

Bridging targeted radionuclide and checkpoint inhibitor therapies: joining forces

CAIX-gerichte radionuclide therapie voor heldercellig niercelcarcinoom



S. Kleinendorst

10 november 2025 (cum laude)
Radboud Universiteit, Nijmegen

Promotor:

Prof. S. Heskamp, PhD

Co-promotores:

E. Oosterwijk, PhD

M.W. Konijnenberg, PhD

C.H.J. Muselaers, PhD

Heldercellig niercelcarcinoom (ccRCC) is de meest voorkomende vorm van nierkanker. Bij een op de vijf patiënten is de ziekte al in een uitgezaaid stadium op het moment van diagnose, resulterend in een slechtere prognose. Behandeling bestond lange tijd uit tyrosinekinaseremmers (TKI's). Recentelijk is ook een nieuw ontwikkelde immuuntherapie, namelijk immuun checkpoint remmers (ICI), geregistreerd voor gevorderd ccRCC, met name bij patiënten met een slechtere

prognose. Ook de combinatie van TKI's met immuuntherapie wordt ingezet. Ondanks dat deze therapeutische ontwikkelingen de overleving van patiënten hebben verbeterd, is de 3-jaarsoverleving voor deze patiëntengroep slechts 26%. Dit benadrukt de behoefte aan effectievere behandeling voor patiënten met uitgezaaid ccRCC. De behandeling die in dit proefschrift centraal staat is doelgerichte radionuclide therapie (TRT), wat allereerst werd uitgelegd in eenvoudige taal, toegankelijk voor nieuwsgierige jonge lezers en andere niet-specialisten (1). Voor uitgezaaid ccRCC is TRT met [¹⁷⁷Lu]Lu-G250 veelbelovend, omdat het bindt aan carbonic anhydrase IX (CAIX), een eiwit dat tot overexpressie komt op 90% van de ccRCCs. Ondanks dat klinische studies hebben aangetoond dat deze therapie tumorgroei kan remmen, vormt met name beenmergtoxiciteit nog een uitdaging in de klinische toepassing. Daarom richt dit proefschrift zich op de verbetering van TRT met radioactief gelabeld G250, met als uiteindelijk doel het verbeteren van de overleving en kwaliteit van leven van patiënten met ccRCC. De focus lag voornamelijk op de combinatie van CAIX-TRT met ICI.

TRT-ICI combinatietherapie

Eerst werd de rationale achter deze combinatie besproken middels een overzicht van de literatuur over de immunologische effecten van TRT en de combinatie van TRT met ICI (2). We beschrijven verschillende, voornamelijk

preklinische, studies waaruit blijkt dat TRT met alfa- of bètastralers zowel immunostimulerende als immunosuppressieve effecten kan hebben. Deze effecten omvatten het vrijkomen van signalen zoals tumorantigenen en immunogene celdood markers (ATP, HMGB1, calreticuline), evenals veranderingen in immuuncel-eigenschappen (bijvoorbeeld PD-L1 expressie) en immuuncel-infiltratie (bijvoorbeeld een toename of afname van cytotoxische of regulatoire T cellen). Preklinische studies naar de combinatie van TRT met ICI laten overwegend positieve anti-tumoreffecten zien, hoewel ook enkele negatieve resultaten zijn gerapporteerd. Klinische studies richten zich voornamelijk op de geregistreerde radiotracers [¹⁷⁷Lu]Lu-DOTATATE, [¹⁷⁷Lu]Lu-DOTATOC en [¹⁷⁷Lu]Lu-PSMA-617, maar effectiviteitsdata zijn momenteel nog niet beschikbaar. We benadrukken dat een beter begrip van de immunologische effecten van TRT essentieel is om de combinatie met ICI optimaal te benutten. We identificeren drie belangrijke onderzoeksgebieden waar verdere kennis nodig is: (1) tumor-geabsorbeerde dosis (bijvoorbeeld dosis-effectrelatie, dosimetrie, verschillende soorten straling); (2) tumorkenmerken (bijvoorbeeld stralingsgevoeligheid, targetexpressie, immunogeniciteit van de tumor); en (3) optimale behandelvolgorde en -tijdschema's voor TRT en ICI. Vervolgens werd de potentie van de combinatietherapie van [¹⁷⁷Lu]Lu-hG250 met aPD-1/aCTLA-4 ICI voor

de behandeling van ccRCC onderzocht (3). Voor dit doel werden twee immuuncompetente muismodellen opgezet en gekarakteriseerd: renca-hCAIX en CT26-hCAIX. In het renca-hCAIX model werd de anti-tumor effectiviteit van ^{177}Lu -hG250 bevestigd (bij $\geq 18\text{MBq}$ (tumordosis $\geq 44\text{Gy}$)). *In vivo* therapie experimenten toonden aan dat de combinatietherapie van ^{177}Lu -hG250 plus ICI indrukwekkende anti-tumor effectiviteit had in beide tumormodellen, zelfs bij subtherapeutische stralingsdoses (4MBq, zie figuur). Hierbij trad er bij de meeste muizen een complete respons op, waarbij de tumoren volledig verdwenen. Bovendien konden deze genezen muizen de tumorcellen afstoten na een tweede tumorcelinfectie, wat duidt op een immunologische respons.

Biologische mechanismen & zoektocht naar de optimale therapie

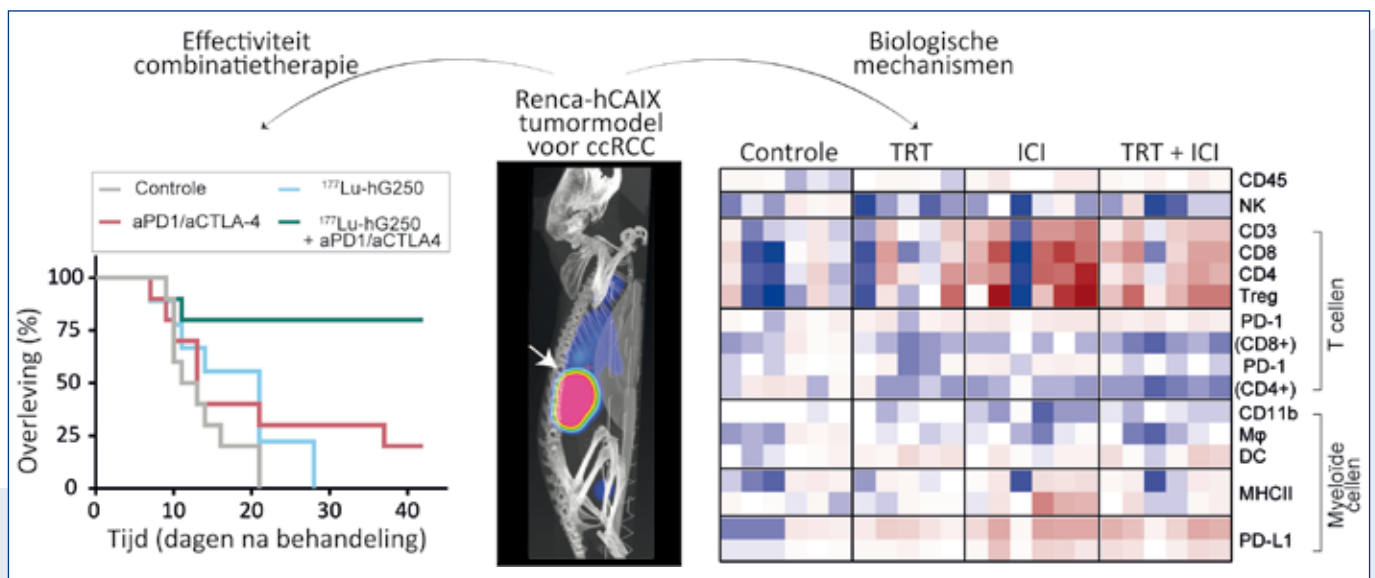
Na deze veelbelovende therapeutische resultaten werd

middels verschillende methoden verder onderzocht welke biologische mechanismen hier mogelijk aan ten grondslag lagen en hoe de combinatietherapie zo optimaal mogelijk benut kan worden in de toekomst.

Ten eerste werden veranderingen in het tumor micromilieu na de verschillende therapieën in kaart gebracht, door de renca-hCAIX tumoren op twee tijdstippen na behandeling te karakteriseren door middel van immunohistochemie, flow cytometrie, en RNA-analyse (zie figuur). Hieruit bleek dat de combinatietherapie verscheidene veranderingen in het tumor micromilieu teweegbracht, die gedreven werden door beide therapieën. DNA schade werd bijvoorbeeld geïnduceerd door TRT, terwijl T-cel infiltratie gedreven werd door ICI, en er waren ook overeenkomstige effecten van beide therapieën, zoals de activatie van interferon type 1 signalering. Ten tweede werd de combinatie van ^{177}Lu -hG250 plus mono-ICI

(aPD-1 of aCTLA-4) met de volledige combinatie van ^{177}Lu -hG250 plus duale-ICI (aPD-1/aCTLA-4) vergeleken, omdat duale-ICI de incidentie en ernst van immuun-gerelateerde bijwerkingen ten opzichte van mono-ICI (aPD-1 óf aCTLA-4) vergroot bij patiënten met ccRCC. De resultaten toonden aan dat de combinatie van TRT met duale-ICI de beste anti-tumoreffecten opleverde, terwijl de combinatie van TRT met aPD-1 in een gematigde effectiviteit resulteerde en de combinatie van TRT met aCTLA-4 geen meerwaarde opleverde ten opzichte van monotherapie. Om te onderzoeken of de TRT in combinatie met mono-ICI therapieën verbeterd kon worden door de timing tussen de twee behandelingen aan te passen, vergeleken we vervolgens verschillende schema's, maar de resultaten lieten geen significante verschillen zien.

Vervolgens werd middels een systematische review van de literatuur en meta-analyse onderzocht welke therapeutische effecten van dergelijke combinatietherapieën met andere



Figuur 1. Renca-hCAIX tumor-dragende muizen (midden) werden gebruikt als model voor ccRCC om de effectiviteit (links) en biologische mechanismen (rechts) van combinatietherapie van ^{177}Lu -hG250 (CAIX-TRT) met aPD-1/aCTLA-4 (ICI) te onderzoeken. Links: overleving van de dieren na behandeling met 4MBq ^{177}Lu -hG250, aPD-1/aCTLA-4, of de combinatie. Rechts: flow cytometrie van tumoren acht dagen na behandeling voor markers voor T cellen en myeloïde cellen.

radiofarmaca in oncologische diermodellen worden gevonden (4). Na analyse van tumorgroei en overleving, bevestigden de resultaten een significant therapeutisch voordeel van de combinatiebehandeling, wat benadrukt dat klinische evaluatie de volgende stap moet zijn. Door middel van subgroepanalyses was het doel van de analyse bovendien om inzicht te krijgen in het effect van verschillende behandelingsparameters, zoals de toegediende TRT-activiteit, het type straling en radionuclide, het type ICI, en het behandelingschema. Hoewel individuele studies deze aspecten soms wel onderzocht hebben, bleek de hoeveelheid beschikbare data ontoereikend om voor de meeste parameters betrouwbare conclusies te trekken. Op basis van de huidige literatuur kunnen we daarom nog geen robuuste uitspraken doen over de optimale behandelingscondities. Wel vonden we aanwijzingen dat het verlagen van de TRT-activiteitsdosis mogelijk is zonder verlies van effectiviteit wanneer gecombineerd met ICI, en dat combinaties met aPD-1 mogelijk minder effectief zijn. Tot slot werd onderzocht hoe *in vitro*

methoden kunnen worden ingezet om de immunologische effecten van TRT verder te bestuderen. We optimaliseerden technieken voor het detecteren van immunogene celdood-markers (ATP en HMGB1), voor het bestuderen van het effect van straling op de metabole activiteit en functionaliteit van T cellen, en voor het gebruik van renca-hCAIX sferoïden als modelsysteem.

Conclusie

In de zoektocht naar de verbetering van G250-gebaseerde TRT voor de behandeling van uitgezaaid ccRCC, vormt dit proefschrift een solide basis voor de verdere ontwikkeling van CAIX-TRT in combinatie met ICI, een belangrijke stap richting de klinische toepassing. De verbinding van klinisch onderzoek, *in vivo* preklinisch onderzoek, en *in vitro* onderzoek is van cruciaal belang om TRT-ICI combinaties te begrijpen en deze zo optimaal mogelijk te benutten in de toekomst. ♦

Referenties

1. Kleinendorst SC, Wenker STM, Heskamp S, Rijpkema M, van Lith SAM. Harnessing the Power

- of Radiation to Battle Cancer. *Frontiers for Young Minds*. 2024;12:1422612
2. Kleinendorst SC, Oosterwijk E, Bussink J, et al. Combining Targeted Radionuclide Therapy and Immune Checkpoint Inhibition for Cancer Treatment. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2022;17:3652-7
3. Kleinendorst SC, Oosterwijk E, Molkenboer-Kuening, J, et al. Towards effective CAIX-targeted radionuclide and checkpoint inhibition combination therapy for advanced clear cell renal cell carcinoma. *Theranostics*. 2024;9:3693-707
4. Kleinendorst SC, Hooijmans CR, Muselaers S, et al. Efficacy of combined targeted radionuclide therapy and immune checkpoint Inhibition in animal tumour models: a systematic review and meta-analysis of the literature. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2025;4: 4735-51 (doi:10.1007/s00259-025-07293-0)