

Diss. ETH No. 18385

**COOPERATIVE FUNCTIONS OF
FIBROBLAST GROWTH FACTOR RECEPTORS 1 AND 2
IN LIVER HOMEOSTASIS AND REGENERATION**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Sciences

presented by

FRIEDERIKE BÖHM

Dipl. Biol.

born May 5, 1979
from Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Sabine Werner, examiner

Prof. Dr. Wilhelm Krek, co-examiner

2009

Zusammenfassung

Die Leber ist das grösste innere Organ des Körpers und erfüllt viele wichtige und komplexe Aufgaben, wie Kontrolle des Metabolismus, Speicherung von Nährstoffen und Detoxifizierung von endogenen und exogenen Substanzen. Sie ist das einzige Organ in Säugern, das nach einer Verletzung durch Aktivierung eines komplexen molekularen Programms wieder vollständig regenerieren kann. Der Regenerationsprozess ist auf zellulärer Ebene gut beschrieben, aber die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen und die Gene, die den Prozess steuern, sind noch weitgehend unbekannt.

FGFs sind wichtige Regulatoren der Organentwicklung, Gewebshomöostase und -reparatur. Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Rolle dieser Faktoren in der adulten Leber zu untersuchen. Dafür wurden Knockoutmäuse generiert, denen FGFR1, FGFR2 oder beide Rezeptoren in Hepatozyten fehlen. Sowohl Einzelknockoutmäuse als auch Doppelknockoutmäuse waren lebensfähig und fertil. Sie zeigten unter normalen Haltungsbedingungen keinen offensichtlichen Phänotyp. Überraschenderweise zeigten die Doppelknockoutmäuse eine reduzierte Entzündungsantwort nach akuter Toxin-induzierter Leberschädigung, während die nach chronischer Toxinbehandlung auftretende Fibrose durch das Fehlen der FGF Rezeptoren nicht beeinflusst wurde. Nach partieller Hepatektomie konnte man jedoch schwere Lebernekrosen in den Doppelknockoutmäusen beobachten, die zum Tod von mehr als 40% der Tiere zwischen 24h und 48h nach der operativen Entfernung von 70% der Leber führten. Diese Ergebnisse zeigen, dass FGFR1 und FGFR2 kooperieren und dadurch die Überlebensrate der Hepatozyten nach partieller Hepatektomie verbessern. Die erhöhte Letalität war nicht auf eine verminderte Zellproliferation zurückzuführen. Vielmehr war die Aktivierung von wichtigen pro-mitogenen und anti-apoptischen Signaltransduktionswegen verzögert. Diese Resultate weisen auf eine Rolle von FGFR1 und FGFR2 in der „priming“ Phase nach partieller Hepatektomie hin. Zusätzlich war die Operations-induzierte Hochregulierung von wichtigen Transkriptionsfaktoren beeinträchtigt, die den Lipidmetabolismus sowie Entgiftungsprozesse kontrollieren. Dies führte zu einer gestörten Energiehomöostase und unzureichender Detoxifizierung von endogenen

und exogenen Substanzen. Das verbleibende Lebergewebe war daher nicht mehr in der Lage, die essentiellen metabolischen und Entgiftungsfunktionen auszuüben.

Im zweiten Teil der Dissertation wurden Mäuse generiert und charakterisiert, denen nur die FGFR2-IIIb Splice-Variante auf den Hepatozyten fehlt. Die Ergebnisse zeigen eine wichtige Funktion dieses Rezeptors beim Schutz vor der Entwicklung einer Fettleber, die nach Fütterung einer Methionin-Cholin-defizienten Diät oder durch Alterung der Mäuse entsteht.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Dissertation neue und unerwartete Funktionen von FGF Rezeptoren sowohl bei der Verhinderung von Steatose in der Leber als auch bei der Reparatur der Leber nach Verletzung durch toxische Substanzen oder partielle Hepatektomie. Diese Resultate sprechen für eine mögliche therapeutische Anwendung von FGFs oder anderer Aktivatoren der FGF Rezeptor Signaltransduktion zur Prävention der Fettleberbildung bei Risikopatienten sowie zur Verbesserung der Leberregeneration nach Entfernung grosser Teile der Leber, z.B. bei Patienten mit Lebermetastasen.

Summary

The liver is the largest internal organ of the body and fulfills many important and complex functions, including regulation of metabolism, storage of nutrients, and detoxification of endogenous and exogenous compounds. It is the only organ in mammals, which can fully regenerate after injury through activation of a complex cellular and molecular program. The regeneration process has been well described at the cellular level, but the underlying molecular mechanisms and the genes, which orchestrate this process, are still largely unknown.

Since fibroblast growth factors (FGFs) are crucial regulators of organ development, homeostasis and repair, it was the goal of my thesis to study the role of these growth and differentiation factors in the adult liver. For this purpose I generated mice lacking FGF receptor (FGFR)1, FGFR2 or both receptors in hepatocytes. The single and double knockout mice were viable and fertile, and they did not reveal abnormalities under non-challenged conditions. Surprisingly, the inflammatory response was even reduced after acute toxin-induced liver injury in the double knockout mice, whereas development of fibrosis after chronic liver injury was not affected. Upon partial hepatectomy, however, severe liver necrosis was observed in the double knockout mice, resulting in death of more than 40% of the animals between 24h and 48h after removal of liver tissue. These abnormalities were not observed in single knockout mice, suggesting that FGFR1 and FGFR2 cooperate to enhance survival of hepatocytes after partial hepatectomy. The increased lethality did not result from reduced cell proliferation. However, the injury-induced activation of major pro-mitogenic and anti-apoptotic signaling pathways was delayed, revealing a role of FGFR1 and FGFR2 in the priming phase after partial hepatectomy. In addition, upregulation of major transcriptional regulators involved in lipid metabolism and detoxification was suppressed in the double knockout mice, resulting in impaired energy homeostasis and detoxification of endogenous and exogenous compounds. Therefore, the residual liver tissue is no longer able to fulfill the essential functions required for survival.

In the second part of my thesis, I generated and characterized mice lacking only the epithelial splice variant of FGFR2 (FGFR2-IIIb) in hepatocytes. The results revealed an important function of this receptor in the protection from steatosis that occurs upon aging and from steatohepatitis induced by feeding with a methionine-choline-deficient diet.

Taken together, the results obtained in this thesis identified novel and unexpected functions of FGF receptor signaling in the prevention of steatosis in the liver as well as in the repair of this tissue after surgery-induced liver injury. These findings suggest that therapeutic treatment with FGFs or other agents that activate FGFR signaling may be a promising strategy to prevent liver steatosis and to enhance the survival rate of patients after surgical removal of large amounts of liver tissue, for example in patients with liver metastases.