

Nederlandse Samenvatting

Melanoom van de huid (moedervlekkanker) is een zeer agressieve en steeds vaker vóórkomende vorm van huidkanker, waarbij uitzaaing al in een vroeg stadium van de ziekte plaatsvindt. De afgelopen decennia is het vóórkomen van melanoom fors gestegen. Gelukkig wordt het melanoom steeds vaker in een relatief vroeg stadium herkend en behandeld, waardoor de sterfte in mindere mate is toegenomen. De levensverwachting van patiënten met een melanoom wordt vooral bepaald door eventuele metastasering (tumoruitzaaiing), omdat de behandelingsmogelijkheden in dit stadium beperkt zijn. Vroege diagnostiek en behandeling van het melanoom zijn dus van groot belang voor de prognose van melanoompatiënten.

De diagnose melanoom kan pas worden gesteld na het nemen van een diagnostisch biopt. Het geldende advies is om gepigmenteerde huidafwijkingen verdacht voor melanoom te verwijderen door middel van een radicale excisie biopsie met een minimale tumorvrije marge van 2 mm. In de praktijk worden er echter ook krap-radical excisies (tumorvrije marge < 2 mm), niet-radical excisies en stans-/ incisiebiopten genomen. De invloed van zowel het type diagnostische biopsie als de aanwezigheid van tumorcellen in het re-excisiepreparaat op de overleving van melanoompatiënten wordt onderzocht in **hoofdstuk 2**. Daarin wordt beschreven dat beide niet van invloed te zijn op de overleving van melanoompatiënten. Toch blijft het belangrijk om de gehele tumor in één keer te verwijderen.

Sinds een aantal jaren is er een procedure waarbij de eerste tumor-drainerende lymfeklier in het regionale lymfeklierstation geïdentificeerd en vervolgens geëxicideerd (uitgesneden) wordt. Deze klier wordt ook wel de schildwachtklier (SWK) genoemd. Wanneer de SWK positief bevonden wordt door de patholoog, dat wil zeggen dat er tumorcellen in de lymfeklier aanwezig zijn, dan komt de patiënt in aanmerking voor een regionale lymfeklierdissectie. Dit komt in ongeveer 20% van alle stadium I/II melanoompatiënten voor. Dat tumorcellen de kans krijgen om te metastaseren komt vermoedelijk mede voort uit het feit dat het immuunsysteem van de patiënt de tumor-geassocieerde antigenen niet als voldoende "lichaamsvreemd" en gevaarlijk beschouwt; er bestaat immunologische tolerantie.

Het principe van immuuntherapie is dan ook om het immuunsysteem van de patiënt te activeren tegen de tumor. De belangrijkste afweercellen hierbij zijn de zogenaamde dendritische cel (DC) en de T-cel. DC kunnen lokaal tumoreiwitten opnemen uit het tumorweefsel en vervolgens naar de drainerende lymfeklier migreren. Als de DC voldoende geactiveerd raken, kunnen zij hier de tumoreiwitten aanbieden aan een groot aantal T-cellen dat constant recirculeert door het bloed en de lymfebanen. Na herkenning van de tumoreiwitten, kunnen de geactiveerde tumor-specifieke T-cellen vervolgens naar de tumor migreren en daar de tumorcellen selectief doden. DC spelen zo een cruciale rol in het starten van een succesvolle immuunrespons tegen de tumor. Helaas scheiden melanomen suppressieve stoffen af die DC kunnen remmen in hun activatie en functioneren. De plek waar de eerste afweercellen geactiveerd moeten worden, is wrang genoeg ook de plek waar deze tumor-geïnduceerde immuunsuppressie het eerst en het hardst toeslaat: de SWK. Zo wordt het immuunsysteem ondermijnd en kan metastasering optreden. Dit proefschrift laat zien dat het mogelijk is om het immunologisch functioneren van de SWK te stimuleren door middel van het injecteren van immuunstimulerende stoffen (Granulocyte/Macrophage-Colony Stimulating Factor [GM-CSF] en PF-3512676) op de plek van het primaire melanoom.

In de eerste klinische studie beschreven in dit proefschrift kregen 12 melanoompatiënten GM-CSF of fysiologisch zout toegediend door middel van een intracutane injectie rond de primaire tumorplaats. GM-CSF staat bekend als een DC activerende stof. In de SWK van de met GM-CSF behandelde patiëntenpopulatie werd niet alleen een significante toename van het aantal DC in de SWK gevonden, maar de aanwezige DC waren ook beter van kwaliteit (meer gedifferentieerd en geactiveerd) en dus theoretisch ook beter in staat om T-cellen tot een specifieke anti-tumorrespons aan te zetten; zie **hoofdstuk 3**. Het aantal melanoom-specifieke T-cellen in de SWK van de met GM-CSF of fysiologisch zout behandelde patiëntenpopulatie werd getest, zoals beschreven in **hoofdstuk 4**, en er werd inderdaad een significant verband gevonden tussen het aantal DC in de SWK en de aanwezigheid van melanoom-specifieke T-cellen. Samen laten de resultaten beschreven in **hoofdstukken 3 en 4** zien dat het lokaal toedienen van GM-CSF

de kans op een effectieve immuunrespons tegen melanoom verhoogt en dus mogelijk bescherming biedt tegen het ontstaan van (micro-)metastasen. Verder hebben we in **hoofdstuk 5** het aantal en de activatie staat van DC in de huid vergeleken met de DC in de corresponderende SWK voor zowel de fysiologisch zout als GM-CSF toegediende patiëntenpopulatie. Terwijl de DC in de huid ingespoten met fysiologisch zout in een rustende staat verkeerden waren de DC in de GM-CSF ingespoten huid geactiveerd en toegenomen in aantal, wat exact correleerde met de gevonden aantallen in de SWK.

GM-CSF is vooral van invloed op de vroegst beschreven, klassieke myeloïde DC maar er bestaat nog een belangrijke groep DC, namelijk de meer recent geïdentificeerde plasmacytoïde DC. Ook plasmacytoïde DC komen voor in de SWK en zodra ze geactiveerd raken geven ze grote hoeveelheden van de stof IFN α af, wat direct melanoom-specifieke T-cellen kan activeren. Daarnaast heeft IFN α een maturerend effect op nabij gelegen myeloïde DC en kan op deze manier dus ook indirect melanoom-specifieke T-cellen activeren. Bacterieel verkregen ongemethyleerd CpG, zoals PF-3512676, bindt en activeert plasmacytoïde DC.

In de tweede klinische studie werd het effect van PF-3512676 op de verschillende DC en T-cel subgroepen van de SWK bestudeerd. Vierentwintig patiënten met klinisch stadium I/II melanoom werden gerandomiseerd voor preoperatieve toediening van PF-3512676 (n=11) of fysiologisch zout (n=13), beide werden een week preoperatief toegediend door middel van een intracutane injectie rond de primaire tumorplaats. Zoals in **hoofdstuk 6** staat beschreven werd PF-3512676 door alle melanoompatiënten goed verdragen. De SWK van de met PF-3512676 behandelde patiëntenpopulatie was significant groter en zowel de plasmacytoïde DC als de myeloïde DC waren beter gedifferentieerd en geactiveerd. Verder werden er significant minder regulatoire T-cellen gevonden in de PF-3512676 behandelde patiëntenpopulatie. Dit is belangrijk omdat het hebben van veel immuunsuppressieve, regulatoire T-cellen bij kankerpatiënten voorspellend is voor een slechte prognose. Het immunstimulerende effect van PF-3512676 werd ook terug gezien in een significante toename van het aantal melanoom-specifieke T-cellen. Opvallend genoeg werden er niet

alleen meer melanoom-specifieke T-cellen gevonden in de SWK, maar ook in het bloed van de met PF-35312676 behandelde patiëntenpopulatie; zie **hoofdstuk 7**. Daarnaast was ook het aantal NK (natural killer) cellen in de SWK van de met PF-3512676 behandelde patiëntenpopulatie significant toegenomen. NK cellen maken deel uit van het niet-specifieke (of aangeboren) afweersysteem dat een eerstelijns defensie vormt tegen bijvoorbeeld tumoren en virale infecties. Samen tonen de resultaten beschreven in **hoofdstuk 6 en 7** dat een eenmalige toediening van PF-3512676 zowel een niet-specifieke (of aangeboren) als een specifieke (of adaptieve) afweerrespons tegen tumorcellen in de SWK kan induceren en/of versterken. Bovendien werd de immuniteit niet alleen lokaal verbeterd in de SWK maar ook systemisch, door het toenemen van het aantal melanoom-specifieke T-cellen in het perifere bloed. Deze universeel toepasbare en laagdrempelige therapie biedt zo ook mogelijk bescherming tegen tumoruitzaaiingen op afstand.

Of het lokaal injecteren van immuunstimulerende middelen zoals GM-CSF en PF-3512676 uiteindelijk leidt tot een verbeterde overleving van melanoompatiënten moet gaan blijken uit grote gerandomiseerde fase III studies. Tot die tijd blijft het belangrijk om in kleinere studies verschillende middelen - alleen of in combinatie - te testen op hun immuunstimulerend vermogen: een zoektocht naar de meest potente cocktail.