

Vaccinatie tegen kanker met dendritische cellen

Gerty Schreibelt, Kalijn Bol, Jolanda de Vries

Samenvatting

Dendritische cel (DC)-vaccinatie tegen kanker is een experimentele vorm van immunotherapie, die als doel heeft het immuunsysteem te activeren om tumorcellen te herkennen en te vernietigen. Autologe DC's van patiënten worden buiten het lichaam gematureerd en beladen met tumorspecifieke antigenen, en vervolgens teruggegeven aan de patiënt. De therapie wordt in Nederland sinds eind jaren 90 van de vorige eeuw in studieverband toegepast, vooral bij melanoompatiënten. In deze kleinschalige studies is aangetoond dat DC-vaccinatie veilig is en antitumorresponsen kan induceren. Onlangs is begonnen met een prospectieve gerandomiseerde fase III-studie om klinische effectiviteit van DC-vaccinatie te onderzoeken.

Summary

Immunotherapy of cancer by dendritic cell (DC) vaccination aims to activate the immune system to recognize and kill tumor cells. Autologous DCs of patients are ex vivo matured and loaded with tumorspecific antigens and injected back into the patient. In the Netherlands, DC vaccination is studied since the late 1990s, mainly in melanoma patients. In these proof of principle studies, the safety and ability of DC vaccination to induce antitumor responses has been demonstrated. Recently, we started a prospective randomized phase III study to investigate the clinical efficacy of DC vaccination.

Introductie

Bij immunotherapie van kanker wordt het immuunsysteem van de patiënt geactiveerd om tumorcellen te herkennen en te vernietigen. Tumorcellen brengen unieke eiwitten – tumorantigenen - tot expressie, die door het immuunsysteem als 'vreemd' kunnen worden herkend. Het doel van immunotherapie is om het

afweersysteem zo te trainen dat de tumorantigenen worden herkend en de tumorcellen door het immuunsysteem worden vernietigd. Dendritische cel (DC)-vaccinatie is een vorm van immunotherapie met weinig bijwerkingen, die in Nederland in studieverband wordt toegepast.

Dendritische cellen (DC's) spelen een centrale rol in het opwekken van antigeenspecifieke immunoreacties. Ze scannen het lichaam op de aanwezigheid van afwijkende antigenen van bijvoorbeeld pathogenen of tumorcellen. DC's nemen afwijkende antigenen op om ze vervolgens in de lymfeklieren te presenteren aan cytotoxische T-cellen. Geactiveerde cytotoxische T-cellen gaan in het lichaam op zoek naar cellen die de afwijkende antigenen tot expressie brengen en zullen deze doden.

Vaccinatie met DC's

Het immuunsysteem speelt een belangrijke rol bij het tegengaan van kanker. Dit blijkt onder andere uit het feit dat kanker zich vaker ontwikkelt bij mensen met een verzwakt immuunsysteem. Bij mensen met kanker zijn de tumorcellen aan de controle van het immuunsysteem ontsnapt. Tijdens immunotherapie met DC's worden lichaamseigen DC's van een patiënt buiten het lichaam getraind om tumorcellen te herkennen. Om een grote hoeveelheid leukocyten te verkrijgen, ondergaan patiënten een leukafereze, waarbij leukocyten uit het bloed worden gefilterd met behulp van een centrifuge. Uit het afereproduct worden voorlopercellen van DC's,

Dr. G. Schreibelt, K.F. Bol, prof. J. de Vries, afdeling Tumor Immunologie, Radboudumc, Nijmegen.
Correspondentieadres: G. Schreibelt, Radboudumc, Huispost 278, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen, e-mail: Gerty.Schreibelt@radboudumc.nl.

monocyten, geïsoleerd, die in het laboratorium worden gedifferentieerd tot immature DC's. Sinds een aantal jaren is het ook mogelijk om immature DC's direct uit het afereseproduct te isoleren. De immature DC's worden gematureerd en beladen met tumorspecifieke antigenen, die op het oppervlak van de DC's worden gepresenteerd. Vervolgens ondergaat het DC-vaccin een aantal kwaliteitscontroles, waarbij wordt gecontroleerd of er geen contaminatie van andere celtypen is en of de DC's voldoende matuur zijn en in staat om T-cellen te activeren. Ook wordt getest of het DC-product steriel (getest in Fluid Thioglycollate Medium (FTM) en Tryptic Soya Broth (TSB) volgens Europese Farmacopee 2.6.1) en vrij van endotoxinen is (getest volgens Europese Farmacopee 2.6.14). Als de DC's voldoen aan alle kwaliteitseisen, worden ze aan de patiënt teruggegeven. De cellen worden intradermaal, intraveneus of direct intranodaal ingespoten. In de lymfeklier zullen de DC's cytotoxische T-cellen activeren, die na activatie de lymfeklier verlaten en in het lichaam op zoek gaan naar cellen die de tumorspecifieke antigenen tot expressie brengen, om deze tumorcellen vervolgens te doden.

Toepassing in Nederland

DC-vaccinatie wordt momenteel in Nederland toegepast bij verschillende vormen van kanker, waaronder melanoom, prostaatkanker en multipel myeloom. De eerste klinische studies met DC-vaccinatie bij kankerpatiënten vonden eind jaren 90 van de vorige eeuw plaats en toonden de uitvoerbaarheid, potentiële werkzaamheid en veiligheid van de behandeling aan. Omdat de therapie heel selectief gericht is tegen de tumorantigenen, zijn bijwerkingen van DC-vaccinatie mild en beperkt tot kortdurende griepachtige verschijnselen, moeheid en lokale zwelling op de plaats van injectie. Inmiddels zijn in het Radboudumc in Nijmegen meer dan 400 patiënten, voornamelijk melanoompatiënten, behandeld met DC-vaccinatie in studieverband. Bij een deel van de behandelde patiënten kan na vaccinatie de aanwezigheid van tumorantigeenspecifieke T-cellen worden aangetoond worden in het bloed of in huidbiopten na een huidtest. Bij deze huidtest wordt een kleine hoeveelheid van het DC-vaccin in de huid toegediend, waarna na 48 uur biopten worden genomen van de injectieplaatsen. In de

huidbiopten wordt de aanwezigheid van tumorantigeenspecifieke T-cellen onderzocht met behulp van flowcytometrie en T-celactivatietesten. Bij ongeveer 25 procent van de patiënten met stadium IV-melanoom (afstandsmetastasen) en 75 procent van de patiënten met stadium III-melanoom (regionale lymfekliermetastasen) worden na DC-vaccinatie tumorantigeenspecifieke T-cellen gevonden in de huidtest. De aanwezigheid van deze T-cellen correleert met een betere overleving.^{1,2}

Maturatie van DC's

Voor een goede activatie van cytotoxische T-cellen is het cruciaal dat de DC's goed gematureerd zijn. Voor activatie van T-cellen door DC's in de lymfeklier zijn verschillende signalen van de DC's nodig. Ten eerste herkennen T-cellen het antigeen dat wordt gepresenteerd op het oppervlak van de DC's. Daarnaast moet stimulatie door costimulatoire moleculen plaatsvinden en DC's scheiden pro-inflammatoire cytokinen uit die aanzetten tot T-celactivatie. Alleen goed gematureerde DC's kunnen deze drie signalen overbrengen aan T-cellen.

Tijdens een infectie in het lichaam wordt DC-maturatie geïnduceerd door pro-inflammatoire cytokinen of door binding van pathogene moleculen aan Toll-like receptoren (TLR's). Activatie van TLR's zet een cascade van signalen in gang, die uiteindelijk leidt tot maturatie van DC's. Tijdens het maturatieproces wordt de expressie verhoogd van antigeen presenterende moleculen, costimulatoire moleculen en pro-inflammatoire cytokinen. Hierdoor zijn mature DC's goed in staat T-cellen te activeren. In het laboratorium kan DC-maturatie worden geïnduceerd door een infectie na te bootsen met een cocktail van pro-inflammatoire cytokinen of met liganden van TLR's. TLR-liganden bestaan uit moleculen die alleen voorkomen in pathogenen en niet in gezonde lichaamscellen, zoals bacteriële lipopolysacchariden of viraal dubbelstrengs-RNA. Uit in-vitro-experimenten is gebleken dat maturatie met TLR-liganden leidt tot de beste maturatie van DC's.

DC-maturatie met profylactische vaccins

Voor de bereiding van DC-vaccins voor patiënten mogen alleen TLR-liganden worden gebruikt die zijn gemaakt volgens de richtlijnen van Good Manufacturing Practice (GMP). Helaas zijn TLR-liganden van GMP-kwaliteit lastig verkrijgbaar. Wij hebben daarom een maturatiecocktail ontwikkeld die bestaat uit een mix van drie verschillende profylactische vaccins: BCG, Typhim Vi en Act-HIB. In vitro hebben we aangetoond dat uit monocytten gedifferentieerde DC's, die zijn gekweekt in aanwezigheid van deze vaccincocktail, een mature fenotype hebben met hoge expressie van antigeenpresenterende en costimulatoire moleculen. Ook bleken ze veel pro-inflammatoire cytokinen uit te scheiden. Deze DC's waren in vitro goed in staat tumorantigeenspecifieke T-cellen te activeren. Vervolgens hebben wij in een klinische studie bij 28 stadium III- en stadium IV-melanoompatiënten de veiligheid en immunologische effectiviteit van deze DC's bestudeerd.³ Van de 28 patiënten ontwikkelden er 27 (96 procent) een immuunreactie tegen het monitoringseiwit Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH), waarmee de DC's tijdens de kweek worden beladen. Ook vonden we bij 5 van de 17 (29 procent) stadium IV-patiënten en bij 7 van de 11 (64 procent) stadium III-patiënten een sterke immuunreactie tegen de tumorantigenen. Deze reactie correleerde bij stadium IV-melanoompatiënten met een betere overleving.³ Helaas leidde injectie met vaccincocktailgematureerde DC's ook tot onverwachte bijwerkingen van graad 2 tot 3, waaronder hepatitis en lymfadenitis. Dit in tegenstelling tot injectie met cytokine cocktailgematureerde DC's, waarbij nauwelijks bijwerkingen optraden. De bijwerkingen werden waarschijnlijk veroorzaakt door het BCG-vaccin in de maturatiecocktail. Ze waren van korte duur en verdwenen spontaan of na kortdurende behandeling met systemische steroïden. Uit deze studie hebben we de conclusie getrokken dat DC's gematureerd met een cocktail van profylactische vaccins effectieve antitumorreacties kunnen opwekken, maar ook dat de bijwerkingen toepassing op grotere schaal verhinderen.

Van nature in bloed voorkomende DC's

Tot voor kort werden alle DC's voor DC-vaccins in vitro gedifferentieerd uit monocytten. Sinds een aantal jaren is het mogelijk om immature DC's direct uit het bloed te isoleren. Dit heeft als voordeel dat de productie van het DC-vaccin minder lang duurt en beter is te standaardiseren door de eenvoudiger isolatie- en kweekmethode. Hierdoor wordt in de toekomst productie op grotere schaal en door verschillende centra mogelijk, waardoor DC-vaccinatie voor meer patiënten toegankelijk wordt. Daarnaast lijken DC's uit het bloed ten minste even potent of potenter dan in vitro-gedifferentieerde DC's. In een kleine studie met stadium IV-melanoompatiënten konden we na vaccinatie met myeloïde DC's uit het bloed de aanwezigheid van multifunctionele tumorspecifieke T-cellen aantonen. Dit correleerde met betere progressievrije overleving en tumorregressie.⁴ In een andere groep stadium IV-melanoompatiënten leek vaccinatie met plasmacytoïde DC's een positief effect op de overleving te hebben, vergeleken met een gepaard cohort van patiënten die waren behandeld met chemotherapie.⁵ Op dit moment wordt vaccinatie met myeloïde en/of plasmacytoïde DC's alleen in Nederland toegepast.

DC-vaccinatie in de toekomst

Uit een retrospectieve studie met stadium III-melanoompatiënten blijkt dat, in vergelijking met een gepaard cohort van controlepatiënten, DC-vaccinatie een positief effect heeft op overleving.² Om de klinische effectiviteit van DC-vaccinatie aan te tonen in een prospectieve studie is onlangs in het Radboudumc een gerandomiseerde, placebogecontroleerde studie gestart (NCT02993315). In deze studie zullen 210 melanoompatiënten met regionale lymfekliermetastasen adjuvant worden behandeld; 140 patiënten worden gevaccineerd met myeloïde en plasmacytoïde DC's, die zijn gematureerd met synthetische TLR-liganden en beladen met verschillende tumorantigenen; 70 patiënten zullen placebovaccin toegediend krijgen. Bij deelname aan de studie starten patiënten binnen drie maanden na lymfeklierdissectie met een leukaferese.

Behandeling zal plaatsvinden in het Radboudumc, de Isalakliniek, het NKI-AVL, het VUMC en Erasmus MC. In tegenstelling tot alle eerdere DC-vaccinaties, die werden gefinancierd uit onderzoeksgeld, worden de behandelingen in deze fase III-studie tijdelijk vergoed door de basisverzekering, een unieke situatie in Nederland en Europa. In deze studie onderzoeken we of de DC's een tumorspecifieke immuunreactie tegen het melanoom kunnen opwekken en een recidief van het melanoom na de operatie kunnen verhinderen. Als de uitkomst van de studie positief is, wordt de behandeling van stadium III-melanoom met DC-vaccinatie in Nederland opgenomen in de basisverzekering en daardoor toegankelijk voor een grotere groep patiënten.

Referenties

1. Aarntzen EHJG, Bol KF, Schreiber G, Jacobs JFM, Lesterhuis WJ, van Rossum MM, et al. Skin-test infiltrating lymphocytes early predict clinical outcome of dendritic cell based vaccination in metastatic melanoma patients. *Cancer Res* 2012;72:6102-10.
2. Bol KF, Aarntzen EHJG, in 't Hout FE, Schreiber G, Creemers JHA, Lesterhuis WJ, et al. Favorable overall survival in stage III melanoma patients after adjuvant dendritic cell vaccination. *Oncol Immunology* 2016;5:e1057673.
3. Bol KF, Aarntzen EHJG, Pots JM, Olde Nordkamp MAM, van de Rakt MWMM, Scharenborg NM, et al. Prophylactic vaccines are potent activators of monocyte-derived dendritic cells and drive effective anti-tumor responses in melanoma patients at the cost of toxicity. *Cancer Immunol Immunother* 2016;65:327-39.
4. Schreiber G, Bol KF, Westdorp H, Wimmers F, Aarntzen EHJG, Duiveman-de Boer T, et al. Effective clinical responses in metastatic melanoma patients after vaccination with primary myeloid dendritic cells. *Clin Cancer Res* 2016;22:2155-66.
5. Tel J, Aarntzen EHJG, Baba T, Schreiber G, Schulte BM, Benitez-Ribas D, et al. Natural human plasmacytoid dendritic cells induce antigen-specific T-cell responses in melanoma patients. *Cancer Res* 2013;73:1063-75.