



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Inflammatory and metabolic features of stromal cell subtypes in inflammatory bowel disease

Zhou, Z.

Citation

Zhou, Z. (2025, January 8). *Inflammatory and metabolic features of stromal cell subtypes in inflammatory bowel disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4176238>

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/1887/4176238>

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

APPENDIX

Nederlandse Samenvatting
Acknowledgements
Curriculum Vitae
List of Publications

Inflammatoire darmziekte (IBD) is een chronische, immuun-gemedieerde ziekte met een variërend en soms ernstig ziekteverloop. Kenmerkend voor IBD is het wisselende beloop: periodes van remissie wisselen zich af met periodes van opvlamming. IBD omvat colitis ulcerosa (UC) en de ziekte van Crohn (CD). UC beperkt zich tot ontsteking van de binnenste twee lagen van de wand van de dikke darm. De ontsteking begint in het laatste deel van de darm (het rectum) en bij ongeveer 46% van de patiënten blijft de ziekte ook beperkt tot het rectum. Bij ongeveer 37% van de patiënten is de hele dikke darm betrokken. CD kan voorkomen in het gehele spijsverteringskanaal en manifesteert zich als een niet-continue ontsteking van de volledige darmwand. De meest voorkomende locaties waar CD optreedt zijn het terminale ileum (laatste deel van de dunne darm), de dikke darm en het perianale gebied. In de afgelopen decennia is er een stijgende incidentie en prevalentie van IBD.

De ontstaanswijze van IBD wordt steeds duidelijker, maar is nog zeker niet opgehelderd anno 2024. Een combinatie van genetische factoren, omgevingsfactoren, de darmmicrobiota en problemen met het immuunsysteem spelen een rol. Eerdere onderzoeken hebben zich voornamelijk gericht op de rol van immuuncellen bij IBD, maar recente studies hebben aangetoond dat een ander type cel, stromale cellen genaamd, ook een belangrijke rol speelt. Stromale cellen werden traditioneel beschouwd als een homogene populatie cellen die verantwoordelijk is voor het bieden van structuur en het produceren van de extracellulaire matrix (ECM), een complex netwerk van moleculen dat cellen omringt en ondersteunt in weefsels en organen, waarbij fibroblasten de meest voorkomende celtype zijn. Recente studies hebben echter verschillende subgroepen van stromale cellen met verschillende functies in weefselhomeostase en pathogenese aan het licht gebracht. Bij kanker zijn verschillende subgroepen van stromale cellen geïdentificeerd, die ofwel de groei van tumoren kunnen bevorderen of onderdrukken door interactie met epitheel- en immuuncellen. In het geval van IBD hebben specifieke subgroepen van stromale cellen in de dikke darm van patiënten met UC verschillende functies, waarbij één subgroep cruciaal is voor het goed functioneren van epitheliale stamcellen in de darmcrypte. Ondanks deze vooruitgang in kennis, vormt de heterogeniteit van stromale cellen en het ontbreken van duidelijke definities voor stromale subgroepen uitdagingen bij het begrijpen van hun rol in de pathogenese van IBD. Het ontwerpen van een

standaardclassificatie en karakterisering van stromale subgroepen wordt verder bemoeilijkt door variaties in onderzoeksdoelen en methodologieën, waardoor stromale subgroepen lastig te vergelijken zijn tussen verschillende onderzoeken. In **hoofdstuk 2** worden veranderingen aangetoond in stromale subgroepen in de dikke darm tijdens een actieve colitis in verschillende muismodellen (DSS-geïnduceerd colitis model, IL-10 knockout model en T-cel transfer model). Daarnaast laten we in dit hoofdstuk zien dat veelgebruikte IBD therapieën slechts ten dele de veranderingen in stromale subgroepen kunnen omkeren.

Eerder werd een subgroepen van patiënten met IBD geïdentificeerd met een pathogene cellulaire fingerprint, die bestond uit IgG-plasmacellen, ontstekingsbevorderende mononucleaire fagocyten, geactiveerde T-cellen en geactiveerde stromale cellen. Deze patiënten vertoonden resistentie tegen anti-tumornecrosefactor- α (anti-TNF- α) therapie. Een andere studie toonde bij een subgroepen van patiënten met IBD een grote infiltratie van neutrofielen, activatie van fibroblasten en vasculaire remodeling specifiek op plaatsen van diepe ulceratie. De resultaten in **hoofdstuk 2** tonen verschillende stromale subgroepen in de verschillende colitismodellen die overeenkomt met de complexiteit van patiënten met IBD. Dit onderzoek is een goede opmaat naar verder onderzoek om ook subgroepen patiënten op basis van hun stromale cellen in de toekomst te kunnen identificeren. Binnen de stromale subgroepen lijkt een belangrijke rol weggelegd voor

C-X-C-motief-chemokine-ligand 12 (CXCL12)+ stromale cellen. In **hoofdstuk 2** wordt aangetoond dat deze stromale subgroep zowel de migratie van epitheliale cellen als activatie van T cellen kunnen beïnvloeden. Bovendien observeerden we een significante toename in de expressieniveaus van belangrijke markers geassocieerd met geactiveerde fibroblasten, zoals IL-6, transforming growth factor (TGF)- β , IL-11, CXCL5, CXCL1 en C-C-motief-chemokine-ligand 2 (CCL2) wanneer fibroblasten werden gestimuleerd met recombinant CXCL12. Deze bevindingen duiden op een belangrijke rol voor stromale cellen die CXCL12 tot expressie brengen bij de pathogenese van IBD, wat hen een potentieel doelwit zou kunnen maken voor IBD-therapie.

Naast de belangrijke rollen van de CXCL12+ subgroepen, ontdekten we in **hoofdstuk 3** dat glycolyse verhoogd was in darmfibroblasten bij patiënten met IBD. Glycolyse is het proces

waarin glucose wordt omgezet in pyruvaat en waarbij adenosinetrifosfaat (ATP) en 1,4-dihydronicotinamide adenine dinucleotide (NADH) worden geproduceerd als energiebronnen voor cellulaire functies. Er is eerder aangetoond dat meerdere glycolyse enzymen, waaronder aldolase A, fosfoglyceromutaase, alfa-enolase, triosefosfaatisomerase en malaatdehydrogenase, sterke seroreactiviteit vertoonden, wat wijst op een verhoogde glycolyse activiteit bij patiënten met IBD. Daarnaast was pyruvaatkinase M2 (PKM2), een enzym dat de laatste stap in het glycolysepad katalyseert, verhoogd in serum- en fecesmonsters van patiënten met IBD. Metabolomics-analyse van muizenmonster met colitis (waaronder dextran sulfaat natrium (DSS)-geïnduceerde en IL-10-deficiëntie colitis) liet ook een significante toename van lactaatniveaus zien en een afname van de eiwitten die betrokken zijn bij oxidatieve fosforylering. Dit impliceert dat het metabolisme van cellen in de dikke darm zou overschakelen naar anaerobe metabolisme vanwege de hypoxie die door inflammatie ontstaat. Al deze bevindingen duiden erop dat glycolyse verhoogd is tijdens colitis. Er is echter beperkt onderzoek gedaan naar het stromale celmetabolisme bij IBD. De meeste studies over het metabolisme van stromale cellen richten zich op tumor-geassocieerde fibroblasten (zogenaamde CAFs, cancer-associated fibroblasts). CAFs vertonen een verhoogd glycolytisch metabolisme, zelfs in aanwezigheid van zuurstof (aërobe glycolyse of het Warburg-effect), wat leidt tot verhoogde productie van meerdere metabolische tussenproducten zoals lactaat, glutamine, pyruvaat en acetaat. Via deze weg 'voeden' zij de tumor. Bovendien wordt stromale glycolyse geassocieerd met verschillende andere inflammatoire ziekten. Bij reumatoïde artritis is er steeds meer bewijs dat synoviale fibroblasten sterk afhankelijk zijn van verhoogde glycolyse. Remming van PFKFB3, een belangrijke regulator van glycolytische activiteit, heeft veelbelovende resultaten getoond bij het verminderen van door synoviale fibroblasten veroorzaakte ontsteking. In **hoofdstuk 3** wordt getoond dat de expressie van PFKFB3 en glycolyse sterk verhoogd is in monsters van IBD patiënten. PFKFB3 wordt tot expressie gebracht door fibroblasten en is onder inflammatoire omstandigheden verhoogd, wat de potentie benadrukt van therapieën gericht op glycolyse voor het moduleren van inflammatoire processen. Al met al is het bestuderen van het metabolisme van fibroblasten bij IBD belangrijk voor het verfijnen van de classificatie en het begrijpen van de pathogenese van IBD.

Het verbeteren van therapeutische strategieën is vaak een ultiem doel bij het onderzoeken van de pathogenese van een ziekte. De farmacologische behandeling van IBD richt zich primair op immuuncellen en ontstekingsmediatoren. Helaas reageren sommige patiënten niet op bestaande medicatie of verliezen ze respons gedurende de behandeling. Onze intrigerende bevinding in **hoofdstuk 2** was dat drie momenteel beschikbare behandelingen voor IBD (anti-TNF- α , anti-p40 en 6-thioguanine (6-TG)) niet volledig de "normale" samenstelling van stromale subgroepen konden herstellen. Alleen anti-TNF- α -therapie leek effectief de totale overvloed van stromale cellen te verminderen, die verhoogd waren bij DSS-geïnduceerde colitis en T-cel transfercolitis. Hoewel is aangetoond dat deze behandelingen hun effecten uitoefenen via immuunmodulatie, is hun interactie met stromale cellen niet goed begrepen. Onze bevindingen suggereren dat stromale subgroepen van de stromale component selectief kunnen worden beïnvloed door verschillende behandelingen. Onze resultaten in **hoofdstuk 3** tonen aan dat remming van PFKFB3 de expressie van chemokines en pro-inflammatoire cytokines vermindert in darmfibroblasten en de ernst van colitis vermindert in twee muismodellen voor IBD. Daarom kunnen potentiële therapeutische benaderingen gericht zijn op het remmen van sleutelenzymen of regulatoren van glycolyse, zoals PFKFB3, om overmatige glycolytische activiteit te remmen en metabool evenwicht te herstellen in stromale cellen. Door metabole routes te beïnvloeden, zou het mogelijk kunnen zijn om ontsteking te verminderen, weefselgenezing te bevorderen en klinische resultaten te verbeteren voor patiënten met IBD. De technische uitdaging ligt in het selectief remmen van de verhoogde stromale glycolyse en mogelijk zelfs selectief binnen één stromale subgroep. Hiervoor is het noodzakelijk om de metabole profielen van afzonderlijke stromale subgroepen te begrijpen en de specifieke metabole effecten van stromale subgroepen op de voortgang van ontsteking vast te stellen. Huidige IBD-therapieën, zoals corticosteroïden en 5-aminosalicylaten, reguleren colitis door het blokkeren van mammalian target of the rapamycin complex 1 (mTORC1), wat resulteert in een afname van HIF-1 α -expressie en daarmee glycolyse. Dit geeft aan dat een deel van hun klinische effecten mogelijk plaatsvindt door het remmen van glycolyse.

Het laatste deel van deze thesis focust zich op perianale fistels. Perianale fistels zijn een

van de meest ernstige complicaties bij patiënten met CD en de behandeling blijft een grote uitdaging. In **hoofdstuk 5** vergelijken we fistel fibroblasten met fibroblasten uit de dikke darm en ontdekten we dat fibroblasten afkomstig uit perianale fistels een verminderde expressie vertoonden van genen die geassocieerd zijn met geactiveerde fibroblasten (myofibroblasten), terwijl de expressie van type I collageen juist verhoogd was. Dit kan aanzienlijk bijdragen aan de verstoorde genezingsprocessen die geassocieerd worden met perianale fistels. Opvallend genoeg werd in dit hoofdstuk geen verschil gevonden in de expressieprofielen van fistel fibroblasten van patiënten met of zonder de ziekte van Crohn. De functionele kenmerken van fistel fibroblasten en hun bijdrage aan de pathogenese van fistels vereisen verder onderzoek, met als doel om nieuwe therapeutische interventies voor perianale fistels te ontwikkelen.

De verschillende studies die in dit proefschrift worden beschreven hebben bijgedragen aan de complexe puzzel van stromale subgroepen in IBD en hun rol in ontsteking en metabolisme. Desalniettemin blijft het moeilijk om volledig inzicht te krijgen in de veranderingen in stromale subgroepen tijdens opvlammingen en periodes van remissie van IBD. Dit wordt met name toegeschreven aan de ingewikkelde en diverse classificatie van stromale subgroepen, het gebrek aan gestandaardiseerde classificatiecriteria en de dynamische veranderingen die worden vertoond door stromale subgroepen gedurende de ziekte. Toekomstig onderzoek zal zich verder moeten richten op het onderzoeken van de immuunregulerende rollen van stromale subgroepen, het begrijpen van de dynamiek van stromale cellen in het ziekteproces en het implementeren van een eenduidige stromale classificatie (ook buiten IBD).