



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Modeling vascular inflammation with immune cell-vessel crosstalk in hiPSC-derived 3D vessels-on-chip

Bulut, M.

Citation

Bulut, M. (2025, July 2). *Modeling vascular inflammation with immune cell-vessel crosstalk in hiPSC-derived 3D vessels-on-chip*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4252702>

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/1887/4252702>

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

Nederlandse samenvatting

Het vasculaire systeem speelt een fundamentele rol in de ontwikkeling, weefselhomeostase en afweer van het lichaam. Het bestaat uit endotheelcellen (EC's) en murale cellen, waaronder vasculaire gladde spiercellen (vSMC's) en pericyten, die samenwerken om de vasculaire integriteit te behouden en hemodynamica te reguleren. Een essentiële functie van het vasculaire systeem is het coördineren van ontstekingsreacties, met name door de rekrutering en transmigration van leukocyten. Hoewel dit proces cruciaal is voor immuunafweer en herstel, kan ontregeling leiden tot chronische ontsteking en bijdragen aan verschillende vasculaire aandoeningen. Om deze complexe mechanismen beter te begrijpen, zijn in vitro modellen nodig die de cellulaire samenstelling en mechanische krachten van de menselijke vasculatuur nabootsen. Recente vooruitgang in humane geïnduceerde pluripotente stamcel (hiPSC)-technologie, in combinatie met orgaan-op-chip (OoC)-systemen, hebben de ontwikkeling van (bloed)vat-op-chip (VoC)-platforms mogelijk gemaakt. Deze systemen faciliteren gecontroleerd onderzoek naar de barrièrefunctie van endotheelcellen, transmigration van immuuncellen en vasculaire ontsteking onder dynamische stromingscondities. Het doel van dit proefschrift was om de fysiologische relevantie van bestaande VoC-modellen te verbeteren door hiPSC-afgeleide vasculaire cellen en immuuncellen te integreren, en deze systemen toe te passen om vasculaire ontsteking te bestuderen in zowel gezonde als zieke contexten.

Hoofdstuk 1 introduceert de biologie van vasculaire ontwikkeling, de rol van endotheel- en murale cellen, en hoe ontsteking de vasculaire barrière beïnvloedt. Er wordt beschreven hoe immuuncellen, zoals monocyt en macrofagen, bijdragen aan ontstekingsreacties en hoe hun interactie met vasculaire cellen essentieel is voor homeostase en ziekteprogressie, onder andere in Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia type 1 (HHT1). Ook wordt de motivatie voor het gebruik van hiPSC-afgeleide cellen en VoC-systemen om vasculaire ontsteking te modelleren besproken, evenals de beperkingen van conventionele modellen.

Hoofdstuk 2 beschrijft de ontwikkeling van een enkel-lumen VoC-model bestaande uit hiPSC-afgeleide endotheel- en murale cellen. Met behulp van gecontroleerde vloeistofstroming kon een perfuseerbare vaatstructuur worden gevormd, geschikt voor het bestuderen van barrièrefunctie en cel-cel interacties. Dit model vormt de basis voor het onderzoeken van interacties tussen leukocyten en de vaatwand onder stromingscondities.

In Hoofdstuk 3 werd dit model gebruikt om ontstekingsreacties na $\text{TNF}\alpha$ -stimulatie te bestuderen. hiPSC-afgeleide monocyt en werden geperfuseerd onder fysiologische schuifspanning om transendotheliale migratie (TEM) te analyseren. Murale cellen bleken de cytokineomgeving sterk te beïnvloeden en de transmigration van leukocyten te verhogen. Ook werden monocyt en van HHT1-patiënten onderzocht, waarbij verminderde adhesie werd waargenomen, wat hun mogelijke rol in ziekteprocessen ondersteunt.

In Hoofdstuk 4 werd een zelf-organiserend VoC-model gebruikt om vasculogenese en netwerkremodellering in vitro na te bootsen. Dit model werd toegepast om HHT1-specifieke vasculaire defecten onder inflammatoire omstandigheden te bestuderen. Endotheelcellen van ENG-mutante hiPSC's vertoonden vertraagde netwerkvorming en een versterkte respons op TNF- α , met name in hun interactie met murale cellen. Deze resultaten weerspiegelen waarschijnlijk de inflammatoire verergering die wordt waargenomen bij HHT1-patiënten.

In Hoofdstuk 5 werd de complexiteit van het model vergroot door hiPSC-afgeleide macrofagen te integreren om de perivasculaire immuunomgeving na te bootsen. Deze cellen werden gekarakteriseerd op fenotype en functie in de 3D microvasculaire context. Ze bleken te integreren in het netwerk en in staat om de lokale ontstekingsrespons te moduleren.

Hoofdstuk 6 biedt een breder perspectief en bespreekt strategieën om functionele vasculatuur te integreren in organoïden. Er wordt uiteengezet hoe vascularisatie de maturatie van organoïden ondersteunt en hoe perfuseerbare netwerken kunnen bijdragen aan meer fysiologisch relevante humane weefselsmodellen.

Tot slot vat Hoofdstuk 7 de belangrijkste bevindingen van deze thesis samen en wordt een toekomstperspectief geschetst. Er wordt een kritische vergelijking gemaakt tussen de twee VoC-systemen die in dit proefschrift zijn gebruikt. De enkel-lumen VoC biedt reproduceerbaarheid en controle over stromingsdynamiek, wat het geschikt maakt voor het bestuderen van barrièrefunctie en immuunceltransmigratie. Daarentegen bootst de zelf-organiserende VoC beter de vasculaire morfogenese in vivo na, maar is dit model moeilijker te standaardiseren. Toekomstige onderzoekslijnen omvatten het integreren van schuifspanning in het zelf-organiserende model, het gebruik van patiëntspecifieke immuuncellen en toepassing van single-cell transcriptomica om celtypespecifieke functies verder te ontrafelen. Tot slot wordt het bredere potentieel van VoC-platforms voor ziektemodellering, medicijnontwikkeling en translationeel onderzoek besproken, met nadruk op de noodzaak van standaardisatie, functionele validatie en integratie met organoïde modellen.