



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Mice with humanized liver endothelium

el Filali, E.

Publication date

2014

Document Version

Final published version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

el Filali, E. (2014). *Mice with humanized liver endothelium*.

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Summary

Samenvatting

Samenvatting

De lever is een van de grootste organen in het menselijk lichaam en speelt een belangrijke rol in diverse lichamelijke functies. De lever van patiënten die lijden aan een erfelijke of verworven lever aandoening is niet in staat om al deze functies te vervullen. Tot nu toe is de enige genezende behandelingsoptie voor de meeste patiënten met een levensbedreigende leverziekte een levertransplantatie. Dit is echter een ingrijpende procedure en door het tekort aan gezonde donorlevers kunnen slechts enkele patiënten daadwerkelijk profiteren van deze procedure. Sinds enkele jaren hebben wetenschappers de mogelijkheden van cel transplantatie bestudeerd als behandeling in plaats van een hele levertransplantatie. De lever is opgebouwd uit verschillende soorten cellen. De meeste cellen in de lever zijn de hepatocyten. Hoewel klinische studies hebben aangetoond dat transplantatie van hepatocyten praktisch uitvoerbaar is, zijn de uitkomsten op de lange termijn teleurstellend en blijven er grote obstakels bestaan in de klinische toepassing van hepatocyte transplantatie. Dit wordt onder andere veroorzaakt door slechte hechting van getransplanteerde hepatocyten en de moeite die het kost om met hepatocyten in het laboratorium te werken.

Een andere verklaring voor de teleurstellende resultaten van klinische studies wordt gegeven door het feit dat het moeilijk is om resultaten, die verkregen worden van experimenten met proefdieren, te vertalen naar de menselijke situatie. In dit proefschrift hebben we hier een oplossing voor willen geven door een muis te ontwikkelen met een "menselijke lever". Dit muismodel zou dan goed kunnen dienen voor studies gericht op het ontwikkelen van behandelmogelijkheden zoals celtransplantatie, maar ook genterapie. Een muis met een menselijke lever kan ontwikkeld worden door menselijke levercellen te transplanteren in de milt van muizen, die geen afweersysteem hebben. De menselijke levercellen worden na transplantatie dan niet aangevallen en opgeruimd door het afweersysteem van de muis en kunnen hechten in de lever van de muis. Dit proces wordt repopulatie genoemd.

In de eerste set van experimenten, die we hadden verricht voor dit proefschrift, ontdekten we dat lever endotheel cellen (afkomstig van de humane foetale lever) in staat waren om in de muizenlever te hechten en te repopuleren. Dit was een toevalsbevinding en leidde tot het uitvoeren van experimenten om de volgende doelen te bereiken:

- 1) Het type cel te identificeren dat het meest geschikt is om in de muizen lever te hechten en repopuleren.
- 2) Muizen met een menselijke lever te gebruiken voor het ontwikkelen van genterapie.

In **hoofdstuk 1** wordt een overzicht gegeven van de huidige kennis over de normale anatomie, fysiologie en ontwikkeling van de lever. Deze omvatten bloedaanmaak in de embryonale lever en herstel van de lever na schade, kenmerken van de lever die van groot belang zijn voor het begrijpen van het succes van de in dit proefschrift beschreven experimenten. Daarnaast wordt het belang van de ontwikkeling van andere behandelingsopties voor patiënten die lijden aan een leveraandoening benadrukt en de meest recente ontwikkelingen van cel- en genterapie gericht op de lever besproken.

In **hoofdstuk 2** hebben we menselijke lever sinusoidale endotheelcellen getransplanteerd in de milt van immuun-deficiënte muizen. De endotheelcellen werden vóór de transplantatie bewerkt, zodat zij in staat waren om een eiwit te maken dat green fluorescent protein (GFP) heet. Door dit eiwit krijgen de getransplanteerde cellen een groene kleur en zijn ze later gemakkelijk terug te vinden in de milt en de lever van de muis. Menselijke lever sinusoidale endotheelcellen bleken na transplantatie in staat om te hechten en te delen in de muizen lever en meerdere clusters van menselijk endotheel in de muizen lever werden gevonden.

Endotheelcellen vormen de binnenbekleding van bloedvaten en zijn aanwezig in het hele menselijke lichaam. In dit hoofdstuk wilden we onderzoeken of het vermogen om in de lever te hechten en te repopuleren gedeeld wordt door andere types van endotheelcellen. Daarom transplanteerden we humane macrovasculaire (afkomstig van navelstrengvaten) of microvasculaire (afkomstig van vetweefsel) endotheelcellen in de milt van immuun deficiënte muizen gebruik makend van hetzelfde protocol. In tegenstelling tot de menselijke lever sinusoidale endotheelcellen, waren de menselijke macrovasculaire en microvasculaire endotheel cellen niet in staat in de muizenlever te hechten. De resultaten beschreven in dit hoofdstuk tonen aan dat alleen menselijke lever sinusoidale endotheelcellen de unieke capaciteit hebben om in de muizen lever te hechten en te repopuleren. Bovendien tonen we aan dat macrovasculaire en microvasculaire endotheelcellen niet in staat zijn om hun eigenschappen aan te passen in een

ander orgaan. De resultaten van de experimenten in dit hoofdstuk hebben de basis gelegd voor verder onderzoek naar het potentieel van de menselijke lever sinusoidale endotheelcellen in de toepassing in cel- en genterapie, zoals beschreven staat in de volgende hoofdstukken.

Door de aanwezigheid van endotheelcellen afkomstig van de gastheer in getransplanteerde donorlevers, is het idee ontstaan dat er in de bloedsomloop van de gastheer stamcellen circuleren, die in staat zijn een bijdrage te leveren aan herstel van beschadigd lever endotheel. De humane foetale lever is een rijke bron van stamcellen. In **hoofdstuk 3** onderzochten we of stamcellen uit de humane foetale lever het vermogen hebben om zich tot endotheel cellen te ontwikkelen. We gebruikten twee verschillende benaderingen om deze vraag te beantwoorden. Stamcellen uit de humane foetale lever werden getransplanteerd in bestraalde immuun deficiënte muizen zodat deze muizen werden voorzien van een menselijk immuunsysteem. Vervolgens werd het muizen lever endotheel beschadigd en werd reparatie door menselijke stamcellen onderzocht. In de tweede benadering, werden stamcellen uit de humane foetale lever rechtstreeks getransplanteerd in immuun deficiënte muizen met een beschadigd lever endotheel en werd reparatie door de getransplanteerde humane cellen eveneens onderzocht. In geen van deze omstandigheden werd herstel van het muizen lever endotheel met menselijke stamcellen waargenomen. Deze resultaten geven aan dat stamcellen uit de humane foetale lever cellen geen bron zijn van lever endotheel en dat reparatie van beschadigd lever endotheel hoofdzakelijk gebeurt door uitgroei van endotheelcellen.

Celtransplantatie kan als behandeling gecombineerd worden met genterapie. Genterapie is het inbrengen van erfelijk materiaal in cellen, waarna deze cellen in staat zijn bepaalde eiwitten aan te maken. Het overbrengen van dit erfelijk materiaal gebeurt met behulp van vectoren. Als het erfelijke materiaal buiten het lichaam in de cellen wordt gebracht spreken we van *ex vivo* gen therapie. Voor veel aandoeningen zal het nodig zijn om de aanmaak van de eiwitten van de ingebrachte genen te handhaven binnen een therapeutisch venster om klinische toepassing van *ex vivo* genterapie te realiseren. Dit noemen we gereguleerde *ex vivo* genterapie. Het doel van **hoofdstuk 4** was om te onderzoeken welk foetale lever celtype het meest efficiënt getransplanteerd en gebruikt kan worden voor gereguleerde *ex vivo* genterapie. Na het transplanteren van menselijke foetale levercellen in immuun deficiënte muizen werd er geen innesteling van humane

hepatocyten (het meest voorkomende celtype in de lever) gevonden. Echter, na transplantatie van humane foetale levercellen werd overvloedige herstel van muizen lever met humaan endotheel bereikt. Bovendien toonde de transplantatie experimenten, die we voor dit hoofdstuk hebben verricht, dat de getransplanteerde menselijke lever sinusoidale endotheelcellen in staat waren om het eiwit erythropoietine te maken. Hierbij kon, door de aanwezigheid van een tetracycline-gevoelige promotor, de aanmaak van erythropoietine worden gereguleerd door toediening van doxycycline (een antibioticum). Dit had als gevolg het dikker worden van het bloed van getransplanteerde muizen. Deze resultaten tonen aan dat menselijke lever sinusoidale endotheelcellen gebruikt kunnen worden in lange termijn *ex vivo* gereguleerde genterapie.

In het laatste wetenschappelijk hoofdstuk van dit proefschrift is ons muismodel met menselijk lever endotheel zeer nuttig gebleken op het gebied van onderzoek van *in vivo* genterapie. Bij *in vivo* genterapie wordt het erfelijk materiaal rechtstreeks in de bloedbaan van de patiënt geïnjecteerd. Bij deze behandeling is het van belang dat het erfelijke materiaal alleen terecht komt in bepaalde cellen, zoals in ons geval de levercellen. Dit wordt ook wel specifieke vector targeting genoemd. Om het potentieel van ons muismodel te onderzoeken, hebben we met een groep wetenschappers samengewerkt, die veel ervaring hebben op het gebied van specifieke vector targeting. In **hoofdstuk 5** laten we zien dat na inspuiting van een, op menselijk CD105 gerichte, lentivirale vector in de bloedbaan van muizen met menselijk leverendotheel, erfelijk materiaal alleen in menselijke lever endotheelcellen werd ingebracht.

De veelbelovende resultaten van de experimenten uitgevoerd in dit proefschrift hebben een basis voor het gebruik van menselijke lever endotheelcellen in cel transplantatie en *ex vivo* genterapie gelegd. In de algemene discussie in **hoofdstuk 6** worden de gegevens van ons werk verder besproken in relatie tot de recente ontwikkelingen op het gebied van cel- en genterapie. De punten die in dit hoofdstuk ter sprake zijn gekomen, hebben niet alleen geleid tot meer vragen, maar benadrukken ook de noodzaak voor verdere experimenteren. Veel uitdagingen blijven, maar hopelijk zal de vooruitgang die is geboekt op het gebied van cel transplantatie en *ex vivo* genterapie leiden tot een potentiële behandeling voor patiënten die lijden aan een leverziekte.