

# Ny **precisionsmedicinsk**

På senare år har det gjorts stora framsteg i utvecklingen av nya framgångsrika immunterapier för att behandla cancer. Så kallad CAR-T-cellbehandling och behandling med antikroppar är två typer av målriktade immunterapier som har revolutionerat delar av cancervården. Men än kvarstår stora utmaningar med att identifiera proteiner på cancer-cellers yta som mål för immunterapier. Här beskriver professor **Mattias Belting** vid Lunds universitet sin forskargrups arbete på detta högintressanta område.

Immunterapier har revolutionerat behandlingen av flera cancertyper och kan redan idag i vissa fall bota patienter med avancerad sjukdom. Gemensamt för immunterapier med CAR-T-celler och antikroppar, i synnerhet antikropp-drog-komplex (eng. antibody-drug-complex, ADC) och antikropp-radionuklid-komplex för radioimmunterapi (RIT), är att de riktar sig mot specifika målproteiner som uttrycks på ytan av tumörceller<sup>1-3</sup>. Tumörytantigener integrerade med plasmamembranet är därför högintressanta mål för immunterapier vid cancer (Figur 1). På senare år har det gjorts stora framsteg i utvecklingen av metoder för design av smartare CAR-T-celler och antikroppar. Den stora utmaningen är att uttrycket av tumörytantigener skiljer sig åt mellan tumörer, men även inom samma tumör. Vidare förändras uppsättningen ytantigener under tumörens evolution, framförallt som svar på stressfak-

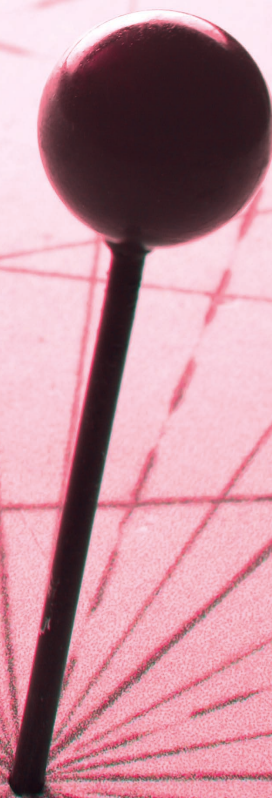
 **På senare år har det gjorts stora framsteg i utvecklingen av metoder för design av smartare CAR-T-celler och antikroppar. Den stora utmaningen är att uttrycket av tumörytantigener skiljer sig åt mellan tumörer, men även inom samma tumör.**

torer i mikromiljön, såsom hypoxi och acidosis<sup>4,5</sup>. Onkologisk behandling med cytostatika och strålbehandling som selekterar fram behandlingsresistenta cellkloner utgör ytterligare en viktig evolutionär mekanism som ritar om tumörens ytantigenlandskap. Det finns således ett stort behov av nya strategier som med hög precision kan identifiera tillgängliga, behandlingsbara tumörytantigen på individnivå.

#### **UTVECKLAT NY TEKNOLOGI**

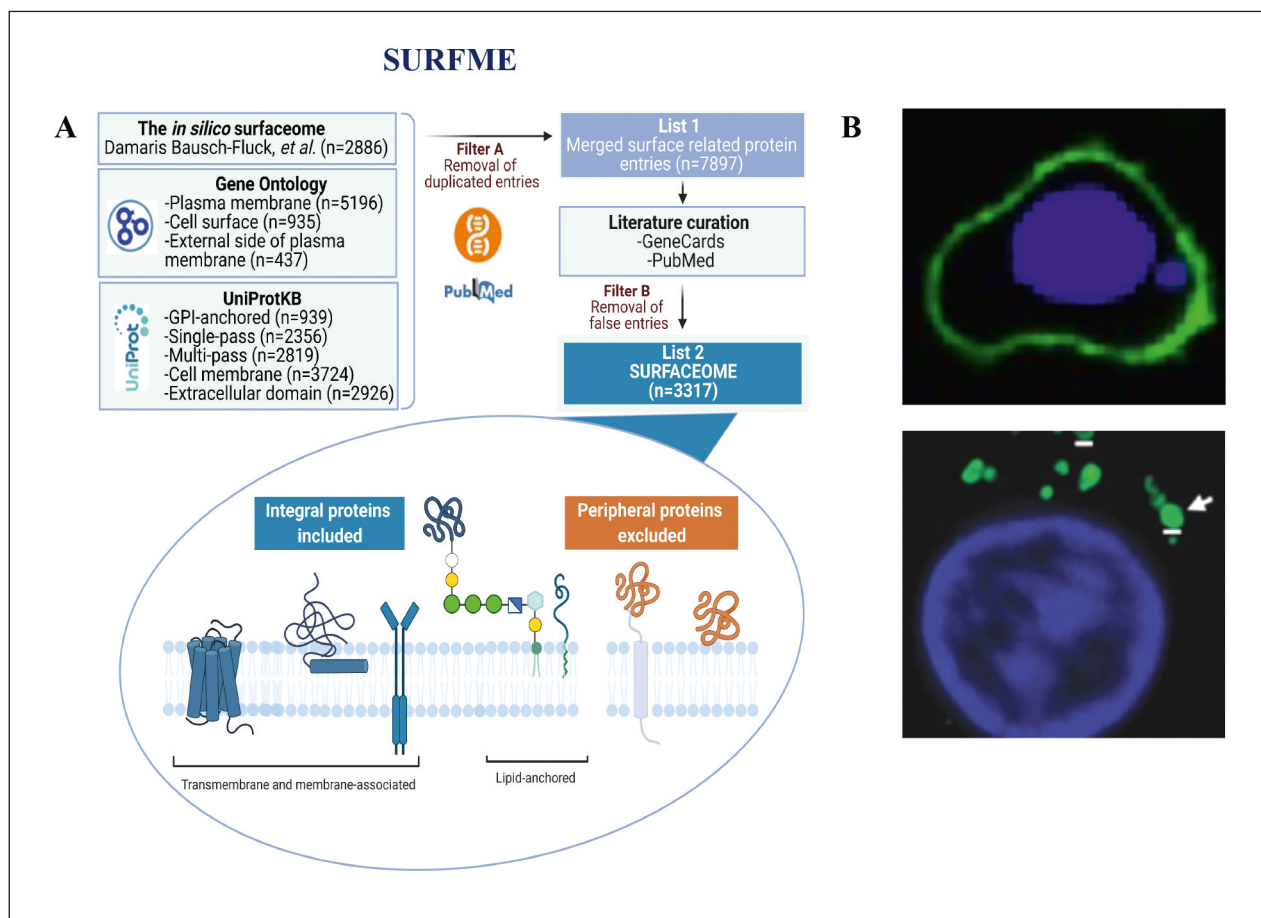
Även om framstegen inom DNA- och RNA-sekvensering möjliggjort transkriptionell tumörprofilering med hög upplösning och känslighet, utgör den svaga korrelationen med det faktiska uttrycket av proteiner en uppenbar, begränsande faktor. Vidare innebär proteomikbaserade metoder för analys av hela tumörbulken förlust av spatial information och begränsad sensitivitet för lågut-

# **teknologi** för immunterapi





## ••• immunterapi



**Figur 1. SURFME:** *In silico* filter för ytproteomet. **A)** Baserat på tillgängliga databaser (Gene Ontology, Uniprot) samt en genomgång av PubMed konstruerades ett filter för klassificering av membranintegrerade proteiner med en extracellulär domän. Dessa proteiner (n=3317) utgör den teoretiska repertoaren av överuttryckta tumörytanten som möjliga mål för immunterapi.

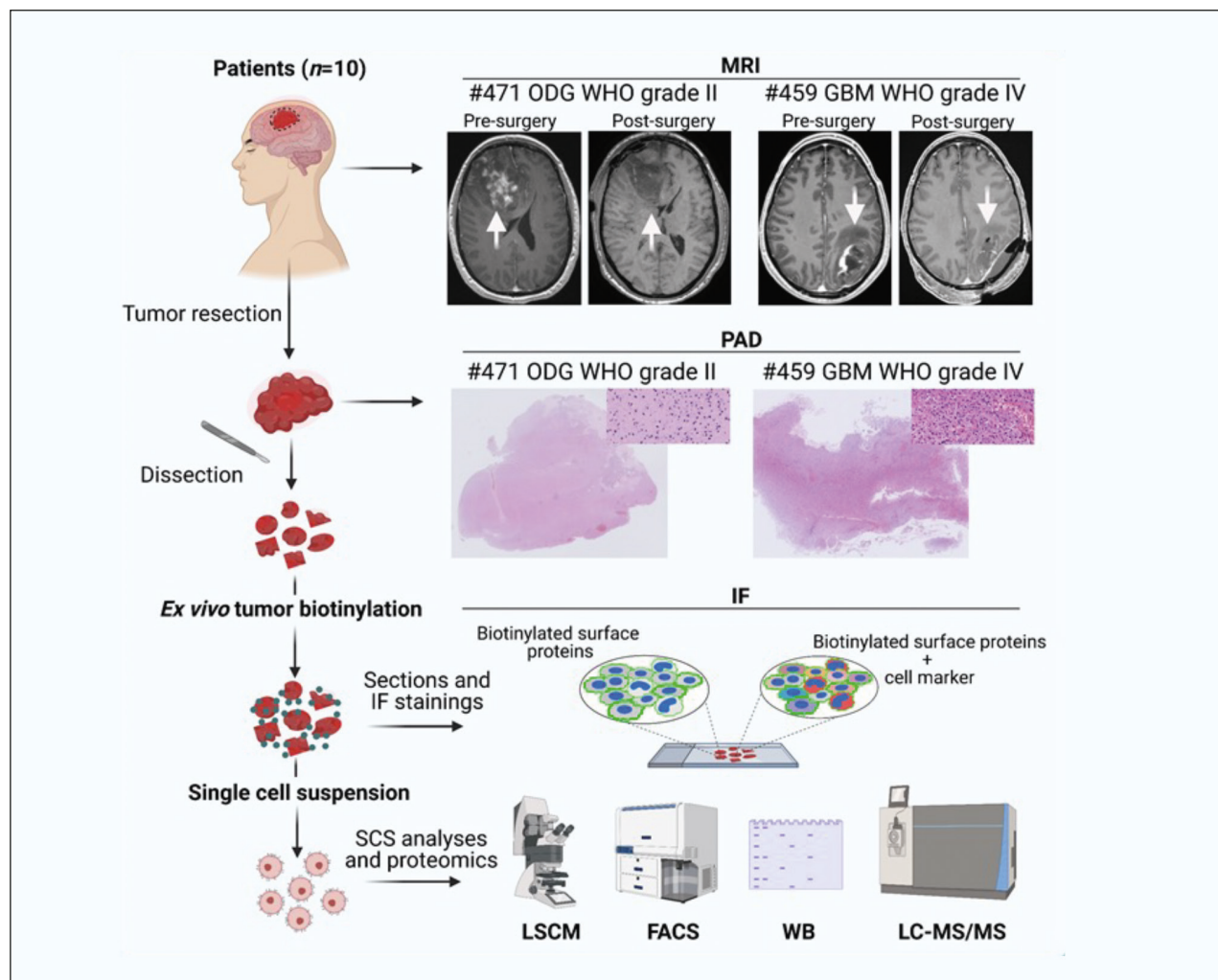
**B) TS-MAP,** Tumor Surfaceome Mapping: Tekniken baseras på reversibel kemisk inmärkning av ytproteomet (övre bilden) respektive den fraktion av ytproteiner som transporteras in i cancercellen genom endocytos (nedre bilden; pilen markerar en ca 150 nm stor endocytisk vesikel visualiserad med super-resolution konfokal fluorescensmikroskopi). Ytproteiner med hög endocytosaktivitet är intressanta mål för antikropp-drog-komplex (ADC) och antikropp-radionuklid-komplex.

tryckta, hydrofoba ytproteiner integrerade med cellens lipidmembran. Det är därför angeläget att utveckla tekniker som anrikar membranuttryckta ytproteiner och samtidigt sorterar bort störande signaler från höguttryckta intracellulära proteiner samt proteiner i extracellulär matrix. I syfte att möta dessa utmaningar har undertecknad, professor i onkologi vid Lunds universitet, och överläkare i onkologi vid Skånes Universitetssjukhus, och min forskargrupp under senare år utvecklat en ny teknologi, "Tumor Surfaceome Mapping, TS-MAP"<sup>5, 6</sup>. TS-MAP möjliggör direkt analys av tillgängliga tumörytanten i intakt tumörvävnad från patienter (Figur 2). En specifik fördel med TS-MAP-teknologi är dels att den ger en heltäck-

ande bild av ytanten som uttrycks på cancercellers yta, men också funktionell information om de specifika ytanten som har en hög kapacitet att ta sig in i cancerceller. Detta är angeläget, eftersom de just nu mest intressanta, antikropps-baserade läkemedlen inom onkologin bygger på kombinationen av en målsökande antikropp, som känner igen tumörytanten, kopplade till intracellulärt verkande substanser (cytostatika, radionuklider, terapeutiska nukleinsyror). Behandlingsprincipen kan således liknas vid en målstyrd missil med förmåga att specifikt leverera en toxisk last till cancercellerna med begränsade systemiska effekter och skador på intilliggande, frisk vävnad<sup>7</sup>.

### FOKUS PÅ GLIOBLASTOM

Hittills har gruppen, i samarbete med neurokirurger i Lund, fokuserat på den vanligaste och allvarligaste formen av malign hjärntumör, glioblastom, för vilken det idag saknas effektiva behandlingar. Trots multimodal behandling med kirurgi, strålbehandling, cytostatika och tumor treating fields finns ingen möjlighet till bot<sup>8</sup>. Patientgruppen som helhet har en medianöverlevnad på 12–15 månader. TS-MAP-teknologin utvärderades i en pilotstudie med 10 patienter med aggressiva hjärntumörer, inklusive glioblastom. Resultaten visade en stor variation av tillgängliga ytanten mellan patienttumörerna. Variationen i proteinuttrycket var oberoende av etablerade, histopatologiska tumörfaktorer. Re-



**Figur 2. TS-MAP i intakta patienttumörer.** Tillsammans med SURFME, möjliggör TS-MAP-tekniken global kartläggning av tillgängliga tumör-  
ytagentigen i intakt vävnad från patienter. Ytproteomet och det endocyterade ytproteomet (se Figur 1) märks in och affinitetsupprenas från intracellu-  
lära proteiner och proteiner i omgivande stroma för vidare analys med avancerad masspektrometri. Identifierade proteiner valideras i tumörvävnad  
med olika metoder för immunprofilering (FACS, immunhistokemi) och selektas för funktionella behandlingsstudier med ADC och CAR-T-celler.

sultaten ger således starkt stöd för behovet av avancerade teknologier som kartlägger möjliga behandlingsmål på proteinnivå samt på individnivå. Studierna har gett flera, metodologiska insikter för framtida forskning inom området. Primära tumörceller från patientvävnad visade sig fundamentalt ändra sitt ytlandskap när de togs ur sin naturliga, tredimensionella miljö för odling under konventionella, tvådimensionella förhållanden. De metoder som tidigare utvecklats för att identifiera ytagentigen eller selektera fram antikroppar riktade mot tumörceller använder i stor utsträckning 2-dimensionella cellmodeller<sup>9,10</sup>, vilket enligt de aktuella studierna ger en missvisande bild som inte återspeglar situationen i patienttumörer.

**Precisionsmedicin inom immun-  
terapi av cancer är ett lovande, men  
också mycket utmanande område. De aktu-  
ella studierna pekar på möjligheterna med  
och behovet av individspecifika strategier för  
bred kartläggning av variationen av tumör-  
ytagentigen i enskilda patienttumörer.**

Med dessa insikter vidareutvecklar nu gruppen TS-MAP-teknologin för mer avancerade tredimensionella *ex vivo*-modeller som bättre återspeglar maligna tumörers mikromiljö. Pågående studier syftar bland annat till att identifiera

ytagentigen som överuttrycks av "stress-tåliga" cellkloner med god anpassningsförmåga till hypoxi och acidosis, men även för strålbehandling och cytostatika. Stressanpassade tumörceller är invasiva och ofta resistenta mot alla former av



tillgängliga cancerbehandlingar. I ännu opublicerade studier har gruppen identifierat flera överuttryckta tumörytantigen i stressresistenta cellkoner som möjliga kandidater för vidare läkemedelsutveckling.

#### UTMANANDE OMRÅDE

Precisionsmedicin inom immunterapi av cancer är ett lovande, men också mycket utmanande område. De aktuella studierna pekar på möjligheterna med och behovet av individspecifika strategier för bred kartläggning av variationen av tumörytantigen i enskilda patienttumörer. TS-MAP är kompatibel med färsk tumörvävnad samt sfäroider och organoider från primära patienttumörkulturer som ger en god representation av den onkogenetiska multiklonaliteten och transkriptionella mångfalden i maligna tumörer. Framtida studier syftar även till att belysa hur den onkogenetiska profilen och spatiala celldistributionen samverkar för att forma tumörytantigenlandskapet i glioblastom och andra solida tumörer.

Sammanfattningsvis har gruppen etablerat en metodplattform, TS-MAP, som är allmänt tillämplig för global kartläggning av tumörytantigener som möjliga behandlingsmål för individanpassad immunterapi av solida tumörer.

**Fotnot:** Studien har finansierats av Vetenskapsrådet, Cancerfonden, Barcancerfonden, ALF, EUs Horizon 2020 CanFaster, Fru Berta Kamprads Stiftelse, Sjöbergstiftelsen, SUS donationsfonder, samt en donation från Viveca Jeppsson, och gjorts i samarbete med Bio-MS, samt Uppsala universitet.

#### REFERENSER

1. R. C. Larson, M. V. Maus, Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. *Nat. Rev. Cancer* 21, 145–161 (2021).

2. A. Beck, L. Goetsch, C. Dumontet, N. Corvaia, Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates. *Nat. Rev. Drug Discov.* 16, 315–337 (2017).

3. E. Deutsch, C. Chargari, L. Galluzzi, G. Kroemer, Optimising efficacy and reducing toxicity of anticancer radioimmunotherapy. *Lancet Oncol.* 20, e452–e463 (2019).

4. K. K. Leung, et al., Broad and thematic remodeling of the surfaceome and glycoproteome on isogenic cells transformed with driving proliferative oncogenes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 117, 7764–7775 (2020).

5. E. Bourseau-Guilmain, et al., Hypoxia regulates global membrane protein endocytosis through caveolin-1 in cancer cells. *Nat. Commun.* 7 (2016).

6. V. Governa, et al., Landscape of surfaceome and endocytome in human glioma is divergent and depends on cellular spatial organization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 119, E2114456119. (2022).

7. P. J. Carter, G. A. Lazar, Next generation antibody drugs: Pursuit of the “high-hanging fruit.” *Nat. Rev. Drug Discov.* 17, 197–223 (2018).

8. K. Aldape, et al., Challenges to curing primary brain tumours. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 16, 509–520 (2019).

9. J. K. Lee, et al., Systemic surfaceome profiling identifies target antigens for immune-based therapy in subtypes of advanced prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E4473–E4482 (2018).

10. D. Bausch-Fluck, et al., The in silico human surfaceome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, E10988–E10997 (2018).

MATTIAS BELTING, PROFESSOR I ONKOLOGI VID LUNDS UNIVERSITET, ÖVERLÄKARE I ONKOLOGI VID SKÅNES UNIVERSITETSSJUKHUS, MATTIAS.BELTING@MED.LU.SE

