



Samenvatting proefschrift D.G. Leuning

“Development of novel strategies to regenerate the human kidney”

**Promotie: 3 juli 2018
Universiteit Leiden**

Promotor:
Prof. dr. A.J. Rabelink,
Prof. dr. C. van Kooten

Copromotoren:
Dr. M.A. Engelse

Hoewel de mens niet zomaar een lichaamsdeel terug kan laten groeien, komen er steeds meer opties om organen te laten regenereren. In dit proefschrift wordt gekeken wat er binnen dit gebied van de regeneratieve geneeskunde mogelijk is wat betreft de regeneratie van nieren.

De nieren zijn van levensbelang, ze filteren de afvalstoffen uit het bloed, reguleren de bloeddruk en water- en zouthuishouding en spelen een belangrijke rol bij de botstofwisseling en de aanmaak van rode bloedcellen. Zonder werkende nieren kan men niet leven en daarom is bij nierfalen nierfunctie vervangende therapie nodig. Hiervoor zijn er twee opties: dialyse (een kunstnier) en transplantatie. Transplantatie is hierbij de voorkeurstherapie aangezien de lange termijn overleving en de kwaliteit van leven beter zijn vergeleken met dialyse. Helaas is er een tekort aan donororganen en gaan donororganen niet een levenlang mee als gevolg van afstoting en toxiciteit van de afweeronderdrukkende therapie noodzakelijk na transplantatie. In dit proefschrift wordt bestudeerd of het veld van de regeneratieve geneeskunde nieuwe strategieën biedt om deze problemen te verhelpen door 1) donornieren langer mee te laten gaan en 2) de beschikbaarheid van (in het lab gemaakte) nieren te vergroten.

Een optie om donororganen langer mee te laten gaan is mesenchymale stromale cell (MSC) therapie. MSCs zijn cellen die in elk orgaan dicht tegen de bloedvaten zitten en die via het uitscheiden van verscheidene stoffen, waaronder groeifactoren en cytokines, in staat zijn weefselhomeostase te geven. MSCs kunnen uit het beenmerg worden geïsoleerd (bmMSCs) en kunnen, als ze als celtherapie gegeven worden, het immuunsysteem onderdrukken en weefselherstel geven. In dit proefschrift worden de eerste klinische ervaringen, de werkingsmechanismen en toekomstperspectieven van MSCs voor niertransplantatie besproken.



De focus voor MSC-therapie is op dit moment op MSCs geïsoleerd uit het beenmerg. MSCs kunnen echter ook uit andere organen geïsoleerd worden, waaronder de nier. Doordat de MSCs uit de nier komen, hebben ze mogelijk nierspecifieke eigenschappen en daardoor zijn ze mogelijk ook meer geschikt voor therapie bij niertransplantatie. Daarom worden uit de nier geïsoleerde MSCs uitvoerig vergeleken met bmMSCs en zien we dat de nierMSCs, in ieder geval in een laboratorium setting, beter nierherstel kunnen geven.

Om een vloeiende overgang mogelijk te maken naar het onderzoeken van nierMSCs in een klinische setting, hebben we deze cellen met klinisch toepasbare materialen en methoden geïsoleerd en gekweekt.

Aangezien organen maar voor een heel klein percentage (<0.01%) uit MSCs bestaan, moeten MSCs in het laboratorium vermeerderd worden. De methodes die hiervoor op het moment gebruikt worden zijn echter tijdrovend en duur. Om deze redenen wordt er steeds meer gekeken naar nieuwe methodes zoals kweken van de MSCs op bolletjes (microcarriers) in bioreactoren. Deze microcarriers hebben echter een andere vorm en kunnen van ander materiaal zijn vergeleken met het celkweekplastic waar MSCs nu op gekweekt worden. Het is daarom belangrijk om te weten of dit soort wijzigingen invloed hebben op de functie van de MSCs. Daarom hebben we onderzocht of dit soort wijzigingen, met name de vorm van het kweekoppervlak, invloed hebben op de functie van de MSCs. Er is daarbij gekeken naar de uitgescheiden signaalstoffen door zowel beenmergMSCs en nierMSCs. We zien dat de vorm van het kweekoppervlak effect heeft op de hoeveelheden van de uitgescheiden factoren. Het is daarom van belang om bij het ontwerp van bioreactoren goed te bestuderen of de functionaliteit van de MSCs niet veranderd.

Zoals de verschillen tussen bmMSCs en nierMSCs al laten zien, zijn MSCs een heterogene celpopulatie. Binnen dit proefschrift laten we zien dat zelfs binnen een orgaan, in dit geval de nier, 2 verschillende MSC populaties gevonden kunnen worden. Naast de nierMSCs die uit de nierschors geïsoleerd zijn, kan er ook een MSC populatie worden geïsoleerd uit het nierkapsel (kapselMSCs). Deze kapselMSCs hebben andere karakteristieken in vergelijking met de nierMSCs, waarschijnlijk doordat ze een andere rol hebben tijdens de ontwikkeling van de nier.

Alle hierboven genoemde MSCs hebben de potentie als celtherapie om donororganen langer mee te laten gaan en de hoeveelheid immuunonderdrukkende therapie noodzakelijk na transplantatie te verminderen. Echter, in de meest ideale situatie zou er helemaal geen immuunonderdrukkende therapie nodig zijn. Dit zou het geval zijn als een patiënt met nierfalen getransplanteerd zou kunnen worden met een nier gemaakt uit zijn of haar eigen cellen. Dit zou kunnen door het maken van een geïnduceerde pluripotente stamcellen (iPSC) van de patiënt. Deze iPSC kunnen differentiëren in alle soorten cellen van het lichaam zoals niercellen en de cellen van de bloedvaten (endotheelcellen).

Organen bestaan echter niet alleen uit cellen maar ook uit bindweefsel. Dit bindweefsel, extracellulaire matrix genaamd, biedt structuur aan een orgaan en bevat



componenten die belangrijk zijn voor celfunctie en overleving. Door organen te behandelen met een zeepoplossing kunnen alle cellen verwijderd worden en blijft de instructieve extracellulaire matrix over. Deze extracellulaire matrix kan vervolgens als 3D omgeving gebruikt worden om iPSC-nier en endotheelcellen in te groeien om op deze manier een nieuwe nier te maken.

Dit kan vergeleken worden met verhuizen, als men de meubels uit een huis verwijderd (de cellen) blijft het huis, door de stevigheid van de muren (extracellulaire matrix) intact. Bovendien is nog steeds te zien waar de badkamer was en waar de woonkamer (instructiviteit van de extracellulaire matrix) en door deze eigenschappen zullen nieuwe bewoners hun meubelen (de iPSC-nier en endotheelcellen) zeer waarschijnlijk weer in dezelfde kamers neerzetten.

Binnen dit proefschrift hebben we verscheidene strategieën onderzocht om met behulp van iPS-endotheelcellen en een gedecellularizeerde niermatrix, de bloedvaten opnieuw te bekleden. We laten zien dat de matrix kan worden geladen met groeifactoren en dat, in combinatie met infusie via de nierslagader en nierader, de bloedvaten opnieuw bekleed kunnen worden met endotheelcellen. Dit was niet alleen mogelijk in het kleine rattenmodel, maar ook in een humane nier. Hoewel dit een belangrijke eerste stap is, wordt op deze manier nog geen functionele nier gemaakt. Hiervoor zullen op z'n minst, naast de bloedvaten, ook de andere celtypen in de nier toegevoegd moeten worden.

Ten slotte worden de mogelijkheden en aandachtspunten van de regeneratieve geneeskunde bij niertransplantatie beschreven. Regeneratieve geneeskunde is een ongelofelijk snel bewegend veld met veel potentie. In het enthousiasme van het veld wordt echter af en toe voorbijgegaan aan wat op dit moment haalbaar en veilig is voor de mens. Met name in de media worden af en toe beloften gemaakt die, op dit moment, (nog) niet waar te maken zijn. Met deze kanttekening in gedachte, geeft het veld van de regeneratieve geneeskunde veelbelovende nieuwe alternatieven in het veld van niertransplantatie. In de toekomst zal blijken of alle aspecten, ook de ambitieuze projecten zoals een in het laboratorium gemaakte nier, daadwerkelijk klinisch toepasbaar zijn of een moderne mythe zullen blijven.