



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Neuroimmune guidance cues for vascular health

Zhang, H.

Citation

Zhang, H. (2021, June 1). *Neuroimmune guidance cues for vascular health*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3176518>

Version: Publisher's Version

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

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3176518>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/3176518> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Zhang, H.

Title: Neuroimmune guidance cues for vascular health

Issue date: 2021-06-01

Chapter 8

Nederlandse Samenvatting

Nederlandse Samenvatting

Ondanks aanzienlijke vooruitgang in de behandeling, blijven hart- en vaatziekten een van de meest voorkomende doodsoorzaken. Atherosclerose, ook wel bekend als aderverkalking, is een proces dat centraal staat binnen de cardiovasculaire ziekten en is gekenmerkt door excessieve ophoping van vetten en immuun cellen in de vaatwand (plaques). De belangrijkste strategie om mortaliteit door atherosclerose te verminderen is het corrigeren van dyslipidemie (afwijkingen in de samenstelling van vetten, waaronder triglyceriden en cholesterol, in het bloed). De meest succesvolle en meest gebruikte interventie is de remming van de aanmaak van cholesterol door statines. Additionele behandeling met een antilichaam tegen PCSK9 kan de cholesterol niveaus nog verder verlagen. Ondanks de mogelijkheid tot het corrigeren van cholesterol levels, is er echter nog steeds een aanzienlijk risico op cardiovasculaire ziekten.

Naast de cholesterolverlagende strategie, is er steeds meer onderzoek naar strategieën die ingrijpen op de immunologische reacties, ontstekingsreacties, die plaatsvinden bij atherosclerose. Behandeling met Canakinumab (een antilichaam tegen IL-1 β) bleek hart- en vaatziekten met 16% te verlagen. Ondanks een toename in het aantal (dodelijke) infecties als gevolg van een verminderde afweer van de patiënt, toont deze studie het belang van ontstekingsreacties bij atherosclerose. Verder is het bekend dat atherosclerotische plaques zich vaak ontwikkelen in gebieden met onregelmatige bloedstroming, zoals bloedvat vertakkingen, terwijl het overige vatenstelsel relatief onaangedaan is. Dit duidt op een rol voor endotheelcellen, cellen die de binnenwand van de bloedvaten bekleeden, bij het ontstaan van atherosclerose. Bovenstaande ontwikkelingen stimuleren onderzoeksinspanningen om diepere inzichten te verkrijgen in de bijdrage van endotheelcellen en ontstekingsreacties in de pathogenese van atherosclerose om het resterende risico op hart- en vaatziekten verder aan te pakken.

Neuronal guidance cues (NGC's) zijn een verzameling van receptoren en liganden die een belangrijke rol hebben bij de embryonale ontwikkeling van zowel het zenuw- als bloedvatenstelsel. Door een samenspel van aantrekkende en afstotende signalen naar cellen, regisseren NGC's de patroonvorming van deze stelsels. Afhankelijk van de context worden NGC's ook wel neuronal guidance eiwitten (naar hun moleculaire eigenschap), axonal guidance cues (naar hun oorspronkelijke functie) of zelfs neuro-immune guidance cues (naar hun later gevonden rol in de immunologie) genoemd. De NGC's bestaan uit 4 families van liganden,

namelijk netrin, semaphorin, slit en ephrin. Binding van deze liganden aan hun diverse receptoren, met verschillende specificiteit en affiniteit, leidt tot een complexe stroom aan signalen in de betrokken cellen. Een groot deel van deze signalen resulteert in veranderde activiteit van GTPase enzymen, welke de organisatie van het cytoskelet van de cel reguleren waarmee NGC's hun aantrekkende en afstotende effect kunnen realiseren. Naast de rol van NGC's tijdens de ontwikkeling, zijn ook functies van NGC's beschreven in zowel volwassen endotheel- als immuun cellen, wat ook de focus van dit proefschrift is. Met de kennis in dit proefschrift demonstreer ik de relevantie van NGC's in de vasculaire biologie vanuit fundamentele celbiologie tot aan hart- en vaatziekten patiënten.

In **Hoofdstuk 2** wordt een gedetailleerd literatuuroverzicht gegeven van de functies van semaphorin en netrin NGC's in volwassen endotheelcellen. Op basis van transcriptomic gegevens verkregen op het GPL570-platform, is de gemiddelde expressie van semaphorins en netrins vermeld. Verder wordt in dit hoofdstuk de rol van semaphorin en netrin NGC's in verschillende functies van endotheelcellen, zoals barrièrefunctie en de controle van bloeddruk, samengevat. Uit zowel het literatuuronderzoek als eigen experimenten viel op dat op bijna alle verschillende soorten endotheelcellen een hoge expressie van SEMA3F en NTN4 hebben. Er was echter minder bekend over de functie van deze twee specifieke NGC's in volwassen en gezonde endotheelcellen.

In **Hoofdstuk 3 en 4** is dan ook de regulatie en functie van SEMA3F en NTN4 in endotheelcellen onderzocht. De expressie niveaus van zowel SEMA3F als NTN4 worden gereguleerd door ontstekingsfactoren en hemodynamische factoren. In **Hoofdstuk 3** wordt beschreven hoe vermindering van SEMA3F, door een verandering in het cytoskelet, de endotheel barrièrefunctie vermindert. Verder is aangetoond dat monocytten de SEMA3F receptoren NRP2, PLXNA1 en PLXNA3 tot expressie brengen en dat aanwezigheid van SEMA3F de migratie van monocytten remt. In **Hoofdstuk 4** is beschreven dat dat verlaagde expressie van NTN4 leidt tot een verouderd fenotype van endotheelcellen. Aanwezigheid van NTN4 in de extracellulaire matrix verhoogt het vermogen van endotheelcellen om aan de matrix te hechten en bevordert de overleving van endotheelcellen. Beide studies tonen het belang van de twee NGC's in de endotheelcelbiologie aan.

NGC's blijken ook een rol te spelen in de biologie van monocytten. Differentiatie van monocytten naar macrofagen is een kritisch proces tijdens de ontwikkeling van atherosclerose. **Hoofdstuk 5** beschrijft dan ook een uitgebreide meta-analyse van NGC-genexpressie tijdens

deze differentiatie. Onze analyse bevestigt de betrokkenheid van NGC's in het differentiatieproces van monocytten tot macrofagen. De verandering van het NGC-expressieprofiel komt overeen met de noodzakelijke functieaanpassingen voor klassiek geactiveerde macrofagen. Ontstekingsstimulerende NGC's, zoals SEMA7A, worden verhoogd in macrofagen, terwijl ontstekingsremmende NGC's, zoals SEMA4D, worden verminderd. Daarnaast hebben we geconstateerd dat de NGC-receptoren die verantwoordelijk zijn voor cel migratie meer tot expressie worden gebracht door het differentiatie proces. Vervolgens hebben we de regulatie van NGC expressie niveaus door het RNA bindende eiwit quaking (QKI) onderzocht en hebben we een regulerende hotspot in het 3'UTR van het SEMA7A-transcript gevonden. Competitieve binding van een cluster van microRNA's en QKI op deze hotspot reguleren mogelijk de expressie van SEMA7A. De in silico-voorspelling dat SEMA7A wordt gereguleerd door QKI wordt bevestigd met laboratoriumwaarnemingen.

Gezien de implicaties van NGC's in monocyt functie, hebben we vervolgens de relevantie van NGC expressie door monocytten gevalideerd met behulp van een cohort van patiënten met coronaire vaatziekte. In **Hoofdstuk 6** wordt de voorspellende kracht van NGC-expressie van monocytten in het bloed bepaald. Met behulp van voorspellende modelleringsmethoden waren we in staat om modellen te vinden die patiënten met hart- en vaatziekten correct kunnen onderscheiden van gezonde individuen. Dit laat zien dat de NGC expressie van monocytten voldoende informatie bevat voor de ziektestatus van de patiënten in dit cohort. Dit geeft een duidelijke link tussen NGC expressie van monocytten en een klinisch fenotype bij hart- en vaatziekten patiënten.

De resultaten beschreven in dit proefschrift over de expressie, regulatie en functie van NGC's in endotheelcellen en monocytten (de twee celtypen die een hoofdrol spelen bij de ontwikkeling van atherosclerose) leveren bewijs voor een centrale rol voor NGC's in vasculaire biologie en daarmee ook hart- en vaatziekten. Deze bevindingen vormen een basis voor toekomstig onderzoek naar NGC's als nieuwe mogelijkheid bij behandeling van atherosclerose.