



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Improving immunotherapy for melanoma: models, biomarkers and regulatory T cells

Rao, D.

Citation

Rao, D. (2023, December 12). *Improving immunotherapy for melanoma: models, biomarkers and regulatory T cells*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3666224>

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/1887/3666224>

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

Appendix

Nederlandse samenvatting

English summary

List of publications

Curriculum vitae

Acknowledgement

Nederlandse samenvatting

Therapeutische vorderingen in het afgelopen decennium hebben een revolutie in de behandeling van huidmelanoom in een gevorderd stadium, dat wordt beschouwd als een van de dodelijkste vormen van huidkanker. De huidig goedgekeurde immunotherapieën zijn monoklonale antilichamen die de interactie blokkeren tussen de immuun checkpoints- CTLA4 en PD1, die onder andere tot expressie komen op CD8 T-cellen, en de corresponderende liganden op antigen-presenterende cellen of tumorcellen. Dergelijke therapieën met checkpoint remmers (ICB) hebben niet alleen de progressievrije overleving (PFS) in stadium IV aanzienlijk verlengd, maar ook het langdurige recidief-vrije overleving (RFS) in stadium III melanoom. Desondanks heeft nog steeds een deel van de patiënten geen baat bij ICB-therapie, waardoor er nieuwe behandeling methodes nodig zijn.

Het gebrek aan een respons op ICB-therapie kan het gevolg zijn van een lage infiltratie en functionaliteit van tumor-reactieve CD8 T-cellen in de tumor. Daarnaast kan de aanwezigheid van remmende immuuncellen in de tumor, zoals regulatoire T-cellen (Tregs), ook de functionaliteit van deze CD8 T-cellen belemmeren, wat bijdraagt aan een lage respons op ICB-therapie. Strategieën met als doel de CD8 T-cel infiltratie en functie te verhogen en de onderdrukking gemedieerd door Tregs te verminderen kunnen worden gecombineerd met bestaande ICB-therapie, waar niet-responderende patiënten baat bij kunnen hebben. Preklinische modellen die deze niet-reagerende subgroep van melanoompatiënten nabootsen helpen daarbij om het begrip van resistentiemechanismen te vergroten.

Dit proefschrift heeft als doel de balans te verschuiven naar een pro-inflammatoire melanoom tumor door middel van de introductie van rationele combinatietherapieën. Tevens beoogden we om de onderdrukkende werking van Tregs te verminderen, met de intentie om de respons op ICB-therapie bij patiënten met gevorderd stadium melanoom te vergroten. Als eerste ontwikkelden we een nieuw syngene muismodel, beschreven in hoofdstuk 2. Daarvoor gebruikten we twee melanoomcellijnen, genaamd MeVa2.1 en MeVa2.2, die zijn afgeleid van een primaire tumor van een $\text{Braf}^{\text{V600E}}/\text{Pten}^{-/-}$ model muis. Vervolgens zijn deze nieuw ontwikkelde cellijnen *in vitro* getransduceerd met het antigeen ovalbumine (OVA), waardoor de immunogene afgeleide cellijnen MeVa2.1.dOVA en MeVa2.2.dOVA werden verkregen. Ondanks dat ze afkomstig waren van dezelfde primaire tumor, vertoonden de cellijnen verschillen in immuungemedieerde groeiconrole. Deze vier nieuwe cellijnen recapituleren veelvoorkomende resistentiemechanisme van patiënten.

Hoofdstuk 3 en 4 van dit proefschrift onderzoeken de mogelijkheid om bestaande geneesmiddelen te testen in combinatie met ICB-therapie. Het is bekend dat histone deacetylase (HDAC) remmers de immuunrespons kunnen moduleren, wat leidt tot een

verbeterde controle van de tumorgroei. Hoofdstuk 3 van dit proefschrift evalueert of de klasse I-specifieke HDAC inhibitor domatinostat een rationele toevoeging is naast anti-PD1 + anti-CTLA4 therapie bij melanoom. De toevoeging van domatinostat aan anti-PD1 + anti-CTLA4 therapie resulteerde in immunomodulatie, tumorgroei controle en langere overleving van de muizen. Deze combinatie werd getest in een neoadjuvante setting bij patiënten met resectabel stadium III melanoom in de klinische studie DONIMI, waarvan de resultaten ook in hoofdstuk 3 van dit proefschrift worden beschreven. In deze studie werd de IFN-gamma signatuur score van de tumor biop van vóór de behandeling berekend, waarna patiënten vervolgens werden ingedeeld in een IFN-gamma hoog of laag behandeling groep. In tegenstelling tot de resultaten van de preklinische studie resulteerde de toevoeging van domatinostat aan ICB-therapie echter niet in een immunomodulatie of een verbetering van de respons op de behandeling.

In hoofdstuk 4 wordt het effect van LMK235, een andere klasse IIA-specifieke HDAC remmer, op de frequentie van Tregs geëvalueerd. Ondanks de veelbelovende *in vitro* resultaten slaagde LMK253 er niet in om de populatie van Tregs te moduleren *in vivo*. Dit hoofdstuk leverde voldoende bewijs om het onderzoek naar de therapeutische waarde van LMK253 als behandeling voor melanoom niet voort te zetten.

De opvolgende hoofdstukken van dit proefschrift focusen op het verminderen van de onderdrukkende functie van Tregs in de tumor. Een beter begrip van de basisbiologie van Tregs is essentieel om relevante therapeutische aangrijppunten te vinden, waarbij in hoofdstuk 5 de metabolische signalering die invloed heeft op het functioneren en overleving van Tregs in de tumor beschrijft.

Om verder in te gaan op het metabolische voordeel van Tregs, evalueert hoofdstuk 6 van dit proefschrift of extracellulair melkzuur, wat vaak aanwezig is in hoge concentraties in de micro-omgeving van de tumor, invloed heeft op de inductie van Tregs. De aanwezigheid van melkzuur resulteerde in een verhoogde inductie van Tregs, ongeacht de beschikbaarheid van glucose. Bovendien resulteerde de lage zuurgraad, en niet de aanwezigheid van lactaat, in de geobserveerde toename in Treg inductie *in vitro*. Daarnaast verlaagde de Treg frequentie *in vivo* na de modulatie van de zuurgraad in de tumor door middel van toediening van natriumbicarbonaat.

Tenslotte heb ik in hoofdstuk 7 de implicaties van het werk van dit proefschrift op het gebied van melanoom bediscussieerd en benoem ik de lopende klinische studies voor patiënten met gevorderd huidmelanoom die een vergelijkbare benadering hebben als beschreven in dit proefschrift. Daarnaast benadruk ik ook de noodzaak voor toekomstige studies die nieuwe combinaties van immunotherapie testen om patiënten te stratificeren gebaseerd op biomarker expressie. Samengevat, de nieuwe melanoommodellen beschreven in dit proefschrift bieden een platform voor preklinisch onderzoek dat gericht is op het verbeteren van de respons op immunotherapie.

De resultaten van dit proefschrift werpen licht op de beperkte werkzaamheid van specifieke HDAC-remmers bij melanoom. Daarnaast vergroten de bevindingen in het laatste deel van dit proefschrift ons begrip van het metabolische voordeel van Tregs in de omstandigheden van de tumoren, die zouden kunnen worden aangegrepen voor potentiële therapeutische behandeling bij melanoom.