

## Consortia Programma Samenvatting toegekend project

1 september 2011

### **Titel:**

The FGF23 – klotho – vitamin D axis as a new instrumental target to combat the cardiovascular risk of chronic kidney disease: The NIGRAM Consortium.

(De FGF23-klotho-vitamine D-as: een nieuw instrument om het risico op hart- en vaatziekten bij patiënten met chronische nierziekte te bestrijden: Het NIGRAM Consortium).

**Projectcode:** CP10.11

### **Principal Investigator:**

Prof.dr. P.M. ter Wee, Vrije Universiteit Medical Centre (VUmc) and ICaR-VU Department of Nephrology

### **Consortium:**

Onderzoeksgroep I: Prof.dr. J.G.J. Hoenderop / Prof.dr. R.J.M. Bindels, Department of Nephrology / Department of Pathology & Medical Biology

Onderzoeksgroep II: Prof.dr. G. Navis / Prof.dr. J.L. Hillebrands, University Medical Center Groningen (UMCG) Department of Nephrology / Department of Pathology & Medical Biology

Onderzoeksgroep III: Prof.dr. P.M. ter Wee / Dr. M. Vervloet, Free University Medical Centre (VUmc) and ICaR-VU Department of Nephrology

### **Programma:**

Biomedisch Wetenschappelijk Onderzoek, Consortia Programma, Consortium Beurs, Ronde 2010-2011

Onderzoekslijn: nierziekten werking

Soort: onderzoek met mensen, dieronderzoek, celonderzoek; fundamenteel/toegepast klinisch

Onderwerp: FGF23-klotho-vitamine D-as, calcium-fosfaathuishouding, hart- en vaatziekten, RAAS

### **Doel:**

Het ontrafelen van de rol van de FGF23-klotho-vitamine D-as (regulering van de calcium-fosfaathuishouding) bij chronische nierziekte, en de invloed op het risico op hart- en vaatziekten bij nierpatiënten. Het onderzoeken van gericht ingrijpen op FGF23, klotho en vitamine D. Uiteindelijk een nieuwe, aanvullende behandeling van chronische nierziekte om het risico op hart- en vaatziekten beter te bestrijden.

### **Samenvatting:**

Chronische nierziekte en hart- en vaatziekten staan met elkaar in verband. Zo hebben nierpatiënten een sterk verhoogd risico op hart- en vaatziekten (in vergelijking met de algemene bevolking gemiddeld ongeveer 10 keer zo hoog bij dialysepatiënten, oplopend tot wel 1000 keer zo hoog bij jongere dialysepatiënten). Hart- en vaatziekten vormen ook de eerste doodsoorzaak van patiënten met chronische nierschade. Verhoging van het risico begint al bij beginnende nierziekte. De behandeling van chronische nierschade is dan ook mede gericht op het verminderen van hoge bloeddruk en vaatschade.

Het risico op hart- en vaatziekten bij nierpatiënten hangt af van de bekende algemene risicofactoren (hoge bloeddruk, diabetes, verstoorde vetthuishouding en overgewicht, roken) en van aan chronische nierschade

gekoppelde risicofactoren: ontsteking in de bloedvaten (microinflammatie), schade door zuurstofverbindingen (oxidatieve stress) en een verstoorde calcium-fosfaathuishouding. Centraal in het laatste staat de FGF23-klotho-vitamine D-as. Verstoring daarvan heeft te maken met het hoge risico op hart- en vaatziekten bij nierpatiënten.

De groeifactor FGF23 (fibroblast growth factor 23) is recent als regulator van calcium en fosfaat ontdekt. De FGF23-receptor, waarmee FGF23 bindt, komt vooral voor op cellen in de nierbuisjes en in de bij schildklier. De invloed op calcium en fosfaat is divers. FGF23 bevordert de uitscheiding van fosfaat in de nieren en remt de opname van fosfaat in de darmen door de vorming van actief vitamine D tegen te gaan. FGF23 remt ook de vorming van het bij schildklierhormoon PTH, dat de calciumconcentratie in het bloed verhoogt. Het eiwit klotho, waarvan bekend is dat het een rol speelt in verouderingsprocessen, is een molecuul op het oppervlak van oa. niercellen. Klotho is nodig bij de binding van FGF23 met zijn receptormolecuul.

De FGF23-bloedspiegel stijgt met chronische nierschade en hangt samen met toenemend nierfunctieverlies. FGF23 hangt samen met het risico op hart- en vaatziekten en overlijden daardoor bij nierpatiënten maar ook in de algemene bevolking. Lagere klotho-spiegels hangen verder samen met het risico op overlijden bij hemodialysepatiënten.

De centrale hypothese luidt dat verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as, in interactie met de activering van het RAAS (renine-angiotensine-aldosteron systeem, regulering van de bloeddruk), een belangrijke rol speelt in het verhoogde risico op hart- en vaatziekten bij nierpatiënten. Ingrijpen op de as kan een nieuwe, aanvullende behandeling opleveren.

### **Deelproject I:**

Regulation of klotho production by hormones and other factors.  
(Regulering van de productie van klotho door hormonen en andere factoren).

Het eiwit klotho is een molecuul in het membraan van cellen (transmembraanmolecuul). Klotho komt voornamelijk voor op cellen in de nieren (nierbuisjes), de bij schildklieren en de hersenen (choroïde plexus). Klotho vormt met het FGF23-receptormolecuul een bindingsplaats voor FGF23 en reguleert zo de uitscheiding van fosfaat.

Een deel van het molecuul steekt uit buiten de celmembraan. Dit deel (extracellulair domein van klotho) heeft als los molecuul in bloed en urine een eigen functie als regulator van transporteiwitten van stoffen als calcium en fosfaat (ionkanalen). Het beïnvloedt zo de reabsorptie van die stoffen via de kanalen in de cellen van de tubuli (terugopname naar het bloed in de nierbuisjes). De vrije klotho-fragmenten zijn niet onderling identiek.

Klotho speelt een grote rol in de calcium-fosfaathuishouding, maar de mechanismen, kenmerken en regulering van de expressie op cellen en het loskomen van klotho buiten de cel zijn nog onduidelijk. Inzicht hierin verheldert de plaats van klotho in de calcium-fosfaathuishouding en is belangrijk voor de ontwikkeling van nieuwe vormen van behandeling.

Vraagstelling.

1. Hoe werkt de regulering van de productie van klotho? Celonderzoek en diermodellen, effect van hormonen oa. FGF23 en vitamine D.
2. Hoe werkt het loslaten van extracellulair klotho? Moleculair onderzoek.
3. Het reproducere van de vrije klotho-fragmenten (cloning en transfectie).
4. Het ontwikkelen van een test om de fragmenten te meten in bloed en urin (ELISA assays).

### **Deelproject II:**

Dysregulation of the FGF23-klotho-vitamin D axis in experimental chronic kidney disease.  
(Verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as in experimentele chronische nierschade).

FGF23 is waarschijnlijk de belangrijkste regulator van fosfaat en van de bloedspiegel van actieve vitamine D. Het bot maakt FGF23 in reactie op fosfaat, vitamine D en PTH (bij schildklierhormoon). De FGF23-bloedspiegel

stijgt al in de vroege fase van chronische nierschade, zodat het een goede biomarker is voor problemen in de calcium-fosfaathuishouding. De aanmaak van klotho en vrije klothofragmenten daalt eveneens al in de vroege fase. Klotho is nodig voor een goede werking van FGF23. Een tekort aan klotho kan dus leiden tot een lage effectiviteit van FGF23 (resistentie).

De hypothese is dat bij chronische nierschade een vicieuze cirkel ontstaat die leidt tot een groeiende verstoring van de calcium-fosforhuishouding en toenemende nierschade: tekort aan klotho - FGF23-resistentie en stijgend FGF23 - meer verstoring van de werking van vitamine D - minder renine en stimuleren RAAS - minder klotho. Om een behandeling te ontwikkelen is het belangrijk de interactie te begrijpen tussen de FGF23-klotho-vitamine D-as, het RAAS en andere factoren. Het gaat om onderzoek in muismodellen (chronische nierziekte, knockouts).

Vraagstelling.

1. Wat is het effect van chronische nierziekte op de productie van klotho?
2. Wat is het effect van toediening van klotho op chronische nierziekte?
3. Wat is het effect van het blokkeren van het RAAS op de FGF23-klotho-vitamine D-as?
4. Wat is het effect van een verstoorde FGF23-klotho-vitamine D-as op de balans van oa. calcium en fosfaat?

### **Deelproject III:**

Role of the FGF23-klotho-vitamin D axis on vasodilatory properties and myocardial blood flow in CKD.  
(De rol van de FGF23-klotho-vitamine D-as in vaatfunctie en bloedvoorziening van het hart bij chronische nierschade).

Verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as heeft waarschijnlijk gevolgen voor het functioneren van de bloedvaten. Onderzoek hiernaar bij chronische nierziekte kijkt vooral naar de mate van verkalking in de bloedvaten. Maar ook als er geen verkalking is, is er bij chronische nierschade sprake van een slechte functie van de vaten (endotheliale disfunctie) en verstoorde vaatverwijding en -vernauwing.

De hypothese luidt dat verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as negatieve effecten heeft op de werking van de bloedvaten. Mogelijk is FGF23 zelf slecht voor de vaten. Inzicht hierin kan bijdragen aan de ontwikkeling van een nieuwe, gerichte behandeling van de verstoorde vaatfunctie bij chronische nierpatiënten. Het gaat om onderzoek in muismodellen (chronische nierschade, FGF23-knockout). Effect van oa. FGF23 toediening of blokkade, klotho toediening, fosfaatarm dieet, medicatie.

Vraagstelling.

1. Wat is het effect van veranderingen in FGF23 en klotho op de vaatfunctie?
2. Wat is de invloed van vrij klotho in de nieren op de vaatfunctie?
3. Is er een FGF23-receptor in bloedvatwanden?

### **Deelproject IV:**

Role of FGF23, klotho and vitamin D in driving vascular smooth muscle cell dedifferentiation.  
(De rol van de FGF23-klotho-vitamine D-as in dedifferentiatie van VSMC, cellen van de vaatwand).

Het kenmerk van hart- en vaatziekte bij chronische nierpatiënten is verkalking van de bloedvaten (vasculaire calcificatie). Dit hangt samen met vaatziekte (vaatvernauwing, plaquevorming, atherosclerose). Mogelijk draagt de verstoring van de calcium-fosfaathuishouding bij nierziekte daaraan bij.

Een centrale rol hebben de vascular smooth muscle cells (VSMC), spiercellen in de vaatwanden die de vaatspanning reguleren. Kenmerkend is de dedifferentiatie van VSMC (verandering van type) van een cel die de vaatspanning vormgeeft tot een cel die bijdraagt aan de verkalking door de aanmaak van boteiwitten en groeifactoren (vergelijkbaar met de verkalking in bot). Het is niet bekend of FGF23 en klotho hierbij een rol spelen. Dat zou mogelijk zijn via de productie van FGF23 en klotho door VSMC na dedifferentiatie, en het stimuleren van dedifferentiatie door de verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as.

De hypothese is dat de hoge FGF23 en lage klotho bij chronische nierschade van belang zijn bij de

dedifferentiatie van VSMC via de lokale vermindering van actieve vitamine D. Als dat klopt, levert dat een mogelijkheid op om de verkalking in een vroege fase van de nierziekte aan te pakken.

Vraagstelling.

1. Zijn FGF23, klotho, 1 $\alpha$ -hydroxylase (enzym dat vitamine D activeert) en de vitamine D-receptor aanwezig in plaques? Menselijke cellijnen en weefsel.
2. Wat is het verband tussen bloedspiegels van genoemde stoffen en de vorming van plaquea? Onderzoek met mensen.
3. Wat is het effect van FGF23 en klotho op VSMC dedifferentiatie? Labonderzoek.
4. Wat is het effect van actieve vitamine D op vorming van plaques en herstel van schade aan de bloedvaten? Muismodellen (chronische nierziekte, atherosclerose, vaatschade).

### **Deelproject V:**

Defining the therapeutic window for targeting the FGF23-klotho-vitamin D axis: clinical epidemiology and effect of current renoprotective therapy.

(Het therapeutische window voor de FGF23-klotho-vitamine D-as: kenmerken en effecten in de klinische praktijk).

Behandeling van chronische nierschade berust op controleren van de bloeddruk en de eiwituitscheiding met de urine door het blokkeren van het RAAS (renine-angiotensine-aldosteron systeem; ACE-remmers, AT1R-blokkers etc). Het is mogelijk dat dit ook een gunstig effect heeft op de verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as, maar dit is niet onderzocht in de praktijksituatie. Als er een effect is, is dat onvoldoende.

Het is nu nog niet goed mogelijk chronische nierschade te stoppen, er zijn nieuwe aangrijpingspunten en aanvullende behandelingsvormen nodig. De hypothese is dat het gericht aanpakken van de FGF23-verstoring zo'n aanvullende behandeling is. Om die goed in te passen in de huidige behandeling is het nodig patiënten te onderzoeken op de mate van verstoring in verband met de nierschade en de effecten van de RAAS-blokkade op de FGF23-klotho-vitamine D-as. Zo wordt duidelijk hoe en wanneer gerichte behandeling zinvol is.

Vraagstelling.

1. Wat is het beeld van de verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as bij patiënten? Heeft dat voorspellende waarde?
2. Wat is het effect van RAAS-blokkade op de verstoring?
3. Wat is het effect van vitamine D als aanvulling op de RAAS-blokkade?

### **Deelproject VI:**

Specific clinical interventional strategies aiming at restoration of the deranged FGF23-klotho-vitamin D axis. (Behandeling van patiënten: strategieën om de verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as te herstellen).

Gerichte, aanvullende behandeling van de verstoring van de FGF23-klotho-vitamine D-as bij chronische nierziekte bestaat primair uit het aanpakken van de toenemende FGF23, van de afnemende klotho, en het aanvullen van vitamine D. Als voorbereiding op grote klinische trials is het nodig om uit te zoeken op welke resultaten zulke studies zich moeten richten. Het moet duidelijk zijn hoe een mogelijke therapie veilig kan worden uitgevoerd en dat zij haalbaar is. FGF23-behandeling mag bijvoorbeeld geen fosfaattekort veroorzaken, van een behandeling gericht op klotho moet vooronderzoek eerst aantonen dat het veronderstelde behandelprincipe klopt (proof of principle).

De hypothese is dat meer bekend moet zijn over op FGF23 en klotho gerichte behandeling in de praktijk, voor het starten van een grote klinische trial. De onderzoekers zullen twee studies uitvoeren met nierpatiënten (totaal 220).

Vraagstelling.

1. Prospectieve klinische studie naar de haalbaarheid van veilige FGF23-verlaging.
2. Prospectieve klinische studie naar de haalbaarheid van klotho-verhoging (proof of principle).

**Looptijd:** 4 jaar

**Toegekende subsidie:**

Deelproject I: € 250.000  
Deelproject II: € 250.000  
Deelproject III: € 250.000  
Deelproject IV: € 250.000  
Deelproject V: € 250.000  
Deelproject VI: € 250.000  
Consortium: € 1.500.000