

University of Groningen

Gut mucosal gene expression in inflammatory bowel disease

Uniken Venema, Werna

DOI:
[10.33612/diss.178571637](https://doi.org/10.33612/diss.178571637)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):
Uniken Venema, W. (2021). *Gut mucosal gene expression in inflammatory bowel disease: the heterogeneous nature of inflammation*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.178571637>

Copyright

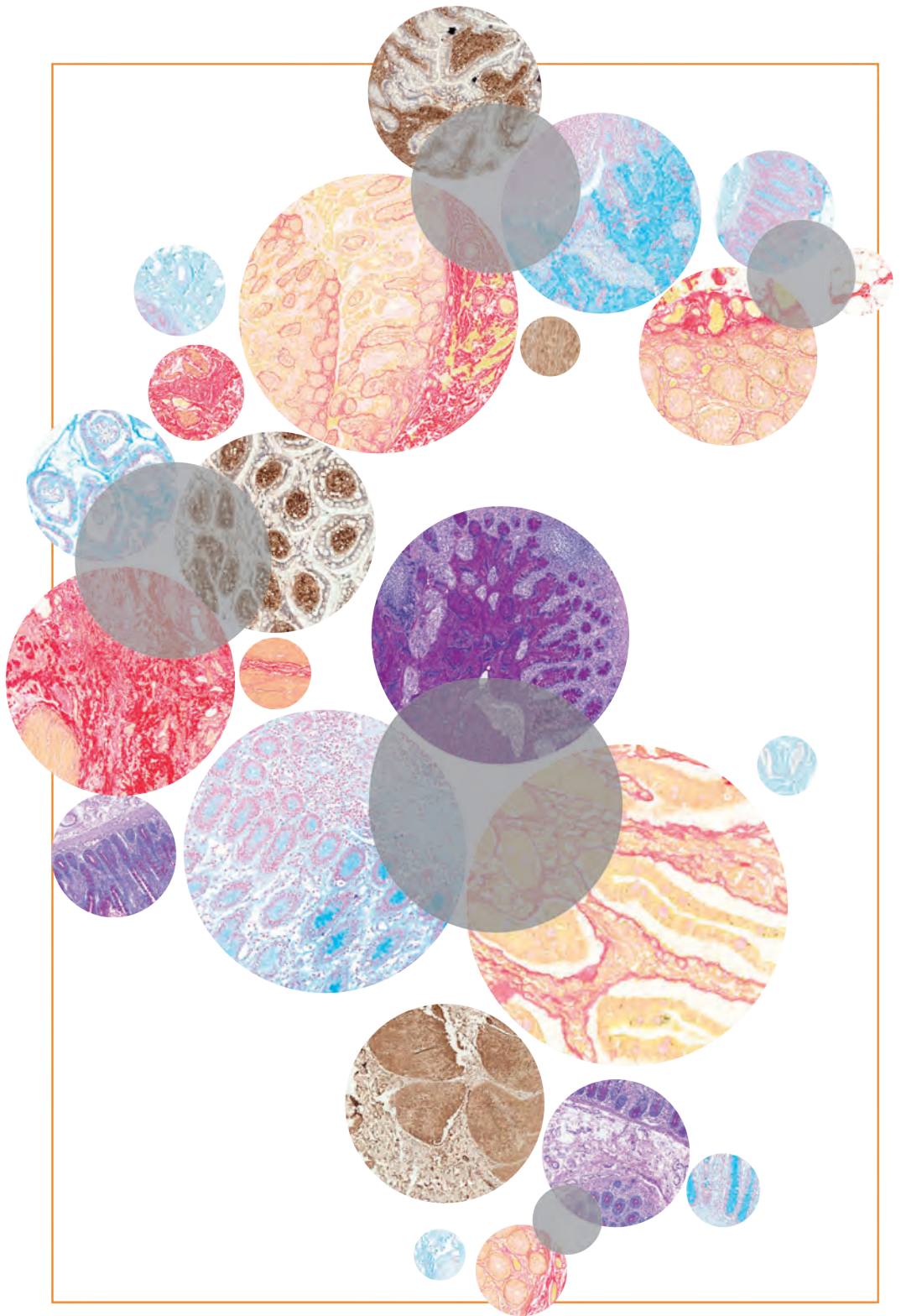
Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



chapter TEN

Nederlandse samenvatting
Acknowledgements/Dankwoord
Curriculum Vitae
List of Publications

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Dit proefschrift getiteld “Gut mucosal gene expression in inflammatory bowel disease, the heterogeneous nature of inflammation” behandelt inflammatoire darmziekte (Inflammatory Bowel Disease; IBD) en de moleculaire basis van die darmontsteking. IBD wordt onderverdeeld in de ziekte van Crohn, colitis ulcerosa (CU) en IBD-ongedifferentieerd. De ziekte kenmerkt zich door periodes van ontsteking in de darm, en kan worden gecompliceerd door ontstekingen daarbuiten, zoals in de ogen en de gewrichten. Ondanks dat er uitgebreide medicamenteuze behandelopties voor patiënten met IBD bestaan, is voor een substantieel deel van de patiënten behandeling met medicatie alleen onvoldoende. Deze patiënten hebben vaak een langdurig traject van uitproberen van verschillende (dure) medicatie achter de rug, waarna zij chirurgische verwijdering van (een deel van) de darm ondergaan. Dit is een klinisch en maatschappelijk probleem, wat om een oplossing vraagt.

In de afgelopen jaren is veel onderzoek gedaan naar factoren die kunnen bijdragen aan het ontstaan en de ontwikkeling van IBD. De huidige consensus is dat IBD wordt veroorzaakt door een disbalans van bacteriën in de darm en omgevingsfactoren in een erfelijk belast persoon.

In deze thesis wordt:

- de huidige kennis beschreven op gebied van DNA-varianten die zijn geassocieerd met IBD
- de moleculaire basis verkend van het ontstekingsproces in IBD
- een uniforme opzet voor de studie van darmweefsels op celniveau voorgesteld

Het effect van de DNA-varianten kan worden verdeeld in drie functionele groepen: autofagie, ontstekingsrespons en interactie met microben. In **hoofdstuk 2** wordt de bestaande literatuur met betrekking tot de causaliteit van varianten in het DNA voor IBD beschreven. We concluderen dat er voor slechts van een klein deel van alle IBD-geassocieerde varianten bekend is hoe de functionele relatie tot de ziekte is, en dat hier meer onderzoek naar nodig is.

Die deficiënties in de literatuur vullen wij aan in **hoofdstuk 3** door het effect van genetische varianten op genexpressie in de slijmlaag van de darm in kaart te brengen. Daarnaast vinden wij 190 varianten in het DNA die een effect hebben op genexpressie, afhankelijk van de ontstekingsstatus van het weefsel. Dit ondersteunt de theorie dat er persoons-specifieke achtergrond van IBD bestaat en dat de ziekte mogelijk ook individueel moet worden behandeld.

In **hoofdstuk 4** onderzoeken wij een nieuwe manier om gericht een behandeling voor IBD te kiezen. We brengen middels een relatief nieuwe techniek, namelijk ‘single cell sequencing’, individuele cellen in de slijmlaag van de darm van patiënten met IBD in kaart en vergelijken deze met de cellen in het perifere bloed van diezelfde patiënten. We vinden dat sommige cellen in de slijmlaag van de darm in hogere mate genen tot expressie brengen die betrokken zijn bij het genetisch risico op IBD. Deze cellen zijn waarschijnlijk betrokken bij het ziekteproces en zouden we dus specifiek kunnen aanpakken. We beschrijven de mogelijke medicamenten die deze cellen kunnen benaderen, waaronder zowel medicatie die momenteel gebruikt wordt voor IBD-behandeling als ook medicatie die gebruikt wordt voor andere ziekten dan IBD. Die laatste groep betreft reeds bestaande medicijnen die, in tegenstelling tot compleet nieuwe medicatie, in een relatief korte tijd beschikbaar kunnen komen voor patiënten met IBD.

Inmiddels heeft single cell sequencing ons kennis verschaft over ziekten van het maagdarmsstelsel. In **hoofdstuk 5** worden deze samengevat. Er worden ontwikkelingen beschreven op het gebied van IBD maar ook op het gebied van kanker en andere ontstekingsziekten, zoals bijvoorbeeld gluten intolerantie.

Hoofdstuk 6 gaat dieper in op de techniek van single cell sequencing van slijmlaag van de darm. Er wordt geconstateerd dat er een gebrek is aan een gouden standaard voor het isoleren van individuele cellen uit weefsel (dissociatie). In dit hoofdstuk wordt het effect van methoden om weefsels op te slaan en te dissociëren op de genexpressie en de celtype samenstelling van het dissociatieproduct vergeleken. Hieruit komt het advies voort om een gouden standaard vast te stellen voor de opslag en dissociatie van weefsel van de slijmlaag van de darm, mits bedoeld voor single cell sequencing. Het hoofdstuk sluit af met een keuze tool voor dissociatie protocollen van de slijmlaag van de darm voor toekomstige onderzoekers.

Hoofdstuk 7 is het sluitstuk van deze thesis, waarin een studie van een specifieke klinische subgroep van patiënten met IBD wordt beschreven: patiënten met een chronische ontsteking van de galwegen (primaire scleroserende cholangitis; PSC) en IBD. De IBD bij deze patiënten presenteert zich niet zoals de ‘klassieke’ IBD: er is bijvoorbeeld een hogere kans is op darmkanker en ten opzichte van IBD vertonen andere delen van de darmontsteking. Wij hebben de cellen van 47 darm bipten van ontstoken en niet-ontstoken slijmlaag van de darm van patiënten met PSC-IBD, CU en zonder ontstekingsziekte bestudeerd. We kwamen tot de conclusie dat de cel compositie in het ontstoken weefsel tussen PSC-IBD en CU niet verschilt, maar dat de cellen wel onderscheidende functies hebben. Zo lijken plasmacellen meer betrokken te zijn bij het ontstekingsproces in PSC-IBD, en lijken ontstekingsfibroblasten meer betrokken bij



CU ontsteking. Voor deze studie hebben wij succesvol gebruik gemaakt van het best-geteste dissociatie protocol in hoofdstuk 6.

Concluderend geeft dit proefschrift een overzicht van de huidige kennis op het gebied van moleculaire mechanismen van ontsteking in patiënten met IBD. Het begint met een samenvatting van de oorzaken van IBD en hiaten in de kennis, gaat in op deze hiaten middels beschrijving van moleculaire verschillen tussen patiënten met IBD, het effect daarvan op darmontsteking en sluit af met een rapportage van een mogelijke nieuwe sub vorm van IBD, namelijk PSC-IBD.

De noodzaak tot het vinden van een betere en meer individuele behandeling voor patiënten met IBD blijft bestaan. Met dit onderzoek hoop ik bij te dragen aan de ontwikkeling daarvan.



ACKNOWLEDGEMENTS – DANKWOORD

This thesis is a result of the collaboration with and support of many dedicated people whom I would like to thank warmly.

Beste **dr. Eleonora A.M. Festen**, lieve Noor, bedankt voor het ondersteunen van vele project ideeën, en voor het geven van de ruimte om die uit te voeren; bedankt voor het geduld en het niet teleurgesteld zijn wanneer resultaten anders uitvielen dan gehoopt. Daarnaast ben ik blij dat je me een kijkje hebt geboden in het dagelijks leven van een MDL-arts en de klinische problemen die nog moeten worden opgelost.

Prof. dr. R.K. Weersma, Rinse, bedankt voor alle mogelijkheden die je me hebt geboden en die me hebben gebracht waar ik nu ben. Ik waardeer je gestructureerde en resultaatgerichte aanpak leidend tot de vele successen in de Weersma-Festen groep.

Prof. G. Dijkstra, Gerard, bedankt voor de vele brainstormsessies. Bedankt voor het advies bij menig project. Ik waardeer je mening en je passie om zaken voor elkaar te krijgen.

Prof. dr. Klaas Nico Faber, Klaas, bedankt voor de input van je biologische en chemische kennis: dat heeft menig onderzoeksproject verrijkt. Je enthousiasme en oog voor (succesvolle) samenwerkingen is motiverend.

Hartelijk dank aan **prof. dr. C.Y. Ponsioen**, **prof. dr. F.G.M. Kroese** en **prof. dr. F. Koning** voor het lezen en beoordelen van dit proefschrift.

Many thanks to **professors Cisca Wijmenga, Lude Franke, Han Moshage, Jing Fu, Sasha Zhernakova**, and **Sebo Withoff** and **Iris Jonkers** for the always useful input in the research meetings of the Departments of Gastroenterology and Hepatology and Genetics.

Michiel, MDMD, mijn partner tussen 9 en 6. Toen wij in het begin van onze PhD samen een review over de genetische achtergrond van IBD schreven maakte jij me wegwijs in de genetica wereld. Daarna heb ik nog veel meer van jou geleerd, zoals het bestaan van ‘secretaresse dag’. Ik waardeer de precisie en je georganiseerde aard en ben heel blij dat ik met je heb mogen samenwerken. Bedankt voor het geduldig blijven gedurende mijn vele chaotische momenten.

Monique, mijn latere partner – of baas, afhankelijk van de dag en de context. Jij probeerde me te leren dat qPCR leuk is en je helpt me nog steeds met sparren over meerdere onderzoeksprojecten. Je hebt me geïntroduceerd aan ‘jouw’ 10x en gedurende lange labdagen die vroeg begonnen was het mooi dat we met een Brabantse kijk op de ontwikkelingen binnen de afdeling konden reflecteren.

Dianne, samen met **Tjasso** mijn steun en toeverlaat in het MDL lab. Bedankt voor alle steun, ook bij gekke onderzoek ideeën (zoals REG-stainings, tissue-FACS en 48 organoid kweken). Jullie zijn toppers!

Amber Bangma, veel dank voor al die FACS-sessies die je voor Michiel en mij hebt uitgevoerd. Het duurde niet lang of je overschaduwde onze kennis over de methode en je verzor je eigen onderzoeksprojecten. Je stelling is memorabel.

Dear **dr. Emilia Bigaeva**, Em, your wide experience in the lab and sharp writing skills have enriched my PhD life. And you have so many other qualities.. varying from make-up artist to cocktail shaker and editor. Thank you so much for helping with the construction of this thesis.

Thanks to **Aaron** for supporting the lab work and methods discussions, and for teaming up without ever asking anything in direct return. Thank you **Shixian** for our great collaboration and for involving me in the bioinformatics approaches.

Bedankt **Joram**, voor het delen van je mooie darmfiguren als basis voor die in de introductie van deze thesis.

Thanks to the **Single Cell Meeting** for your input in my research, but even more for your contributions to the single cell work of the UMCG. I was so happy to attend the first UMCG Single Cell Cluster with wonderful speakers. You make it work!

Hartelijk dank ook aan de **UMCG MDL artsen en assistenten**, en in het bijzonder aan **dr. Frans van der Heide** voor het attenderen op nieuwe dunne darmtransplantatie patiënten. Ook veel dank aan **dr. Jan Jacob Koornstra** voor het mediëren tussen de wensen van de onderzoeksgroep en de scopie planning. Bedankt aan de **endoscopie planning** voor het mogelijk maken van inclusies. Dank aan de **endoscopie verpleegkundigen** voor jullie geduld wanneer er weer een ‘Werna studie patiënt’ op het programma stond. Dank aan de **technicians** die de biopten verzameling mogelijk maken. Dank aan de **FACS facility** en in het bijzonder **dr. Wayel Abdulahad** en **Geert Mesander** voor alle ondersteuning. **Pieter van der Vries** en het voormalige **GAF-team**: bedankt voor het mogelijk maken van single cell sequencing in het UMCG. Zonder jullie passie en volharding zou het niet zijn gelukt. Aan **Jael** en **Esther**: bedankt voor jullie hulp bij patiënt inclusie en voor het zijn van extra oren en ogen in de MDL afdeling. Aan **Jurya** en **Erna**: bedankt voor het organiseren van heel veel dingen, zowel niet-financieel als financieel, maar altijd nuttig.

Thank you **Kate** for edits and advice whenever possible. Thanks to **dr. Ramnik Xavier** and his **lab** at the Broad institute, and especially to **dr. Dan Graham** and **dr. Moshe Biton**, for the lab-visit which formed the basis for *chapter 4*. A great thanks to **dr. Rebecca McIntyre** and **Menna Ghouraba** for sharing experience and thoughts on the methodology of gut mucosal tissue dissociation, which led to *chapter 6*.



I started a PhD inspired by an internship at the warming and welcoming research group of **prof. Charlie Rice** supervised by **dr. Ype de Jong**. I appreciated the likewise environment at the **Genetics Department of the UMCG**. Thank you.

I would like to thank **Yanni, Ranko, Johannes, Marijn, Renate, Sjoukje, Cas, Melinde, Laura, Shixian, Tobias, Guido, Raphael, Ali, Roy, Marjolein Dijkema, Adriaan, Floris, Arno, Boudewijn, Dylan, Annique, Alex, Raul, Zuza, Harm-Jan, Harm, Ruggero** and all I may forget from the **Dijkstra, Faber, Weersma-Festen, Jonkers-Withoff** and **Wijmenga** groups for your company and discussions at the meetings, congresses and drinks.

Dear **Kieu**, thanks a lot for the inspiring barbeKieus and parties. Your enthusiasm for biology is inspiring, hold on to that during your later professional life!

Bedankt **Margot, Bart, Ruben, Fardou, Maartje** en **Hilde, BP11** voor de gezellige (spelen-borrel) avondjes binnen de singels en later ook daarbuiten. Op nog heel veel meer daarvan! Dank aan de meiden van **FIER** en de **eetclub** voor de gezelligheid, interesse en support. Dank aan mijn paranimf **Sandra** voor de nodige kopjes koffie, aanvankelijk bij Vinnie en later bij ZonderVinnie, en de beschouwingen van het (PhD) leven onderwijs. Dank aan **Kim** voor de onvergetelijke trips naar Barcelona en Washington (en NY). Wat een feest. Dank aan **Lieke** en waardig opvolger **Marjolein Klaassen** voor het inlassen van zeer gewaardeerde pauzes op de werkvloer. Dank aan **Michiel Fokkens** voor de lessen in powertraining op het werk, en voor de overheerlijke dinertjes (panna cotta!) bij je thuis. Dank aan **Adrian** en **Nuria** voor de gezelligheid op en na de fiets. Dank aan **Marleen** voor de nodige ontspanning en discussies over de zin van alles. Dank aan **Val & Ralph** voor de nuchtere blik, de titel en gezellige culinaire avonden. Dank aan **Nick&Ini** en **Nicole** voor de gezellige fietsochtenden en aan **Trishla** voor de goede tennismatches en support.

Estimats **Antiga, Miquel Àngel, Miquel, Albert, Helena** i **Laia**, gràcies per ser sempre tant acollidors, oberts i sobretot gràcies a l'Albert per deixar-nos la "teva" habitació. Estic encantada de formar part d'aquesta família.

Lieve **Pap, Mam, Juul** en **Mark**, dank jullie wel voor de onvoorwaardelijke support. Dank voor het meeleven met de successen en teleurstellingen, voor het meedenken met alle struggles in de afgelopen jaren en voor jullie advies daarin. We zien elkaar in PattjeW!

Lieve **Arnau**, beste collega, liefde van mijn leven en sinds kort mijn echtgenoot. Jij maakt me elke dag zo vrolijk, dat ik je kan vergeven dat je denkt dat het microbioom de sleutel is tot het bestaan. Dank voor je onvoorwaardelijke steun bij het focussen gedurende mijn PhD en met name in het laatste jaar. Opdat er nog maar heel veel mooie jaren mogen komen!



CURRICULUM VITAE – ABOUT THE AUTHOR

Werna Theodora Christine Uniken Venema was born on May 2 1990 in The Hague, Netherlands. She attended high school at 'Gymnasium Beekvliet', Sint-Michielsgestel, graduated cum laude in 2008 and studied medicine at the University of Groningen. During her master, Werna completed the 'Master Honours Programme' and attended medical internships in Germany (Oldenburg Clinics) and Japan (Osaka City University Hospital). As a board member of the medical faculty association 'Panacea, she coordinated student participation at the medical faculty.

In 2016 Werna joined the research group of dr. Eleonora A. M. Festen and prof. Rinse K. Weersma, where she worked on deciphering the molecular landscape of inflammation in inflammatory bowel disease. She presented her research work at various (international) congresses, such as the Digestive Disease Week, the Dutch Digestive Disease days, the United European Gastroenterology Week and the European Mucosal Immunology Group Meeting. She obtained grants and prizes for her presentations. Together with her supervisor Eleonora Festen, Werna was awarded a grant for bringing the 'CITEseq' single cell sequencing method to the Groningen lab.

Currently, Werna works as a medical doctor at the Gastroenterology and Hepatology department of the UMCG Groningen and continues building her clinical and research career.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Hu, S. Uniken Venema, W. T. *et al.* Inflammation status modulates the effect of host genetic variation on intestinal gene expression in inflammatory bowel disease. *Nat. Commun.* (2021).
2. Li, Y. *et al.* Donor genetic variants as risk factors for thrombosis after liver transplantation: A genome-wide association study. *Am. J. Transplant.* (2021).
3. Bangma, A. *et al.* Predicted efficacy of a pharmacogenetic passport for inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* (2020).
4. Bigaeva, E., Uniken Venema, W. T., Weersma, R. K. & Festen, E. A. Understanding human gut diseases at single-cell resolution. *Hum. Mol. Genet.* (2020).
5. Uniken Venema, W. T., Voskuil M.D. *et al.* Single-Cell RNA Sequencing of Blood and Ileal T Cells From Patients With Crohn's Disease Reveals Tissue-Specific Characteristics and Drug Targets. *Gastroenterology* (2019).
6. Uniken Venema, W. T., Voskuil, M. D. & Festen, E. A. Reply. *Gastroenterology* (2019).
7. Uniken Venema, W. T., Voskuil, M. D., Dijkstra, G., Weersma, R. K. & Festen, E. A. The genetic background of inflammatory bowel disease: from correlation to causality. *J. Pathol.* (2017).
8. Uniken Venema, W. T., Ramirez Sanchez A. *et al.* Gut mucosa dissociation protocols influence cell type proportions and single-cell gene expression levels. *Sci. Rep.* (under review)

