



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Endoglin and the immune system: immunomodulation and therapeutic opportunities for cancer

Schoonderwoerd, M.J.A.

Citation

Schoonderwoerd, M. J. A. (2022, May 12). *Endoglin and the immune system: immunomodulation and therapeutic opportunities for cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3303586>

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/1887/3303586>

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

Appendix



Nederlandse samenvatting
List of publications
Curriculum vitae
Dankwoord

Nederlandse samenvatting

In Nederland krijgen ca 12.000 mensen de diagnose darmkanker per jaar. Samen met de kankercellen vormen vele andere “normale” cellen en moleculen de tumor. Al deze cellen en moleculen bij elkaar wordt het tumor micromilieu genoemd. In dit proefschrift worden diverse onderzoeken naar de rol van het tumor micromilieu in zowel darmkanker als alvleesklierkanker behandeld, met daarbij speciale aandacht voor een receptor genaamd Endoglin. Dit proefschrift heeft tot doel de rol van Endoglin als een mogelijk doelwit op verschillende celtypes binnen de Tumor Micromilieu (TME) van solide tumoren te ontrafelen.

Na een algemene introductie in **hoofdstuk 1** wordt in **hoofdstuk 2** een overzicht gegeven van de huidige literatuur over Endoglin en haar rol op cellen in het tumor micromilieu. Endoglin wordt in de literatuur niet alleen beschreven op nieuwgevormde bloedvaten in de tumor, maar ook op steuncellen genaamd fibroblasten, de kankercellen zelf en bepaalde immuuncellen genaamd macrofagen. De rol van Endoglin op deze cellen is controversieel en er zijn veel tegenstrijdige bevindingen over de uiteindelijke rol van Endoglin. Echter hebben de cellen die Endoglin tot expressie brengen allemaal iets gemeen, namelijk dat ze voorkomen in een omgeving met veel TGF- β . TGF- β is een groeifactor die een remmende werking heeft op tumorcellen in de vroege fase van kanker. Echter naarmate de kanker vordert heeft TGF- β een stimulerend effect op tumorgroei. TGF- β zorgt voor een tumor micromilieu dat ervoor zorgt dat de kankercellen overleven door het aantrekken van fibroblasten en aan het immuunsysteem ontsnappen. Endoglin maakt onderdeel uit van de TGF- β signaleringsroute.

In **hoofdstuk 3** is onderzocht wat de rol van Endoglin is op fibroblasten in darmkanker. In dit hoofdstuk beschrijven we dat fibroblasten die Endoglin tot expressie brengen zorgen voor een verhoogde kans op uitzaaiing van de darmkankercellen naar de lever. We hebben dit onderzocht op verschillende manieren. In kweekbuisjes hebben we laten zien dat tumorcellen sneller naar fibroblasten migreren met Endoglin dan naar fibroblasten zonder Endoglin. Deze fibroblasten werden vervolgens samen met kankercellen geïnjecteerd in zebrafish embryo's, wat resulteerde in een verhoogde migratie van tumorcellen richting de lever van de vis. Vervolgens hebben we in muizen getest of het toedienen van een medicijn tegen Endoglin de vorming van uitzaaiingen van darmkanker in de lever kon voorkomen. Deze verschillende dierproeven suggereren dat Endoglin een belangrijke rol speelt op fibroblasten tijdens de uitzaaiing van darmkanker naar de lever. De volgende stap zou zijn om dit te verifiëren in mensen.

Omdat fibroblast specifieke Endoglin expressie uit ons onderzoek in hoofdstuk 3 bleek een belangrijke rol te spelen bij de uitzaaiing van kanker hebben we dit verder onderzocht in **hoofdstuk 4**. Endoglin werd selectief op fibroblasten genetisch uitgeschakeld (knockout) waardoor Endoglin niet meer tot expressie gebracht kan worden op deze cellen. Door gebruik te maken van een vroeg stadium darmkankermodel uitgaande van een darmontsteking (colitis) werden tot onze verrassing meer tumoren waargenomen in de muizen zonder Endoglin. In deze tumoren werd een verhoogd aantal neutrofielen (ontstekingscellen) gevonden. Om te onderzoeken of deze neutrofielen betrokken zijn bij de formatie van meer tumoren in ons muismodel hebben we de cellen gedepleteerd (verwijderd). Echter bleek dat neutrofielen niet verantwoordelijk waren voor de verhoogde tumor vorming. Uit vervollexperimenten bleek dat tijdens de eerste episode van darmontsteking een verminderde hoeveelheid “myeloïde” afweercellen gevonden in zowel de darmen als in het bloed van de muis. Dit zou erop kunnen wijzen dat er een vertraagde immuunrespons plaats vindt in de muizen zonder endoglin. Samenvattend laten de resultaten in dit hoofdstuk laten zien dat Endoglin op fibroblasten een belangrijke rol speelt bij de formatie van ontsteking-gemedieerde tumoren, mogelijk door een vertraagde immuunrespons.

De rol van Endoglin werd verder onderzocht in een model voor alvleeskliertumoren in **hoofdstuk 5**. Ondanks dat Endoglin hoog tot expressie komt in deze tumoren bleek dat in dit model geen therapeutisch effect te zien was van het medicijn gericht tegen Endoglin (TRC105), zoals we met meer conventionele therapieën hebben gezien. De rol van Endoglin in dit model is dus mogelijk beperkter, moeilijker te bestuderen of er zijn additionele mechanismen die een rol spelen, waardoor de therapie niet goed werkt.

Hoewel we in het eerste gedeelte van dit proefschrift voornamelijk hebben gekeken naar de rol van Endoglin op fibroblasten hebben we ons in de volgende hoofdstukken voornamelijk gefocust op de interactie met het afweersysteem. In **hoofdstuk 6** hebben we de combinatie TRC105 en immunotherapie (in de vorm van anti-PD-1 antilichamen) onderzocht in verschillende darmkanker muismodellen. We vonden we dat de combinatie van Endoglin medicatie en immunotherapie significant beter werkte dan beide monotherapieën. In de tumor van de muizen behandeld met TRC105 vonden we een afname in het aantal afweer onderdrukkende regulatoire T-cellen. Door deze regulatoire T-cellen dus uit de tumor te verwijderen werd de tumor beter aangevallen door het immuunsysteem, zeker in combinatie met anti-PD-1 welke het immuunsysteem verder motiveert om de tumorcellen aan te vallen. De antitumor effecten van het Endoglin medicijn bleken voornamelijk veroorzaakt te worden door antilichaam gemediteerde cellulaire doding (ADCC). Dit gebeurt in

combinatie met de aanwezige CD8+ Cytotoxische T-afweercellen, welke verantwoordelijk zijn voor het doden van de tumorcellen. De combinatie van TRC105 en anti-PD-1 is dus superieur aan de monotherapieën door de aanwezigheid van CD8+ T-cellen en ADCC in muizen met darmkanker. Deze CD8+ T-cellen worden geactiveerd in de lokale lymfeklieren om de tumor te herkennen.

In **hoofdstuk 7** hebben we naar de rol van deze lokale lymfeklieren gekeken tijdens immunotherapie. Lymfeklieren spelen een belangrijke rol bij het activeren van T-cellen. De rol van lokale lymfeklieren was echter nooit onderzocht. Muizen werden ingespoten met darmkankercellen, de lokale lymfeklieren werden vervolgens verwijderd en immunotherapie werd gestart. Bij muizen waar de lymfeklieren werden verwijderd groeide de tumor significant sneller dan bij muizen die de lokale lymfeklieren nog hadden. Deze bevindingen bevestigen dus hoe belangrijk de lokale lymfeklieren zijn bij de behandeling van kanker met immunotherapie, met mogelijk ook groet implicatie voor patiënten die chirurgie ondergaan.

Tenslotte wordt in **hoofdstuk 8** een algemene discussie gegeven, waarbij boven beschreven hoofdstukken geïntegreerd besproken worden. De conclusie is dat de rol van Endoglin op fibroblasten mogelijk een verschillende rol speelt tijdens de verschillende tumorstadia. Het aanvallen van Endoglin met het medicijn TRC105 heeft bemoedigende resultaten laten zien bij zowel uitzaaiing van de tumor, en als een mogelijk immunoregulatorische therapie. Echter is er meer onderzoek nodig en voornamelijk naar de rol van Endoglin in mensen en het behandelen met het Endoglin medicijn TRC105.

