

Samenvatting goedgekeurd eindverslag

December 2009

Titel: Identification of TGF- β signalling pathways involved in myofibroblast activation and proliferation in diabetic nephropathy

Projectcode: 2108

Projectleider: L.E. Deelman, UMCG Groningen, afd. Klinische Farmacologie

Programma:

Open Onderzoeksprogramma (derde ronde 2009)

Onderzoekslijn: nierziekten, werking

Soort: dieronderzoek; fundamenteel, niet-klinisch

Onderwerp: diabetische nierziekte, interstitiële fibrose, signaalstof: TGF- β , signaalroutes, gentherapie

Doel:

Het bepalen van de rol van TGF- β -signaalroutes in het ontwikkelen van fibrose (verbindweefseling) in de nieren bij diabetische nierziekte (ratmodel), toepassing van een virusmodel voor genoverdracht (gentherapie). Uiteindelijk het ontwikkelen van een gerichte behandeling van de bindweefselvorming.

Samenvatting:

Een deel van de patiënten met diabetes ontwikkelt nierziekte. Een belangrijke oorzaak van nierfunctieverlies bij diabetische nierziekte is het ontstaan van bindweefsel rond de nierbuisjes (tubulo-interstitiële fibrose). Preventie van nierziekte (en hart- en vaatziekten) berust in de eerste plaats op het controleren van de bloeddruk en de suikerziekte. Er is nog geen gerichte behandeling van diabetische nierziekte en interstitiële fibrose.

Verhoogde activiteit van de signaalstof TGF- β heeft een spilfunctie in het ontstaan van de fibrose. TGF- β kan bindweefselcellen aanzetten tot ontwikkeling in myofibroblasten, cellen die bindweefseleiwitten produceren en uitgroeien, waardoor de functionele niercellen in het gedrang komen en uiteindelijk de nierfunctie afneemt. De activering van de fibroblasten begint met het binden van TGF- β met receptoren op het oppervlak van de cellen. Hierna komt een reeks stoffen volgens een bepaald patroon binnenin de cel in actie: een signaalroute (signalling pathway).

Een signaalroute mondt uit in activering van specifieke genen in het erfelijk materiaal van de cel. De cel leest de actieve genen af en gaat de bijbehorende eiwitten aanmaken. Op deze manier resulteert binding van TGF- β aan bindweefselcellen in activatie van de cellen en aanmaak van bindweefseleiwitten. Uit eerder onderzoek is gebleken dat TGF- β in ieder geval via twee signaalroutes werkt: de Smad-route (via de stof Smad4) en de CREB-route (vorming van het bindweefseiwit fibronectine).

Hiernaast is TGF- β echter waarschijnlijk nodig voor het onderhouden van de structuur van het weefsel van de nierbuisjes. Het algeheel blokkeren van TGF- β in de nieren remt fibrose, maar kan dus ook de nierbuisjes beschadigen. Gericht ingrijpen in de signaalroutes is wellicht in staat deze negatieve effecten te voorkomen.

Hypothese is dat de TGF- β -signaalroutes een belangrijke rol spelen in diabetische nierziekte en dat door ingrijpen in de signaalroutes de fibrose gericht te remmen is. Dit project wil bepalen welke signaalroutes betrokken zijn bij de bevordering van fibrose via TGF- β (ratmodel diabetische nierziekte) en hoe gentherapie in te zetten. De onderzoekers gebruiken hiervoor een door hen ontwikkeld model gericht op fibroblasten in de nieren. Bij gentherapie brengen virusdeeltjes (hier: RGD-adenovirus) genen voor de aanmaak van eiwitten (hier: eiwitten die ingrijpen in de TGF- β -signaalroutes) in lichaamscellen in (hier: myofibroblasten in de nieren). Met deze techniek is het mogelijk de bekende TGF- β -signaalroutes in bindweefselcellen uit te schakelen. De onderzoekers zullen gebruik maken van een DNA-microarray (herkennen van tot uiting komende genen) voor het identificeren van onbekende signaalroutes en een nieuw systeem testen voor het toepassen van gentherapie (een derde-generatie-adenovirus dat langdurig actief kan blijven).

Looptijd:

Periode: 15 februari 2006 - 15 februari 2009; duur: 3 jaar

Eindverslag: 1 augustus 2009

Toegekende subsidie: € 125.000,-

Resultaten en conclusies:

Resultaten

Kenmerken van de vroege fase van het diabetes-ratmodel (streptozocine). Binnen een week activeerden de fibroblasten in de nieren en werd de Smad-2-siginaalroute actief. Er werd geen verhoogde TGF- β 1 genexpressie gemeten. Toegevoegd werd een nieuwe doelstelling van de studie: het zoeken naar andere groeifactoren die betrokken zijn bij het activeren van fibroblasten.

De micro-array studie (na begin van diabetes gereguleerde genen). De array bevatte bijna 27.000 genen. In de vroege fase van de diabetes werden 290 genen specifiek gereguleerd, van een aantal van deze genen is bekend dat zij een rol spelen bij meer langdurige diabetes. Genen die te maken hebben met de TGF- β - en MAPK-siginaalroutes werden niet actief. Een aantal andere genen wordt verder onderzocht.

Onderzoek met de microarray naar andere groeifactoren dan TGF- β (vroege fase diabetes): naast IGF en osteopontine werd groeifactor-xxx-1 gevonden (lid van de TGF- β familie). Deze stof heeft te maken met nierschade door zuurstoftekort (ischemie/reperfusie) maar de mogelijke rol bij diabetische nierziekte is nieuw en is daarom verder onderzocht. Groeifactor-xxx-1 bleek verschillende siginaalroutes te stimuleren (ERK en Smad) en er was interactie met TGF- β . Verder onderzoek naar de rol in het ontstaan van diabetische nierschade in een xxx-1knockout-muis (maakt geen xxx-1 aan) loopt.

Toepassing van het genterapie-model toonde aan dat verschillende siginaalroutes een rol spelen in activering van fibroblasten bij diabetische nierziekte (ERK, Smad, TGF- β). Tenslotte is een derde-generatie-adenovirus getest in het ratmodel. Dit onderzoek loopt nog.

Conclusies

De studie onderzocht de rol van siginaalroutes (keten van activerende stoffen) bij het ontstaan van nierfibrose (verbindweefseling) bij diabetische nierziekte in een ratmodel, speciaal voor de siginaalstof TGF- β .

Er waren verscheidene siginaalroutes betrokken bij de activering van bindweefselvormende cellen. Dit werd onder meer zichtbaar door de toepassing van een model voor genterapie (waarbij onschadelijke virussen een gen overbrengen).

Andere siginaalstoffen of groeifactoren spelen mogelijk een grote rol. De toepassing van een DNA-microarray om specifiek gereguleerde genen aan te tonen liet ook activering van verscheidene routes zien en activering van groeifactor-xxx-1. Deze stof speelt mogelijk een rol in het ontstaan van nierfibrose en is van invloed op de werking van TGF- β . Groeifactor-xxx-1 is mogelijk bruikbaar als middel om de nierfibrose te remmen.

Tenslotte is een begin gemaakt met onderzoek naar een nieuw virusmodel voor langdurige genterapie bij diabetische nierziekte.

Vervolg:

Verder onderzoek naar de rol van groeifactor-xxx-1 en andere groeifactoren bij het ontstaan van fibrose bij diabetische nierziekte en naar de mogelijkheden van groeifactor-xxx-1 voor behandeling van de fibrose. Verder onderzoek naar het nieuwe virusmodel voor genterapie (derde-generatie-adenovirus) en naar toepassing van genterapie tegen het ontstaan van chronische afstoting (NSN 2244).

Publicaties:

- 1: Deelman L, Sharma K. Mechanisms of kidney fibrosis and the role of antifibrotic therapies. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2009 Jan;18(1):85-90. Review. PubMed PMID: 19077695.
- 2: Meijering BD, van der Wouden EA, Pelgröm V, Henning RH, Sharma K, Deelman LE. TGF-beta inhibits Ang II-induced MAPK p44/42 signaling in vascular smooth muscle cells by Ang II type 1 receptor downregulation. J Vasc Res. 2009;46(5):459-68. Epub 2009 Feb 10. PubMed PMID: 19204403.
- 3: Sandovici M, Deelman LE, de Zeeuw D, van Goor H, Henning RH. Immune modulation and graft protection by gene therapy in kidney transplantation. Eur J Pharmacol. 2008 May 13;585(2-3):261-9. Epub 2008 Mar 15. Review. PubMed PMID: 18410915.

Promotie: niet