



Nieuwe behandelmethode voor hersentumoren

Tonny Lagerweij

VU medisch centrum, Neurochirurgie, Neuro-oncology Research Group; t.lagerweij@vumc.nl

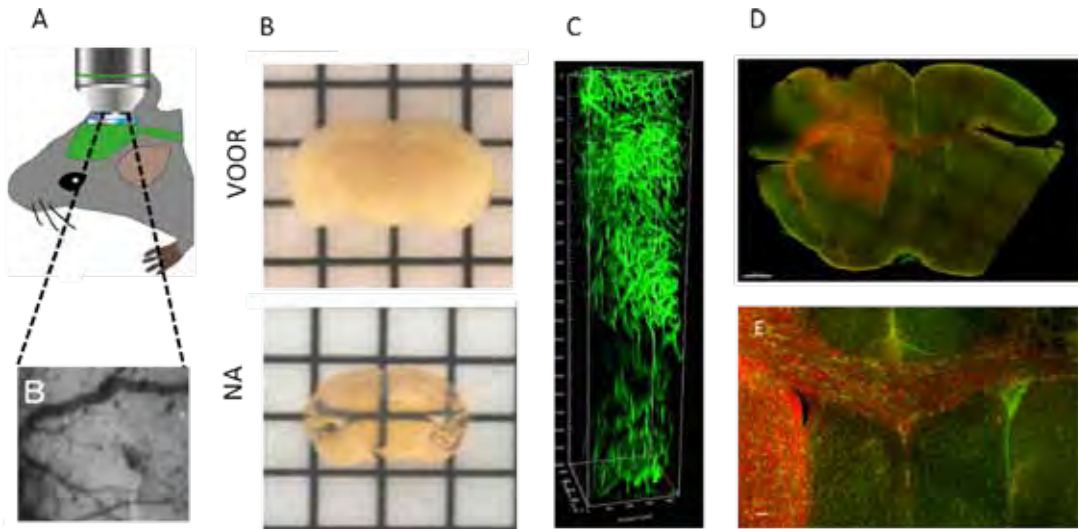
Moeilijk te genezen

Er zijn vele vormen van kwaadaardige hersentumoren, zowel bij volwassenen als ook bij kinderen. Deze tumoren zijn vaak slecht te behandelen, onder andere omdat de tumorcellen de hersenen infiltreren. Hierdoor zijn ze onbereikbaar voor de chirurg waardoor er na een operatie altijd tumorcellen achterblijven. Om deze achtergebleven tumorcellen te verwijderen, kan er gebruik gemaakt worden van chemotherapie en bestraling. Deze therapieën beschadigen echter ook vaak het omliggende hersenweefsel. Met name bij jonge kinderen kan bestraling daarom niet worden toegepast. Maar ook bij volwassenen zijn de behandelingsmethoden niet efficiënt en leiden ze vaak tot ernstige bijwerkingen. Eén van de factoren die de behandeling van hersentumoren bemoeilijkt, is de aanwezigheid van de bloed-hersen-barrière. Deze barrière voorkomt normaal gesproken dat schadelijke stoffen de hersenen bereiken. Bij de behandeling van hersentumoren voorkomen ze echter ook dat de geneesmiddelen de tumor bereiken. Hierdoor zijn hersentumoren vaak niet gevoelig voor behandeling met geneesmiddelen die wel bij andere tumoren effectief zijn gebleken.

We hebben de afgelopen jaren onderzoek gedaan naar mogelijkheden om behandeling van hersentumoren te verbeteren, door geneesmiddelen direct in het tumorgebied te injecteren, door therapieën toe te passen die effecten van bestraling te versterken en door een principe toe te passen om te voorkomen dat tumoren ongevoelig worden voor behandeling met chemotherapeutica. Voor al deze onderzoeken hebben we gebruik gemaakt van proefdiermodellen. Om te kunnen vaststellen of de therapie effectief was, hebben we gebruik gemaakt van beeldvormende technieken zoals bioluminescentie (waarbij we cellen voorzien hebben van een enzym uit een vuurvliegje zodat de tumor licht geeft), MRI, PET (injectie van radio-actieve signaalstoffen) en geavanceerde microscopische technieken. De resultaten van dit onderzoek zijn deels gepubliceerd (1-5) en gebundeld in een proefschrift (6). Dit artikel is hier een samenvatting van.

Beter microscopische technieken

Om de hersentumoren goed in beeld te krijgen, hebben we gebruik gemaakt van een aantal beeldvormende technieken. Microscopische technieken hebben we gebruikt om aan te tonen »



Afbeelding 1. A. Door een raampje in de schedel (cranial window) is het mogelijk om de bloedvaten in de hersenen van een levende muis te bestuderen. B. Door middel van de iDISCO techniek is het mogelijk om hersensweefsel doorzichtig te maken. C. In het transparante weefsel kunnen we de bloedvaten in grote diepte zichtbaar te maken (zie ook filmpjes op <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10456-017-9565-6#SupplementaryMaterial>) D, E. Hersentumoren (rood) kunnen in dit transparante weefsel goed zichtbaar worden gemaakt en er kan worden bestudeerd hoe ver de tumorcellen van een bloedvat (groen) af zitten.

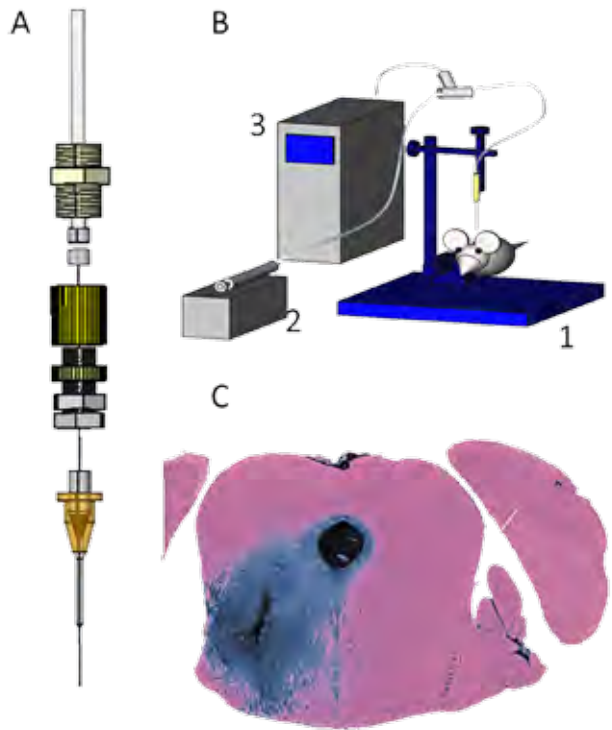
hoe ver de verschillende tumoren vanaf een bloedvat zitten in de verschillende delen van de hersenen. Het is mogelijk om een raampje in de schedel van een muis te plaatsen en hierdoor de bloedvaten in de hersenen aan te tonen (afb. 1). Maar helaas kun je met deze methode maar een klein gedeelte van de hersenen in kaart brengen. Daarom hebben we een techniek gebruikt waarbij we -na doden van het dier- de hersenen doorzichtig maken. Door de bloedvaten en tumorcellen te kleuren met fluorescente labels, zijn we nu in staat om met 2-foton microscopie in grote delen van de hersenen de bloedvaten en de tumorcellen aan te kleuren en zichtbaar te maken.

Convection-enhanced delivery (CED)

Omdat de tumorcellen in het hersensweefsel zitten, dus achter de bloed-hersen-barrière, hebben we de mogelijkheid van 'convection-enhanced delivery' (CED) getest om de geneesmiddelen toch bij de tumorcellen te krijgen. CED wil zeggen dat je onder een lichte druk het geneesmiddel direct in het tumorgebied injecteert. Met deze techniek hoeft het geneesmiddel dus niet in staat te zijn om zelfstandig over de bloed-hersen-barrière te gaan, maar wordt het geneesmiddel direct op de juiste locatie geïnjecteerd. Een ander voordeel van deze manier van toedienen is dat de bijwerkingen vaak minder zijn dan wanneer het geneesmiddelen via een infuus of als pil wordt toegediend.

Voor het onderzoek hebben we CED in de hersenstam van de muis uitgevoerd. Omdat deze hersenstam heel klein is, hebben we zelf een CED-catheter ontwikkeld (afb. 2). Deze catheter hebben we vervolgens gebruikt om de chemotherapie, carmustine, toe te dienen in de hersenstamtumor. Eerst hebben we bepaald of de techniek veilig was. Dit hebben we gedaan door alleen het oplosmiddel toe te dienen. Nadat dit veilig was gebleken hebben we vervolgens carmustine toegediend. Het bleek dat dieren die met de CED-methode met carmustine waren behandeld langer in leven bleven dan de dieren die alleen het oplosmiddel toegediend hadden gekregen.

Afbeelding 2. A. Catheter voor convection-enhanced delivery (CED). B. Opstelling voor de CED-injecties, bestaande uit een stereotactisch frame (1), een pomp (2) en een drukmeter (3). C. Voorbeeld van een injectie met trypaan blauw in de hersenstam van een BALB/c muis.

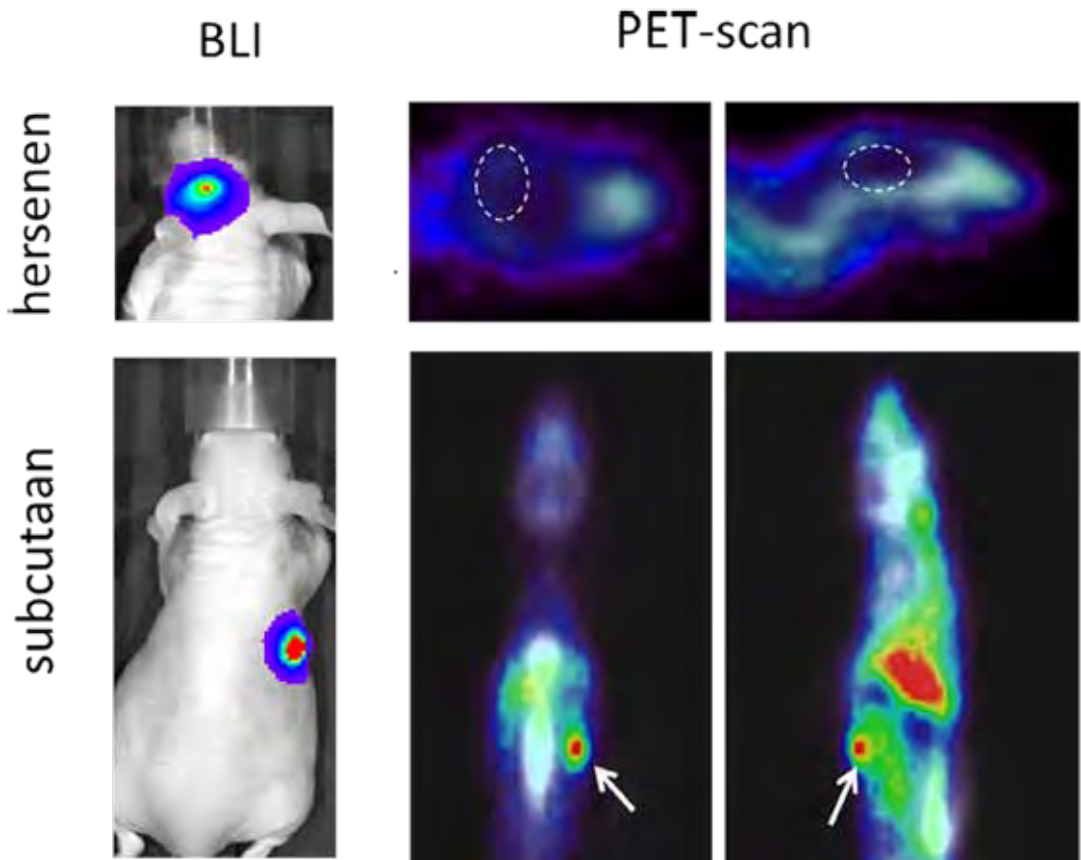


Doxorubicine

Vervolgens hebben we, met gebruik van dezelfde CED-techniek een ander geneesmiddel toegediend. Zo hebben we bepaald of de toediening van doxorubicine effectief is voor de behandeling van twee verschillende soorten hersentumoren die veel bij kinderen voorkomen, namelijk diffuus intrinsiek pons glioom (DIPG), welke in de hersenstam ontstaat, en hoog-gradige gliomen (hGG), welke in de grote hersenen ontstaan. Eerst hebben we met behulp van een panel van geneesmiddelen bepaald voor welke behandelingen deze tumorcellen gevoelig zijn. Doxorubicine kwam uit deze testen naar voren als een geschikt geneesmiddel voor deze vormen van kanker. Doxorubicine kan toegediend worden als 'vrij-doxorubicine' -direct opgelost in het oplosmiddel- of in 'PEGylated liposomes'-hierbij zit het doxorubicine verpakt in liposomen, een soort kleine blaasjes. We vonden dat beide toedieningsvormen van doxorubicine zeer schadelijk waren wanneer het middel toegediend werd in de hersenstam. Wanneer dezelfde middelen werden toegediend in de grote hersenen, waren de bijwerkingen milder. Hierdoor kon er in de grote hersenen een tien maal hogere dosis worden toegediend. Door deze schadelijke bijwerkingen was de effectiviteit van doxorubicine afwezig in de hersenstamtumoren en waren de gunstige effecten in hGG-tumoren in de grote hersenen zeer beperkt.

PET-scan

Ook hebben we gebruik gemaakt van een PET-scan (afb. 3). Dit is een positron emitting tomography; je kunt hiermee zien waar een radioactieve signaalstof aanwezig is. We hebben deze techniek gebruikt om vast te stellen of bevacizumab, een geneesmiddel gericht tegen VEGF -een signaalstof waarmee de tumor zorgt dat er nieuwe bloedvaten worden gevormd-, aankomt bij de tumorcellen. We konden vaststellen dat de hoeveelheid VEGF die tumorcellen produceren afhankelijk is van de locatie waarin deze tumor zich bevindt. Hiervoor had- >>



Afbeelding 3: Met behulp van bioluminescentie hebben we vastgesteld of er tumorgroei aanwezig was in de hersenen en subcutaan. Vervolgens is het radioactieve ^{89}Zr -bevacizumab toegediend. Er was ophoping van deze radioactieve stof in de subcutane tumoren (rood signaal, bij pijltjes), maar in de hersenen was de radioactieve stof niet detecteerbaar (cirkels zijn gebied waar de tumor geplaatst is).

den we tumorcellen onderhuids geïnjecteerd, of dezelfde tumorcellen in de hersenen. De radioactieve signaalstof, ^{89}Zr -bevacizumab, was aantoonbaar in de onderhuids geïnjecteerde tumoren, maar niet in de tumoren welke in de hersenen zaten. Vervolgens hebben we met een in situ hybridisatietechniek vastgesteld dat in de onderhuids geïnjecteerde tumoren het VEGF aanwezig was, maar dat in de tumoren in de hersenen dit VEGF niet geproduceerd werd. In deze experimenten hebben we gebruik gemaakt van diverse beeldvormende technieken zoals MRI om te zien of de bloed-hersen-barrière nog intact was en van bioluminescentie om de tumorgroei te kunnen vaststellen.

Versterken van bestraling

Een andere mogelijk nieuwe therapie tegen hersentumoren is het versterken van bestraling, door bestraling te combineren met een radiosensitizerende stof. We hebben van 960 verschillende stoffen getest of ze in staat zijn om de effecten van bestraling te versterken. Uit deze testen kwam de stof quercetine naar voren als een effectieve 'radiosensitizer'. Dit 'radiosensitizerende' effect werd bevestigd in een aantal cellijnen voor een kindersentumor: medulloblastoma cellijnen D283 en D458. Het bleek dat quercetine al in zeer lage concentraties in staat was om de cellen te sensibiliseren voor bestraling. Bovendien bleek dat quercetine geen invloed had op de celdeling van normale humane fibroblast cellen of neurale precursor cellen.

Met behulp van een proefdiermodel, waarbij we menselijke medulloblastome tumorcellen in de hersenen van een muis hadden geïnjecteerd, hebben we vervolgens vastgesteld dat wanneer je quercetine toedient rondom het moment van bestraling, dit een versterking van het bestralingseffect geeft en de dieren langer blijven leven dan een controle groep die geen quercetine heeft gehad.

Voorkomen van ongevoeligheid

Ten slotte hebben we een nieuw principe gevonden dat we kunnen gebruiken om te voorkomen dat een tumor ongevoelig wordt voor behandeling met chemotherapeutica. Hiervoor is de rol van 'extracellular vesicles' (EVs) van belang. EVs zijn kleine blaasjes die door alle cellen worden uitgescheiden. We hebben aangetoond dat glioblastoma EVs van de ene cel kunnen worden opgenomen door een andere cel. Deze opname van EVs zorgt voor een toename van het aantal tumorcellen en dat de tumorcellen minder gevoelig worden voor behandeling met temozolomide chemotherapie. Vervolgens hebben we een RNAi screeningstechniek gebruikt om te bepalen via welke receptoren de tumorcellen EVs kunnen binden. Uit deze screeningstechniek kwam het chemokine CCR8 naar voren als een effectieve receptor voor EVs. We hebben vastgesteld dat deze binding van EVs verloopt via een drie-staps interactie tussen het CCR8 op de tumorcellen, glycanen op de EVs en het chemokine CCL18 wat uitgescheiden wordt door de tumorcellen en hun omgeving. Deze interactie kan worden geremd met een stof genaamd R243. Dit is een 'small-molecule inhibitor' van CCR8. Wanneer we R243 toedienden in combinatie met temozolomide in een muismodel, werd voorkomen dat de tumor ongevoelig werd voor temozolomide behandeling en leefden de dieren langer dan wanneer ze maar één van de middelen toegediend kregen.

Tot slot

De studies die hier kort gepresenteerd zijn, benadrukken de relevantie van proefdiermodellen en beeldvormende technieken in het veld van hersentumoronderzoek. De verkregen inzichten en technieken vormen een mooi startpunt voor nieuwe onderzoeksprojecten gericht op de verbetering van de behandeling van hersentumorpatiënten.

Literatuur

- 1 Sewing ACP, Lagerweij T, van Vuurden DG, *et al.* (2017) *Preclinical evaluation of convection-enhanced delivery of liposomal doxorubicin to treat pediatric diffuse intrinsic pontine glioma and thalamic high-grade glioma.* Journal of Neurosurgery: Pediatrics 19: 518–530. Internet: 10.3171/2016.9.PEDS16152
- 2 Lagerweij T, Dusoswa SA, Negrean A, *et al.* (2017) *Optical clearing and fluorescence deep-tissue imaging for 3D quantitative analysis of the brain tumor microenvironment.* Angiogenesis. Internet: 10.1007/s10456-017-9565-6
- 3 Jansen MHA, Lagerweij T, Sewing ACP, *et al.* (2016) *Bevacizumab targeting diffuse intrinsic pontine glioma: Results of ⁸⁹Zr-bevacizumab PET imaging in brain tumor models.* Molecular Cancer Therapeutics 15. Internet: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0558
- 4 Sewing ACP, Caretti V, Lagerweij T, *et al.* (2014) *Convection enhanced delivery of carmustine to the murine brainstem: A feasibility study.* Journal of Neuroscience Methods 238. Internet: 10.1016/j.jneumeth.2014.09.020
- 5 Lagerweij T, Hiddingh L, Biesmans D, *et al.* (2016) *A chemical screen for medulloblastoma identifies quercetin as a putative radiosensitizer.* Oncotarget. Internet: 10.18632/oncotarget.7980
- 6 Lagerweij T (2017) *Brain Tumors – preclinical imaging and novel therapies.* Proefschrift. Internet: <http://dare.ubvu.vu.nl/handle/1871/55524>

«