



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as immunotherapy

Gillissen, M.A.

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Gillissen, M. A. (2018). Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation as immunotherapy: B lymphocytes versus leukemia

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

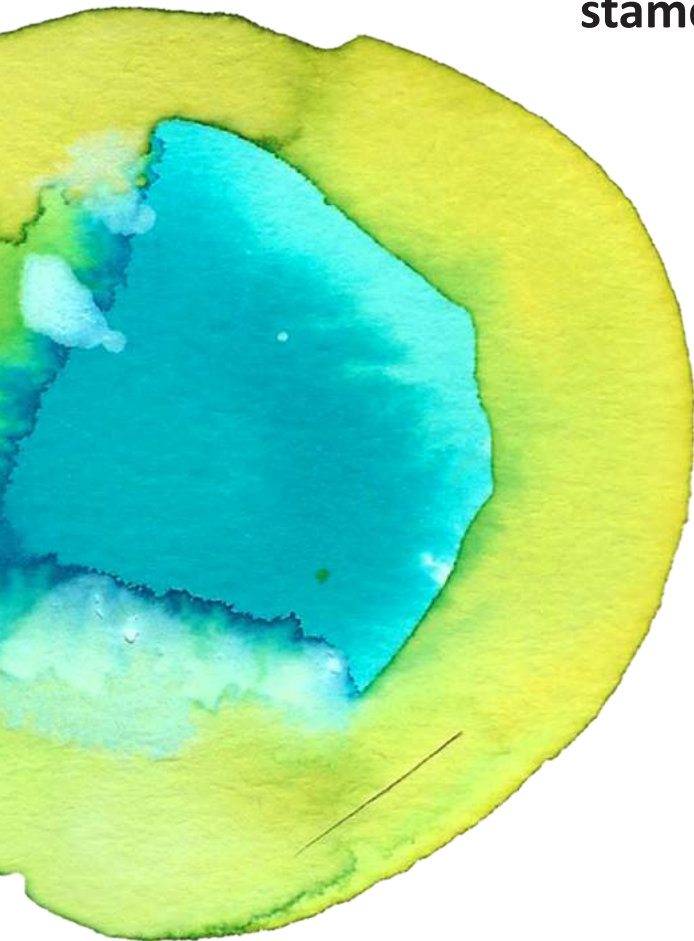
Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <http://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

CHAPTER 8

Nederlandse samenvatting:

**Allogene hematopoietische
stamceltransplantatie als
immunotherapie:
B-lymfocyten
versus leukemie**



Dit proefschrift is het resultaat van het promotieonderzoek van drs. M.A. Gillissen naar de functie van B-lymfocyten in de behandeling van acute myeloïde leukemie, met de naar het Nederlands vertaalde titel: 'Allogene hematopoïetische stamceltransplantatie als immunotherapie: B-lymfocyten versus leukemie'.

Hoofdstuk 1 is een algemene introductie over acute myeloïde leukemie (AML) en hoog risico myelodysplastisch syndroom (MDS). Beide aandoeningen zijn myeloïde maligniteiten met een slechte prognose. Maligne transformatie kan ontstaan in elk stadium van de ontwikkeling van stamcel naar rijpe myeloïde bloedcellen: monocyten, macrophagen, neutrofiele-, basofiele of eosinofiele granulocyten, erythrocyten (rode bloedcellen), dendritische cellen, megakaryocyten en bloedplaatjes. De agressiviteit van de ziekte is afhankelijk van de genetische afwijkingen die ten grondslag liggen aan de maligne transformatie. Behandeling bestaat uit chemotherapie, vaak gevolgd door een allogene hematopoïetische stamceltransplantatie (stamcellen van een donor). Dit wordt gegeven als immunotherapie om een afweerreactie tegen de resterende leukemie cellen op te wekken. In dit proefschrift wordt hieraan gerefereerd als graft versus leukemie reactie of afgekort GvL. Het doel van dit proefschrift was om de rol van een specifieke getransplanteerde afweercel, namelijk de B-cel of B-lymfocyt, te bestuderen in de context van graft versus leukemie reacties. B-cellen produceren antistoffen, kleine eiwitten, die heel specifiek kunnen binden aan bijvoorbeeld virusdeeltjes en bacteriën (pathogenen). Hierdoor kan het afweersysteem deze pathogenen herkennen en opruimen. In dit proefschrift is de hypothese bestudeerd dat B-cellen afkomstig van het afweersysteem van de donor de tumorcellen van de patiënt kunnen beschouwen als pathogeen waardoor de B-cellen antistoffen produceren die tumorcellen kunnen (helpen) uitschakelen.

In **hoofdstuk 2** beschrijven we een 'case report' van een 39-jarige mannelijke patiënt, met een voorgeschiedenis van testiskanker, die gediagnosticeerd werd met een door chemotherapie ontstaan hoog risico MDS/AML. Na remissie-inductie chemotherapie werd patiënt behandeld met een allogene hematopoïetische stamceltransplantatie met stamcellen van een passende, niet gerelateerde donor. Hoewel de ziekte daarmee tijdelijk onder controle was, kwam deze binnen drie maanden weer terug. Zo kort na de transplantatie gebruiken patiënten afweer onderdrukkende medicatie om een afweerreactie van het donor afweersysteem tegen gezonde weefsels, graft versus host ziekte (in deze thesis afgekort als GvHD) genoemd, te voorkomen. Door de afweer onderdrukkende medicatie snel af te bouwen, kregen de cellen van het getransplanteerde immuunsysteem een hernieuwde kans. De ziekte verdween als gevolg van een graft versus leukemie reactie, maar helaas kreeg de patiënt last van ernstige complicaties veroorzaakt door graft versus host ziekte. Het lukt niet om dit onder controle te

krijgen, ondanks het opnieuw ophogen van de afweer onderdrukkende medicatie. Uiteindelijk werd besloten om de patiënt met rituximab te behandelen. Dit middel verwijdert alle (CD20+) B-lymfocyten. Hoewel hiermee de graft versus host ziekte verdween, verdween ook het anti-AML effect van de stamceltransplantatie. Dit suggereert dat de B-lymfocyten een rol speelden in het anti-tumor effect van het getransplanteerde afweersysteem. Uit het bloed van deze patiënt dat ten tijde van maximale anti-leukemie respons is afgenomen bleek inderdaad dat de B-lymfocyten antistoffen tegen de tumor maakten. Dit effect werd door de behandeling met rituximab tenietgedaan, en deze data ondersteunt het belang van B-lymfocyten in de graft versus leukemie reactie in deze patiënt.

In **hoofdstuk 3** onderzoeken we het B-cel repertoire van vijf hoog risico AML-patiënten die een goede en langdurige anti-tumor respons hebben na allogene stamceltransplantatie. B-cellen werden uit het bloed van deze patiënten geïsoleerd en onsterfelijk gemaakt. Dit maakte het mogelijk om de antistoffen die door deze B-cellen geproduceerd worden in detail te onderzoeken en antistoffen te selecteren met specifieke binding aan AML-cellen (dus zonder binding aan gezonde cellen). Deze antistoffen werden geproduceerd door B-cellen van de stamcel donor. Een aantal van deze antistoffen bleek te binden aan het U5 snRNP200-complex op het oppervlak van de cel. Het U5 snRNP200-complex is een onderdeel van het spliceosoom; een complex van eiwitten dat de eerste stap van DNA-codering naar eiwit mogelijk maakt en dat daarom in normale cellen alleen intracellulair (in de cel) wordt gevonden. Een opvallende bevinding was dat de antistoffen die aan dit complex binden dood van de AML-cellen induceerden. Dit gebeurde in de afwezigheid van cellen die normaal gesproken antistofafhankelijke celdood geven (cytotoxische leukocyten of complement) en via een proces waarbij zowel het eiwitbindende deel als de staart van de antistof (de Fc-receptor) een rol speelt. In een AML-muismodel zorgde behandeling met deze antistoffen voor significante remming van tumorgroei. U5 snRNP200-complex antistoffen werden niet gevonden bij gezonde personen, noch bij patiënten die een allogene stamceltransplantatie ondergingen voor een andere onderliggende ziekte, zijnde multiple myeloom. Het lijkt er dus op dat deze U5 snRNP200-bindende antistoffen belangrijk zijn in de anti-AML-respons. Doordat het U5 snRNP200-complex op het celmembran van AML-cellen tot expressie komt, maar niet op gezonde cellen, zou het een nieuw specifiek doelwit voor behandeling van AML kunnen zijn.

Om celdood betrouwbaar te kunnen meten in de *in vitro* setting hebben we vervolgens een nieuwe methode ontwikkeld, welke we beschrijven in **hoofdstuk 4**. Deze nieuwe methode maakt het mogelijk om celdood, onafhankelijk van het mechanisme, middels flowcytometrie met een hoge doorvoer te meten. Dit doen we door juist naar de overlevende cellen te kijken,

in plaats van een inschatting te maken van het aantal gedode cellen.

Hoofdstuk 5 is gewijd aan een andere antistof die gevonden is bij de grote screening van het B-cel repertoire van de vijf AML-patiënten. Deze antistof, AT1413 genaamd, bindt aan een speciale gesuikerde (gesialyleerde) vorm van het eiwit CD43, CD43s genaamd. CD43s bleek tot overexpressie te komen op het celmembraan van kwaadaardige myeloïde cellen, zowel in geval van AML als bij MDS. Een uitgebreide screening van meer dan zestig patiënten met AML en hoog risico MDS liet zien dat CD43s door alle typen AML en MDS tot expressie wordt gebracht en goed herkend werd door AT1413.

Een van de manieren waarop antistoffen dood van de cellen waartegen ze gericht zijn kunnen induceren is 'antistofafhankelijke celdood': celdood geïnduceerd door cytotoxische cellen (andere cellen van het afweersysteem) die de tumorcel herkennen doordat een antistof er aan gebonden is. AT1413 induceerde met de hulp van complement en cytotoxische cellen antistofafhankelijke celdood van AML-cellen. Dit effect was ook zeer goed zichtbaar in een gehumaniseerd muizenmodel. Dit zijn muizen zonder eigen afweersysteem, die opgegroeid zijn met een menselijk afweersysteem. De muizen kregen AML door menselijke AML-cellen via de staart in de bloedbaan te brengen. Behandeling van deze muizen met AT1413 genas de muizen van AML, zonder dat gezonde afweercellen aangedaan werden.

AT1413 heeft ons inziens veel potentie als therapeutische antistof in de behandeling van myeloïde maligniteiten. Het heeft uit zichzelf, als zogenaamde 'naked antibody', al activiteit laten zien in muizen. Antistoffen kunnen heden ten dage op veel manieren worden aangepast, bijvoorbeeld door er een chemotherapeuticum aan te binden. Wanneer de antistof aan de tumorcel bindt wordt het chemotherapeuticum heel precies op de plaats van bestemming gebracht, waar het de tumorcel doodt zonder gezonde cellen te beschadigen. Andere toepassingen zijn antistoffen ingebouwd in T cellen (zogenaamde chimere antigeen receptor (CAR) T cellen) en antistoffen als bispecifieke T cel activator. De ideale toepassingsvorm van AT1413 zal in de toekomst gevonden moeten worden.

Hoofdstuk 6 is een afrondend hoofdstuk in de vorm van een review waarin we de rol van B-cellen in graft versus leukemie bediscussiëren en in een breder perspectief van tumorimmunologie en immuuntherapie plaatsen. In de afgelopen jaren is er enorm veel vooruitgang geboekt in het veld van tumorimmunologie. Veel nieuwe therapieën, zoals de blokkade van afweerreactie remmende mechanismes met antistoffen gericht tegen PD-1, PDL-1 en CTLA-4, hebben gezorgd voor indrukwekkende tumorregressie in kankerpatiënten met hematologische

of andere maligniteiten. Van oudsher wordt er veel aandacht besteed aan de rol van T-lymfocyten in de afweer tegen tumoren, zowel in de context van tumor therapieën zoals hierboven genoemd, als in de context van allogene hematopoietische stamceltransplantatie. Andere typen cellen van het afweersysteem spelen echter ook een rol in de afweer tegen tumoren, zoals bijvoorbeeld ‘natural killer’ (NK) cellen. Wij hebben in deze thesis de rol van B-cellen in immunotherapie, en in het bijzonder na allogene hematopoietische stamceltransplantatie, de oudste vorm van tumor immunotherapie, bestudeerd. Ons onderzoek heeft laten zien dat tumorspecifieke antistoffen die gegenereerd worden na allogene stamceltransplantatie dood van tumorcellen kan induceren. Daarnaast hebben we nieuwe tumor-antigenen ontdekt. Deze bevindingen zijn in dit hoofdstuk gerelateerd aan bevindingen op het gebied van solide tumor immunotherapie.

Tot slot bevat **hoofdstuk 7** een korte Engelse samenvatting, met aansluitend in een epiloog een persoonlijke notitie met een speculatie over de toekomstige mogelijkheden in de behandeling van hoog risico MDS en-AML. Tumorimmunologie is een zich sterk ontwikkelend veld, waarin nog veel kansen liggen. Met het onderzoek beschreven in deze thesis is getracht om een heel klein stukje dichterbij een betere behandeling van MDS en AML te komen door de rol van B-cellen in graft versus leukemie reacties te onderzoeken.