

Nederlandse Samenvatting

Inleiding

Jaarlijks wordt in Nederland bij ongeveer 75.000 mensen de diagnose kanker gesteld, en overlijden ongeveer 40.000 mensen aan de ziekte. Kanker is daarmee doodsoorzaak nummer 2 in de westerse wereld. De laatste jaren is er veel vooruitgang geboekt in de behandeling van kanker, voornamelijk door het sneller stellen van de diagnose en de verbetering van bestaande therapieën zoals opereren, radiotherapie en chemotherapie. Desondanks sterven er jaarlijks nog vele mensen aan de gevolgen van kanker en is er dus nog steeds behoefte aan nieuwe therapieën. Een veelbelovende nieuwe therapie is immuun therapie. Een belangrijke rol van ons immuun systeem is het onschadelijk maken van indringers van buitenaf, zoals virussen en bacteriën. Het immuun systeem is in staat deze indringers te herkennen als lichaamsvreemd en vervolgens op te ruimen. Kankercellen worden echter niet (meer) herkend en dus niet opgeruimd door het immuun systeem. Kankercellen ontstaan uit lichaamseigen cellen doordat er DNA veranderingen optreden. Deze DNA veranderingen zorgen ervoor dat er “nieuwe” kankerspecifieke eiwitten gevormd worden. Deze kankerspecifieke eiwitten kunnen door het afweer systeem als lichaamsvreemd worden herkend. Immuun therapie is erop gericht om het immuun systeem ertoe aan te zetten om kankercellen te herkennen en onschadelijk te maken. Een manier om dit te doen is via het ontwikkelen van kankerspecifieke afweer cellen in het lichaam van de patiënt. Een cel die centraal staat in de ontwikkeling van specifieke T cellen is de dendritische cel (DC).

Dendritische cellen

DC's zijn uitermate geschikt om informatie over lichaamsschadelijke stoffen te presenteren aan T cellen. DC's ontstaan uit het beenmerg en circuleren door het lichaam via het bloed. Ze functioneren als controle cellen van het immuun systeem en onderzoeken de omgeving continue op de aanwezigheid van lichaamsvreemde stoffen. Deze lichaamsvreemde stoffen worden vervolgens opgenomen door DC's en aangeboden aan de T cellen, waarna deze T cellen geactiveerd raken en aangezet worden om deze lichaamsvreemde stof te herkennen en op te opruimen. De ontdekking van de rol van DC's in de ontwikkeling van een afweer reactie tegen kanker heeft ertoe geleid dat DC's uitvoerig zijn/worden getest als vaccin tegen kanker.

DC's werden voor het eerst beschreven door Paul Langerhans in 1868, als dendritisch gevormde cellen in de opperhuid. Pas 100 jaar later werden deze cellen weer en nu uitvoeriger bestudeerd en beschreven en sindsdien is de kennis over de oorsprong en functie van deze cellen enorm toegenomen. DC's ontstaan uit het beenmerg uit zogeheten CD34+ hematopoietische voorloper cellen. Deze CD34+ voorloper cellen kunnen zich in het menselijke lichaam ontwikkelen tot verschillende typen DC's, zoals DC's van de opperhuid (ook wel Langerhans cellen (LC) genoemd) en de DC's in bindweefsels (ook wel interstitiële DC's (IDC) genoemd). Sinds het begin van de jaren 90, kunnen we ook DC's buiten het menselijke lichaam kweken. Daarvoor worden voorloper cellen gebruikt die afkomstig zijn van het beenmerg of het bloed van gezonde donoren. Een groot nadeel van het gebruik van deze voorloper cellen is dat ze erg schaars zijn, en alleen te verkrijgen via ingewikkelde en onplezierige procedures zoals afname van beenmerg of grote hoeveelheden bloed. Om DC's goed te kunnen bestuderen en goede gestandaardiseerde DC vaccins te kunnen

ontwikkelen zou het wenselijk zijn DC's te kweken uit voorloper cellen afkomstig van een cellijn. Een ander voordeel hiervan is dat de voorraad voorloper cellen dan in principe ongelimiteerd is. Een cellijn die hiervoor in aanmerking zou komen is de acute myeloïde leukemie (AML) cellijn MUTZ-3. Uit eerdere studies in onze groep is namelijk gebleken dat deze cellijn onder de juiste omstandigheden het uiterlijk van een DC kan aannemen. In dit proefschrift wordt de bruikbaarheid van de MUTZ-3 cellijn als DC model verder uitgezocht. Daarom is dit proefschrift opgedeeld in 2 delen. In deel 1 beschrijven we het karakteriseren van de AML cellijn MUTZ-3 als een IDC/LC cellijn model. Daarnaast willen we ook weten of de verschillende DC populaties die eruit kunnen voortkomen ook dezelfde uiterlijke kenmerken vertonen als DC's uit het lichaam. In deel 2 bestuderen we of deze MUTZ-3 IDC en LC ook de functionele eigenschappen van DC's uit het lichaam hebben. Daarnaast bestuderen we de mogelijke toepasbaarheid van MUTZ-3 IDC en LC in DC vaccinatie studies, en de mogelijke manieren om zo'n DC vaccin (en dus de DC functie) verder te verbeteren.

Resultaten

Deel 1: Karakteriseren van de AML cellijn MUTZ-3 als IDC/LC cellijn model

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene inleiding gegeven van de werking van het immuun systeem en de verschillende immuun therapieën die er tot nog toe beschreven zijn. De nadruk ligt op de rol van DC's als de controlerende cellen van het immuun systeem en de bruikbaarheid van deze cellen voor de behandeling van kanker.

In **hoofdstuk 2** worden de twee belangrijkste DC populaties uit de huid, de Langerhans cellen (LC) uit de opperhuid en de interstitiële cellen (IDC) uit de lederhuid, bestudeerd door middel van microarray analyse. We tonen aan dat de twee verschillende DC populaties in een andere staat van activiteit verkeren met verschillende functionele eigenschappen. IDC's verkeren in een staat waarin ze beter in staat zijn om afweer cellen zoals T en B cellen te stimuleren dan LC's.

In **hoofdstuk 3** wordt de CD34+ AML cellijn MUTZ-3 geïntroduceerd als een DC cellijn model. Na uitgebreide analyse van de MUTZ-3 cellen blijkt dat deze bestaat uit 3 verschillende populaties. De kleine CD34+/CD14- cellen die kunnen delen en waaruit nieuwe MUTZ-3 cellen kunnen ontstaan, maar die ook via een tussenstadium van CD34-/CD14- cellen, kunnen overgaan in CD34-/CD14+ cellen. Deze laatste kunnen niet meer delen en zijn de daadwerkelijke DC voorloper cellen die de capaciteit bezitten het uiterlijk van zowel IDC's als LC's aan te nemen. De MUTZ-3 cellijn kan dus dienst doen als ongelimiteerde bron van voorlopercellen voor het maken van zowel IDC's als LC's.

In **hoofdstuk 4** worden MUTZ-3 IDC's en LC's bestudeerd door middel van microarray analyse. We tonen aan dat zich in/op de MUTZ-3 IDC's eiwitten bevinden die geassocieerd zijn met IDC's uit het lichaam, zoals de macrofaag mannose receptor (MMR), DC-SIGN, CD36, stollingsfactor XIIIa en de monocyt/macrofaag marker CD14. En MUTZ-3 LC's bezitten eiwitten die geassocieerd zijn met DC's uit de opperhuid, zoals de Langerin receptor, membraan adenosine trifosfaat (ATPase) en chemokine receptor 6 (CCR6). We tonen dus aan dat de MUTZ-3 IDC's en LC's inderdaad de uiterlijke kenmerken vertonen van IDC's en LC's uit het lichaam.

Deel 2: ontwikkeling van MUTZ-3 IDC/LC voor anti-kanker immuun therapie

Een goede DC moet niet alleen de juiste uiterlijke kenmerken vertonen, maar ook de juiste functionele eigenschappen. In deel 1 van dit proefschrift hebben we al aangetoond dat de verschillende MUTZ-3 DC populaties die we kunnen maken in het lab ook daadwerkelijk lijken op DC's uit het lichaam. In deel 2 onderzoeken we of deze MUTZ-3 IDC en LC ook de functionele eigenschappen van DC's hebben. Zoals bekend moeten DC's T cellen kunnen aanzetten tot het herkennen en opruimen van kankercellen. In **hoofdstuk 5a** wordt beschreven dat MUTZ-3 IDC's inderdaad T cellen kunnen laten ontwikkelen tot kankerspecifieke T cellen die in staat zijn kankercellen te herkennen en doden. Daarnaast bleek ook dat deze MUTZ-3 IDC's dat even goed kunnen als de DC's die gekweekt zijn uit gezonde voorloper cellen uit het bloed. Een van de kankerspecifieke eiwitten waartegen in deze studie kankerspecifieke T cellen gemaakt zijn is Ebp1. Het identificeren en het karakteriseren van dit nieuwe kankerspecifieke eiwit wordt beschreven in **hoofdstuk 5b**.

In **hoofdstuk 6**, beschrijven we de ontwikkeling van een methode die de capaciteit van DC's om een afweerreactie te ontwikkelen kan versterken. Door gebruik te maken van een nieuw eiwit dat zowel aan de DC's als aan de T cellen kan binden wordt de communicatie tussen DC's en T cellen vergemakkelijkt. Dit leidt er toe dat T cellen beter gestimuleerd worden, waardoor deze T cellen sneller groeien. Daarnaast zorgt de verhoogde interactie tussen DC's en T cellen ook voor een efficiëntere uitgroei van kankerspecifieke T cellen. We denken daarom dat dit eiwit in de toekomst gebruikt kan worden in patiënten om een nog betere anti-kanker afweerreactie te ontwikkelen.

In **hoofdstuk 7** testen we de potentiële bruikbaarheid van MUTZ-3 IDC's en LC's in DC vaccinatie studies. Om een goede anti-kanker afweerreactie te kunnen ontwikkelen, moeten DC's aan bepaalde eigenschappen voldoen. Ze moeten goed T cellen kunnen stimuleren, eiwitten kunnen produceren die de ontwikkeling van T cellen bevorderen en zich kunnen verplaatsen naar de lymfeklieren, waar de ontwikkeling van een afweerreactie daadwerkelijk plaatsvindt. In dit hoofdstuk analyseren we de MUTZ-3 IDC's en LC's op het bezit van deze eigenschappen. Beide DC populaties vertonen een vergelijkbare capaciteit zich te verplaatsen naar de lymfeklieren. Hoewel beide DC populaties in staat zijn kankerspecifieke T cellen te stimuleren, lijken MUTZ-3 LC's dat toch minder efficiënt te doen dan MUTZ-3 IDC's. Vermoedelijk wordt dit veroorzaakt doordat MUTZ-3 LC's minder goed in staat zijn de eiwitten te produceren die nodig zijn om T cellen te stimuleren. Het inbrengen van een gen dat een van deze eiwitten produceert zorgt er echter voor dat de verschillen in de capaciteit T cellen te stimuleren tussen MUTZ-3 IDC's en LC's wordt weggenomen.

Ten slotte bespreken we in **hoofdstuk 8** de verschillende DC differentiatie modellen die tot nog toe beschreven zijn. We leveren het bewijs dat leukemie cellijnen zoals THP-1, KG-1, K562, monomac-6 and U-937 slechte modellen zijn voor DC differentiatie. De MUTZ-3 cellijn, daarentegen, vertegenwoordigt een waardevol model voor DC differentiatie. We tonen aan dat de MUTZ-3 cellijn alle fysiologisch relevante rijpingsstadia voor DC differentiatie bezit. Daarnaast laten we zien dat in tegenstelling tot de bovengenoemde DC cellijnen, de MUTZ-3 cellijn inderdaad in staat is zich te ontwikkelen tot DC's die de uiterlijke kenmerken en de functionele eigenschappen bezitten van DC's uit het lichaam.

Conclusie

De laatste jaren is het gebruik van DC vaccins voor de behandeling van kanker uitvoerig getest in muizenmodellen en in klinische studies met mensen. Daaruit is gebleken dat hoewel DC vaccinatie uitvoerbaar en veilig is, de daadwerkelijke klinische effecten variabel zijn, en vaak tegenvallen. De verwachting is dat het ontwikkelen van gestandaardiseerde DC vaccins een oplossing voor dit probleem zal geven. Uit onze studies blijkt dat de MUTZ-3 cellijn de meest geschikte kandidaat is voor het ontwikkelen van een gestandaardiseerd vaccin. We komen dus tot de conclusie dat de MUTZ-3 cellijn een waardevol model is voor DC differentiatie en DC vaccinatie studies. Daarom zijn we op dit moment bezig met het ontwikkelen van kweek methodes om deze MUTZ-3 DC's in grote hoeveelheden, en onder de klinisch vereiste condities, te maken.

Curriculum vitae and publication list

