

University of Groningen

Functional and clinical translation of asthma and allergy associated genetic variants in IL33 and IL1RL1

Ketelaar, Marlies

DOI:

[10.33612/diss.171580070](https://doi.org/10.33612/diss.171580070)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Ketelaar, M. (2021). *Functional and clinical translation of asthma and allergy associated genetic variants in IL33 and IL1RL1*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.171580070>

Copyright

Other than for strictly personal use, 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), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Chapter 11



Dutch summary | Nederlandse samenvatting



Inleiding

Wat goed dat u zo ver bent gekomen ☺, of misschien bent u wel direct doorgegaan naar dit hoofdstuk om een beeld te krijgen van de inhoud van dit proefschrift.

In dit proefschrift hebben we een vertaalslag willen maken van basaal-wetenschappelijk onderzoek naar toepassingen voor de patiënt. Hierbij hebben we een reis gemaakt van genetische associatie-studies, via functionele studies naar klinische studies. Het doel van deze reis was om genetische variatie die met astma en allergie geassocieerd is te begrijpen en te kunnen plaatsen in de mechanismen die leiden tot astma en allergie. Door opheldering van specifieke mechanismen die tot astma en allergie kunnen leiden, kunnen we dan vervolgens een brug slaan naar de kliniek door bepaalde biomarkers te selecteren die ziekte kunnen voorspellen, en wellicht ook bepaalde aangrijpingspunten te kunnen vinden om aan te pakken; en daarmee potentieel ziekte te remmen, te behandelen of misschien zelfs te genezen.

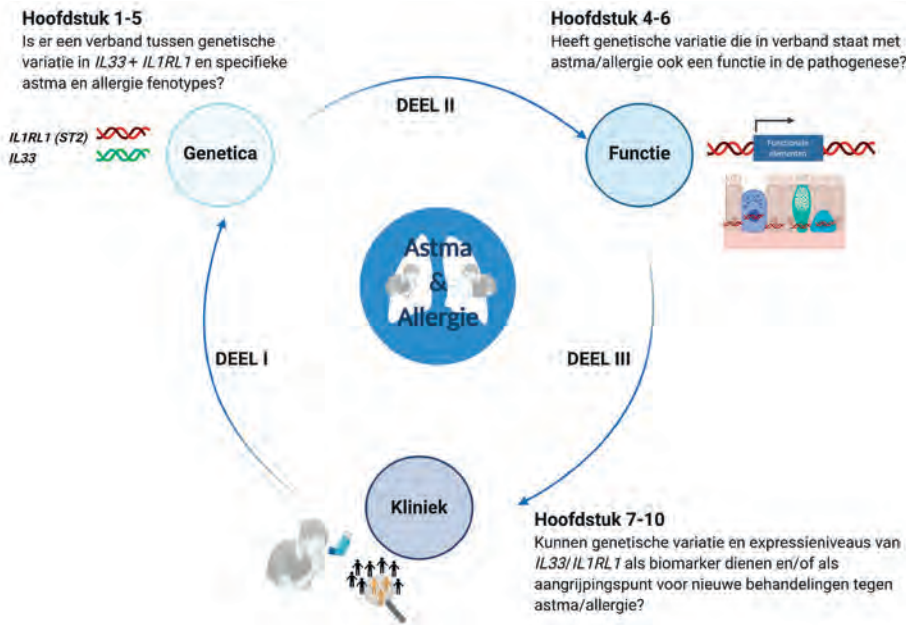
Hierbij hebben we specifiek de nadruk gelegd op 2 genen die betrokken zijn bij de ontwikkeling van astma en allergie. Dit zijn de genen coderend voor 'Interleukine-33' (IL-33) en Interleukine-1-Receptor-Like1 oftewel 'IL-1RL1' ook wel ST2 genoemd. IL-33 is een signaalstof belangrijk in ons afweersysteem, IL-1RL1 de receptor (het doeleiwit) waaraan IL-33 kan binden op bepaalde cellen en daarmee een cascade aan afweerreacties op gang kan brengen. Deze cascade aan reacties zou in bepaalde mensen kunnen leiden tot chronische ontsteking; als het in de luchtwegen plaatsvindt tot (allergisch) astma, als het in de huid voor komt mogelijk tot (allergisch) eczeem en in het maag/darmstelsel tot voedselallergie. Wat we tot nu toe nog niet precies begrijpen is waarom sommige mensen wel deze chronische ontstekingsreactie krijgen, en dus risico lopen op astma en allergie, en waarom anderen daar geen last van hebben. Goed om te noemen op dit punt is dat voor astma en allergie heel veel verschillende genen en omgevingsfactoren een rol hebben bij de ontwikkeling van deze aandoeningen; niet één factor is de boosdoener, maar een opeenstapeling aan factoren. We weten dat bepaalde genetische factoren bijdragen aan het risico op astma en allergie, zoals de genen coderend voor IL-33 en IL-1RL1. Maar het zou zo kunnen zijn dat deze genetische variatie ook mechanistisch een rol speelt in het ontwikkelen van astma en allergie. Hiermee bedoelen we dat de erfelijke variatie leidt tot een verandering en hoeveelheid of aard van het eiwit, zodat sneller astma en allergie ontstaat. Dit proefschrift richt zich specifiek op de vraag hoe deze twee genetische factoren mechanistisch kunnen bijdragen aan de ontwikkeling van astma en allergie. Met het idee dat het onder de loep leggen van een bepaald onderdeel van de pathogenese (mechanisme) van een aandoening weer meer begrip van totale plaatje kan opleveren en zelfs kan leiden tot het vinden van aangrijpingspunten voor nieuwe medicatie. Daarnaast is tot nu toe in studies naar astma en allergie veelal alleen gekeken naar het 'algemene begrip' astma en/of allergie, als paraplueterm. Terwijl we weten dat er vele subtypes astma en allergie zijn, maar ook dat er mogelijk verschillende subtypen kunnen zijn o.b.v. verschillende onderliggende mechanismen. Daarom kijken we in dit proefschrift ook juist naar specifieke subtypes van astma en allergie, omdat IL-33 en IL-1RL1 wellicht relevant zouden kunnen zijn in het mechanisme van het ene, maar wellicht niet in dat van het andere subtype.



Meer formeel benoemd, dit proefschrift bekijkt: of en hoe genetische variatie in IL33 en IL1RL1 functioneel van belang is in cellen en weefsel betrokken bij de biologische mechanismen onderliggend aan specifieke subtypes van astma en allergie. Hiermee denken we dat IL-33 en IL-1RL1 potentieel kunnen fungeren als 1) biomarkers cq. voorspellers van astma en allergie subtypes; 2) targets om gerichte nieuwe strategieën te vinden in de behandeling van astma en allergie subtypes.

Waarover gaat dit proefschrift?

Deel I (hoofdstuk 1-3) van dit proefschrift behandelt de stand van zaken in de literatuur waarin ik beschrijf wat reeds bekend was over de genetische associatie tussen IL33 en IL1RL1 en astma/allergie voorafgaand aan onze studies, tevens introduceert deel I de relevante functionele kennis onderliggend aan astma en allergie als basis voor de rest van dit proefschrift. Deel II (hoofdstuk 4-6) omvat onze studies over de associatie van genetische variatie van IL33 en IL1RL1 met specifieke subtypes van allergie en astma. Tevens belicht het onze zoektocht naar die genetische variatie die mogelijk functioneel van belang kan zijn voor de pathogenese van astma en allergie subtypes. In deel II beschrijven we dan ook onze functionele studies in longcellen en immuuncellen om na te gaan hoe IL-33 en IL-1RL1 daarin een rol hebben. Deel III (hoofdstuk 7-9) reist dan verder af naar klinische toepassing: kan genetische variatie in IL33 en IL1RL1 en kunnen de eiwitten IL-33 en IL-1RL1 fungeren als voorspeller van astma subtypes en van bepaalde allergische fenotypes, zoals astma bij kinderen en voedselallergie? Deel IV (hoofdstuk 10) slaat dan het pad in hoe IL-33 en IL-1RL1 targets kunnen zijn om nieuwe medicijnen in de behandeling van astma en allergie subtypes te ontwikkelen, en beschrijft de huidige ontwikkeling van farmaceutische bedrijven, waar ons onderzoeksinstituut GRIAC ook bij betrokken is.



Samenvatting van de resultaten

Hoofdstuk 1 van dit proefschrift introduceert de definities van astma en allergie en het belang van het onderscheid van subtypes, waarbij zowel klinische karakteristieken meegenomen dienen te worden in de definitie als wel moleculaire eigenschappen zoals aanwezigheid van bepaalde immuuncellen en signaalstoffen. Duidelijk wordt dat we niet meer spreken over astma, maar eerder over subtypes (soorten) astma.

In hoofdstuk 2 beschrijven we de genetische varianten in IL33 en IL1RL1 die tot dusver gevonden zijn in associatie met astma en allergie. IL33 laat met name ziekte-geassocieerde genetische variatie zien welke buiten het coderende deel van het gen ligt, waardoor dit mogelijk betrokken kan zijn bij de regulatie van de hoeveelheid afschrijving van IL33 (expressie). De IL1RL1 genetische variatie geassocieerd met astma en allergie ligt zowel buiten als in het coderende deel van het gen. Hiermee zouden er zowel stukjes genetische variatie kunnen zijn die van invloed zijn op de expressie van IL1RL1 als wel op het (eiwit) coderende deel van het gen, waardoor er bij dit eiwit deels andere aminozuren worden gebruikt, waardoor mogelijk de functie verandert. Dus, de hoogte van expressie van IL1RL1 kan ontregeld zijn in astma en allergie bij dragers van bepaalde IL1RL1 genotypes, als ook de manier van signalering/werking van de receptor zelf. Wat we verder beschrijven in hoofdstuk 2 is dat er van IL-1RL1 bekend is dat er verschillende varianten van de receptor bestaan, die elk een andere rol in de (patho)fysiologie van een systeem kunnen hebben. Grofweg lijken er 2 relevante varianten: een lange variant (IL-1RL1b of ST2L) die op cellen aanwezig is en waaraan IL-33 kan binden om een cascade aan immunoreacties uit te lokken. En een korte variant (IL-1RL1a of sST2) die oplosbaar 'los' aanwezig is buiten de cel, en daarmee kan binden aan IL-33 om deze weg te vangen en zo een afweerreactie uit te doven. De balans tussen de hoeveelheid kort en lang IL-1RL1 lijkt dan relevant voor de balans van het afweersysteem; meer IL-1RL1a (sST2) vermindert een ontstekingsreactie, meer IL-1RL1b faciliteert een ontstekingsreactie. De balans tussen deze beide kan verstoord zijn in astma en allergie, mogelijk gerelateerd aan bepaalde genetische variatie in IL1RL1.

In hoofdstuk 3 beschrijven we dan de potentiële rol van IL-33/IL-1RL1 signalering in bepaalde typen afweercellen, de zogenaamde mestcellen, die ook in de luchtwegen en huid, plus maagdarmkanaal te vinden zijn, en op die manier kunnen bijdragen aan een chronische ontstekingsreactie onderliggend aan respectievelijk astma, eczeem en voedselallergie.

In hoofdstuk 4 (IL33) en hoofdstuk 5 (IL1RL1) ondernemen we de taak om dieper in te gaan op de genetische variatie in IL33 en IL1RL1 die geassocieerd is met astma. Als eerste voeren we een genetische associatie uit met specifieke subtypes van astma, als tweede ontrafelen we onafhankelijk genetische signalen die mogelijk aparte functionele consequenties voor de werking van IL33 en IL1RL1 hebben. Opvallend is dat we voor zowel IL33 als IL1RL1 een sterke associatie vinden van genetische variatie met specifiek ernstig eosinofiel astma. Dit is een subtype van ernstig astma waarbij grote hoeveelheden van een bepaald type immuuncel aanwezig is; de eosinofiel. Dit is een immuuncel die, zodra geactiveerd, grote hoeveelheden stoffen uitscheidt in de omgeving van de cel bedoeld om lichaamsvreemde stoffen af te breken (zoals allergenen, virussen etc) maar daarbij tegelijk alarmstoffen uitscheidt die het



afweersysteem activeren. Het lijkt erop dat mensen met een bepaald genetisch profiel in IL33 en IL1RL1 een verhoogde kans hebben om astma te ontwikkelen waarbij de eosinofiel in groot getale aanwezig is om een ontstekingsreactie te verzorgen. Verder blijkt uit hoofdstuk 4 dat voor IL33 de genetische variatie die geassocieerd is met eosinofiel astma, met name geassocieerd is met verhoogde expressie van IL33 in de bekleedende cellen van de luchtweg.

Dit, terwijl in hoofdstuk 5 genetische variatie in IL1RL1 die geassocieerd is met verhoogde kans op het ontwikkelen van eosinofiel astma juist gerelateerd is aan verlaagde aanwezigheid van de oplosbare/korte variant van IL-1RL1. Daarnaast vonden we genetische variatie in het deel coderend voor de lange variant van IL1RL1 die een verandering teweeg bracht in de signaleringsactiviteit van deze receptor: genetische variatie die geassocieerd was met (eosinofiel) astma leidde tot verhoogde activiteit van deze lange vorm van de receptor. Daarmee lijkt het er dus op dat in mensen met een bepaald genetisch profiel er meer IL-33 als signaalstof is en minder van de ontstekings-onderdrukkende korte receptor en een verhoogde signaleringsactiviteit van de lange receptor. Daarmee mogelijk bijdragend aan een chronische ontstekingsreactie in de luchtwegen uitgelokt door IL-33.

In hoofdstuk 6 keken we naar een ander type immuuncel die mogelijk relevant is in de pathogenese van astma: de T-helper-2 cel. Dit is een immuuncel die na activatie een geheugen opbouwt voor lichaamsvreemde stoffen. Als er lichaamsvreemde stoffen zoals virussen of bepaalde eiwitten (allergenen) de luchtwegen (of darm, of de huid) binnendringen is er een eerste linie van epitheel (oppervlakkige bekleedende cellen) en aangeboren afweercellen die deze tegen houden en kleine deeltjes van deze lichaamsvreemde stoffen presenteert aan het deel van het afweersysteem dat een geheugen opbouwt, zoals dus de Th2 cel. In muismodelstudies van astma en allergie lijkt het erop dat IL-33 deze Th2 cellen activeert via de IL-1RL1 receptor en aanzet tot een ontstekingsreactie. Onbekend was of genetische variatie in IL1RL1, waarvan we in hoofdstuk 6 al zagen dat dit de activiteit van IL-1RL1 signalering verhoogde, ook de activiteit van Th2 cellen zou veranderen. In hoofdstuk 7 hebben we daarom Th2 cellen van astmapatiënten en gezonde mensen waarvan het IL1RL1 genotype bekend was gestimuleerd met IL-33 en gekeken of de RNA productie en eiwitproductie van Th2 cellen veranderden. Als eerste zagen we dat IL-33 inderdaad de Th2 cellen activeert en dat er bepaalde signaalstoffen geproduceerd worden, vooral op RNA niveau. In astmapatiënten en mensen met het astma-geassocieerde genotype in IL1RL1 zagen we dit extra gebeuren. Ook zagen we dat het percentage Th2 cellen dat IL-1RL1 op de oppervlakte tot expressie bracht groter was in Th2 cellen afkomstig van personen met het IL1RL1 astma-risico genotype. Het lijkt er dus op dat bepaalde genetische variatie in IL1RL1 zorgt voor extra activatie van Th2 cellen in de aanwezigheid van IL-33; dit zou kunnen werken via extra aanwezig IL-1RL1 of via toegenomen signalering van de receptor door deze genetische variatie.

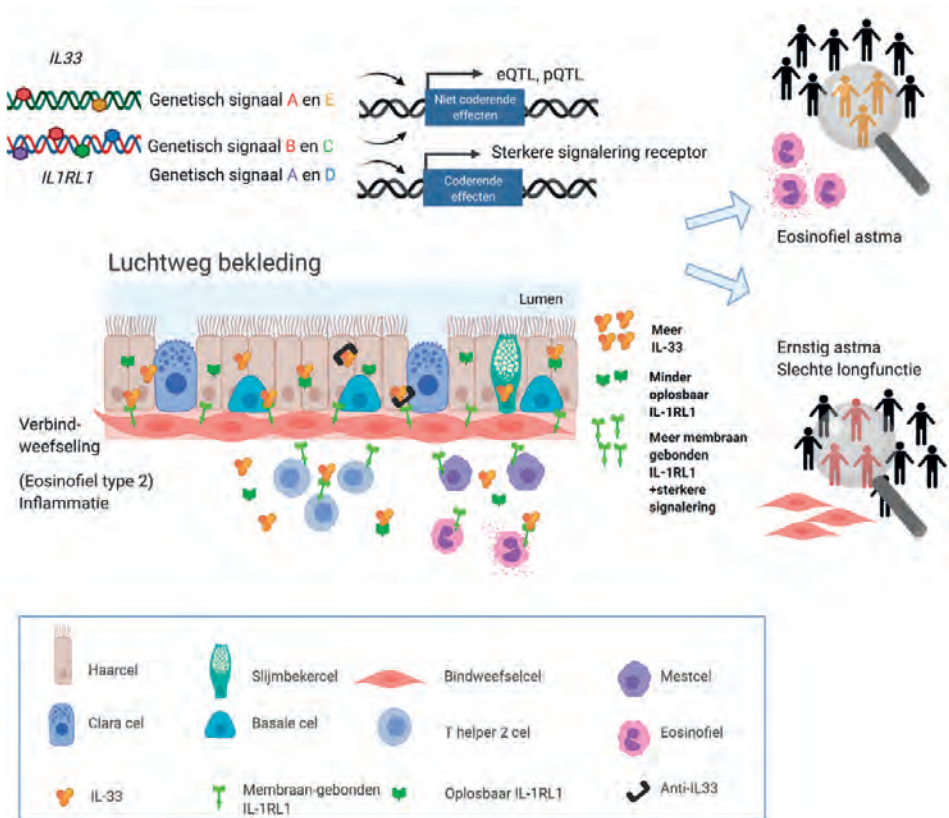
In deel III van dit proefschrift (hoofdstuk 7-9) slaan we dan een brug naar klinische toepassing. Dusver hebben we gezien dat bepaalde genetische variatie in IL33 en IL1RL1 associeert met ernstig eosinofiel astma, en via veranderde expressie van IL33 en IL1RL1 in epitheel en immuuncellen kan bijdragen aan een ontstekingsreactie zoals kenmerkend

voor astma. In hoofdstuk 8 keken we daarom of verhoogde waarden van IL-33 (als eiwit) te meten is in serum van astmapatiënten en daarmee als biomarker voor astma kan dienen. Dat dit een grote uitdaging is, bleek wel: er lijken geen bepalingsmethoden te zijn die sensitief en specifiek genoeg zijn om IL-33 in serum te meten. Een van de complicerende factoren lijkt de aanwezigheid van oplosbaar IL-1RL1 te zijn in serum; dit interfereerde met de detectiemethoden van IL-33. Voor IL-1RL1 vonden we wel een betrouwbare meetmethode; vandaar dat we dit eiwit gebruikte in de volgende studies beschreven in hoofdstuk 9 en 10. In hoofdstuk 9 gebruikten we IL-1RL1 serumwaarden als voorspeller van astma op kinderleeftijd: in kinderen met luchtwegklachten op de leeftijd 2-3 jaar werden de waarden van IL-1RL1 in serum gemeten en gekeken werd wie op 5-6j leeftijd astma ontwikkelden. Tevens hadden we de beschikbaarheid over bepaalde signaalstoffen in de uitademingslucht van deze kinderen, om zo eventuele subtypes van astma te kunnen onderscheiden. Interessant genoeg zagen we dat IL-1RL1 serumwaarden op 2-3j leeftijd niet kon voorspellen wie astma ontwikkelden als we astma als paraplueterm gebruikten. Maar wanneer we specifiek keken naar subtypen van astma, zagen we dat IL-1RL1 waarden een voorspeller waren van eosinofiel astma; astma met hoge waarden van NO in de uitademingslucht. NO is een signaalstof dat vrij komt bij eosinofiele luchtwegziekte. Ook in deze kinderopopulatie lijkt de IL-1RL1 route dus specifiek geassocieerd met een eosinofiel subtype van astma, net als wat we vonden in de genetische associatie studie in volwassen astmapatiënten in h5 en h6. In hoofdstuk 10 switchen we dan naar een andere vorm van allergie: voedselallergie. Ook hier is genetische variatie in IL1RL1 geassocieerd met voedselallergie weten we uit de literatuur. In dit hoofdstuk keken wij zelf daarom specifiek of genetische variatie in IL1RL1 en IL-1RL1 eiwitwaarden kunnen voorspellen welke kinderen voedselallergie ontwikkelen. IL-1RL1 waarden in serum kon dit niet voorspellen. IL1RL1 genetische varianten, dezelfde als ook geassocieerd met astma, kon wel voorspellen welke kinderen voedselallergie ontwikkelden, maar dan alleen als we het type voedselallergie specificerden: kinderen met bepaalde genetische variatie in IL1RL1 hadden een grotere risico om pinda-allergie te ontwikkelen. Ook hier lijkt dus het onderscheiden van specifieke subtypen van ziekte belangrijk, net als voor astma.

Het laatste onderdeel van dit proefschrift beschrijft dan de huidige stand van zaken in de ontwikkeling van medicijnen specifiek gericht op de IL-33/IL-1RL1 route in astma en allergie. Iets waar wij als groep nauw bij betrokken zijn geraakt in samenwerking met een farmaceutisch bedrijf. Er zijn verschillende strategieën mogelijk om in te grijpen in de IL-33/IL-1RL1 route: remmers van IL-33 zelf, bijvoorbeeld antilichamen die aan IL-33 binden of moleculen lijkend op het oplosbare IL-1RL1 om IL-33 weg te vangen. Daarnaast is een strategie te bedenken waarin moleculen binden aan de cellulaire receptor, en zo de IL-1RL1 signalering remmen. Een nadeel van dit laatste zou kunnen zijn dat er ook veel van het molecuul dat IL-1RL1 bindt weggevangen wordt/bindt aan het oplosbare IL-1RL1, en dit mogelijk de natuurlijke werking van het oplosbare IL-1RL1 vermindert of meer medicijn nodig zou zijn. Op dit moment zijn er medicijnen in ontwikkeling gericht tegen IL-33, en de eerste resultaten zijn veelbelovend. Mogelijk dat deze medicijnen specifiek van waarde



kunnen zijn in bepaalde subgroepen van astma en allergie. Ons proefschrift zou suggereren dat dit het subtype eosinofiel ernstig astma en specifieke vormen van voedselallergie zouden zijn. Mogelijk dat genetische variatie in *IL33* en *IL1RL1* en hun expressiewaarden een biomarker kunnen zijn om deze subtypen van astma en allergie te onderscheiden en zo de geschikte subpopulatie patiënten te vinden waar dit soort medicijnen van nut kunnen zijn.



Grafische samenvatting

In dit proefschrift heb ik afzonderlijke genetische variatie in *IL33* en *IL1RL1* beschreven die geassocieerd zijn met specifiek eosinofiel astma (*IL33* signaal A+E en *IL1RL1* signalen A+D) en met ernstig astma met slechte longfunctie (*IL1RL1* signalen B+C). De *IL33* risicosignalen associëren met verhoogde waarden van *IL33* RNA in bronchiale samples (zgn expressieQTL; signaal A en E). De *IL1RL1* risicosignalen associëren met verlaagde waarden van oplosbaar IL-1RL1 RNA en eiwit in bronchiale samples en in gekweekt bronchiaal epitheel (signaal A+D), maar met verhoogde waarden van IL-1RL1 RNA in longweefsel (in signaal B+C). Daarbij hielden astma-risicosignalen van niet-coderende genetische variatie in *IL1RL1* SNPs (in signaal D) verband met sterkere signalering van de membraangebonden IL-1RL1 receptor. Meer vrij vertaald: deze genetische variatie zou kunnen bijdragen aan een eosinofiel, type 2 ontstekingsreactie en aan verbindweefseling van de luchtwegen in specifieke astma subtypen. Medicatie gericht tegen de IL-33/IL-1RL1 route zou dan ook van waarde kunnen zijn in de behandeling van deze groepen astma-patiënten.

