

•• Tema – immunterapi

anti-angiogen terapi

Att öppna dörrarna för tumörriktade T-celler

– hur anti-angiogen terapi kan förbättra immunterapi

Immunterapi har revolutionerat cancerbehandling och ingivit nytt hopp till patienter med aggressiv cancer, men effektiviteten hämmas av att tumörens blodkärl ofta är dysfunktionella och dåliga på att attrahera immunceller. Genom att farmakologiskt förbättra blodkärlens funktion kan man öka T-cellsrekryteringen till tumören, och därmed effektivisera terapin.

Vi lever i en spännande tid för cancerforskning och onkologi, där en ökad förståelse för spelet mellan tumörceller och normala celler i mikromiljön ger nya möjligheter att behandla cancer, och där den mest dynamiska utvecklingen just nu sker inom immunterapi. Kirurgi, strålning, cellgifter och farmakologisk behandling riktad mot tumörcellerna har länge utgjort grundbulten för cancerterapi. Men aggressiv metastaserande cancer och cancerformer som växer invasivt in i vitala organ är utmanande att behandla och kräver en större vapenarsenal. Under det senaste decenniet har immunterapi fått ett riktigt genombrott som terapi, och visat sig vara effektiv som behandling även för flera spridda cancerformer som tidigare inte kunnat botas. Men tyvärr är det ännu bara en andel av cancerpatienter som hjälps av immunterapi.

” Tyvärr påverkas blodkärlens funktion av tumören, vilket i många fall medför en försämrad förmåga att interagera med T-celler och hjälpa dessa att ta sig in i tumörvävnaden. Nya studier har visat att anti-angiogen terapi kan leda till en normalisering av blodkärlens funktion, och därmed effektivisera immunterapi.

Gemensamt för de flesta former av immunstimulerande terapi som används idag är att de antingen bygger på utveckling eller aktivering av tumördödande T-celler, som i sin tur behöver ha tillgång till tumörvävnaden för att utöva sin effekt. T-celler rör sig i cirkulationen och kan ta sig in i tumören ge-

nom att interagera med de endotelceller som klär insidan av tumörens blodkärl. Tyvärr påverkas blodkärlens funktion av tumören, vilket i många fall medför en försämrad förmåga att interagera med T-celler och hjälpa dessa att ta sig in i tumörvävnaden. Nya studier har visat att anti-angiogen terapi kan leda till



••• Tema – immunterapi

en normalisering av blodkärlens funktion, och därmed effektivisera immunterapi. Här sammanfattar vi de molekylära mekanismerna som är inblandade i rekrytering av T-celler till tumören, hur dessa störs i samband med cancer och hur processen kan optimeras genom att kombinera immunterapi med behandling riktade mot blodkärlen.

ATT STYRA ETT T-CELLSSVAR

Idén att kroppens immunsystem kan hindra tumörutveckling är inte ny. De första observationerna som stöder att immunstimulering kan användas som cancerterapi är redan från 1891, då William Coley behandlade cancerpatienter med streptokocker. Interferoner är brett immunstimulerande och har länge använts för att exempelvis behandla lymfom och melanom. I andra cancerformer använder man sig liksom Coley av kroppens naturliga svar på infektioner för att hämma tumörtillväxt. Urinblåsecancer behandlas med instillationer i blåsan med Bacillus Calmette-Guérin (BCG), ett derivat av mycobacterium bovis som även använts vid vaccinering mot tuberkulos. Man har länge arbetat med utveckling av cervaccin riktade mot generella tumörantigen som gp100, eller dendritcellsbaserade vaccin där man injicerar dendritceller som pulsats med tumörlysats eller tumörantigen. GVAX är ett exempel på vaccin, där autologa tumörceller som modifieras för att uttrycka GM-CSF används för att stimulera ett specifikt immunsvaret mot tumören. Ett annat sätt att stimulera tumörimmunitet som nu börjar få genomslag är att använda onkolytiska virus, som både lyserar tumörceller och släpper ut tumörantigen och samtidigt inducerar en pro-inflammatorisk miljö.

Men det stora genombrottet för immunterapi är främst kopplat till terapi som antingen bygger på terapeutisk infusion av autologa T-celler, som antingen expanderats från tumören eller utrustats med chimära antigenreceptorer (CAR), eller terapi som bygger på användande av så kallade checkpointhämmare, antikroppar som neutraliserar negativa feedback-signaler som

hämmar T-cellsaktivering. De vanligaste checkpointhämmarna är α -CTLA4 (e.g. Ipilimumab), α -PDL1 (e.g. Pembrolizumab, Nivolumab) och α -PD1 (e.g. Atezolizumab, Avelumab). Gemensamt för alla dessa typer av immunterapi är att verkningsmekanismen antingen är helt eller delvis beroende av att aktiverade tumörspecifika T-celler tar sig in i tumörvävnaden där de kan känna igen och döda maligna celler.

inte inne i tumören ofta är resistent mot checkpointinhibitorer.

Flera delförklaringar till resistens mot checkpointhämmare har lyfts fram. Om tumörerna är infiltrerade med T-celler men patienten ändå inte svarar på terapi kan detta bero på immunsuppression i tumörmikromiljön som inaktiverar T-cellerna. Låg T-cellsinfiltration i tumören är ofta kopplat till en låg mutationsfrekvens, vilket ger

” Tumörer behöver tillgång till cirkulationssystemet för att kunna växa till och är ofta rikt vaskulariserade, men de blodkärl som försörjer tumörvävnaden påverkas av mikromiljön och har därför ofta en förändrad funktion i jämförelse med normala kärl.

EFFEKTEN KAN UTEBLI HELT

Medan de tekniker som bygger på infusion av autologa T-celler är komplexa och kan behöva utvecklas ytterligare för att tillgodogöra patienter på bred front är checkpointhämmarna lättillgängliga och har redan godkänts för en rad olika cancerformer. Men för de cancerformer där checkpointhämmare godkänts svarar fortfarande bara en andel av patienterna på behandlingen, och för vissa cancerformer uteblir den terapeutiska effekten helt. En större förståelse för varför en del patienter svarar på behandlingen och inte andra kan leda till identifiering av prognostiska biomarkörer och kan också möjliggöra utveckling av nya kombinationsbehandlingar som kan expandera den gruppen som svarar på behandling. Man har sett en klar korrelation mellan var T-cellerna befinner sig i tumören och hur patienterna svarar på terapi. De patienter som har tumörer där T-celler infiltrerar in i tumören svarar i allmänhet bättre på terapi medan patienter med tumörer som är exkluderade från T-celler eller där T-cellerna återfinns endast i tumörkanten men

få effektiva tumörantigen för immunsystemet att känna igen. I de tumörer där T-celler återfinns i kanterna runt tumören kan problemet istället handla om att tumörkärnen inte är kapabla att rekrytera T-celler in i tumören, och i dessa fall kan känsligheten återställas med en blodkärlsriktad behandling.

SÄMRE ÄN NORMALA BLODKÄRL

Tumörer behöver tillgång till cirkulationssystemet för att kunna växa till och är ofta rikt vaskulariserade, men de blodkärl som försörjer tumörvävnaden påverkas av mikromiljön och har därför ofta en förändrad funktion i jämförelse med normala kärl (Figur 1).

Alla växande vävnader behöver ha tillgång till blodkärl för att försörjas med syre och näringsämnen och transportera bort avfallsprodukter. Brist på tillräcklig syresättning leder till stabilisering av Hypoxia Inducible Factor (HIF)-1 α , en transkriptionsfaktor som styr uttrycket av en rad pro-angiogena gener inklusive den som kodar för Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). VEGF diffunderar i vävnaden och binder till VEGF-receptor

(VEGFR)2 på närliggande blodkärl, vilket stimulerar endotelcellerna att bilda nya grenar från dessa blodkärl som växer in mot tumörvävnaden. Tumörer kan också stimulera kärlbildning genom att stimulera att blodkärl delar på sig på längden, en process som innefattar bildandet av så kallade intraluminala pelare och expansion av kärlen. Alternativt kan tumörcellerna växa invasivt runt redan existerande blodkärl. I många fall sker flera av dessa processer samtidigt, och tumören kan också förändras över tid och exempelvis gå från att främst inducera blodkärl till att växa invasivt.

KAN GE UPPHOV TILL ÖDEM

Oavsett hur blodkärlen bildats i tumören påverkas de av tillväxtfaktorstimulering i tumörens mikromiljö, och fungerar därför generellt inte på samma sätt som normala blodkärl. Blodkärl är specialiserade för sin miljö i olika organ, och kan plastiskt ändra form och funktion beroende på stimulering från omgivningen. Tumörkärl påverkas i olika grad av den specifika miljö som tumören framkallat, framförallt genom parakrin signalering, och förändringen i kärlen bidrar sedan till att etablera miljön. Cell-cell-kontakterna mellan endotelcellerna är ofta sämre i tumörkärl, kärlen är därför mer permeabla

vilket kan leda till ödem. Kapillärernas pericyt-inkläddning kan vara bristfällig, och kärllumen är ofta förstörad och mycket oregelbundet med frekventa intraluminala pelare. Kärlnätet är oregelbundet och blodflödet kan vara heterogent i tumören över tid. En illa fungerande kärlbädd ger upphov till intermittent hypoxi och ytterligare produktion av pro-angiogena faktorer, vilket leder till en ond cirkel. Eftersom tumörbiologin kan skilja sig markant både mellan och inom en diagnosgrupp är också tumörkärlen påverkade i olika grad och har specifika karakteristiska drag. Men generellt har tumörkärl ett förändrat genuttryck som är mer inriktat på kärlbildning än stabilitet och immuncellsrekrytering.

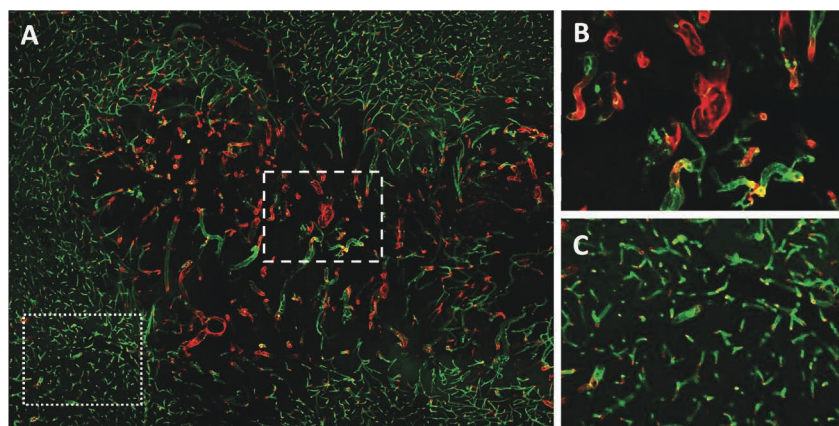
STYR REKRYTERING AV T-CELLER

Det adaptiva immunförsvaret mot cancer bygger på att B- och T-celler med

” Det adaptiva immunförsvaret mot cancer bygger på att B- och T-celler med rätt specificitet aktiveras av antigenpresenterande celler som tagit upp tumörantigen och visar dessa på sin cellyta.

rätt specificitet aktiveras av antigenpresenterande celler som tagit upp tumörantigen och visar dessa på sin cellyta. Detta sker i lymfoida organ, och framförallt i de lymfknutor som dränerar tumören. T-celler som blir aktiverade i lymfoida organ lämnar därefter lymfknutan via efferenta lymfkärl, när blodsystemet via ductus thoracicus och kan sedan ta sig in i det affekterade organet genom att binda till adhesionsmolekyler och kemokiner som blodkärlens endotelceller visar upp på cellytan.

Rekrytering av leukocyter från blodbanan till vävnaden innefattar flera steg, där immuncellerna först stoppas upp och börjar rulla långsammare då de binder till selektiner (P-, E-, L-selektin), och sedan binder till specifika kemokiner och adhesionsmolekyler (ICAM-1, VCAM-1) på endotelcellernas yta, vilket leder till att immuncellerna avstannar på kärlytan och kan transmigrera genom endotelcellerna och stödjecellerna och ta sig in i vävnaden. Processen är nödvändig för att immuncellerna som cirkulerar i kroppen ska ta sig till de specifika vävnader där de behövs. Därför är det också viktigt att uttrycket av selektiner, adhesionsmolekyler och kemokiner, som tjänar som ”inkastare” åt immuncellerna, är strikt reglerad. Endotelcellerna aktiveras av inata immunceller e.g. makrofager, som finns i vävnaden och utsöndrar pro-inflammatoriska faktorer (exempelvis Tumor Necrosis Factor (TNF)- α) när de stimuleras av så kallade pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) vid infektion, eller av så kallade damage-associated molecular patterns (DAMPs) vid vävnadsskada.



Figur 1: Blodkärl i tumörer är abnorma och dysfunktionella. A: Immunfärgning av en mushjärna med GL261 gliom. Blodkärlen är färgade med en antikropp mot CD31 (rött) och de perfunderade kärlen är också inmärkt med ett lektin (grönt) som injicerats intravenöst. Blodkärl i tumören (streckad linje och förstörade i B) är dilaterade och oregelbundna och en stor andel av kärlen är inte perfunderade. Blodkärlen i den normala delen av hjärnan (prickad linje och förstörade i C) är smalare med en regelbunden struktur och är fullständigt perfunderade. Mikroskopbild av Hua Huang.



••• Tema – immunterapi

I tumörer är det system som ska initiera leukocytrekrytering intakt, det vill säga tumörbildning ger DAMPs som aktiverar inna immunceller, men tyvärr svarar tumörendotelet dåligt på dessa signaler. Detta beror på crosstalk mellan pro-angiogen signalering via VEGFR2 och pro-inflammatorisk signalering via TNF- α -receptorn, där VEGFR2-inducerade signalvägar hämmar aktivering av nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF κ B)-signalering (som krävs för upprepning av selektiner, adhesionsmolekyler och chemokiner. Ett högt uttryck av VEGF i tumörvävnad leder därför till att färre leukocyter fäster till endotelcellerna i tumörkärnen och tar sig ut i vävnaden.

certyper, men har ofta en begränsad effektivitet. Ursprungstanken att behandla cancer genom att hindra blodkärlsbildning har visat sig vara svår genomförbar. I många fall verkar effekten av anti-angiogen behandling istället bero på en normalisering av blodkärlens funktion, vilket underlättar tillförseln av annan cancerterapi. Genom att hämma den kontinuerliga VEGF/VEGFR2-signalering som driver på utvecklingen av abnorma blodkärl kan åtminstone en del av tumörkärnens förmåga att svara på inflammatoriska signaler återställas. Den pro-inflammatoriska miljön som redan finns i tumören leder då till att adhesionsmolekyler och chemokiner uttrycks på endotelcellerna, vilket gör det möjligt för T-celler att

handling också förbättra funktionen hos T-cellerna genom att normalisera tumörens mikromiljö. Pre-kliniska studier har visat att behandling med anti-angiogen terapi leder till att blodkärlen får en mer normal morfologi, att blodgenomströmningen i tumören förbättras och att kärnen stabiliseras och blir mindre genomsläppliga. På samma sätt har man kunnat koppla anti-angiogen behandling till en ökad genombildning av tumören, exempelvis hos patienter med glioblastom, men av naturliga skäl är evidensen från humana tumörer lägre och bygger framförallt på korrelationer.

MOTVERKA ETT LÅGT SYRETRYCK

Den sammantagna forskningen stödjer att anti-angiogen terapi i många fall förbättrar blodkärlens funktion i tumören, men manar också till utveckling av biomarkörer för att kunna följa behandlingseffekten och möjliggöra optimering av läkemedelsdosering. En bättre fungerande kärnbädd har ytterligare fördelar för immunterapi då detta kan ge en mikromiljö som förbättrar T-cellernas funktion genom att motverka ett lågt syretryck. T-celler har en minskad förmåga att proliferera och utöva sin effektorfunktion när syretillgången är begränsad. En ytterligare fördel med en förbättrad blodkärlsfunktion i tumören är att bortförsel av metaboliska avfallsprodukter blir mer ef-

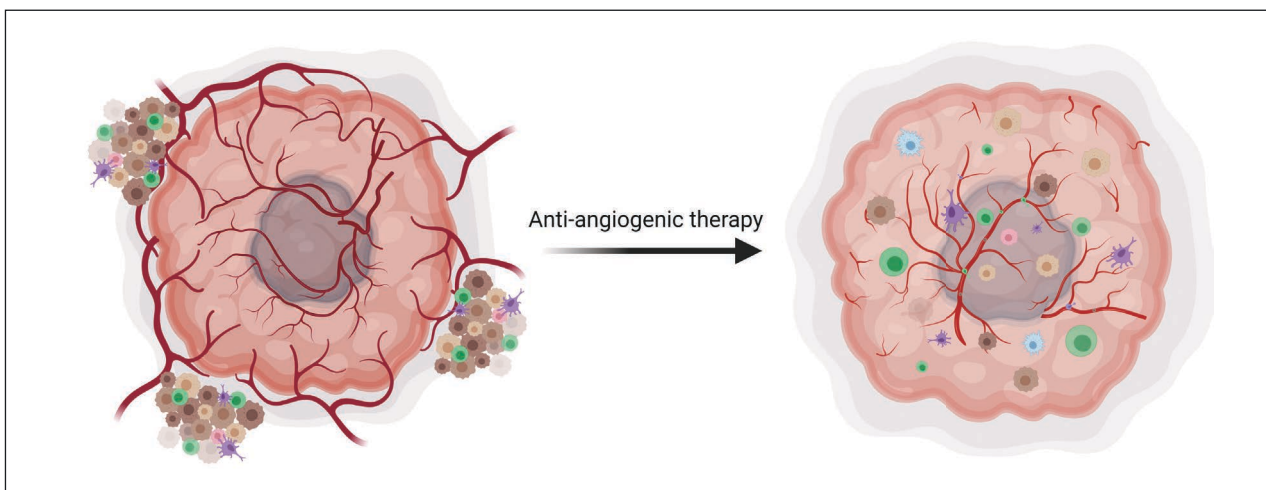
” Vid sidan av att förbättra rekrytering av immunceller kan anti-angiogen behandling också förbättra funktionen hos T-cellerna genom att normalisera tumörens mikromiljö.

FÖRBÄTTRAR TUMÖRENS MIKROMILJÖ

Neutraliserande antikroppar och tyrosinkinasiinhibitorer som hämmar VEGF/VEGFR2-signalering har blivit godkända som anti-angiogen terapi och används i kliniken för en rad can-

binda till blodkärlens lumen, trans migrera in i vävnaden och oskadliggöra tumörceller (Figur 2).

Vid sidan av att förbättra rekrytering av immunceller kan anti-angiogen be-



Figur 2: Anti-angiogen terapi kan leda till att blodkärlen normaliseras, vilket möjliggör att immunceller kan binda till blodkärlens lumen och rekryteras in i tumörvävnaden. Schematisk bild av Mohanraj Ramachandran med Biorender.com.



Tema – immunterapi

ektiv. Ett lågt pH-värde i tumörmikromiljön kan hämma immunaktivering genom att minska funktionen hos cytotoxiska T-celler och samtidigt främja regulatoriska T-celler. En ytterligare aspekt är att flera olika tillväxtfaktorer som visat sig stimulera kärltillväxt, inklusive VEGF, PDGF, HGF och ANGPT2, också kan binda till receptorer på immunceller. En hämning av dessa tillväxtfaktorer kan därför direkt påverka immuncellernas funktion.

KOMBINATION GER POSITIV EFFEKT

Ett flertal prekliniska studier har visat positiva effekter av att kombinera olika typer av immunterapi med anti-angiogen terapi riktad mot VEGF-inducerade signalvägar. Man har kunnat påvisa ett mekanistiskt samband mellan en förbättrad behandlingseffekt och en ökad infiltration av T-celler. Studier har också visat att en antikropp som samtidigt neutraliserar VEGF och ANGPT2-signalering ökar svaret på anti-PD-1 checkpointblockad i prekliniska tumörmodeller, och det är troligt att flera olika kärlnormaliserande behandlingar kommer att ha en liknande effekt.

Det pågår nu ett stort antal kliniska studier där man kombinerar immunterapi med antikroppar som neutraliserar pro-angiogena tillväxtfaktorer eller tyrosinkinasinhibitorer som hämmar deras nedströms signalvägar. Positiva resultat från fas III-studier inkluderar IMBrave150-studien där Atezolizumab (α -PD-L1) i kombination med Bevacizumab (α -VEGF) visat sig vara mer effektivt än sorafenib för behandling av patienter med icke-operabel hepatocellulär cancer. Ett annat exempel är IMmotion151 fas III-studien där man fann att Atezolizumab och Bevacizumab var mer effektivt än sunitinib som terapi för patienter med icke-operabel njurcancer. I Keynote-426 fas III-studien fann man att kombinerad behandling med Axitinib (hämmar VEGFR1-3, PDGFR och c-kit) och Pembrolizumab (α -PD-1) var mer effektivt som behandling av patienter med avancerad njurcancer än sunitinib. Fler tidiga studier i andra typer av cancer har visat lovande resultat, men effektivite-

ten varierar. Det är troligt att kombinationsbehandling framförallt kommer att vara användbar för icke-operabla tumörer där höga nivåer av pro-angiogena faktorer ger upphov till abnorma, dåligt fungerande tumörkärl och en dålig rekrytering av T-celler.

Vid sidan av blodkärlens betydelse för rekrytering av immunceller kan endotelcellerna också direkt påverka T-cellernas funktion genom att uttrycka immunmodulerande molekyler. Ett exempel på detta är enzymet IDO1, vars nivå ökar i endotelceller i tumörer som svar på interferon-signalering från aktiverade T-celler. Uttryck av IDO1 på endotelcellerna tjänar som en negativ feedback-loop som dämpar T-cellsaktivering, och farmakologisk hämning av IDO1 kan förbättra känsligheten för immunterapi. Andra molekyler som uttrycks på tumörendotelet, exempelvis FasL, kan inducera apoptos specifikt i cytotoxiska T-celler, och öka andelen regulatoriska T-celler i tumören. Hämning av FasL-uttryck via inhibition av VEGF och PGE2 ökade andelen cytotoxiska T-celler och minskade tumörtillväxt i prekliniska försök. Vår kunskap om hur specifikt gennuttryck på endotelcellernas yta påverkar T-cellsaktivering i tumören är fortfarande ofullständig. En mer riktad hämning av specifika aspekter av endotelcellernas funktion skulle kunna ge ett skarpare verktyg för att förbättra terapivar.

SAMMANFATTNING OCH

FRAMTIDSUTSIKTER

Att kombinera immunterapi med anti-angiogen behandling som normaliserar blodkärlen har visat lovande resultat i pre-kliniska och kliniska studier, och flera kombinationsbehandlingar förväntas godkännas inom de närmaste åren. En ökad kunskap om hur blodkärl och immunceller interagerar kan leda till ytterligare nya sätt att förbättra immunterapi.

REFERENSER:

Vascular Targeting to Increase the Efficiency of Immune Checkpoint Blockade in Cancer. Georganaki M, van Hooren L, Dimberg A. *Front Immunol.* 2018 Dec 21;9:3081. doi: 10.3389/fimmu.2018.03081.

Tumor Angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. Lugano R, Ramachandran M, Dimberg A. *Cell Mol Life Sci.* 2020 May;77(9):1745-1770. doi: 10.1007/s00018-019-03351-7.

Improving immunotherapy outcomes with anti-angiogenic treatments and vice versa. Khan KA, Kerbel RS. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018 May;15(5):310-324. doi: 10.1038/nrclinonc.2018.9.

Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim TY, Kudo M, Breder V, Merle P, Kaseb AO, Li D, Verret W, Xu DZ, Hernandez S, Liu J, Huang C, Mulla S, Wang Y, Lim HY, Zhu AX, Cheng AL; IMBrave150 Investigators. *N Engl J Med.* 2020 May 14;382(20):1894-1905. doi: 10.1056/NEJMoa1915745.

Patient-Reported Outcomes from the Phase III Randomized IMmotion151 Trial: Atezolizumab + Bevacizumab versus Sunitinib in Treatment-Naive Metastatic Renal Cell Carcinoma. Atkins MB, Rini BI, Motzer RJ, Powles T, McDermott DF, Suarez C, Bracarda S, Stadler WM, Donskov F, Gurney H, Oudard S, Uemura M, Lam ET, Grüllich C, Quach C, Carroll S, Ding B, Zhu QC, Piault-Louis E, Schiff C, Escudier B. *Clin Cancer Res.* 2020 Jun 1;26(11):2506-2514. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-2838.

Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib monotherapy as first-line treatment of advanced renal cell carcinoma (KEYNOTE-426): extended follow-up from a randomised, open-label, phase 3 trial. Powles T, Plimack ER, Soulières D, Waddell T, Stus V, Gafanov R, Nosov D, Pouliot F, Melichar B, Vynnychenko I, Azevedo SJ, Borchellini D, McDermott RS, Bedke J, Tamada S, Yin L, Chen M, Molife LR, Atkins MB, Rini BI. *Lancet Oncol.* 2020 Dec;21(12):1563-1573. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30436-8. Epub 2020 Oct 23.

ANNA DIMBERG, UNIVERSITETSLEKTOR, INST. FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET, ANNA.DIMBERG@IGP.UU.SE

