



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Influencing the homing and differentiation of MNCs in hereditary hemorrhagic telangiectasia

Dingenouts, C.K.E.

Citation

Dingenouts, C. K. E. (2019, February 27). *Influencing the homing and differentiation of MNCs in hereditary hemorrhagic telangiectasia*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/69046>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/69046>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/69046> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Dingenouts, C.K.E.

Title: Influencing the homing and differentiation of MNCs in hereditary hemorrhagic telangiectasia

Issue Date: 2019-02-27

Nederlandse samenvatting

Hereditaire hemorragische teleangiëctasieën (HHT) of de ziekte van Rendu-Osler-Weber, is een zeldzame genetische ziekte, gekenmerkt door endotheel dysplasie dat misvormde vaten, bloedneuzen en interne bloedingen veroorzaakt. In het merendeel van de patiënten worden mutaties gevonden die zich in de genen van de TGF β superfamilie bevinden. Hierdoor ontstaat een onbalans in de TGF β signaal route doordat er niet genoeg functioneel eiwit aanwezig is. HHT type 1 (HHT1) is de meest voorkomende vorm van HHT, met de mutatie in het endoglin gen, dat codeert voor een eiwit dat functioneert als co-receptor voor TGF β , cruciaal voor neo-angiogenese en vaat-herstel.

De TGF β signaal route is een zeer gecontroleerd proces en bestaat uit veel activators en inhibitoren. Hoewel endotheel cellen en pericyten de voornaamste onderzoeksfocus waren voor HHT, is het nu bekend dat mononucleaire cellen (MNCs) ook een belangrijke rol spelen in vaat-homeostase, integriteit en herstel. Het proces waardoor MNCs worden aangetrokken naar ischemische, beschadigd of ontstoken weefsel is gereguleerd via de stroomafkomstige factor-1 (SDF1) – CXCR4 as. SDF1 wordt geproduceerd in weefsels kort na een ischemische gebeurtenis, en mobiliseert MNCs van het beenmerg naar de bloed circulatie. Vervolgens migreren CXCR4+ cellen van het bloed naar de plek van schade, gemedieerd door het volgen van de SDF1 gradiënt met zijn receptor CXCR4. Het enzym DPP4 kan SDF1 enzymatisch inactiveren, en speelt daardoor een essentiële rol in het beperken van MNC migratie, en daarmee het beperken van de ontstekingsreactie.

Er is een delicate balans tussen SDF1 en CXCR4, en verandering van een van de eiwitten of regulatoren betrokken bij hun activatie of inhibitie zal zorgen voor verminderde migratie, een defecte immuunrespons en bemoeilijkt wondheling en weefselherstel.

HHT1 werd lang gezien als een ziekte die voornamelijk de bloedvaten aantast. De laatste jaren is duidelijk geworden dat endoglin deficiëntie de functie verstoord van veel meer cel types en processen. In **Hoofdstuk 2** worden HHT genetica, etiologie en signaleringsroutes besproken, met de focus op de rol van circulerende MNCs, en zowel hun verminderde migratie en aandeel in weefselherstel in HHT perspectief.

We laten verder zien dat het inhiberen van DPP4 *in vivo* door het behandelen van *Eng*^{+/-} muizen na experimenteel geïnduceerd myocard infarct (MI) het migreren van de MNCs herstelde en het herstel van het hart op korte termijn verbeterde door vermindering van fibrose vorming in **Hoofdstuk 3**. Verder verhoogde het aantal reparatieve M2 macrofagen, wat suggereert dat DPP4 inhibitie de pro-ontstekingsrespons na een MI kon verminderen.

Door het inhiberen van BMP signalering met gebruik van LDN hadden we als doel om TGF β signalering in de *Eng*^{+/-} muizen te stimuleren in **Hoofdstuk 4**. Na *in vitro* analyse van macrofaag differentiatie bleek dat LDN behandeling het aantal reparatieve macrofagen verhoogde. Behandeling van de *Eng*^{+/-} muizen met LDN herstelde de hartfunctie en verminderde fibrose na MI. In een tweede model voor ischemie, lieten we zien dat LDN het bloedstroom herstel verbeterde in de *Eng*^{+/-} muizen. We vonden verder dat macrofaag signalering via de hoofd- en ongebruikelijke routes sterk verminderd is door endoglin deficiëntie.

Omdat macrofaag differentiatie en weefsel herstel verminderd zijn in HHT1, bestudeerden we in **Hoofdstuk 5** het effect van DPP4 inhibitie in een huidwond-model in de *Eng*^{+/-} muizen, waarbij we het herstel van de huidwond bekeken. Vergeleken met de onbehandelde dieren, toediening van een DPP4 inhibitor op het huidoppervlak zorgde ervoor dat het wondherstel

sneller verliep, en de aanwezigheid van M2 macrofagen werd verhoogd. Het fibrose niveau werd verlaagd, wat duidt op een vermindering van litteken vorming van de wonden. Verder onderzoek van intracellulaire signalering in macrofagen liet zien dat de ongebruikelijke signaleringsroute sterk was aangetast in gekweekte *Eng^{+/-}* macrofagen.

In **Hoofdstuk 6** beschrijven we de abnormale epicardiale reactie na myocard schade in de HHT1 muizen. In deze studie analyseerden we de compositie en het gedrag van de epicardiale laag op verschillende tijdstippen na MI, en vonden dat het verdikken van de epicardiale laag is vertraagd. Verder bleek het epicard hyperactief in de reactie op ischemische schade van het hart. Behandeling van de *Eng^{+/-}* muizen met een DPP4 inhibitor verminderde het verdikken van het epicardium en verhoogde het percentage macrofagen aanwezig in het grenszone van het myocard infarct.

In conclusie, in dit proefschrift zijn verschillende doelen en aanpakken bestudeerd om de HHT1-MNC migratie en differentiatie te beïnvloeden, om de bijdrage aan weefselherstel te verbeteren. In verschillende experimentele methoden die ischemische of direct weefselschade veroorzaken, probeerden we weefsel herstel te verhogen in de *Eng^{+/-}* muizen. Door middel van DPP4 inhibitie konden we de SDF1-CXCR4 signaal verhogen, en daarmee de migratie capaciteit van de HHT1-MNCs herstellen. Verder focusten we op het herstellen van de verstoorde balans van de M1/M2 macrofaag differentiatie in de *Eng^{+/-}* muizen. Gebruikmakend van de BMP receptor inhibitor LDN hadden wij als doel de verstoorde BMP/TGF β signalering te herstellen; door het stimuleren van de TGF β signaal route konden wij de differentiatie van M2 macrofagen induceren. We concluderen dat DPP4 inhibitie kan worden gebruikt om het HHT1 immuunsysteem te herstellen en weefselherstel te verbeteren, maar DPP4 inhibitie kan het beste worden ingezet in combinatie met andere medicatie of therapieën die hart of ander weefselherstel stimuleren, zoals antistollingsmiddelen of celtherapie.