

BMP7 as a multifactorial growth factor for cartilage homeostasis

Citation for published version (APA):

Ripmeester, E. G. J. (2021). *BMP7 as a multifactorial growth factor for cartilage homeostasis*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20210930er>

Document status and date:

Published: 01/01/2021

DOI:

[10.26481/dis.20210930er](https://doi.org/10.26481/dis.20210930er)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SUMMARY

Osteoarthritis (OA) is the most common chronic joint condition. However, treatment of osteoarthritis is mainly symptomatic by alleviating pain to postpone total joint replacement, while disease-modifying drugs have not reached the clinic yet. Understanding the molecular pathways involved in OA disease initiation and progression is of great importance to allow for the identification of new molecular treatment targets. Such targets may provide starting points for developing novel treatment options for OA patients. The work described in this thesis aimed to elucidate novel biomolecular factors in the development of disturbed chondrocyte homeostasis in OA disease development, and aimed to positively influence this process by BMP7 or BMP7-derived peptides.

The most widely studied chondrocyte phenotype in the context of OA is the hypertrophic chondrocyte phenotype. Based on an extensive literature review, we concluded that the development of the hypertrophic chondrocyte phenotype is a result of a disbalance of a variety of chondrocyte intracellular signaling pathways, all leading to the hypertrophic differentiation of chondrocytes which plays a major role in OA development. We demonstrated that peptides derived from BMP7 are able to reduce this hypertrophic chondrocyte phenotype by targeting multiple processes involved in OA chondrocyte pathophysiology. This included protection of cartilage homeostasis and a reduction of the expression of cartilage degrading enzymes and inflammatory factors. Suppression of the chondrocyte hypertrophic phenotype by full-length BMP7 is dependent on NKX3-2 and we also found that bioactivity of our BMP7-derived peptides p[63-82] and p[113-132] on the chondrocyte hypertrophic phenotype depends on NKX3-2, indicating a similar mode-of-action. Additionally, we have demonstrated that weekly intra-articular injections with p[63-82] protected against cartilage degradation and alleviated OA pain-related behavior in a rat OA-model, strengthening the clinical applicability of this peptide.

Besides the widely acknowledged role of the hypertrophic chondrocyte phenotype, the fibrocartilage chondrocyte phenotype has also been demonstrated to play a role in late-stage OA. We demonstrated that BMP7 dampens the fibrocartilage chondrocyte phenotype, involving a molecular axis that includes Smad3-PAI1-MMP2 activity. This indicates that in chondrocytes BMP7 may have a double mode-of-action by targeting both the hypertrophic as well as the fibrotic chondrocyte phenotype. This highlights the clinical relevance of using BMP7-bioactivity for OA disease modification.

An important part of the articular cartilage extracellular matrix consists of proteins. As a consequence, the regulation of protein synthesis may be an important homeostatic cellular process in maintaining cartilage integrity. We demonstrated that protein translation and U3 snoRNA expression are reduced in OA chondrocytes and that U3 snoRNA expression is positively linked to the protein translational activity of chondrocytes. Exposure of chondrocytes to BMP7 led to increased snoRNA U3 expression levels, positively influencing chondrocyte protein translational capacity. BMP7 enhanced protein translational capacity by increasing chondrocyte rRNA levels via stimulation of the rDNA promoter activity in a NKX3-2-dependent manner. Combined our findings provide a first insight in the interaction of BMP7 and chondrocyte protein translational processes.

Taken together, the studies described in this thesis demonstrate how BMP7 bioactivity can influence different OA chondrocyte phenotypes and may potentially be used in treatment of OA. We identified peptides mimicking BMP7 bioactivity, which can positively influence the OA chondrocyte phenotype. Additionally, we demonstrated an interaction between BMP7 and chondrocyte protein translational capacity. This novel biomolecular knowledge may provide novel avenues for the development of future OA disease-modifying treatments.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Artrose is de meest voorkomende chronische gewrichtsaandoening. Toch zijn behandelingen voor artrose voornamelijk symptomatisch en richten zich op het verminderen van de pijn zodat het plaatsen van een knieprothese kan worden uitgesteld, terwijl medicijnen die de cellulaire oorzaak van artrose aangrijpen nog niet in de kliniek worden toegepast. Het begrijpen van de moleculaire paden die een rol spelen bij de aanzet en progressie van artrose zijn van groot belang voor het identificeren van nieuwe moleculaire aangrijpingspunten. Zulke moleculaire aangrijpingspunten kunnen een startpunt vormen voor de ontwikkeling van nieuwe behandelmethoden voor artrose-patiënten. Het werk dat in deze thesis beschreven wordt stelde zich ten doel om nieuwe biomoleculaire factoren te identificeren die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van de verstoorde chondrocyt homeostase gedurende de progressie van artrose en richtte zich op het positief beïnvloeden van dit proces door BMP7 of BMP7-afgeleide peptiden.

Het hypertrofe chondrocyt fenotype is het best bestudeerde chondrocyt fenotype in de context van artrose. Gebaseerd op een uitgebreid literatuuronderzoek concluderen wij dat de ontwikkeling van dit hypertrofe chondrocyt fenotype het resultaat is van een disbalans in een verscheidenheid van intracellulaire signaalroutes in de chondrocyt, die allemaal leiden tot hypertrofe differentiatie van chondrocyten, welke een grote rol speelt in de ontwikkeling van artrose. Wij hebben aangetoond dat peptides, afkomstig van BMP7, in staat zijn om dit hypertrofe chondrocyt fenotype te reduceren door het aangrijpen van meerdere processen die betrokken zijn bij OA-pathofysiologie. Dit omvatte de bescherming van kraakbeen-homeostase alsmede het verminderen van de expressie van enzymen die het kraakbeen afbreken en inflammatoire factoren. Onderdrukking van het hypertrofe chondrocyt fenotype door BMP7 is afhankelijk van NKX3-2, en wij toonden aan dat bioactiviteit van de BMP7-afgeleide peptides p[63-82] and p[113-132] op het chondrocyt hypertrofe fenotype ook afhankelijk is van NKX3-2, wat aangeeft dat deze peptides eenzelfde werkingsmechanisme hebben als BMP7. Daarnaast hebben we aangetoond dat wekelijkse intra-articulaire injecties met p[63-82] beschermden tegen kraakbeen-schade en artrose-geassocieerd pijngedrag verminderde in een ratten artrose-model, wat de klinische toepasbaarheid van de peptides vergroot.

Naast de breed-geaccepteerde rol van het hypertrofe chondrocyt fenotype, is er ook aangetoond dat het fibrotische chondrocyt fenotype een rol speelt in het late stadium van artrose. Wij demonstreren dat BMP7 het fibrotische chondrocyt fenotype reduceert waarbij een moleculaire as, bestaande uit Smad3-PAI1-MMP2-activiteit betrokken is. Deze resultaten wijzen op een mogelijke dubbele activiteit van BMP7 in chondrocyten, door niet alleen op het hypertrofe, maar ook op het fibrotische chondrocyt fenotype aan te grijpen. Dit laat de klinische relevantie zien van het gebruik van BMP7-bioactiviteit voor artrose-modificatie.

Een belangrijk deel van de extracellulaire matrix van articulaire kraakbeen bestaat uit eiwitten. Als gevolg hiervan, is de regulatie van eiwit-translatie een potentieel belangrijk homeostatisch cellulair proces in het behouden van de kraakbeen integriteit. Wij hebben aangetoond dat eiwit translatie en expressie van U3 snoRNA verlaagd zijn in OA chondrocyten en dat de expressie van U3 snoRNA positief gekoppeld is aan de eiwit-translationele activiteit in chondrocyten. Blootstelling van chondrocyten aan BMP7 resulteerde in verhoogde U3 snoRNA expressie

levels, wat leidde tot een verhoogde eiwit-translationele capaciteit van de chondrocyten. BMP7 verhoogde de eiwit-translationele capaciteit in chondrocyten door het verhogen van de chondrocyt rRNA levels via stimulatie van de rDNA promotor activiteit met NKX3-2. Gecombineerd bieden onze bevindingen een eerste inzicht in de interactie van BMP7 en eiwit-translationele processen in de chondrocyt.

Samengevat demonstreren de studies beschreven in deze thesis hoe BMP7 bioactiviteit verschillende OA chondrocyt fenotypes kan beïnvloeden en hoe deze bioactiviteit potentieel gebruikt kan worden in de behandeling van artrose. We hebben peptides geïdentificeerd die de bioactiviteit van BMP7 nabootsen en het chondrocyt fenotype in artrose positief kunnen beïnvloeden. Daarnaast toonden we een link aan tussen BMP7 en de eiwit-translationele capaciteit van chondrocyten. Deze nieuwe biomoleculaire kennis kan nieuwe opties bieden voor de verdere ontwikkeling van toekomstige ziekte-modificerende artrose-behandelingen.