

VU Research Portal

Radiotherapy and angiogenesis inhibition: From bench to bedside

Kleibeuker, E.A.

2016

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Kleibeuker, E. A. (2016). *Radiotherapy and angiogenesis inhibition: From bench to bedside*.

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

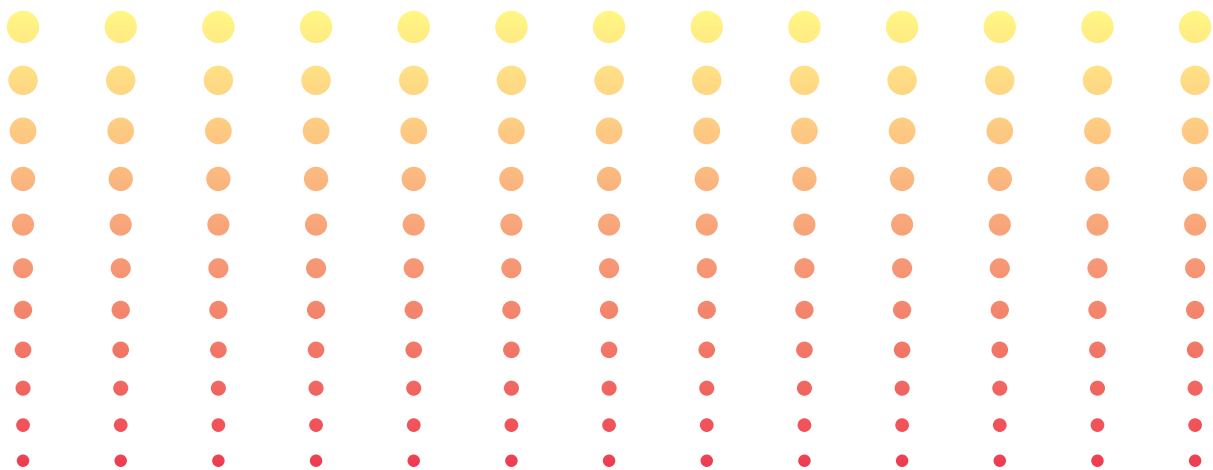
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Nederlandse samenvatting

Radiotherapie en remming van angiogenese:
van de pipet naar de patiënt



Nederlandse samenvatting

Al meer dan 100 jaar lang wordt radiotherapie (RTx) gebruikt voor de behandeling van kanker. Tegenwoordig wordt meer dan de helft van de kankerpatiënten behandeld met RTx wat het een van de meest gebruikte behandelingsmogelijkheden binnen de oncologie maakt. RTx maakt gebruik van ioniserende straling die DNA schade veroorzaakt. Snel groeiende tumorcellen zijn niet in staat die schade voldoende te repareren waardoor ze dood gaan. Radiotherapie kan eenmalig worden gegeven en dat gebeurt meestal in de palliatieve setting. Bij curatieve behandeling wordt RTx gegeven in meerdere fracties met een lage dosis, zogenaamd gefractioneerde RTx. Wetenschappelijk onderzoek en technische ontwikkelingen hebben ertoe geleid dat de straling steeds preciezer op het tumorweefsel gericht kan worden. Hierdoor kan er een hogere dosis gegeven worden terwijl het omliggende gezonde weefsel beter gespaard wordt. Daarnaast zijn er medicijnen ontwikkeld die de tumor gevoeliger maken voor RTx. Beide hebben de effectiviteit van RTx verbeterd en de bijwerkingen verminderd.

De DNA schade die RTx induceert wordt nog altijd gezien als het belangrijkste anti-tumor effect. Daarnaast wordt steeds meer bekend over de effecten die RTx heeft op de micro-omgeving van de tumor, bestaande uit o.a. immuuncellen en bloedvaten. Dit heeft ertoe geleid dat het ingrijpen op bloedvaten wordt gezien als een therapeutische mogelijkheid om de effecten van RTx te versterken. Bloedvaten zijn essentieel voor de toevoer van zuurstof en voedingsstoffen naar de tumorcellen. Tumoren stimuleren de aanmaak van nieuwe bloedvaten uit bestaande haarvaatjes. Dit heet angiogenese. Angiogenese is een kenmerkende eigenschap van kanker en er zijn verschillende medicijnen ontwikkeld om dit proces te blokkeren en daarmee tumorgroei te remmen. Hoewel het klinische effect van deze angiogenese-remmers tot op heden vaak beperkt is, zouden ze mogelijk wel de effectiviteit van RTx kunnen verhogen. De mechanismen die ten grondslag liggen aan deze combinatietherapie zijn nog nauwelijks bekend. Het doel van het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven was tweeledig. Het eerste doel was om de effecten van RTx op tumor angiogenese te bestuderen. Het tweede doel was om de effectiviteit van verschillende behandelingschema's van de combinatie van angiogenese-remmers en RTx te bestuderen.

In **hoofdstuk 1** wordt een overzicht gegeven van de wetenschappelijke literatuur op het gebied van de combinatiebehandeling met RTx en angiogenese-remmers. Preklinische studies laten duidelijke vertraging van tumorgroei zien maar de vertaling naar de kliniek blijkt een uitdaging. Terwijl sommige fase I/II studies een bemoedigende respons laten zien, zijn er bij andere studies extra toxiciteiten zonder betere effecten op de tumor. De verschillen tussen de preklinische en klinische resultaten worden mogelijk veroorzaakt door verschillen in dosering en behandelingschema's. Omdat de combinatietherapie in patiënten tot zeldzame maar ernstige bijwerkingen kan leiden adviseren wij dat preklinisch onderzoek zich richt op het optimaliseren van dosering en behandelingschema's om zo de effectiviteit te vergroten en de bijwerkingen te verminderen. Tevens is het van belang dat niet-invasieve methodes worden ontwikkeld en gevalideerd om de doorbloeding en zuurstofvoorziening van tumoren in kaart te brengen, zowel voor en tijdens RTx. Dit zal tot betere inzichten leiden met betrekking tot

het bepalen wanneer het beste de angiogenese-remmer gegeven kan worden. In **hoofdstuk 2** worden de belangrijkste doelstelling van het onderzoek beschreven.

Om de effecten van verschillende behandelingen op angiogenese en tumorgroei te onderzoeken, hebben wij verscheidene *in vitro* en *in vivo* proefopzetten gebruikt, welke worden beschreven in **hoofdstuk 3**. Als *in vivo* model is gebruik gemaakt van de chorioallantoïc membrane (CAM). De CAM vormt de vruchtzak van een kippenembryo waar tijdens de embryogenese veel angiogenese plaatsvindt. Deze groei van bloedvaten is relatief eenvoudig te volgen en kan tegelijkertijd onderworpen worden aan verschillende anti-angiogene behandelingen. Tevens kan het effect van bestraling in combinatie met angiogenese-remmers in de CAM bestudeerd worden. Ook is het mogelijk om humane tumorcellen op de CAM te laten groeien, waardoor het een goedkoop en eenvoudig te herhalen *in vivo* tumor model wordt.

Voor het onderzoek naar interactie tussen RTx en angiogenese-remmers is het anti-angiogene medicijn sunitinib gebruikt. Dit is een tyrosine kinase remmer gericht tegen verschillende receptoren die betrokken zijn bij angiogenese. Sunitinib is op dit moment goedgekeurd voor de behandeling van gemetastaseerde niercelkanker, gastrointestinale stroma tumoren en neuro-endocriene tumoren van de alvleesklier. In **hoofdstuk 4** hebben we de huidige kennis over de combinatie van RTx met sunitinib geëvalueerd. Sommige klinische studies laten bemoedigende effecten zien maar het blijkt een uitdaging te zijn om de optimale behandelingschema's met de juiste dosering te vinden. Verscheidene (pre)klinische studies suggereren dat vooral sunitinib na RTx het anti-tumor effect verbetert. Dit kwam ook in ons onderzoek naar voren als het optimale behandelingschema. Zoals beschreven in **hoofdstuk 5** hebben we de effecten van een enkele dosis RTx (4 Gy) in combinatie met sunitinib bestudeerd in de CAM. Beide behandelingen remden angiogenese, maar de combinatiebehandeling had een nog groter effect. De toepassing van verschillende behandelingschema's op HT29 tumoren (humaan colorectaal adenocarcinoom) op de CAM liet zien dat precieze behandelingschema's zeer belangrijk zijn. Als RTx gegeven werd na 4 dagen sunitinib was er geen extra effect op de tumorgroei. Extra remming van de tumorgroei was wel meetbaar als RTx werd gegeven voorafgaand aan 4 dagen sunitinib. Een belangrijke bevinding was tevens dat bij combinatietherapie de dosering van sunitinib met 50% verlaagd kon worden zonder dat het effect op tumorgroei verminderd werd. Dit is belangrijk voor de klinische toepassing omdat een lagere dosis sunitinib tot minder toxiciteit bij patiënten zou kunnen leiden.

Om onze bevindingen beter te kunnen relateren aan klinische behandelingschema's vervolgden we het onderzoek met de combinatie van sunitinib en gefractioneerde RTx. In **hoofdstuk 6** staat beschreven hoe HT29 tumoren in muizen behandeld werden met lage dosis sunitinib in combinatie met enkele dosis RTx of gefractioneerde RTx. Behandeling met alleen lage dosis sunitinib had geen effect op tumorgroei terwijl het wel het effect van zowel enkele dosis als gefractioneerde RTx vergrootte. De tumorcellen werden dus door RTx gevoelig gemaakt voor lage dosis sunitinib. Om het mechanisme van deze observatie te bestuderen, werd het effect van RTx op tumor doorbloeding en angiogenese onderzocht. Hieruit bleek dat RTx tumor doorbloeding stimuleert en dat het hypoxie (zuurstoftekort) vermindert. Tevens observeerden wij hergroei van kankercellen in het hypoxische centrum van de tumor. Lage

dosis sunitinib na RTx ging deze effecten tegen.

Om deze bevinden te kunnen vertalen naar de patiënt hebben we een klinische pilot studie opgezet om de effecten van gefractioneerde RTx op tumor-angiogenese te onderzoeken. In deze studie wordt bij patiënten met slokdarmkanker die vooraf aan chirurgie behandeld worden met chemoradiatie, een extra tumorbiopsie afgenomen tijdens de chemoradiatie. Het eerste doel is om te identificeren óf en wanneer er een pro-angiogene reactie tijdens behandeling optreedt. Als dit is bepaald is het tweede doel een lage dosis angiogeneseremmer bevacizumab toe te dienen. Het effect hiervan op tumor-angiogenese en activatie van de VEGF-receptor zal gemeten worden. Hoewel patiënten op dit moment nog geïncubeerd worden, presenteren we de eerste resultaten in **hoofdstuk 7**.

De resultaten van het onderzoek naar veranderingen in genexpressie en activatie van signaaltransductie in de tumor tijdens RTx wordt beschreven in **hoofdstuk 8**. Uitvoerige mRNA sequencing analyses en micro-array genexpressie-analyses werden uitgevoerd op *in vitro* bestraalde HT29 cellen evenals op *in vivo* bestraalde HT29 tumoren. Hieruit kwam naar voren dat signaaltransductie via type 1 interferon (IFN) het meest versterkt was tijdens RTx in tumor cellen. Verder onderzoek toonde aan dat het eiwit STING één van de belangrijkste activatoren van de IFN signaaltransductie is na RTx.

De bevindingen van het onderzoek beschreven in dit proefschrift worden bediscussieerd in **hoofdstuk 9**. Daarnaast worden belangrijke onderwerpen voor toekomstig onderzoek besproken.

Samenvattend wordt in dit proefschrift het onderzoek beschreven dat inzicht geeft in de effecten van RTx op tumor angiogenese en de combinatiebehandeling van RTx en angiogeneseremmers. We hebben aangetoond dat RTx een pro-angiogene reactie in de tumor veroorzaakt en tumordoorbloeding bevordert. Lage dosis angiogeneseremming na RTx kan dit proces tegengaan, wat tevens leidt tot een beter anti-tumor effect. Om te onderzoeken of deze bevinden ook gelden voor patiënten zijn we een klinische pilot studie gestart.