

VU Research Portal

Improving oncolytic viral therapy for glioma

Idema, S.

2011

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Idema, S. (2011). *Improving oncolytic viral therapy for glioma*.

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

CHAPTER 9

NEDERLANDSE SAMENVATTING

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Een kwaadaardige hersentumor, en dan vooral het Glioblastoma Multiforme (GBM), is een verschrikkelijke vorm van kanker die in Nederland bij ongeveer 300 mensen per jaar wordt ontdekt. Het is een tumor die niet uitzaait naar andere organen maar desondanks overleven mensen die eraan lijden vaak niet langer dan een jaar. De reden hiervan is dat de tumorcellen niet alleen te snel delen en zo de hersenen in de verdrinking brengen, maar tegelijk de hersenen infiltreren tot op plaatsen die niet te zien zijn met behulp van beeldvormende technieken zoals de MRI scan. Deze geïnfiltreerde tumorcellen verschuilen zich tijdelijk tussen normaal hersenweefsel en zijn daar onbereikbaar voor de neurochirurg en niet gevoelig voor radiotherapie of chemotherapie met Temozolomide, de standaard behandeling op dit moment. Nadat de zichtbare tumor dan is behandeld groeien deze cellen vrijwel altijd uit tot nieuwe tumoren die niet meer geopereerd kunnen worden zonder kans op onaanvaardbare neurologische uitval.

Kanker ontstaat omdat cellen door genetische afwijkingen ongeremd delen en niet meer reageren op de signalen die een dergelijke losgeslagen cel normaal zouden moeten aanzetten tot zelfmoord, apoptose. Het aantal genen en eiwitten dat een bijdrage levert aan deze ontregelde celdeling is immens en er worden er steeds meer ontdekt. Al deze eiwitten activeren of deactiveren elkaar in complexe interacties en vormen zo ketens, pathways, die uiteindelijk leiden tot celdeling of apoptose. belangrijke pathways die voorkomen in dit proefschrift zijn die waarin de eiwitten p53 en Rb een rol spelen.

Adenovirussen zijn verkoudheidsvirussen. Virussen zijn kleine stukjes genetisch materiaal, DNA of RNA, omringd door een kapsel om dit materiaal te beschermen en uitstekende eiwitten, receptoren, waarmee het cellen infecteert. Het "levensdoel" van het virus is de voortplanting, met indrukwekkende hoeveelheden. Dit gebeurt doordat het cellen infecteert en binnendringt, de machinerie van de cel kaapt om het eigen genetisch materiaal te kopiëren en nieuwe virusdeeltjes maakt waarna de cel barst en deze deeltjes vrijkomen om nieuwe cellen te infecteren. Per geïnfecteerde cel kunnen duizenden nieuwe viruspartikels vrijkomen en dit zorgt er voor dat een virusinfectie zich razendsnel, exponentieel, kan verspreiden. Als het virus op deze manier wordt ingezet tegen kankercellen wordt dit virotherapie genoemd, dit in tegenstelling tot genterapie waarbij het virus enkel wordt gebruikt om genetisch materiaal over te brengen.

DNA replicatie, ook nodig voor nieuwe virusdeeltjes, vindt in cellen plaats als de cel deelt en daarom is het virus veel efficiënter in delende cellen zoals tumorcellen. Als de cel niet deelt zal het virus de cel dan ook aanzetten tot deling. Het is gebleken dat door het weghalen van bepaalde delen van het virale genoom, dit virus niet meer in staat is de cel aan te zetten tot deling, en daarom kan dit virus alleen repliceren in cellen die van zichzelf al delen, tumorcellen. Dit soort gemodificeerde adenovirussen gebruiken wij om tumoren te behandelen.

Hoewel dit een veelbelovend concept is, is inmiddels wel gebleken dat er nog veel problemen te overwinnen zijn. De belangrijkste uitdagingen zijn het verbeteren van de kracht en selectiviteit van het virus, het in beeld brengen van de activiteit van het virus en het bepalen waar het virus terechtkomt na toediening bij patiënten met een hersentumor. In dit proefschrift wordt getracht voor deze problemen een oplossing te vinden.

Na de algemene introductie proberen wij in hoofdstuk 2 het effect van virotherapie te beoordelen met behulp van positron-emission tomography, PET. Hierbij wordt in dit geval gebruik gemaakt van radioactief gelabeld suiker om de metabole activiteit, het suikerverbruik, van cellen in beeld te brengen. We laten zien dat we hiermee de activiteit van het adenovirus kunnen beoordelen in kleine 3-dimensionale tumorkweken. De relevantie van dit hoofdstuk schuilt in het gegeven dat het belangrijk zal zijn de activiteit van het virus te kunnen beoordelen in de eerste twee weken na toediening, waarna de immuunrespons het virus in het algemeen opgeruimd zal hebben. De MRI is in deze periode niet zo geschikt omdat na een operatie het geopereerde gebied veel aspectieve afwijkingen laat zien. Het gebruikte gelabelde suiker (^{18}F -DG) zou vervangen kunnen worden door andere tracers, waarmee naar andere biologische eigenschappen van de interactie tussen het virus en de tumor gekeken kan worden.

in hoofdstuk 3 en 4 worden twee verschillende virussen gecombineerd met bestraling, de gebruikelijke behandeling van het GBM. Het virus dat wordt gebruikt in hoofdstuk 3, Ad Δ 24-p53, repliceert niet alleen selectief in tumorcellen die een mutatie hebben in de Rb pathway, maar brengt ook het eiwit p53 tot expressie dat apoptose induceert en in tumorcellen vaak ontbreekt. Hiernaast is p53 van belang bij de respons van tumoren op bestraling. We laten zien dat de expressie van p53 extra apoptose teweeg brengt in bestraalde glioomcellen vergeleken met het controle virus Ad Δ 24 en dat deze virussen als ze gecombineerd worden met bestraling in een subcutaan muizen tumormodel, waarbij een geïmplanteerde tumor onder de huid groeit, bijna alle tumoren bijna geheel doen verdwijnen, al komen er enkele later terug. Het lijkt dat dit effect zo sterk is dat een eventueel verschil tussen Ad Δ 24-p53 en Ad Δ 24, door de extra apoptose, in dit dierenexperiment niet meer waarneembaar is. In hoofdstuk 4 wordt een andere adenovirus variant gebruikt die op dezelfde manier selectief is maar hiernaast zo gemodificeerd is dat het voornamelijk bindt aan eiwitten die veel op tumorcellen voorkomen, integrines genaamd. Van dit virus, Ad-delta24-RGD, hadden wij al eerder laten zien dat het in een subcutaan model goed samenwerkt met bestraling. Bij het onderzoek in dit proefschrift hebben wij dit onderzoek uitgebreid en dit virus gecombineerd met straling in een intracranieel model, waarbij de tumor bij de muis groeit in het hoofd. Nu blijkt dat in dit model het virus en de bestraling elkaar niet meer versterken. Dit is belangrijke informatie omdat dit virus op dit moment wordt toegepast in een klinische studie waarbij patiënten met GBM behandeld worden. Deze resultaten hebben er onder

meer toe geleid dat in de huidige klinische studie Ad-delta24-RGD daarom niet met bestraling gecombineerd zal worden.

Waarom het combineren nu geen extra effect, synergie, oplevert, is niet bekend, maar het zou goed kunnen, en is inmiddels aangetoond, dat cellen in de hersenen op een volstrekt andere wijze groeien dan subcutaan. Ook is de immuunrespons, van groot belang bij virussen, in de hersenen anders dan in de rest van het lichaam. Tenslotte zou het zo kunnen zijn dat de bestraling in het subcutane model teveel gericht wordt op het beenmerg waar de immuuncellen gemaakt worden, terwijl die bij het intracranieële model op het hoofd gericht is. Dit zou ervoor kunnen zorgen dat de immuunrespons geremd wordt in het subcutane model waardoor het virus zich makkelijker kan verspreiden en dus effectiever kan zijn.

Een virus, al dan niet gecombineerd met bestraling, kan nog zo sterk zijn, als het niet bij de tumorcel komt, kan het die ook niet doden. De toediening van het adenovirus is dan ook erg belangrijk en een van de belangrijkste redenen dat tot nu toe virotherapie niet erg succesvol is geweest. In hoofdstuk 5 gebruiken wij een techniek, convection-enhanced delivery (CED) genaamd waarbij het geneesmiddel gedurende langere tijd onder lichte druk in het hersenweefsel wordt gepompt. Hierdoor ontstaat een vloeistofstroom tussen de cellen in het brein waarin het middel worden meegenomen en waardoor het in theorie grote afstanden kan overbruggen. Hoe ver de deeltjes daadwerkelijk komen wordt bepaald door vele factoren, maar belangrijk is dat bij succesvolle CED het volume waarover het virus zich verdeelt moet correleren met het volume dat wordt ingespoten, en niet met de dosis. Het is de vraag of dit ook opgaat voor virusdeeltjes, omdat deze een diameter hebben (70-110 nanometer, ongeveer 1/100 van een cel) die over het algemeen groter is dan de ruimte tussen de cellen in de hersenen (ongeveer 50 nanometer). Hierdoor zouden zij goed vast kunnen lopen tussen de cellen terwijl de infusievloeistof ongehinderd wegstroomt.

In dit hoofdstuk laten we zien dat in de witte stof in de hersenen waar de zenuwbanen lopen het virus zich verspreidt in verhouding tot het ingespoten volume, maar dat dit niet zo is in de grijze stof waar de zenuwcelkernen zich bevinden. Hier is de verspreiding van virus afhankelijk van de dosis. Het meest waarschijnlijk is dit te verklaren door de geometrie van beide gebieden. Terwijl de zenuwvezels makkelijk uit elkaar gedrukt kunnen worden om ruimte te maken voor de virusdeeltjes, zijn de celkernen innig met elkaar verbonden en is de ruimte hier te klein voor een actief transport van het virus door de vloeistofstroming.

In dit hoofdstuk laten wij ook zien dat kleine ijzerpartikels, in diameter vergelijkbaar met virusdeeltjes, zich op dezelfde manier verspreiden in het rattenbrein. Omdat deze deeltjes zichtbaar zijn op de MRI, kunnen zij gebruikt worden om te laten zien waar het virus zich bevindt als zij tegelijk zouden worden geïnjecteerd. Dit is een zeer belangrijk aspect van virotherapie, omdat toxiciteit het best voorkomen kan worden als bekend is waar het virus zich in de hersenen

bevindt. Inmiddels zijn er voldoende aanwijzingen dat virussen veilig met behulp van CED in de hersenen toegediend kunnen worden. Wel moet nog worden uitgezocht of ijzerdeeltjes gevaar op kunnen leveren voor de hersenen, omdat ijzer toxisch kan zijn voor zenuwcellen.

Hoofdstuk 6 is geboren uit het verlangen verschillende adenovirussen objectief met elkaar te kunnen vergelijken. Omdat de interactie tussen het virus en de populatie tumorcellen een dynamisch geheel is dat voortdurend verandert tijdens een experiment, is het niet moeilijk om uit de resultaten van een experiment de verkeerde conclusie te trekken als niet op de juiste manier naar de uitslag wordt gekeken. Met een wiskundige voorspelling van de virus-tumor interactie wordt de dynamiek in zijn geheel beoordeeld. Als dit model vervolgens als test kan worden gebruikt, kan zo een meer objectieve vergelijking van verschillende virussen plaatsvinden. In dit hoofdstuk hebben wij geprobeerd deze interactie op zo eenvoudig mogelijke wijze te modelleren zodat de resulterende formule dagelijks gebruikt zou kunnen worden. Hopelijk zal dit leiden tot een eerlijker vergelijking van verschillende virussen.

9

In hoofdstuk 7 kijken we naar een andere toekomst voor de toediening van adenovirussen aan patiënten, namelijk met behulp van stamcellen die uit vetweefsel gewonnen zijn. Deze cellen worden gebruikt als transportmiddel voor het virus omdat bekend is dat stamcellen de tumorcellen opzoeken, en zo het virus als in het paard van Troje bij de tumorcel kunnen afleveren. Deze studie laat zien dat deze theorie praktisch uitvoerbaar is maar dat hier veel haken en ogen aan kleven. De toekomst zal uit moeten wijzen of dit een geschikte toedieningsmethode zal blijken te zijn.

Virotherapie, en genterapie in het algemeen, hebben het niet makkelijk zich te vestigen als geaccepteerde behandelingen. Afgezien van de inhoud van dit proefschrift wordt in de discussie, hoofdstuk 8, dan ook de toekomst van de genterapie en virotherapie besproken. Er zijn goede en slechte periodes geweest. De hype van de beginperiode werd gevolgd door een periode waarin bleek dat het DNA veel ondoorgrondelijker is dan ooit voorgesteld. Het is de vraag of genterapie niet te gecompliceerd is, en juist teveel mogelijkheden biedt waardoor er niet één keuze gemaakt wordt maar steeds maar weer nieuwe virusvarianten worden ontworpen die het nooit tot een klinische studie redden. De focus zou moeten liggen bij het verrichten van klinische studies waarbij daadwerkelijk patiënten behandeld worden. Als er een duidelijke keuze gemaakt wordt en als andere complicerende factoren, zoals de problemen bij de toediening van het virus, verholpen worden kan virotherapie de belofte inlossen die het jaren geleden heeft gedaan; door gebruik te maken van de alsmaar toenemende kennis van onze genetische achtergrond patiënten genezen die anders zouden overlijden aan ziektes zoals het Glioblastoma Multiforme.

