

Immune-escapemechanismen van leukemiecellen

Auteur M.E.D. Chamuleau

Trefwoorden acute myeloïde leukemie, CLIP, IDO, 'immune-escape', immuuntherapie, MHC-klasse-II, myelodysplasie, TRAIL

Samenvatting

Op 15 mei 2009 promoveerde mw. drs. M.E.D. Chamuleau aan de Vrije Universiteit van Amsterdam op het promotieonderzoek, getiteld 'Escape from surveillance. How leukemic cells subvert the immune system', onder begeleiding van promotor dhr. prof. dr. G.J. Ossenkoppele en copromotor dhr. dr. A.A. van de Loosdrecht.

Het onderzoek richtte zich op verschillende mechanismen die leukemiecellen gebruiken om herkenning door het immuunsysteem te omzeilen. Deze bevindingen zijn van belang om effectieve immuuntherapieën voor leukemiepatiënten te ontwikkelen.

(Ned Tijdschr Hematol 2009;6:198-200)

Inleiding

Kankercellen kunnen door ons immuunsysteem herkend worden als zijnde 'getransformeerd' en kunnen vervolgens worden geëlimineerd (immuunsurveillance). Hiermee is ons immuunsysteem in principe in staat de uitgroei van kanker te voorkomen. Er kan echter ook een proces plaatsvinden waarin cellen van het immuunsysteem en leukemiecellen elkaar beïnvloeden ('immune-editing' en '-subversion') waardoor uiteindelijk, als gevolg van de immunologische druk, minder immunogene cellen overblijven die ontsnappen aan de surveillance ('immune-escape').¹

Jaarlijks worden in ons land ongeveer 600 mensen getroffen door acute myeloïde leukemie (AML). Ongeveer 80% van deze patiënten is na behandeling met chemotherapie in complete remissie, maar de helft hiervan krijgt binnen 2 jaar een recidief, kennelijk vanuit de situatie van minimale restziekte ('minimal residual disease'; MRD).^{2,3} Waarschijnlijk zijn de resterende leukemiecellen weinig immunogeen. Het doel van dit proefschrift is geweest te achterhalen hoe leukemiecellen aan de immunologische surveillance hebben kunnen ontsnappen met als uiteindelijk doel therapieën te ontwikkelen waardoor restende leukemiecellen, in de fase van MRD, alsnog herkend en geëlimineerd kunnen gaan worden door het immuunsysteem.

Studie-uitkomsten

Het eerste doel van dit proefschrift is geweest om te onderzoeken hoe leukemiecellen herkend worden door cellen van ons immuunsysteem. Een van de belangrijkste cellen van ons immuunsysteem die een rol spelen bij de reactie tegen kankercellen zijn de T-cellen. Tumorantigenen kunnen worden aangeboden in de groeve van het 'major histocompatibility complex' (MHC)-moleculen aan T-cellen door professioneel antigeen presenterende cellen (APC's) en door tumorcellen zelf. We kennen 2 klassen MHC-moleculen: klasse I en klasse II. Klasse I-moleculen kunnen cytotoxische CD8⁺ T-cellen activeren en MHC-klasse-II-moleculen kunnen CD4⁺ T-helpercellen activeren. In het verleden is er vooral veel aandacht geweest voor de ontwikkeling van een CD8⁺ T-celreactie tegen tumorcellen, maar nu blijkt ook de activatie van een CD4⁺ T-helpercellen onontbeerlijk voor een effectieve langdurige afweerreactie tegen tumorcellen.⁴ In het eerste deel van dit proefschrift is de rol van klasse II-moleculen bij AML onderzocht. Aanleiding hiertoe was de bevinding dat een verstoorde presentatie van eiwitten door MHC-klasse-II-moleculen op leukemiecellen is geassocieerd met een slechtere prognose van patiënten met AML.⁵ Verstoorde eiwitpresentatie vindt plaats als de antigeenbindingsplaats in de groeve van de MHC-klasse-II-moleculen bezet is met 'class II associated invariant chain peptide' (CLIP). CLIP is een overblijfsel van de invariante keten, het chape-

Aanwijzingen voor de praktijk

1. AML-cellen gebruiken meerdere technieken om de surveillance van het immuunsysteem te ontduiken.
2. Kennis van deze technieken biedt mogelijkheden om effectieve vaccins te ontwikkelen die in de fase van minimale restziekte het immuunsysteem weer zouden kunnen activeren.
3. Bij patiënten met laag risico MDS is een geactiveerd immuunsysteem gevonden dat mogelijk een belangrijke rol vervult in het voorkomen van progressie naar AML. Kennis hiervan is belangrijk in het licht van de immuunmodulatoire middelen, die steeds meer bij de behandeling van MDS-patiënten ingezet worden.

ronne-eiwit dat MHC-klasse-II-moleculen begeleidt van het endoplasmatisch reticulum naar de celmembraan. In de intracellulaire MHC-klasse-II-compartimenten wordt de invariante keten enzymatisch geknipt totdat alleen het CLIP-eiwit op de antigeenbindingsplaats overblijft. Uiteindelijk vindt in aanwezigheid van een ander MHC-klasse-II-eiwit (HLA-DM) uitruil met een antigeen plaats. Patiënten met een hoge CLIP-expressie op hun leukemiecellen laten dus hun leukemie-eigenschappen niet goed aan het immuunsysteem zien en hebben een kortere overleving. Omdat de prognostische waarde van MHC-klasse-II-moleculen op leukemiecellen een nieuwe bevinding was, hebben we functionele experimenten gedaan, waarbij leukemiecellen getransduceerd zijn met 'small interfering RNA' (siRNA) gericht tegen de invariante keten, waardoor ze CLIP worden en optimaal eiwitten via de MHC-klasse-II-moleculen zouden kunnen presenteren. Vervolgens zijn de getransduceerde (CLIP⁻) en onbehandelde leukemiecellen (CLIP⁺) in kweek gebracht met T-cellen. T-cellen bleken inderdaad veel meer proliferatie te vertonen in aanwezigheid van getransduceerde, CLIP⁻ leukemiecellen. Deze genetische verandering zou een vaccin effectiever kunnen maken.

Als het immuunsysteem een belangrijke rol speelt in het voorkomen van uitgroei naar kanker mag men verwachten een geactiveerd immuunsysteem te vinden in de voorstadiën van AML. Hiertoe hebben we gekeken naar het immuunsysteem van patiënten met myelodysplasie (MDS). Er werd geobserveerd dat MDS-patiënten inderdaad significant meer effector T-cellen en minder naïeve T-cellen hebben in vergelijking met gezonde donoren. Bij patiënten met MDS bleken vooral natural killer (NK)-cellen in staat leukemiecellen te herkennen en in apoptose te brengen.⁶ Dit was nog niet eerder aangetoond en is een belangrijke

bevinding omdat patiënten met MDS steeds vaker behandeld worden met immuunmodulatoire middelen.

Een andere techniek van leukemiecellen om zich aan het immuunsysteem te onttrekken is de up-regulatie van anti-apoptotische receptoren. 'TNF-related apoptosis inducing ligand' (TRAIL) is een eiwit dat T- en NK-cellen op hun celmembraan kunnen up-reguleren en kunnen uitscheiden in een oplosbare vorm. Apoptose van de targetcel vindt plaats indien TRAIL vervolgens bindt aan een van de pro-apoptotische receptoren (TRAIL-R1 of TRAIL-R2). Kankercellen kunnen echter ook nep ('decoy')-receptoren tot expressie brengen (TRAIL-R3 of TRAIL-R4).⁷ AML-patiënten met een hoge expressie van de decoy-receptor TRAIL-R3 op hun leukemiecellen bleken een significant slechtere overleving te hebben. We veronderstellen dat het immuunsysteem bij deze patiënten dus niet in staat is geweest de leukemiecellen te elimineren. Gelukkig bleken AML-cellen wel gevoelig voor humane antistoffen die de TRAIL-R3-expressie omzeilen en specifiek gericht zijn tegen TRAIL-R2 (lexatumumab). TRAIL-R2-antistoffen worden op dit moment al in fase I- en II-studies getest bij solide tumoren, maar zouden dus in de toekomst ook bij patiënten met AML ingezet kunnen worden.

Als laatste hebben we gekeken naar de expressie van *INDO* in leukemiecellen. *INDO* is het gen dat codeert voor het enzym indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO). IDO katalyseert de omzetting van tryptofaan in kynurenine. Tryptofaan is een essentieel aminozuur voor T-cellen en door tryptofaandepletie worden T-cellen geremd in groei en activatie. IDO speelt een belangrijke rol in de placenta waar het ervoor zorgt dat T-cellen van de moeder de foetus niet afstoten. Het was al bekend dat leukemiecellen IDO kunnen produceren.⁸ In deze studie werd gekeken

naar de correlatie tussen *INDO*-expressie en de prognose van patiënten met AML. Patiënten met een hoge *INDO*-expressie bleken ook een slechtere prognose te hebben.⁹ Orale IDO-remmers zijn wel beschikbaar maar nog niet bij mensen uitgetest.

Conclusie

Immune surveillance lijkt bij patiënten met AML en MDS een rol te spelen. In dit proefschrift worden een aantal eigenschappen beschreven van leukemiecellen (hoge CLIP, TRAIL-R3 en *INDO*-expressie), die er op verschillende wijze voor kunnen zorgen dat leukemiecellen minder goed herkend worden door cellen van ons immuunsysteem, en zo dus ontsnappen aan ons ingebouwde bewakingssysteem ('escape from surveillance'). Deze bevindingen worden in ons laboratorium nu ingezet om vaccins te maken, die het immuunsysteem in de fase van MRD weer kunnen activeren, en vormen zo de basis voor een nieuwe behandelingsmogelijkheid voor AML-patiënten.

Referenties

1. Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol* 2006;90:1-50.
2. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:1051-62.
3. Feller N, Van der Pol MA, Van Stijn A, Weijers GW, Westra AH, Evertse BW, et al. MRD parameters using immunophenotypic detection methods are highly reliable in predicting survival in acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2004;18:1380-90.
4. Wang RF. The role of MHC class II-restricted tumor antigens and CD4+ T cells in antitumor immunity. *Trends Immunol* 2001;22:269-76.

5. Chamuleau ME, Souwer Y, Van Ham SM, Souwer Y, Van Ham SM, Zevenbergen A, et al. Class II-associated invariant chain peptide expression on myeloid leukemic blasts predicts poor clinical outcome. *Cancer Res* 2004;64:5546-50.
6. Chamuleau ME, Westers TM, Van Dreunen L, Groenland J, Zevenbergen A, Eeltink CM, Ossenkoppele GJ, Van de Loosdrecht AA. Immune mediated autologous cytotoxicity against hematopoietic precursor cells in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematol* 2009;94:496-506.
7. Humphreys RC, Halpern W. Trail receptors: targets for cancer therapy. *Adv Exp Med Biol* 2008;615:127-58.
8. Curti A, Aluigi M, Pandolfi S, Ferri E, Isidori A, Salvestrini V, et al. Acute myeloid leukemia cells constitutively express the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase. *Leukemia* 2007;21:353-5.
9. Chamuleau ME, Van de Loosdrecht AA, Hess CJ, Janssen JJ, Zevenbergen A, Delwel R, et al. High *INDO* (indoleamine 2,3-dioxygenase) mRNA level in blasts of acute myeloid leukemic patients predicts poor clinical outcome. *Haematol* 2008;93:1894-8.

Ontvangen 7 juni 2009, geaccepteerd 24 juni 2009.

Correspondentieadres

Mw. dr. M.E.D. Chamuleau, internist-hematoloog

VU Medisch Centrum
Afdeling Hematologie
De Boelelaan 1117
1081 HV Amsterdam
Tel.: 020 444 26 04
E-mailadres: m.chamuleau@vumc.nl

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.

EIGEN MENING? TIEN JAAR CEL!

Steun Amnesty met € 3,- per maand. Sms AMNESTY AAN naar 5757.

AMNESTY
INTERNATIONAL

