



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Towards therapeutic disease control in inflammatory bowel diseases

Vos, A.C.W.

Citation

Vos, A. C. W. (2011, September 8). *Towards therapeutic disease control in inflammatory bowel diseases*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/17819>

Version: Corrected 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/1887/17819>

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

Chapter nine

Appendices

Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden

List of publications

Curriculum Vitae

Nawoord

Full colour illustrations

Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden

Inflammatoire darmziekten

Crohn's disease (CD, ook wel ziekte van Crohn genoemd) en ulcerative colitis (UC, colitis ulcerosa) zijn chronische inflammatoire darmziekten (IBD, inflammatory bowel diseases). Patiënten hebben doorgaans klachten als buikpijn, diarree, bloed bij de ontlasting, gewichtsverlies en algehele malaise. De ziekte is chronisch, en is op dit moment helaas niet te genezen. De ziekte heeft een grote invloed op de kwaliteit van leven van de patiënt, en veel patiënten gebruiken chronisch medicatie die het immuunsysteem onderdrukken (immuunsuppressiva) en ondergaan een of meerdere operaties. Bij CD kan het hele spijsverteringsstelsel zijn aangedaan (dat wil zeggen van mond tot anus); UC betreft alleen de dikke darm. Zowel UC als CD kunnen op elke leeftijd voorkomen, maar de meeste nieuwe gevallen worden vastgesteld tussen het 20^e en 40^e levensjaar.

In de darm leven miljoenen bacteriën (de darmflora) die belangrijk zijn voor verschillende processen, en die ook een rol spelen in het afweersysteem. In de normale situatie reageert het afweersysteem niet op de darmflora, omdat dit zou leiden tot een ontsteking (een proces dat tolerantie wordt genoemd). In het geval van IBD reageert het afweersysteem toch op de darmflora, waardoor een afweerreactie in gang wordt gezet welke resulteert in een chronische ontsteking. Hoewel er veel onderzoek wordt verricht naar het ontstaan van beide ziekten, is het niet geheel duidelijk waarom de tolerantie wordt doorbroken. Het is bekend dat zowel CD als UC een sterke genetische component heeft, aangezien mensen die een familielid hebben met de ziekte, een grotere kans hebben om de ziekte ook te krijgen dan mensen die geen familielid hebben met de ziekte. Verschillende grote studies (Genome Wide Association Studies, GWAS) zijn uitgevoerd om defecten in genen op te sporen die mogelijk geassocieerd zijn met CD en/of UC. Er zijn defecten gevonden in genen die een rol spelen in verschillende componenten van het immuunsysteem, maar ook defecten in genen waarvan minder goed bekend is hoe dit geassocieerd is met de ziekte. Hoewel deze GWAS studies weliswaar aanwijzingen verschaffen over welke genen mogelijk betrokken zijn, blijken daarnaast ook omgevingsfactoren een belangrijke rol te spelen. Zowel UC als CD zijn dus ziekten die multifactorieel van aard zijn; dat wil zeggen dat er op dit moment niet duidelijk een verantwoordelijke factor aangewezen kan worden die leidt tot de ziekte.

De behandeling is voornamelijk gericht op het verbeteren van de kwaliteit van leven, het verminderen van hospitalisatie, operaties en steroïde-gebruik, en het behouden van klinische remissie. Vaak gebeurt dit met immuunsuppressiva, zodat de afweerreactie onderdrukt wordt. De medicatie die gebruikt wordt om de ziekte onder controle te krijgen is echter niet zonder bijwerkingen. De medicamenten die op dit moment deel uit maken van de behandeling van UC en CD, zijn onder andere 5-ASA, steroïden, methotrexaat, ciclosporine, azathioprine en anti-tumor-necrosis-factor-alpha (anti-TNF α) waaronder infliximab en adalimumab. Laatstgenoemden zijn antilichamen gericht tegen TNF α , een pro-inflammatoir stofje (cytokine) dat in grote mate aanwezig is in de darm van IBD patiënten. Een anti-TNF α bindt TNF α en kan op deze manier TNF α neutraliseren.

Idealiter is een behandeling 100% effectief en zijn er geen bijwerkingen. Dit is zelden het geval. Tevens zou het in de ideale situatie mogelijk zijn om patiënten op basis van hun ziektekenmerken en/of genetisch profiel een behandeling-op-maat aan te bieden. Op deze wijze zou een hogere effectiviteit bereikt kunnen worden en nadelige bijeffecten geminimaliseerd. Om dit in de toekomst te bewerkstelligen, is het belangrijk dat er meer bekend is over hoe CD en UC precies ontstaan, zodat gezocht kan worden naar nieuwe aangrijpingsmechanismen. Daarnaast is het van belang dat er meer inzicht wordt verkregen in het werkingsmechanisme van bestaande therapieën, opdat deze verder geoptimaliseerd kunnen worden. Verder is het noodzakelijk dat nadelige bijeffecten goed in kaart worden gebracht en dat mogelijke risicogroepen geïdentificeerd kunnen worden. Tot slot moet gezocht blijven worden naar nieuwe behandelingsstrategieën met mogelijk minder bijwerkingen die een uitkomst kunnen bieden voor patiënten die niet of slecht reageren op de huidige therapieën.

In dit proefschrift worden verschillende aspecten van huidige en toekomstige therapie bij IBD belicht.

In **hoofdstuk 2** worden verschillende behandelstrategieën besproken. Hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen de step-up en top-down benadering. Bij een step-up behandeling wordt de behandeling op geleide van klachten en symptomen aangepast; indien de ziekte verslechterd wordt er een “sterker” medicijn aan de behandeling toegevoegd. Recente onderzoeken tonen echter aan dat in een bepaalde groep CD patiënten het de voorkeur geniet om top-down te behandelen. Dit houdt in dat in een vroeg stadium van de ziekte wordt behandeld (early intervention) met medicijnen die anders pas later in de behandeling geïntroduceerd zouden worden, dit betreft met name behandeling met infliximab en azathioprine. Vooral patiënten die een verhoogd risico hebben op een gecompliceerd ziektebeloop zouden van de early intervention benadering kunnen profiteren. Een overzicht van de verschillende aspecten van deze behandelingsstrategieën alsmede mogelijke factoren die patiënten met verhoogde risico op een gecompliceerd ziektebeloop kunnen identificeren worden in dit hoofdstuk besproken.

In **hoofdstuk 3** wordt een nieuwe rol voor autofagie in het ontstaan van de ziekte van Crohn beschreven. Autofagie (“autophagos” – zelf-eten) is van oorsprong een proces dat een belangrijke rol speelt bij de overleving van een cel. Uit verschillende GWAS bleek dat een bepaalde mutatie in het gen *ATG16L1* geassocieerd is met het ontstaan van CD. Het is bekend dat *ATG16L1* belangrijk is voor het proces van autofagie, maar nog onvoldoende hoe dit mogelijk gerelateerd is aan CD. In dit hoofdstuk onderzoeken wij hoe een defect in dit gen kan leiden tot een overmatige afweerreactie. Verlaagde levels van *ATG16L1* in dendritische cellen (DCs, cellen die belangrijk zijn in de herkenning van een pathogeen en voor de aansturing van het adaptieve afweersysteem) bleek te resulteren in een hyperactieve DCs. Hierdoor werden T cellen extra geactiveerd hetgeen kan resulteren in een afweerreactie. Dit mechanisme zou in de toekomst meer inzicht kunnen verschaffen in nieuwe aangrijpingspunten bij patiënten die een mutatie in dit gen hebben, bijvoorbeeld met medicijnen die het autofagieproces stimuleren of die de DC – T cel interactie verkorten.

In **hoofdstuk 4** wordt een nieuw werkingsmechanisme van infliximab beschreven. Het belangrijkste werkingsmechanisme van infliximab lijkt niet te berusten op de neutralisatie van $TNF\alpha$, aangezien andere medicijnen die $TNF\alpha$ kunnen neutraliseren niet effectief

zijn gebleken in de behandeling van IBD. In dit hoofdstuk beschrijven we de inductie van macrophagen met wondgenezende eigenschappen die een rol kunnen spelen bij het genezen van ulcers in de darm. Deze inductie bleek afhankelijk te zijn van het Fc gedeelte van infliximab. Het Fc gedeelte is de “achterkant” van het antilichaam (dus niet de kant waar TNF α wordt gebonden en geneutraliseerd), en kan een interactie aangaan met Fc receptoren op onder andere monocytten. Deze interactie bleek cruciaal te zijn in de inductie van regulatoire macrophagen. Tevens kan dit model verklaren waarom sommige anti-TNFs wel effectief zijn in IBD en anderen niet. Deze observatie verschaft meer inzicht in de factoren die belangrijk zijn voor de effectiviteit van anti-TNF en kan mogelijk in de toekomst leiden tot een nieuwe generatie anti-TNF met grotere effectiviteit.

In **hoofdstuk 5** wordt verder gekeken naar de rol van infliximab-geïnduceerde regulatoire macrophagen in het proces van wond genezing. We laten zien dat patiënten die een goede respons hebben op infliximab, grotere hoeveelheden regulatoire macrophagen in hun darm hadden na infliximab therapie dan patiënten die niet reageerden op infliximab. Tevens zijn infliximab-geïnduceerde regulatoire macrophagen in staat om wondgenezing te bevorderen in een *in vitro*-model. Deze data suggereren dat regulatoire macrophagen geïnduceerd door infliximab inderdaad een rol spelen bij de wond genezing. Tevens is het bekend dat een hogere effectiviteit bereikt wordt indien infliximab in combinatie met azathioprine wordt gebruikt. In dit hoofdstuk laten wij zien dat er grotere hoeveelheden regulatoire macrophagen ontstaan indien azathioprine wordt toegevoegd aan infliximab. Daarnaast hebben de macrophagen die geïnduceerd zijn door de combinatietherapie sterkere immuunsuppressieve eigenschappen.

In **hoofdstuk 6** wordt een Fase I studie beschreven waarin 9 CD patiënten behandeld werden met mesenchymale stamcellen (MSC). Het doel van deze studie was om te onderzoeken of het haalbaar en veilig was om patiënten met MSCs te behandelen. MSCs zijn relatief gemakkelijk te isoleren en op te kweken, en hebben, net als regulatoire macrophagen, immuunsuppressieve eigenschappen. Door deze kenmerken zijn MSCs een potentiële kandidaat voor een nieuwe behandeling van CD. De behandeling met MSCs bleek haalbaar en veilig te zijn. Omdat deze studie patiënten includeerde die niet meer reageerden op de gangbare therapieën, is het moeilijk om te speculeren over effectiviteit; meer inzicht in de effectiviteit zal verkregen moeten worden uit toekomstige studies.

In **hoofdstuk 7** wordt onderzocht of patiënten met IBD een vergrote kans hebben op het ontstaan van kwaadaardige (maligne) lymfomen. In deze studie die ongeveer 18000 IBD patiënten includeert, werd geen algeheel verhoogd risico op lymfoom in IBD patiënten gevonden. Wel werd een verhoogd risico waargenomen in de leeftijdscategorieën 35 – 39 en 45 – 49. Daarnaast bleek er een sterke associatie te zijn tussen het ontstaan van EBV+ (Epstein-Barr positieve) lymfomen en het gebruik van azathioprine.

Samengevat, verschaffen de resultaten beschreven in dit proefschrift nieuwe inzichten in verschillende aspecten van de behandeling van IBD, welke besproken worden in **hoofdstuk 8**. De beschreven rol van autofagie in het ontstaan van CD en de inductie van regulatoire macrophagen door infliximab en infliximab/azathioprine combinatie therapie, kunnen leiden tot nieuwe aangrijpingspunten in de behandeling. Tevens is het risico op maligne lymfoom bij de IBD-patiënten in kaart gebracht; welke in het algemeen niet verhoogd is maar in bepaalde leeftijdsgroepen toch moet leiden tot awareness. Tot slot is de experimentele behandeling met MSCs haalbaar en veilig gebleken, hetgeen aanleiding geeft tot verder onderzoek naar de effectiviteit van MSCs in de behandeling van CD.

List of publications

- Anne Christine W. Vos, Manon E. Wildenberg, Marjolijn Duijvestein, Auke P. Verhaar, Gijs R. van den Brink and Daniel W. Hommes. Anti-TNF antibodies induce regulatory macrophages in an Fc region dependent manner. *Gastroenterology*. 2011 Jan;140(1):221-230.e3
- Anne Christine W. Vos, Noor Bakkal, Robert C. Minnee, Mariel K. Casparie, Dirk.J. de Jong, Gerard Dijkstra, Pieter Stokkers, Ad van Bodegraven, Marieke Pierik, C.Janneke van der Woude, Bas Oldenburg, Daniel W. Hommes for the 'Initiative on Crohn's and Colitis (ICC). Risk of Malignant Lymphoma in Patients with Inflammatory Bowel Diseases, a Dutch Nationwide Study. *Inflammatory Bowel Diseases*, in press
- Anne Christine W. Vos, Manon E. Wildenberg, Ingrid Arijs, Marjolijn Duijvestein, Auke P. Verhaar, Gert de Hertogh, Severine Vermeire, Paul Rutgeerts, Gijs R. van den Brink and Daniel W. Hommes Regulatory macrophages induced by infliximab are involved in healing *in vivo* and *in vitro*. *Inflammatory Bowel Diseases*, accepted for publication
- Anne Christine W. Vos, Herma H. Fidder, Gijs R. van den Brink and Daniel W. Hommes. Management of lack and loss of response to anti-tumor necrosis factor therapy. *Inflamm Bowel Dis Monit* 2009; 10(2):43-52.
- Anne Christine W. Vos and Daniel W. Hommes. Early intervention therapy in Crohn's disease. *Springer IBD text book*, under review
- Marjolijn Duijvestein, Anne Christine W. Vos, Helene Roelofs, Manon E. Wildenberg, Barbara B. Wendrich, Henricus W. Verspaget, Engelina M.C. Kooy-Winkelaar, Frits Koning, Jaap Jan Zwaginga, Herma H. Fidder, Auke P. Verhaar, Willem E. Fibbe, Gijs R. van den Brink, Daniel W. Hommes. Autologous bone marrow derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut*. 2010;59(12):1662-9.
- Manon E. Wildenberg, Anne Christine W. Vos, Simone C.S. Wolfkamp, Marjolijn Duijvestein, Auke P. Verhaar, Anje A. te Velde, Gijs R. van den Brink and Daniel W. Hommes. Dendritic cell autophagy attenuates the adaptive immune response by destabilizing the immunological synapse. *Manuscript in preparation*
- Anne Christine W. Vos and Marjolijn Duijvestein. Report from the United European Gastroenterology Week/World Congress of Gastroenterology (Gastro 2009). *Inflamm Bowel Dis Monit* 2010;11(3):106-109
- Anne Christine W. Vos and Marjolijn Duijvestein. Report from the United European Gastroenterology Week Barcelona 2010. *Inflamm Bowel Dis Monit*. 2011;10(3):134-137
- Marjolijn Duijvestein, Manon E. Wildenberg, Mick M. Welling, Anne Christine W. Vos, Simone Hennink, Tjalling Bosse, Eveline S.M. de Jonge-Muller, Helene Roelofs, Hein W. Verspaget, Willem E. Fibbe, Anje A. te Velde, Gijs R. van den Brink, Daniel W. Hommes Pretreatment with interferon-gamma enhances the therapeutic activity of mesenchymal stromal cells in animal models of colitis. *Stem Cells*, accepted for publication
- Marjolijn Duijvestein, Ilse Molendijk, Helene Roelofs, Anne Christine W. Vos, Auke P. Verhaar, Marlies E.J. Reinders, Willem E. Fibbe, Hein W. Verspaget, Gijs R. van den Brink, Manon E. Wildenberg, Daniel W. Hommes. Mesenchymal Stromal Cell Function is Not Affected by Current IBD Drugs. *Cytotherapy*, accepted for publication

Curriculum Vitae

Christine Vos werd geboren op 18 juli 1985 te Utrecht. In 2003 behaalde zij haar diploma aan het Christelijk Gymnasium Utrecht. In hetzelfde jaar startte zij met de studie Geneeskunde aan de Universiteit Leiden. In het vierde jaar van haar studie deed zij een wetenschappelijk stage op de afdeling Maag-Darm-Leverziekten van het Leids Universitair Medisch Centrum onder supervisie van Prof. dr. D.W. Hommes naar de incidentie van maligne lymfomen bij IBD patiënten in Nederland, welke later ook onderdeel werd van haar proefschrift. In augustus 2007 begon zij onder supervisie van Prof. dr. D.W. Hommes met haar promotieonderzoek naar therapeutische aspecten van inflammatoire darmziekten in het laboratorium van de afdeling Maag-Darm-Leverziekten van het Leids Universitair Medisch Centrum, wat geresulteerd heeft in verschillende publicaties en de totstandkoming van dit proefschrift. Op dit moment is Christine bezig met co-schappen, en zij hoopt in het voorjaar van 2013 het arts-examen te behalen.

Christine Vos was born in Utrecht on the 18th of July 1985. In 2003 she finished her secondary education at the Christelijk Gymnasium Utrecht. She started Medical School at Leiden University in September 2003. During her fourth year, she did a research-internship at the department of Gastroenterology and Hepatology at the Leiden University Medical Center under the supervision of Prof. Dr. D.W. Hommes, investigating the incidence of malignant lymphoma in inflammatory bowel disease patients in the Netherlands, which became part of her thesis later on. In August 2007, she started her PhD at the research laboratory of the Department of Gastroenterology and Hepatology of the Leiden University Medical Center, investigating therapeutic aspects of inflammatory bowel diseases, which resulted in several publications and this thesis. At this moment, she is doing her clinical internships, and she hopes to graduate in Spring 2013.

Nawoord

Dit proefschrift is tot stand gekomen met hulp van velen. Door de aanwezigheid van zoveel leuke en talentvolle mensen om me heen is het gelukt om dit proefschrift succesvol af te ronden, en bleek promoveren behalve uitdagend vooral heel erg leuk te zijn! Om die reden wil ik graag een aantal mensen bedanken.

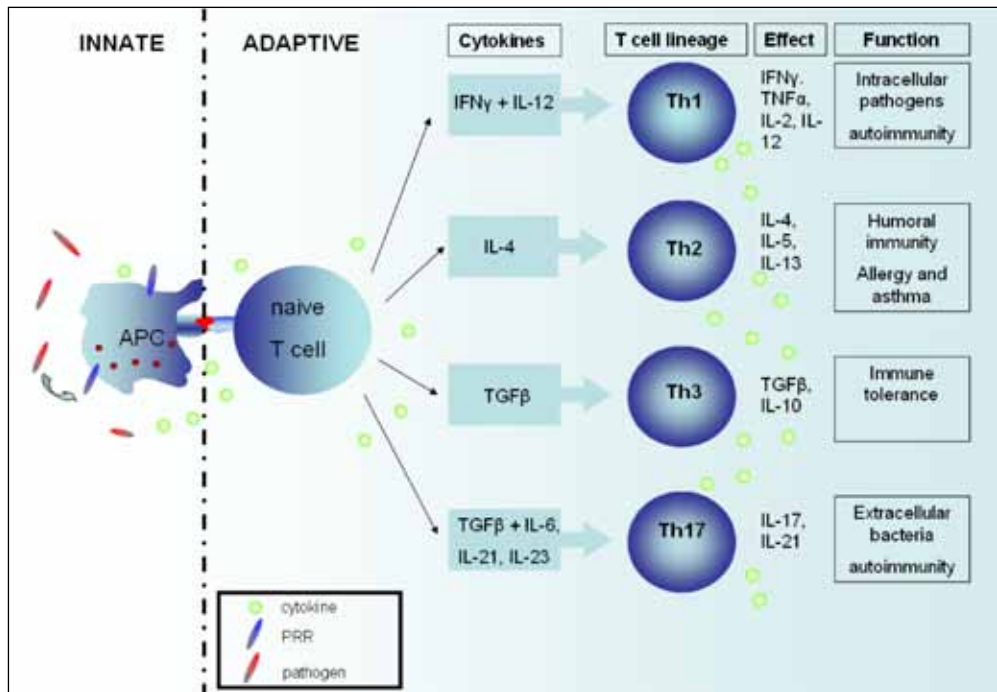
Ten eerste gaat mijn dank uit naar mijn promotor, Daan. Daan, jij hebt me geleerd om over grenzen heen te kijken en altijd te blijven zoeken naar oplossingen en uitdagingen. Veel dank voor alle mogelijkheden die je me geboden hebt! Gijs en Manon, co-promotores, ook jullie zijn zeer nauw betrokken geweest bij de totstandkoming van dit proefschrift. Veel dank voor jullie waardevolle inbreng, en ook voor de waardevolle werkbesprekingen op locatie! Tevens wil ik alle medewerkers, analytisch personeel, staf en huidig en voormalig arts-assistenten van de afdeling Maag-Darm-Leverziekten van het Leids Universitair Medisch Centrum danken voor hun steun, hulp maar ook gezelligheid in de breedste zin van het woord. Extra veel dank Rutger, Auke, Marjolijn, Liudmilla, Bert-Jan, Patty, Sander, Philip, Ilse, Lianne, Hein, Izak, James, Pim, Johan, Eveline, Annie, Marij, Wim en Lokke. Evenveel dank gaat uit naar Tytgat-collegae Jarom, Nikè, Sanne, Vanesa, Bart, Thijs en AMC-collega Willemijn. Ik heb een geweldige tijd met jullie gehad! Voorts dank ik de afdeling Maag-Darm-Leverziekten van het Gasthuisberg in Leuven voor een vruchtbare en leuke samenwerking.

Tot slot wil ik graag mijn vrienden en familie bedanken. Mijn favoriete slogan “gezelligheid kent geen tijd” veranderde het laatste jaar soms in “tijd kent geen gezelligheid” en ik heb sommigen een beetje verwaarloosd. Dank voor jullie steun, vriendschap, gezelligheid en vertrouwen, hetgeen geen vanzelfsprekendheid is. Ik prijs me enorm gelukkig met zoveel lieve mensen om me heen! Dear Einhorn family: thanks for giving me a second home in the US! An, Atie en Rik: jullie support was en is van onschatbare waarde. Lieve Alexander, pap en mam, dank voor alles en nog heel veel meer. Het boekje is af, tijd voor een feestje!

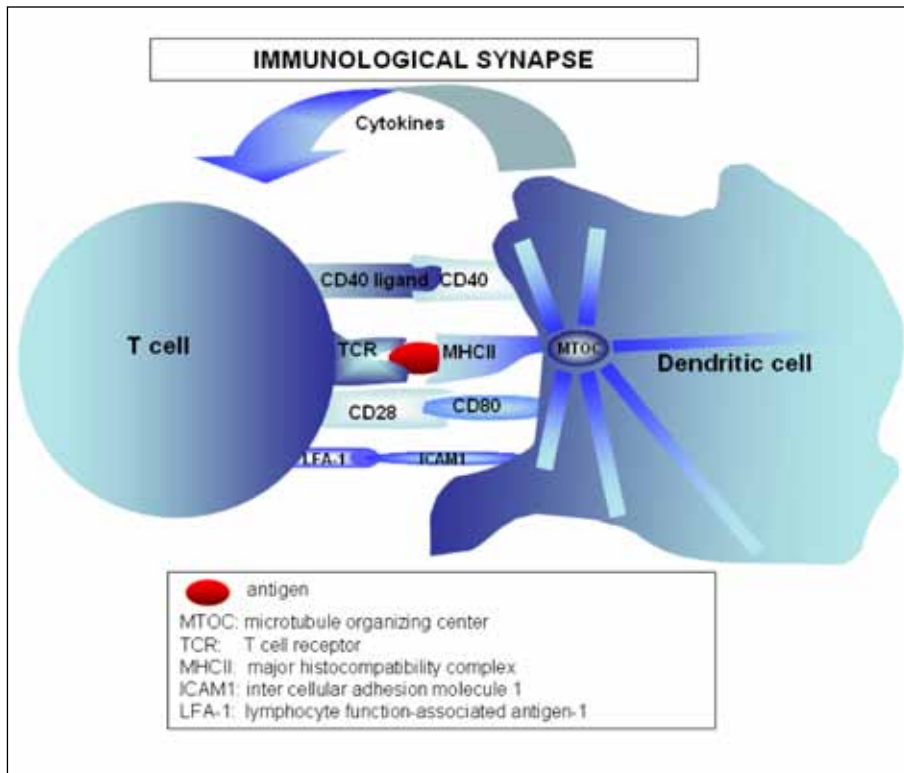
Anne Christine Wilhelmina Vos
Leiden, 8 september 2011

Full colour illustrations

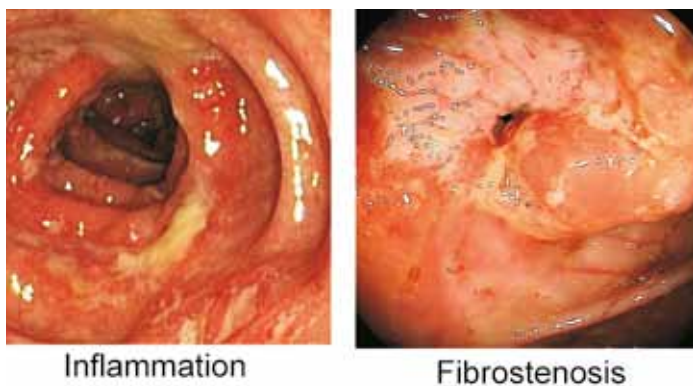
Chapter 1: Figure 1 Innate and adaptive immunity.



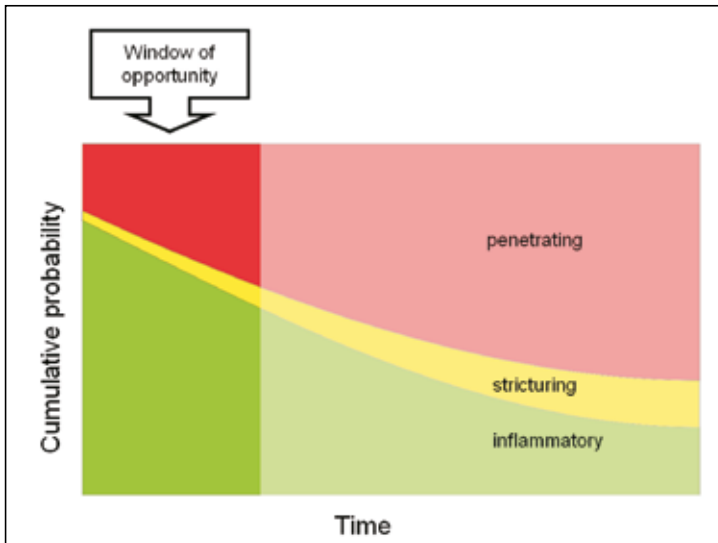
Chapter 1: figure 2 The immunological synapse.



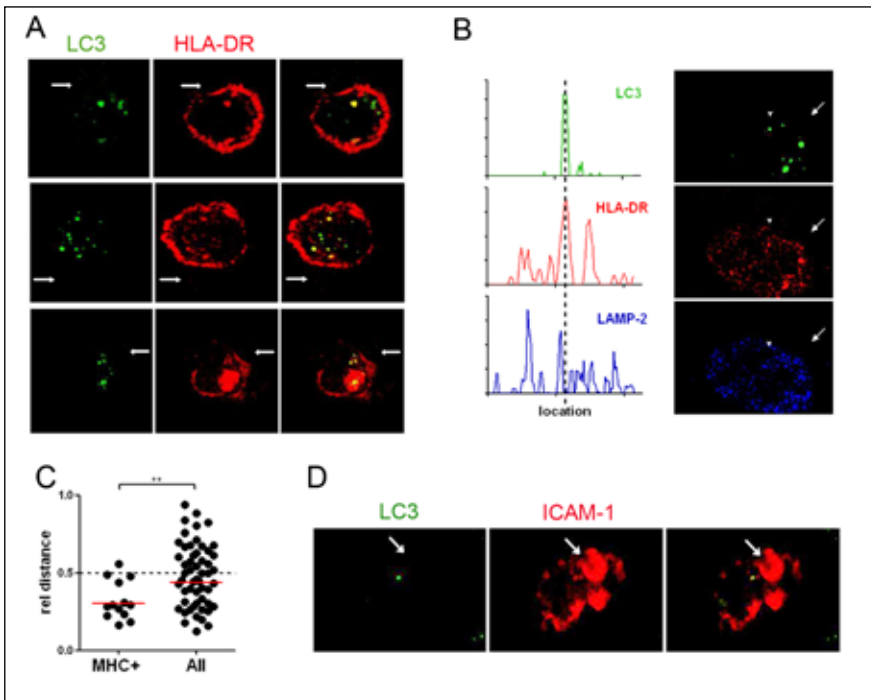
Chapter 2: figure 1 Inflammation (left panel) and fibrostenosis (right panel).



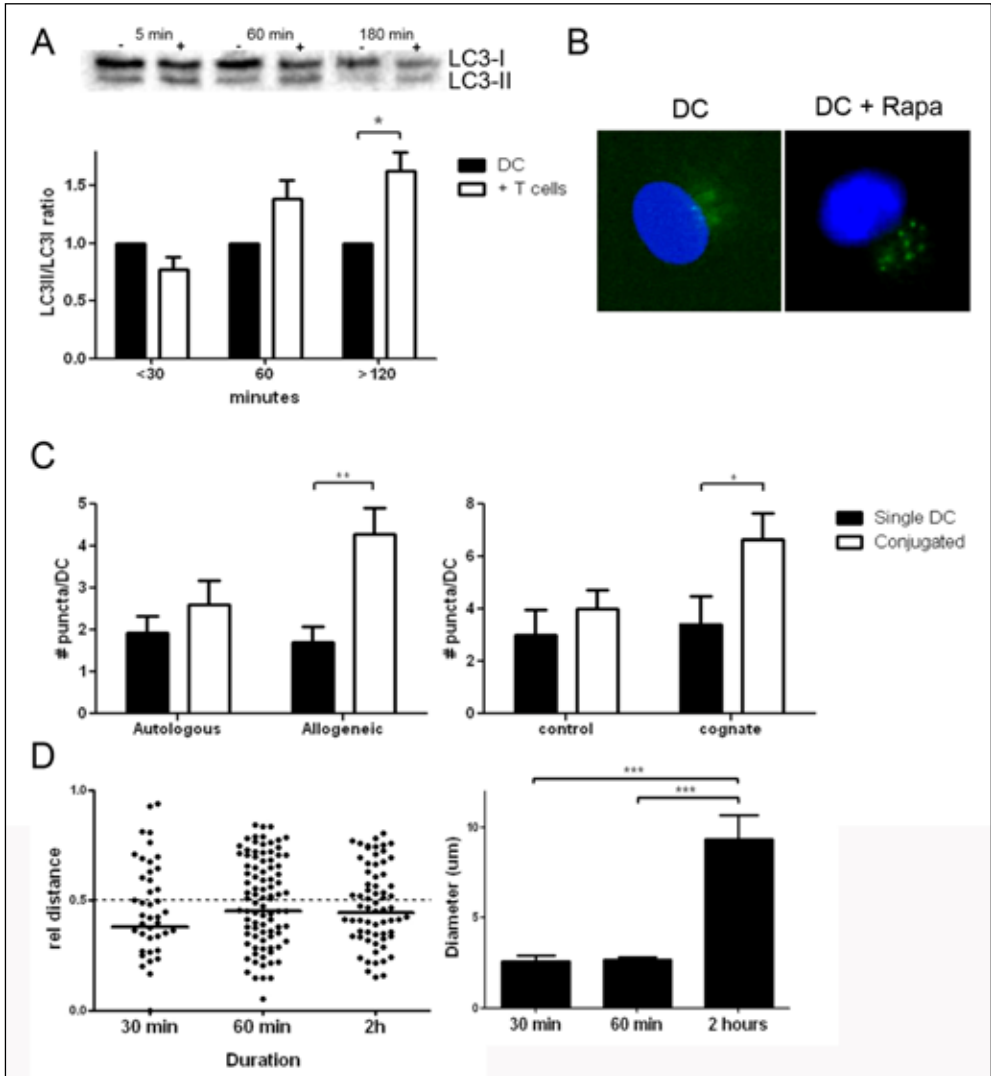
Chapter 2: figure 2 Window of opportunity.



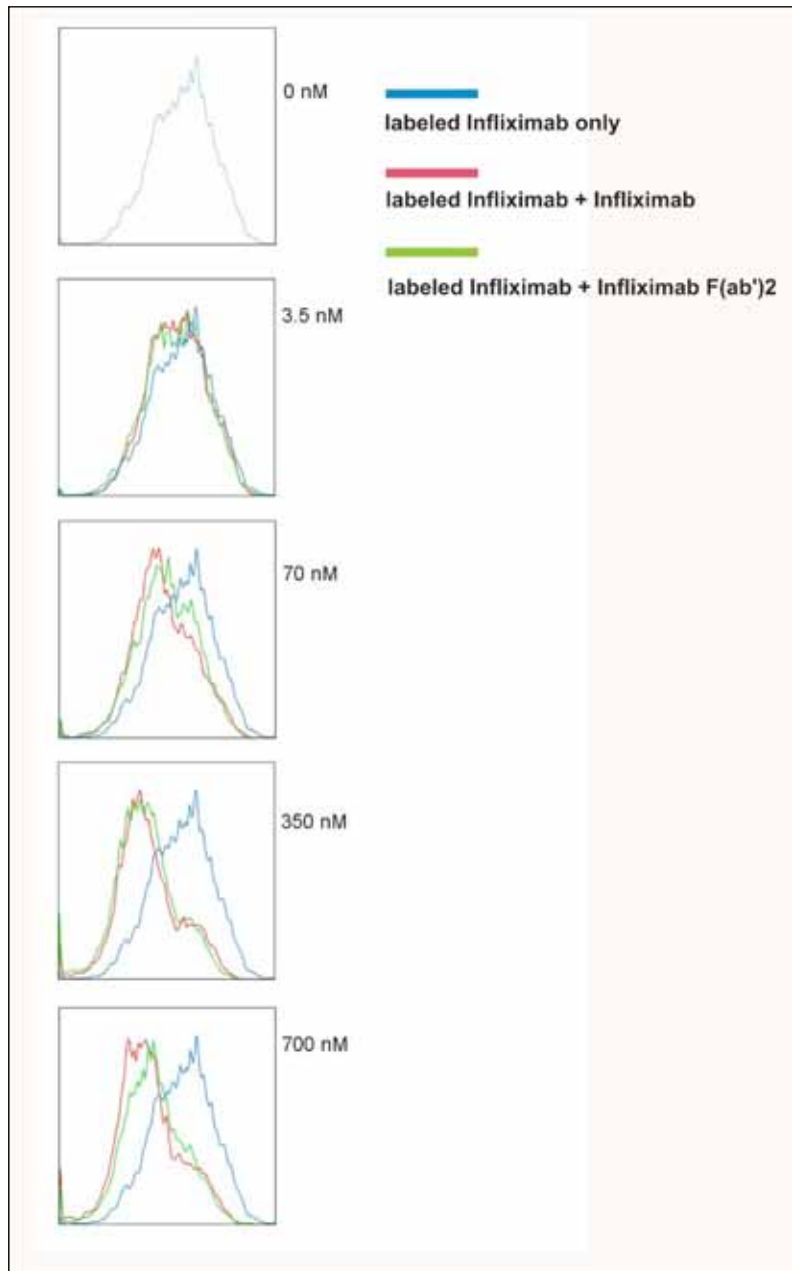
Chapter 3: figure 6 Autophagosomes are involved in degradation of synaptic components.



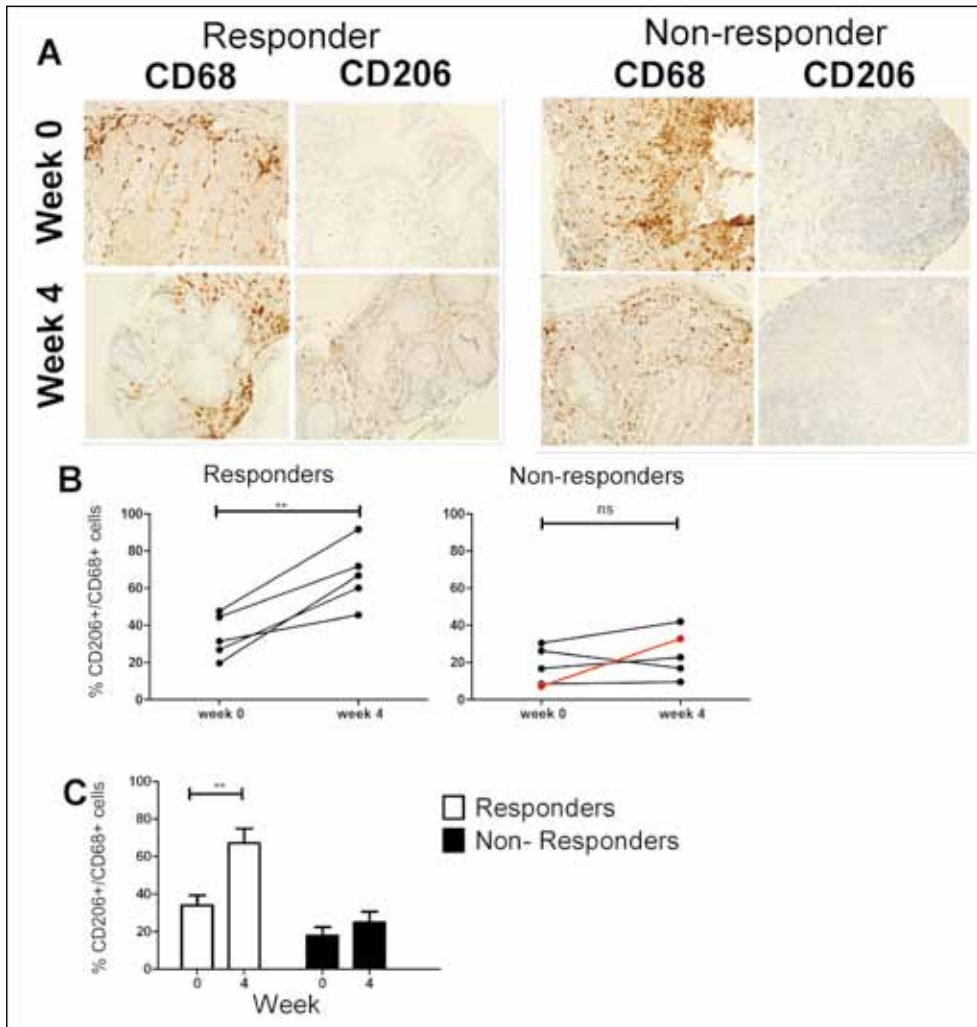
Chapter 3: figure 5 Immunological synapse formation induces autophagy in DC.



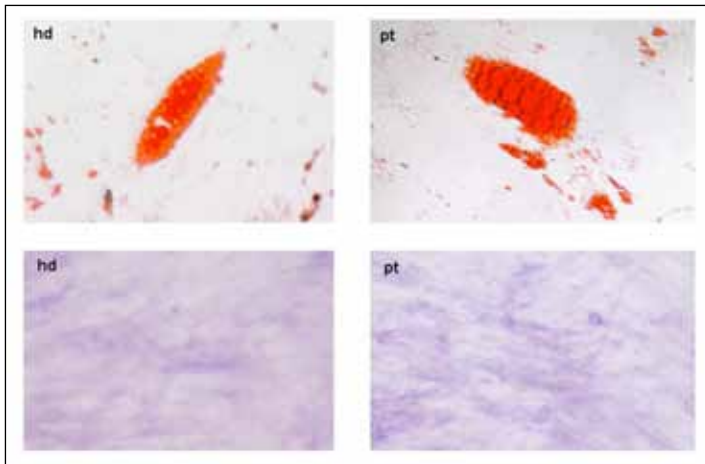
Chapter 4: supplementary figure 3.



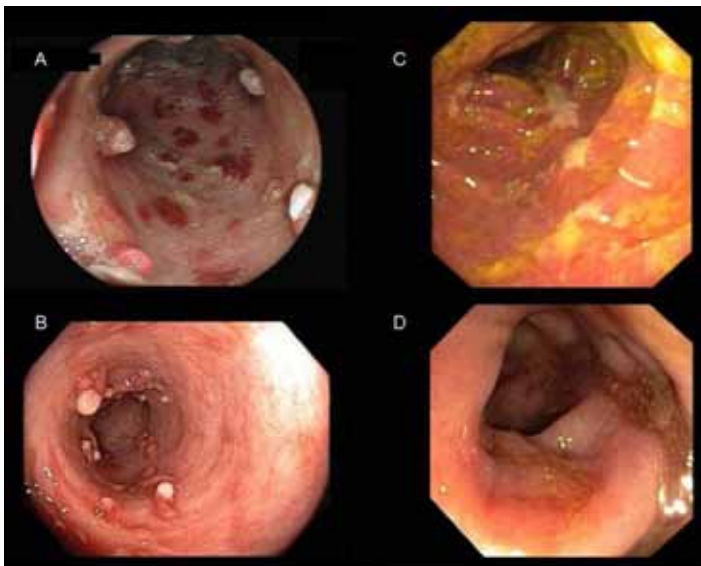
Chapter 5: figure 1 Infliximab induces regulatory macrophages in responders but not in non-responders.



Chapter 6: figure 2.



Chapter 6: figure 5 Endoscopy 0 (upper panels) and at 6 weeks (lower panels) after mesenchymal stromal cell (MSC) treatment (two administrations of 2×10^6 autologous bmMSCs) shows clear mucosal healing. Pictures A and B are from patient 2, pictures C and D from patient 3.



Chapter 6: supplementary figure 1.

