

*Annika Bundscherer, Christian Hafner, Thomas Vogt, Klinik und Poliklinik für Dermatologie, Universität Regensburg.*

10. Oktober 2006

---

## Neue stromaorientierte Therapieoptionen in der palliativen Tumorthherapie

**Bei der Behandlung chemorefraktärer fortgeschrittener Tumorerkrankungen stellen stromaorientierte und antiangiogenetische Ansätze eine innovative und viel versprechende Therapieoption dar. Neben gezielt entwickelten Antikörpern und Fusionsproteinen besitzen auch einige primär nicht-onkologisch indizierte Medikamente wie mTOR-Antagonisten (Rapamycin), COX-2-Inhibitoren (Coxibe) und PPAR $\gamma$ -Agonisten (Glitazone) interessante antitumorale Eigenschaften. Für diese Substanzgruppen konnten sowohl direkte Effekte auf die Tumorzellen wie Induktion der Apoptose und Inhibition der Proliferation, als auch Modulation des peritumoralen Stromas im Sinne von antiangiogenetischen und immunaugmentierenden Effekten nachgewiesen werden. Von der Kombination verschiedener Wirkstoffe verspricht man sich super-additive Effekte und somit ein erhebliches antitumorales Potential bei geringem Nebenwirkungsprofil. Durch die metronome, also tägliche niedrig dosierte Gabe von klassischen Chemotherapeutika könnte die antiangiogenetische Wirkung zusätzlich unterstützt werden. In zahlreichen präklinischen Studien konnte die Wirksamkeit von mTOR-Antagonisten, COX-2-Inhibitoren und PPAR $\gamma$ -Agonisten in der Tumorthherapie schon belegt werden. Die Ergebnisse von klinischen Studien ermutigen dazu, das Konzept der stromaorientierten Tumorthherapie weiter zu verfolgen.**

Die zytostatische Chemotherapie ist seit über 50 Jahren die wichtigste Komponente in der Tumorthherapie. Ziel ist es, durch Induktion von DNA-Schäden oder Inhibition des Zellstoffwechsels möglichst viele Tumorzellen zu eliminieren. Chemotherapeutika werden dazu in der höchst möglichen Dosierung („maximal tolerated dose“) eingesetzt und treffen alle Zellen mit hoher Proliferationsrate. Dies führt zu akuten Nebenwirkungen wie Knochenmarksuppression, Haarausfall und Schädigung der gastrointestinalen Schleimhaut. Um eine Regeneration der Zellen zu ermöglichen, müssen zwischen den Therapiezyklen mehrwöchige Pausen eingelegt werden. Problematisch ist dabei, dass den Tumorzellen und versorgenden Gefäßen damit Zeit zur Regeneration gegeben wird und Tumorzellen aufgrund ihrer genetischen Instabilität in der Lage sind, resistente Tumorklone zu entwickeln, die durch weitere Therapiezyklen nicht mehr erreicht werden können. Deshalb muss durch Kombination mehrerer Substanzen oft eine Potenzierung möglicher Nebenwirkungen und eine Verschlechterung der Lebensqualität in Kauf genommen werden. Daher rührt die Suche nach neuen Therapiestrategien, die eine Alternative zur konventionellen Chemotherapie darstellen könnten.

Als viel versprechender Ansatz ist die stromaorientierte Tumorthherapie mit Einsatz der erwähnten

Biomodulatoren (mTOR-Antagonisten, COX-2-Inhibitoren und PPAR $\gamma$ -Agonisten) und / oder metronome Chemotherapie als Dauertherapie hier anzuführen. Diese Therapie zielt nicht in erster Linie auf die Tumorzellen selbst, sondern auf die tumorumgebenden Stromazellen wie z.B. Fibroblasten, immunologisch aktive Zellen und insbesondere Endothelzellen im Tumorgefäßbett. Der gezielte Angriff auf diese Zellen bietet im Vergleich zur konventionellen Chemotherapie einige theoretische Vorteile. Stromazellen sind genetisch stabiler. Deshalb ist die Gefahr der Resistenzentwicklung unter Umständen geringer als bei der klassischen Chemotherapie. Die metronome Dauergabe vermeidet zudem Pausen mit „Erholung“ des Tumor-Stroma-Verbandes. Wichtig ist, dass die Stromazellen in ihrem Genexpressionsmuster durchaus von normalen Körperzellen so abweichen, dass ein selektiver Angriff auf das Tumorstroma mit sehr akzeptablem Nebenwirkungsprofil und – bei oral-ambulante Procedure – mit sehr guter Lebensqualität möglich ist.

### **Antiangiogenetische Therapie**

Die Inhibition der Angiogenese ist ein Kernaspekt in der stromaorientierten Tumorthherapie. Ab einer Größe von 100 bis 200  $\mu\text{m}$  ist die Versorgung eines Tumors mit Nährstoffen und Sauerstoff über Diffusion allein nicht mehr gewährleistet, wenn kein Anschluss an das Gefäßsystem besteht. Malignome sind in der Lage, das sensible Gleichgewicht zwischen pro- und anti-angiogenetischen Faktoren so zu verschieben, dass durch Neubildung von Gefäßen ein exponentielles Wachstum ermöglicht wird. Diese neuen Tumorgefäße unterscheiden sich in ihrer Architektur grundlegend von gesunden Gefäßen. Tumorgefäße sind irregulär, heterogen und porös, die Endothelzellen sind unorganisiert und weisen ein anderes Expressionsmuster an Oberflächenmolekülen auf. Somit ist eine selektive Destruktion solcher Tumorgefäße denkbar. In den letzten Jahren wurden hierfür eine Vielzahl von potentiellen Angiogenese-Inhibitoren entwickelt, z.B. neutralisierende Antikörper gegen VEGF (vascular endothelial growth factor) oder „small molecules“ als selektive Inhibitoren. Zwar konnten die hohen Erwartungen, die man nach viel versprechenden Ergebnissen im Tiermodell in die anti-angiogenetische Therapie gesetzt hatte, in klinischen Studien nicht in vollem Umfang erfüllt werden, in palliativen Situationen ist diese Art von Therapie aber weiterhin eine interessante Option. Hier geht es weniger darum, eine hohe Ansprechrates zu erreichen und dafür hohe Nebenwirkungen in Kauf zu nehmen. Vielmehr soll die Erkrankung stabilisiert und das progressionsfreie Überleben verlängert werden.

In jüngster Zeit wurde vielfach belegt, dass sich auch verschiedene Medikamentengruppen, die ursprünglich für andere Indikationen entwickelt wurden, im Sinne von „Biomodulatoren“ gut für diesen palliativen Ansatz eignen. Hierzu zählen beispielsweise mTOR-Antagonisten wie Rapamycin, COX-2-Inhibitoren und PPAR $\gamma$ -Agonisten. Wie erwähnt besitzt auch die metronome Gabe von konventionellen Chemotherapeutika stroma modulierende und antiangiogenetische Effekte, was mit den genannten Biomodulatoren hervorragend harmoniert. Im Folgenden soll auf die Wirkmechanismen und auf erste klinische Ergebnisse mit Einsatz dieser Optionen näher eingegangen werden.

0

### **mTOR-Antagonisten in der Tumorthherapie**

#### **Rapamycin und seine Wirkung über den mTOR-Rezeptor ( Abb. 1)**

1975 isolierten Vezina et al. das natürliche Fungizid Rapamycin (Sirolimus) aus dem Bakterium *Streptomyces hygroscopicus* (20). Neben antimikrobiellen Effekten weist Rapamycin auch immunsuppressive Eigenschaften auf und wird deshalb bei Patienten nach Organtransplantation

eingesetzt, um eine Abstoßungsreaktion zu verhindern. Während der präklinischen Evaluation konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass Rapamycin auch ein starkes antitumorales Potential besitzt (5,6), wobei der Wirkmechanismus damals noch unklar war. Aufgrund der geringen Wasserlöslichkeit und chemischen Instabilität von Rapamycin konnten die Antitumor-Effekte zu dieser Zeit klinisch noch nicht eingesetzt werden. Erst durch die Entwicklung von Rapamycin-Analoga wie CCI-779, RAD001 und AP23573 wurde diese Substanz auch für die Anwendung am Patienten interessant.

Heute geht man davon aus, dass Rapamycin seine hemmenden Einflüsse auf die Tumorzellen über den mTOR-Rezeptor (mammalian target of Rapamycin) entfaltet. Rapamycin bindet an das Immunophilin FKBP12. Der so entstandene Rapamycin-FKBP12-Komplex interagiert mit dem mTOR-Rezeptor und inhibiert dessen Kinaseaktivität. Dieser Rezeptor ist eine atypische Serin-Threonin-Kinase, die eine zentrale Rolle in der Regulation von Zellproliferation, Wachstum, Differenzierung, Migration und Überleben der Zelle spielt.

Die beiden wichtigsten Downstream-Effektoren von mTOR sind die 40 S ribosomale Protein p70 S6 Kinase (p70 S6K1) und das Bindungsprotein des eukaryonten Translations-initiationsfaktors (4E-BP1). Durch die Inhibition von mTOR werden diese Substrate nicht mehr phosphoryliert und bleiben so inaktiv. Dadurch wird die Translation wichtiger Komponenten der Proteinsynthesemaschinerie verringert, was zu einem Arrest in der G1-Phase des Zellzyklus führt. Da die p70S6K durch Inaktivierung von BAD antiapoptotisch wirkt, induziert die Blockade des mTOR-Rezeptors den programmierten Zelltod. Weiterhin beeinflussen mTOR-Inhibitoren in der frühen Phase des Zellzyklus die Balance zwischen Cyclinen, Cyclin-abhängigen Kinasen und Cyclin-abhängigen Kinase-Inhibitoren, regulieren die Transkription der RNA-Polymerasen I, II und III, die Translation von rRNA und tRNA, Proteinphosphatasen, CLIP-170, HIF 1a (Hypoxia-inducible-factor 1a) und verhindern die Phosphorylierung des Retinoblastom-Proteins. Die Proteinbiosynthese der Zelle kann durch mTOR-Inhibition um 5 bis 20% reduziert werden. Eine Kombination all dieser Effekte führt zu Zellzyklusarrest und Induktion von Apoptose.

### **Regulation des mTOR-Rezeptors**

Die mTOR-Expression wird sowohl über die Konzentration von Aminosäuren, Glucose und ATP als auch durch Wachstumsfaktoren reguliert. Während eine hohe Konzentration an Nährstoffen die mTOR-Expression positiv beeinflusst, führt der Hungerstoffwechsel der Zelle zu einer Abnahme der mTOR-Funktion (15). Die regulierenden Signale der Wachstumsfaktoren werden über den IGFR-PI3K-AKT-mTOR-Signalweg, einer Reihe von Proteinkinasen, vermittelt (Abb. 2). In dieser Signalkaskade fördern IGFR, PI3K und AKT die mTOR-Expression während PTEN und TSC1/2 hemmende Einflüsse besitzen. In vielen Tumoren ist das Zusammenspiel von aktivierenden und inhibierenden Signalen gestört, z.B. durch PTEN-Mutationen. Die daraus resultierende Aktivitätssteigerung von mTOR fördert das aggressive Wachstum des Tumors. Für die Tumorthherapie mit Rapamycin-Analoga sind solche Mutationen jedoch von Vorteil, da die erhöhte mTOR-Aktivität mit einer erhöhten Sensibilität der Zellen gegenüber mTOR-Inhibitoren einhergeht.

2

### **Antiangiogenetische Effekte der mTOR-Inhibitoren (Abb. 1)**

Neben diesen direkten Effekten auf Tumorzellen entfalten mTOR-Inhibitoren ihr antitumorales Potential auch über die Hemmung der Angiogenese. Der mTOR-Rezeptor scheint eine Schlüsselrolle in der Hypoxie-induzierten Proliferation von Endothelzellen zu spielen. Unter

hypoxischen Bedingungen kommt es zu einer Akkumulation von HIFs (Hypoxia inducible transcription factors), die die Expression proangiogenetischer Faktoren wie VEGF (vascular endothelial growth factor) und PDGF (platelet-derived growth factor) induzieren. Ist mTOR in Tumorendothelzellen überexprimiert, so steigt in diesen Zellen die Konzentration an HIF und somit auch an VEGF. Durch Blockade des mTOR-Rezeptors kann dieser Mechanismus unterbrochen und die Neoangiogenese inhibiert werden. In verschiedenen Mausmodellen konnte gezeigt werden, dass die antiangiogenetischen Effekte von Rapamycin mit einer Reduktion des VEGF-Levels und Inhibition der VEGF-induzierten Endothelzellstimulation korrelieren (9).

### **Rapamycin-Therapie beim malignen Melanom**

Eine Monotherapie mit Rapamycin scheint bei der Therapie des Melanoms nicht die gewünschten Effekte zu haben. Von 33 Patienten, die in einer Phase-II-Studie des California Cancer Consortium mit dem Rapamycin-Analogon CCI-779 behandelt wurden, sprach nur ein Patient auf die Therapie an (11). Die Kombination von Rapamycin mit anderen antitumoral wirksamen Substanzen lieferte in vitro jedoch viel versprechende Ergebnisse. Eine Vorbehandlung mit Rapamycin sensibilisierte Melanomzellen für die apoptotischen Effekte von Doxorubicin (18). Darüber hinaus inhibierten in einer weiteren Studie sowohl der B-Raf-Inhibitor BAY43-9006 als auch Rapamycin allein die Serum-stimulierte Proliferation verschiedener humaner Melanom-Zelllinien. Durch die Kombination der beiden Substanzen konnten synergistische Wirkungen erzielt werden (12). Dies könnte die Grundlage für weitere klinische Studien darstellen.

### **COX-2-Inhibitoren in der Tumorthherapie (Abb.3)**

#### **Isoformen der COX und ihre Funktionen in Tumoren**

Die Cyclooxygenase (syn. Prostaglandin-H-Synthase) ist ein membrangebundenes Enzym, das die Umwandlung von Arachidonsäure in Prostaglandine katalysiert. 1991 wurden 2 Isoformen der COX identifiziert, die als COX-1 und COX-2 bezeichnet wurden. Die COX-1 ist konstitutiv in vielen Geweben exprimiert und übernimmt die Funktion der physiologischen Prostaglandinsynthese, z.B. zum Zellschutz im Gastrointestinaltrakt und zur Thrombozytenaggregation. Als schnell induzierbares Enzym spielt die COX-2 bei Entzündungsreaktionen, Gewebsschädigungen und Schmerzreaktionen eine bedeutende Rolle. In einigen Geweben wie Rückenmark, Niere und Uterus ist die COX-2 konstitutiv exprimiert, wo sie in physiologische Prozesse wie Wundheilung und Nidation involviert ist.

2

Auch in einer Reihe von Tumoren wie Pankreas-, Brust-, Magen-, Ösophagus-, Zervix- und Bronchialkarzinomen sowie im spinözellulären Karzinom der Haut und aktinischen Keratosen konnte die COX-2 häufig überexprimiert nachgewiesen werden. Ob auch in Melanomzellen eine COX-2-Überexpression vorliegt, ist fraglich (s.u.).

Die COX-2 ist über mehrere Mechanismen an der Tumorentstehung und an deren Aggressivität beteiligt. Mit Hilfe der COX-2 werden freie Radikale gebildet, die über die Oxidation von Prokanzerogenen zu Kanzerogenen eine Tumorentwicklung begünstigen. Durch Zerfall von PGH<sub>2</sub> entsteht das Mutagen Malondialdehyd, das sich in die DNA einlagern kann und so direkte und indirekte kanzerogene Effekte besitzt. In vielen COX-2 exprimierenden Tumoren wurde auch eine verstärkte Resistenz gegen den programmierten Zelltod beobachtet. Über die COX-2 werden die antiapoptotischen Faktoren bcl2 und TGF- $\beta$  verstärkt gebildet, während proapoptotische Signale durch die verminderte Expression von BAX, die Veränderung des Todesrezeptor-Signalwegs und

durch die Inhibition von p53 und der Caspasen 3, 8 und 9 gehemmt werden.

Mit Hilfe von selektiven COX-2-Inhibitoren kann über deren bekanntes analgetisch-antiinflammatorisches Wirkprofil hinaus dieses Gleichgewicht offensichtlich wieder in Richtung der proapoptotischen Signale verschoben werden. Aber auch andere Mechanismen wie die Blockade der AKT-Aktivierung scheinen an der Coxib-induzierten Apoptose beteiligt zu sein. Interessanterweise beobachteten Waskewich et al. vergleichbare antiproliferative Effekte von Celecoxib in COX-2 positiven und COX-2 negativen Endothelzellen (24). Da diese Ergebnisse auch für Brust-, Prostata-, Ovarialkarzinom- und Melanomzellen (23) bestätigt werden konnten, liegt der Verdacht nahe, dass einige anti-Tumor-Wirkungen der Coxibe über COX-2 unabhängige Mechanismen vermittelt werden.

Wie die mTOR-Antagonisten weisen COX-2-Inhibitoren aber nicht nur direkte Antitumoreffekte auf, sondern haben auch Einfluss auf das tumorumgebende Stroma, wo sie immunmodulatorisch und antiangiogenetisch wirken. Die Überexpression der COX-2 im Tumor und Stroma bewirkt eine verstärkte PGE<sub>2</sub>-Produktion. PGE<sub>2</sub> hemmt direkt die T-Zell-Aktivierung und über die gesteigerte Bildung von TIMP 1 auch die Funktion der dendritischen Zellen. Über die Hemmung dieser Effekte *fördern* COX-2-Inhibitoren trotz ihres antiinflammatorischen Wirkprofils somit die Anti-Tumor-Aktivität des Immunsystems. Weitere wichtige Angriffspunkte der Coxibe sind die Endothelzellen der tumorversorgenden Gefäße. Da normale Endothelzellen nur COX-1, Tumorendothelzellen aber oft COX-2 exprimieren, scheint mit COX-2-Inhibitoren in gewissen Grenzen eine selektive Antitumortherapie möglich zu sein. Die COX-2 fördert die Angiogenese über verschiedene Effektoren: Matrix-Metalloproteinasen, die in Tumor- und Endothelzelloinvasion involviert sind, Integrin  $\alpha_5 \beta_3$ , das die Migration und das Überleben der Endothelzellen erleichtert, und durch EGFR (epidermal growth factor receptor) und PGE<sub>2</sub> direkt, die VEGF (vascular endothelial growth factor) aus den Stromazellen freisetzen. All diese proangiogenetischen Effekte können von COX-Inhibitoren blockiert werden. Auch die Konzentration antiangiogenetischer Faktoren wie IL-12 und Endostatin steigt unter Coxib-Therapie.

### **Klinische und präklinische Studien**

In zahlreichen epidemiologischen Studien zeigte sich, dass Patienten, die regelmäßig Aspirin oder andere NSAIDs einnehmen, ein wesentlich geringeres Risiko haben, an kolorektalen Adenomen oder Karzinomen zu erkranken. Steinbach et al. untersuchten in einer doppelblinden randomisierten Studie die präventive Wirkung von COX-2-Hemmern bei Patienten mit FAP und beobachteten bei einer 2 mal täglichen Einnahme von Celecoxib über 6 Monate eine signifikante Reduktion der kolorektalen Polypen (19). Auch im Tiermodell konnten die in vitro beobachteten Effekte bestätigt werden. Bei Mäusen mit primärem Adenokarzinom der Brust führte die orale Applikation von Celecoxib durch Induktion der Apoptose, Hemmung der Proliferation und Reduktion des VEGF-Levels zu einer signifikanten Reduktion der Tumorlast (1). Während sich die Coxibe in der Tumortherapie zu einer viel versprechenden Sub-stanzgruppe entwickeln, hat sich der Anwendungsbereich für COX-2-Inhibitoren im nicht onkologischen Sektor verschmälert. Nachdem beobachtet wurde, dass eine langfristige (>18 Monate) Einnahme von Coxiben das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen wie Herzinfarkt und Schlaganfall erhöht, mussten Rofecoxib und Valdecoxib vom Markt genommen werden, die Indikationen für Celecoxib wurden massiv eingeschränkt. In der palliativen Tumortherapie bergen die COX-2-Hemmer aber trotz allem weiterhin ein interessantes Potential.

### **COX-2-Targeting im malignen Melanom und in epithelialen Präkanzerosen**

Die Analysen der COX-2-Expression im malignen Melanom lieferten widersprüchliche Ergebnisse.

Während in 2 Studien keine COX-2 im Melanom nachgewiesen werden konnte (23, 8) fand eine dritte Arbeitsgruppe verstärkte COX-2-Expression in primären Melanomen, nicht aber in benignen Nävi (4). Vogt et al. beobachteten die Induktion der Apoptose durch Sulindac-Sulfid in COX-2 negativen Melanom-Zelllinien (23). Chiu et al. untersuchten den Einfluss von Celecoxib und nicht selektiven COX-2-Hemmern in Kombination mit DHA (do-cosahexaenoic acid) auf das Wachstum von A375-Melanomzellen und sahen eine signifikante Wachstumsinhibition durch diese Medikamente (2). Beide Arbeitsgruppen postulieren, dass diese Effekte im Melanom auf COX-2 unabhängigen Mechanismen beruhen müssen und sich hieraus auch beim malignen Melanom interessante Therapieoptionen ableiten könnten. Ein weiteres Anwendungsgebiet der COX-Hemmer in der Dermatologie ist die topische Behandlung von aktinischen Keratosen. Hier wird eine Kombination aus dem nicht selektiven COX-Inhibitor Diclofenac und Hyaluronan Gel (Solaraze®) bereits erfolgreich eingesetzt.

## **PPAR $\gamma$ -Agonisten in der Tumorthherapie**

### **PPAR $\gamma$ -Rezeptor und dessen Rolle im Stoffwechsel**

PPAR-Rezeptoren sind nukleäre Hormonrezeptoren, die in der Regulation des Zellstoffwechsels eine entscheidende Position einnehmen. Es existieren drei Isoformen, PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  und PPAR $\gamma$ , die sich in der Verteilung auf verschiedene Gewebstypen unterscheiden. Als ligandenaktivierte Transkriptionsfaktoren bilden die PPAR-Rezeptoren mit dem Retinolsäurerezeptor RXR Heterodimere und antworten auf extrazelluläre Stimuli mit der Regulation der Genexpression. Insbesondere die Funktion des PPAR $\gamma$ -Rezeptors, der vor allem in Adipozyten und Zellen des Immunsystems exprimiert ist und in Glukosestoffwechsel und Lipid-Homöostase eine Schlüsselrolle spielt, wurde in den letzten Jahren intensiv untersucht. Zu den natürlichen Liganden des PPAR $\gamma$ -Rezeptors zählen lipophile Substanzen wie mehrfach ungesättigte Fettsäuren und Eikosanoid-Derivate, wobei Prostaglandin J<sub>2</sub> den potentesten endogenen Liganden darstellt. Aktivierung des PPAR $\gamma$ -Rezeptors reduziert die Serumglukosekonzentration, weshalb PPAR $\gamma$ -Agonisten wie Troglitazon, Pioglitazon, Ciglitazon und Rosiglitazon zur Behandlung des Diabetes melitus Typ 2 entwickelt wurden. Troglitazon musste mittlerweile wegen starker leberschädigender Wirkung vom Markt genommen werden. Neben den insulinsensibilisierenden Wirkungen zeigen die Thiazolidindione auch antiproliferative Effekte. Wie die angesprochenen mTOR-Antagonisten und Coxibe entfalten auch PPAR $\gamma$ -Agonisten direkte und indirekte Einflüsse auf Malignome. Für diese Effekte werden sowohl PPAR $\gamma$ -abhängige wie auch unabhängige Signalwege verantwortlich gemacht.

### **Direkte antitumorale Effekte der Glitazone (Abb. 4)**

Über die Hochregulation von BAD und BAX und die daraus resultierende Freisetzung von Cytochrom C aus den Mitochondrien werden Effektor-Caspasen in den Tumorzellen aktiviert und somit Apoptose induziert. Auch andere Apoptosewege scheinen durch die Aktivierung des PPAR $\gamma$ -Rezeptors beeinflusst zu werden. Glitazone arretieren die Tumorzellen über zwei verschiedene Mechanismen in der G1-Phase des Zellzyklus, und zwar durch die Herunterregulation des Cyclin D1 und die Hochregulation der CDK-Inhibitoren p18, p21 und p 27. Zur Wirkung der Glitazone auf Melanomzellen in vitro liegen mehrere Studien vor. Melanomzellen exprimieren PPAR $\gamma$  und die Behandlung mit Glitazonen scheint sowohl eine dosisabhängige Inhibition der Proliferation wie auch Induktion der Apoptose herbeizuführen (7, 14). In einer Studie konnten die Melanomzellen allerdings erst durch Entzug von Aminosäuren für Ciglitazon sensibilisiert werden (13).

Aktivierung des PPAR $\gamma$ -Rezeptors führt auch in Malignomen zur Veränderung der Genexpression. So wird zum Teil eine Redifferenzierung der entarteten Tumorzellen ermöglicht, was von der Reexpression von Differenzierungsmarkern wie E-Cadherin begleitet wird.

### **Antiangiogenetische Effekte**

PPAR $\gamma$ -Agonisten hemmen ebenfalls die Gefäßneubildung im Tumor sowohl direkt als auch indirekt. An den Endothelzellen bewirken diese Substanzen eine Inhibition der Proliferation, der Migration und eine Störung der Differenzierung zu röhrenartigen Strukturen. Auch die Caspase-vermittelte Apoptose wird gesteigert. Da PPAR $\gamma$  im aktiven Tumorendothel hochreguliert ist, scheint eine selektive Tumorthherapie in gewissem Maße möglich zu sein. Indirekte antiangiogenetische Effekte werden über die vermehrte Produktion von antiangiogenetischen Faktoren wie Thrombospondin und die Reduktion proangiogenetischer Faktoren wie VEGF, bFGF, Leptin und TNF $\alpha$  vermittelt. Ob Glitazone in der Lage sind, die Invasion der Tumorzellen durch das Endothel in die Blutbahn und somit die Metastasierung zu behindern, wird noch diskutiert.

### **Stromaorientierte (metronome) Chemotherapie**

Auch zytotoxische Chemotherapeutika können als antiangiogenetische Substanzen fungieren, wenn sie in regelmäßigen Abständen in geringen Dosen appliziert werden. Die nach dem Prinzip der metronomen Chemotherapie eingesetzten Dosierungen liegen weit unterhalb der Maximaldosis, so dass akute Nebenwirkungen seltener auftreten und so auf längere Therapiepausen verzichtet werden kann. Auch die Lebensqualität der Patienten wird nur gering eingeschränkt und supportive Therapien wie Wachstumsfaktoren zur schnelleren Regeneration des Knochenmarks sind selten nötig. Ziel der metronomen Chemotherapie sind die Endothelzellen. Als proliferierende Zellen werden diese zwar auch von der konventionellen Hochdosis-Chemotherapie erreicht, die obligatorischen mehrwöchigen Pausen zwischen den Therapiezyklen erlauben jedoch die Regeneration der Endothelzellen. Durch Arrest in der G1-Phase des Zellzyklus ermöglicht der Sensor für DNA-Schäden p53 die Reparatur des Genoms und schwächt damit die antiangiogenetischen Effekte der konventionellen Chemotherapie ab. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass bei kontinuierlicher, vorzugsweiser oraler Applikation schon Dosierungen im pikomolaren Bereich (z.B. Trofosamid, Tremozolamid, Capecitabin u.a.) in der Lage sind, Proliferation, Motilität und Aussprossung der Tumorgefäße zu inhibieren. Warum diese Effekte nur im tumorversorgenden Endothel, nicht aber an anderen Organen auftreten, ist bislang noch unklar. In präklinischen Studien wurden keine Alterationen in anderen Gefäßen nachgewiesen. Eine mögliche Erklärung wäre die höhere Proliferationsrate, die die Empfänglichkeit der „aktivierten“ Endothelzellen im Umfeld des Tumors für zytotoxische Substanzen steigert. Darüber hinaus könnte auch das veränderte peritumorale Zytokin-Milieu eine Rolle spielen. Auch wenn die Tumorgefäße den wichtigsten Angriffspunkt dieser Therapieform darstellen, scheinen noch andere Mechanismen einen Beitrag zur Reduktion der Tumormasse zu leisten. Möglicherweise wird durch die metronome Chemotherapie das Immunsystem stimuliert. Durch gesteigerte Aktivität der T-Effektorzellen, Hemmung der T-Suppressorzellen und Veränderung der Zytokinproduktion scheint die Immunantwort gegen den Tumor verbessert zu werden (10). Ob die metronome Chemotherapie auch direkten Einfluss auf die Tumorzellen hat, wird derzeit noch diskutiert.

Die Ergebnisse von klinischen und präklinischen Studien wecken die Hoffnung, dass durch die Kombination dieses metronomen Therapieprinzips mit anderen antiangiogenetisch wirksamen Substanzen, also z.B. oben genannten „Biomodulatoren“, durch additive Effekte das

progressfreie Überleben bei sehr guter Lebensqualität der Patienten verlängert werden kann.

### **Kombinationstherapie**

Trotz der genetischen Stabilität der Stromazellen deuten die Ergebnisse mehrerer Studien darauf hin, dass sich auch unter stromaorientierten Therapieregimen mit Einzelsubstanzen rasch Resistenzen entwickeln können. Diese Beobachtungen sind wahrscheinlich auf mehrere Mechanismen zurückzuführen. Die gezielte Blockade einzelner Faktoren kann unter Umständen durch die gesteigerte Produktion redundant wirkender Faktoren kompensiert werden. Die Inhibition der Angiogenese könnte die Selektion einzelner Tumorklone mit einem hohen Maß an Hypoxie-Toleranz fördern, die somit für die antiangiogenetische Therapie weitgehend unempfindlich sind. Diese Probleme scheinen vor allem bei monotherapeutischen Ansätzen vorzukommen. Daher ist die Kombination mehrerer biomodulierender Substanzen, eventuell auch mit metronomer Chemotherapie, vorzuziehen, um diesen „Escape“-Mechanismen der Malignome entgegenzuwirken.

4

Klinische Studien mit Kombinationen mehrerer Stroma-wirksamer Substanzen stützen diese These (Tabelle 1). In einer eigenen Pilotstudie erhielten z.B. Patienten mit fortgeschrittenen und therapierefraktären malignen vaskulären Tumoren eine Dreifachkombination aus Pioglitazon, Rofecoxib und metronom appliziertem Trofosamid (22). Da die Medikamente oral verabreicht werden konnten, gut toleriert wurden und nur milde Nebenwirkungen hervorriefen, konnte die Therapie über die gesamte Behandlungsdauer ambulant durchgeführt werden. Mit 2 kompletten Remissionen, 1 partiellen Remission und 1 Stabilisierung der Erkrankung > 6 Monate zeigten sich in dieser Studie mit insgesamt 6 Patienten gute Ansprechraten. Die progressfreie Zeit lag im Durchschnitt bei 7,7 Monaten. Die Verträglichkeit ist mit wenigen Fällen von peripheren Ödemen und beherrschbaren Anämien bei voll ambulanter Therapieführung erstaunlich gut. Nach dem selben Therapieregime wurden in einer Phase-II-Studie maligne Melanome und verschiedene Weichteilsarkome behandelt (16). Neue eigene Studiendaten (unveröffentlicht) zeigen Überlebensvorteile bei kombinatorisch behandelten Melanom-Patienten in First- und Second-line Regimen gegenüber metronomer Chemotherapie allein. Zudem konnte mit der Kombination aus Pioglitazon, Rofecoxib und metronom appliziertem Trofosamid in Fallberichten auch beim Kaposi-Sarkom (3) und der Langerhanszell-Histiozytose (17) Erfolge erzielt werden. Attraktiv ist das Konzept auch z.B. dann, wenn im Rahmen fortgeschrittener Tumorerkrankungen entzündliche Paraneoplasien auf autoimmuner Basis auftreten, wie aktuell beim Prostatakarzinom und paraneoplastischen SCLE (subacute-cutaneous lupus erythematoses) beschrieben wurde (21). Tabelle 1 führt einige weitere Studienergebnisse mit stromaorientierten Kombinationstherapien aus den dermatologischen und nicht-dermatologischen Reihen auf.

### **Fazit**

Aufgrund des geringen Nebenwirkungsprofils, der ambulanten Durchführbarkeit und der daraus resultierenden hohen Akzeptanz bei den Patienten stellen stromaorientierte Ansätze mit Biomodulatoren wie mTOR-Antagonisten, Coxiben, PPAR $\gamma$ - Agonisten und unter Umständen metronomer Chemotherapie ein attraktives Konzept in der palliativen Tumorthherapie dar. Die bisherigen klinischen und präklinischen Ergebnisse motivieren dazu, weitere Kombinationen von biomodulatorischen und zytotoxischen Medikamenten zu testen um für die jeweiligen



## Tumorentitäten optimale Therapieregime zu entwickeln.

Quelle: Literatur

1. Basu GD, Pathangey LB, Tinder TL, Lagioia M, Gendler SJ, Mukherjee P. Cyclooxygenase-2 inhibitor induces apoptosis in breast cancer cells in an in vivo model of spontaneous metastatic breast cancer. *Mol Cancer Res* 2004;2(11):632-42.
2. Chiu LC, Tong KF, Ooi VE. Cytostatic and cytotoxic effects of cyclooxygenase inhibitors and their synergy with docosahexaenoic acid on the growth of human skin melanoma A-375 cells. *Biomed Pharmacother* 2005;59 Suppl 2:S293-7.
3. Coras B, Hafner C, Reichle A, Hohenleutner U, Szeimies RM, Landthaler M, et al. Antiangiogenic therapy with pioglitazone, rofecoxib, and trofosfamide in a patient with endemic kaposi sarcoma. *Arch Dermatol* 2004;140(12):1504-7.
4. Denkert C, Kobel M, Berger S, Siegert A, Leclere A, Trefzer U, et al. Expression of cyclooxygenase 2 in human malignant melanoma. *Cancer Res* 2001;61(1):303-8.
5. Douros J, Suffness M. New antitumor substances of natural origin. *Cancer Treat Rev* 1981;8(1):63-87.
6. Eng CP, Sehgal SN, Vezina C. Activity of rapamycin (AY-22,989) against transplanted tumors. *J Antibiot (Tokyo)* 1984;37(10):1231-7.
7. Freudlsperger C, Moll I, Schumacher U, Thies A. Anti-proliferative effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists on human malignant melanoma cells in vitro. *Anticancer Drugs* 2006;17(3):325-32.
8. Goulet AC, Einsphar JG, Alberts DS, Beas A, Burk C, Bhattacharyya A, et al. Analysis of cyclooxygenase 2 (COX-2) expression during malignant melanoma progression. *Cancer Biol Ther* 2003;2(6):713-8.
9. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8(2):128-35.
10. Hafner C, Reichle A, Vogt T. New indications for established drugs: combined tumor-stroma-targeted cancer therapy with PPARgamma agonists, COX-2 inhibitors, mTOR an-tagonists and metronomic chemotherapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2005;5(6):393-419.
11. Margolin K, Longmate J, Baratta T, Synold T, Christensen S, Weber J, et al. CCI-779 in metastatic melanoma: a phase II trial of the California Cancer Consortium. *Cancer* 2005;104(5):1045-8.
12. Molhoek KR, Brautigam DL, Slingluff CL, Jr. Synergistic inhibition of human melanoma proliferation by combination treatment with B-Raf inhibitor BAY43-9006 and mTOR inhibitor Rapamycin. *J Transl Med* 2005;3:39.
13. Nunez NP, Liu H, Meadows GG. PPAR-gamma ligands and amino acid deprivation promote apoptosis of melanoma, prostate, and breast cancer cells. *Cancer Lett* 2005.
14. Placha W, Gil D, Dembinska-Kiec A, Laidler P. The effect of PPARgamma ligands on the proliferation and apoptosis of human melanoma cells. *Melanoma Res* 2003;13(5):447-56.
15. Proud CG. Regulation of mammalian translation factors by nutrients. *Eur J Biochem* 2002;269(22):5338-49.
16. Reichle A, Bross K, Vogt T, Bataille F, Wild P, Berand A, et al. Pioglitazone and ro-fecoxib combined with angiostatically scheduled trofosfamide in the treatment of far-advanced melanoma and soft tissue sarcoma. *Cancer* 2004;101(10):2247-56.
17. Reichle A, Vogt T, Kunz-Schughart L, Bretschneider T, Bachthaler M, Bross K, et al. Anti-inflammatory and angiostatic therapy in chemorefractory multisystem Langerhans' cell histiocytosis of adults. *Br J Haematol* 2005;128(5):730-2.
18. Romano MF, Avellino R, Petrella A, Bisogni R, Romano S, Venuta S. Rapamycin inhibits doxorubicin-induced NF-kappaB/Rel nuclear activity and enhances the apoptosis of melanoma cells. *Eur J Cancer* 2004;40(18):2829-36.

19. Steinbach G, Lynch PM, Phillips RK, Wallace MH, Hawk E, Gordon GB, et al. The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *N Engl J Med* 2000;342(26):1946-52.
20. Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokyo)* 1975;28(10):721-6.
21. Vogt T, Coras B, Hafner C, Landthaler M, Reichle A. Anti-angiogenetic and anti-inflammatory palliative therapy in case of metastatic prostate carcinoma complicated by para-neoplastic subacute-cutaneous lupus erythemathodes. *The Lancet Oncol.* 2006; in press.
22. Vogt T, Hafner C, Bross K, Bataille F, Jauch KW, Berand A, et al. Antiangiogenetic therapy with pioglitazone, rofecoxib, and metronomic trofosfamide in patients with advanced malignant vascular tumors. *Cancer* 2003; 98(10): 2251-6.
23. Vogt T, McClelland M, Jung B, Popova S, Bogenrieder T, Becker B, et al. Progression and NSAID-induced apoptosis in malignant melanomas are independent of cyclooxygenase II. *Melanoma Res* 2001;11(6):587-99.
24. Waskewich C, Blumenthal RD, Li H, Stein R, Goldenberg DM, Burton J. Celecoxib exhibits the greatest potency amongst cyclooxygenase (COX) inhibitors for growth inhibition of COX-2-negative hematopoietic and epithelial cell lines. *Cancer Res* 2002;62(7):2029-33.