



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Bioengineering and biophysics of viral hemorrhagic fever

Tang, H.

Citation

Tang, H. (2023, September 19). *Bioengineering and biophysics of viral hemorrhagic fever*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3641674>

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/1887/3641674>

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

Summary (in Dutch)

Virale hemorrhagische koorts (VHK) is een uiterst besmettelijke en levensbedreigende ziekte die wordt veroorzaakt door een groep virussen, waaronder Ebola-, Lassa- en Denguevirussen. Het aantal en de verspreiding van virussen waarvan bekend is dat ze VHK veroorzaken neemt steeds toe mede als gevolg van globalisering en klimaatverandering. Met beperkte effectieve behandelingen of vaccins zijn we echter niet voorbereid om toekomstige virusuitbraken te voorkomen. Een beter begrip van de pathogenese en de ontwikkeling van nieuwe hulpmiddelen zijn dus nodig om de uitwerking van therapeutische en preventieve strategieën te begeleiden. De belangrijkste virale doelwitten in VHK zijn vasculaire endotheelcellen en macrofagen; de betrokkenheid van vasculair endotheel en de verstoring van de integriteit van de vasculaire barrière is erkend als een algemeen pathologisch kenmerk. Bovendien kunnen de afwijkende door geïnfecteerde macrofagen geproduceerde cytokines op hun beurt de vasculaire permeabiliteit verstoren, zoals geïntroduceerd in **Hoofdstuk 1**. Huidig onderzoek naar VHK-pathogenese wordt belemmerd door het ontbreken van geschikte experimentele modellen of analysebenaderingen; daarom is dit proefschrift gericht op het ontwikkelen van bioanalytische, lab-on-chip en eencellige assays om VHK-virus-geïnduceerde veranderingen in de vasculaire biologie en het immunometabolisme van macrofagen te onderzoeken.

In **Hoofdstuk 2** hebben we een overzicht gegeven van Organ Chips die een veelbelovend handvat bieden voor het reproduceren van verschillende fenotypes van virale ziekten. Organ Chips werden al toegepast om enkele aspecten van virale infectie te onderzoeken, waaronder virus-gastheer-interacties, evolutie van virale therapieresistentie en ontwikkeling van nieuwe antivirale therapieën, evenals onderliggende pathogenese. Om specifieke gastheer-microbe-interacties na te bootsen, zijn verschillende Organ Chip-platforms, waaronder lever, darm, zenuwstelsel, nier, long en microvaten (zoals beschreven in dit proefschrift) ontwikkeld om verschillende virale pathogene processen te bestuderen. De mogelijkheid om door virussen veroorzaakte ziekten live en met hoge resolutie te bestuderen, kan nieuwe wegen openen om virale pathogenese in een voor de mens

relevante omgeving bloot te leggen en kan uiteindelijk de ontwikkeling van nieuwe therapieën en vaccins mogelijk maken.

De ontwikkeling van modellen die de structuur en functies van menselijke microvaten nabootsen, is essentieel voor het bestuderen van de pathogenese en therapeutische benaderingen voor VHK-ziekte-geassocieerde vasculopathie. In **Hoofdstuk 3** hebben we het allereerste model voor de ebolavirusziekte op een chip gepresenteerd. Het model recapituleert endotheliale disfunctie geassocieerd met het Ebola hemorrhagische shocksyndroom via de Rho / ROCK-signaalroute-activering en daaropvolgende veranderingen in actine-stressvezels. Bovendien toonden onze gegevens aan dat het ebolaglycoproteïne een cruciale rol speelt in dit proces. Ten slotte hebben we ook de toepasbaarheid van dit platform voor farmacologische studies aangetoond door de werkzaamheid te bestuderen van twee experimentele kandidaat-geneesmiddelen, FX06 en melatonine, bij fenotypisch herstel.

Een ander voorbeeld gaven we in **Hoofdstuk 4**, waarin we het eerste Organ Chip-model voor het Lassa hemorrhagisch syndroom hebben ontwikkeld. Dit model maakt de modellering van door Lassa geïnduceerde vasculaire fenotypes mogelijk en biedt een in vitro platform voor geneesmiddelenonderzoek. Luminale infusie van Lassa VLP's leidt tot een dramatische toename van de vasculaire permeabiliteit, afhankelijk van de virale concentratie, evenals veranderingen in actine-stressvezels. Bovendien is FX06 ook in staat om het door Lassa veroorzaakte vasculaire integriteitsverlies te onderdrukken. Deze bevindingen versterken het concept dat ons platform kan worden toegepast om VHK-geassocieerde microvasculaire pathofysiologie te bestuderen en preklinische geneesmiddelenevaluatie uit te voeren.

Er wordt gespeculeerd dat de schade aan vasculaire endotheelcellen door NS1 betrokken is bij de pathogenese van dengue-virusziekte. In **Hoofdstuk 5** werden twee op microfluidica gebaseerde technieken, namelijk microvat-op-een-chip en akoestische krachtspectroscopie, toegepast om respectievelijk de directe bijdrage van Dengue NS1 aan de vasculaire permeabiliteit te bestuderen evenals de veranderingen van visco-elastische eigenschappen

van endotheelcellen. De resultaten tonen aan dat NS1 voor een dramatische toename van de permeabiliteit van de gemanipuleerde microvaatjes zorgt, waarbij reorganisatie van VE-cadherine en F-actine stressvezels gepaard gingen met verhoogde hyaluronan-biosynthese, evenals een significante afname van de stijfheid van endotheelcellen. Over het algemeen ontdekten we dat NS1-gemedieerde mechanische veranderingen een sleutelement zijn van de dengue-virusziekte.

Naast de toepassing van orgaan- en lab-op-een-chip-technologieën om mechanische veranderingen veroorzaakt door VHK te onderzoeken, kan ook metabolomics veel nieuwe informatie verstrekken over zowel endotheelcellen als macrofagen. In **Hoofdstuk 6** hebben we de metabole veranderingen van primaire menselijke endotheelcellen, evenals M1- en M2 macrofagen na blootstelling aan Ebola VLP onderzocht. Om dit te bereiken, werd een directe-infusie massaspectrometrie-gebaseerde ongerichte cellulaire metabolische methode toegepast. Metabolische analyse toonde aan dat blootstelling aan ebola VLP de metabole homeostase van de drie celtypen op een celspecifieke manier brak en de vetzuur-, steroïde- en aminozuurgerelateerde metaboliseroutes aanzienlijk beïnvloedde.

M1/M2 zijn de twee belangrijkste en tegengestelde typen van macrofagen, de metabole verschillen zijn cruciaal voor hun verschillende functionele eigenschappen. Dergelijke inzichten waren vanwege technische beperkingen echter sterk afhankelijk van bulkmetingen. **Hoofdstuk 7** zet een eerste stap in het ontwikkelen van de mogelijkheid om metabole profielen van M1 en M2 macrofagen direct te meten op eencellig niveau. De op live eencellige massaspectrometrie gebaseerde metabolische profilering in combinatie met een machine learning data-analysebenadering werd hier voor het eerst ontwikkeld en toegepast. Onze resultaten demonstreren unieke metabole kenmerken van respectievelijk M1 en M2 macrofagen en onthullen verschillende niveaus van vetacylen, glycerofosfolipiden en sterollipiden. Deze methodologie slaagde erin om deze metabolische handtekeningen te benutten om elk fenotype te classificeren met een hoge mate van selectiviteit en gevoeligheid.

Concluderend, zoals geïllustreerd in dit proefschrift, bieden de hier ontwikkelde orgaanchips en hoge-resolutie eencellige analyseplatforms fundamenteel nieuwe benaderingen voor de evaluatie van experimentele therapeutische strategieën. We ontdekten ook dat VHK een mechanische ziekte is en dat mechanische uitlezingen kunnen dienen als fysieke biomarkers voor ziekteanalyse. Bovendien hebben we aangetoond dat chemische biomarkers hier informatief zijn, en dat massaspectrometrie met directe infusie interessante kenmerken van de respons van gastheercellen op de virale pathogenen kan onthullen. Deze proof-of-concept studie zal hopelijk nieuwe wegen openen naar toekomstig onderzoek dat de door pathogenen geïnduceerde hervorming van het immunometabolische landschap van heterogene macrofaagpopulaties kan onthullen.