



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Basic and clinical aspects of mucosal inflammation and healing in Crohn's disease

Gao, Q

Citation

Gao, Q. (2005, February 1). *Basic and clinical aspects of mucosal inflammation and healing in Crohn's disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/850>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/850>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting

In dit proefschrift staan studies beschreven naar immunopathogenetische aspecten van chronische darmontstekingen (IBD), bestaande uit de ziekte van Crohn (CD) en colitis ulcerosa (UC), evenals naar werkingsmechanismen van infliximab, een antilichaam gericht tegen tumor necrosis factor (TNF)- α , dat wordt gebruikt bij de behandeling van CD. Drie groepen van factoren werden met name bestudeerd: fibroblast-groefactor (bFGF) met receptoren, gelatinase-type matrix-metalloproteïnasen (MMPs) en TNF- α , die allen worden gedacht belangrijke mediators te zijn in de mucosale processen bij IBD (**Hoofdstuk 1**). De volgende bevindingen werden gedaan:

1. Het driedelige complex van bFGF-FGFR-syndecan-1 is actief betrokken bij de ontstekings- en genezingsprocessen van de darmmucosa bij IBD. Een verschuiving in de expressie van het bFGF-FGFR-syndecan-1 complex werd waargenomen, zowel op het niveau van eiwit als mRNA, van rijpe epitheelcellen in normaal weefsel naar cellen in de lamina propria bij IBD weefsel, met name op plaatsen met meer ontsteking (**Hoofdstuk 2**). Deze verandering in de voornaamste localisatie van het bFGF-complex wordt gedacht gerelateerd te zijn aan gecoördineerde herstelmechanismen, zoals angiogenese, weefsel heropbouw, cel-cel en cel-matrix interactie in de darmmucosa.

2. Genezing van de fistelende-perianale vorm van CD wordt weerspiegeld door een daling van de verhoogde bFGF spiegel in het serum, met name samenhangend met behandeling middels infliximab (anti-TNF- α). Daarentegen komt het effect van deze behandeling bij patiënten met een actieve CD niet in de serum bFGF spiegel tot uiting. Deze bevindingen bevestigen dat bFGF, in samenspel met TNF- α , een belangrijke rol speelt in het ontstekings- en weefselherstelproces bij patiënten met het fistelende fenotype van CD (**Hoofdstukken 3 en 4**).

3. Experimenten *in vitro* maakten duidelijk dat LPS de expressie van bFGF reguleert, op het niveau van transcriptie (mRNA) en/of post-transcriptioneel (eiwit), in leukocyten van patiënten met CD en van gezonde vrijwilligers. De transcriptieregulatie van bFGF bleek voor een groot gedeelte tot stand te komen onder invloed van TNF- α , zoals werd geïllustreerd door het belemmerende effect van infliximab (**Hoofdstuk 4**).

4. De meting van TNF- α door middel van immunologische bindingsbepalingen wordt ernstig gestoord door infliximab. De aanwezigheid van infliximab heeft echter geen invloed op de capaciteit van perifere bloedcellen om TNF- α te maken (**Hoofdstuk 5**).

5. Uitgebreide weefselanalyse toonde aan dat de hoeveelheden MMP-2 en MMP-9 aanzienlijk verhoogd zijn in en derhalve actief betrokken lijken te zijn bij de processen die een rol spelen bij de ontsteking en het opnieuw vormen van darmmucosa in IBD. MMP-2 bleek deel te nemen aan de processen in het steunweefsel, terwijl MMP-9 hoofdzakelijk samen leek te gaan met het door leukocyten onderhouden ontstekingsproces (**Hoofdstuk 6**).

6. Een verhoogde uitscheiding van MMP-9 door bloedcellen van patiënten met CD bleek na LPS stimulatie onafhankelijk te zijn van TNF- α inhibitie door infliximab. De aanzet tot MMP-9 mRNA transcriptie in bloedcellen, na een langere blootstelling aan LPS, was echter wel afhankelijk van TNF- α (**Hoofdstuk 7**).

7. Behandeling van CD patiënten met infliximab leidde tot een tegenovergestelde verandering in de serum spiegels van MMP-2 en MMP-9, d.w.z. een toename in MMP-2 en een afname in MMP-9, van deze laatste ook in het darmweefsel. Deze veranderingen waren echter niet eenduidig gerelateerd aan de klinische respons, d.w.z. verbetering, op de behandeling met infliximab (**Hoofdstuk 7**).

De hierboven beschreven bevindingen zouden kunnen bijdragen aan een beter begrip van de functie van proteolytische enzymen en immunologische regulatoire peptiden in het pathologische proces bij chronische darmontstekingen. De *in vitro* en *in vivo* studies met infliximab geven bovendien een beter inzicht in de werkingsmechanismen van immunologische therapie gericht tegen dit pro-inflammatoire cytokine bij de ziekte van Crohn.

克隆氏病肠粘膜炎症和愈合的基础和临床研究

高 强

博士导师: Cornelis B.H.W. Lamers

拉莫斯

Hein W. Verspaget

费斯帕尔赫特

二零零五年二月

于荷兰莱顿大学医学中心消化科

摘 要

本论文集汇集了我们对炎症性肠病，即克隆氏病（Crohn's disease）和溃疡性结肠炎的免疫病理研究和抗肿瘤坏死因子（TNF）- α 抗体（Infliximab）应用于克隆氏病的作用机理的研究结果。我们集中研究了三组与炎症性肠病粘膜关系密切的因子：碱性成纤维细胞生成因子（bFGF）及其受体，胶原蛋白酶型金属蛋白酶（MMP）和肿瘤坏死因子（第一章）。下面是我们的研究结果：

1. bFGF 及其受体 FGFR-1 和 Syndecan-1 活跃地参与炎症性肠病肠粘膜炎症和愈合过程。在蛋白质和 mRNA 水平上，bFGF-FGFR-Syndecan-1 复合体的表达表现为从正常成熟肠上皮组织向炎症性肠病肠固有膜细胞的转移，尤其在炎症部位表现突出（第二章）。这种 bFGF 复合体的部位上的转移与肠粘膜愈合机理有关：比如新血管生成，组织再生，细胞与细胞和细胞与间质的相互作用。

2. 在 **Infliximab** 治疗的克隆氏病病人的瘻管愈合过程中，反映在血清高水平 **bFGF** 的下降。相对照的血清 **bFGF** 水平与活动性克隆氏病对于 **Infliximab** 的临床反应无关。这些结果更加肯定 **bFGF**，与 **TNF- α** 协同在带有瘻管的克隆氏病的炎症和组织修复过程中扮演一定的角色（第三、四章）。
3. 体外实验进一步证实脂多糖（**LPS**）在转录水平上（**mRNA**）和/或转录后水平上（蛋白质）调节 **bFGF** 在克隆氏病病人和健康者的白细胞的表达。转录水平的表达在很大程度上是被 **TNF- α** 所介导的，因为 **Infliximab** 可以干扰这种调节（第四章）。
4. 免疫吸附法测定 **TNF- α** 严重地被 **Infliximab** 干扰。然而 **Infliximab** 的存在不影响周围血细胞产生 **TNF- α** （第五章）。
5. 深入的组织分析表明 **MMP-2** 和 **MMP-9** 在炎症性肠病肠粘膜显著增高。这些酶积极参与炎症性肠病的炎症过程和组织再塑过程。**MMP-2** 参与基质反应过程；而 **MMP-9** 主要与白细胞介导的炎症过程有关（第六章）。
6. 受 **LPS** 刺激的增高的 **MMP-9** 在克隆氏病病人白细胞的分泌与 **Infliximab** 中和 **TNF- α** 无关；然而较长时 **LPS** 刺激的 **MMP-9 mRNA** 在白细胞转录的诱导是 **TNF- α** 依赖的（第七章）。
7. **Infliximab** 治疗克隆氏病引起血清 **MMP-2** 和 **MMP-9** 水平反相变化，即 **MMP-2** 水平上升而 **MMP-9** 水平下降，后者在肠组织也表现为下降。然而，这些变化与药物的治疗效果无严格关系（第七章）。

这些观察结果可以帮助理解水解蛋白酶和免疫调节多肽在炎症性肠病中的作用。另外，体内和体外的 **Infliximab** 实验研究为进一步探讨抗炎性细胞因子的克隆氏病免疫治疗提供了依据。