



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Modeling vascular disease using self-assembling human induced pluripotent stem cell derivatives in 3D vessels-on-chip**

Nahon, D.M.

### **Citation**

Nahon, D. M. (2024, June 26). *Modeling vascular disease using self-assembling human induced pluripotent stem cell derivatives in 3D vessels-on-chip*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3765789>

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/1887/3765789>

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

## Nederlandse samenvatting

Een goed functionerend bloedvaten systeem is essentieel voor de gezondheid van elk onderdeel van ons lichaam. Het transporteert de benodigde zuurstof, voedingsstoffen en immuuncellen naar alle organen en verwijdert de schadelijk afvalstoffen. Ze bestaan uit een enkele laag cellen, genaamd endotheel cellen (ECs), en worden ondersteund gladde spiercellen of pericyten. De precieze samenstelling en functionaliteit van de vaten verschilt per orgaan en is van grote invloed in een groot aantal ziektebeelden.

Vasculaire ziektes vormen een aanzienlijke last op de maatschappij, grotendeels vanwege het gebrek aan effectieve behandelingsmethode. Een belangrijke reden hiervoor is het tekortschieten van de huidige preklinische modelsystemen. Traditionele modellen, zoals muizen of gekweekte cellen in een plastic petrischaaltje, repliceren vaak niet nauwkeurig de menselijke fysiologie. Muizen komen qua complexiteit weliswaar in de buurt van mensen, maar naast de ethische bezwaren, zijn er vaak ook belangrijke mens-specifieke aspecten in veel complexe ziektes. Gekweekte cellen in petrischaaltjes hebben wel de menselijk achtergrond, maar missen de complexiteit van een functioneel volwassen orgaan, met zijn 3D en multi-cellulaire structuur. Organen-op-Chip (OoC), is een innovatie technologie die microscopische kweekomgevingen gebruikt om functies van organen realistischer na te bootsen. Dit wordt bereikt door een of meerdere fysiologische stimuli, zoals, bloedstroom, weefselrekking of 3D orgaanstructuur te reproduceren. In deze chips kunnen verschillende cellen gegroeid worden. Hoewel veel verschillende soorten cel bronnen hiervoor kunnen worden gebruikt, zijn humane geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSCs) bijzonder aantrekkelijk met het oog op toekomstige ziektemodellen en medicijnontwikkeling. Deze hiPSCs kunnen in het lab worden gecreëerd door de herprogrammering van normale menselijk cellen van elk individu en hebben de capaciteit om te ontwikkelen ('differentiëren') tot bijna alle gespecialiseerde celtypes. Omdat deze cellen de genetische achtergrond van de donor behouden, zijn ze uitermate geschikt voor onderzoek naar erfelijke ziektes. In dit proefschrift differentiëren wij hiPSCs van patiënten met neuro-vasculaire aandoeningen tot vasculaire cellen, met als doel ze te gebruiken in de ontwikkeling van zogenaamde (bloed) Vaten-op-Chip (VoC) modellen.

In hoofdstuk 1 en 2 van dit proefschrift introduceren wij OoC en hiPSCs en beschrijven wij de huidige beperkingen in het veld van OoC. Specifiek benadrukken wij in hoofdstuk 2 dat de (industriële) adoptie van OoCs in ziektemodellering en medicijnontwikkeling versneld zou worden als onderzoekers meer aandacht besteden aan de vergelijking met fysiologische humane data bij het opzetten en interpreteren van experimenten. We bespreken welke OoC data al goed overeenkomen met humane gegevens en belichten opkomende technologische ontwikkelingen die kunnen bijdragen aan een nauwkeurigere nabootsing en meting van andere orgaanfuncties.

In hoofdstuk 3 maken we gebruik van hiPSCs van een patiënt met een erfelijke vorm van cerebrale amyloïdeangiopathie (ook wel D-CAA of HCHWA-D genoemd). Deze

ziekte wordt gekenmerkt door een ophoping van het amyloïde- $\beta$  eiwit specifiek in de bloedvaten in de hersenen, wat kan leiden tot hersenbloedingen. We corrigeren de erfelijke DNA-fout in de hiPSCs van deze patiënt om vervolgstudies naar de onderliggende ziekte mechanismes mogelijk te maken.

Vergelijkbaar als in hoofdstuk 3, corrigeren we in hoofdstuk 4 de causale DNA-mutatie in hiPSCs van een patiënt die leidt aan Retinale Vasculopathie met Cerebrale Leukoencefalopathie en Systemisch manifestaties (RVCL-S). Deze zeldzame ziekte veroorzaakt instabiele kleine bloedvaten wat leidt tot symptomen in verschillende organen, waaronder de hersenen. Om de specifieke invloed van ECs in deze ziekte te onderzoeken, differentiëren we de hiPSCs van de patiënt ('zieke' cellen) en de hiPSCs met het gecorrigeerde DNA ('gezonde' cellen) tot ECs. Functioneel vertoonden de gedifferentieerde ECs geen significante verschillen. Meer onderzoek met complexere modellen is nodig om het verschil tussen ECs in deze ziekte beter te begrijpen.

In hoofdstuk 5 vergelijken we wederom 'gezonde' en 'zieke' ECs, deze keer gedifferentieerd van hiPSCs van een patiënt met de vasculaire ziekte Hereditary hemorrhagic telangiectasia (HHT). Deze aandoening leidt tot abnormale vorming van kleine bloedvaten, wat ernstig bloedverlies kan veroorzaken. Terwijl standaard tweedimensionale analyses van de ECs geen significante verschillen aantoonde, identificeerden we wel verschillen nadat wij de cellen hadden geïntegreerd in een complexer VoC model. De ECs vormden samen met de ondersteunende pericyten een complex 3D microvasculair netwerk in de microfluidische chips. De 'gezonde' ECs vormden grotere en stabielere bloedvaten met meer directe interacties met de ondersteunende pericyten dan de 'zieke' ECs. Dit gebrek aan stabiliteit en interactie komen overeen met patiënt data en ondersteunen daarmee de meerwaarde van dergelijk complexe VoC modellen.

Aangezien veel van de ziektes die in dit proefschrift worden besproken, specifiek de bloedvaten in de hersenen beïnvloeden, breiden we in hoofdstuk 6 het VoC model verder uit door hersen-specifieke astrocyten toe te voegen. Door, als eerste in het onderzoeksveld, astrocyten toe te voegen die ook gedifferentieerd zijn vanuit hiPSCs, wordt toekomstig onderzoek naar de invloed van astrocyten in gezonde en zieke hersenbloedvaten mogelijk. We hebben succesvol deze astrocyten geïntegreerd in het VoC model en observeerde directe interacties tussen de cellen die vergelijkbaar zijn met wat we in het menselijk lichaam zien. Bovendien hebben we aangetoond dat het nabootsen van de bloedstroom of het toevoegen van specifieke componenten aan de 'bloedstroom' in de chip, de ontwikkeling van deze VoC modellen met astrocyten kan verbeteren.

Uiteindelijk bediscussiëren we in hoofdstuk 7 de resultaten uit dit proefschrift met een toekomstperspectief. We bespreken dat de gegenereerde patiënt-specifieke hiPSCs dienen als essentiële instrumenten voor vervolgonderzoek naar deze ziektebeelden. Daarnaast ondersteunen de resultaten de potentie van VoC modellen voor het begrijpen en bestuderen van vasculaire ziektes. Ten slotte benadrukt het onderzoek ook de noodzaak om

de huidige modellen verder te verfijnen door aanvullende factoren (bijvoorbeeld immuun cel integratie of nauwkeurigere regulatie in het nabootsen van bloedstroom) te kunnen integreren, om zo nog nauwkeuriger het ziektebeeld te kunnen nabootsen. Daarnaast zijn er nog verbeteringen vereist op het gebied van standaardisatie, reproduceerbaarheid en verbeterd continu monitoren van de omstandigheden in de cellulaire VoC modellen.