeid worden, een significant positieve invloed hebben op het gedrag en differentiatie van deze cellen, in vergelijking tot dezelfde cellen die op een traditioneel twee dimensionale wijze gekweekt worden, vermoedelijk veroorzaakt doordat cel-cel interacties in de driedimensionale omgeving anders zijn dan in een twee dimensionale omgeving. Er is tot nu toe maar erg weinig bekend over de specifieke onderliggende mechanismen die hierbij een rol spelen. In Hoofdstuk 3 geven we inzicht in de cruciale rol van de dimensionaliteit van cel-cel interacties bij het dicteren van cel gedrag. We laten zien dat er tijdens

differentiatie een omslag is in de expressie van cadherine-2 naar cadherine-11 in cellen die in op een plat vlak zijn gekweekt, wat niet voor de hand liggend is in de aggregaat cel kweek. We laten ook zien dat het verlies van bepaalde cadherines het lot van de cellen beïnvloedt in de richting van de osteogene en adipogene lijn.

In Hoofdstuk 4 volgen we de bevinding uit Hoofdstuk 3 op door bewijs te leveren hoe het uitschakelen van cadherine-11 in hMSC's leidt tot veranderingen in het adipogene differentiatiepotentieel. Het belang van de extracellulaire matrix bij het beïnvloeden van celgedrag staat buiten kijf, en we tonen aan dat na het uitschakelen van cadherin-11 de samenstelling van de extracellulaire matrix verandert via de zgn TGF bèta-1 route, waardoor de differentiatie van cellen wordt beïnvloed. Hoofdstuk 5 beschrijft de rol van cadherin-11 bij de regulatie van hMSC-gedrag door onderzoeken hoe cadherin-11 veranderingen in signaaltransductie teweegbrengt, ondanks dat het zelf geen intrinsieke signaaltransductie activiteit heeft. We onderzoeken de interactie tussen cadherine-11 en receptor-tyrosinekinasen (RTK's) en we tonen aan dat RTK-activiteit verandert in hMSC's zonder cadherine-11, wat leidt tot veranderingen in celgroei via de zgn. mitogen geactiveerde eiwitkinase signaal transductie route.

Naast het bestuderen van cadherins, bestuderen we in Hoofdstuk 6 van dit proefschrift hMSC's als zelf-geassembleerde aggregaten, zonder de ondersteuning van een op biomateriaal gebaseerde drager, met een lage en grote hoeveelheid cellen en vergelijken ze met cellen gezaaid in alginaathydrogelen met en zonder arginine-glycine-asparagine-peptiden. We ontdekten dat alginaathydrogelen meer levende cellen bevatten voor een langere periode in kweek, en dat een weeklange kweek van hMSC's in 3D, hetzij als aggregaten of in een alginaathydrogel, hun groei in de loop van de tijd verminderde. De bevindingen van deze studie geeft ons meer inzicht in

hoe het cel gedrag in aggregaat kweken verschillen met of zonder een hydrogeldrager.

Over het algemeen voegt dit proefschrift fundamentele kennis toe aan ons begrip van hoe hMSC-gedrag kan worden beïnvloed door hun directe omgeving en kan het een opstap zijn naar het verbeteren van toepassingen van cel- en materiaalgebaseerde regeneratieve geneeskunde toepassingen.