



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

CD44, TLR4, TREM-1/DAP12 in renal injury, inflammation and fibrosis

Rampanelli, E.

Publication date
2014

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Rampanelli, E. (2014). *CD44, TLR4, TREM-1/DAP12 in renal injury, inflammation and fibrosis*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Nederlandse samenvatting

Nieren zijn twee boonvormige organen die gelokaliseerd zijn in de retroperitoneale ruimte. Nieren hebben een essentiële rol in het handhaven van de homeostase van het lichaam door het regelen van het volume, de osmolariteit, de elektrolytenbalans en de zuurgraad van het lichaamsvocht. Ze functioneren als een natuurlijke filter van het bloed door het verwijderen van afvalstoffen (ureum), en vreemde stoffen (toxinen en drugs).

In de studies beschreven in dit proefschrift, zijn twee muismodellen gebruikt: (a) acute nierschade geïnduceerd door intraperitoneale injectie van lipopolysaccharide (LPS) en (b) chronische nierziekte geïnduceerd door unilaterale ureter obstructie.

Acute nierschade wordt beschreven als een snelle (binnen 48 uur) afname van nierfunctie die wordt gekenmerkt door stijging van de serum concentratie van afvalstoffen, zoals creatinine en ureum. Acute nierschade is nog steeds geassocieerd met een hoge morbiditeit en mortaliteit met sterftecijfers tussen de 30 en 70%.

Chronische nierziekten worden gedefinieerd door nierbeschadiging en dysfunctie gedurende 3 maanden of langer. De ziekte wordt ingedeeld in 5 stadia volgens de glomerulaire filtratiesnelheid. Chronische nierziekten zijn over het algemeen geassocieerd met ouderdom, diabetes, hypertensie, obesitas en hart-en vaatziekten en worden vaak voorafgegaan door acute nierschade. Ongeacht de primaire oorzaak, worden chronische nierziekten gekenmerkt door progressieve fibrose die uiteindelijk leidt tot een onomkeerbaar verlies van nierparenchym en eindstadium nierfalen. De enige behandeling voor eindstadium nierfalen is dialyse en transplantatie. Een belangrijke mediator in het litteken proces is TGF- β (transforming growth factor- β), die activatie van fibroblasten en de productie van collageen bevordert. De schadelijke effecten van TGF- β kunnen worden tegengewerkt door HGF (hepatocyte growth factor) en BMP-7 (Bone morphogenetic protein-7). CD44 is een polymorfe groep van eiwitten die aanwezig is op de celmembraan van de meeste gewerkte cellen, zoals hematopoïetische, mesenchymale, epitheel en endotheel cellen. Meerdere isovormen van CD44 worden geproduceerd door alternatieve splicing van pre-mRNA. Het CD44-gen bevat 20 exonen, waarvan 10 exon varianten (v) die variabel kunnen worden ingebracht in het mRNA door alternatieve splicing. CD44 komt niet tot expressie in het parenchym van gezonde nieren, maar wordt snel opgereguleerd na nierschade, en dan met name op beschadigde proximale tubuli.

In **hoofdstuk 2** tonen we de betrokkenheid van CD44 aan in systemische en renale ontstekingsreacties na LPS injectie. CD44 expressie draagt bij aan de vroege afgifte van cytokinen in het bloed en de nieren, de migratie van leukocyten in het nierweefsel en de activatie van endotheel cellen in de nieren. Als gevolg daarvan, wordt de nierfunctie in muizen snel verstoord. Binding van liganden aan CD44 kan verschillende intracellulaire signalerings routes activeren, die de productie van cytokinen in de vroege reactie op LPS kunnen versterken. CD44 draagt echter ook bij aan immuun tolerantie in een vergevorderd stadium van endotoxische shock.

In **hoofdstuk 5** en **6** hebben we de functies van twee isovormen van CD44, CD44 standaard (CD44s) en CD44v3-v10 (CD44v3), in de progressie van chronische nierziekte bij muizen bestudeerd.

CD44s is de kortste en meest voorkomende isovorm, die alle variant exonen mist. CD44v3 is daarentegen een grotere isovorm die is gemodificeerd door de toevoeging van heparansulfaat ketens in het extracellulaire gebied.

Omdat CD44 isovormen worden opgereguleerd op proximale tubulus epitheel cellen na nier-schade, hebben we in **hoofdstuk 5** transgene muizen gebruikt, die CD44s of CD44v3 uitsluitend op proximale tubuli tot overexpressie brengen. De expressie van CD44s of CD44v3 door tubulaire cellen bleek in vitro de cellulaire reacties op TGF- β 1 of HGF / BMP-7 omgekeerd te moduleren. In het unilaterale ureter obstructie muizenmodel, beïnvloed de overexpressie van CD44s of CD44v3 op proximale tubuli de hoeveelheid nierschade en fibroblast activatie alleen op dag 1. Op latere tijdstippen is er echter geen verschil in schade en is het "wild-type CD44" sterk opgereguleerd in zowel wildtype als transgene muizen. Expressie van CD44s resulteerde in meer tubulaire schade en interstitieel oedeem, terwijl de aanwezigheid van CD44v3 geassocieerd was met minder myofibroblasten en verhoogde synthese van BMP-7.

In **hoofdstuk 6**, hebben we wild-type muizen en CD44 knockout/knockin muizen gebruikt die uitsluitend CD44s of CD44v3 tot expressie brengen. De expressie van CD44v3 verminderde tubulaire schade en apoptose, verhoogde proliferatie van tubulus epitheel cellen en voorkwam nier fibrose tijdens obstructieve nefropathie. Daarentegen leidde de expressie van CD44s tot meer tubulaire schade en apoptose van tubulus epithelieel cellen en tot meer nier fibrose. Vergeleken met CD44s knockin muizen, vertoonden CD44v3 knockin muizen hogere β -catenine expressie, hogere HGF productie en HGF/c-Met -signalering, en remming van de expressie van de receptor voor TGF- β 1 en de signalering stroomafwaarts van TGF- β 1 in de beschadigde nieren. Tot slot, tonen deze studies aan dat CD44s de TGF- β 1 pro-fibrotische effecten bevordert en dat CD44v3 beter de acties van regeneratieve beschermende stimuli ondersteunt.

In **hoofdstuk 3** en **4**, zijn TLR4 (Toll-like receptor 4) en TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells-1), twee componenten van de aangeboren immuniteit, onderzocht.

TLR4, dat constitutief in de nieren aanwezig is, werd samen met schade-geassocieerde liganden opgereguleerd na ligatie van de ureter. TLR4 signalering kan worden geactiveerd door endogene liganden die vrijkomen van stervende cellen en/of door de accumulatie van bepaalde componenten van de extracellulaire matrix. TLR expressie beschermt aanvankelijk tubulaire cellen van ernstige schade, maar bevordert later de ontwikkeling van nier fibrose. Het voorkomen van de opregulatie van Bambi is waarschijnlijk het mechanisme waarmee TLR4 het fibrotische proces in de nieren bevordert. Inderdaad, Bambi is een pseudoreceptor voor TGF- β en remmer van TGF- β signalering (**hoofdstuk 3**).

TREM-1 behoort tot een familie van aangeboren sensoren die aanwezig is op myeloïde cellen, en voor cel signalering afhankelijk is van het transmembraan adapter molecuul DAP12. Activering van de TREM-1/DAP12 route versterkt ontstekingsreacties en werkt in synergie en nauwe interactie met de intracellulaire signalen van verschillende TLR receptoren. Bij gezonde nieren komt TREM-1 niet tot expressie, terwijl in nieren die zijn beschadigd door hydronefrose TREM-1 op tubulus-interstitiële cellen te vinden is. De genexpressie van TREM-1 en DAP12 wordt in muizen

geleidelijk verhoogd tijdens obstructieve nefropathie, maar deze expressie heeft geen invloed op de renale verlittekening. In de gevorderde stadia van de nierziekte, lijkt DAP12 bij te dragen aan de omvang van nierontsteking aangezien er minder cytokinen en macrofagen in DAP-12-deficiënte muizen zijn 7 en 14 dagen na ureter obstructie. Deze effecten van DAP12 lopen gedeeltelijk via TREM-1 activatie gezien renale MCP-1 niveaus ook lager waren in TREM-1 knockout muizen (**hoofdstuk 4**).