



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

Understanding and Targeting Coronaviruses: exploring advanced cell culture models and host-directed antiviral strategies

Thaler, M.

Citation

Thaler, M. (2024, July 2). *Understanding and Targeting Coronaviruses: exploring advanced cell culture models and host-directed antiviral strategies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3765868>

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/1887/3765868>

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

Appendix

Nederlandse Samenvatting

English Summary

List of Publications

Curriculum Vitae

Nederlandse Samenvatting

Van de zeven coronavirussen die mensen infecteren, zijn er vier gewone verkoudheidsvirussen die slechts milde symptomen veroorzaken bij gezonde individuen, terwijl SARS-CoV, MERS-CoV en SARS-CoV-2 ernstige ziekte en dodelijke longontstekingen kunnen veroorzaken. De uitbraak van SARS-CoV-2 in 2019 en de snelle wereldwijde verspreiding ervan hebben de noodzaak van een snelle reactie op nieuw opkomende virussen en de beschikbaarheid van effectieve therapieën duidelijk gemaakt. Hoewel vaccins tegen SARS-CoV-2 met ongekende snelheid zijn ontwikkeld, zouden vroeg in de pandemie patiënten hebben geprofiteerd van de beschikbaarheid antivirale middelen. Het ademhalingsstelsel is het eerste toegangspunt voor coronavirussen. Hier worden epitheelcellen geïnfecteerd, welke tevens de eerste verdedigingsbarrière vormen. Als geavanceerd experimenteel model zijn primaire humane luchtwegepitheelcellen die gekweekt en gedifferentieerd worden aan de lucht-vloeistofinterface (HAE-ALI) beter in staat het menselijke longepitheel na te bootsen dan in monolaag gekweekte cellijnen.

In dit proefschrift worden vier onderzoeksprojecten beschreven die zijn uitgevoerd tijdens het promotietraject en zich voornamelijk richtten op SARS-CoV-2. **Hoofdstuk 1** geeft een inleiding op het algemene onderzoeksthema van de coronavirusbiologie en de ontdekking van antivirale geneesmiddelen, en het gebruik van HAE-ALI om beide te bestuderen. **Hoofdstuk 2** beschrijft de karakterisering van SARS-CoV-2-infectie in HAE-ALI. Veranderingen in de cellulaire samenstelling, veroorzaakt door de kweektijd of medicamenteuze behandeling, beïnvloedden de virusreproductie, en dit correleerde met de aanwezigheid van de belangrijkste vatbare cellen, nl. trilhaarcellen en slijmcellen, evenals de expressie van eiwitten die verantwoordelijk zijn voor virus infectie. Verder werd het belang van de samenstelling van het epitheel in de kweken vastgesteld, waarbij bleek dat slijmcellen waarschijnlijk een ondersteunende rol spelen bij infectie. De bevindingen dragen bij aan ons begrip van de verschillen in gevoeligheid voor SARS-CoV-2-infectie tussen individuen en het effect van de anatomische locatie in het ademhalingsstelsel en chronische longziekten die het epitheel aantasten op de infectie. **Hoofdstuk 3** beschrijft een vergelijkende studie waarin SARS-CoV, MERS-CoV en SARS-CoV-2, vergeleken worden met twee gewone verkoudheids-coronavirussen. In het HAE-ALI-celweekmodel werden verschillen in de epitheliale transcriptionele respons tijdens de coronavirusinfectie vastgesteld. RNA-sequentiegegevens wezen op een beperkte expressie van interferongenen bij infecties met SARS-CoV, MERS-CoV en SARS-CoV-2, terwijl de gewone verkoudheids-coronavirussen een sterkere interferon respons veroorzaakten. Uniek voor de SARS-CoV-2-infectie was het ontbreken van de expressie van een reeks vroege genen (early immediate genes) die tot expressie komen als reactie op stressoren zoals infectie. In

vervolgstudies gebaseerd op deze bevinding en gericht op 1 van de betreffende genen, NR4A1, werd een remmer geïdentificeerd die de replicatie van SARS-CoV-2 en MERS-CoV blokkeert. **Hoofdstukken 4 en 5** beschrijven twee antivirale middelen die de replicatie van SARS-CoV-2 en andere coronavirussen efficiënt blokkeren. De eerste, R-Propranolol, maakt deel uit van een geneesmiddel dat is goedgekeurd voor de behandeling van hemangiomen (goedaardige vasculaire tumoren), naast verschillende andere medische aandoeningen zoals hart- en vaatziekten. R-propranolol bleek een pro-angiogene factor te verminderen, die recentelijk in verband is gebracht met een verhoogd aantal ernstige longpathologieën bij COVID-19. Daarom zou dit medicijn interessant kunnen zijn om verder te onderzoeken als gastheer-gerichte therapie om vasculaire schade bij COVID-19 te verminderen, welke wordt veroorzaakt door endotheliale disfunctie en pathologische angiogenese. Bovendien werd een krachtig virusremmend effect van R-propranolol waargenomen tegen SARS-CoV-2 en andere coronavirussen. Hierdoor heeft het medicijn een interessante tweeledige activiteit: remming van de virusreproductie en tegengaan van gastheer processen die pathologische angiogenese veroorzaken. **Hoofdstuk 5** beschrijft een klasse van gastheergerichte antivirale middelen, glucosidaseremmers, die alfa-glucosidase enzymen remmen die zich in het endoplasmatisch reticulum (ER) bevinden en belangrijk zijn voor de eiwitvouwing en kwaliteitscontrole daarop. Veel virussen, waaronder coronavirussen, maken gebruik van de eiwitkwaliteitscontrole van de gastheer in het ER voor de productie van hun glycoproteïnen (eiwitten met suikergroepen). Voor SARS-CoV-2 is met name het spike-eiwit, dat cruciaal is voor de hechting van het virus en de infectie van de gastheercel, sterk geglycosyleerd en afhankelijk van de juiste verwerking in het ER en het Golgi-apparaat. Verschillende verbindingen werden getest, behorend tot twee klassen, de iminosuikers en cyclitolen. Hoewel iminosuikers al decennialang worden bestudeerd als mogelijke antivirale middelen, werd 1,6-epi-cyclophellitol cyclosulfaat geïdentificeerd als veelbelovende kandidaat van een nieuwe klasse glucosidaseremmers, vanwege zijn hoge specificiteit voor ER alfa-glucosidase II en krachtige antivirale werkzaamheid. Remming van ER alfa-glucosidasen leidde tot een vermindering van de productie/maturatie van spike-eiwit en bijgevolg tot een verminderde productie van infectieuze virusdeeltjes. Naast SARS-CoV-2 blokkeert 1,6-epi-cyclophellitol cyclosulfaat ook de productie van infectieuze SARS-CoV- en in mindere mate MERS-CoV deeltjes, waardoor deze klasse van verbindingen veelbelovende breedspectrum antivirale moleculen zijn. In het laatste hoofdstuk worden de belangrijkste bevindingen van de onderzoeksprojecten besproken, mede in de context van recent gepubliceerde studies. Bovendien wordt de huidige stand van zaken van de gastheergerichte antivirale therapie voor SARS-CoV-2 besproken en worden de voordelen van het gebruik van de meest relevante en geavanceerde celweekmodellen bij de ontwikkeling van antivirale geneesmiddelen besproken.