



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Improving response and reducing toxicity to immune checkpoint blockade therapy in melanoma

Hoefsmit, E.P.

Citation

Hoefsmit, E. P. (2024, May 14). *Improving response and reducing toxicity to immune checkpoint blockade therapy in melanoma*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3753756>

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/1887/3753756>

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

Nederlandse samenvatting

Met de introductie van immuun checkpoint remmers (ICB) therapie is een ongekend succes geboekt voor de behandeling van melanoom, waardoor de prognose van deze patiënten aanzienlijk verbetert. Deze therapie beoogt de interactie tussen tumorcellen en immuuncellen te blokkeren. Tumorcellen zijn in staat om immuuncellen te remmen, waardoor deze tumorcellen niet aangevallen worden door de immuuncellen en daardoor kunnen groeien. Door deze remmende interactie tussen de immuuncellen en tumorcellen te blokkeren met antilichamen, kunnen de tumorcellen herkend en aangevallen worden door de immuuncellen. Deze antilichamen binden aan zogenoemde immuun checkpoint moleculen. Momenteel zijn de klinisch meest bestudeerde immuun checkpoint moleculen cytotoxisch T-lymfocytantigeen-4 (CTLA-4) en geprogrammeerde celdood 1 (PD-1). De behandeling met één van deze immuun checkpoint remmers is werkzaam bij een deel van de patiënten, maar de combinatie van beide immuun checkpoint remmers is effectiever, resulterend in een respons bij 58% van de patiënten, met een 5-jaars landmark totale overleving van 52% (1). Ondanks dit enorme resultaat voor de behandeling van een ooit als dodelijke beschouwde ziekte, hebben nog niet alle patiënten baat bij deze therapieën. Daarnaast veroorzaken deze therapieën immuun gerelateerde bijwerkingen (irAEs) bij een substantiële groep patiënten. Dit komt doordat deze checkpoint moleculen een belangrijke rol spelen in het beperken van auto-immuniteit en door het blokkeren van deze moleculen deze bescherming opgeheven wordt. Er is dus een duidelijke klinische noodzaak om het effect van immuun checkpoint remmers voor melanoom patiënten te verbeteren. In dit proefschrift presenteer ik daarom nieuwe inzichten in de effectiviteit en resistentie mechanismes van immuun checkpoint remmers. Daarnaast richt ik me op de mechanismes die het ontwikkelen van irAEs zouden kunnen verklaren.

Hoewel adjuvante behandeling van immuun checkpoint remmers de prognose voor patiënten met een chirurgisch verwijderbaar melanoom verbetert, zou dit de suboptimale volgorde van therapie kunnen zijn. In **hoofdstuk 2** beschrijven we de belofte van neoadjuvante immunotherapie voor de behandeling van kanker. Bij neoadjuvante behandeling wordt immunotherapie vóór de operatie gegeven in plaats van daarna, hierdoor kan de respons op de behandeling worden bepaald en de tumorlast voorafgaand aan de operatie worden verminderd. Daarnaast wordt de mogelijkheid geboden om de pathologische respons te bepalen en te gebruiken als surrogaat biomarker voor recidievrije overleving (RFS) en totale overleving. Aangezien het overgrote deel van de tumormassa, inclusief geïnfilteerde T-cellen, nog aanwezig is, kan neoadjuvante immunotherapie de T-cellen activeren terwijl deze nog steeds zijn blootgesteld aan de tumor(neo)antigenen. Preklinische studies tonen al aan dat neoadjuvante behandeling mogelijk de optimale methode is in vergelijking met

adjuvante behandeling. Bovendien zijn de eerste bevindingen uit de eerste stadia van klinisch onderzoek bij melanoom bemoedigend en ondersteunen het concept van neoadjuvante therapie. Zoals ook in **hoofdstuk 3** wordt getoond, is er een langdurige response te zien bij patiënten met stadium III melanoom die zijn behandeld met ipilimumab (anti-CTLA-4 therapie) en nivolumab (anti-PD-1 therapie), met daarbij een 2-jaars ziektevrije tijd bij 84% van de patiënten. Met name patiënten met een pathologische respons, hadden een goede prognose, met een RFS van 97%. Voor patiënten zonder pathologische respons was dit slechts 36%.

Om de uitkomst voor patiënten die met immuun checkpoint remmers worden behandeld te verbeteren is het belangrijk om patiënten te identificeren, bij voorkeur vooraf aan de behandeling, die (on)waarschijnlijk op de behandeling zullen reageren. In hoofdstuk 3 zien we dat patiënten met een hoge interferon-gamma-gerelateerde genexpressie-signatuurscore (IFN- γ -score) als beginwaarde van de tumor een goede prognose hebben. Daarnaast wordt in **hoofdstuk 4** beschreven dat ook patiënten met een hoge beginwaarde van de Batf3 dendritische cel (DC)-geassocieerde RNA-genexpressiesignatuur (Batf3-DC-score) van de tumor een betere prognose te hebben. Deze Batf3 DCs is een subtype dat uitblinkt in de kruispresentatie van (tumor)antigenen. Wanneer een van deze scores wordt gecombineerd met de tumormutatie score ('tumor mutational burden'), wordt een nog sterkere associatie met respons op neoadjuvante immunotherapie gevonden. Daar tegenover staat dat patiënten die een lage expressie van deze markers hebben, een slechtere prognose hebben. Deze patiënten subgroep kan baat hebben bij aanvullende therapieën. Gebaseerd op dit idee, kunnen patiënten met een lage infiltratie van Batf3 DC profiteren van therapieën die gericht zijn op het verbeteren van kruispresentatie van tumorantigenen. Dit was de basis om een screen met herbruikbare geneesmiddelen uit te voeren (**hoofdstuk 4**), met als doel medicijnen te vinden die de kruispresentatie van tumorantigenen door DCs zouden kunnen verbeteren. We laten zien dat er in totaal 145 geneesmiddelen zijn die proliferatie van T-cellen significant verbeteren na de kruispresentatie van tumorantigenen door DCs. Een van deze middelen is AZD5582, een antagonist van de 'inhibitor of apoptosis proteins' (IAPs) cIAP1, cIAP2 en XIAP, dat DC-activering induceert, antigeen import van het endolysosoom naar het cytosol verhoogd en de expressie van genen die betrokken zijn bij kruispresentatie laat toenemen. Ook observeren we dat AZD5582 een aanvullend effect heeft op anti-PD-1 behandeling *in vivo*, waarbij er een vermindering van tumor uitgroei wordt gezien.

In het volgende deel van dit proefschrift richten we ons op groepen melanoompatiënten die een slechtere prognose hebben. In **hoofdstuk 5** karakteriseren en vergelijken we de levermetastasen van patiënten met huidmelanoom (CM) en oogmelanoom (UM). Ondanks dat deze twee melanoomtypes dezelfde oorsprong hebben (melanocyten)

zijn de responspercentages bij UM zeer teleurstellend (variërend van 0% tot 15%) (2-4). In deze studie komt naar voren dat er een verschil is in het aantal mutaties van de tumor, terwijl er geen verschil is in de mate van infiltratie van immuun cellen tussen de levermetastases van CM en UM. Alleen de verhouding van uitgeputte CD8 T-cellen tot cytotoxische T-cellen, tot totale CD8 T-cellen en tot Th1-cellen is significant hoger bij UM-metastases. Therapieën die erop gericht zijn om uitputting tegen te gaan zijn potentieel een toekomstige mogelijkheid voor de patiënten met UM.

De responspercentages en irAEs bij neoadjuvante immuun checkpoint remmers is hoger bij patiënten met stadium III melanoom in vergelijking met patiënten met stadium IV melanoom. In **hoofdstuk 6** introduceren we de hypothese dat systemische immuun suppressie een onderliggend mechanisme zou kunnen zijn. Om dit te onderzoeken analyseren we plasma en serum van patiënten voor circulerende eiwitten. Met deze objectieve benadering observeren we dat patiënten met progressieve ziekte een hogere systemische expressie van 'leucine-rich alpha-2-glycoprotein 1' (LRG1) hebben. Daarnaast zien we in twee cohorten een slechtere prognose voor patiënten die niet reageren op neoadjuvante therapie met immuun checkpoint remmers met een hogere LRG1 expressie. Deze bevindingen impliceren dat LRG1 kan worden gebruikt als een biomarker om patiënten te identificeren met een verhoogd risico op ziekteprogressie en recidief. Daarnaast zal in de toekomst getest kunnen worden of anti-LRG1 therapie in combinatie met neoadjuvante immuun checkpoint remmers de werkzaamheid van de therapie voor deze groep patiënten kan verbeteren.

In het laatste deel van dit proefschrift onderzoeken we of er mogelijke factoren zijn die de kans op het ontwikkelen op irAEs vergroten. Gebaseerd op de gelijkenis van irAEs met auto-immuunziekten, stellen we de hypothese dat specifieke genetische loci die zijn geassocieerd met verhoogde kans op het ontwikkelen van auto-immuunziekten ook gekoppeld zijn aan het ontwikkelen van irAEs. In **hoofdstuk 7** bespreken we genetische loci geassocieerd met auto-immuunziekten die ook relevant kunnen zijn voor immuuntherapie geïnduceerde irAEs. Vervolgens verleggen we onze focus in **hoofdstuk 8** naar immuuntherapie geïnduceerde neurotoxiciteit, aangezien deze toxiciteit meestal ernstig en onomkeerbaar is. Het is daarom extra van belang om patiënten te identificeren die een vergrote kans hebben op het ontwikkelen van neurotoxiciteit als gevolg van immuun checkpoint remmers. We onderzoeken of een eerdere infectie met neurotrope bacteriën en virussen patiënten predisponeert om immuuntherapie geïnduceerde neurotoxiciteit te ontwikkelen. In deze studie laten we zien dat er geen verband is tussen een eerdere neurotrope infectie en de ontwikkeling van neurologische irAEs. Grondige vervolgstudies naar een mogelijke immunologische kruisreactiviteit zullen meer inzicht moeten geven of dit (een van) de onderliggende

oorzaken is van neurotoxiciteit als gevolg van therapie met immuun checkpoint remmers.

In het laatste hoofdstuk vat ik het onderzoek van dit proefschrift samen. In **hoofdstuk 9** bespreek ik de implicaties van het werk in dit proefschrift voor het veld van immunotherapie, zet ik de resultaten in context en deel ik mijn mening over de huidige uitdagingen die er zijn om de effectiviteit van immuun checkpoint remmers therapie te verbeteren.

Het werk in dit proefschrift biedt nieuwe inzichten die bijdragen aan het verbeteren van de respons op immuun checkpoint remmers therapie bij melanoom. We demonstreren de belofte van neoadjuvante immuun checkpoint remmer therapie. Vervolgens analyseren we verschillende cohorten van melanoom patiënten. Dit resulteert in de identificatie van verschillende markers die verband houden met de prognose. Deze markers kunnen mogelijk een doelwit zijn voor nieuwe therapieën en zouden de basis kunnen vormen voor nieuwe rationele combinatie therapieën met als uiteindelijk doel de werkzaamheid van immunotherapie te vergroten. Voor dit doel voeren we een screen uit dat gebruik maakt van herbruikbare geneesmiddelen die de kruispresentatie van tumorantigenen bevorderen. Samenvattend, het werk in dit proefschrift vergroot ons begrip van factoren die de werkzaamheid en toxiciteit van immuun checkpoint remmers therapie bepalen, met als doel nieuwe strategieën te bepalen om de prognose van melanoompatiënten op een rationele en persoonsgebonden manier te verbeteren.

A

Referenties

1. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(16):1535-46.
2. Luke JJ, Callahan MK, Postow MA, Romano E, Ramaiya N, Bluth M, et al. Clinical activity of ipilimumab for metastatic uveal melanoma: a retrospective review of the Dana-Farber Cancer Institute, Massachusetts General Hospital, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, and University Hospital of Lausanne experience. *Cancer*. 2013;119(20):3687-95.
3. Kelderman S, van der Kooij MK, van den Eertwegh AJ, Soetekouw PM, Jansen RL, van den Brom RR, et al. Ipilimumab in pretreated metastatic uveal melanoma patients. Results of the Dutch Working group on Immunotherapy of Oncology (WIN-O). *Acta Oncologica*. 2013;52(8):1786-8.
4. Maio M, Danielli R, Chiarion-Sileni V, Pigozzo J, Parmiani G, Ridolfi R, et al. Efficacy and safety of ipilimumab in patients with pre-treated, uveal melanoma. *Annals of Oncology*. 2013;24(11):2911-5.