UNIVERSITY OF AMSTERDAM

UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Small GTPases : emerging targets in rheumatoid arthritis

de Abreu, J.R.F.

Link to publication

Citation for published version (APA):
Ferreira de Abreu, J. R. (2009). Small GTPases : emerging targets in rheumatoid arthritis

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: http://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.

UvA-DARE is a service provided by the library of the University of Amsterdam (http://dare.uva.nl)

Download date: 25 Apr 2017

9

Nederlandse samenvatting

Samenvatting

Reumatoïde artritis (RA) is een chronische auto-immuunziekte; dit is een ziekte waarbij het afweersysteem zich tegen het eigen lichaam keert. Hierbij worden door chronische ontsteking de gewrichten van RA patiënten zo aangedaan dat er, zonder medisch ingrijpen, onherstelbare schade aan de gewrichten ontstaat. Dit gaat gepaard met hevige pijnen in de aangedane gewrichten. Ook kunnen de gewrichten door het chronische ontstekingsproces vervormd raken.
Momenteel zijn er goede medicijnen beschikbaar voor patiënten met RA, maar helaas hebben ze niet bij alle patiënten een voldoende effect. Bovendien krijgen patiënten soms last van ernstige bijwerkingen waardoor de behandeling moet worden beëindigd. Er is dus nog steeds behoefte aan nieuwe medicijnen waarmee ook patiënten die niet reageren op de huidige therapie behandeld kunnen worden. Momenteel vloeien veel nieuwe medicijnen voort uit onderzoek naar processen die zich afspelen in de cellen. Ook in cellen van RA patiënten blijken er allerlei processen anders te verlopen dan in cellen van gezonde personen. Een bepaalde groep moleculen, de zogenaamde kleine GTPases, lijkt een belangrijke rol in deze veranderde processen te spelen. Dit zal nader worden toegelicht in de volgende alinea's.

Kleine GTPases zijn belangrijke signaalmoleculen binnen het afweersysteem. Zij kunnen zich in twee toestanden bevinden: geactiveerd of inactief. Hun werkingsmechanisme is als volgt: wanneer een cel een signaal van buitenaf ontvangt, leidt dit tot voorbijgaande activatie van kleine GTPases; na deze activatie worden zij snel weer geïnactiveerd. Hierdoor wordt een signaal van buitenaf vertaald in een reactie binnen in de cel. Het is dan ook goed voor te stellen dat processen binnenin de cel anders verlopen wanneer kleine GTPases abnormaal functioneren. In dit proefschrift wordt de rol van specifieke kleine GTPases in het proces van ontsteking en gewrichtsbeschadiging geanalyseerd. Hiervoor werden zowel patiëntmateriaal als proefdiermodellen gebruikt.

Bevindingen van andere onderzoeksgroepen suggereren dat verschillende signaleringsprocessen in T cellen (een bepaald soort witte bloedcellen) die zich in de gewrichtsvloeistof van RA patiënten bevinden, verstoord zijn. Hierdoor zouden T cellen van RA patiënten minder goed in staat zijn te reageren wanneer ze worden geactiveerd via een belangrijk molecuul op hun oppervlak, de T cel receptor (TCR). Deze hypothese wordt ondersteund door het feit dat moleculen die het signaal van de TCR moeten doorgeven binnenin de cel (waaronder kleine GTPase Rap1) min-

der activiteit vertonen in T cellen uit gewrichtsvloeistof van RA patiënten. Wij laten echter in **hoofdstuk 2** zien dat uit gewrichtsvloeistof van RA patiënten geïsoleerde T cellen volledig normaal functioneren. Dit blijkt uit het feit dat ze gaan delen en verschillende soorten signaalstoffen (zogenaamde cytokines) gaan produceren wanneer ze worden geactiveerd via de TCR. Deze bevindingen lijken dus volledig in tegenspraak met de bevindingen van andere onderzoeksgroepen. De verklaring hiervoor ligt in het feit dat dit op een geheel nieuwe manier hebben onderzocht vergeleken met eerder onderzoek. In ons onderzoek toonden wij aan dat T cellen van RA patiënten meteen nadat zij uit het gewricht zijn afgenomen spontaan sterven (in apoptose gaan). De overlevende cellen produceren samen dus minder cytokines dan verwacht, maar omdat wij de opbrengst per cel konden meten lieten wij zien dat ze per cel een normale hoeveelheid cytokines produceren na activatie via de TCR. De sterke neiging tot apoptose blijkt samen te hangen met een verlaagde hoeveelheid Mcl-1 (een molecuul dat celdood remt) en een verhoogde hoeveelheid Noxa (een molecuul dat celdood stimuleert) in T cellen uit het gewricht van RA patiënten.

Zoals hierboven al kort genoemd werd, is Rap1 activatie in T cellen uit de gewrichtsvloeistof van RA patiënten verminderd of zelfs geblokkeerd. In **hoofdstuk 3** hebben we daarom getest of een gemuteerde vorm van Rap1 die continu actief is artritis kan voorkómen. Hiervoor gebruikten wij een proefdiermodel met genetisch gemanipuleerde muizen die een continu actieve vorm van Rap1 in hun cellen hebben. In deze muizen probeerden wij artritis te veroorzaken door ze in te spuiten met collageen (dit proefdiermodel wordt vaak gebruikt om RA na te bootsen). Het bleek inderdaad dat deze muizen beschermd waren tegen het krijgen van artritis en dat wanneer zij de ziekte wel kregen deze veel minder ernstig verliep. Dit ging gepaard met verminderde productie van een ontstekings-bevorderend cytokine (TNF-α). Bovendien bleken T cellen van deze muizen minder goed in staat hulp te bieden aan B cellen, waardoor deze minder artritis-bevorderende antilichamen produceerden.
Hiermee laten wij zien dat het beloop van RA mogelijk kan worden beïnvloed door medicijnen te ontwikkelen die Rap1 activatie in T cellen van RA patiënten bewerkstelligen.

Het lijkt dus alsof inactivatie van Rap1 cruciaal is voor het ontstaan van artritis. Inactivatie van Rap1 gebeurt door GTPase-inactiverende eiwitten, in het Engels ook wel GAPs genoemd. Voor ieder klein GTPase zijn er specifieke GAPs; voor Rap1 zijn dit er vijf. Wij keken daarom in **hoofdstuk 4** wat er gebeurt met deze GAPs na stimulatie van T cellen via de TCR. Allereerst blijkt dat de vijf Rap1-GAPs verschil-

lend reageren op TCR stimulatie: van sommige (zoals Spa-1) neemt de concentratie in de cel toe, terwijl deze van andere juist afneemt. Hoewel nog niet geheel duidelijk is wat de exacte rol van ieder van de vijf Rap1-GAPs in de inactivatie van Rap1 is, is het wel voor te stellen dat het manipuleren van ieder van deze GAPs uiteenlopende gevolgen kan hebben. Door in de toekomst nader te bestuderen wat het exacte effect van ieder van deze GAPs op Rap1 activatie is, zou bekeken kunnen worden welke van deze GAPs een mogelijke rol speelt in RA of andere ziekten waarin Rap1 geïnactiveerd is. Hopelijk wordt het met die verworven kennis in de toekomst mogelijk specifieke medicijnen te ontwikkelen die aangrijpen op een van de Rap1-GAPs.

De activatie van kleine GTPases wordt verricht door zogenaamde guanine nucleotide uitwisselingsfactoren, in het Engels afgekort tot GEFs. Naast GAPs zouden veranderingen in activiteit van GEFs dus ook een rol kunnen spelen in het ziekteproces van RA. In **hoofdstuk 5** onderzochten wij een van de GEFs die betrokken is bij activatie van klein GTPase H-Ras, RasGRF1. Wij keken hierbij naar de expressie van RasGRF1 in weefsel afkomstig uit gewrichten van RA patiënten en in specifieke cellen uit het gewricht, de zogenaamde fibroblast-achtige synoviocyten (FLS). RasGRF1 bleek in duidelijk verhoogde concentratie aanwezig te zijn in het gewrichtsweefsel van RA patiënten. Bovendien bevindt het zich op dezelfde plek in het gewricht als twee gewrichtsbeschadigende enzymen, matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) en MMP-3. Vervolgens bevestigden wij in celkweken van FLS dat via RasGRF1 de productie van MMP-3 is te reguleren. Hiermee toonden wij aan dat, naast manipulatie van GAPs, ook manipulatie van GEFs een interessante optie is voor het ontwikkelen van nieuwe behandelingen voor RA.

Tot slot werd een ander belangrijk klein GTPase in RA, Rac1 onderzocht in **hoofdstuk 6**. Het is bekend dat Rac1 veel van de cellulaire processen reguleert die essentieel zijn voor het in stand houden van de ontsteking en de uiteindelijke beschadiging van het bot in gewrichten van RA patiënten. Daarom onderzochten wij wat het effect zou zijn van het toedienen van een klein eiwit (peptide) dat Rac1 remt op de ontwikkeling van artritis bij proefdieren. Tijdens deze experimenten bleek dat proefdieren die met het Rac1 remmende peptide behandeld waren minder gezwollen gewrichten hadden en minder artritisbevorderende antilichamen in het bloed hadden dan proefdieren die niet behandeld waren met het peptide. Er was echter geen effect op beschadiging van het bot in de gewrichten. Deze resultaten suggereren dat er een gunstig effect op artritisbevorderende antilichamen bereikt zou kunnen worden door patiënten met RA te behandelen met een Rac1 remmend peptide. Daarnaast

zou kunnen worden onderzocht of simultane remming van een ander GTPase, Rac2, een sterker anti-artritis effect heeft dan alleen remming van Rac1.

De in dit proefschrift beschreven experimenten tonen aan dat kleine GTPases de activering van cellen en de ontsteking in gewrichten van RA patiënten en in proefdiermodellen voor artritis reguleren. Daarmee zijn kleine GTPases interessante doelwitten voor de ontwikkeling van nieuwe behandelingen voor RA. Toekomstige studies moeten uitwijzen of er inderdaad een rol is weggelegd voor stoffen als het Rac1 remmende peptide in de behandeling van RA.