



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Immunological aspects of conventional and new treatments for cervical cancer, an immunopharmacological approach

Meir, H. van

Citation

Meir, H. van. (2017, April 12). *Immunological aspects of conventional and new treatments for cervical cancer, an immunopharmacological approach*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/48288>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/48288>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/48288> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Meir, H. van

Title: Immunological aspects of conventional and new treatments for cervical cancer, an immunopharmacological approach

Issue Date: 2017-04-12



VIII

(DUTCH SUMMARY

Nederlandse samenvatting

Jaarlijks wordt bij ongeveer 700 vrouwen in Nederland de diagnose baarmoederhalskanker gesteld. Klinische stadiëring vindt plaats volgens de Internationale Federatie van Gynaecologie en Obstetrie (FIGO) richtlijnen. In geval van een vroeg stadium baarmoederhalskanker kan succesvolle behandeling plaatsvinden met een operatie of bestraling (radiotherapie) van het kleine bekken al dan niet gecombineerd met chemotherapie. De prognose voor deze patiënten is over het algemeen goed, met een 5-jaars overleving tussen de 80-90% bij een FIGO stadium I tot IIA. Bij een operatieve behandeling, waarbij een verwijdering van de baarmoeder en de lymfeklieren uit het bekken plaatsvindt, wordt extra informatie verkregen over de lokale uitbreiding en specifieke tumor. De aanwezigheid van kwaadaardige cellen in de lymfeklieren, evenals de grootte van de tumor (*hoofdstuk 3*) zijn de belangrijkste risicofactoren voor terugkeren van ziekte en of er nog aanvullende behandeling nodig is zoals bestraling al dan niet in combinatie met chemotherapie. Als de baarmoederhalskanker – ondanks uitgebreide behandeling(en) – weer terug komt, gebeurt dat in praktisch 80% van de gevallen in de eerste twee jaar na de primaire behandeling.

In geval van een vergevorderd stadium baarmoederhalskanker, is de prognose ongunstig en is het risico groot dat de ziekte terugkomt of uitzaaiingen geeft. Bij uitgezaaide of teruggekeerde baarmoederhalskanker, is genezing niet meer mogelijk en is chemotherapie met carboplatin en paclitaxel de standaard behandeling. Aangezien slechts bij 15-25% van de patiënten de tumor hierop reageert, is deze behandeling er vooral op gericht om snelle uitbreiding te voorkomen en de kwaliteit van leven te verbeteren (“palliatieve behandeling”). De laatste jaren zijn er verschillende strategieën bedacht om patiënten waarbij de baarmoederhalskanker uitgebreid, uitgezaaid of teruggekeerd is effectiever te kunnen behandelen. Tot op heden heeft dit nog weinig klinisch succes opgeleverd en gesteld kan worden dat voorlopig het uitgebreide stadium van baarmoederhalskanker niet optimaal te behandelen is, en patiënten er uiteindelijk aan zullen overlijden. Daarom is het belangrijk om voor deze groep patiënten nieuwe behandelingen te onderzoeken.

HET AFWEERSYSTEEM

Het afweersysteem beschermt ons lichaam tegen indringers van buitenaf zoals bacteriën en virussen en is daarnaast in staat om afvalstoffen en zieke lichaamseigen cellen op te ruimen. Het afweersysteem bestaat uit verschillende soorten witte bloedcellen (leukocyten), waarbij de subgroep van T-cellen een essentiële

rol hebben bij de bestrijding van de zieke lichaamseigen cellen zoals virus-geïnfecteerde cellen en tumorcellen. Binnen de T-cellen kunnen er verschillende subtypes onderscheiden worden, met elk een specifieke functie. De helper CD4⁺ T-cellen kenmerken zich door de productie van signaalstoffen zoals cytokines (interferon γ) en interleukines (o.a. IL-2), deze hebben een regulerende functie waarbij ze een afweerreactie activeren en onderhouden. De cytotoxische CD8⁺ T-cellen zijn in staat om geïnfecteerde cellen en kankercellen aan te vallen en te doden. Er zijn daarnaast ook regulatoire T-cellen (Treg) die de ontwikkeling en functie van de andere afweercellen kunnen onderdrukken door de productie van afweer onderdrukkende stoffen.

Een andere groep van witte bloedcellen wordt gevormd door de myeloïde cellen. Dit zijn immuun cellen die enerzijds een rol kunnen spelen bij de stimulatie van T-cellen tijdens het opruimen van tumor cellen, maar anderzijds in staat zijn T-cellen te onderdrukken en de groei van tumorcellen te bevorderen.

HET AFWEERSYSTEEM EN BAARMOEDERHALSKANKER

Bij baarmoederhalskanker speelt de afweer tegen het humaan papillomavirus (HPV) een belangrijke rol. Baarmoederhalskanker wordt veroorzaakt door een langdurige en persisterende infectie met HPV. Er zijn meer dan 100 verschillen typen HPV, waarvan er 15 zogenoemd een hoog risico type zijn omdat deze kanker kunnen veroorzaken. HPV is de meest voorkomende seksueel overdraagbare infectie en ongeveer 80% van de bevolking raakt ooit geïnfecteerd met een hoog-risico type HPV. De meerderheid van de mensen die hiermee geïnfecteerd raken, zijn goed in staat om het virus binnen 2 jaar uit het lichaam op te ruimen door middel van een virus-specifieke afweerreactie. Hiervoor lijkt een krachtige HPV-specifieke reactie van het grootste belang. In iets minder dan 10% van de gevallen blijft de infectie met HPV echter langdurig bestaan en kunnen (voorstadia van) kwaadaardige afwijkingen van de baarmoederhals, schaamlippen of vagina ontstaan. Blijkbaar weet in die gevallen het HPV virus via verschillende mechanismen te ontsnappen aan het afweersysteem.

Dat het afweersysteem ook een belangrijke rol speelt bij baarmoederhalskanker blijkt uit het feit dat baarmoederhalskanker vaker voorkomt bij vrouwen met HIV en AIDS en bij vrouwen die medicijnen gebruiken die het afweersysteem onderdrukken (bv. na een orgaantransplantatie). Gebleken is dat deze vrouwen een verzwakt afweersysteem hebben en niet gemakkelijk een HPV-infectie kunnen opruimen. In het geval van baarmoederhalskanker, is de aanwezigheid van veel T-cellen en het juiste type myeloïde cellen rondom de tumor sterk geassocieerd met een goede levensverwachting bij kankerpatiënten, terwijl bijvoorbeeld

de aanwezigheid van regulatoire T-cellen samenhangt met een lagere levensverwachting. Kwaadaardige cellen proberen echter een afweerreactie van T-cellen te vermijden door middel van verschillende ontsnappingsmechanismen. Zo passen de tumorcellen hun celmembraan aan, waardoor de T-cellen de tumorcel niet meer herkennen en dus niet aanvallen of waardoor deze T-cellen in hun functie geremd worden. Tevens kan de functie van T-cellen onderdrukt worden door de aanwezigheid van zogenoemde afweer-onderdrukkende myeloïde cellen en de productie van afweersysteem remmende stoffen. Deze vormen een beschermende laag rondom de tumor, en maken de tumor onbereikbaar voor aanvallende T-cellen, waardoor deze ongestoord en uitgebreid kan groeien.

IMMUNOTHERAPIE VOOR BAARMOEDERHALSKANKER

Omdat bepaalde elementen binnen het afweersysteem een belangrijke rol spelen bij enerzijds het ontstaan en de groei van kanker en anderzijds de bestrijding hiervan, zijn er in de afgelopen decennia verschillende behandelingen ontwikkeld die een effect hebben op het afweersysteem (“immunotherapie”). Het doel van immunotherapie in het geval van kanker, is het herstellen van een goede afweer tegen de kankercellen met als gevolg het doden ervan. Er zijn grofweg drie immunotherapeutische strategieën: antilichaam- of cytokinetherapie, adoptieve T-cel therapie en therapeutische vaccinatie. Helaas hebben tot op heden slechts enkele immunotherapieën (kortdurend) klinisch effect laten zien bij veelal een kleine groep patiënten. Vermoedelijk heeft dit te maken met het feit dat deze middelen getest worden in patiënten met uitgebreide of uitgezaaide tumoren. Bij deze patiënten is de ziekte zo uitgebreid dat kwaadaardige cellen een afweerreactie gemakkelijk kunnen ontwijken. Het afweersysteem wordt bij deze patiënten veelal op verschillende niveaus onderdrukt en is daardoor te zwak om goed te reageren als maar één van de problemen wordt aangepakt. Men kan dan van een bepaald type immunotherapie niet verwachten dat deze in staat is om een goede afweerreactie uit te lokken, om de tumor kleiner te maken.

Onderzoek in cellijnen, dieren en mensen heeft laten zien dat de klassieke behandelingen zoals chemotherapie en radiotherapie ook een effect hebben op het afweersysteem. Oorspronkelijk werd er gedacht dat dit een afweer-onderdrukkend effect was, echter gebleken is dat chemotherapie en radiotherapie het afweersysteem ook gunstig, en dus afweer-stimulerend, kunnen beïnvloeden. Wanneer deze klassieke behandelingen het afweersysteem gunstig beïnvloeden, zouden ze ook een betere conditie kunnen creëren voor immunotherapie en dus versterkend of synergistisch kunnen werken. Enerzijds zou dan tumorvernietiging door chemo- en/of radiotherapie een afweerreactie uit moeten lokken,

terwijl de afweer onderdrukkende condities uitgeschakeld worden en het afweersysteem versterkt wordt.

In de studies die worden beschreven in dit proefschrift, proberen we meer informatie te verkrijgen over het precieze effect dat chemotherapie en radiotherapie, zoals ze gebruikt worden voor de behandeling van baarmoederhalskanker, hebben op het afweersysteem. We hebben in kaart gebracht hoe deze therapieën het afweersysteem beïnvloeden en wanneer eventueel aanvullende immunotherapie mogelijk zou zijn. Dit alles is van belang om uiteindelijk een zo sterk mogelijke tumor-specifieke afweerreactie te verkrijgen en de kanker via het afweersysteem op te ruimen.

DIT PROEFSCHRIFT

In *hoofdstuk 1* worden 2 klinische casus van patiënten met baarmoederhalskanker beschreven. Deze casus laten zien dat geen enkele baarmoederhalskanker patiënte hetzelfde is en dat we het beloop van de ziekte vaak lastig kunnen voorspellen. De vele verschillen in klachten patroon, behandeling strategieën, tumor kenmerken, afweerreacties en klinische uitkomst, motiveren artsen en wetenschappers om hun kennis op het gebied van gynaecologie, oncologie, radiologie, pathologie, farmacologie en immunologie te combineren. Deze combinatie van kennis is van essentieel belang, aangezien er ook een enorm aantal verschillende mechanismen verantwoordelijk zijn voor de effectiviteit van bepaalde behandelingen. *Hoofdstuk 2* geeft een overzicht van de betrokkenheid van het afweersysteem bij het ontstaan en de uitgroei van kanker, in het bijzonder baarmoederhalskanker. Daarnaast worden de huidige behandelingen met chemotherapie en/of bestraling bij uitgebreide of uitgezaaide baarmoederhalskanker besproken. De huidige kennis van het effect van deze klassieke behandelingen op het afweersysteem worden samengevat en de ervaringen met immunotherapie bij patiënten worden aangehaald. Geconcludeerd wordt dat de combinatie van klassieke therapieën met immunotherapie mogelijk het effect op het afweersysteem zou kunnen versterken en idealiter ook een goed effect zou hebben op de klinische uitkomst van patiënten met baarmoederhalskanker. Hiervoor is het echter noodzakelijk dat eerst de effecten van de klassieke behandelingen op het afweersysteem gedetailleerd in kaart worden gebracht om hiermee te bepalen of combinatie therapie mogelijk is en wat de ideale tijdspanne is waarbinnen dit plaats zou moeten vinden.

In *hoofdstuk 3* van dit proefschrift wordt beschreven dat het belangrijk is om een groep patiënten te identificeren die een hoog risico heeft op het terugkeren

van baarmoederhalskanker na primaire (operatieve) behandeling. Aangezien deze groep een slechte prognose heeft ten aanzien van overleving, zou dit een geschikte populatie kunnen zijn om aanvullende behandeling te geven in de vorm van bijvoorbeeld immunotherapie. In de studie beschreven in *hoofdstuk 3*, werd gezien dat bij patiënten met een grote tumor ($> 4\text{ cm}$) en/of lymfeklier uitzaaiingen de kans groter is dat de ziekte terugkeert dan bij patiënten die dit niet hebben. Deze hoog-risico patiënten worden veelal reeds bestraald of krijgen chemotherapie na de operatieve behandeling. Desondanks blijken uitzaaiingen zich toch te manifesteren en voor deze groep patiënten is mogelijk nog aanvullende behandeling, in de vorm van immunotherapie, noodzakelijk. De mogelijkheid om immunotherapie met standaard therapieën zoals bestraling en chemotherapie te combineren, is ontstaan nadat uit meerdere onderzoeken is gebleken dat zowel chemotherapie als radiotherapie het afweersysteem beïnvloeden. De verschillende effecten van chemotherapie op het afweersysteem worden in *hoofdstuk 4* besproken. Beschreven wordt hoe het ingewikkelde netwerk van tumorcellen, afweercellen en signaalstoffen op diverse manieren door de verschillende soorten chemotherapieën wordt gemoduleerd. Met name de gunstige effecten van chemotherapie op het afweersysteem bieden de kans om in de toekomst chemotherapie met immunotherapie te combineren. In de aanloop naar het mogelijke succes van gecombineerde behandelingen met immunotherapie voor baarmoederhalskanker, is het essentieel om het verloop (kinetica) van de afweerreacties in kaart te brengen. Gebleken is dat het combineren van immunotherapie met de huidige standaard therapieën (zoals chemotherapie en bestraling) gedetailleerd onderzoek vereist, waarbij intensieve monitoring van het afweersysteem ('immunomonitoring') noodzakelijk is om uiteindelijk de ideale tijdsspanne waarin combinatie plaats kan vinden te identificeren.

In de studie beschreven in *hoofdstuk 5*, hebben we getracht om het afweersysteem te monitoren tijdens de chemotherapeutische behandeling van baarmoederhalskanker. We hebben zowel bij muizen als bij patiënten op verschillende tijdstippen voor, tijdens en na de chemotherapie het bloed onderzocht en verschillende afweercellen getypeerd en afweerreacties gemeten. Bij patiënten met baarmoederhalskanker was er vóór aanvang met de chemotherapie, een abnormaal hoog aantal afweer-onderdrukkende ("myeloïde") cellen aanwezig, vergeleken met het bloed van gezonden mensen. Ongeveer 1 à 2 weken na de tweede chemokuur met carboplatin-paclitaxel zagen we een sterke daling / normalisatie van deze myeloïde cellen, waarbij de T-cel aantallen niet daalden. Gebaseerd op deze resultaten, hebben we patiënten met lokaal uitgebreid, op afstand uitgezaaid of teruggekomen baarmoederhalskanker behandeld met gecombineerde chemo-vaccinatie therapie. Chemo-immunotherapie in deze

patiënten resulteerde in een zeer sterke vaccin-geïnduceerde afweerreactie gemeten in het bloed. Deze reacties waren opvallend sterk, sterker dan in eerdere klinische studies, en bleven tevens langdurig bestaan. Momenteel wordt er een klinische studie uitgevoerd waarbij deze multimodaliteit in de behandeling van baarmoederhalskanker wordt uitgebreid. Patiënten krijgen chemotherapie met carboplatin-paclitaxel, 4 vaccinaties met HPV16 SLP vaccin, en cytokine therapie met IFN α . Het doel is om bij deze patiënten effectieve tumor-specifieke afweerreacties te krijgen, welke uiteindelijk kunnen leiden tot klinische reactie en een betere overleving van deze patiëntengroep.

In *hoofdstuk 6* beschrijven we een soortgelijke studie, waarbij opnieuw in het bloed van patiënten met baarmoederhalskanker afweercellen en -reacties zijn gemeten. Aan deze studie namen patiënten deel die radiotherapie, al dan niet in combinatie met chemotherapie, ondergingen vanwege baarmoederhalskanker. Hierbij zagen we dat het afweersysteem door de bestraling ernstig onderdrukt wordt. Dit effect was onafhankelijk van het feit of patiënten wel of geen aanvullende chemotherapie kregen en onafhankelijk van het stadium van de ziekte. Dit afweer onderdrukkende effect vond al heel snel na het starten met de bestraling plaats en herstelde zeer traag. Daarnaast werd er gezien dat de functie van de antigen presenterende cellen verstoord werd en de helper CD4⁺ T-cellen meer “programmed cell death-1” (PD-1) tot expressie brachten. PD-1 is een eiwit dat zich aan de buitenkant van een T-cel bevindt en kan binden aan PD-ligand-1 (PD-L1) wat aan de buitenkant van tumorcellen zit. Als het eiwit PD-L1 aan PD-1 bindt, wordt een T-cel inactief. De verhoogde expressie van PD-1 bij CD4⁺ T-cellen tijdens bestraling, zou kunnen verklaren waarom de functie van T-cellen tijdens bestraling zo fors achteruit gaat. Het in het bekken gelegen beenmerg blijkt dus extreem gevoelig voor radiotherapie en dit resulteert bij vrouwen met baarmoederhals kanker tot een sterke onderdrukking van het afweersysteem. Aangezien bestraling bij patiënten met baarmoederhalskanker een afweer onderdrukkend effect blijkt te hebben, lijkt het niet handig om immunotherapie met de huidige vorm van bestraling te combineren. Er ligt een grote uitdaging in de optimalisatie van dosis en frequentie van de bestraling, zodanig dat het voldoende anti-tumor effect heeft maar het afweersysteem niet meer onderdrukt. Daarnaast zou beenmerg-sparende radiotherapie het volume van blootgesteld beenmerg kunnen beperken, en potentieel het afweer onderdrukkende effect kunnen beperken.

CONCLUSIE

Omdat de levensverwachting van patiënten met uitgezaaide of teruggekeerde baarmoederhalskanker ondanks veranderingen in de behandeling in de laatste decennia nauwelijks is verbeterd, wordt er gezocht naar nieuwe behandeltechnieken voor deze vreselijke ziekte. Immunotherapie is een nieuwe behandelstrategie, maar is als mono-therapie nog niet effectief gebleken bij patiënten met een vergevorderd stadium baarmoederhalskanker. Standaard therapieën zoals chemotherapie en bestraling kunnen het afweersysteem op verschillende manieren beïnvloeden, wat een klinisch effectieve combinatie met immunotherapie mogelijk zou kunnen maken. Ons onderzoek geeft nieuwe inzichten in het effect van chemotherapie en radiotherapie op het afweersysteem. Immunotherapie met HPV16 SLP vaccinatie kan mogelijk succesvol gecombineerd worden met chemotherapie, wanneer het binnen een optimale tijdspanne wordt toegediend. Zo weet chemotherapie met carboplatin-paclitaxel de afweer-onderdrukkende mechanismen te verdringen, en lokt immunotherapie een sterke, HPV-specifieke afweerreactie uit. Om ook de klinisch effectiviteit te testen zijn intensieve vervolgstudies nodig waarbij verschillende behandelstrategieën optimaal gecombineerd dienen te worden. Daarbij is van groot belang om dosering, tijdspanne en toediening van zowel immunotherapie als de klassieke behandelingen nauwkeurig te testen. Daarnaast is er behoefte aan afweer-specifieke biomarkers die de selectie van de geschikte behandeling voor de juiste patiënt gemakkelijker maken en daarbij de (immunologische én klinische) effectiviteit van de behandelingen kunnen voorspellen.

APPENDICES

