



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Minimally invasive diagnostics and immunotherapy of lung cancer
Talebian Yazdi, M.

Citation

Talebian Yazdi, M. (2017, April 18). *Minimally invasive diagnostics and immunotherapy of lung cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/48820>

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/1887/48820>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/48820> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Talebian Yazdi, M.

Title: Minimally invasive diagnostics and immunotherapy of lung cancer

Issue Date: 2017-04-18

Chapter 10

Summary in Dutch

De introductie van dit proefschrift (**hoofdstuk 1**) geeft een overzicht van de epidemiologie, de classificatie, het diagnostisch proces en de standaardbehandelingen van longkanker. Heden ten dage blijft longkanker een veelvoorkomende ziekte met hoge morbiditeit en mortaliteit^{1,2}. Ondanks de grote impact op de gezondheid van miljoenen mensen wereldwijd, blijft de prognose voor patiënten met deze dodelijke ziekte somber en is er weinig progressie op dit vlak, hetgeen duidelijk wordt uit de overlevingscijfers van het niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC). In de afgelopen twee decennia is in Nederland de vijfjaarsoverleving van NSCLC (onafhankelijk van het stadium of geslacht) slechts met 2,6% toegenomen (van 14,8% tot 17,4%)³ wat deels voortkomt uit het feit dat op het moment van detectie van NSCLC de ziekte zich doorgaans in een vergevorderd stadium bevindt^{4,5}. Naast het verbeteren van de primaire preventie en tijdige diagnose van longkanker, richt het onderzoek in dit veld zich ook op het vinden van nieuwe en alternatieve behandelvormen van longkanker, waarvan immunotherapie een belangrijk en actueel voorbeeld is⁶.

Dit proefschrift gaat over twee belangrijke thema's op het gebied van NSCLC. In **deel I** van dit proefschrift wordt ingegaan op de implementatie en optimalisatie van endo-echografie in het preoperatieve stadiëring algoritme van NSCLC. In **deel II** van dit proefschrift wordt het potentieel van immunotherapie besproken, enerzijds als alternatieve behandeling voor NSCLC en anderzijds als adjuvante behandeling gecombineerd met standaardbehandelingen voor NSCLC.

DEEL I: ENDO-ECHOGRAFIE VAN LONGKANKER

Endoscopische echografie (EUS) is een procedure waarbij mediastinale structuren in beeld worden gebracht door plaatsing van een lineaire echo-endoscoop in de slokdarm^{7,8}. Sinds de introductie van deze techniek in de longgeneeskunde toonden verschillende onderzoeken aan dat het gebruik van EUS bij patiënten met NSCLC niet alleen een goede sensitiviteit en specificiteit heeft, maar ook leidt tot een sterke daling van retrospectief onnodige thoractomieën en daarnaast gepaard ging met een laag aantal complicaties⁹⁻¹². Wat deze studies echter kenmerkte was dat er veelal gekozen werd voor een vaste onderzoeksopzet waarin voornamelijk gekozen werd voor inclusie van geselecteerde patiënten op basis van vergrote en/of 18F-fluorodeoxyglucose (FDG) avide lymfeklieren op respectievelijk computertomografie (CT) scans en positron emissie tomografie (PET) scans. In hoeverre implementatie van EUS de standaard klinische praktijk van preoperatieve stadiëring van (niet-geselecteerde) NSCLC-patiënten zou kunnen beïnvloeden, was nog niet geheel bekend. Om deze vraag te beantwoorden werd een retrospectief onderzoek uitgevoerd, waarvan de resultaten worden besproken in **hoofdstuk 2**. In een groot cohort van opeenvolgende en niet-geselecteerde NSCLC-

patiënten (n = 152) werd aangetoond dat door het gebruik van EUS in 39% van de patiënten chirurgische procedures worden voorkomen. De sensitiviteit werd bepaald op 74%, de negatieve voorspellende waarde (NPV) op 73% en de diagnostische accuratesse op 85%. Dit is lager dan verwacht vergeleken met een recente meta-analyse (gepoolde sensitiviteit 83% en NPV 78%) en review (sensitiviteit van 89%)^{13,14}. Dit kan gedeeltematig worden toegeschreven aan het feit dat dit cohort relatief veel NSCLC-patiënten bevat met kleine lymfeklieren op CT, terwijl bekend is dat EUS een lagere sensitiviteit heeft voor deze patiëntengroep. Tevens heeft dit cohort een relatief lage prevalentie van mediastinale metastasen, hetgeen op zichzelf al een negatief effect heeft op de NPV¹⁴⁻¹⁶. Toch zou de relatief lage sensitiviteit en NPV, die resulteren in een relatief hoog percentage vals-negatieven, als een juiste reflectie moeten worden beschouwd van het effect van EUS-FNA op de standaard klinische praktijk van preoperatieve stadiëring van NSCLC-patiënten. Het feit dat bij patiënten die aanvullend een cervicale mediastinoscopie ondergingen, 6 van de 11 mediastinale metastasen (55%) werden gevonden die werden gemist door EUS, pleit voor het verrichten van aanvullende chirurgische stadiëring na EUS. Dit werd bevestigd door de verbeterde sensitiviteit (92%), NPV (85%) en accuratesse (95%) bij patiënten bij wie zowel EUS als aanvullende mediastinoscopie werd verricht.

De introductie van endobronchiale echografie (EBUS)¹⁷, een procedure waarbij echo-geleide aspiratie van hilaire, subcarinale en paratracheale lymfeklieren plaatsvindt, was een belangrijke stap om het aantal EUS vals-negatieven te beperken. EBUS geeft toegang tot pre- en paratracheale lymfeklieren (station 2 en 4), die bij EUS moeilijk te visualiseren zijn door lucht in de trachea, en is derhalve vergelijkbaar met mediastinoscopie qua bereik van mediastinale lymfeknopen, en daarmee in theorie complementair aan EUS. Dit is bevestigd in een recente meta-analyse waarin de combinatie van EUS en EBUS een hogere sensitiviteit oplevert dan beide procedures apart¹⁸. Een belangrijke kwestie blijft de vraag in welke gevallen aanvullende chirurgische stadiëring is geïndiceerd. In **hoofdstuk 3** werd hierop ingegaan door het rapporteren van een studie over variabelen die EUS en EBUS vals-negatieven kunnen voorspellen. Door middel van een logistische regressieanalyse van een groot retrospectief cohort (n = 775) werden drie belangrijke voorspellers gevonden voor vals-negatieve uitkomsten van EUS, EBUS en gecombineerde EUS/EBUS: centrale ligging van de longtumor, vergrote klieren op CT en FDG-aviditeit van N2/N3 lymfeklierstations op PET-scans. Wanneer deze voorspellende variabelen werden gecombineerd, konden verschillende subgroepen worden geïdentificeerd met een lage voorspelde kans op een vals-negatieve uitslag. Deze predictoren kunnen helpen bij het nemen van klinische beslissingen over wanneer aanvullende chirurgische stadiëring is geïndiceerd om het aantal onnodige thoracotomieën te reduceren.

DEEL II: IMMUNOTHERAPIE VAN LONGKANKER

Ter introductie van het tweede onderwerp van dit proefschrift, namelijk immunotherapie bij NSCLC, wordt in **hoofdstuk 4** een overzicht gegeven van recent onderzoek op het gebied van therapeutische peptide-vaccinatie. Er zijn vele klinische studies uitgevoerd met peptide-vaccins ten behoeve van de behandeling van kankerpatiënten, hoewel het aantal studies specifiek gericht op NSCLC patiënten beperkt is. Verscheidene fase I/II klinische trials zijn erin geslaagd om een vaccin-specifieke immuunrespons bij kankerpatiënten te induceren, maar slechts weinig studies konden daadwerkelijk een klinisch effect bewerkstelligen en een duidelijk verband tussen het klinische behandelings-effect en de vaccin-geïnduceerde immuunrespons kon zelden worden gelegd. Verschillende verklaringen voor deze bevindingen worden besproken, zoals de overvloed aan vroege fase klinische studies uitgevoerd in uitbehandelde kankerpatiënten, tezamen met onvoldoende kennis van de algemene immunocompetentie van deze patiënten. Een wellicht onderschat aspect is het negatieve effect van de tumor micro-omgeving, één van de "hallmarks of cancer"¹⁹, op immunologische parameters en klinische resultaten van therapeutische vaccinatie van NSCLC. Dit blijkt uit het feit dat klinische studies zelden, of helemaal niet, therapeutische vaccins gecombineerd hebben met interventies gericht op depletie van tumor-geassocieerde macrofagen (TAM), myeloïde suppressor cellen (MDSC) of regulerende T-cellen (Tregs). Twee recente reviews bespreken mogelijkheden om de tumor micro-omgeving als een doelwit voor kankertherapie te benutten^{20,21}.

In **hoofdstuk 5** wordt de prognostische impact van tumor infiltratie door CD8+ T-cellen onderzocht in het geval van expressie van klassieke en niet-klassieke HLA-moleculen. Tumor-infiltratie door CD8+ T-cellen bleek te correleren met klassieke HLA-klasse I expressie, en een positief effect op de overleving (overall survival, OS) werd aangetoond voor tumoren met een hoge aanwezigheid van CD8+ T-cellen tezamen met hoge expressie van klassieke HLA klasse I moleculen (HLA-A en HLA-BC). Een hoge aanwezigheid van CD8+ T-cellen in de tumor bleek op zichzelf te zijn geassocieerd met een verbeterde OS, maar dit effect verdween wanneer tumoren een hoge expressie bleken te hebben van het niet-klassieke molecuul HLA-E welke in 70% van de tumoren in deze studie tot expressie kwam.

Een ander opmerkelijk aspect van de reviewstudie beschreven in **hoofdstuk 4** is dat tussen 2011 en 2013 slechts één studie werd gepubliceerd waarin NSCLC-patiënten werden behandeld met een peptide-vaccin gecombineerd met een conventionele behandeling tegen kanker²², en sinds 2014 kwamen daar slechts enkele studies bij²³⁻²⁵. Dit kan te maken hebben met de schaarste aan studies die rapporteren over het effect van standaard NSCLC-therapieën op het menselijk immuunsysteem, hetgeen opmerkelijk is aangezien kennis over dit onderwerp van cruciaal belang is wanneer wordt overwogen om actieve T-cel gemedieerde immunotherapie te combineren met standaard NSCLC

therapieën. In **hoofdstuk 6** wordt op dit onderwerp ingegaan door middel van een studie met laat stadium NSCLC-patiënten waarin het effect van conventionele doublet chemotherapie en chemoradiatie op het immuunsysteem in kaart wordt gebracht. Daar waar chemotherapie geen duidelijke functioneel effect had op antigeen-presenterende cellen (APC) en T-cellen, alsmede op de samenstelling van immuuncellen in het bloed, was dit wel het geval voor radiotherapie waarbij er een negatief effect werd waargenomen ten aanzien van APC en T-cel functie hetgeen samenging met een persisterende daling in lymfoïde cellen. Deze bevindingen zijn strijdig met bevindingen in diermodellen en in vitro studies waar voornamelijk positieve effecten van radiotherapie op het immuunsysteem zijn beschreven²⁶. Echter, de meeste preklinische studies hebben de effecten van radiotherapie ten aanzien van het immuunsysteem onderzocht onder andere omstandigheden waarbij voornamelijk het effect van een enkele hoge dosis straling werd gemeten. Dit in tegenstelling tot onze klinische studie waar patiënten werden bestraald met multiële fracties van lage stralingsdoses, waarvan bekend is dat dit een beduidend ander effect heeft op genexpressie profielen^{27,28}. Het lijkt erop dat een aanpassing van de dosis en aantal stralingsfracties moet worden overwogen om een synergistisch effect te bereiken met immunotherapie. In dit licht is het interessant dat stereotactische radiotherapie, dat wordt gebruikt in vroeg stadium NSCLC-patiënten en waarbij een hoge stralingsdosis wordt toegediend in enkele fracties, inmiddels ook (in studie-verband) wordt toegepast bij stadium III en IV NSCLC patiënten²⁹. Toekomstige studies zijn nodig om de vraag te beantwoorden of het klinisch effect van succesvolle immunotherapieën zoals PD-1/PD-L1 blokkerende antilichamen (nu voornamelijk gebruikt in laat stadium NSCLC-patiënten) kan worden versterkt in combinatie met radiotherapie (en zo ja, wat dan de optimale dosis zou moeten zijn).

Een ander belangrijk aspect op het gebied van immunotherapie van NSCLC is de identificatie van nieuwe tumor antigenen^{30,31}. Een voorbeeld van een dergelijk tumorantigeen is XAGE-1b, dat behoort tot de zogenaamde "cancer-testis" antigenen en dat bij NSCLC voornamelijk tot expressie komt in het subtype adenocarcinoom. Een studie van XAGE-1b specifieke lokale en systemische immuunresponsen bij patiënten met adenocarcinoom wordt beschreven in **Hoofdstuk 7**. XAGE-1b-specifieke T-cellen werden gevonden in de primaire tumor of drainerende lymfeknopen van 10% van de patiënten, en een XAGE-1b specifieke humorale respons was aanwezig in 7,5% van de patiënten. Alle patiënten waarin XAGE-1b specifieke antilichamen werden aangetoond, bleken ook circulerende XAGE 1b-specifieke T-cellen (CD4+/ CD8+ T-cellen die zowel type I en II cytokines) in het bloed te hebben. Dit studiecohort is het eerste Europese cohort van NSCLC-patiënten waarbij lokale en systemische XAGE-1b specifieke immuunresponsen zijn aangetoond. Deze studie bevestigt de status van XAGE-1b als een nieuw, tumor-specifiek en immunogeen antigeen. Deze preklinische data zijn gebruikt ten behoeve van een klinische fase I studie waarvoor momenteel patiënten met laat stadium (sta-

dium III/IV) NSCLC worden gerekruteerd voor behandeling met een synthetische lange peptide vaccin gebaseerd op het XAGE-1b eiwit. Veiligheid en immunogeniciteit van dit XAGE-1b vaccin zal worden onderzocht. Het studieprotocol en de eerste preliminaire resultaten worden besproken in **hoofdstuk 8**.

REFERENTIELIJST

1. Islami F, Torre LA, Jemal A. Global trends of lung cancer mortality and smoking prevalence. *Translational lung cancer research* 2015;4:327-38.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: a cancer journal for clinicians* 2015;65:87-108.
3. van der Drift MA, Karim-Kos HE, Siesling S, et al. Progress in standard of care therapy and modest survival benefits in the treatment of non-small cell lung cancer patients in the Netherlands in the last 20 years. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2012;7:291-8.
4. Morgensztern D, Ng SH, Gao F, Govindan R. Trends in stage distribution for patients with non-small cell lung cancer: a National Cancer Database survey. *Journal of thoracic oncology : official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 2010;5:29-33.
5. Quint LE, Tummala S, Brisson LJ, et al. Distribution of distant metastases from newly diagnosed non-small cell lung cancer. *The Annals of thoracic surgery* 1996;62:246-50.
6. Lievens L, Aerts J, Hegmans J. Immune Therapy. *Advances in experimental medicine and biology* 2016;893:59-90.
7. Pedersen BH, Vilmann P, Folke K, et al. Endoscopic ultrasonography and real-time guided fine-needle aspiration biopsy of solid lesions of the mediastinum suspected of malignancy. *Chest* 1996;110:539-44.
8. Vilmann P, Khattar S, Hancke S. Endoscopic ultrasound examination of the upper gastrointestinal tract using a curved-array transducer. A preliminary report. *Surgical endoscopy* 1991;5:79-82.
9. Annema JT, Versteegh MI, Veselic M, Voigt P, Rabe KF. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration in the diagnosis and staging of lung cancer and its impact on surgical staging. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2005;23:8357-61.
10. Eloubeidi MA, Cerfolio RJ, Chen VK, Desmond R, Syed S, Ojha B. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of mediastinal lymph node in patients with suspected lung cancer after positron emission tomography and computed tomography scans. *The Annals of thoracic surgery* 2005;79:263-8.
11. Larsen SS, Vilmann P, Krasnik M, et al. Endoscopic ultrasound guided biopsy versus mediastinoscopy for analysis of paratracheal and subcarinal lymph nodes in lung cancer staging. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* 2005;48:85-92.
12. Wallace MB, Silvestri GA, Sahai AV, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for staging patients with carcinoma of the lung. *The Annals of thoracic surgery* 2001;72:1861-7.
13. Dietrich CF, Annema JT, Clementsen P, Cui XW, Borst MM, Jenssen C. Ultrasound techniques in the evaluation of the mediastinum, part I: endoscopic ultrasound (EUS), endobronchial ultrasound (EBUS) and transcutaneous mediastinal ultrasound (TMUS), introduction into ultrasound techniques. *Journal of thoracic disease* 2015;7:E311-25.
14. Micames CG, McCrory DC, Pavey DA, Jowell PS, Gress FG. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for non-small cell lung cancer staging: A systematic review and metaanalysis. *Chest* 2007;131:539-48.
15. LeBlanc JK, Devereaux BM, Imperiale TF, et al. Endoscopic ultrasound in non-small cell lung cancer and negative mediastinum on computed tomography. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2005;171:177-82.

16. Wallace MB, Ravenel J, Block MI, et al. Endoscopic ultrasound in lung cancer patients with a normal mediastinum on computed tomography. *The Annals of thoracic surgery* 2004;77:1763-8.
17. Krasnik M, Vilmann P, Larsen SS, Jacobsen GK. Preliminary experience with a new method of endoscopic transbronchial real time ultrasound guided biopsy for diagnosis of mediastinal and hilar lesions. *Thorax* 2003;58:1083-6.
18. Zhang R, Ying K, Shi L, Zhang L, Zhou L. Combined endobronchial and endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for mediastinal lymph node staging of lung cancer: a meta-analysis. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)* 2013;49:1860-7.
19. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-74.
20. Gao F, Liang B, Reddy ST, Farias-Eisner R, Su X. Role of inflammation-associated microenvironment in tumorigenesis and metastasis. *Current cancer drug targets* 2014;14:30-45.
21. Tsai MJ, Chang WA, Huang MS, Kuo PL. Tumor microenvironment: a new treatment target for cancer. *ISRN biochemistry* 2014;2014:351959.
22. Brunsvig PF, Kyte JA, Kersten C, et al. Telomerase peptide vaccination in NSCLC: a phase II trial in stage III patients vaccinated after chemoradiotherapy and an 8-year update on a phase I/II trial. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2011;17:6847-57.
23. Kotsakis A, Papadimitraki E, Vetsika EK, et al. A phase II trial evaluating the clinical and immunologic response of HLA-A2(+) non-small cell lung cancer patients vaccinated with an hTERT cryptic peptide. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* 2014;86:59-66.
24. Steven A, Fisher SA, Robinson BW. Immunotherapy for lung cancer. *Respirology (Carlton, Vic)* 2016;21:821-33.
25. Yamada T, Terazaki Y, Sakamoto S, et al. Feasibility study of personalized peptide vaccination for advanced non-small cell lung cancer patients who failed two or more treatment regimens. *International journal of oncology* 2015;46:55-62.
26. Derer A, Frey B, Fietkau R, Gaipl US. Immune-modulating properties of ionizing radiation: rationale for the treatment of cancer by combination radiotherapy and immune checkpoint inhibitors. *Cancer immunology, immunotherapy : CII* 2015.
27. John-Aryankalayil M, Palayoor ST, Cerna D, et al. Fractionated radiation therapy can induce a molecular profile for therapeutic targeting. *Radiation research* 2010;174:446-58.
28. Tsai MH, Cook JA, Chandramouli GV, et al. Gene expression profiling of breast, prostate, and glioma cells following single versus fractionated doses of radiation. *Cancer research* 2007;67:3845-52.
29. Agolli L, Valeriani M, Nicosia L, et al. Stereotactic Ablative Body Radiotherapy (SABR) in Pulmonary Oligometastatic/Oligorecurrent Non-small Cell Lung Cancer Patients: A New Therapeutic Approach. *Anticancer research* 2015;35:6239-45.
30. Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nature reviews Cancer* 2014;14:135-46.
31. van der Burg SH, Arens R, Ossendorp F, van Hall T, Melief CJ. Vaccines for established cancer: overcoming the challenges posed by immune evasion. *Nature reviews Cancer* 2016;16:219-33.

Appendices

List of publications

Acknowledgments

Curriculum Vitae