



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The complex interactions between the tumor microenvironment and prostate and oropharyngeal cancer

Cioni, B.

Citation

Cioni, B. (2021, June 3). *The complex interactions between the tumor microenvironment and prostate and oropharyngeal cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3182527>

Version: 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/1887/3182527>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <https://hdl.handle.net/1887/3182527> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Cioni, B.

Title: The complex interactions between the tumor microenvironment and prostate and oropharyngeal cancer

Issue Date: 2021-06-03

APPENDICES

English summary

Nederlandse samenvatting

PhD Portfolio and publications

Curriculum Vitae

Acknowledgement

ENGLISH SUMMARY

Nowadays, it is well-established that a tumor is not only a mass of cancerous cells, rather the result of complex interactions between tumor cells, stromal cells and the various molecules found in the tumor microenvironment (TME). The abundance of explorations of the composition of the TME has resulted in numerous therapeutic approaches that aim to target specific TME components. Studies conducted in the last decades, concentrated on pharmaceutically targeting the TME, in order to enhance the efficacy of treatments including chemotherapy and radiotherapy, which aim to target transformed cells. Immunotherapy is by far the most successful of the TME-targeting therapies. However, the idea behind this therapy is not particularly revolutionary, as its main goal is to boost the immune response against cancerous cells. In principle, our own body should be able to fight cancer by exploiting the immune response that recognizes tumor cells as foreign. However, it is not that simple, as numerous mechanisms to evade the recognition occurs in the tumor cells, as well as in the TME, which consequently promotes tumor cells survival. These changes in the TME often overrule the protective effects of the immune system, which is therefore unable to fight cancer. Exploring the role of the TME is therefore crucial to counteract tumor progression.

In this PhD thesis we have described how different components of the TME can strongly affect the progression of anatomically, histologic and genetically different tumor types, namely adenocarcinoma of the prostate (PCa) and oropharyngeal squamous cell carcinoma (OSPC). One of the main goals of this thesis was to elucidate the impact of specific stromal cells found in the TME on cancer progression.

As described in Chapter 1, the TME is composed of many different stromal cells that can either support or suppress cancer progression depending of their specific phenotypes. Most notably, immune cells and fibroblasts play a key role in affecting cancer progression, however, this might occur in opposite ways, depending on their differentiation statuses. The same signaling pathway might lead to both inhibition and promotion of cancer development, depending on the specific activated stromal cell it is stimulated. Therefore, the effect of the TME on tumor progression should be evaluated as a comprehensive phenomenon without focusing on single stromal cell functions.

For instance, as reviewed in Chapter 2, AR expression is described in several stromal cells, however, little is known about its functionality in these cells and most importantly, how stromal AR actions differentially affect prostate cancer development, depending on the specific activated stromal cell. With the aim to address these questions, in Chapter 3 and 4, we described the molecular mechanisms underlying the AR function in two distinct stromal cell types, i.e. fibroblasts and macrophages. In these two chapters, we unraveled the dual role of AR signaling in fibroblasts and macrophages that lead to opposite effects on PCa progression. More specifically, we demonstrated that AR signaling in fibroblasts lead to reduced CCL2 and CXCL8 expression, which was associated with reduced migration and invasion of PCa cells. In contrast, AR signaling in macrophages was shown to increase the TREM-1-mediated cytokine production in macrophages leading to increased migration and invasion of PCa cells. Furthermore, AR

activation in macrophages was shown to promote tumor associated macrophages (TAM) to differentiate into pro-cancerous macrophages.

In conclusion, these data suggest that hormone therapy targeting AR signaling in PCa patients leads to opposite effects in different stromal cell types of the TME, as they can either inhibit or promote prostate cancer development through different mechanisms.

As phenotypic characterization of distinct immune cell phenotypes is essential for understanding the progression and faith of the disease, in Chapter 5, we aimed to describe the phenotypic diversity of PCa associated macrophages. In this chapter we unraveled, for the first time, the degree of heterogeneity of macrophage populations in human PCa and showed the clinical relevance of these phenotypes for patient's outcome. Importantly, very poor correlation was found between PCa-derived macrophage phenotypes and different *in vitro* monocyte-derived macrophage models differentiations, suggesting that markers defining different *in vitro* generated macrophages do not reflect the PCa tissue-resident macrophage phenotypic diversity, thus, highlighting the relevance of our study.

In line with the idea that the role of the TME in cancer progression should be evaluated as a comprehensive phenomenon, in Chapter 6, we aimed to study how different members of the TME affect clinical outcomes of OPSCC patients. Importantly, we found that a high number of TAMs and low levels of HLA-II expression in OPSCC cells were found to be an independent prognostic factor for reduced disease-specific survival (DSS) and disease-free survival (DSF). IFN-g production was suggested to be responsible for both low TAMs numbers and high HLA-II expression. Importantly, in patients with HPV-positive OPSCC, more IFN-g-producing CD8+ and CD4+ T lymphocytes were found compared to HPV-negative OPSCC. These results suggest that HPV-mediated immune response might improve survival in OPSCC via T lymphocytes-derived IFN-g production leading to reduced TAMs infiltration in the TME and increased HLA-II antigen expression on tumor cells.

In conclusion, in this PhD thesis we described the different and opposing roles of the various components of the TME in affecting progression of PCa and OPSCC. Moreover, we provide a molecular rationale for therapeutic targeting of components of the TME, which might improve the clinical outcomes of these patients.

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Tegenwoordig is het welbekend dat een tumor niet alleen bestaat uit kankercellen, maar een resultaat is van complexe interacties tussen tumorcellen, stromale cellen en verschillende moleculen die worden gevonden in de tumor microenvironment. Verschillende onderzoeken naar de samenstelling van deze tumor microenvironment hebben geresulteerd in verschillende therapieën die gericht zijn op verscheidene componenten van de tumor microenvironment. Studies uit de laatste decennia hebben zich vooral op farmaceutisch gebied gefocust op de tumor microenvironment, om de effectiviteit van huidige behandelingen zoals chemotherapie en radiotherapie, die gericht zijn tegen getransformeerde cellen, te kunnen versterken. Immunotherapie is verreweg de meest succesvolle therapie die gericht is op de tumor microenvironment. Echter is het idee achter deze therapie niet heel revolutionair, omdat het als groot hoofddoel heeft om de immuunreactie tegen kankercellen te versterken. In principe zou ons lichaam in staat moeten zijn om de kankercellen te bestrijden door gebruik te maken van de immuunreactie ontstaan doordat het lichaam de tumorcellen niet als lichaamseigen herkent. Toch is het niet zo simpel, omdat zowel de tumorcellen als cellen uit de tumor microenvironment verschillende mechanismen gebruiken om deze immuunreactie te omzeilen. Dit leidt uiteindelijk tot het bevorderen van tumorcel overleving. Deze veranderingen in de tumor microenvironment verwerpen vaak de beschermende effecten van het immuunsysteem, welke daardoor niet meer in staat is om de kanker te bestrijden. Onderzoek naar de rol van de tumor microenvironment is daarom cruciaal om progressie van de tumor tegen te gaan. In dit proefschrift hebben we beschreven hoe verschillende componenten van de tumor microenvironment de ontwikkeling van anatomisch, histologisch en genetisch verschillende tumortypes, zoals prostaatkarcinoom en orofaryngeaal plaveiselcelcarcinoom, sterk kunnen beïnvloeden. Een van de hoofddoelen van dit proefschrift was om de impact van specifieke stromale cellen gevonden in de tumor microenvironment op de progressie van de tumor te verklaren.

Zoals beschreven in hoofdstuk 1 bestaat de tumor microenvironment uit vele verschillende stromale cellen die de voortgang van kanker kunnen bevorderen of kunnen remmen afhankelijk van de staat waarin ze verkeren, ook wel het fenotype genoemd. Vooral immuuncellen en fibroblasten spelen een sleutelrol bij het beïnvloeden van de progressie van kanker, dit kan echter op tegenovergestelde manieren gebeuren, afhankelijk van de differentiatiestatus. Eenzelfde signaleringsroute kan leiden tot zowel remming als de bevordering van de ontwikkeling van kanker, afhankelijk van de specifieke stromale cel die wordt gestimuleerd. Daarom moet het effect van de tumor microenvironment op de progressie van een tumor worden beoordeeld als één geheel, zonder te focussen op enkele functies van een stromale cel.

Zoals besproken in hoofdstuk 2, wordt AR-expressie in verschillende stromale cellen beschreven, maar er is nog weinig bekend over de functionaliteit hiervan in deze cellen en vooral hoe stromale AR-acties de ontwikkeling van prostaatkanker differentieel beïnvloeden, afhankelijk van de specifieke geactiveerde stromale cel. Met het doel deze vragen te beantwoorden, hebben we in hoofdstuk 3 en 4 de moleculaire mechanismen beschreven die ten grondslag liggen aan de AR-functie in twee verschillende stromale celtypen, namelijk fibroblasten en macrofagen.

In deze twee hoofdstukken, hebben we de dubbele rol van AR-signalering in fibroblasten en macrofagen ontrafeld die leidt tot tegengestelde effecten op de ontwikkeling van prostaatkanker. Meer specifiek hebben we aangetoond dat AR-signalering in fibroblasten leidt tot verminderde expressie van CCL2 en CXCL8, wat geassocieerd was met verminderde migratie en invasie van prostaatkanker cellen. Echter, in macrofagen hebben we aangetoond dat AR signalering leidt tot verhoogde productie van deze cytokines via de TREM-1 signaleringsroute wat leidt tot verhoogde migratie en invasie van prostaatkanker cellen. Tevens bevordert AR activatie in macrofagen de differentiatie van tumor geassocieerde macrofagen naar pro-tumorale macrofagen. Concluderend suggereren deze resultaten dat hormoontherapie gericht op AR-signalering bij prostaatkanker patiënten leidt tot tegengestelde effecten in verschillende stromale celtypen in de microenvironment, aangezien het zowel de ontwikkeling van prostaatkanker kan remmen als bevorderen via verschillende mechanismen.

Omdat karakterisering van verschillende immuuncel fenotypes essentieel is om de progressie en het beloop van de ziekte te begrijpen, hebben we in hoofdstuk 5 de fenotypische diversiteit van prostaatkanker geassocieerde macrofagen beschreven. In dit hoofdstuk ontrafelen we voor het eerst de mate van heterogeniteit van macrofaag populaties in menselijke prostaatkanker en toonden we de klinische relevantie van deze fenotypes aan voor de uitkomst van de patiënt. Belangrijk is dat er een zeer slechte correlatie werd gevonden tussen fenotypes van prostaatkanker geassocieerde macrofagen en verschillende *in vitro* gedifferentieerde macrofaag modellen, wat suggereert dat markers die verschillende *in vitro* gegeneerde macrofagen definiëren niet de fenotypische diversiteit van prostaatkanker geassocieerde macrofagen weerspiegelen, waardoor de relevantie van onze studie wordt benadrukt. In lijn met het idee dat de rol van de tumor microenvironment bij de progressie van kanker moet worden geëvalueerd als een alomvattend fenomeen, hebben we in hoofdstuk 6 bestudeerd hoe verschillende cellen in de tumor microenvironment de klinische uitkomsten van orofaryngeaal plaveiselcelcarcinoom patiënten kunnen beïnvloeden. Belangrijk is dat we ontdekten dat een hoog aantal tumor geassocieerde macrofagen en lage HLA-II expressie op deze kankercellen een onafhankelijke prognostische factor bleken te zijn voor een verminderde ziekte specifieke- en ziektevrije overleving. Interferon gamma productie werd gesuggereerd verantwoordelijk te zijn voor zowel lage niveaus van tumor geassocieerde macrofagen als ook hoge HLA-II expressie. Belangrijker, bij patiënten met een HPV-positief orofaryngeaal plaveiselcelcarcinoom werden er meer interferon gamma producerende CD8+ en CD4+ T lymfocyten gevonden vergeleken met HPV-negatieve orofarygeaal plaveiselcelcarcinoom patiënten. Deze resultaten suggereren dat een HPV-gemedieerde immuunrespons de overleving van deze patiënten zou kunnen verbeteren via een verhoogd interferon gamma productie door T lymfocyten, wat leidt tot een verminderde tumor geassocieerde macrofaag infiltratie in de tumor microenvironment en een verhoogde HLA-II antigeen expressie op tumorcellen.

In conclusie hebben we in dit proefschrift zowel de verschillende als de tegengestelde rollen van diverse cellen in de tumor microenvironment beschreven die de progressie van prostaatkanker en orofaryngeaal plaveiselcelcarcinoom patiënten beïnvloeden. Bovendien bieden we een moleculaire rationale voor het richten van therapieën op componenten

van de tumor microenvironment, wat de klinische resultaten van deze patiënten zou kunnen verbeteren.

&

&