



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

V. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2023ko maiatzaren 17, 18 eta 19a
Donostia, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 3.0

OSASUN ZIENTZIAK

**Zelula barneko zein jariatutako
CEMIpek azaleko fibroblastoen
mugikortasuna erregulatzen du**

*Maria Larrinaga,
Andrea Agüera Lorente,
Ainhoa Alonso Pardavila,
Maria Dolores Boyano Lopez,
Juan Manuel Falcón Perez,
Aintzane Asumendi eta
Aintzane Apraiz*

145-152 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.v.04.18>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Zelula barneko zein jariatutako CEMIPek larruazaleko fibroblastoen mugikortasuna erregulatzen du

Maria Larrinaga¹, Andrea Agüera-Lorente¹, Ainhoa Alonso-Pardavila¹, Maria Dolores Boyano^{1,2}, Juan Manuel Falcón-Pérez³, Aintzane Asumendi^{1,2}, Aintzane

Apraiz^{1,2}
¹Zelulen Biologia eta Histologia Saila, Euskal Herriko Unibertsitatea, UPV/EHU;
²Biogurutzeta-Bizkaia Osasun Ikerketa Zentroa, Gurutzeta Unibertsitate Ospitalea;
³Exosome Laboratory, CIC bioGUNE, Basque Research and Technology Alliance (BRTA)

maria.larrinaga@ehu.eus

Laburpena

CEMIP proteinaren adierazpena hantura kronikoari lotutako egoera patologikoetan deskribatu da, minbizia kasu. Egoera horietan, CEMIP matrize estrazelularraren berrantolaketarekin eta minbiziaren progresioarekin erlazionatu da. Lan honetan, CEMIPen eragina larruazaleko fibroblastoen mugikortasunean ikertu da, larruazaleko melanomaren mikroinguruneko oinarrizko zeluletan alegia. Bai melanoma zelulek zein fibroblastoek CEMIP jariatu dezaketela zehaztu ondoren, bi zelula horiek jariatutako CEMIPek larruazaleko fibroblastoen mugikortasuna erregulatzen duela frogatu da.

Hitz-gakoak: CEMIP, larruazaleko fibroblastoak, zelulaz kanpoko besikulak, mugikortasuna, melanoma

Abstract

CEMIP is a protein with increased expression under chronic inflammation-involving conditions such as cancer, often linked to extracellular matrix remodeling and tumor progression. As shown in this work, motility of skin fibroblasts, key components of tumor microenvironment in cutaneous melanoma, was regulated by cellular CEMIP levels. Moreover, secreted CEMIP, both by fibroblasts and melanoma cells, was also able to modulate skin fibroblast migration.

Key words: CEMIP, skin fibroblasts, extracellular vesicles, migration, melanoma.

1.Sarrera/Uneko egoera

CEMIP (*Cell migration inducing, hyaluronan binding protein*, HYBID edo KIAA1199) hantura kronikoari lotutako hainbat egoera patologikotan (e.g. osteoartritis, minbizia) emendatua azaltzen den proteina bat da (Birchenkamp-Demtroder et al., 2011; Deroyer et al., 2022). Berari lotutako funtzio nagusien artean matrize estrazelularraren (ME) eraldaketa eta zelulen mugikortasunaren kontrola daude. MEari dagokionean, CEMIPek azido hialuronikoa (HA) despolimerizatzen du (Nagaoka et al., 2015) eta fibrosia errazten du (Deroyer et al., 2022). Bestalde, jatorri epitelialeko minbizi ereduetan tumore zelulen migrazio eta inbasio ahalmenarekin lotu da (Liu et al., 2021); ondesteko minbizian, esaterako, proteina honen adierazpena gaiztotasunaren adierazle gisa deskribatu da (Xu et al., 2015). Minbiziaren garapenean berebiziko garrantzia du tumore zelulen inguruan eratzen den ekosistemak, hots, tumorearen mikroinguruneak. Bertan, hainbat zelula mota ezberdinek zein zelulen arteko komunikazio sistemek (e.g. zitokinak, zelulaz kanpoko besikulak) parte hartzen dute. Mikroinguruneko zelulen artean minbiziari lotutako fibroblastoek (ingelesezko *CAF, cancer associated fibroblasts*) sostengu funtzio garrantzitsua burutzen dute (Arneth, 2019). Minbiziaren testuinguruan, CEMIP proteinaren ikerketa tumore zeluletan zentratu den arren, osteoartritis eta HAren inguruko lanek argi utzi dute proteina honek gaitasuna duela fibroblastoen portaera

erregulatzeko. Hala ere, egun ezer gutxi ezagutzen da tumoreko mikroingurunean CEMIPek izan dezakeen funtzioari buruz.

CEMIP ez dago soilik zelula barnean; izan ere, LaPointe eta lankideek ondesteko minbizi pazienteen serumean detektatu zuten (LaPointe et al., 2012) eta Rodrigues eta lankideek CEMIP zelulaz kanpoko besikuletan (ZKB) garraiatzen dela deskribatu zuten (Rodrigues et al., 2019). Azken lan honen arabera, ZKBen bidez garraiatutako CEMIPa gai da bularreko minbizi zelulen garuneko metastasia bideratzeko, garuna bera tumore zelulen harrerarako prestatuz. Emaiza hauen arabera, CEMIPek funtzio garrantzitsua beteko luke tumore eta mikroingurunekeo zelulen arteko komunikazioan.

Larruazaleko melanoma minbizi mota erasokorrenen artean dago metastasirako joera handia izategatik (Eddy & Chen, 2020). Testuinguru honetan, bereziki garrantzitsua da gaixotasunaren hasierako faseak eraentzen dituzten prozesuak ulertzea. Larruazaleko melanomari lotutako fibroblastoak (ingelesezko *MAF*, *melanoma associated fibroblasts*) mikroingurune tumoraleko zelula ugarienak dira eta beraiek jariatutako molekulak hantura kronikoa eta fibrosia irauarazteaz arduratzen dira (Avagliano & Arcucci, 2022). Hori horrela, interesgarria litzateke jariatutako CEMIPek melanoman izan dezakeen eragina aztertzea.

2. Ikerketaren helburuak

Ikerketa proiektu honen helburu nagusia da CEMIPek mikroingurune tumoraleko zeluletan, zehazki fibroblastoetan, betetzen duen funtzioa aztertzea eta bereziki, larruazaleko melanomaren testuinguruan izan dezakeen eragina deskribatzea.

3. Ikerketaren muina

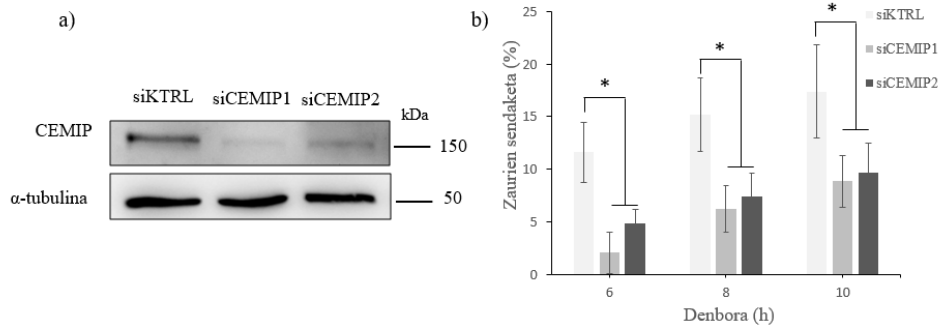
3.1. Azaleko fibroblastoen migrazioa zelula barneko CEMIP mailaren arabera da

CEMIPek azaleko fibroblastoen migrazioan betetzen duen funtzioa aztertzeko Detroit551 zelulalerroa erabili zen. Zelulak interferentziak RNA txikiekin (siRNA) tratatu ziren 24 orduz eta beste 24 ordu ondoren (hazkuntza medio hutsean serumik gabe) isilarazpena proteina mailan baieztatu zen *western* plapaketa bidez. Esperimentuak CEMIPen aurkako 2 siRNArekin (siCEMIP₁ eta siCEMIP₂) burutu ziren, lortutako emaitzen sendotasuna bermatzeko. Aldi berean, zaurien sendaketa entsegu burutu zen: entsegu honetan, zelulen monogerruza batean zauri bat egin (200µl-ko puntekin) eta horren azaleraren murrizpena (“sendaketa”) behatzen da denboran zehar. CEMIPen behin behineko isilarazpenak larruazaleko fibroblastoen migrazioa murrizten zuela behatu zen (1. irudia).

1.irudia. CEMIPen isilarazpenak larruazaleko fibroblastoen migrazio ahalmena murrizten du.

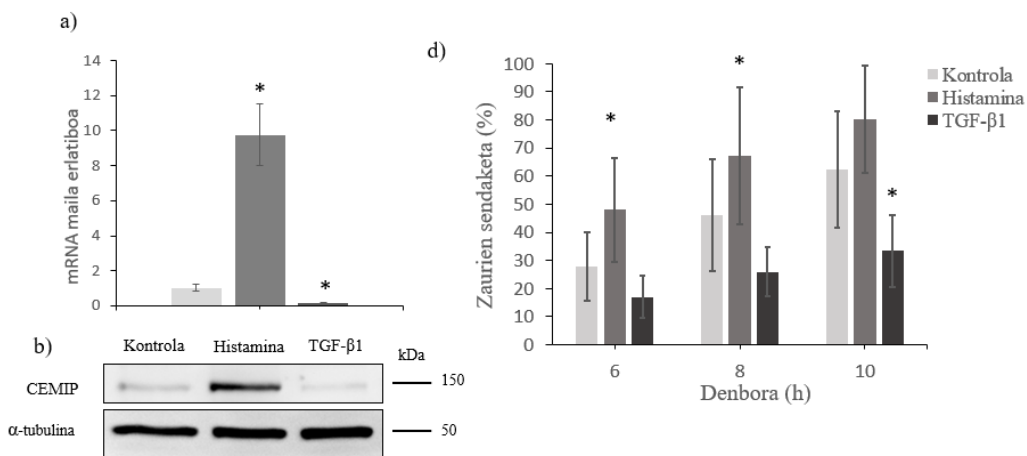
Detroit551 zelulak siCEMIP₁ eta siCEMIP₂rekin transfektatu ziren eta hauen migrazio ahalmena aztertu zen. a) Proteina mailan CEMIPen isilarazpena baieztatu zen. Karga kontrol moduan α -tubulina proteina erabili zen. b) Zaurien sendaketa entseguak azaltzen du CEMIPen isilarazpenak migrazioa murrizten duela 6, 8 eta 10 orduetara. Bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRLrekiko

(*) $p < 0,05$ bezala adierazten da.



Literaturaren arabera, histaminak zein TGF- β 1ek, hanturari lotutako bitartekariak alegia, CEMIPen adierazpena igo edo inhibitzeko ahalmena dute, hurrenez hurren (Liu et al., 2023; Nagaoka et al., 2015). Testuinguru honetan, histaminak eta TGF- β 1-ek fibroblastoetan duten eragina aztertu zen; zehazki CEMIPen mailan eta migrazio-ahalmenean. Histaminak CEMIP mailaren gorakadari lotutako migrazioa eragiten zuen bitartean, TGF- β 1ek CEMIPen adierazpenaren behar-kada eragin zuen migrazio-ahalmena murriztearekin batera (2.irudia).

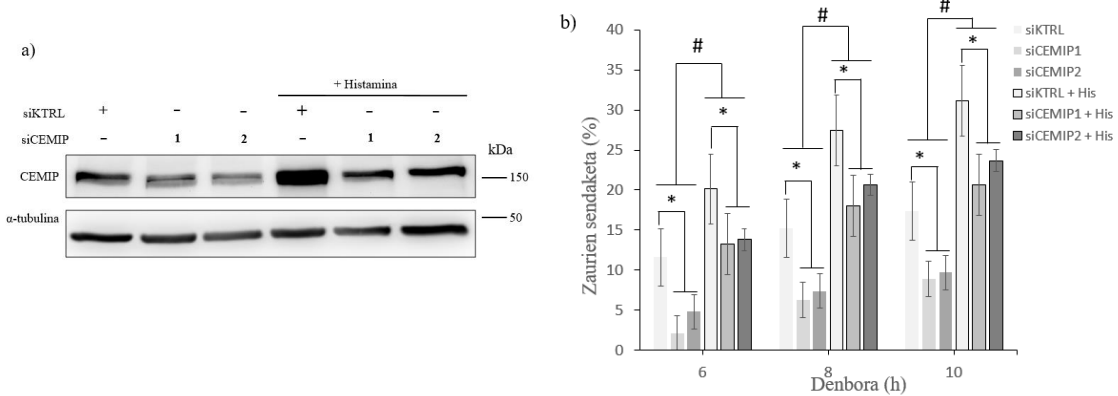
2.irudia. Histamina eta TGF- β 1ek eragin kontrajarria dute zelula barneko CEMIPen adierazpenean zein azaleko fibroblastoen migrazio-ahalmenean. Detroit551 zelulak histamina (10 μ M) edo TGF- β 1ekin (10ng/ml) tratatu ziren 24 orduz. Histaminak CEMIPen gorakada eragiten du eta TGF- β 1ek, ordea, proteina kopuruaren murrizpena eragiten du a) RNAm mailan zein b) proteina mailan (α -tubulina karga kontrol moduan). d) Histaminak induzitutako CEMIPen gainadierazpenak migrazioa bultzatzen du eta TGF- β 1ek migrazioa inhibitzen du. a) zein d) irudietan bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRLrekiko (*) $p < 0,05$ bezala adierazten da.



Histaminak eragindako mugikortasuna CEMIPen adierazpenarekin erlazionatuta dagoen ikertzeko, Detroit551 zelulak siRNA eta histaminarekin tratatu ziren. Histaminaz tratatutako fibroblastoetan siRNA bidez CEMIP maila jaisteak (3a irudia) horien migrazio-ahalmena murriztu zuen (3b irudia); beraz, emaitza hauek histaminaren efektua, neurri batean, zelulako CEMIP mailaren araberakoa zela iradokitu zuten (3.irudia).

3.irudia. Histaminak eragindako migrazio igoera CEMIP-mailaren araberakoa da. Detroit551 zelulak siRNArekin transfektatu (24h) eta histaminarekin (10 μ M) tratatu ziren beste 24 orduz. CEMIP proteinaren maila eta horrek migrazioan duen eragina aztertu ziren *western* plapaketa eta zaurien sendaketa entseguen bidez, hurrenez hurren. a) Histaminak CEMIPen maila igotzen du zeina siCEMIP bidez histamina gabeko siKTRL egoeraren parera murrizten den. Karga kontrol bezala α -tubulina erabili zen. b) siCEMIP bidezko CEMIP mailaren murrizpenak histamina-bidezko migrazio emendioa mugatzen du. Bi esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da,

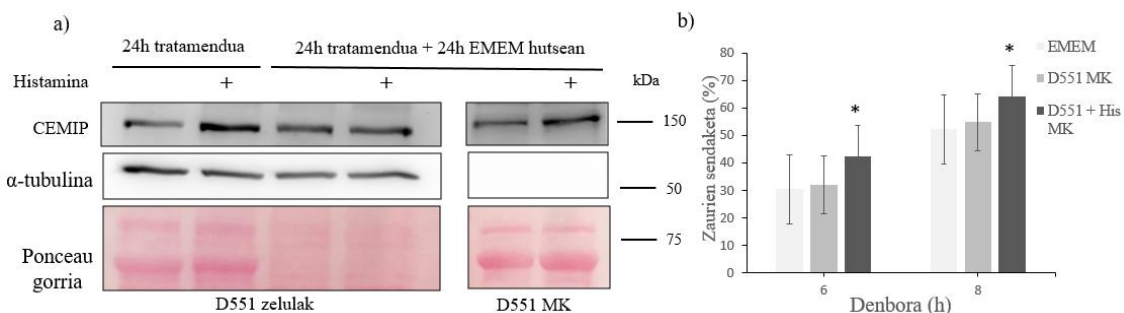
bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa siKTRL edo siKTRL + His (*) nahiz histaminarik gabeko laginekiko (#) $p < 0,05$ bezala adierazten da.



3.2. Azaleko fibroblastoen CEMIP jariatzen dute zelulaz kanpoko mediora eta horrek migrazioa erregulatzen du.

CEMIP kanpo mediora jariatuta daitekeela deskribatu izan da (Yoshida et al., 2014). Jariatutako CEMIPak zelula barneko CEMIP mailarekin zein zelulen portaerarekin izan zezakeen harremana aztertzeko asmoarekin, larruazaleko fibroblastoen histaminarekin tratatu ziren (24 ordu) eta 24 ordu ondoren medioaren edukia aztertu zen. Histaminak zelula barneko CEMIP maila ez ezik, jariatutakoa ere emendatu zuen. Medio hori, medio kondizionatua (MK), jaso eta beste fibroblastoen batzuei gehitu zitzaizkien; CEMIPen aberatsagoa zen MKak fibroblastoen migrazio-ahalmena bultzatu zuen (4.irudia).

4.irudia. Kanpo mediora jariatutako CEMIP gai da larruazaleko fibroblastoen migrazio-ahalmena erregulatzen du. Detroit551 (D551) zelulak histaminarekin (10µM) tratatu ziren 24 orduz eta beste 24 orduz inkubatu ziren medio hutsean. a) Histaminak zelularen CEMIP maila igotzen du 24 ordutara eta 24 ordutara oinarritzko mailara itzultzen da. Zelulako lisatuen karga kontrol moduan α-tubulina proteina erabili zen. *Ponceau* gorri bidezko irudia MK laginentzako karga kontrol moduan (mintzeko proteina guztiak markatzen ditu). b) Histaminak induzitutako CEMIP jariatua duen medioak (MK) migrazioa bultzatzen du 6 eta 8 ordutara. Hiru esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa EMEM medio bakanarekiko (*) $p < 0,05$ bezala adierazten da.



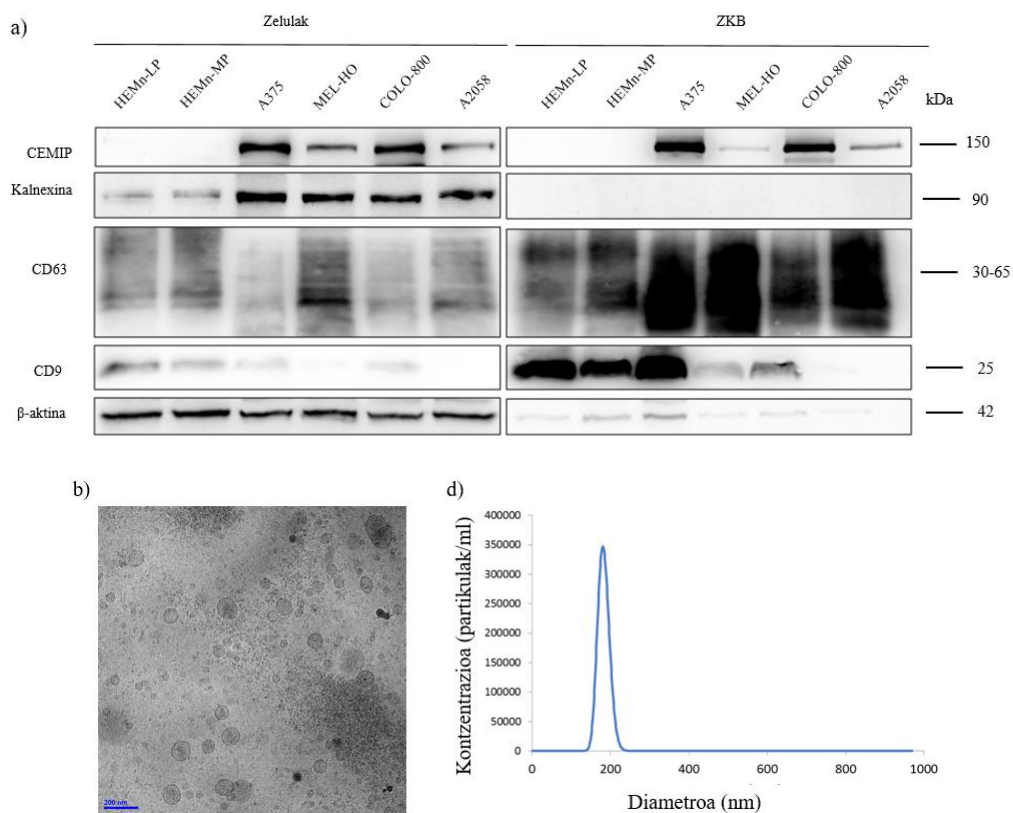
3.3. Melanoma zelulek CEMIP jariatzen dute zelulaz kanpoko besikuletan eta horrek migrazioa indusitzen/bultzatzen du larruazaleko fibroblastoen.

Arestian aipatu bezala, minbiziaren testuinguruan CEMIPen funtzioa jatorri epitelialeko zenbait minbizietan deskribatu da batik bat, eta zelulaz kanpoko besikulen (ZKB) bidez estromako zelulen portaera eragin dezakeela frogatu da. Melanomari dagokionean, ez dago ikerketarik. Hortaz, CEMIP proteinaren maila aztertu zen melanozito eta melanoma zeluletan zein horiek jariatutako ZKBetan. Kultibo medioko ZKBak ultrazentrifugazio diferentzialaren bidez isolatu

ziren eta *MISEV* (*Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles*) gida ereduzat hartu zen beraien karakterizazioa burutzeko (Théry et al., 2018); hala, ZKBen markatzaileak diren CD9 eta CD63 presentziak, kalnexinaren (ZKB txikietan jariatzen ez den proteina) ausentziak (5a irudia), kriomikroskopia (Crio-EM) bidezko azterketa morfologikoak (5b) eta NTA (ingelesezko *Nanoparticle Tracking Assay*) bidezko partikulen karakterizazioak (5d) baieztatu zuten isolatutako frakzioak tamaina txikiko (<200 nm) ZKBtan aberatsak zirela. Eraitzen arabera, melanozitoek ez dute CEMIP proteina adierazten; melanoma zelulek, ostera, proteina adierazi eta ZKBetan jariatzen dute.

5.irudia. Melanoma zelulek, baina ez melanozitoek, CEMIP adierazi eta jariatzen dute ZKBetan.

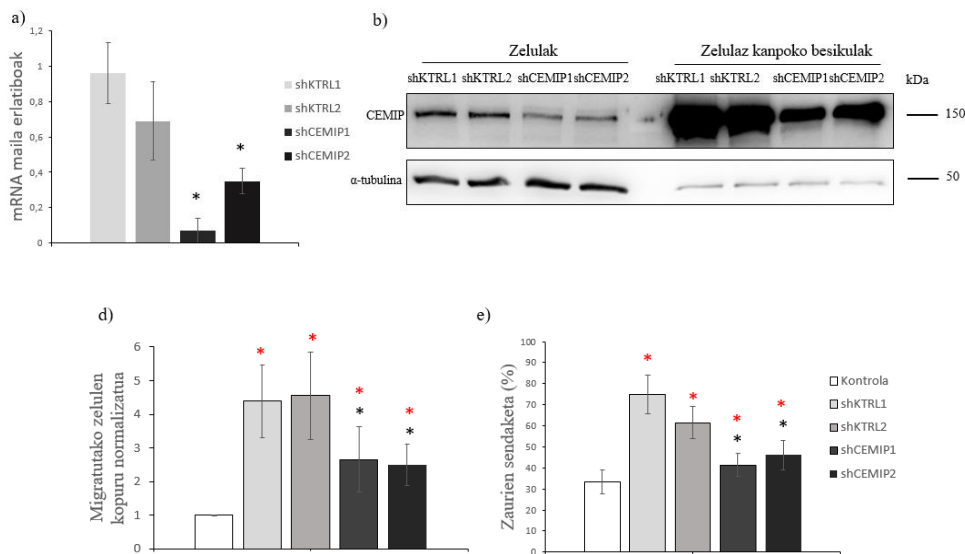
Melanozito (HEMn-LP, HEMn-MP), melanoma primario (A375, MELHO) eta melanoma metastasiko (COLO-800, A2058) zelula lerroen CEMIP maila (zeluletan zein ZKBetan) aztertu zen. a) CEMIP proteina melanoma zeluletan eta ZKBetan soilik adierazten da. Karga kontrol bezala β -aktina zeluletan. b) Crio-EM mikroskopia (eskala 200 nm) eta d) NTA bidez karakterizatu ziren. ZKBek <200 nm-ko diametroa azaldu zuten.



ZKBetan garraiatutako CEMIP proteinaren funtzioan sakontzeko asmoarekin, proteina modu egonkorrean isilarazi zen (zelula zein ZKB mailan) COLO-800 zelula-lerroan shRNA (ingelesezko *short hairpin RNA*) bidez (6a eta 6b irudiak). Ondoren, lerro zelular horietatik eratorritako ZKBek fibroblastoen (Detroit551) migrazio-ahalmenaren gain izan zezaketen eragina aztertu zen zaurien sendaketa (6d) eta *Boyden* kameratxoetan (6e) oinarritutako entseguetan, zeinetan, funtsean, zelulek porodun mintz bat zeharkatu behar duten. Entsegu honetan, denbora puntu batean, mintza zeharkatu duten zelulak kontatzen dira. ZKBek, orokorrean, migrazioa bultzatu zuten kontrolarekin alderatuz (ZKB gabe trataturiko fibroblastoak). Gainera, ZKBetako CEMIP kantitatearekin loturiko ezberdintasunak ere antzeman ziren; izan ere, ZKB kontrolekin (shKTRL1 eta shKTRL2) trataturiko fibroblastoek migrazio-ahalmen emendatua azaldu zuten ZKB isilduekin (shCEMIP₁/ shCEMIP₂) konparatuta. Hortaz melanoma zelulek jariatutako ZKB barneko CEMIPek fibroblastoen migrazio-ahalmenean eragiten du.

6.irudia. Melanoma jatorria duten ZKBek larruazaleko fibroblastoen migrazioa indutitzen dute CEMIP kantitatearekiko mendekotasuna azalduz. COLO-800 zelula lerroa shRNArekin transfektatu zen CEMIP proteinaren adierazpena isilarazteko. Detroit551 zelulak melanoma jatorria duten ZKBekin inkubatu ziren zaurien sendaketaren zein *Boyden* kameratxoan entseguetan migrazio ahalmena aztertze.

CEMIP proteina isilarazi zen a) RNAm mailan eta b) proteina mailan. Karga kontrol bezala α -tubulina erabili zen. ZKB tumoralekin inkubatutako zelulek migrazio ahalmen emendatua azaldu zuten d) zaurien sendaketa (10h) eta e) *Boyden* kameratxoan (28h) entseguetan, tratatu gabekoekin alderatuz. ZKBekin inkubatutakoekin artean, ZKBen CEMIP mailarekiko mendekotasuna antzeman zen. Hiru esperimentu independenteren batez besteko emaitza eta desbideraketa estandarra adierazten da, bakoitza hiru erreplika teknikorekin. Esangarritasun estatistikoa EMEM medio bakunarekiko (*) edo shKTRL1-ekiko (*) $p < 0,05$ bezala adierazten da.



4. Ondorioak

Lan hau CEMIP proteinak azaleko fibroblastoen eraginean fokatu da. Emaitzek frogatutakoaren arabera, CEMIP proteina garrantzitsua da fibroblastoen mugikortasunean; hanturarekin erlazioatutako bitartekariak (histamina, TGF- β 1) gai dira fibroblastoen CEMIP maila erregulatzeko eta honen bitartez, zelula horien migrazio-ahalmena mugatzeko. Zelula barneko CEMIP mailak ez ezik, kanpo mediotik jasotako CEMIP proteinak ere eragina du zelula ituen mugikortasunean, zeinak berebiziko garrantzia izan dezakeen melanoma bezalako tumoreek mikroingurunea eraldatzeko duten ahalmenean.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Zelula barneko CEMIPek larruazaleko fibroblastoen migrazioan duen eragina deskribatu dugun arren, argitzeke dago oraindik gertaera horren atzean dagoen mekanismo molekularra, baita fibroblastoen aktibazio prozesuan CEMIPek izan dezakeen funtzioa ere; esaterako, CEMIPek indutitutako adierazpen profila, tumorearen inbasio-, angiogenesi- zein proliferazio-ahalmenean duen eragina edo MEren osotasunari lotutako aldaketak. Era berean, melanomaren testuinguruan ZKBtako CEMIPek duen eraginaren deskribapen sakonagoa funtsezkoa da.

6. Erreferentziak

Arneth, B. (2019). Tumor Microenvironment. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 56(1). <https://doi.org/10.3390/MEDICINA56010015>

Avagliano, A., & Arcucci, A. (2022). Insights into Melanoma Fibroblast Populations and Therapeutic Strategy Perspectives: Friends or Foes? *Current Medicinal Chemistry*, 29(40), 6159–6168. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220620124138>

- Birkenkamp-Demtroder, K., Maghnouj, A., Mansilla, F., Thorsen, K., Andersen, C. L., Øster, B., Hahn, S., & Ørntoft, T. F. (2011). Repression of KIAA1199 attenuates Wnt-signalling and decreases the proliferation of colon cancer cells. *British Journal of Cancer* 2011 105:4, 105(4), 552–561. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.268>
- Chen, L., Shi, K., Andersen, T. L., Qiu, W., & Kassem, M. (2019). KIAA1199 is a secreted molecule that enhances osteoblastic stem cell migration and recruitment. *Cell Death & Disease*, 10(2). <https://doi.org/10.1038/S41419-018-1202-9>
- Chiang, J. H., Tsai, F. J., Lin, T. H., Yang, J. S., & Chiu, Y. J. (2022). Tremella fuciformis Inhibits Melanogenesis in B16F10 Cells and Promotes Migration of Human Fibroblasts and Keratinocytes. *In Vivo (Athens, Greece)*, 36(2), 713–722. <https://doi.org/10.21873/INVIVO.12757>
- Deroyer, C., Poulet, C., Paulissen, G., Ciregia, F., Malaise, · Olivier, Plener, Z., Gaël Cobraiville, ·, Daniel, C., Gillet, P., Malaise, M. G., & Dominique De Seny, ·. (2022). *CEMIP (KIAA1199) regulates inflammation, hyperplasia and fibrosis in osteoarthritis synovial membrane*. 79, 260. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04282-6>
- Desbois, M., & Wang, Y. (2021). Cancer-associated fibroblasts: Key players in shaping the tumor immune microenvironment. *Immunological Reviews*, 302(1), 241–258. <https://doi.org/10.1111/IMR.12982>
- Eddy, K., & Chen, S. (2020). Overcoming Immune Evasion in Melanoma. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 1–48. <https://doi.org/10.3390/IJMS21238984>
- Hiroyuki, X., ‡1, Y., Aoki, M., Komiya, A., Endo, Y., Kawabata, K., Nakamura, T., Sakai, S., Sayo, T., ¶2, Y. O., Takahashi, Y., & Hart, G. W. (2020a). *HYBID (alias KIAA1199/CEMIP) and hyaluronan synthase coordinately regulate hyaluronan metabolism in histamine-stimulated skin fibroblasts*. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010457>
- Hiroyuki, X., ‡1, Y., Aoki, M., Komiya, A., Endo, Y., Kawabata, K., Nakamura, T., Sakai, S., Sayo, T., ¶2, Y. O., Takahashi, Y., & Hart, G. W. (2020b). *HYBID (alias KIAA1199/CEMIP) and hyaluronan synthase coordinately regulate hyaluronan metabolism in histamine-stimulated skin fibroblasts*. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010457>
- LaPointe, L. C., Pedersen, S. K., Dunne, R., Brown, G. S., Pimlott, L., Gaur, S., McEvoy, A., Thomas, M., Wattchow, D., Molloy, P. L., & Young, G. P. (2012). Discovery and validation of molecular biomarkers for colorectal adenomas and cancer with application to blood testing. *PLoS One*, 7(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0029059>
- Liu, J., Yan, W., Han, P., & Tian, D. (2021). The emerging role of KIAA1199 in cancer development and therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 138, 111507. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2021.111507>
- Liu, M., Xie, L., Zhang, Y., Chen, J., Zhang, X., Chen, Y., Huang, W., Cai, M., Liang, L., Lai, M., Huang, J., Guo, Y., Lin, L., & Zhu, K. (2023). Inhibition of CEMIP potentiates the effect of sorafenib on metastatic hepatocellular carcinoma by reducing the stiffness of lung metastases. *Cell Death & Disease*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/S41419-023-05550-4>
- Nagaoka, A., Yoshida, H., Nakamura, S., Morikawa, T., Kawabata, K., Kobayashi, M., Sakai, S., Takahashi, Y., Okada, Y., & Inoue, S. (2015). Regulation of Hyaluronan (HA) Metabolism Mediated by HYBID (Hyaluronan-binding Protein Involved in HA Depolymerization, KIAA1199) and HA Synthases in Growth Factor-stimulated Fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry*, 290(52), 30910. <https://doi.org/10.1074/JBC.M115.673566>

- Pach, E., Kümper, M., Fromme, J. E., Zamek, J., Metzen, F., Koch, M., Mauch, C., & Zigrino, P. (2021). Extracellular Matrix Remodeling by Fibroblast-MMP14 Regulates Melanoma Growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22). <https://doi.org/10.3390/IJMS222212276>
- Rodrigues, G., Hoshino, A., Kenific, C. M., Matei, I. R., Steiner, L., Freitas, D., Kim, H. S., Oxley, P. R., Scandariato, I., Casanova-Salas, I., Dai, J., Badwe, C. R., Gril, B., Tešić Mark, M., Dill, B. D., Molina, H., Zhang, H., Benito-Martin, A., Bojmar, L., ... Lyden, D. (2019). Tumour exosomal CEMIP protein promotes cancer cell colonization in brain metastasis. *Nature Cell Biology*, 21(11), 1403–1412. <https://doi.org/10.1038/S41556-019-0404-4>
- Romano, V., Belviso, I., Venuta, A., Ruocco, M. R., Masone, S., Aliotta, F., Fiume, G., Montagnani, S., Avagliano, A., & Arcucci, A. (2021). Influence of Tumor Microenvironment and Fibroblast Population Plasticity on Melanoma Growth, Therapy Resistance and Immunescape. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS22105283>
- Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., Antoniou, A., Arab, T., Archer, F., Atkin-Smith, G. K., Ayre, D. C., Bach, J. M., Bachurski, D., Baharvand, H., Balaj, L., Baldacchino, S., Bauer, N. N., Baxter, A. A., Bebawy, M., ... Zuba-Surma, E. K. (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>, 7(1).
- Wu, F., Yang, J., Liu, J., Wang, Y., Mu, J., Zeng, Q., Deng, S., & Zhou, H. (2021). Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and targeted therapy for cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2021 6:1, 6(1), 1–35. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00641-0>
- Xu, J., Liu, Y., Wang, X., Huang, J., Zhu, H., Hu, Z., & Wang, D. (2015). Association between KIAA1199 overexpression and tumor invasion, TNM stage, and poor prognosis in colorectal cancer. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 8(3), 2909–2918.
- Yoon, D., Yoon, D., Sim, H., Hwang, I., Lee, J. S., & Chun, W. (2018). Accelerated Wound Healing by Fibroblasts Differentiated from Human Embryonic Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Pressure Ulcer Animal Model. *Stem Cells International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4789568>
- Yoshida, H., Nagaoka, A., Nakamura, S., Tobiishi, M., Sugiyama, Y., & Inoue, S. (2014). N-terminal signal sequence is required for cellular trafficking and hyaluronan-depolymerization of KIAA1199. *FEBS Letters*, 588(1), 111–116. <https://doi.org/10.1016/J.FEBSLET.2013.11.017>

7. Esker onak eta oharrak

Ikerketa honen emaitzak Maria Larrinagaren, Andrea Agüera-Lorenteren eta Ainhoa Alonso-Pardavilaren doktoretza tesiaren ondorio dira. Maria Larrinagak Espainiako Minbiziaren Aurkako Elkartearen doktoretza aurreko dirulaguntza jaso du (PRDVZ222424LARR). Andrea Agüera-Lorentek Eusko Jaurlaritzaren doktoretza aurreko dirulaguntza jaso du (PRE_2018_1_0323). Ainhoa Alonso-Pardavilak *Investigo* dirulaguntza jaso du, Europar Batasunak-*Next Generation EUk* finantziatua. Ikerketa taldeak Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza Saileko (PIBA_2018_1_0073 eta IT1524-22) dirulaguntza jaso du.