

# The entanglement of NASH and atherosclerosis

Citation for published version (APA):

Jeurissen, M. L. J. (2017). *The entanglement of NASH and atherosclerosis: shared features of a macrophage-specific response*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20170112mj>

## Document status and date:

Published: 01/01/2017

## DOI:

[10.26481/dis.20170112mj](https://doi.org/10.26481/dis.20170112mj)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Summary

Common features as foam cell formation and inflammation play an important role in the progression of NASH and atherosclerosis. While NASH and atherosclerosis share a similar etiology evidence for a shared mechanism remained to be elucidated. Within this thesis, I focused on the role of macrophages in both atherosclerosis and NASH by investigating mechanism related to crosstalk between lipids and inflammation. This thesis has provided novel insights in macrophage specific mechanism of lysosomal oxidized lipid accumulation, leading to inflammatory processes that contribute to the progression of both atherosclerosis and NASH.

**Chapter 1** provides a global overview regarding the pathophysiology of the metabolic syndrome and its two major contributors; NASH and atherosclerosis. This chapter focuses on several studies which demonstrated that foam cell formation and inflammation are shared characteristics of two chronic inflammatory diseases. Furthermore, this chapter brings forward the view that atherosclerosis and NASH display features of an acquired lysosomal storage defect. Finally, several downstream effects of foamy macrophages on inflammatory pathways and the modulation of cholesterol content are described.

**Chapter 2** provides evidence for the importance of lysosomal oxLDL accumulation inside macrophages by using a macrophage specific NPC1 mutant mouse model in combination with pneumococcal immunization. Here it was demonstrated that plaque development was reduced in NPC1<sup>mut</sup>-tp mice after immunization, independently of plasma lipid levels. Furthermore, inflammatory gene expression was reduced in the aortic arch of NPC1<sup>mut</sup>-tp mice after immunization. These findings demonstrate that lysosomal oxLDL accumulation inside macrophages contributes to murine atherosclerosis.

**Chapter 3** provides novel insight in one of macrophage specific mechanisms, the inflammasome, that can induce inflammatory processes as consequence of excessive cholesterol accumulation in macrophages. Here it was hypothesized that hematopoietic caspase-1/11 deficiency leads to reduced atherosclerosis development. In line with our hypothesis, hematopoietic deletion of caspase-1/11 resulted in strong reduction in atherosclerotic plaque size. Overall, our data indicated that hematopoietic caspase-1/11 activation is involved in vascular inflammation and atherosclerosis, and plays an important role in cardiovascular disease progression.

In **Chapter 4**, we elucidated the contribution of Notch signaling which has been considered to be an important regulator of metabolic processes and macrophage inflammation in atherosclerosis. As a potential shared mechanism, it was hypothesized that myeloid DLL4 deficiency in *Ldlr*<sup>-/-</sup> mice can reduce hepatic inflammation. In contrast to our hypothesis, hepatic inflammation was not reduced in myeloid DLL4 deficient mice. In line with these findings, no differences were observed, *in vitro*, in expression of inflammatory genes between DLL4-deficient and wildtype bone marrow-derived macrophages. Overall, these results suggest that myeloid DLL4 deficiency does not contribute to hepatic inflammation *in vivo*.

In **Chapter 5**, we investigated the possible effects of modulating intracellular cholesterol transport as possible mechanism to reduce lysosomal cholesterol-induced inflammation. It was hypothesized that CYP27a1 overexpression in Kupffer cells will lead to reduced hepatic inflammation as it was previously demonstrated that 27-hydroxycholesterol, produced by the mitochondrial enzyme CYP27a1, reduces hepatic inflammation in hyperlipidemic mice. In this chapter it was shown that hematopoietic overexpression of CYP27a1 reduces hepatic inflammation, independently of 27-hydroxycholesterol levels, by modulating intracellular cholesterol trafficking via lysosomal NPC proteins.

In **Chapter 6**, our novel findings were discussed in detailed and I elaborated on how these mechanisms affect NASH and atherosclerosis development.

# Samenvatting

De vorming van schuimcellen en daarbij de ontwikkelde inflammatie zijn gemeenschappelijk kenmerken die een belangrijke bijdrage leveren aan de ontwikkeling van NASH en atherosclerose. Al hoewel NASH en atherosclerose een vergelijkbare etiologie hebben, bewijs voor een gedeeld mechanisme is echter nog niet bekend. In dit proefschrift heb ik mijn voornamelijk gefocust op de rol van macrofagen in NASH en atherosclerose. Hierbij is specifiek gekeken naar verschillende mechanismes die gerelateerd waren aan de communicatie over en weer tussen lipiden en inflammatie. Dit proefschrift verschaft nieuwe inzichten in macrofaag specifieke mechanismes die betrekking hebben op de opname van lysosomaal geoxideerd cholesterol. Deze mechanismes dragen bij aan de ontwikkeling van inflammatie in NASH en atherosclerose.

**Hoofdstuk 1** biedt één globale weergaven van de pathofysiologie van het metabool syndroom en zijn twee grote risicofactoren; NASH en atherosclerose. Dit hoofdstuk richten zich op verschillende studies die de ontwikkeling van schuimcellen en inflammatie beschrijft als een gedeeld feature van twee chronische ontstekingsziektes. Bovendien beschrijft dit hoofdstuk ook het standpunt dat NASH en atherosclerose gemeenschappelijk kenmerken vertoont van een lysosomaal stapelingsziekte. Tot slot, de verschillende effecten van schuimcellen op het ontstekingsprocessen en de modulatie van cholesterol transport wordt beschreven.

**Hoofdstuk 2** levert het bewijs voor het belang van lysosomale oxLDL accumulatie in macrofagen. Dit proces is beschreven in een macrofaag-specifiek muismodel in combinatie met pneumococci immunisatie. In dit hoofdstuk is aangetoond dat plaque ontwikkeling in NPC1<sup>mut</sup>-tp muizen is verlaagd na immunisatie, ongeacht van plasma lipiden niveaus. Daarnaast was er een afname in genexpressie van inflammatoire markers in de aortaboog van NPC1mut-tp muizen na immunisatie. Deze bevindingen tonen aan dat lysosomaal oxLDL accumulatie in macrofagen bijdraagt aan de ontwikkeling van atherosclerose in muizen.

**Hoofdstuk 3** biedt nieuw inzichten in een van de nieuwe macrofaag specifieke mechanisme, de inflammasome. De inflammasome kan ontstekingsprocessen veroorzaken als gevolg van overmatige opeenhoping van cholesterol in macrofagen. Onze hypothese in dit hoofdstuk was dat hematopoetisch caspase-1/11 deficiënt leidt tot verminderde ontwikkeling van atherosclerose. In lijn met onze hypothese, hematopoetisch deletie van caspase-1/11 resulteert in een sterke verlaging van atherosclerotisch plaque oppervlak. Kortom, onze resultaten geven weer dat hematopoetisch caspase-1/11 activatie betrokken is bij vasculaire inflammatie en atherosclerose, en bijdraagt in de ontwikkeling van cardiovasculaire ziekten.

In **hoofdstuk 4** droegen we bij aan de opheldering van de bijdrage van Notch signalering. Notch signalering wordt beschouwd als een belangrijke regulator van metabole processen en macrofaag gerelateerde ontstekingen bij atherosclerose. Als een potentiële gemeenschappelijk mechanisme, name we de hypothese aan dat myeloïde DLL4 deficiëntie in *Ldlr*<sup>-/-</sup> muizen leidt tot een verlaging van leverontsteking. In tegenstelling tot onze hypothese, leverontsteking was niet verlaagde in myeloïde DLL4 deficiënte muizen. In lijn met deze bevindingen, geen verschillen waren aangetoond, in vitro, in de expressie van inflammatoire genen tussen DLL4-deficiënte en wildtype beenmerg-specifieke macrofagen. Kortom, deze resultaten suggereren dat myeloïde DLL4 deficiëntie niet bijdraagt aan ontwikkeling van leverontsteking *in vivo*.

In **hoofdstuk 5** onderzochten we de mogelijk effecten van modulering van het intracellulair cholesterol transport als een middel om lysosomale cholesterol geïnduceerde ontstekingen te verlagen. Eerdere resultaten hebben aangetoond dat 27-hydroxycholesterol, geproduceerd door het mitochondriale enzym CYP27A1, leverontsteking remt in hyperlipidemische muizen. De hypothese in dit hoofdstuk was dat CYP27A1 overexpressie in Kupffer cellen zal leiden tot een verminderd leverontsteking zoals eerder aangetoond. We hebben kunnen aantonen dat overexpressie van hematopoetisch CYP27A1 leverontsteking verminderd, onafhankelijk van 27-hydroxycholesterol niveaus, door het moduleren van intracellulaire cholesterol transport via de lysosomale NPC-eiwitten.

In **hoofdstuk 6**, heb ik deze bevindingen in detail besproken en ben ik ingegaan op hoe deze mechanismen van invloed kunnen hebben op de ontwikkeling van NASH en atherosclerose.