



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Immune-based therapies in ovarian cancer

Dijkgraaf, E.M.

### Citation

Dijkgraaf, E. M. (2017, June 13). *Immune-based therapies in ovarian cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/49549>

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/1887/49549>

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

Cover Page



Universiteit Leiden

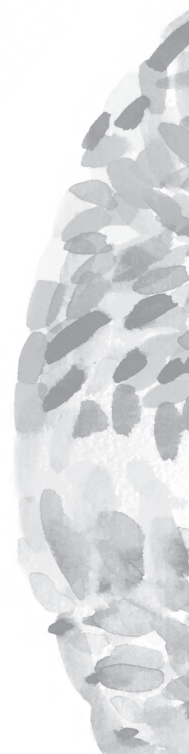


The handle <http://hdl.handle.net/1887/49549> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Dijkgraaf, E.M.

**Title:** Immune-based therapies in ovarian cancer

**Issue Date:** 2017-06-13



# CHAPTER 8

Nederlandse samenvatting





## NEDERLANDSE SAMENVATTING

### Introductie

Eierstokkanker is een belangrijke oorzaak van sterfte onder vrouwen wereldwijd. In Nederland wordt jaarlijks bij 1300 vrouwen eierstokkanker vastgesteld, waarvan er uiteindelijk 1000 komen te overlijden. Dit hoge sterftecijfer is grotendeels toe te schrijven aan het feit dat eierstokkanker bij 70% van de patiënten pas in een gevorderd stadium wordt gediagnosticeerd. De ziekte is dan al uitgezaaid. De symptomen treden namelijk pas laat in het ziekteproces op en zijn van algemene aard, zoals een opgezette buik, verlies van eetlust, of een vol gevoel. Begrijpelijkerwijs worden deze klachten niet onmiddellijk in verband gebracht met een ernstige ziekte.

De initiële behandeling van eierstokkanker bestaat uit chirurgie en/of chemotherapie. Ondanks dat de ziekte aanvankelijk vaak goed reageert op de chemotherapie, keert de ziekte bij ongeveer 80% van de patiënten terug. In die gevallen behoort genezing niet meer tot de mogelijkheden en is de gemiddelde overleving ongeveer 18 maanden.

De laatste jaren is duidelijk geworden dat het eigen afweersysteem (immuunsysteem) een belangrijke rol speelt in de ontwikkeling van kanker. Kanker ontstaat door verlies van regulatie van celdgroei in de eigen lichaamscellen waardoor de kankercellen als 'lichaamsvreemd' worden gezien door het afweersysteem en deze zal reageren tegen de kanker. Als gevolg hiervan kan een afweerreactie tegen de kanker optreden. Uit eerder onderzoek is gebleken dat patiënten die een sterke afweerreactie tegen de kanker hebben, vaak een betere overleving hebben na de behandeling. Om een betere strijd tegen kanker te leveren proberen we nieuwe behandelingen te ontwerpen waarin gebruik wordt gemaakt van het eigen afweersysteem. Dit proefschrift onderzoekt de effecten van bestaande chemotherapie op het afweersysteem en twee nieuwe behandelingen waarin chemotherapie met immuuntherapie wordt gecombineerd.

Hieronder volgt eerst een algemene uitleg over het afweersysteem en de afweer tegen kanker, waarna een samenvatting van het proefschrift volgt.

### Het afweersysteem

Het afweersysteem kan worden onderverdeeld in een aspecifiek (aangeboren) deel en specifiek (verworven; adaptief) deel. De aspecifieke afweer is de eerstelijns verdediging en houdt ziekteverwekkers (pathogenen) buiten het lichaam, maar maakt geen onderscheid tussen de soorten indringers. Het adaptieve deel komt wat trager op gang, maar past zich aan het pathogeen aan. Drie verschillende typen witte bloedcellen, die ook wel lymfocyten worden genoemd, zijn verantwoordelijk voor de specifieke afweer. Dit zijn de B-cellen, de helper T-cellen en de celdodende (cytotoxische) T-cellen. B-cellen produceren antistoffen, celdodende T-cellen doden specifiek cellen die ze herkennen en de helper T-cellen ondersteunen deze processen van het afweersysteem. Zoals alle cellen van het immuunsysteem

komen ook de B- en T-cellen oorspronkelijk uit het beenmerg. De B- en T-cellen hebben een unieke eigenschap: elke cel heeft specifieke receptor en waarmee bepaalde eiwitten worden herkend. Zo kunnen ze vrijwel alle mogelijke eiwitten, en daarmee pathogenen of kankercellen, herkennen.

De specifieke afweer wordt opgewekt door en is gericht tegen lichaamsvreemde eiwitten die aanwezig zijn in het weefsel. De meeste tumoren maken eiwitten die je niet in normale cellen verwacht. Ook kunnen kleine stukjes van de eiwitten anders zijn doordat er veranderingen in de genen hebben plaatsgevonden. Deze speciale eiwitten kunnen mogelijk worden herkend door het immuunsysteem als 'tumor-eiwitten'. In eierstokkanker is p53 zo'n eiwit; het eiwit is in sterk verhoogde mate aanwezig in circa de helft van de patiënten met eierstokkanker. In eerdere klinische studies is al een vaccin onderzocht dat veilig is en goed verdragen wordt door patiënten.

Om T-cellen te activeren is het nodig dat de tumor-eiwitten worden opgenomen door zogenoemde antigeen presenterende cellen (APCs) welke ook onderdeel zijn van de witte bloedcellen die ook wel myeloïde cellen worden genoemd. Belangrijke APCs zijn dendritische cellen (DCs) en macrofagen. Wanneer dendritische cellen onder de juiste omstandigheden tumor-eiwit hebben opgenomen zullen zij zich via afvoerende lymfe uit het weefsel bewegen naar de lymfeknoop. In de lymfeknoop presenteren de DCs op verschillende manieren de eiwitten aan de verschillende T cellen. De DCs laten de T-cellen niet alleen zien waartegen zij moeten reageren maar geven ook nog extra informatie door middel van co-stimulerende moleculen en cytokines. Die extra informatie is bedoeld om de afweerreactie te sturen. Hiermee kan de DC het gewenste type afweerreactie sturen, bijvoorbeeld door het stimuleren van: 1) type 1 helper T-(Th1)cellen, die de celdodende T-cellen ondersteunen, 2) type 2 helper T-(Th2)cellen welke de aanmaak van antistoffen door B-cellen ondersteunen, of 3) door het stimuleren van regulatoire T-cellen (Tregs), welke juist in staat zijn om een afweerreactie te onderdrukken. Macrofagen zijn er grofweg in twee verschillende typen: type 1 macrofagen stimuleren een acute ontsteking en zijn in staat om tumor cellen te doden. Type 2 macrofagen daarentegen zijn vaak betrokken bij wondgenezing waar zij ter bevordering van dit proces de afweerreactie onderdrukken, in tumoren bevorderen zij tumorgroei.

Cytokines zijn kleine eiwitten die als signaalstofjes fungeren voor de cellen van het immuunsysteem. De meeste cytokines kennen vele verschillende activiteiten, mede afhankelijk van de cel die het cytokine opneemt. Bij de hierboven vermelde Th1, Th2 en Tregs horen bepaalde groepen cytokines. Aanwezigheid van die cytokines stimuleert hun eigen type afweerreactie. Is een bepaalde groep cytokines aanwezig dan stimuleert deze ook een bepaalde afweerreactie.

De cytokines remmen meestal andere typen afweerreacties. Interleukine 12 en interferon- $\alpha$  horen bij Th1 reacties. Interleukines 4 en 5 zijn betrokken bij Th2 reacties. Interleukine 10 is vaak betrokken bij Tregs.

Tumoren proberen een afweerreactie van T-cellen te vermijden door middel van verschillende strategieën. Een manier is om de expressie van de bij de afweerreactie betrokken moleculen op de oppervlakte van de tumorcel aan te passen. Een tweede manier is door factoren uit te scheiden die T-cellen onderdrukken. Ook stimuleren tumorcellen de ontwikkeling van type 2 macrofagen om nieuwe bloedvaten te genereren en om T-cel reacties te onderdrukken.

Het doel van conventionele chemotherapie is om de tumorcellen te doden, daarnaast heeft het onder andere als bijwerking dat andere sneldelende cellen vaak ook worden aangetast. Aanvankelijk werd daarom aangenomen dat chemotherapie een schadelijk effect had op de afweercellen. Echter, in verschillende diermodellen en studies met menselijk materiaal is aangetoond dat sommige soorten chemotherapie juist een positief en stimulerend effect kan hebben op het immuunsysteem.

### **Dit proefschrift**

De slechte prognose van patiënten met eierstokkanker vraagt om nieuwe behandelopties. Eén van de opties voor toekomstig succes in de strijd tegen eierstokkanker, is de combinatie van chemotherapie met immuuntherapie. Dit proefschrift focust op de interactie van chemotherapie met het afweersysteem en beschrijft nieuwe gecombineerde behandelstrategieën van chemotherapie met immuuntherapie bij patiënten met eierstokkanker.

Zoals hierboven besproken zijn cytokines het communicatiemiddel tussen cellen van het afweersysteem onderling. Beïnvloeding van deze signaalstofjes kan een manier zijn om de toonzetting van de afweer te veranderen. In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van de rol de interleukine-6 (IL-6) in het tumormilieu van patiënten met eierstokkanker en wordt de mogelijke rol als therapeutisch doel beschreven een overzicht van de literatuur wordt beschreven. IL-6 is een cytokine die in vrouwen met eierstokkanker geassocieerd is met ziekte progressie en resistentie tegen chemotherapie. Het zet een signaalcascade in gang die de tumorgroei, vaatnieuwvorming en infiltratie van type 2 macrofagen in de tumor stimuleert. Daarnaast induceert IL-6 type 2 macrofagen. De kennis van de moleculaire biologie, de relatie met de tumorcellen en het tumormilieu hebben geleid tot de ontwikkeling van nieuwe medicatie met IL-6 als doelwit (monoclonale antilichamen; oa tocilizumab). Hoofdstuk 2 geeft hier een overzicht van.

Veel patiënten met eierstokkanker krijgen te maken met resistentie tegen de initiële behandeling met platinum-houdende chemotherapie. Resistentie tegen chemotherapie is, zoals eerder beschreven, geassocieerd met verhoogde waarden van IL-6 alsook prostaglandine E2 (PgE2). Beide cytokines spelen een rol in de uitrijping van monocyten naar type 2 macrofagen. In **hoofdstuk 3** onderzochten we de impact van cisplatine en carboplatine in 10 verschillende cellijnen (zowel van eierstokkanker als van baarmoederhalskanker) op de uitrijping en de functie van monocyten en APCs. Behandeling van deze cellijnen met deze chemotherapie vergrootte de potentie van de tumor zelf om type 2 macrofagen te



induceren, middels een toename van de door de tumor geproduceerde IL-6/PgE2. Indien met medicatie deze factoren werden geblokkeerd (voor IL-6: tocilizumab; voor PgE2: Cox-remmers), bleek dat monocyten niet meer uitrijpen tot afweer-onderdrukkende type 2 macrofagen, maar juist type 1 macrofagen. Er werd geen correlatie gevonden tussen de geproduceerde PgE2 of IL-6 door tumorcellen en hun resistentie tegen chemotherapie. Dit impliceert dat andere mechanismes de oorzaak zijn van de beschreven chemoresistentie. Dit onderzoek suggereert dat toename van de type 2 macrofagen als gevolg van de chemotherapie een indirect mechanisme kan vormen voor chemoresistentie. Het zou dus zinvol kunnen zijn om patiënten die platinum-bevattende chemotherapie krijgen, aanvullend te behandelen met tocilizumab en/of Cox-remmers.

In **hoofdstuk 4** wordt de interactie beschreven tussen de IL-6 signaalcascade en bepaalde myeloïde cellen. In tumorweefsel van 160 vrouwen met eierstokkanker onderzochten we de aanwezigheid van IL-6, de receptor (IL-6R) en een onderdeel van de signaalcascade (pSTAT3) door immunohistochemische kleuring. Met immunofluorescente kleuring keken we naar de aanwezigheid van verschillende types myeloïde cellen (door de aanwezigheid van CD14, CD33 en CD163). Wat met name opviel, was dat er een verschil gemaakt kon worden in grofweg twee type tumoren. De eerste groep bevat tumoren met een hoge expressie IL-6R en weinig uitgerijpte myeloïde cellen; patiënten met deze tumoren lieten een betere overleving zien. De tweede groep bestond uit tumoren met een hoge expressie van IL-6 en veel uitgerijpte myeloïde cellen; patiënten met deze karakteristieken hadden een slechtere overleving. Daarnaast bleek dat in patiënten met tumoren die veel CD8+ T-cellen bevatten, de ratio tussen deze cellen en de CD163+ myeloïde cellen voorspellend is voor de overleving. IL-6 en IL-6R zijn dus tegenovergestelde markers voor de aanwezigheid van myeloïde cellen en overleving.

**Hoofdstuk 5** beschrijft de PITCH trial; een klinische fase I studie waarin tocilizumab (een monoklonaal antilichaam tegen IL-6R) met of zonder Pegintron (interferon 2 $\alpha$ -b) wordt toegevoegd aan de standaard chemotherapie (carboplatine en (liposomaal gepegyleerd) doxorubicine) bij patiënten met een recidief eierstokkanker. De doelstelling was de uitvoerbaarheid (veiligheid) van deze combinatie te testen. Verder is het effect op het afweersysteem van deze nieuwe behandelstrategie onderzocht. Carboplatine en doxorubicine zijn twee verschillende soorten chemotherapie die de T-cel reactie tegen de tumor kunnen versterken. Pegintron werd gegeven om de aanmaak van tumor-specifieke celdodende T-cellen op te wekken, om zo de celdood veroorzaakt door de chemotherapie te versterken. Door tocilizumab toe te voegen verwachtten we de tumorgroei en vaatnieuwvorming zoals eerder beschreven terug te dringen. De toevoeging van tocilizumab aan de standaard chemotherapie had een acceptabel veiligheidsprofiel en een potentieel immunologisch voordeel. De toevoeging van Pegintron leek het vóórkomen van neutropenie (tekort aan witte bloedcellen), te versterken. Aanbevolen wordt de geteste combinatie te onderzoeken in een fase 2 vervolgstudie.

Ook in **hoofdstuk 6** wordt een klinische studie beschreven, de CHIP trial. Gemcitabine is een chemotherapie die significante immuun-modulerende eigenschappen heeft naast de bekende celdodende werking. Het wordt toegepast bij patiënten waarbij de initiële platinum-bevattende chemotherapie niet meer werkzaam is (platinum-resistent). Naast de gemcitabine werden patiënten behandeld met een vaccinatie tegen het tumor-eiwit p53. Dit werd alleen toegepast bij patiënten die het p53-eiwit in overvloed hadden. Met de vaccinatie werd getracht de natuurlijke afweerreactie tegen de kankercellen dusdanig te versterken dat het immuunsysteem in staat was de kankercellen te herkennen en te vernietigen. Tot slot werd Pegintron toegevoegd om de afweerrespons te versterken.

In deze studie, de CHIP trial, werden deze drie middelen gecombineerd. Deze combinatie was veilig en werd goed verdragen door de patiënten. De belangrijkste immunologische uitkomst was dat gemcitabine een bepaalde 'negatieve' afweercel (myeloid derived suppressor cell - MDSC) zeer sterk terugdringt. Dit was in diermodellen reeds aangetoond, in patiënten is dit voor het eerst aangetoond. Daarnaast lijken er meer positieve afweerresponsen te zijn. Alle gevaccineerde patiënten laten in het bloed een sterke vaccinatie-geïnduceerde afweerreactie tegen de tumor zien. Pegintron lijkt het effect van de vaccinatie, zeer zeker ook lokaal, te versterken.

Beide klinische studies zijn kleine studies, met als doelstelling om de veiligheid en toepasbaarheid in deze patiëntengroep te onderzoeken. Nu dit getest is, zijn vervolgstudies (fase 2 studies) nodig om de effecten van het afweersysteem en het antitumor effect hiervan te onderzoeken.

In **hoofdstuk 7**, worden de resultaten van de afzonderlijke hoofdstukken tezamen besproken en in een breder perspectief geplaatst aan de hand van recente literatuur. De toekomstige uitdaging voor de behandeling van eierstokkanker met immuuntherapie ligt in een op maat gemaakte gecombineerde aanpak. Het succes van deze gecombineerde immunotherapie is nog afhankelijk van een aantal 'hobbels op de weg': (a) de optimalisatie van de dosis en het schema van de combinatie therapie, (b) management van de overlappende bijwerkingen van de combinatie therapie die op grond van hun aangrijpingsmechanismen kunnen worden verwacht en (c) het voorspellen welke patiënt baat heeft bij welke therapie op basis van hun karakteristieken.

Dit proefschrift heeft diverse nieuwe strategieën onderzocht met als doel de afweerreactie tegen de tumor te versterken en de tumor invasie te remmen. Een combinatie van verschillende in potentie synergistische therapieën zullen moeten leiden tot het doden van de tumorcellen en een aanhoudende afweerreactie, wat uiteindelijk resulteert in een verlengde overleving bij patiënten met eierstokkanker.