



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The branching of life: human iPSC-based angiogenesis-on-chip

Urdaneta González, K.E.

Citation

Urdaneta González, K. E. (2026, February 17). *The branching of life: human iPSC-based angiogenesis-on-chip*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4290787>

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/1887/4290787>

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

Appendix

Samenvatting

Het proefschrift “The Branching of Life: Human iPSC-Based Angiogenesis-on-Chip” beschrijft de ontwikkeling van een angiogenese-op-een-chip (AoC)-model op basis van endotheelcellen afkomstig van humane geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC-EC) om vasculaire uitgroei na te bootsen en anti-angiogene therapieën te testen. Voortbouwend op deze doelstellingen beschrijft hoofdstuk 2 de ontwikkeling van het protocol voor het gebruik van hiPSC-afgeleide endotheelcellen ingebed in matrices in een commerciële 3D-microfluidische chip. Het systeem induceerde reproduceerbare vasculaire uitgroei en werd geoptimaliseerd voor high-content screening. Het stelde de 3D-celweekomstandigheden en de criteria voor kwaliteitscontrole vast om de geschiktheid van de test voor het modelleren van angiogenese en preklinisch geneesmiddelenonderzoek aan te tonen. In Hoofdstuk 3 verschoof de focus naar het evalueren van de respons op geneesmiddelen met behulp van het ontwikkelde platform. De respons van hiPSC-EC's op remmers van de VEGFR2-pathway werd getest. Tyrosinekinaseremmers pazopanib en nintedanib onderdrukten de uitgroei sterk, terwijl bevacizumab en de AKT-remmer uprosertib minimale effecten vertoonden. Deze resultaten valideren het model voor selectieve, dosisafhankelijke geneesmiddelen-screening in een patiënt-relevant systeem. Tot slot breidt Hoofdstuk 4 het translationele potentieel van het model uit door een genetisch ziekteperspectief te integreren. Dit hoofdstuk rapporteert de generatie van hiPSC-lijnen van patiënten met Erfelijke Hemorragische Teleangiëctasie type 2 (HHT2) met een *ACVRL1*-mutatie. Genetische correctie werd bereikt met CRISPR-Cas9, waarbij isogene controlegroepen werden gegenereerd. Zowel patiënt- als gecorrigeerde lijnen vertoonden normale karyotypen, pluripotentie en differentiatiecapaciteit, en vormen daarmee een biologisch relevante bron van cellen voor het modelleren van HHT2-gerelateerde vasculaire afwijkingen in het AoC-model. Samen vormen deze hoofdstukken een samenhangend verhaal dat zich uitstrekt van modelontwikkeling en optimalisatie tot farmacologische validatie en uiteindelijk patiëntspecifieke ziektemodellering. Deze geïntegreerde benadering positioneert het ontwikkelde angiogenese-op-een-chip-platform als een veelzijdig en fysiologisch relevant hulpmiddel voor zowel fundamenteel vasculair onderzoek als preklinische therapeutische ontwikkeling.

Summary

The thesis “The Branching of Life: Human iPSC-Based Angiogenesis-on-Chip” established a human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cell (hiPSC-EC)-based angiogenesis-on-chip (AoC) model to mimic vascular sprouting and test anti-angiogenic therapies. Building upon these aims, *Chapter 2* illustrates the development of the protocol to employ hiPSC-derived endothelial cells embedded in matrices using a commercial 3D microfluidic device. The system induced reproducible vascular sprouting and was optimized for high-content screening. It established the 3D cell culture conditions and quality control criteria to demonstrate the assay's suitability for modeling angiogenesis and preclinical drug testing. In *Chapter 3*, the focus shifted towards evaluating drug responsiveness using the established platform. The response of hiPSC-ECs to inhibitors of the VEGFR2 pathway was tested. Tyrosine kinase inhibitors pazopanib and nintedanib strongly suppressed sprouting, while bevacizumab and the AKT inhibitor uprosertib showed minimal effects. These results validate the model for selective, dose-dependent drug screening in a patient-relevant system. Lastly, *Chapter 4* expands the model's translational potential by incorporating a genetic disease perspective. This chapter reports the generation of hiPSC lines from Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia type 2 (HHT2) patients carrying an *ACVRL1* mutation. Gene correction was achieved with CRISPR-Cas9, producing isogenic control lines. Both patient and corrected lines showed normal karyotypes, pluripotency, and differentiation capacity, providing a biologically relevant source of cells for modeling HHT2 vascular defects in the angiogenesis-on-chip model. Together, these chapters create a coherent

narrative that moves from model establishment and optimization to pharmacological validation and, finally, to patient-specific vascular disease modeling. This integrated approach positions the developed angiogenesis-on-chip platform as a versatile and physiologically relevant tool for both fundamental vascular biology and preclinical therapeutic discovery.

Resumen

La tesis “The Branching of Life: Human iPSC-Based Angiogenesis-on-Chip” estableció un modelo de angiogénesis en chip (AoC) basado en células endoteliales derivadas de células madre pluripotentes inducidas humanas (hiPSC-ECs), con el objetivo de imitar la formación de brotes vasculares y evaluar terapias antiangiogénicas. Basándose en estos objetivos, el Capítulo 2 ilustra el desarrollo del protocolo para emplear células endoteliales derivadas de hiPSCs embebidas en matrices y utilizando un dispositivo microfluídico 3D comercial. Este método estimuló la formación reproducible de brotes vasculares (sprouts) y fue optimizado para análisis de alto contenido. Asimismo, se establecieron las condiciones de cultivo celular en 3D y los criterios de control de calidad, demostrando la idoneidad del ensayo para el modelado de angiogénesis y la evaluación preclínica de fármacos. En el Capítulo 3, el enfoque cambió hacia la evaluación de la respuesta farmacológica utilizando el modelo establecido. Se probó la respuesta de las hiPSC-ECs frente a inhibidores de la vía de señalización VEGFR2. Los inhibidores de tirosina quinasa pazopanib y nintedanib suprimieron fuertemente la formación de brotes, mientras que bevacizumab y el inhibidor de AKT uprosertib mostraron efectos mínimos. Estos resultados validan el modelo como una herramienta selectiva y dependiente de la dosis para el cribado de fármacos en un sistema relevante para el paciente. Finalmente, el Capítulo 4 amplía el potencial traslacional del modelo incorporando una perspectiva para el estudio de enfermedades genéticas. Este capítulo describe la generación de líneas hiPSC derivadas de pacientes con Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria tipo 2 (HHT2) portadores de una mutación en el gen *ACVRL1*. La corrección genética se logró mediante CRISPR-Cas9, obteniendo líneas isogénicas de control. Tanto las líneas de pacientes como las corregidas mostraron cariotipos normales, pluripotencia y capacidad de diferenciación, proporcionando una fuente biológicamente relevante de células para modelar defectos vasculares asociados a HHT2 en el modelo de angiogénesis en chip. En conjunto, estos capítulos conforman una narrativa coherente que avanza desde el establecimiento y la optimización del modelo, hasta su validación farmacológica y, finalmente, el modelaje de enfermedades vasculares. Este enfoque integrado posiciona el modelo de angiogénesis en chip desarrollado, como una herramienta versátil y fisiológicamente relevante para la investigación fundamental y el descubrimiento terapéutico preclínico vascular.