

VU Research Portal

Application of TLR agonists in cancer immunotherapy: from late to early, from systemic to local

Koster, B.D.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Koster, B. D. (2020). *Application of TLR agonists in cancer immunotherapy: from late to early, from systemic to local*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse samenvatting

Ons immuunsysteem kan ons beschermen tegen ziekteverwekkers van buiten het lichaam, bijvoorbeeld bacteriën, schimmels en virussen, maar ook tegen ziekten die binnen ons lichaam ontstaan, zoals kanker. Er is hierbij sprake van een ingewikkelde balans tussen aan de ene kant ontsteking, de reactie van ons lichaam om ziekteverwekkers te elimineren, en aan de andere kant de remming van ontsteking, wat ervoor moet zorgen dat ons immuunsysteem niet onze gezonde cellen aanvalt (zoals bij auto-immuunziekten) of ontsteking veroorzaakt op ongevaarlijke stoffen van buiten het lichaam (allergie). Naast de mechanische barrière van de huid en onze slijmvliezen zijn onze witte bloedcellen (ook wel immuuncellen) essentieel voor het in stand houden van de hierboven genoemde balans. Dit zijn ook de cellen die men probeert aan te zwengelen of juist af te remmen als wij het over immunotherapie bij kanker hebben.

Immuuncellen zijn in staat om kanker aan te vallen en op te ruimen. Vermoedelijk worden dagelijks in ons lichaam cellen opgeruimd die mutaties hebben opgelopen in het DNA. Een mutatie is een 'foutje' in het DNA dat kan optreden tijdens de celdeling of door invloeden van buitenaf zoals sigarettenrook of UV-straling. Immuuncellen kunnen deze afwijkende cellen herkennen en aanvallen. Echter, dit gaat niet in alle gevallen goed. Sommige cellen met DNA-mutaties krijgen de mogelijkheid om te delen waardoor er steeds meer cellen zijn met deze mutatie in het DNA. Verreweg de meeste mutaties zullen nooit tot kanker leiden maar als door deze mutaties processen worden verstoord die de celgroei controleren kan er tumorgroei optreden. Als de cellen in deze tumor vervolgens (door nieuwe mutaties en daarmee gepaard gaande onderdrukking van het afweersysteem) andere structuren in het lichaam binnen groeien en/of zich via de bloed en/of lymfebanen kunnen verspreiden spreken we over kanker.

Er zijn veel verschillende soorten immuuncellen die onder te verdelen zijn in verschillende groepen. Binnen deze groepen worden nog steeds subgroepen ontdekt met weer een eigen gespecialiseerde functie. De belangrijkste cellen die in dit proefschrift beschreven zijn, zijn zogenaamde dendritische cellen (DC) en T-cellen. DC zijn verantwoordelijk voor het 'scannen' van onze lichaamsweefsels, op zoek naar gemuteerde of geïnfecteerde cellen. Als een DC zo een afwijkende cel heeft gevonden en geactiveerd wordt door zogenaamde gevaar signalen (b.v. weefselschade of cellulaire stress, beide vaak aanwezig in groeiende tumoren) neemt hij het afwijkende eiwit waarvan een deel aan het celoppervlak van deze cel wordt gepresenteerd (het zogenaamde antigeen) mee naar de lymfe klieren waar het contact met T-cellen plaatsvindt. De DC presenteert het antigeen en instrueert daarbij de T-cel om de cellen met zo'n antigeen aan te vallen of juist met rust te laten. De antigeen specifieke T-cellen die de opdracht krijgen om de afwijkende cellen aan te vallen kunnen zich in korte tijd vermenigvuldigen en via de bloedbaan bij de afwijkende cellen aankomen om deze vervolgens te doden.

Toch zijn er meerdere omstandigheden waardoor het herkennen en aanvallen van een cel met gemuteerd DNA, en uiteindelijk de tumor, door immuuncellen soms niet goed gaat. Zo kan het zijn dat de immuuncellen niet actief genoeg zijn, niet goed bij de tumorcellen kunnen komen en/of dat de tumorcellen niet herkend worden door de immuuncellen. Tumorcellen kunnen dit soms ook in de hand werken door bijvoorbeeld hun eigen afwijkende eiwitten niet te laten zien op hun celoppervlak en door stoffen uit te scheiden die de immuuncellen kunnen onderdrukken en inactiveren. In **hoofdstuk 4 en 5** van dit proefschrift laten wij zien dat ook melanomen heel erg goed zijn in het onderdrukken van bepaalde DC populaties, zowel in de huid waar de melanomen ontstaan en groeien, als in de lymfeklieren die de plek van het melanoom draineren en waar de activering van de T-cellen plaats zou moeten vinden.

Gelukkig zijn er heel veel stoffen bekend die het immuunsysteem juist kunnen stimuleren. Al in 1893 liet dr. William Coley zien dat tumoren soms konden verdwijnen als hij er bacteriën in spoot. Hij formuleerde de hypothese dat de immunoreactie die de bacteriën veroorzaakten in die gevallen tot een succesvolle afweer tegen de tumor hadden geleid. Bacteriën kunnen een

flinke reactie van de immuuncellen opwekken maar het risico is natuurlijk een gevaarlijke infectie. Het tuberculosevaccin Bacillus Calmette-Guérin (BCG) is een verzwakte vorm van de tuberculosebacterie die geen tuberculose veroorzaakt maar wel een immuunreactie. In vroege vormen van blaaskanker wordt al tientallen jaren gewerkt met zogenaamde BCG-blaasspoelingen die in staat zijn om een dussdanige immuunreactie te veroorzaken dat de kanker wordt geëlimineerd. BCG kan ook onder de huid geïnjecteerd worden samen met verzwakte, bestraalde kankercellen uit de patiënt zelf. De bestraling zorgt ervoor dat de kankercellen niet uit kunnen uitgroeien tot een nieuwe tumor maar dat ze wel beter herkend worden door de immuuncellen. BCG zorgt er (samen met nog andere stoffen die bij deze vorm van immunotherapie gebruikt worden) voor dat deze immuuncellen geactiveerd worden en T-cellen aanzetten die tegen de kanker kunnen vechten die zich ook op andere plekken in het lichaam bevindt. Deze vorm van immunotherapie heet ook wel “active specific immunotherapy”. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift laten wij zien dat dit goede resultaten opleverde bij 15 patiënten met uitgezaaide nierkanker en dat één van deze patiënten na de behandeling zelfs genezen was.

Echter BCG kan vervelende zweren op de huid veroorzaken en om deze reden hebben wij dit dan ook niet gebruikt in de studie die is beschreven in **hoofdstuk 2**. In plaats van BCG hebben wij gebruik gemaakt van CpG-B. CpG-B is een synthetisch stukje DNA wat lijkt op DNA van bacteriën. Hierdoor wekt het een soortgelijke reactie op in het lichaam zonder de zweren die te zien waren bij de BCG-injecties. CpG-B is een zogenaamde toll-like receptor (TLR) agonist. Dit betekent dat het immuuncellen kan activeren door het binden aan TLR's die op en in de cellen van het immuunsysteem aanwezig zijn. Er zijn 9 verschillende immuun activerende TLR's beschreven in de mens die al vroeg in de evolutie gevormd zijn om ons te beschermen tegen virussen, schimmels, bacteriën en parasieten. TLR-agonisten zijn in het verleden al vaak getest bij de behandeling van kanker maar weinig van deze experimentele behandelingen hebben uiteindelijk geleid tot de ontwikkeling van nieuwe medicijnen. Uitzondering hierop zijn de zogenaamde lokale toepassingen waarbij de TLR-agonisten (zoals ook BCG bij blaaskanker) in een vroeg stadium van de kanker, lokaal wordt toegediend. Een voorbeeld hiervan is het smeren van een crème (imiquimod, een TLR7/8 agonistische binder) bij bepaalde vormen van huidkanker (niet bij melanomen). In uitgezaaide kanker bleek het vaak

niet krachtig genoeg om de patiënten effectief te kunnen behandelen waardoor de ontwikkeling van veel van deze TLR-agonisten is stopgezet. Sinds de huidige successen van andere vormen van immunotherapie is er echter weer veel interesse in de TLR-agonisten. Zij kunnen namelijk in combinatie elkaar versterken.

In een poging de onderdrukking van de immuuncellen door tumorcellen ongedaan te maken en deze juist te activeren, hebben wij in ons laboratorium verschillende TLR-agonisten getest. In **hoofdstuk 3** van dit proefschrift laten wij zien dat wij immuuncellen uit lymfeklieren met uitzaaiingen van baarmoederhalskanker kunnen stimuleren door toevoeging van TLR-agonisten. Ook in klinische studies hebben wij laten zien dat het in de huid toedienen van CpG-B leidt tot vermenigvuldiging en activatie van immuuncellen in de lymfeklieren en in de huid zelf, rond de plaats van de injectie. Dit is onder andere beschreven in **hoofdstuk 6 en 7** van dit proefschrift. In **hoofdstuk 8** hebben wij zelfs laten zien dat de kans dat een melanoom terugkomt na chirurgische verwijdering, een stuk kleiner is na toediening van CpG-B op een plek van de huid, waar eens de moedervlek zat die kwaadaardig bleek. In de daarop in eerste lijn drainerende lymfeklier, de zogenaamde schildwachtklier, hebben we aangetoond dat de DC en melanoom-herkende T-cellen in aantal toenamen en geactiveerd werden door de CpG-B. Deze behandeling is veilig (behalve tijdelijke griepachtige verschijnselen en roodheid op de injectieplaats zagen we geen bijwerkingen) en kan dus mogelijke terugkeer en uitzaaiing van de tumor voorkomen. Dit kan potentieel vele mensenlevens redden en ook de bijwerkingen van eventuele zwaardere behandelingen, die bij terugkeer van de tumor nodig zijn, voorkomen. Omdat we deze uitkomsten in een groep van 'slechts' 52 patiënten beschreven hebben vindt op dit moment een grotere studie met 214 patiënten plaats waarin zij gerandomiseerd of een placebo of CpG-B op de plek waar eens de primaire tumor zat krijgen geïnjecteerd. Als wij dan weer dezelfde uitkomsten zien, zijn wij dicht bij een nieuwe behandeling voor deze groep patiënten die op dit moment niets anders kunnen doen dan afwachten of hun tumor terugkomt na chirurgische verwijdering.

Wij verwachten dat er in de toekomst nog meer applicaties bijkomen voor TLR-agonisten bij verschillende soorten kanker. Zowel bij kanker in een vroeg stadium, waarbij het lokaal kan

worden toegediend, als bij kanker in een later stadium waarbij het gecombineerd zal worden met andere vormen van immunotherapie. In **hoofdstuk 10** gaan wij hier verder op in. Eén van de combinaties die wij zelf getest hebben is die van CpG-B met Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF), een groeifactor die de aanmaak van bepaalde immuuncellen in het beenmerg kan versterken en DC verder activeert, zoals beschreven in **hoofdstuk 7**. In **hoofdstuk 9** laten wij zien dat de twee middelen elkaar kunnen versterken maar dat er bij verschillende patiëntengroepen misschien wel verschillende resultaten te verwachten zijn. Dit laat zien dat de behandeling van kanker met immunotherapie veel baat kan hebben bij het combineren van verschillende behandelingen maar dat er nog veel onderzoek nodig is om uit te zoeken voor wie welke combinatie het beste werkt. Dit kan in de toekomst leiden tot op maat gesneden immuuntherapieën, die, mits in een vroeg genoeg stadium toegediend, kunnen voorkomen dat tumoren zullen terugkeren en zich verder verspreiden.