

University of Groningen

The ECM as a driver of fibroblast senescence and disrupted epithelial repair in IPF

Blokland, Kaj

DOI:
[10.33612/diss.177953737](https://doi.org/10.33612/diss.177953737)

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):
Blokland, K. (2021). *The ECM as a driver of fibroblast senescence and disrupted epithelial repair in IPF*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.177953737>

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 7

Dutch summary

Dutch summary

De pathogenese van idiopathische pulmonale fibrose (IPF) is nog altijd onbekend ondanks de hoeveelheid tijd en moeite die is gestoken in het onderzoeken van de oorzaak en met name de rol van cellulaire veroudering. Doordat de bevolking steeds ouder wordt zal er een toename zijn van patiënten die gediagnostiseerd worden met IPF in de komende jaren. De ontwikkeling van nieuwe behandelmethoden heeft duidelijk gemaakt dat IPF een behandelbare ziekte is, maar meer kennis is nodig om nieuwe therapieën te ontwikkelen die de progressie van IPF kunnen stoppen of zelfs het verloop van de ziekte kan omkeren. Als onderdeel van dit proefschrift hebben wij de hypothese opgesteld dat cellulaire veroudering van fibroblasten de drijfveer is van IPF doordat cellulaire veroudering de lokale omgeving beïnvloed via de senescence-associated secretory phenotype (SASP), een profiel van inflammatoire factoren welke worden uitgescheiden tijdens cellulaire veroudering, en dan met name op een manier dat het de regeneratie van alveolaire epitheelcellen belemmerd. Bovendien zijn veranderingen aan het bindweefsel tijdens veroudering nu erkent als drijfveer voor de voortgang van IPF, echter is de invloed van bindweefsel op cellulaire veroudering onbekend. De overkoepelende hypothese was gericht op het ontrafelen van de invloed van cellulaire veroudering op de regeneratie van alveolaire epitheelcellen. Daarnaast hebben we gekeken wat de bijdrage is van bindweefsel bij het ontstaan van cellulaire veroudering wat kan bijdragen aan het creëren van een feedbackmechanisme wat de progressie van IPF bevordert.

In **hoofdstuk twee** beschrijven wij de rol van bindweefsel als regulator van cel processen en verstrekken wij een overzicht van de huidige kennis over de bijdrage van cellulaire veroudering in chronische fibrose met specifieke aandacht voor IPF. Deze uitgebreide review beschrijft de potentie van de individuele matrix eiwitten in verschillende weefsels en hoe deze kunnen bijdragen aan de regulatie van cellulaire veroudering. De modulatie van de verschillende matrix eiwitten lijkt voornamelijk te komen door het binden van cytokinen en groeifactoren en niet zozeer door directe interactie tussen cel en matrix eiwitten. De bindweefsel eiwitten decorine (DCN), cellular communication network factor 1 (CCN1) en fibuline (FBLN) hebben een zeer sterk regulerend effect dat in verband wordt gebracht met cellulaire veroudering. Dit effect is groter dan verwacht, met name als we kijken naar de functie van collageen en elastine. De celcyclus, apoptose en de productie van immuun regulerende cytokinen zoals interleukine 6 (IL-6) en chemokine C-X-C motif ligand (CXCL8) wordt geregeld voor matricellulaire eiwitten. Andere bindweefsel eiwitten zoals elastine, fibronectine, glycosaminoglycanen (GAGs), DCN, aggrecan en versican hebben een sterk pro-inflammatoire werking. Als deze

eiwitten vrijkomen tijdens weefsel herstel als lichaamseigen gevaarsignaal, ofwel danger-associated molecular pattern (DAMPs), hebben ze mogelijk een effect op de regulatie van cellulaire veroudering. Als laatste is beschreven hoe anti-fibrotische medicijnen gebruikt kunnen worden om afwijkende bindweefsel-depositie te voorkomen, en hoe senolytica gebruikt kunnen worden voor het selectief verwijderen van senescent cellen zodat IPF gestopt of omgekeerd kan worden.

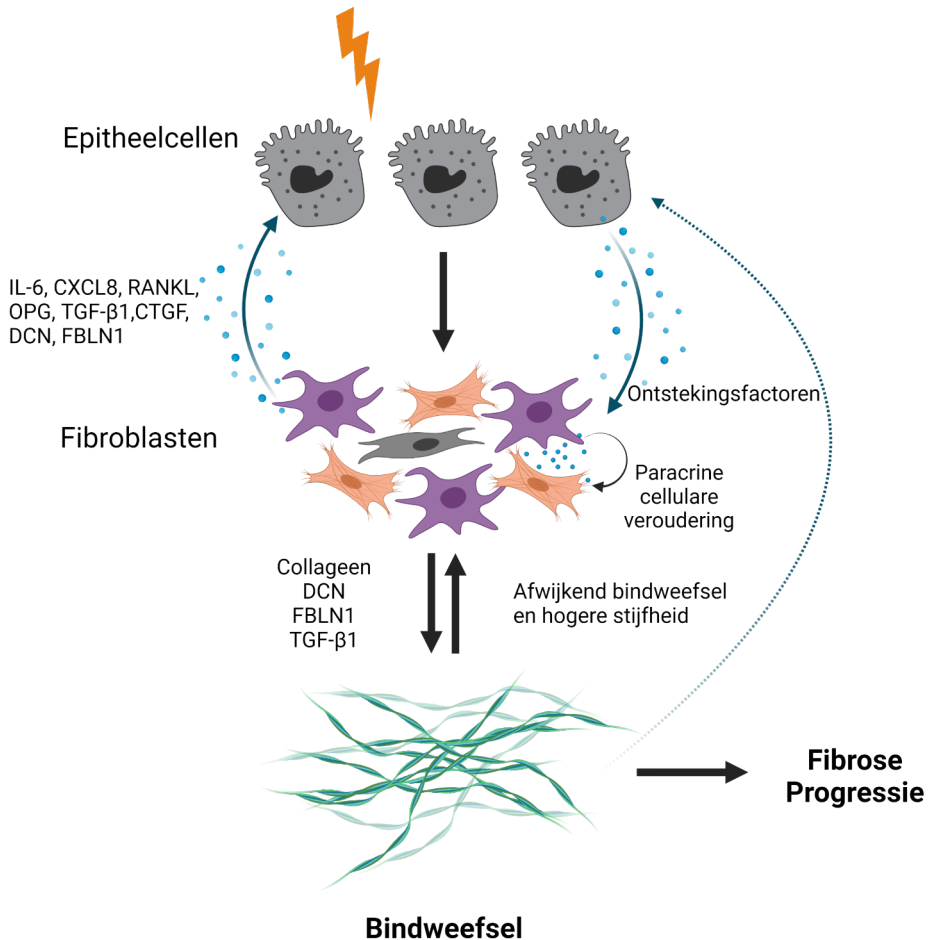
In **hoofdstuk drie** onderzoeken wij wat de bijdrage is van matrix-stijfheid, zoals gemeten in de fibrotische long, op de inductie van cellulaire veroudering in fibroblasten en hoe het bijdraagt aan een zelfversterkend feedbackmechanisme. In deze studie gebruiken wij gemethacryleerde gelatine (GelMA) hydrogelen om de stijfheid van de gezonde en fibrotische long na te bootsen om vervolgens te meten wat het effect is op cellulaire veroudering, secretie van de SASP en fibrotische factoren. De resultaten van dit onderzoek bevestigen eerdere bevindingen dat matrix stijfheid leidt tot cel activatie gekenmerkt door hogere yes-associated protein 1 (YAP) hoeveelheid in de kern en formatie van georganiseerde actine vezels. We laten zien dat een hogere stijfheid leidt tot een toename in expressie van de SASP en fibrotische genen ACTA2, COL1A1, FBLN1, IL-6 en DCN. Daarnaast is er ook een toename in depositie van DCN en FBLN1, en een hogere secretie van DCN en receptor activator of nuclear factor kappa beta ligand (RANKL) als reactie op een hogere stijfheid. Deze resultaten maken duidelijk dat de modulatie van cel functie in reactie op een hogere stijfheid bijdraagt aan de creatie van een feedbackmechanisme dat zorgt voor progressie van fibrose in IPF.

In **hoofdstuk vier** hebben wij de hypothese gevormd dat afwijkend bindweefsel bijdraagt aan het negatief beïnvloeden van de functie van fibroblasten wat leidt tot de inductie van versnelde cellulaire veroudering en zo bijdraagt aan de progressie van fibrose. We hebben gezonde fibroblasten gekweekt op bindweefsel afkomstig van IPF-fibroblasten en vervolgens hebben we gekeken naar cellulaire veroudering en fibrotische factoren. We hebben laten zien dat het kweken van fibroblasten op verouderd of fibrotisch bindweefsel niet leidt tot een hogere expressie van cellulaire verouderingsfactoren. In tegenstelling, we laten juist zien dat er een hogere expressie is van ontstekings-mediators die onderdeel zijn van normale wondherstel proces. Ook vonden wij een toename in genexpressie van het matricellulaire eiwit DCN in fibroblasten gekweekt op IPF-bindweefsel. Als laatste laten we zien dat er een hogere uitscheiding is van transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) en connective tissue growth factor (CTGF) in fibroblasten gekweekt op senescent en IPF-bindweefsel. Deze resultaten geven de indicatie dat IPF-bindweefsel leidt tot een ontstekingsreactie en fibrotische activatie in normale fibroblasten. Wanneer deze normale fibroblasten extra

gestimuleerd worden naast het afwijkende bindweefsel, leidt dit tot verdere activatie van de fibroblast en draagt dit bij aan de progressie van fibrose in IPF.

In **hoofdstuk vijf** testen wij de hypothese dat senescent fibroblasten bijdragen aan afwijkend wondherstel van alveolaire epitheelcellen. Om dit te onderzoeken hebben we A549 epitheelcellen gekweekt in aanwezigheid van normale en IPF-fibroblasten en laten zien dat senescent fibroblasten de proliferatie van A549 cellen afremmen. We presenteren bewijs dat dit komt door een tot nu toe onbekende factor welke wordt uitgescheiden door senescent fibroblasten. Ook zien we dat A549 epitheelcellen in het bijzijn van fibroblasten, ongeacht of ze afkomstig zijn van gezonde vrijwilligers of van IPF-patiënten, sneller migreren na mechanische verwonding. Als laatste laten we zien dat senescent fibroblasten het vermogen hebben om A549 epitheelcellen in een G₂/M celcyclusstop te brengen. Tezamen ondersteunen onze resultaten de hypothese dat senescent fibroblasten een belangrijke rol spelen in de pathogenese van IPF en dat fibroblast cellulaire veroudering mogelijk bijdraagt aan de afwijkende wondheling van alveolaire epitheelcellen.

Figuur 1 geeft een globaal overzicht hoe de resultaten van alle experimentele hoofdstukken samen komen en bijdragen aan de progressie van fibrose in IPF.



Figuur 1. Overzicht van de interactie tussen alveolaire epitheelcellen, fibroblasten en fibrotisch bindweefsel in IPF. Alveolaire epitheelcellen scheiden ontstekingsfactoren uit na chronische beschadiging wat leidt tot de activatie van fibroblasten. Geactiveerde fibroblasten produceren en leggen bindweefsel neer met als gevolg van fibrose en toenemende stijfheid van het omliggende weefsel. Via uitgescheiden SASP-factoren kunnen senescent fibroblasten de functie van andere cellen negatief beïnvloeden, en mogelijk zelfs cellulair veroudering induceren. De constante blootstelling van fibroblasten en alveolaire epitheelcellen aan fibrotisch bindweefsel leidt tot de inductie van een zelfregulerend mechanisme dat de progressie van fibrose en dus IPF bevordert. CXCL8 = chemokine C-X-C motif ligand 8; IL-6 = interleukin-6; OPG = osteoprotegerin; RANKL = receptor activator of nuclear kappa-β ligand; TGF-β1 = transforming growth factor-β1; CTGF = connective tissue growth factor; DCN = decorin; FBLN1 = fibuline (Gemaakt met Biorender.com)

