



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Redirecting TGF- β signaling pathways: advancing targeted therapy for PAH and FOP

Wits, M.

Citation

Wits, M. (2025, November 20). *Redirecting TGF- β signaling pathways: advancing targeted therapy for PAH and FOP*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4283298>

Version: 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/1887/4283298>

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

Nederlandse samenvatting

TGF- β signaaltransductie routes omleiden:
Nieuwe gerichte therapieën voor PAH en FOP

Achtergrond

Voor het gezond functioneren van het lichaam staat elk weefsel in een balans van cellulaire, moleculaire en biochemische processen. Binnen de cellulaire processen zijn celdood, celdeling, differentiatie en migratie van belang. Bijvoorbeeld na beschadiging van weefsel, zoals door een ontsteking, worden de beschadigde cellen opgeruimd door celdood, en komen er nieuwe cellen bij door celdeling, migratie en differentiatie van stamcellen. Deze processen worden aangestuurd door signalen van binnen en buiten de cel. In dit promotieonderzoek bestuderen we signaaltransductie. We bestuderen 1) hoe cellen bepaalde signalen uit hun omgeving waarnemen, 2) wat er dan biochemisch binnen de cel gebeurt en 3) hoe de cellen functioneel hierop reageren. Dit is belangrijk omdat signaaltransductie soms uit balans is, waardoor allerlei ziektes ontstaan, zoals kanker, fibrose, botziekten en hart- en vaatziekten.

Als we begrijpen wat er misgaat binnen de signaaltransductie bij een ziekte, dan kunnen we deze mogelijk genezen door de balans ook weer te herstellen. Op deze wijze proberen we in dit onderzoek nieuwe therapieën te vinden voor de hart- en vaatziekte Pulmonale arteriële hypertensie (PAH) en de zeldzame botziekte *Fibrodysplasia ossificans progressiva* (FOP). Voor beide ziektes bestaat nog geen goede behandeling.

Introductie en onderzoekshypothese

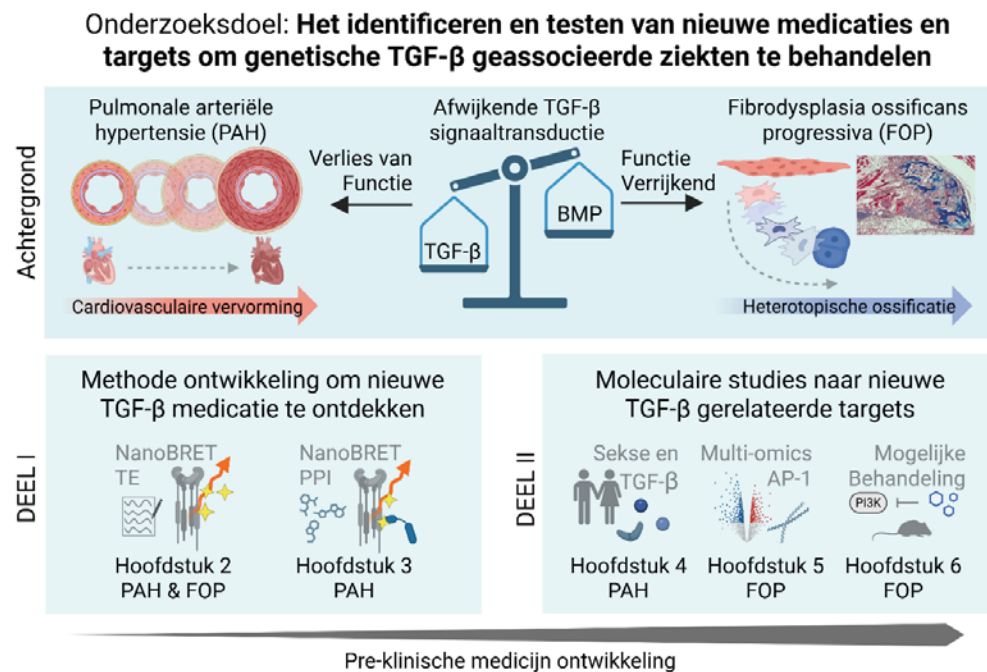
De *Transforming growth factor-β* (TGF-β) signaaltransductie familie is een erg belangrijk signaaltransductie pad omdat het verschillende processen reguleert, inclusief weefsel ontwikkeling en homeostase. Binnen de TGF-β familie maken we onderscheid tussen TGF-β en *Bone morphogenetic protein* (BMP) signaaltransductie. Voor een uitgebreide moleculaire uiteenzetting van de TGF-β signaaltransductie beginselen, zie **hoofdstuk 1**. Zowel de TGF-β als de BMP transductiepaden houden elkaar in balans door *downstream* competitie- en feedback mechanismen. Als deze balans er niet meer is, door bijvoorbeeld mutaties in receptoren of overproductie van liganden, kan dit onder andere leiden tot Pulmonale arteriële hypertensie (PAH) of *Fibrodysplasia ossificans progressiva* (FOP).

PAH is een zeldzame aandoening met een prevalentie van 16-29 per 1 miljoen mensen in Nederland. PAH wordt gekenmerkt door vernauwingen van het longvaatbed in de pulmonale circulatie waardoor het rechter hartventrikel moet overcompenseren om het bloed door de longen te kunnen pompen. Deze dodelijke ziekte leidt uiteindelijk tot rechter hartfalen. In sommige gevallen kunnen patiënten in aanmerking komen voor een longtransplantatie, maar verder is er nog geen genezende behandeling. Genetische predispositie in genen behorende tot de BMP familie, zoals *BMPT2* mutaties, kan PAH veroorzaken. Ook bij patiënten zonder mutaties heeft de BMP signaaltransductie een verminderde functie. Omdat hierdoor de BMP – TGF-β balans wordt verstoord zien we dat het TGF-β effect functioneel is verhoogd, wat leidt tot vaatveranderingen in de longen.

FOP is een ultra zeldzame genetische ziekte met een verwachte prevalentie van 1 per miljoen mensen wereldwijd. In patiënten met FOP groeit er botweefsel in spieren, pezen, gewrichtsbanden of ander bindweefsel. Dit proces van botgroei buiten het normale skelet noemen we heterotopische ossificatie. Dit gebeurt door pijnlijke ontsteking-gedreven

inflammatoire episodes ook wel ‘*flare-ups*’ genoemd, resulterende in progressieve onbeweeglijkheid. Deze patiënten zijn vaak al vroeg in het leven rolstoelafhankelijk en kunnen overlijden door thoracaal insufficiëntie syndroom: een vastzittende borstkas. De enige behandeling is symptoombestrijding, met ontstekingsremmers tegen *flare-ups*. FOP wordt veroorzaakt door functie verrijkende mutaties in *ACVR1*, een BMP receptor. Deze mutatie zorgt, in samenspel met een inflammatoire omgeving, voor een verhoogde activiteit van het BMP signaaltransductie pad. Hierdoor hebben bindweefsel-stamcellen geen normale regeneratieve ontstekingsreactie meer, maar differentiëren ze naar kraakbeen- en botcellen.

De hypothese van dit promotieonderzoek luidt dat we nieuwe therapeutische behandelingen kunnen vinden voor PAH en FOP doormiddel van het gericht herstellen van de TGF- β signaaltransductie routes. Dit willen we bereiken door nieuwe laboratoriummethodes te ontwikkelen om gerichte medicijnen tegen TGF- β signaaltransductie te vinden (deel I), en tegelijkertijd de moleculaire transductie routes ten grondslag aan de ziekteontwikkeling willen begrijpen om zo nieuwe te behandelen eiwitten, ook wel *targets* genoemd, te ontdekken (deel II). Deze twee delen zijn respectievelijk onderverdeeld in twee hoofdstukken over methode en medicijnontwikkeling en drie hoofdstukken over nieuwe moleculaire *targets* en behandelingen (figuur 1).



Figuur 1. Een schematisch overzicht van de achtergrond en onderzoeksdoelen met bijbehorende structuur van het proefschrift. Pulmonale arteriële hypertensie (PAH) ontstaat door vernauwing en vervorming van het longvaatbed, resulterende in rechter hartfalen. Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) is gekenmerkt door het ontstekings-geïnduceerd differentiëren van bindweefsel-stamcellen naar kraakbeen- en botweefsel wat zorgt voor onbeweeglijkheid. Beide ziektes zijn gedreven door moleculaire verstoringen in het TGF- β signaaltransductie pad. Zoals ook in

Figuur 1. (vervolg)

hoofdstuk 1 wordt geïntroduceerd, heeft dit promotieonderzoek als doel nieuwe therapieën te ontdekken en te testen voor PAH en FOP door gerichte behandeling van TGF- β gerelateerde signaaltransductie routes.

De belangrijkste bevindingen uit dit proefschrift

Om nieuwe medicaties te identificeren die de TGF- β signaaltransductieroute moduleren hebben we in **hoofdstuk 2 en 3** nieuwe moleculaire methodes ontwikkeld. Er wordt gebruik gemaakt van NanoBRET technologie waarbij specifiek de interactie tussen de TGF- β receptoren en interactoren, zoals kleine moleculen, gemeten kunnen worden. De verscheidenheid aan TGF- β receptoren hebben we hierin meegenomen, waardoor we in brede zin nieuwe medicaties kunnen testen die aan TGF- β receptoren binden. We maken onderscheid in de methodiek tussen het meten van *target engagement* (TE) van TGF- β receptor met chemische moleculen en het meten van eiwit-eiwit interacties (PPI) tussen TGF- β receptoren. Verschillend tussen beide methodes is dat bij TE alleen inhibitie gemeten wordt, en bij PPI zowel inhibitie als activatie. De TE techniek is gebruikt in **hoofdstuk 6** om de specificiteit van een nieuwe medicatie tegen FOP te testen en in **hoofdstuk 3** om een drugsscreen toe te passen om nieuwe remmers te vinden tegen PAH.

Tegelijkertijd hebben we nieuwe ziekte-specifieke targets geïdentificeerd en onderzocht. Zo hebben we in **hoofdstuk 4** een uitgebreide literatuurstudie gedaan om te achterhalen hoe sekseverschillen zoals hormonen en genetica effect hebben op TGF- β signaaltransductie in PAH. We concludeerde dat hormonen zoals oestrogeen en testosteron de expressie en functie van de TGF- β familie zoals BMPR2 en SMAD kunnen veranderen, waardoor we nu beter begrijpen hoe epidemiologische sekseverschillen in PAH ontstaan. Daarnaast heeft deze studie bijgedragen aan het begrip van hoe we deze hormonale targets kunnen behandelen om de ziekteontwikkeling tegen te gaan.

In **hoofdstuk 5** gebruiken we *proteomics* en *transcriptomics* om een uitgebreid overzicht te krijgen van het moleculaire profiel in FOP. We hebben gevonden dat de eiwitten behorende tot de AP-1 transcriptie factor familie bijdragen aan de pathologische differentiatie van FOP stamcellen, en stellen we voor om een medicijn te gebruiken welke AP-1 functioneel remt. Ook hebben we gevonden dat eiwitten die belangrijk zijn bij de mechanische stimulatie van cellen, zoals mTOR en YAP1, een centrale rol spelen in dit moleculaire profiel van FOP. Deze studie is hierdoor een goede basis voor vervolgstudies welke AP-1, mTOR of YAP1 gebruiken als target voor nieuwe medicaties.

Zo hebben we in **hoofdstuk 6** een medicijn genaamd BYL719 gebruikt om het transductiepad van PI3K α - mTOR te remmen en daardoor heterotopische ossificatie in FOP te blokkeren. Belangrijke eigenschappen van dit medicijn zijn getest, zoals de target specificiteit en de functionele effecten op verschillende cellen; zowel *in vitro* als in een FOP-muismodel. Zo concludeerde deze studie dat BYL719 de inflammatie verlaagd, de differentiatie van mesenchymale stamcellen reduceert én zo heterotopische ossificatie blokkeert. Mogelijk kan deze medicatie een nieuwe behandeling vormen voor patiënten met FOP.

Samengevat hebben we op twee verschillende manieren gezocht naar nieuwe therapieën tegen PAH en FOP: 1) door methodeontwikkeling en drugscreening, en 2) ziekte-specifieke target identificatie. In de algemene discussie van **hoofdstuk 7** wordt ingegaan op toekomstige verbeteringen en studiemogelijkheden om onderzoek naar PAH en FOP nog verder te brengen. Dit proefschrift draagt hiermee bij aan de ontwikkeling van nieuwe therapieën om PAH en FOP patiënten beter te behandelen.