



Niet - technische samenvatting 2016701

1 Algemene gegevens

1.1 Titel van het project	De Rol van SMAD3 in de gevoeligheid van de Pcdh1 deficiënte muis voor huisstofmijt
1.2 Looptijd van het project	Oktober 2016 – Juni 2018
1.3 Trefwoorden (maximaal 5)	Astma, luchtwegepitheel, genetica, behandeling, preventie

2 Categorie van het project

2.1 In welke categorie valt het project.	☐ Fundamenteel onderzoek
	☒ Translationeel of toegepast onderzoek
	☐ Wettelijk vereist onderzoek of routinematige productie
	☐ Onderzoek ter bescherming van het milieu in het belang van de gezondheid of het welzijn van mens of dier
	☐ Onderzoek gericht op het behoud van de diersoort
	☐ Hoger onderwijs of opleiding
	☐ Forensisch onderzoek
	☐ Instandhouding van kolonies van genetisch gemodificeerde dieren, niet gebruikt in andere dierproeven

U kunt meerdere mogelijkheden kiezen.

3 Projectbeschrijving

3.1 Beschrijf de doelstellingen van het project (bv de wetenschappelijke vraagstelling of het wetenschappelijk en/of maatschappelijke belang)	Astma is een chronische, obstructieve longaandoening, gekenmerkt door een ontsteking van de luchtwegen die gepaard gaat met vernauwing en prikkelbaarheid van de luchtwegen. Hierdoor ervaren de patiënten kortademigheid, benauwdheid, piepend ademhalen en hoesten. Astma is de meest voorkomende chronische ziekte bij kinderen en geeft bij zowel kinderen en volwassenen een sterk verlies van de kwaliteit van leven. Astma komt vooral voor bij kinderen en jongvolwassenen (ongeveer 30 per 1000 personen). In 2011 waren er 8.131 ziekenhuisopnamen (exclusief dagopnamen) voor astma, waarvan 3.554 voor mannen en 4.577 voor vrouwen. Patiënten met astma verbleven gemiddeld 5 dagen in het ziekenhuis. De zorgkosten voor astma worden geraamd op 287 miljoen euro in 2007, gemiddeld 530 euro per patiënt, waarbij medicijngebruik de grootste kostenpost is. (Bron: Volksgezondheidszorg.info, 2016) Astma kan tot nu toe niet genezen worden. Dit betekent dat patiënten alleen geneesmiddelen kunnen gebruiken die de symptomen onderdrukken en dat dit gebruik chronisch is. Het zoeken naar medische interventies die astma kunnen genezen of voorkomen is daarom van groot belang. Geneesmiddelen die astma kunnen genezen of voorkomen zullen de kwaliteit van leven van een grote groep patiënten sterk verbeteren en de kosten van de zorg terugbrengen. Ons onderzoek heeft tot doel om zulke interventies te identificeren, zodat deze geneesmiddelen kunnen worden ontwikkeld. De gevoeligheid voor astma is genetisch bepaald. Het ontstaan van astma wordt echter door bepaalde ingeademde stoffen (allergenen, virussen, sigarettenrook) in gang gezet. Deze factoren zorgen alleen in astma-gevoelige personen voor het ontstaan van astma. Bij de meeste mensen (die dus niet gevoelig zijn voor astma) zal de ziekte niet ontstaan, ook niet na blootstelling aan deze ingeademde factoren. Als we astma willen genezen of voorkomen, moeten we begrijpen wat er precies gebeurt in de longen van een gevoelig persoon tijdens het ontstaan van astma. Op dit moment is deze kennis nog niet beschikbaar. Nieuwe inzichten in de genetische aanleg voor astma wijzen op een belangrijke rol voor het luchtwegepitheel in het ontstaan van astma. Het luchtwegepitheel is de laag cellen die de luchtwegen bekleedt en het lichaam beschermt tegen alle ingeademde stoffen. Eén van de genen die astma kan veroorzaken door het luchtwegepitheel te veranderen is het Protocadherine-1 (Pcdh1) gen. In ons voorwerk hebben we in celkweeksystemen laten zien dat verlies van Pcdh1 het luchtwegepitheel kwetsbaar maakt voor beschadigingen. Ook hebben we aangetoond dat Pcdh1 aan een ander eiwit bindt (SMAD3), dat een belangrijke rol heeft in het repareren van schade aan het luchtwegepitheel. In dit project willen wij onderzoeken of de verhoogde gevoeligheid voor astma van muizen zonder Pcdh1 wordt veroorzaakt door een verhoogde activatie van SMAD3 in het luchtwegepitheel van deze muizen. Om dit te testen willen we Pcdh1 deficiënte muizen blootstellen aan huisstofmijt allergenen om astma te induceren, en dan testen of het remmen van SMAD3 de astma verschijnselen kan onderdrukken of voorkomen. Hiermee kunnen we een nieuwe manier identificeren waarmee astma uiteindelijk kan worden voorkomen of genezen.
--	---

3.2	Welke opbrengsten worden van dit project verwacht en hoe dragen deze bij aan het wetenschappelijke en/of maatschappelijke belang?	Wij verwachten dat dit project ons zal leren of activatie van SMAD3 een belangrijke rol speelt bij de verhoogde gevoeligheid voor astma in muizen die geen Pcdh1 hebben. Omdat Pcdh1 en SMAD3 allebei astmagenen zijn die in de mens bijdragen aan de gevoeligheid voor de ziekte, zijn deze resultaten belangrijk voor het begrijpen hoe de ziekte bij de mens ontstaat. Deze kennis zullen we gebruiken om nieuwe manieren te testen om het ontstaan van astma te remmen in het muismodel met als doel de ziekte bij de mens te genezen of zelfs voorkomen. Hoewel het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen geen onderdeel van dit project is, verwachten wij dat de kennis uit dit project hieraan wel zal bijdragen, zodat we een aanmerkelijke verbetering van de kwaliteit van leven voor patiënten met astma kunnen bewerkstelligen.
3.3	Welke diersoorten en geschatte aantallen zullen worden gebruikt?	Wij gebruiken muizen. In een periode van 2 jaar verwachten wij 120 muizen te gebruiken voor de experimenten.
3.4	Wat zijn bij dit project de verwachte negatieve gevolgen voor het welzijn van de proefdieren?	De muizen worden blootgesteld aan huisstofmijt allergenen die in de mens astma kunnen veroorzaken. Bij herhaalde blootstelling aan deze allergenen kunnen de muizen last van allergische verschijnselen krijgen zoals een jeukende neus, benauwdheid en niezen.
3.5	Hoe worden de dierproeven in het project ingedeeld naar de verwachte ernst?	- Matig ongerief: Bij herhaalde toedieningen van allergenen ondergaan de dieren matig ongerief. Dit wordt vooral veroorzaakt door de herhaalde isofluraan/zuurstof anesthesie die nodig is om de dieren de (intranasale) toedieing van huisstofmijt te geven.
3.6	Wat is de bestemming van de dieren na afloop?	De dieren worden altijd gebruikt voor een longfunctiemeting aan het einde van het experiment. Alle muizen zijn onder algehele narcose tijdens deze longfunctiemeting. Na afloop van de longfunctiemeting worden de muizen onder volledige narcose gehouden en vindt er euthanasie plaats.

4 Drie V's

4.1	Vervanging Geef aan waarom het gebruik van dieren nodig is voor de beschreven doelstelling en waarom proefdiervrije alternatieven	We proberen zoveel mogelijk van het onderzoek uit te voeren met proefdiervrije methodes. Zo hebben we een groot deel van het functionele onderzoek aan de rol van Pcdh1 in luchtwegepitheelcellen uitgevoerd met celkweek van humane cellijnen en primaire cellen verkregen uit astmapatiënten en gezonde controlepersonen. Ook investeren we in het opzetten van vernieuwende celkweekmethoden zoals de celkweek van organoïden en het samen kweken van meerdere celtypes. Echter, voor het bestuderen van het proces van het ontstaan van astma, waarbij meerdere celtypes en hun interacties tijdens
-----	---	--

niet gebruikt kunnen worden.

de longontwikkeling na de geboorte een belangrijke rol spelen, blijft het nodig ook dierproeven uit te voeren. We streven ernaar om deze dierproeven zoveel mogelijk te vervangen door proefdiervrije onderzoeksmethodes.

4.2 **Vermindering**

Leg uit hoe kan worden verzekerd dat een zo gering mogelijk aantal dieren wordt gebruikt.

Naast het gebruik van proefdiervrije methodes proberen we ook de gebruikte dieraantallen zo laag mogelijk te houden zonder dat dit ten koste gaat van de informatie uit de dierproef. We doen dit op een aantal manieren:

- We voeren altijd een statistische berekening uit waarbij we zoveel mogelijk historische gegevens gebruiken om de variatie van de uitkomsten binnen de groep te berekenen. Dit stelt ons in staat om met zo min mogelijk dieren toch de vraagstelling van de dierproef te kunnen beantwoorden.
- We maken in het ontwerp van de dierproef zoveel mogelijk gebruik van een methodologie die de translationele waarde van de dierproef zo groot mogelijk maakt. De experimentele groepen zijn op volledig willekeurige wijze samengesteld (behalvevoor geslacht en genotype) en afgeschermd voor zowel de onderzoeker die de handelingen uitvoert als de onderzoeker die de analyse in het lab uitvoert. Hiermee proberen we een zo objectief mogelijk resultaat te verkrijgen uit onze dierproeven.
- We gebruiken zowel mannelijke als vrouwelijke dieren om de vertaling naar de situatie bij de mens zo goed mogelijk plaats te kunnen laten vinden.
- We proberen per proefdier zoveel mogelijk materiaal te verzamelen en systematisch op te slaan om op een later moment alsnog het materiaal van de uitgevoerde dierproef te kunnen gebruiken voor nieuwe deelvragen, zonder dat hier een nieuwe dierproef voor hoeft te worden ingezet. Dit materiaal wordt 5 tot 10 jaar bewaard. Helaas hebben we zelf niet de middelen om een voor onderzoekers toegankelijke biobank op te starten van dit materiaal, maar een dergelijk initiatief zouden wij van harte ondersteunen.

4.3 **Verfijning**

Verklaar de keuze voor de diersoort(en). Verklaar waarom de gekozen diermodel(len) de meest verfijnde zijn, gelet op de doelstellingen van het project.

De keuze voor de muis als proefdier wordt verklaard uit de mogelijkheid om hier een specifieke knock-out stam (genetisch gemodificeerde dieren) te gebruiken die essentieel is voor het beantwoorden van onze onderzoeksvraag. Ons proefdiermodel is een zo nauwkeurig mogelijk model voor het astma-gevoelige kind dat na allergeenblootstelling astma gaat ontwikkelen. We gebruiken muizen met verlies van *Pcdh1*, een astma-gen dat de ziekte in de mens veroorzaakt (een gen dat ook in de mens bij astma minder tot expressie komt). We gebruiken allergenen die ook bij de mens bijdragen aan het ontstaan van astma in gevoelige personen. Zo proberen we het meest relevante model voor het ontstaan van astma bij de mens te ontwikkelen.

Daarnaast worden de analysemethoden zoveel mogelijk verfijnd (multicolor flowcytometrie, multiplex analyse voor cytokines) en hebben we geïnvesteerd in nieuwe longfunctieapparatuur die zeer veel informatie geeft (ook belangrijk voor de vertaling naar de situatie bij de mens. Twee belangrijke indicatoren voor de longfunctie bij de mens (FEV en FVC) kunnen we nu ook bij de muizen meten).

Waar mogelijk ontwikkelen we zelf methodologie (verder) als de aantallen muizen daarmee lager kunnen worden. Een goed voorbeeld hiervan zijn de recente ontwikkelingen rondom single-cell RNA sequencing. Hierbij zijn er in plaats van enkele miljoenen cellen maar een paar honderd cellen nodig om toch een goed beeld te krijgen van het RNA dat in een bepaald celtype (bij ons het luchtegepitheel) aanwezig is. Dit kan leiden tot een vermindering van het aantal proefdieren dat benodigd is voor het onderzoek.

Op deze manier proberen we door verfijning de informatiedichtheid van de experimenten te maximaliseren en het diergebruik

terug te dringen.

Vermeld welke algemene maatregelen genomen worden om de negatieve (schadelijke) gevolgen voor het welzijn van de proefdieren zo beperkt mogelijk te houden.

Als onderdeel van de verfijning van de dierproef zullen wij zoveel mogelijk zeer ervaren biotechnici inzetten bij de handelingen aan de proefdieren. Dit vermindert voor een groot deel de stress en het lijden ten gevolge van de handelingen.

Daar waar de muizen een kans lopen op pijn door de handelingen wordt altijd pijnbestrijding toegepast. De muizen worden steeds zo kort mogelijk uit hun eigen omgeving gehaald en zo snel mogelijk weer teruggezet in de kooi en in het rek, waardoor ze steeds maar kort aan de mogelijke stress door de handelingen blootstaan. Alle handelingen vinden plaats in een microbiologische werkkast waarbij er steeds maar één enkel dier in de kast (en dus buiten de kooi) aanwezig is. Hiermee hopen we te voorkomen dat de muizen elkaar beïnvloeden tijdens de handelingen. Ten slotte worden alle dieren in experiment heel regelmatig gecontroleerd op tekenen van ongerief.

5 In te vullen door de CCD

Publicatie datum

10-01-2017

Beoordeling achteraf

Nee

andere opmerkingen

Nee