

# Biomarkers voor immuuntherapie

Leonie Kroeze

Klinisch moleculair bioloog in de pathologie i.o.

Radboudumc Nijmegen

Symposium immuuntherapie, 11 februari 2020

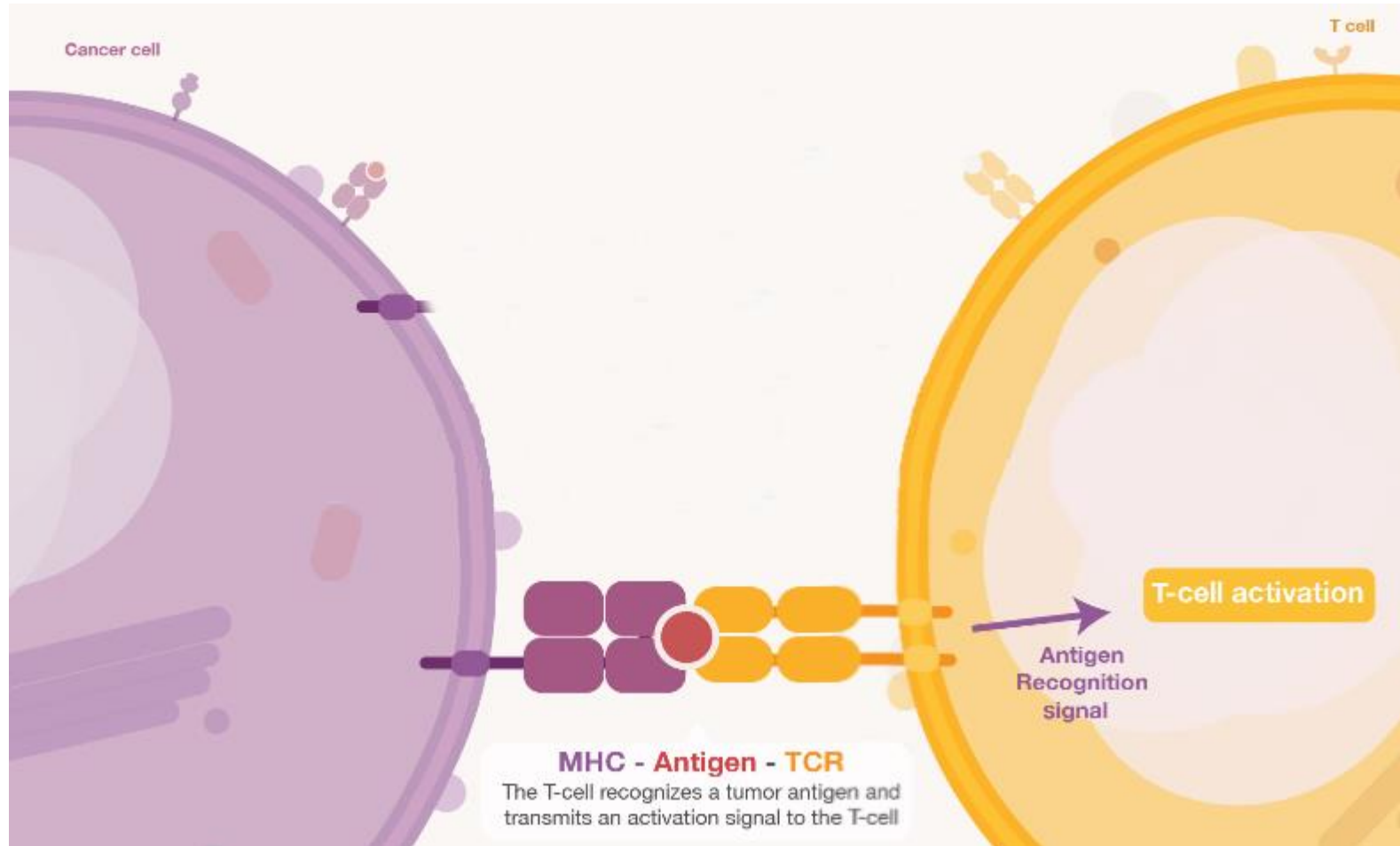
# Disclosures

---

|                                                                                                                                                                                                      |                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| (potentiële) belangenverstrengeling                                                                                                                                                                  | Geen                                                                            |
| Voor bijeenkomst mogelijk relevante relaties met bedrijven                                                                                                                                           | Bedrijfsnamen                                                                   |
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Sponsoring of onderzoeksgeld</li><li>• Honorarium of andere (financiële) vergoeding</li><li>• Aandeelhouder</li><li>• Andere relatie, namelijk ...</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>•</li><li>•</li><li>•</li><li>•</li></ul> |

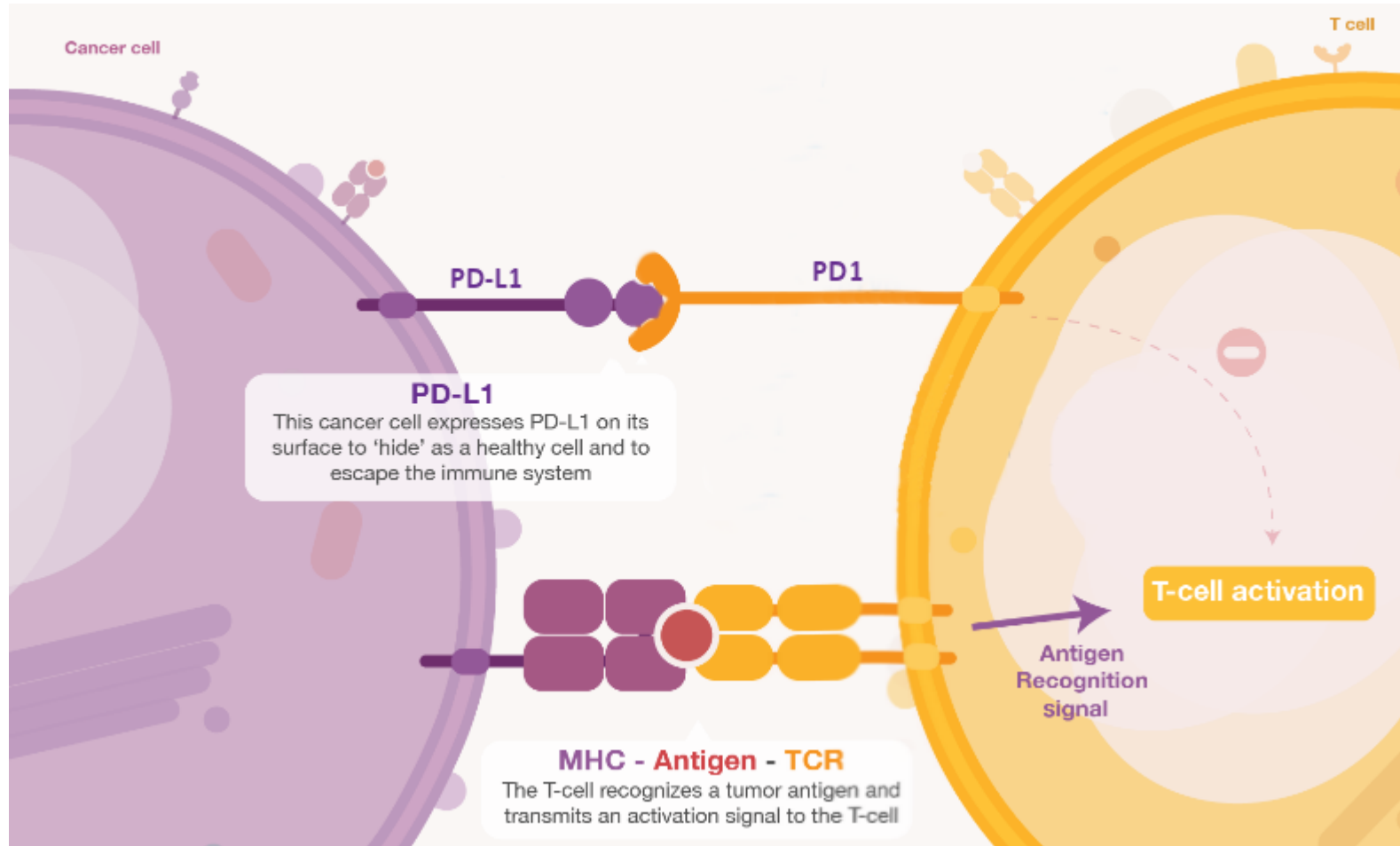
# Kanker en het immuunsysteem

- Het immuunsysteem herkent tumorantigenen



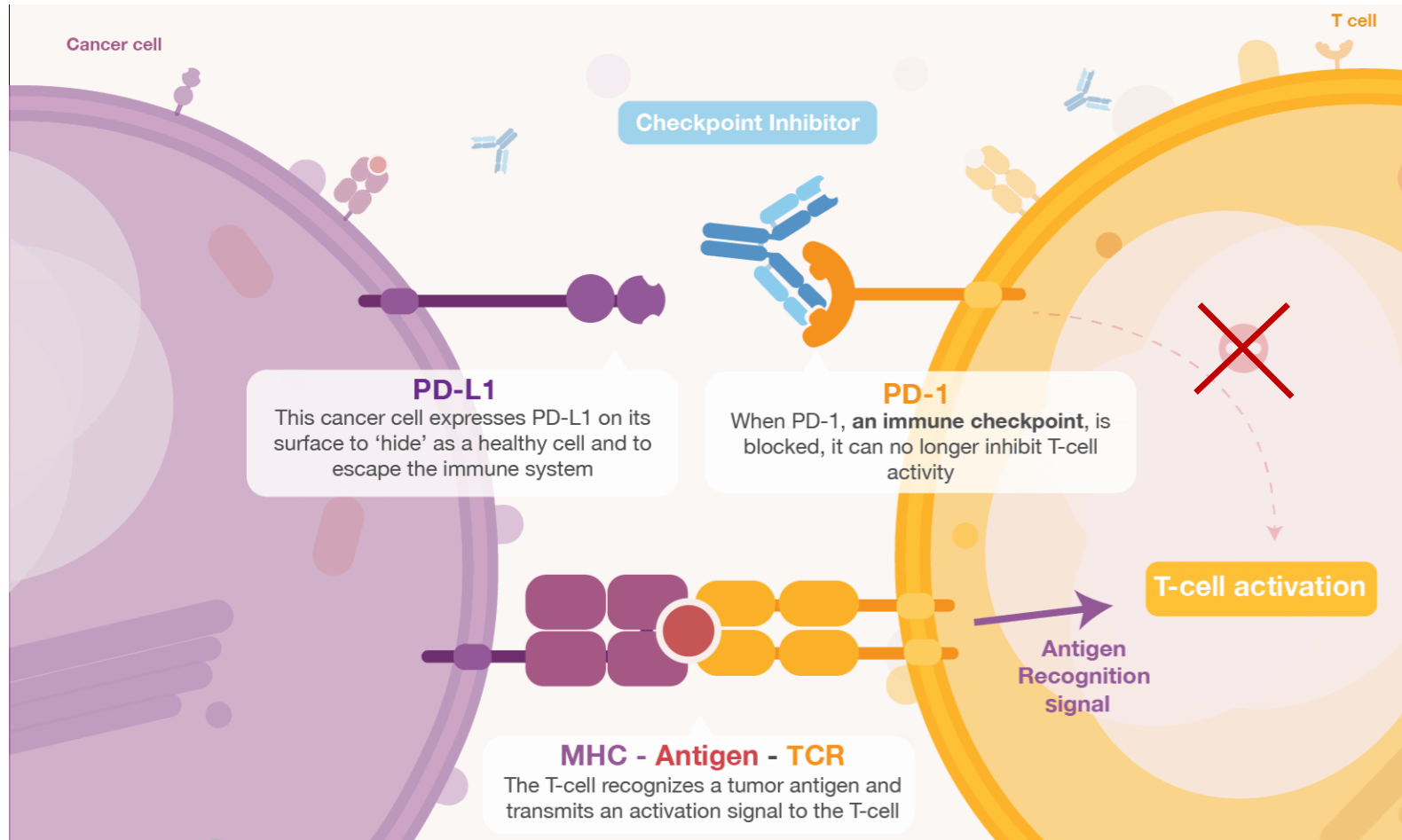
# Kanker en het immuunsysteem

- Tumorcellen remmen activatie van het immuunsysteem o.a. via PD-L1



# Kanker en het immuunsysteem

- Immuuntherapie blokkeert 'de rem'



---

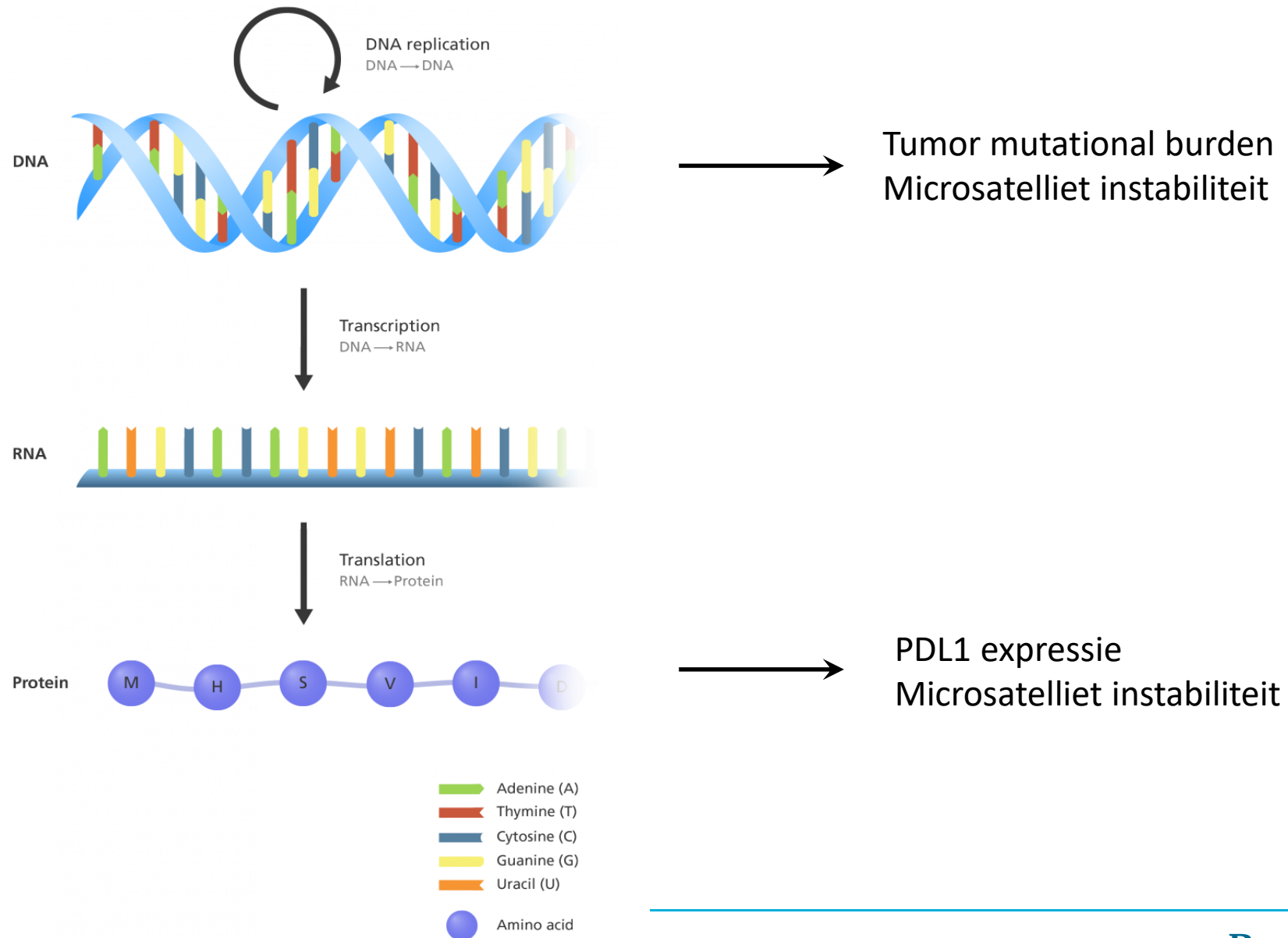
**Welke patiënten hebben een hoge kans om te reageren op immuuntherapie?**

# Predictieve markers voor immuuntherapie

---

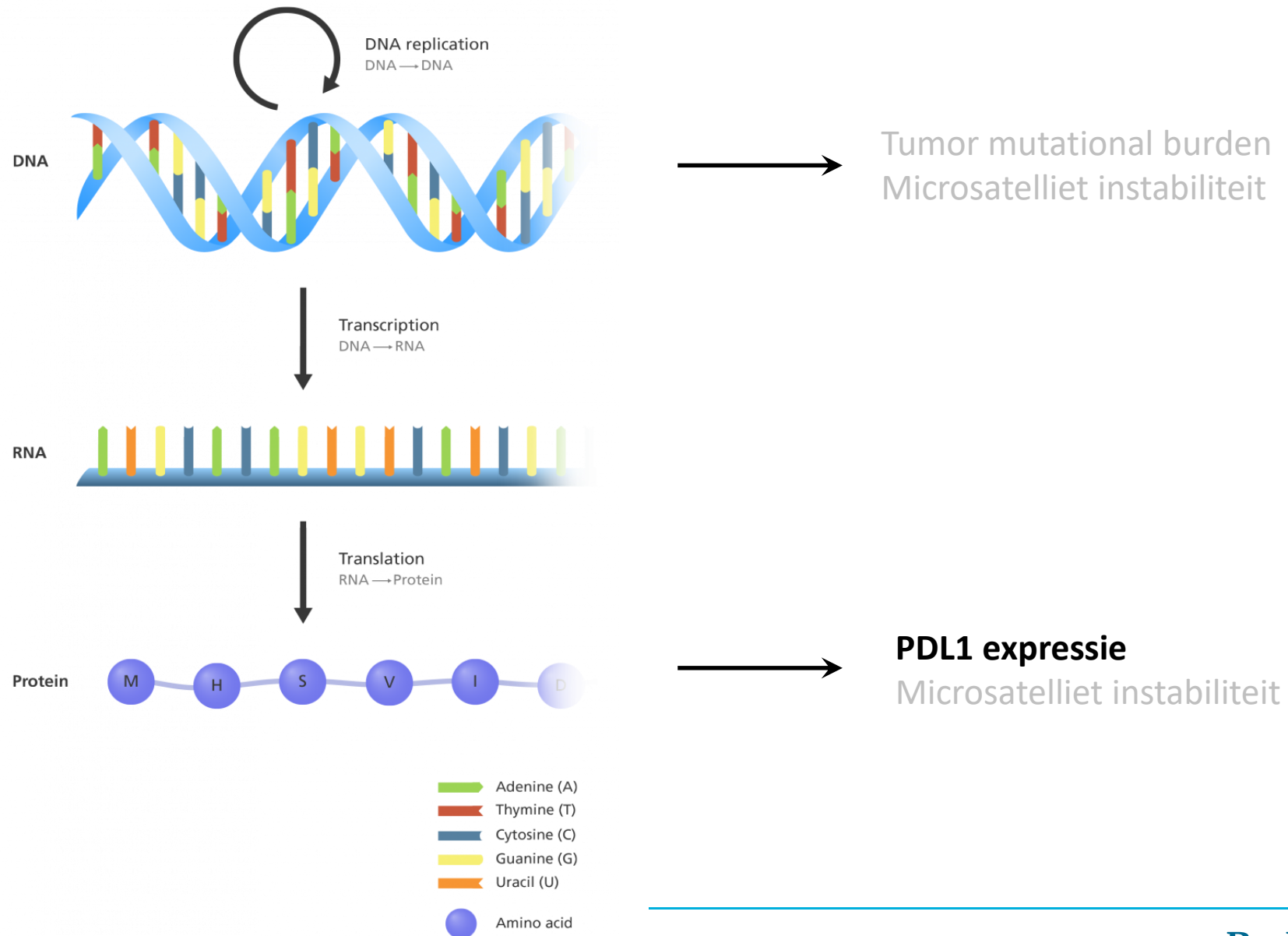
- PD-L1 expressie
- Microsatelliet instabiliteit (MSI)
- Tumor mutational burden (TMB)

# DNA-RNA-eiwit



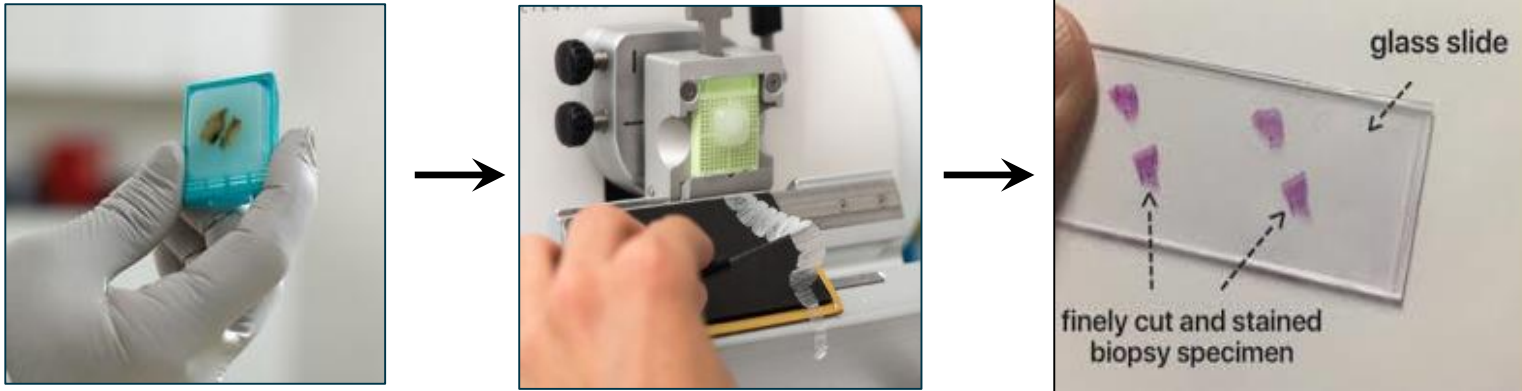


# DNA-RNA-eiwit

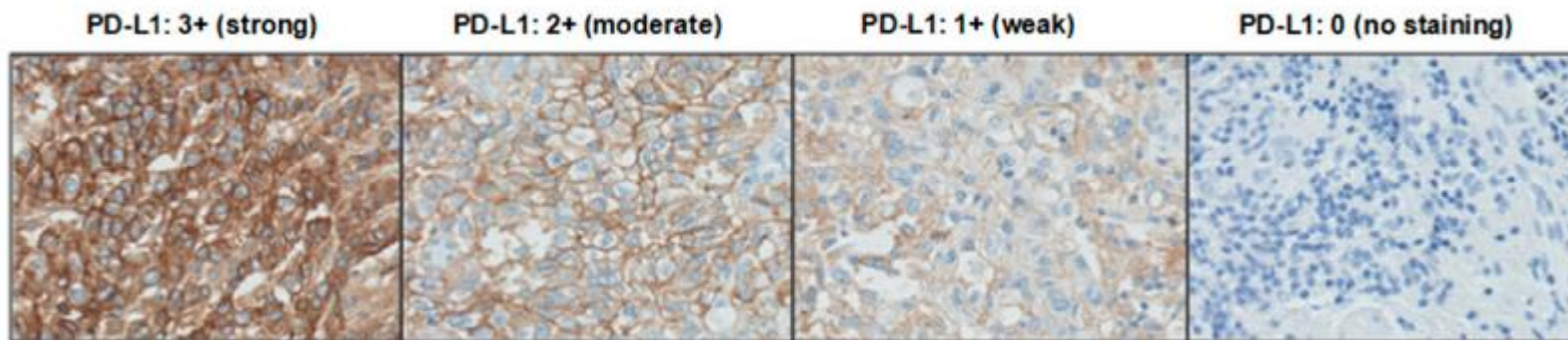


# PD-L1 expressie

- Kleuren van dunne weefsel plakjes met een antilichaam gericht tegen het P-DL1 eiwit

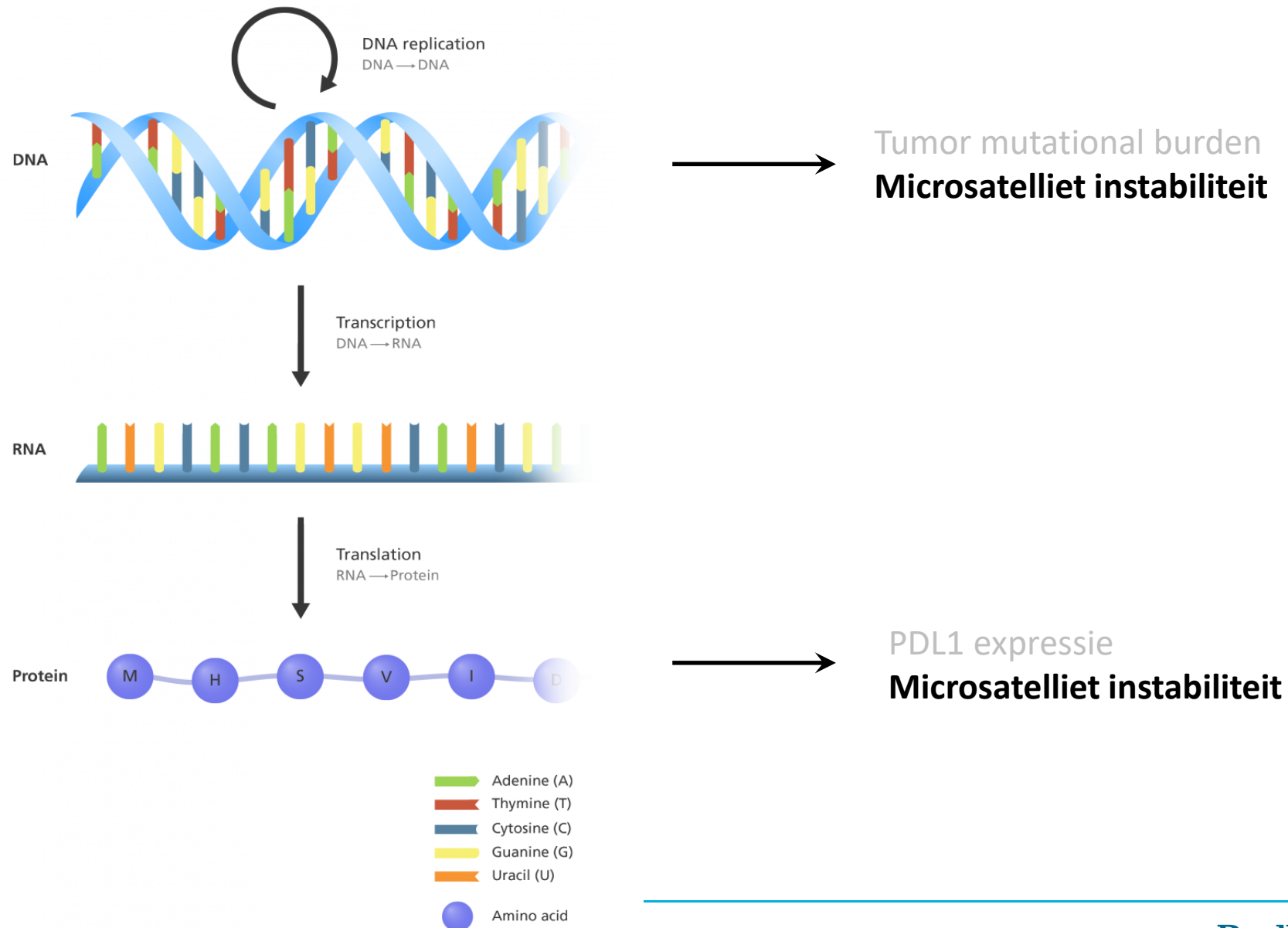


- Analyse onder de microscoop:



Patiënten met hoge PD-L1 expressie hebben een grotere kans om te reageren op immuuntherapie

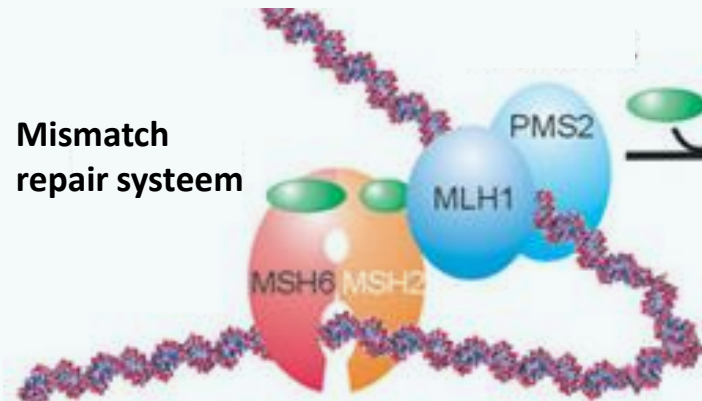
# DNA-RNA-eiwit



# Microsatelliet instabiliteit

## Defect in het repareren van DNA

- Repetitieve stukjes DNA (microsatellieten) zijn met name gevoelig voor fouten tijdens het kopiëren van DNA
- Het mismatch repair systeem (MMR) corrigeert deze fouten
- Defect in MMR systeem → microsatelliet instabiliteit (MSI): grote variatie in lengte van microsatellieten



### Normaal weefsel:

ctggtcttg~~aaaaaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaaa~~attgcatgca

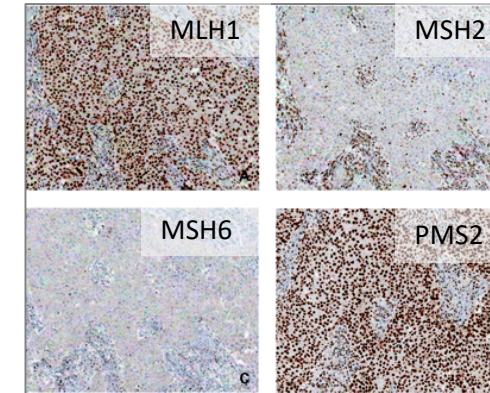
### Tumor weefsel: MSI

ctggtcttg~~aaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaaa~~attgcatgca  
ctggtcttg~~aaaaaaaaaaaaa~~attgcatgca

# Detectie van MSI

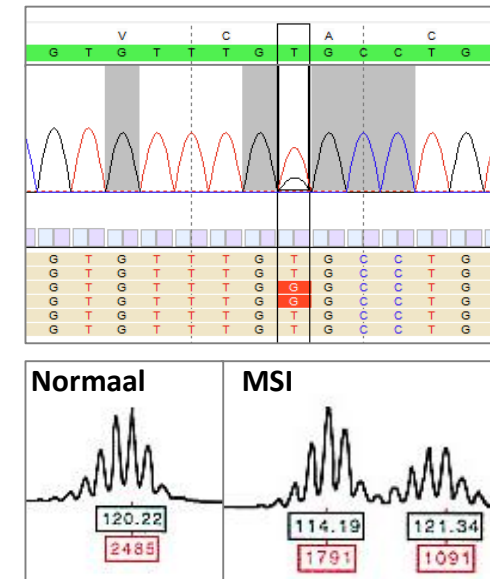
## Eiwit niveau

- Verlies van expressie van 1 of meer mismatch repair eiwitten (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2)



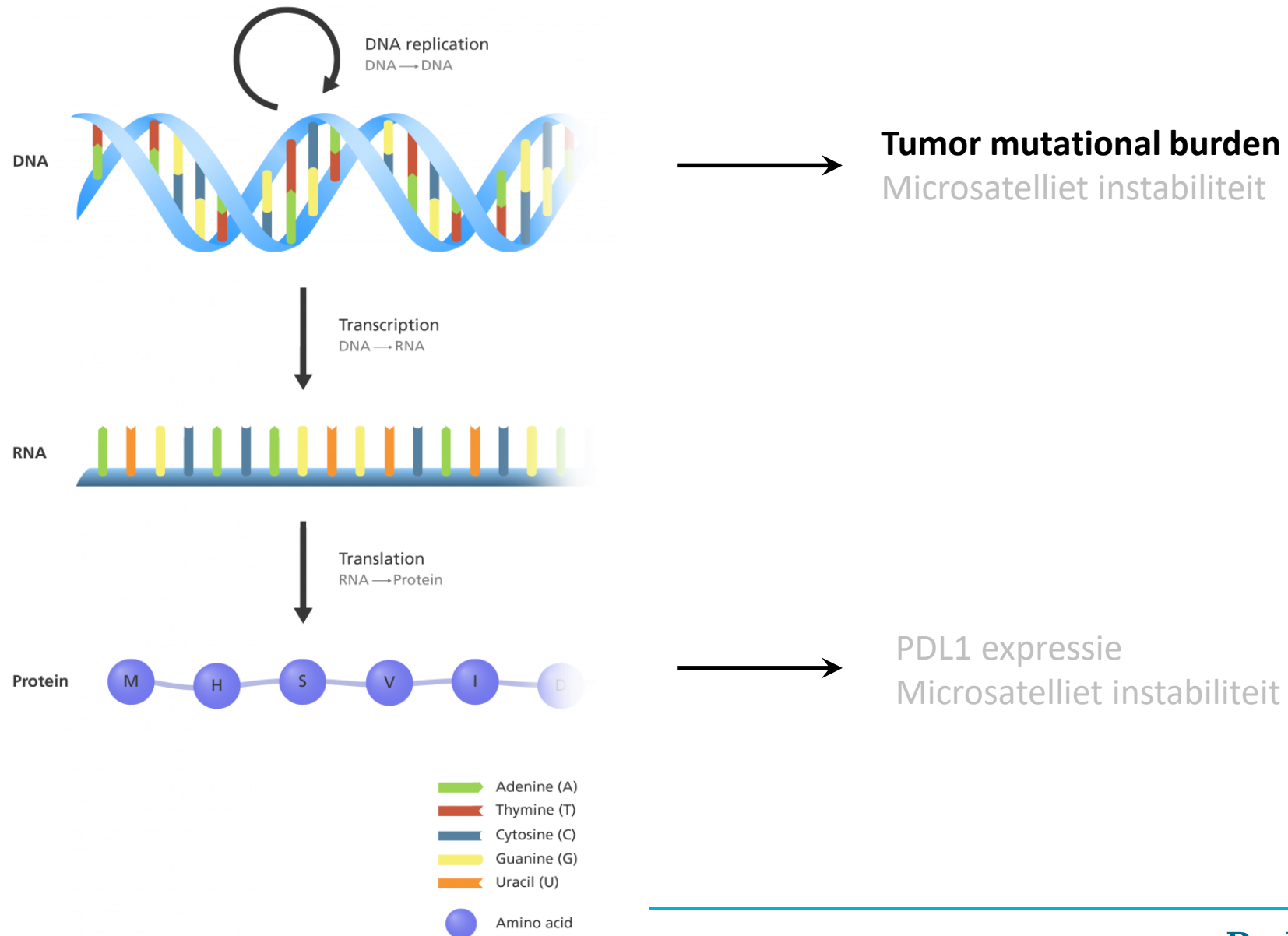
## DNA niveau

- Bepalen of er mutaties aanwezig zijn in de mismatch repair genen (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2)
- Variatie in microsatelliet lengte beoordelen

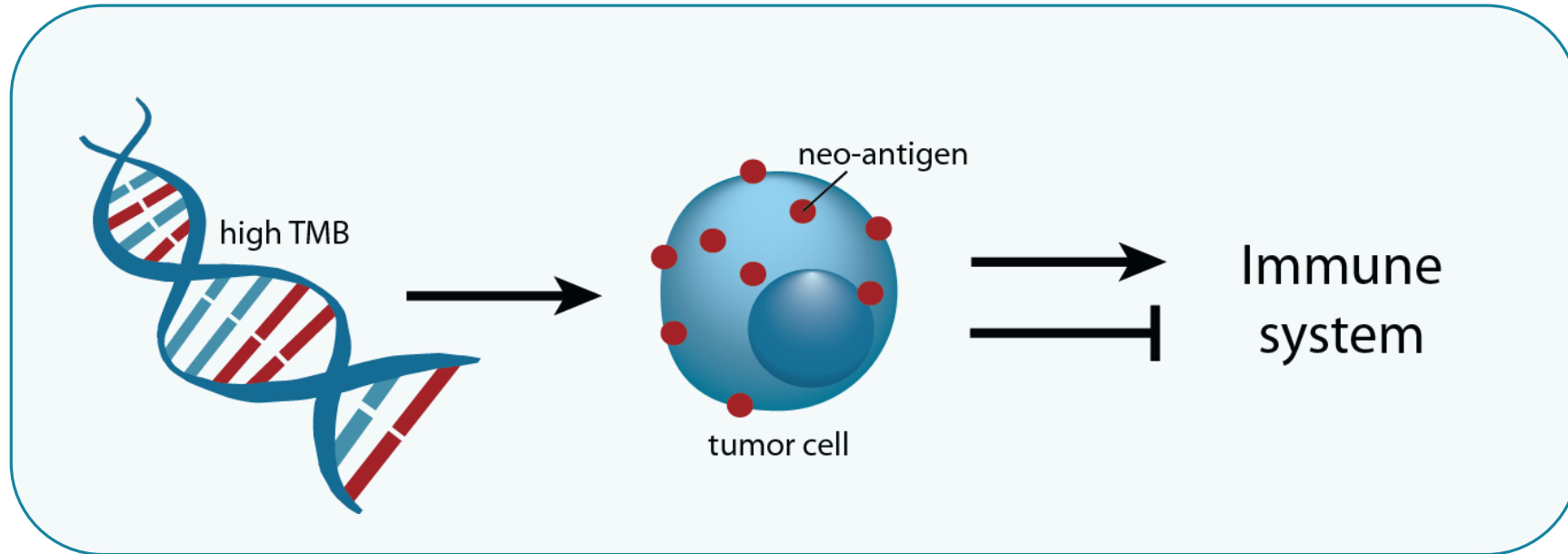


Patiënten met MSI hebben een grotere kans om te reageren op immuuntherapie

# DNA-RNA-eiwit



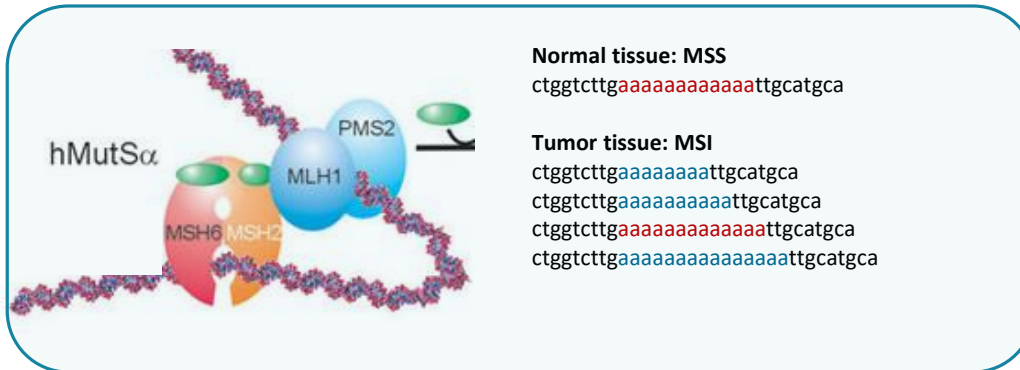
# Tumor mutational burden (TMB)



- TMB: aantal mutaties per miljoen nucleotides (Mb)
- Tumoren met veel mutaties hebben een grotere kans om te reageren op immuuntherapie
- De grens voor een hoge TMB wordt nog onderzocht: ~10 mut/Mb?

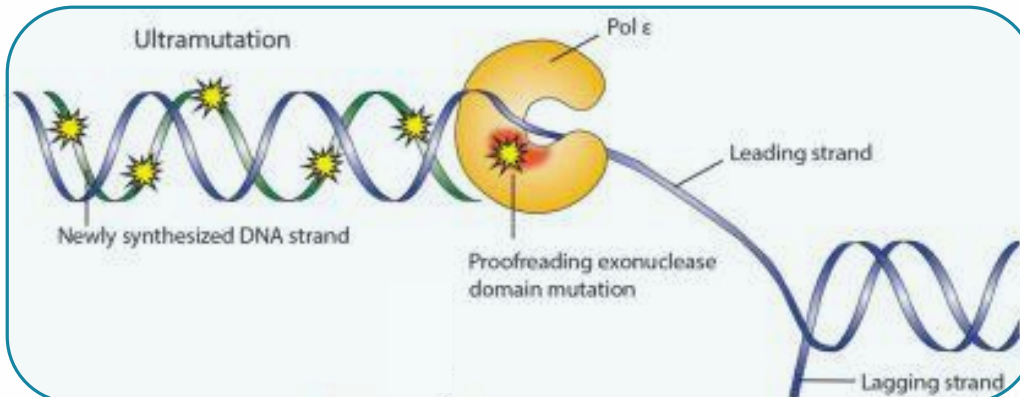


# Oorzaken van een hoge TMB



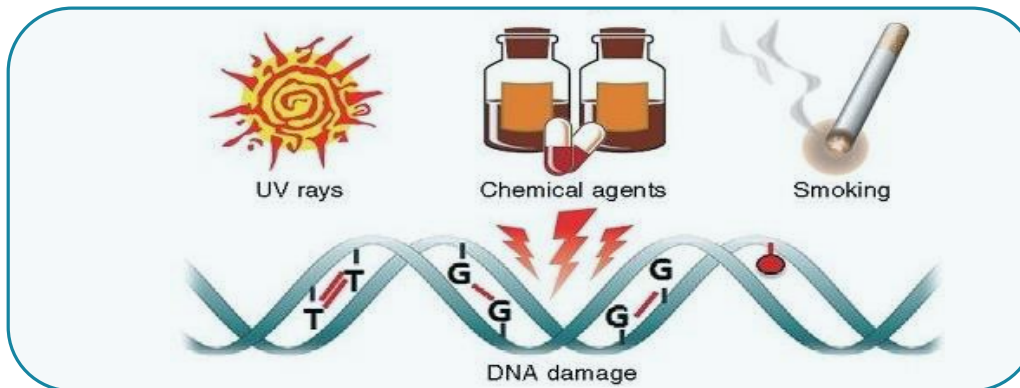
## Defect in het mismatch repair systeem

- Grote variatie in lengte van microsatellieten: microsatelliet instabiliteit (MSI)



## POLE mutaties

- Mutaties in proofreading domein van polymerase epsilon → ophoping van mutaties



## Blootstelling aan UV, tabak, chemicalien

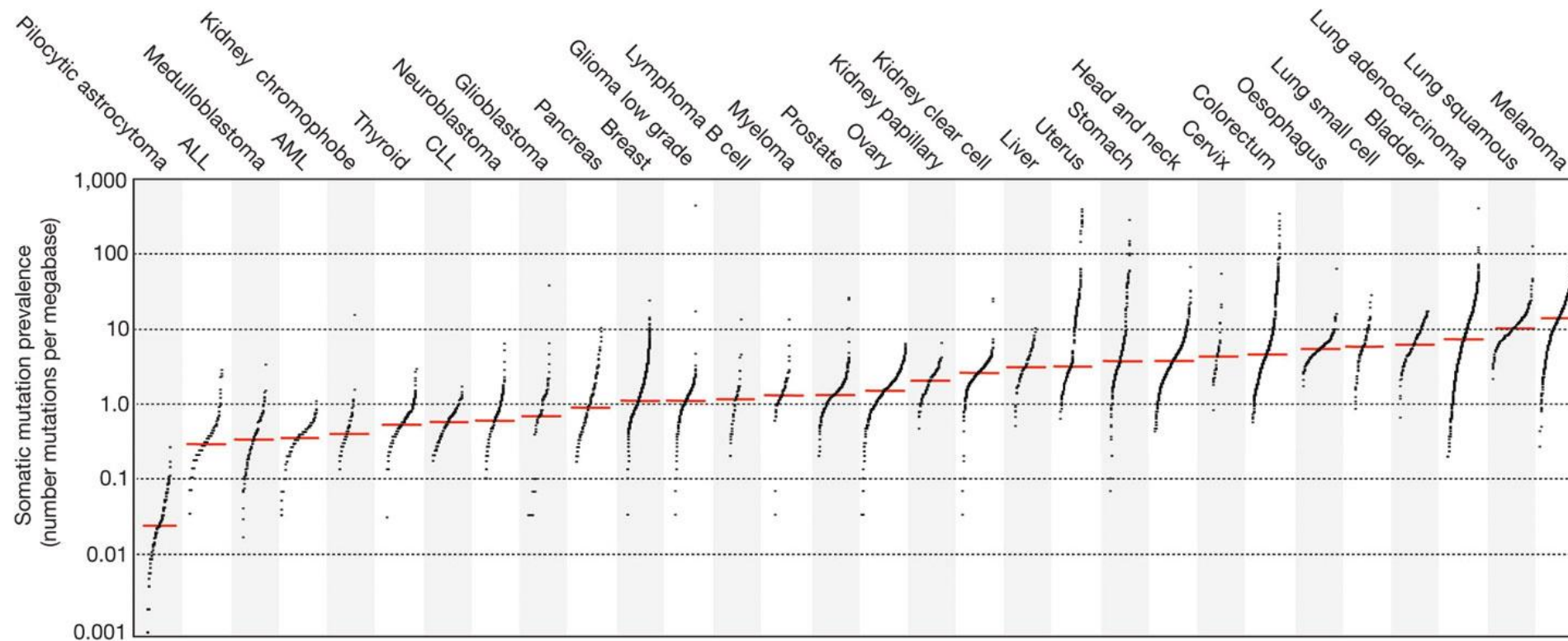
- Veroorzaken DNA schade
- Relatief hoog aantal mutaties in melanoom en longkanker



# Tumortype

Het aantal mutaties/Mb verschilt per tumor type:

- Relatief veel mutaties: melanoom, long
- Relatief weinig mutaties: bloedkanker en hersentumoren



# Bepalen van TMB

## Sequentie-analyse:

- Genenpanel >1 Mb
- TSO500 genenpanel (1.9 Mb)
- 523 genen

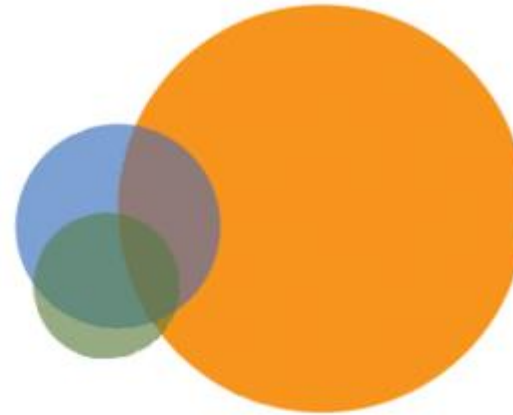
Detectie van mutaties,  
amplificaties, MSI en TMB  
middels 1 assay!

| DNA content |          |         |         |           |        |         |         |         |         |          |
|-------------|----------|---------|---------|-----------|--------|---------|---------|---------|---------|----------|
| ABL1        | BRD4     | CUX1    | FAM175A | GATA6     | IGF1   | MAP3K13 | NOTCH4  | POLE    | RPTOR   | TAF1     |
| ABL2        | BRIP1    | CXCR4   | FAM46C  | GEN1      | IGF1R  | MAP3K14 | NPM1    | PPARG   | RUNX1   | TBX3     |
| ACVR1       | BTG1     | CYLD    | FANCA   | GID4      | IGF2   | MAP3K4  | NRAS    | PPM1D   | RUNX1T1 | TCEB1    |
| ACVR1B      | BTK      | DAXX    | FANCC   | GLI1      | IKBKE  | MAPK1   | NRG1    | PPP2R1A | RYBP    | TCF3     |
| AKT1        | C11orf30 | DCUN1D1 | FANCD2  | GNA11     | IKZF1  | MAPK3   | NSD1    | PPP2R2A | SDHA    | TCF7L2   |
| AKT2        | CALR     | DDR2    | FANCE   | GNA13     | IL10   | MAX     | NTRK1   | PPP6C   | SDHAF2  | TERC     |
| AKT3        | CARD11   | DDX41   | FANCF   | GNAQ      | IL7R   | MCL1    | NTRK2   | PRDM1   | SDHB    | TERT     |
| ALK         | CASP8    | DHX15   | FANCG   | GNAS      | INHA   | MDC1    | NTRK3   | PREX2   | SDHC    | TET1     |
| ALOX12B     | CBFB     | DICER1  | FANCI   | GPR124    | INHBA  | MDM2    | NUP93   | PRKAR1A | SDHD    | TET2     |
| ANKRD11     | CBL      | DIS3    | FANCL   | GPS2      | INPP4A | MDM4    | NUTM1   | PRKCI   | SETBP1  | TFE3     |
| ANKRD26     | CCND1    | DNAJB1  | FAS     | GREM1     | INPP4B | MED12   | PAK1    | PRKDC   | SETD2   | TFRC     |
| APC         | CCND2    | DNMT1   | FAT1    | GRIN2A    | INSR   | MEF2B   | PAK3    | PRSS8   | SF3B1   | TGFBF1   |
| AR          | CCND3    | DNMT3A  | FBXW7   | GRM3      | IRF2   | MEN1    | PAK7    | PTCH1   | SH2B3   | TGFBF2   |
| ARAF        | CCNE1    | DNMT3B  | FGF1    | GSK3B     | IRF4   | MET     | PALB2   | PTEN    | SH2D1A  | TMEM127  |
| ARFRP1      | CD274    | DOT1L   | FGF10   | H3F3A     | IRS1   | MGA     | PARK2   | PTPN11  | SHQ1    | TMPRSS2  |
| ARID1A      | CD276    | E2F3    | FGF14   | H3F3B     | IRS2   | MITF    | PARP1   | PTPRD   | SLIT2   | TNFAIP3  |
| ARID1B      | CD74     | EED     | FGF19   | H3F3C     | JAK1   | MLH1    | PAX3    | PTPRS   | SLX4    | TNFRSF14 |
| ARID2       | CD79A    | EGFL7   | FGF2    | HGF       | JAK2   | MLL     | PAX5    | PTPRT   | SMAD2   | TOP1     |
| ARID5B      | CD79B    | EGFR    | FGF23   | HIST1H1C  | JAK3   | MLLT3   | PAX7    | QKI     | SMAD3   | TOP2A    |
| ASXL1       | CDC73    | EIF1AX  | FGF3    | HIST1H2BD | JUN    | MPL     | PAX8    | RAB35   | SMAD4   | TP53     |
| ASXL2       | CDH1     | EIF4A2  | FGF4    | HIST1H3A  | KAT6A  | MRE11A  | PAWR    | RAC1    | SMARCA4 | TP63     |
| ATM         | CDK12    | EIF4E   | FGF5    | HIST1H3B  | KDM5A  | MCH2    | PDCD1   | RAD21   | SMARCB1 | TRAF2    |
| ATR         | CDK4     | EML4    | FGF6    | HIST1H3C  | KDM5C  | MCH3    | DDIT3   | RAD50   | SMARCD1 | TRAF7    |
| ATRX        | CDK6     | EP300   | FGF7    | HIST1H3D  | KDM6A  | MSH6    | PDGFRA  | RAD51   | SMC1A   | TSC1     |
| AURKA       | CDK8     | EPCAM   | FGF8    | HIST1H3E  | KDR    | MST1    | PDGFRB  | RAD51B  | SMC3    | TSC2     |
| AURKB       | CDKN1A   | EPHA3   | FGF9    | HIST1H3F  | KEAP1  | MST1R   | PK1     | RAD51C  | SMO     | TSHR     |
| AXIN1       | CDKN1B   | EPHA5   | FGFR1   | HIST1H3G  | KEL    | MTOR    | PDPK1   | RAD51D  | SNCAIP  | U2AF1    |
| AXIN2       | CDKN2A   | EPHA7   | FGFR2   | HIST1H3H  | KIF5B  | MUTYH   | PGR     | RAD52   | SOC3    | VEGFA    |
| AXL         | CDKN2B   | EPHB1   | FGFR3   | HIST1H3I  | KIT    | MYB     | PHF6    | RAD54L  | SOX10   | VHL      |
| B2M         | CDKN2C   | ERBB2   | FGFR4   | HIST1H3J  | KLF4   | MYC     | PHOX2B  | RAF1    | SOX17   | VTCN1    |
| BAP1        | CEBPA    | ERBB3   | FH      | HIST2H3A  | KLHL6  | MYCL1   | PIK3C2B | RANBP2  | SOX2    | VSP3     |
| BARD1       | CENPA    | ERBB4   | FLCN    | HIST2H3C  | KMT2B  | MYCN    | PIK3C2G | RARA    | SOX9    | WT1      |
| BBC3        | CHD2     | ERCC1   | FLI1    | HIST2H3D  | KMT2C  | MYD88   | PIK3C3  | RASA1   | SPEN    | XIAP     |
| BCL10       | CHD4     | ERCC2   | FLT1    | HIST3H3   | KMT2D  | MYOD1   | PIK3CA  | RB1     | SPOP    | XPO1     |
| BCL2        | CHEK1    | ERCC3   | FLT3    | HILA-A    | KRAS   | NAB2    | PIK3CB  | RBM10   | SPTA1   | XRCC2    |
| BCL2L1      | CHEK2    | ERCC4   | FLT4    | HILA-B    | LAMP1  | NBN     | PIK3CD  | RECQL4  | SRC     | YAP1     |
| BCL2L11     | CIC      | ERCC5   | FOXA1   | HILA-C    | LATS1  | NCOA3   | PIK3CG  | REL     | SRSF2   | YES1     |
| BCL2L2      | CREBBP   | ERG     | FOXL2   | HNF1A     | LATS2  | NCOR1   | PIK3R1  | RET     | STAG1   | ZBTB2    |
| BCL6        | CRKL     | ERRF1   | FOXO1   | HNRNP     | LMO1   | NEGR1   | PIK3R2  | RFWD2   | STAG2   | ZBTB7A   |
| BCOR        | CRLF2    | ESR1    | FOXP1   | HOXB13    | LRP1B  | NF1     | PIK3R3  | RHEB    | STAT3   | ZFH3     |
| BCORL1      | CSF1R    | ETS1    | FRS2    | HRAS      | LYN    | NF2     | PIM1    | RHOA    | STAT4   | ZNF217   |
| BCR         | CSF3R    | ETV1    | FUBP1   | HSD3B1    | LZTR1  | NFE2L2  | PLCG2   | RICTOR  | STAT5A  | ZNF703   |
| BIRC3       | CSNK1A1  | ETV4    | FYN     | HSP90AA1  | MAGI2  | NFKBIA  | PLK2    | RIIT1   | STAT5B  | ZRSR2    |
| BLM         | CTCF     | ETV5    | GABRA6  | ICOSLG    | MALT1  | NKX2-1  | PMAIP1  | RNF43   | STK11   |          |
| BMPR1A      | CTLA4    | ETV6    | GATA1   | ID3       | MAP2K1 | NKX3-1  | PMS1    | ROS1    | STK40   |          |
| BRAF        | CTNNA1   | EWSR1   | GATA2   | IDH1      | MAP2K2 | NOTCH1  | PMS2    | RPS6KA4 | SUFU    |          |
| BRCA1       | CTNNA1   | EZH2    | GATA3   | IDH2      | MAP2K4 | NOTCH2  | PNRC1   | RPS6KB1 | SUZ12   |          |
| BRCA2       | CUL3     | FAM123B | GATA4   | IFNGR1    | MAP3K1 | NOTCH3  | POLD1   | RPS6KB2 | SYK     |          |

# Correlatie tussen biomarkers in verschillende tumortypes

- PD-1/PD-L1 Expression
- Microsatellite instability
- Tumour mutational burden

Alle kankertypes



Ongeveer 35% van de patiënten  
positief voor 1 van de 3 biomarkers  
(n= 4186 patiënten)

Darmkanker



Melanoom

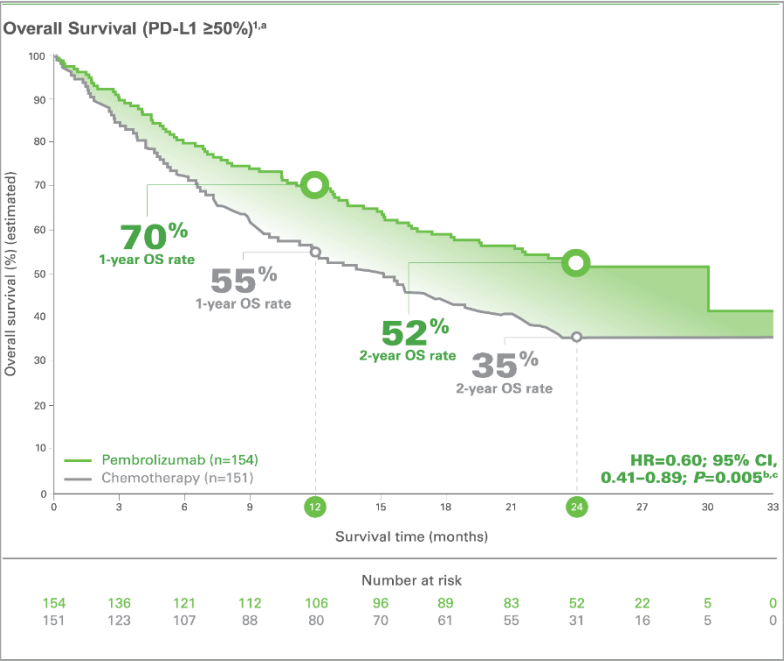


Longkanker

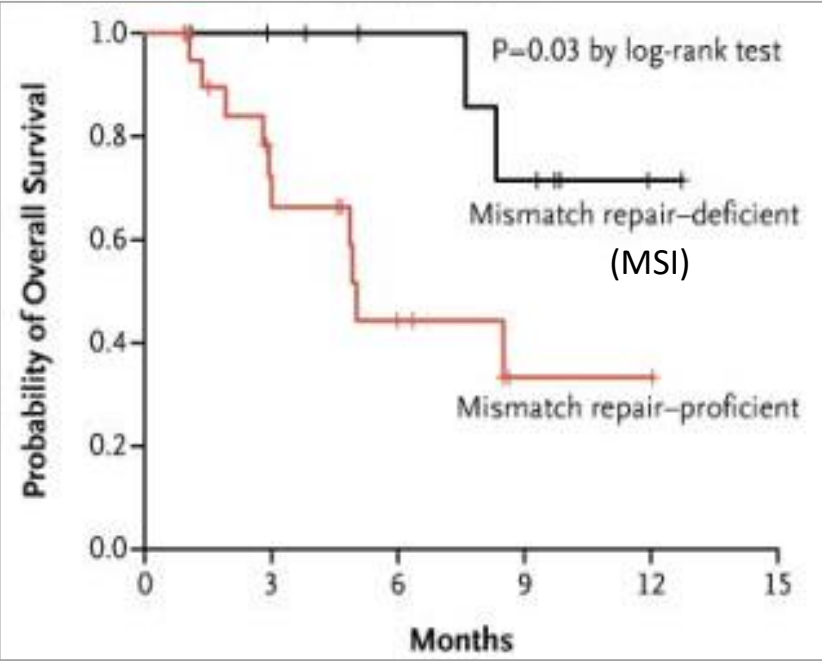


# Predictieve waarde biomarkers bij behandeling met immuuntherapie

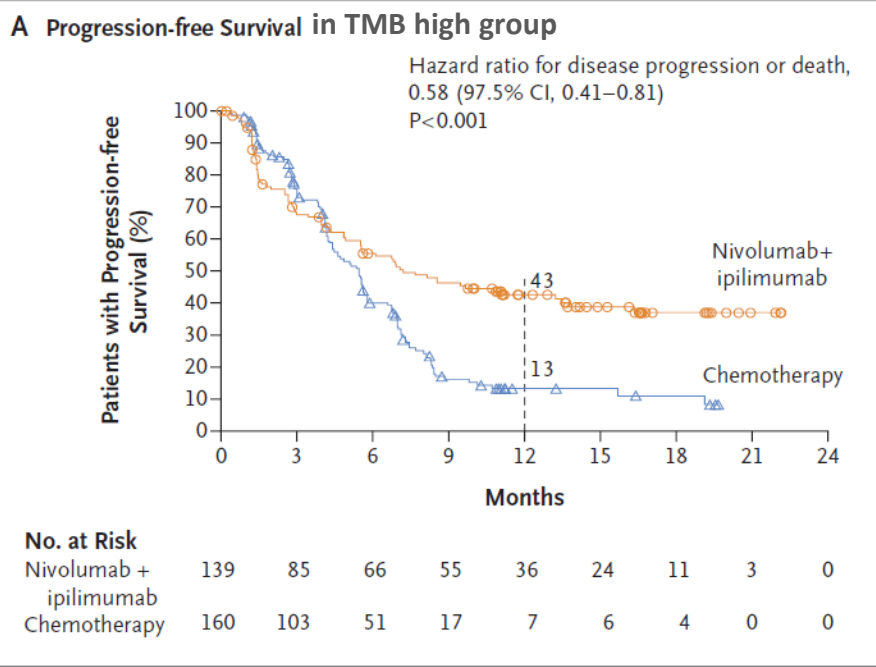
Pembrolizumab vs chemotherapie in PD-L1 positieve longkanker patiënten



Pembrolizumab behandeling bij darmkanker patiënten met en zonder MSI



Nivolumab + ipilimumab vs chemotherapie in longkanker patiënten met hoge TMB



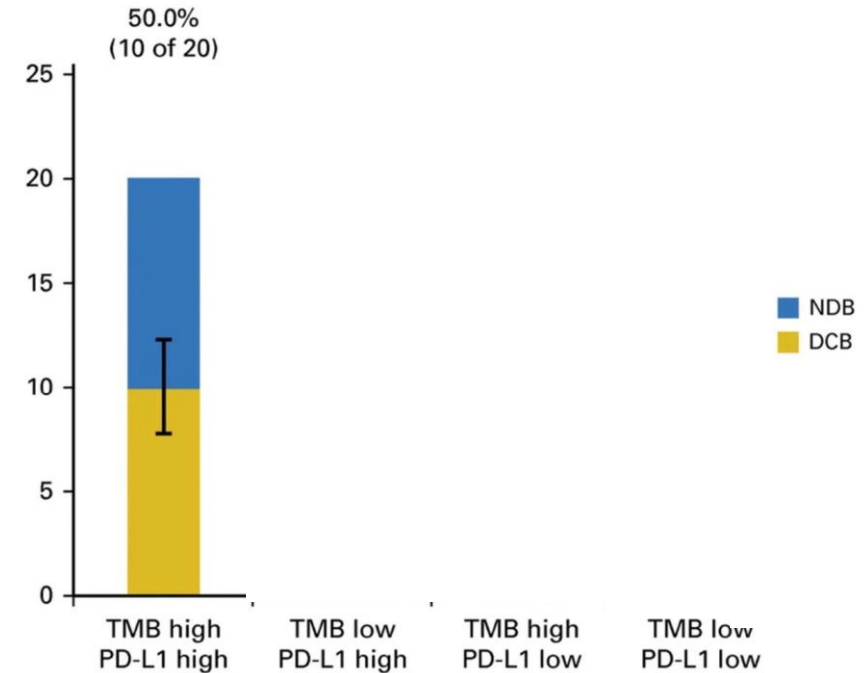
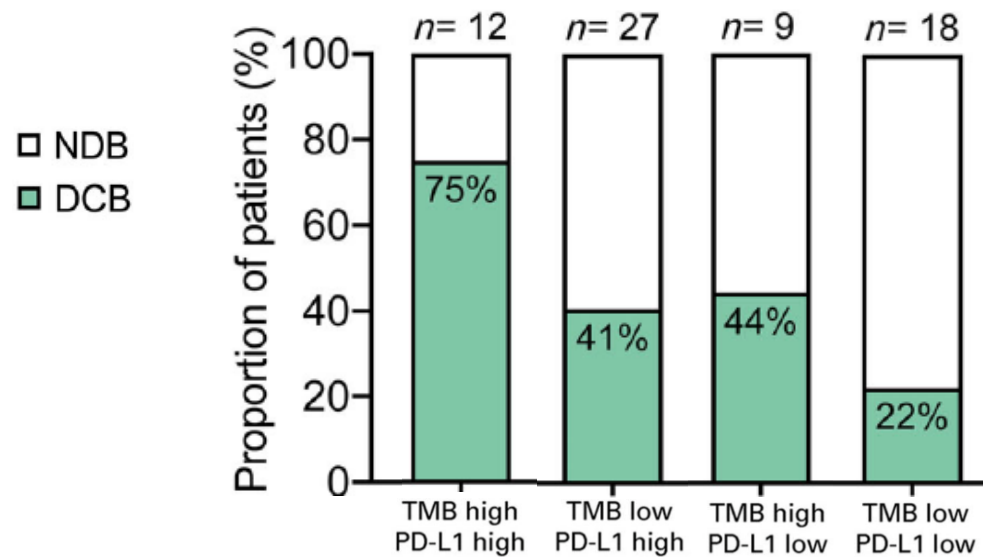
Kanttekening: niet alle studies laten een voorspellende waarde zien van de besproken biomarkers

# Combinatie van biomarkers meest voorspellend

Twee longkanker studies: patiënten met zowel hoge PD-L1 als hoge TMB hebben de meeste 'clinical benefit'

NDB: no clinical benefit

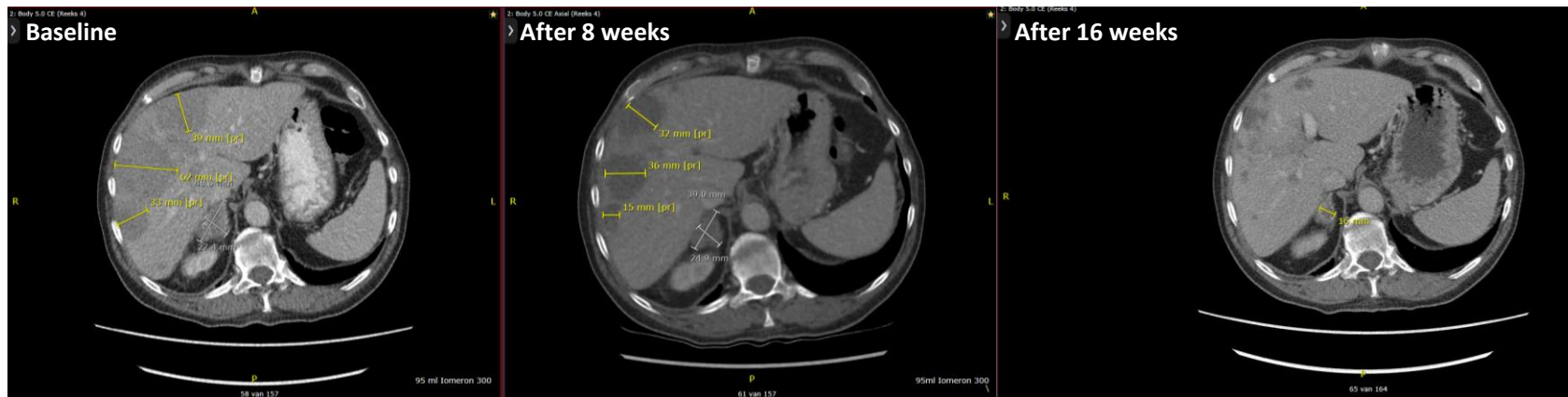
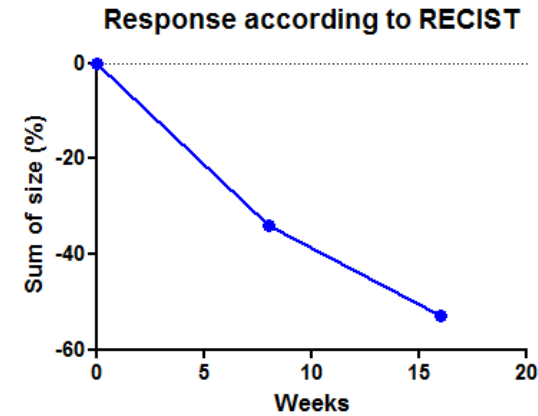
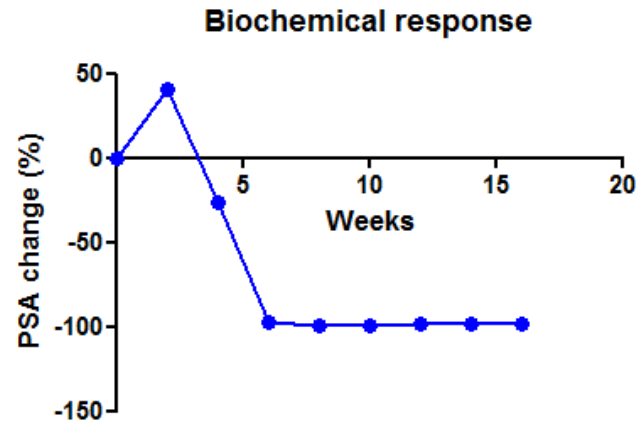
DCB: durable clinical benefit



# Prostaatkanker patiënt

## Gemetastaseerde prostaatkanker

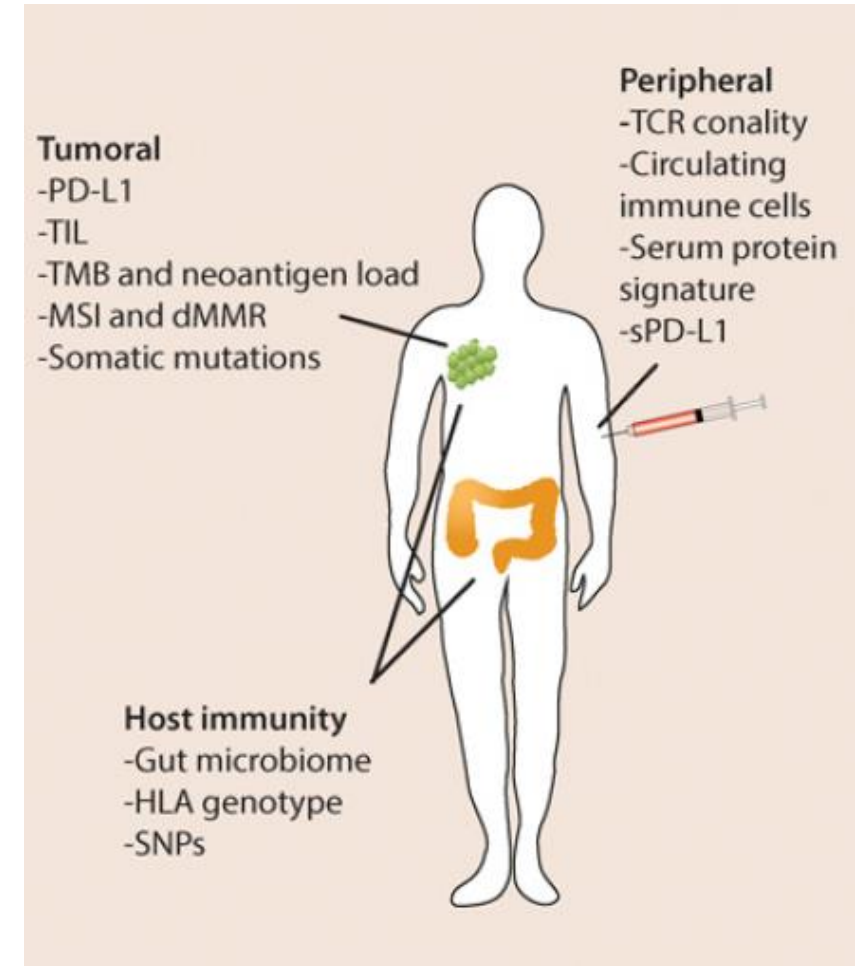
- Hoge TMB: ongeveer 39 mutaties/Mb
- Behandeling met Nivolumab (in DRUP studie)
- Goede response: PSA daling en grootte van de tumor flink afgenomen





# Meer potentiële biomarkers

- Hoeveelheid immuuncellen in en om de tumor
- Type immuuncellen in en om de tumor
- Aantal neo-antigen
- Variatie tussen de HLA genen (MHC-1)
- Microbioom
- ....



# Conclusie

---

- Verschillende biomarkers kunnen helpen bij de selectie van patienten die mogelijk baat hebben bij immuuntherapie
- Frequentie van positiviteit voor deze biomarkers verschilt per tumortype
- Positiviteit voor >1 biomarker is een nog betere voorspeller voor response
- Veel biomarkers relevant voor immuuntherapie zijn te bepalen middels 1 DNA assay:
  - Mutaties in MMR genen
  - Microsatelliet instabiliteit
  - Tumor mutational burden
  - Resistentie mechanismen voor immuuntherapie: vaak mutaties en amplificaties  
(Tevens kunnen mutaties en amplificaties voor targeted therapie worden gedetecteerd)



## Meer onderzoek nodig naar:

- Welke biomarkers zijn het meest voorspellend per tumortype?
- Verschilt de predictieve waarde van de biomarkers per type immuuntherapie, ziekte stadium, 1e/2e lijns, mono of combi-therapie?
- Wat is de best voorspellende cut-off voor hoge TMB (per tumortype)?
- Welke resistentie-mechanismes spelen een rol bij immuuntherapie?
- Wat is de voorspellende waarde van nieuwe biomarkers?