



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Modelling the role of cytotoxic T lymphocytes in tumour regression

Beck, R.J.

Citation

Beck, R. J. (2021, June 22). *Modelling the role of cytotoxic T lymphocytes in tumour regression*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3185765>

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/1887/3185765>

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

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/3185765> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Beck, R.J.

Title: Modelling the role of cytotoxic T lymphocytes in tumour regression

Issue date: 2021-06-22

Nederlandse samenvatting

Immuuntherapie voor kanker is in opkomst als klasse van therapeutische strategieën die gericht zijn op de behandeling van kanker via stimulatie van het immuunsysteem. Ondanks het beduidende succes van immuuntherapie in het afgelopen decennium reageren niet alle patiënten op dit type behandeling en de redenen waarom er wel of geen succes mee wordt geboekt bij sommige patiënten blijven onvoldoende begrepen. De immuunrespons op kanker is een complex proces dat bestaat uit meerdere fasen, en wiskundige en computermodellen zijn een effectief hulpmiddel om dergelijke complexe systemen te begrijpen. In dit proefschrift ontwikkel ik wiskundige en computationele modellen van cytotoxische T-lymfocyten (CTL's), hetgeen zeer belangrijke componenten zijn in het immuunsysteem vanwege hun vermogen om kwaadaardige of viraal geïnfecteerde cellen te herkennen, te vernietigen en er langdurige bescherming tegen te bieden.

Aangezien de snelheid waarmee CTL's tumorcellen kunnen doden een cruciale parameter is die hun werkzaamheid bij immuuntherapieën bepaalt, onderzoek ik in hoofdstuk 2 hoe de snelheid waarmee CTL's tumorcellen doden het best kan worden gekwantificeerd op basis van gegevens van microscopische beelden. Door Monte Carlo-simulaties te ontwikkelen van CTL's die 'target cellen' doden, laat ik zien dat statistieken over het aantal dode cellen op populatieniveau misleidende conclusies kunnen geven over het vernietigingsproces van target cellen door CTL's. In het bijzonder laat ik zien hoe de resultaten van *in vitro* 'killing assays', welke lijken te wijzen op het bestaan van een subpopulatie van CTL's die extreem snel target cellen doden, kunnen worden verklaard door een homogene populatie van CTL's die meerdere treffers nodig hebben om voldoende cumulatieve schade aan target cellen aan te richten om deze te doden. Ik ontwikkel een Bayesiaanse inferentie procedure voor het schatten van parameters gerelateerd aan het vernietigingsproces door de CTL's op basis van microscopische beelden, en valideer deze inferentie procedure met behulp van simulatie data die zijn gemaakt met een 'agent-based' model (ABM).

In hoofdstuk 3 onderzoek ik of de snelheid waarmee CTL's EL4 lymfoomcellen doden, bepaald met *in vivo* two-photon microscopie, voldoende is om EL4-tumorregressie te verklaren. Om dit te testen, ontwikkel ik zowel een 'Ordinary Differential Equation' (ODE) model als een ABM om de interactie van in het bloed geïnjecteerde CTL's met de EL4 tumoren te beschrijven. Op basis van de resultaten van beide modellen concludeer ik dat de gemeten snelheid waarmee de CTL's tumorcellen doden niet overeenstemt met tumorregressie in de EL4 tumoren. Met behulp van het ABM test ik alternatieve hypothesen die zouden kunnen verklaren hoe ingebrachte CTL's tot de waargenomen tumorregressie kunnen leiden. Ik concludeer dat een antiproliferatief effect geassocieerd met de ingebrachte CTL's compatibel is met de experimentele gegevens.

In hoofdstuk 4 onderzoek ik een *in vivo* dataset van B16F10 melanoom behandeld met in de bloedbaan geïnjecteerde CTL's die gestimuleerd zijn met een agonist antilichaam dat is gericht tegen de CD137 receptor. Ik analyseer wat de belangrijkste mechanismen waren die CTL's

gebruikten om de tumoren in bedwang te houden, en ook hoe de stimulatie via de CD137 receptor de functies van de overgedragen CTL's veranderde. Om deze vragen te beantwoorden, heb ik een ODE-model ontwikkeld van de interactie tussen de ingebrachte CTL's en de B16F10 tumoren. Net als bij de EL4 tumoren die in hoofdstuk 3 zijn onderzocht, concludeer ik dat de snelheid waarmee de ingebrachte CTL's tumorcellen doden onvoldoende is om de verminderde tumorgroei na overdracht van de CTL's te verklaren, en dat een substantieel antiproliferatief effect op tumorcellen nodig is om de gegevens te verklaren. Bovendien geven de resultaten van het model aan dat stimulatie van de CTL's via hun CD137 receptor dit antiproliferatieve effect versterkt. Dit verklaart de kleinere tumoren na stimulatie met CD137 ten opzichte van de controle situatie waarbij niet via de receptor gestimuleerd werd.

In hoofdstuk 5 bekijk ik het B16F10 melanoom systeem opnieuw met behulp van een andere set experimentele gegevens. Net als in hoofdstuk 4 ontwikkel ik een ODE-model en pas het toe op de experimentele data, waarmee ik bevestig dat het in bedwang houden van deze B16F10 melanomen na CTL overdracht grotendeels verklaard kan worden door een antiproliferatief effect geassocieerd met de overgedragen CTL's. Longitudinale metingen van genexpressie van de tumoren zijn toegevoegd aan de experimentele gegevens die ik in hoofdstuk 5 gebruik. Door deze genexpressie gegevens te integreren in het ODE model onderzoek ik of de transcriptionele dynamiek van het cytokine IFN- γ compatibel is met de dynamiek van het antiproliferatieve effect. De analyse laat zien dat dit inderdaad het geval is, wat aangeeft dat IFN- γ mogelijk de enige mediator is van het antiproliferatieve effect in deze experimentele opzet. IFN- γ transcriptie duurde niet langer dan een paar dagen volgens de gegevens, wat aangeeft dat de CTL's hun vermogen om de tumoren te beheersen over de tijd verloren. Daarom heb ik binnen de genexpressie data ook gezocht naar moleculen die de deactivatie van de CTL's zouden kunnen verklaren. Ik concludeer dat de dynamiek van een aantal 'immuun checkpoint' moleculen compatibel is met de afnemende antitumor functionaliteit van de CTL's.

Over het algemeen suggereren de resultaten in dit proefschrift dat computationele modellen een waardevol en geschikt hulpmiddel zijn om de immuunrespons op kanker te begrijpen. Bovendien stel ik een raamwerk op voor het onderzoeken van de effectorfuncties van CTL's in de context van kanker immunotherapie. Met behulp van dit raamwerk identificeer ik een belangrijke bijdrage van antiproliferatieve effecten door CTL's in twee verschillende experimentele tumor cellijnen. In het B16F10 melanoommodel verklaar ik het antiproliferatieve effect in meer detail. Ik concludeer dat het consistent is met secretie van het cytokine IFN- γ door CTL's, dat dit effect wordt versterkt door stimulatie van CTL's via hun CD137-receptor, maar dat het ook van korte duur is. Ten slotte identificeer ik verschillende immuun checkpoint moleculen die geassocieerd zijn met de beëindiging van IFN- γ productie.