

# Hepatocyte growth factor (HGF) riduce l'espressione di fattori profibrotici in glomeruli umani isolati

C. Esposito, B. Parrilla, A. De Mauri, F. Cornacchia, G. Fasoli, A. Foschi, T. Mazzullo, A.R. Plati, R. Scudellaro, A. Dal Canton

Unità Operativa di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, IRCCS Policlinico San Matteo, Università degli Studi di Pavia, Pavia

## Riassunto

**Premesse.** Una alterazione della sintesi e/o della degradazione della matrice mesangiale causa glomerulosclerosi e insufficienza renale cronica. HGF è un fattore di crescita coinvolto nella angiogenesi, morfogenesi e organogenesi che modula il turnover della matrice extracellulare. Recentemente è stato dimostrato che HGF riduce la progressione del danno renale in modelli animali di nefropatia cronica. Scopo di questo studio è stato valutare l'effetto di HGF sul turnover della matrice extracellulare e sulla espressione del suo recettore c-met in glomeruli umani isolati.

**Metodi.** Glomeruli umani isolati per microdissezione da reni da trapiantare venivano lavati e incubati con mezzo di coltura contenente HGF (50 ng/mL) per 24 ore a 37°C. Glomeruli incubati senza HGF erano utilizzati come controllo. Dopo 24 ore veniva misurata l'espressione della catena  $\alpha 2$  del collagene tipo IV, di TGF- $\beta$ , della metalloproteasi 9 (MMP9), dell'inibitore tissutale delle metalloproteasi TIMP-1 e di c-met mediante trascrizione inversa *in situ* e Polymerase Chain Reaction. La  $\beta$ -actina veniva utilizzata come gene controllo.

**Risultati.** I livelli di collagene tipo IV e TGF- $\beta$  erano ridotti dal trattamento con HGF. L'espressione di MMP9 e c-met non era variata mentre erano ridotti i livelli di mRNA per TIMP-1. All'esame istologico i reni utilizzati per lo studio non mostravano alterazioni.

**Conclusioni.** In conclusione HGF riduce l'espressione di componenti della matrice extracellulare e di fattori profibrotici, mentre non modifica le metalloproteasi confermando il suo ruolo protettivo nella glomerulosclerosi.

**PAROLE CHIAVE:** HGF, Fibrosi, Glomeruli, TGF-

## HGF and glomerulosclerosis

**Background.** The imbalance between the synthesis and degradation of the mesangial matrix causes glomerulosclerosis and ultimately leads to chronic renal failure. HGF is a pleiotropic cytokine involved in angiogenesis, morphogenesis, organogenesis, and bone remodeling. Recently, we and other investigators have shown that HGF has a central role in the recovery of acute renal failure. Furthermore, HGF treatment halts the progression of kidney disease in a murine model of chronic renal failure. The aim of the present study was to evaluate the effect of HGF on the mRNA levels of molecules involved in the extracellular matrix turnover and of the c-met receptor in isolated human glomeruli.

**Methods.** Human glomeruli were isolated by microdissection from donor kidney biopsies just before transplantation. Glomeruli were extensively washed and incubated with culture media containing HGF (50 ng/mL) for 24 h at 37°C. Glomeruli incubated without HGF were used as controls. After 24 h, glomeruli were washed and frozen and thawed three times. The expression of c-met,  $\alpha 2$  IV collagen, TGF- $\beta$ , metalloproteases 9 (MMP9), and of the inhibitor of metalloproteases-1, TIMP-1 was evaluated by *in situ* reverse transcription (RT) and polymerase chain reaction (PCR).  $\beta$ -actin was used as a housekeeping gene.

---

**Results.** The  $\alpha 2(\text{IV})$  collagen mRNA level was decreased by HGF in human glomeruli. TGF- $\beta$  and TIMP-1 gene expression was markedly reduced by HGF treatment, whereas the expression of MMP-9 and c-met did not change. Under light-microscopic examination, kidney biopsies showed neither glomerular hypercellularity nor mesangial expansion.

**Conclusions.** HGF treatment reduces the expression of extracellular matrix components and of profibrotic factors in human glomeruli. Our results confirm a protective role of HGF in glomerulosclerosis. (*G Ital Nefrol* 2003; 20: 376-81)

**KEY WORDS:** HGF, Fibrosis, Glomeruli, TGF-