



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Tumor biological characteristics of Vestibular Schwannoma

Vries, M. de

Citation

Vries, M. de. (2019, April 2). *Tumor biological characteristics of Vestibular Schwannoma*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/70862>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/70862>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The following handle holds various files of this Leiden University dissertation:

<http://hdl.handle.net/1887/70862>

Author: Vries, M. de

Title: Tumor biological characteristics of Vestibular Schwannoma

Issue Date: 2019-04-02

Samenvatting en conclusie

Vestibularis schwannomen zijn goedaardige tumoren die ontstaan vanuit een ongeremde deling van Schwanncellen die deel uitmaken van de zenuwschede die de vestibulaire tak van de achtste hersenzenuw omvat. Doorgaans ontstaan deze tumoren in de inwendige gehoorgang waarna ze zich uit kunnen breiden in de brughoek regio. Om deze reden staat dit type tumor ook wel bekend als de brughoek tumor. Eén van de klinische kenmerken van vestibularis schwannomen is het grillige groeipatroon dat ze kunnen vertonen. Een groot deel van deze tumoren blijft nadat ze gediagnostiseerd zijn beperkt in omvang en vertonen weinig tot geen groei. Echter zijn er ook exemplaren die een agressiever gedrag vertonen waarbij aanhoudende groei kan leiden tot hersenstam compressie of uitval van nabijgelegen hersenzenuwen ¹ Tot op heden is het grotendeels onduidelijk welke biologische processen aan deze verschillende groeiwijzen ten grondslag liggen. Deze onvoorspelbaarheid in tumor groei is één van de voornaamste klinische problemen in de behandeling van vestibularis schwannomen. Het huidige palet aan behandelopties bestaat uit observatie met behulp van periodieke MRI scans in het geval van kleinere en langzaam groeiende tumoren terwijl grotere of sneller groeiende tumoren worden behandeld met radiotherapie of microchirurgie. Medicamenteuze therapieën zijn in opkomst maar worden nog niet als standaard behandeling voor sporadische vestibularis schwannomen toegepast.

De verschillende onderzoeken die de basis van dit proefschrift vormen hebben als gemeenschappelijke doel om meer inzicht te verkrijgen in de tumorbiologische processen die zich afspelen in vestibulaire schwannomen. Meer kennis over deze processen is nodig voor het interpreteren van de verschillende groeipatronen en een essentiële voorwaarde voor het vinden van prognostische markers en aangrijpingspunten voor therapie.

Hoofdstuk één is een algemene introductie over de etiologie, symptomen en diagnostiek van het vestibularis schwannoom. Daarnaast bevat dit hoofdstuk een overzicht van de huidige behandelopties en het beschrijft een aantal klinische dilemma's die in de praktijk een rol spelen en de basis vormen voor de onderzoeksvragen van onze studies.

Hoofdstuk twee is een review van de literatuur over de tumor biologie van vestibularis schwannomen. Het geeft een beschrijving van de huidige kennis van het genetische profiel van deze tumoren en het bevat een overzicht van de verschillende cell signalling pathways die een rol lijken te spelen in tumor groei van vestibularis schwannomen. De functie van angiogenese als groeifactor en daarmee aangrijpingspunt voor therapie wordt besproken evenals een aantal andere potentiële doelwitten voor medicamenteuze behandeling.

In **hoofdstuk drie** wordt een aantal intratumorale processen onderzocht die plaatsvinden in vestibularis schwannomen en die een mogelijke bijdrage leveren aan tumor progressie.

Tumor weefsel van in totaal zevenenzestig patiënten is met behulp van immunohistochemie onderzocht op cel proliferatie (Ki-67, Histone H3), neovascularisatie (CD31), macrofagen expressie (CD68) en intratumorale hematoomvorming (hemosiderine). Deze studie toont geen associatie tussen proliferatie en klinische kenmerken van tumor groei. Echter valt neovascularisatie en expressie van macrofagen wel te relateren aan tumor omvang en de tumor growth index. Tevens lijkt intratumorale hematoomvorming in hogere mate voor te komen in tumoren met cysteuze degeneratie, een proces waarvan bekend is dat het bijdraagt aan tumor expansie¹. Op basis van deze resultaten baseren we de hypothese dat de groei van vestibularis schwannomen niet alleen het gevolg is van toegenomen cel proliferatie. Factoren zoals cysteuze degeneratie, angiogenese en ontsteking lijken ook van invloed op tumor groei.

Hoofdstuk vier beschrijft een gen expressie analyse naar de dertien meest voorkomende mutaties in de genen *BRAF*, *EGFR*, *PIK3CA* en *KRAS*. De eiwitten waar deze genen voor coderen maken deel uit van MAPK/ERK cel signaleringscascade. Toegenomen activiteit van deze cascade wordt gezien in verschillende tumoren waaronder ook vestibularis schwannomen^{2,3}. Deze kennis en de vondst van *BRAF* mutaties in sporadische, niet hoofd-hals, schwannomen⁴ gaf aanleiding de hypothese dat groei van vestibularis schwannomen beïnvloed kan worden door secundaire oncogenetische mutaties met betrekking op de MAPK/ERK cascade te onderzoeken. Een selectie van achtenveertig sporadische vestibularis schwannomen is gescreend op de aanwezigheid van deze mutaties waarbij geen enkele mutatie is aangetroffen. Deze uitkomst geeft daarmee geen ondersteuning aan de hypothese dat de groei van vestibularis schwannomen versneld kan worden door het optreden van secundaire oncogenetische mutaties.

Hoofdstuk vijf is een studie die verder ingaat op de rol van ontsteking in vestibularis schwannomen. Zoals ook beschreven in hoofdstuk drie lijkt het zo te zijn dat sommige tumoren grote hoeveelheden macrofagen bevatten. Gedurende de afgelopen jaren is in toenemende mate duidelijk geworden dat in verschillende typen tumoren het inflammatoire micromilieu een bevorderend effect kan hebben op tumor progressie⁵. Macrofagen hebben een groot aandeel in de samenstelling van dit micromilieu⁶. Deze zogenaamde tumor associated macrophages kunnen grofweg in twee categorieën verdeeld worden, namelijk de klassiek geactiveerde M1 macrofagen en de alternatief geactiveerde M2 macrofagen. Van deze twee categorieën zijn het de M2 macrofagen die tumorgroei bevorderende eigenschappen bezitten zoals stimulatie van angiogenese en het onderdrukken van de immunreactie die zich juist tegen de tumor richt⁷. Met behulp van immunofluorescente kleuringen tegen CD163, een specifieke marker voor M2 macrofagen, is de expressie van M2 macrofagen in twintig retrospectief geanalyseerde vestibularis schwannomen bepaald. Daarnaast is de mate van angiogenese gescoord. De resultaten van deze kleuringen laten

zien dat sommige vestibularis schwannomen grote hoeveelheden M2 macrofagen bevatten. Tevens lijkt er een positieve relatie te bestaan tussen de mate van macrofagen expressie en angiogenese evenals tumorgroei snelheid. Deze resultaten zijn in lijn met de gedachte dat tumorinfiltrerende M2 macrofagen de progressie van vestibularis schwannomen bevorderen en daarmee vormen deze ontstekingscellen een potentieel aangrijpingspunt voor therapie.

Hoofdstuk zes omvat een studie naar de rol van BCRP expressie als een mogelijke oorzaak van medicatie resistentie in een selectie van verschillende perifere zenuwschede tumoren. BCRP is een transmembran efflux transporter protein dat een belangrijke functie lijkt te bekleden in verschillende biologische barrières zoals de bloed-hersen-barrière^{8,9}. De expressie van dit eiwit is ook geassocieerd met medicatie resistentie in kanker¹⁰. Een immunohistochemische kleuring van BCRP is verricht op een tissue microarray die is samengesteld uit tweeëntwintig sporadische vestibularis schwannomen, tien plexiforme neurofibromen en achttien maligne perifere zenuwschede tumoren. De uitkomsten van deze studie demonstrenen de expressie van BCRP in het vaatendotheel van een groot aantal van alle drie de soorten tumoren. Mogelijk is deze endotheliale expressie van BCRP een specifiek tumorkenmerk, maar het zou ook een overblijfsel van de bloed-zenuw-barrière kunnen betreffen. Hoe dan ook suggereren deze resultaten dat BCRP mogelijk de blootstelling van het onderliggende weefsel aan medicatie kan verlagen. Dit kan een onderdeel van de verklaring vormen waarom medicamenteuze therapie voor perifere zenuwschede tumoren, waaronder vestibularis schwannomen, wisselende effecten laat zien. Als deze hypothese klopt dan kan de inhibitie van BCRP eventueel de gevoeligheid voor medicatie van deze tumoren vergroten.

Hoofdstuk zeven vormt het vervolg op de macrofagen analyse die in hoofdstuk vijf is beschreven. Deze studie omvat dezelfde patiënten groep en focust op twee cytokinen, M-CSF en IL34. Van deze twee eiwitten is bekend dat ze een regulerende functie hebben met betrekking tot het activeren van macrofagen. M-CSF staat voor macrophage colony stimulating factor en is een cytokine dat macrofagen richting een M2 fenotype kan polariseren. De exacte tumor biologische karakteristieken van dit eiwit zijn nog niet geheel duidelijk maar er zijn verscheidenen tumor modellen waarbinnen het een rol lijkt te spelen bij macrofaag geassocieerde tumor progressie^{11,12}. IL-34, interleukine-34, is een eiwit dat veel overeenkomstige kenmerken met M-CSF vertoond^{13,14}. Relatief recente studies laten zien dat IL-34 op een vergelijkbare wijze als M-CSF tumor progressie kan stimuleren¹⁵. Onze studie demonstreert de expressie van deze twee cytokinen in vestibularis schwannomen. In overeenstemming met de verwachte functie van M-CSF wordt een relatie gezien tussen de mate van M-CSF expressie, de aanwezigheid van M2 macrofagen en tumor groei. Voor IL-34 konden geen significatie verbanden worden aangetoond, echter is

de observatie dat IL-34 in alle tumoren in aanzienlijke mate aanwezig is toch suggestief voor het feit dat ook dit eiwit een rol speelt in de tumor biologie van het vestibularis schwannoom. De resultaten van deze studie lijken in lijn met de hypothese dat het inflammatoire micromilieu binnen het vestibularis schwannoom een belangrijke rol speelt in de progressie van deze tumoren. Daarmee vormen M-CSF, en wellicht ook IL-34, potentiële aangrijpingspunten voor toekomstige therapie.

Conclusie

Het algemene doel van dit proefschrift is het ontrafelen van de biologische achtergrond van de klinische progressie van sporadische vestibularis schwannomen. In het geval van vestibularis schwannomen wordt progressie gemeten op basis van toename in tumor omvang. De meest voor de hand liggende factoren die het volume van vestibularis schwannomen bepalen zijn cel groei en cyste vorming. De resultaten van onze studies duiden er op dat intratumorale ontsteking op verschillende vlakken de progressie van deze tumoren beïnvloed. Door het stimuleren van angiogenese en de inhibitie van de immuunreactie gericht tegen tumorcellen stellen tumor associated macrophages sommige tumoren mogelijk in staat snellen en tot een groter volume te groeien. Daarnaast zou het goed mogelijk kunnen zijn dat de bulk van het ontstekingsinfiltraat op zichzelf al bijdraagt aan het volume van de tumoren. Het lijkt er op dat M-CSF en IL-34 een rol spelen in het reguleren van deze ontstekingsreactie waardoor ze potentieel een aangrijpingspunt kunnen vormen voor medicamenteuze therapie. Deze uitkomsten dienen uiteraard omzichtig geïnterpreteerd te worden. Het is belangrijk om te benoemen dat de resultaten van de vergelijkingen die we gemaakt hebben bestaan uit observaties van verschillende associaties. Het is daarbij altijd mogelijk dat deze resultaten nevenverschijnselen van een overkoepelend proces betreffen en in dat geval niet direct aan elkaar gerelateerd zijn. Voordat experimentele behandeling van patiënten met medicijnen die het intratumorale ontstekingsproces moduleren gestart kan worden is het dan ook nodig deze bevindingen in in vitro- en diermodellen te bevestigen. Mogelijke voorbeelden van dit type medicijnen zijn PLX3397 (Pexidartinib) en RG7155 (Emactuzumab)^{16,17}. Beide zijn in staat macrofagen activiteit in tumoren te blokkeren en vormen om die reden ook potentiële behandelopties voor vestibularis schwannomen.

In de zoektocht naar nieuwe medicatie die tumorgroei van vestibularis schwannomen kan beïnvloeden is het belangrijk om mee te nemen dat de bevindingen van deze studie laten zien dat deze tumoren mogelijk “beschermd” worden door barrière eiwitten zoals BCRP. Toekomstig onderzoek moet rekening houden met dit potentiële extra obstakel om de effectiviteit van nieuwe behandelingen te kunnen optimaliseren.

Naast het vinden van nieuwe farmacologische manieren om vestibularis schwannomen te behandelen zijn er nog een aantal andere klinische dilemma's die meer onderzoek behoeven. Een belangrijk onderwerp dat verder onderzocht moet worden is de potentieel superioriteit van protonen bestraling boven de reguliere fotonen bestraling. De huidige literatuur over dit onderwerp is tot op heden niet doorslaggevend en meer klinische trials zijn nodig om deze vraag te beantwoorden. De verdere ontwikkeling van nieuwe therapeutische behandel opties heeft ook effect op de gezamenlijke besluitvorming tussen arts en patiënt. Om deze besluitvorming blijvend te optimaliseren is onderzoek naar kwaliteit van leven van groot belang zodat de uiteindelijke behandeling het beste op de individuele behoeften van de patiënt aan zal sluiten.

Referenties

1. Paldor I, Chen AS, Kaye AH. Growth rate of vestibular schwannoma. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 2016; 32:1-8.
2. Morrison H, Sperka T, Manent J, Giovannini M, Ponta H, Herrlich P. Merlin/neurofibromatosis type 2 suppresses growth by inhibiting the activation of Ras and Rac. *Cancer Res* 2007; 67:520-527.
3. Aarhus M, Bruland O, Saetran HA, Mork SJ, Lund-Johansen M, Knappskog PM. Global gene expression profiling and tissue microarray reveal novel candidate genes and down-regulation of the tumor suppressor gene CAV1 in sporadic vestibular schwannomas. *Neurosurgery* 2010; 67:998-1019.
4. Serrano C, Simonetti S, Hernandez Jet al. BRAF V600E mutations in benign and malignant peripheral nerve sheath tumors. *JClinOncol* 2010; 28.
5. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454:436-444.
6. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *JLeukocBiol* 2009; 86:1065-1073.
7. Allen M, Louise JJ. Jekyll and Hyde: the role of the microenvironment on the progression of cancer. *JPathol* 2011; 223:162-176.
8. Hartz AM, Bauer B. ABC transporters in the CNS - an inventory. *Curr Pharm Biotechnol* 2011; 12:656-673.
9. Brandt C, Bethmann K, Gastens AM, Loscher W. The multidrug transporter hypothesis of drug resistance in epilepsy: Proof-of-principle in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neurobiol Dis* 2006; 24:202-211.
10. Doyle LA, Yang W, Abruzzo LVet al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *ProcNatlAcadSciUSA* 1998; 95:15665-15670.
11. Ding J, Guo C, Hu Pet al. CSF1 is involved in breast cancer progression through inducing monocyte differentiation and homing. *International journal of oncology* 2016; 49:2064-2074.
12. Yang L, Wu Q, Xu Let al. Increased expression of colony stimulating factor-1 is a predictor of poor prognosis in patients with clear-cell renal cell carcinoma. *BMC cancer* 2015; 15:67.
13. Lin H, Lee E, Hestir Ket al. Discovery of a cytokine and its receptor by functional screening of the extracellular proteome. *Science (New York, NY)* 2008; 320:807-811.
14. Foucher ED, Blanchard S, Preisser Let al. IL-34 induces the differentiation of human monocytes into immunosuppressive macrophages. antagonistic effects of GM-CSF and IFNgamma. *PloS one* 2013; 8:e56045.
15. Segaliny AI, Mohamadi A, Dizier Bet al. Interleukin-34 promotes tumor progression and metastatic process in osteosarcoma through induction of angiogenesis and macrophage recruitment. *International journal of cancer* 2015; 137:73-85.
16. Cannarile MA, Weisser M, Jacob W, Jegg AM, Ries CH, Ruttinger D. Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) inhibitors in cancer therapy. *Journal for immunotherapy of cancer* 2017; 5:53.
17. Dammeijer F, Lievens LA, Kaijen-Lambers MEet al. Depletion of Tumor-Associated Macrophages with a CSF-1R Kinase Inhibitor Enhances Antitumor Immunity and Survival Induced by DC Immunotherapy. *Cancer immunology research* 2017; 5:535-546.