

HLA-expressie in hoofd- en halstumoren. Een ontsnappingsprofiel?

Auteur G.J.P.A. Koene

Trefwoorden HLA-expressie, hoofd- en halstumoren, immunotherapie

Samenvatting

Op 3 maart 2005 promoveerde drs. G.J.P.A. Koene aan de Universiteit Utrecht op het promotieonderzoek 'HLA expression in head and neck squamous cell carcinoma. A profile to escape?'. Hij deed dit onder begeleiding van promotoren prof. dr. P.J. Slootweg en prof. dr. J.G. van den Tweel en copromotor dr. M.G.J. Tilanus.

Het doel van het onderzoek was om HLA-expressie en tumorantigeenproductie, die van belang zijn voor de ontwikkeling van immunotherapie, in hoofd- en halstumoren te bestuderen. Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen van het onderzoek weergegeven.

(Ned Tijdschr Oncol 2005;2:199-201)

Inleiding

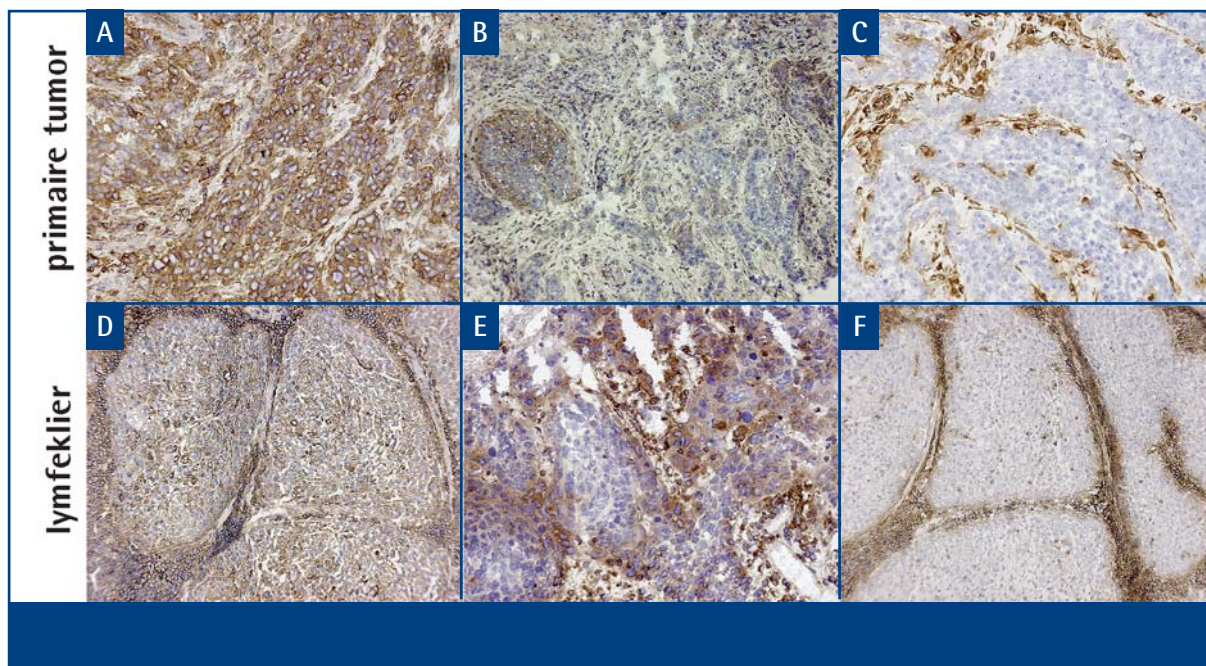
De behandeling van hoofd- en halskankerpatiënten is in de afgelopen decennia niet noemenswaardig verbeterd. Ondanks verbeteringen van diagnose- en behandelingsmethoden, zoals chirurgie, radio- en chemotherapie, is de vijfjaarsoverleving de afgelopen 30 jaar lager dan 50% gebleven. Alleen bij een vroegtijdige ontdekking van de tumor kan de patiënt goed behandeld worden. Bij het merendeel van de patiënten wordt de tumor echter pas in een laat stadium gediagnosticeerd.

De ontwikkeling van de immunotherapie heeft de laatste jaren steeds meer aandacht gekregen als mogelijkheid om de overleving van patiënten met (hoofd- en hals)kanker te verbeteren. De toepassing van immunotherapie is nodig, omdat tumoren de functionaliteit van het immuunsysteem kunnen bemmeren. Daarnaast kunnen tumorcellen onzichtbaar worden voor de cellen van het immuunsysteem. Immuncellen, met name cytotoxische T-lymfocyten (CTL's), herkennen tumorcellen via de humane leukocytantigenen (HLA's) op het tumorceloppervlak. De HLA-klasse-I-moleculen presenteren 'tumour associated antigens' (TAA's) die niet voorkomen op normale cellen. Hierdoor kunnen CTL's specifiek tumorcellen opruimen. Wanneer tumorcellen HLA-klasse-I-moleculen op hun celoppervlak verliezen, kunnen ze niet herkend en opgeruimd worden door CTL's. Cellen die daarentegen geen of te weinig HLA-klasse-I-moleculen op het celoppervlak hebben,

worden vernietigd door 'natural killer' (NK)-cellen. Tumorcellen die een balans vinden tussen HLA-klasse-I-expressie en HLA-klasse-I-verlies kunnen niet worden vernietigd door CTL's en NK-cellen. Men zou kunnen spreken van een 'immune escape window'. Hierdoor ontsnappen tumoren niet alleen aan het immuunsysteem, maar zijn ze ook minder vatbaar voor immunotherapie. Voor het ontwikkelen van effectieve immunotherapieën is het van belang om de productie van TAA's te bestuderen en de presentatie hiervan door HLA-klasse-I-moleculen op het tumorceloppervlak in kaart te brengen.

Tumorgeassocieerde antigeenproductie

De eigenschappen van de TAA's bepalen niet alleen door welke HLA-moleculen ze gepresenteerd worden op het celoppervlak, maar ook of CTL's de tumorcellen wel of niet vernietigen. De eiwitten die aanwezig zijn in de tumorcel worden omgevormd tot TAA's door een complexe machinerie die ook wel de antigeenproducerende machinerie (APM) wordt genoemd. De genexpressie op RNA-niveau van genen die coderen voor de APM-componenten en het immuunregulatorische cytokine interferon- γ (*IFN- γ*) in tumorweefsel van 23 hoofd- en halskankerpatiënten werd bestudeerd en vergeleken met de expressie in het gezonde weefsel van de patiënten.^{1,2} Er werd een significante toename van expressie van 'proteasome subunit β ' (*PSMB7*, *PSMB8*, *PSMB9*, 'transporter



Figuur 1. Immunohistochemische kleuringen van primaire hoofd- en halstumoren en lymfekliermetastasen met humane biotinegelabelde antilichamen. A. Positieve kleuring van HLA-B15 met mAb IND2D12. B. Heterogene kleuring van HLA-B7 met mAb VTM1F11. C. Negatieve kleuring van HLA-B51 met mAb HDG8D9. D. Positieve kleuring van HLA-A2 met mAb SN607D8. E. Heterogene kleuring van HLA-A1 met mAb GV5D1. F. Negatieve kleuring van HLA-B51 met mAb HDG8D9. De kleuring van stromaal weefsel en lymfocyten werd gebruikt als positieve controle in negatieve tumoren en lymfekliermetastasen. mAb = 'monoclonal antibody'

associated with antigen processing' (*TAP*)1, tapasin en een significante afname van tripeptidylpeptidase (*TPP*)II-expressie in het tumorweefsel ten opzichte van het gezonde weefsel gevonden. In het algemeen was het genexpressieprofiel van de APM-genen en *IFN- γ* vergelijkbaar of hoger in het tumorweefsel vergeleken met het gezonde weefsel. Hoewel het genexpressieprofiel nog niets zegt over de functionaliteit van de APM, onderschrijven deze data de theorie dat expressieafname of expressieverlies van APM-genen meest waarschijnlijk wordt veroorzaakt door regulerende factoren in plaats van gendefecten.

HLA-expressieverlies

De grote hoeveelheid aan HLA-moleculen en de homologie ertussen bemoeilijkt het bestuderen van HLA-expressieprofielen op het celoppervlak met antilichamen. Met name het gebrek aan HLA-allelspecifieke antilichamen beperkt het detail waarmee HLA-expressieverlies op tumorcellen in kaart gebracht kan worden. Genomisch verlies in het HLA-gebied op chromosoom 6 komt frequent voor in tumoren.³ De auteur en collega's vonden tegenstrijdige gegevens met betrekking tot de 'loss of heterozygosity' (LOH)-data en de HLA-expressiepatronen.^{4,5} Met fluorescente in-situ-hybridisatie (FISH) is aangetoond

dat er niet alleen genomisch verlies van het HLA-gebied in hoofd- en hals tumoren plaatsvindt, maar ook genomische amplificatie. Bovendien was de aneuploidie in de tumoren zeer heterogeen en complex.^{6,7} Deze resultaten bewijzen niet alleen dat de LOH-techniek niet toepasbaar is om HLA-verlies te bestuderen, maar suggereren ook dat HLA-expressieverlies op het tumorceloppervlak zeer complex en heterogeen kan zijn. Dit onderstreept de noodzaak om HLA-expressieverlies op allelspecifiek niveau te bestuderen met behulp van allelspecifieke antilichamen.

In samenwerking met het Leids Universitair Medisch Centrum is er een pilotstudie verricht naar HLA-expressieprofielen. In deze studie is met experimentele humane monoklonale HLA-allelspecifieke antilichamen het HLA-A- en HLA-B-allelspecifieke expressieprofiel bepaald in de primaire tumoren en metastasen van vijftien hoofd- en halskankerpatiënten (zie *Figuur 1*).⁸ HLA-allelspecifiek expressieverlies werd aangetoond in 50% van de tumoren. Dit verlies zou onopgemerkt blijven wanneer, zoals gebruikelijk, alleen HLA-locusspecifieke of monomorfe HLA-antilichamen waren gebruikt. Daarnaast verschilde het HLA-allelspecifieke expressieprofiel tussen de primaire tumor en de bijbehorende metastase in meer dan 50% van de hoofd- en halstumorpatiënten. Dit betekent dat het HLA-expressieverlies sterk

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Uit het onderzoek blijkt dat immunotherapie via HLA-gepresenteerde tumorantigenen mogelijk is. De wijze waarop de HLA-expressie echter is aangetast in hoofd- en halstumoren beïnvloedt de effectiviteit van de therapie.
2. De verscheidenheid in HLA-expressieverlies in elke hoofd- en halskankerpatiënt vereist een op het individu gerichte behandeling. Hierbij is het van belang dat het HLA-expressieprofiel op het celoppervlak van tumoren en metastasen exact wordt bepaald met HLA-allelespecifieke antilichamen.
3. Het toepassen van niet-patiëntspecifieke immunotherapie op heterogene hoofd- en halstumoren kan leiden tot de progressie van tumorontsnappingsvarianten die resistent worden voor de immunotherapie.

wordt onderschat en dat het HLA-expressieverlies in de primaire tumor verschilt met dat in de metastasen. Deze bevindingen hebben grote consequenties voor de ontwikkeling van T-cel-gebaseerde immunotherapie. De heterogeniteit van HLA-expressie binnen een tumor of metastase, maar ook de verschillen tussen de primaire tumor en metastasen maken het moeilijk om een uniform target voor immunotherapie te selecteren.

Referenties

1. Koene GJ, Van Dijk JJ, Van Grinsven KW, Slootweg PJ, Tilanus MG. Gene Expression Profile of HLA Class I Antigen Processing Genes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. Submitted 2005.
2. Koene GJ, Van der Weide P, Arts-Hilkes YH, Bastiaans E, Rozemuller EH, Slootweg PJ, et al. TAP1 and TAP2 allele frequencies in a SNaPshot™: no evidence for allelic prevalence in patients with head and neck squamous-cell carcinoma compared with Dutch controls. *Hum Immunol* 2005;66:77-84
3. Feenstra M, Veltkamp M, Van Kuik J, Wiertsema S, Slootweg P, Van den Tweel J, et al. HLA class I expression and chromosomal deletions at 6p and 15q in head and neck squamous cell carcinomas. *Tissue Antigens* 1999;54:235-45.
4. Koene GJ, Van der Ven KJ, Verdaasdonk MA, Slootweg PJ, De Weger RA, Tilanus MG. A Variety of HLA phenotypes in head and neck squamous cell carcinoma patients identified with the workshop antibodies as defined in the HLA and cancer component. In: Hansen J, Dupont B, editors. *HLA 2004: immunobiology of the human MHC. Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol I & II. Seattle, WA: IHWG Press; 2005.*
5. Koene GJ, Coenen S, Verdaasdonk MA, De Weger RA, Slootweg PJ, Tilanus MG. The value of loss of heterozygosity

of short tandem repeat markers to define expression variants of the b2-microglobulin gene. In: Hansen J, Dupont B, editors. *HLA 2004: immunobiology of the human MHC. Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Congress. Vol I & II. Seattle, WA: IHWG Press; 2005.*

6. Koene GJ, Arts-Hilkes YH, Van der Ven KJ, Rozemuller EH, Slootweg PJ, De Weger RA, et al. High level of chromosome 15 aneuploidy in head and neck squamous cell carcinoma lesions identified by FISH analysis: limited value of beta2-microglobulin LOH analysis. *Tissue Antigens* 2004;64:452-61.
7. Koene GJ, Arts-Hilkes YH, Van Dijk AJ, Van der Ven KJ, Slootweg PJ, De Weger RA, et al. High level of aneuploidy of chromosome 6 by FISH analysis of head and neck squamous cell carcinoma: limited applicability of LOH analysis to define HLA loss. *Hum Immunol* 2004;65:1455-62.
8. Koene GJ, Van der Ven KJ, Eijsink C, Mulder A, Slootweg P, Claas F, et al. HLA class I allele-specific expression-loss in head and neck squamous cell carcinoma and lymph node metastases. Submitted 2005.

Ontvangen 11 mei 2005, geaccepteerd 16 juni 2005.

Correspondentieadres

Dr. G.J.P.A. Koene, PhD, sales and application specialist

Genome Diagnostics B.V.
p/a UMCU, gebouw H04.312
Postbus 85500
3508 GA Utrecht
E-mail: g.koene@genomediagnostics.com

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: Prof. dr. P. Egyedi Foundation.