

*Ulrike Gnad-Vogt, Martin Falk, Karl-Josef Kallen, Medical Center of Excellence Oncology, Merck KGaA Darmstadt.*

08. August 2006

---

## Pankreaskarzinom: EGFR- und Immuntherapie

Das Pankreaskarzinom ist die vierthäufigste Ursache krebserkrankter Todesfälle in der westlichen Welt. Bei einer jährlichen Inzidenz von 10.000 Fällen in der Bundesrepublik und 30.000 in den USA ist der große Einfluss auf die Krebssterblichkeit hauptsächlich durch die bis heute fehlenden Möglichkeiten einer effektiven Früherkennung, die hohe Rezidivrate nach „kurativer“ Resektion und die äußerst beschränkten Therapieerfolge in fortgeschrittenen Stadien bedingt (1). Bei nur 15-20% aller Patienten ist das Pankreaskarzinom zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch resektabel und damit potentiell heilbar. Doch selbst 50% dieser „kurativ“ resezierten Patienten entwickeln innerhalb von 2 Jahren nach der Operation ein Rezidiv, das in der Regel innerhalb von Monaten zum Tode führt (2). Insgesamt überleben nur 20-40% aller Patienten, deren Tumor in sano reseziert werden konnte (R0-Resektion) 5 Jahre ab Diagnosestellung (3).

### Rolle der Chemo-und Strahlentherapie

Mögliche adjuvante Therapiestrategien beim Pankreaskarzinom umfassen die systemische Chemotherapie, die kombinierte sowie die sequentielle Radiochemotherapie (2). Die kombinierte, auf 5-Fluorouracil (5-FU) basierende Radiochemotherapie zeigte in randomisierten Phase-III-Studien letztlich keinen überzeugenden Überlebensvorteil und war mit einer ausgeprägten Toxizität behaftet, während die alleinige Chemotherapie einer Metaanalyse zufolge zu einer Verbesserung der 5-Jahresüberlebensrate von 12% auf 19% führte (4; Übersicht in Tabelle 1). Kürzlich belegte eine randomisierte Phase-III-Studie (CONKO-001) die Wirksamkeit und gute Verträglichkeit einer adjuvanten Behandlung mit Gemcitabin: Das mediane progressionsfreie Überleben nach R0- oder R1-Resektion eines Pankreaskarzinomes wurde von 7,5 Monaten im Kontrollarm auf 14,2 Monate im Behandlungsarm verlängert (5). Eine Phase-III-Studie der RTOG untersuchte die zusätzliche Behandlung mit 5-FU versus Gemcitabin vor und nach einer Radiochemotherapie mit 5-FU und zeigte eine Verlängerung des medianen Überlebens im Gemcitabin-Arm im Vergleich zum 5-FU-Arm (18,8 vs. 16,7 Monate) (6). Auch diese Studie belegt die Wirksamkeit von Gemcitabin in der adjuvanten Therapie, wobei direkte vergleichende Daten für die adjuvante Therapie mit Gemcitabin mit oder ohne Radiatio noch nicht vorliegen. In lokal fortgeschrittenen Stadien des Pankreaskarzinoms kommen außerhalb von klinischen Studien sowohl die Monochemotherapie mit Gemcitabin als auch die auf 5-FU basierende Radiochemotherapie zum Einsatz. Beide Therapieoptionen wurden nie direkt in einer randomisierten Studie miteinander verglichen, die Angaben für die mediane Überlebenszeiten mit beiden Modalitäten differieren aber nicht wesentlich (8-10 Monate). Eine beim ASCO 2006

präsentierte randomisierte Phase-III-Studie verglich eine kombinierte Radiochemotherapie mit 5-FU und Cisplatin gefolgt von einer Erhaltungstherapie mit Gemcitabin mit der alleinigen Chemotherapie mit Gemcitabin. Die Studie wurde aufgrund einer signifikant kürzeren medianen Überlebenszeit im Radiochemotherapiearm vorzeitig abgebrochen (14,3 Monate vs. 18,4 im Chemotherapiearm) (7).

Mit auf Gemcitabin basierenden Kombinationschemotherapien (z.B. mit 5-FU, Irinotecan, Oxaliplatin und Cisplatin) wurden im Vergleich zur Gemcitabin-Monotherapie zum Teil höhere Ansprechraten und progressionsfreie Intervalle erzielt. Die Toxizität der Kombinationsbehandlung war jedoch vergleichsweise höher und eine signifikante Verlängerung des Gesamtüberlebens konnte in den meisten Studien nicht gezeigt werden (z.B. 8, 9). Mit auf Gemcitabin-basierenden Radiochemotherapieregimen wurden in einigen Phase-I- und -II-Studien zum Teil Ansprechraten von bis zu 50% und ein progressionsfreies Überleben von bis zu 12 Monaten erreicht, wobei sehr unterschiedliche Behandlungsschemata zum Einsatz kamen, die zum Teil mit erheblicher gastrointestinaler Toxizität behaftet waren. Dieser Ansatz wird zur Zeit weiter intensiv in Studien untersucht, wobei manche Autoren nach gutem Ansprechen auf die Radiochemotherapie auch über sekundäre R0-Resektionen berichteten (10).

Die Prognose des metastasierten Pankreaskarzinomes ist extrem ungünstig. Die Ansprechraten unter der immer noch als Standard geltenden Monotherapie mit Gemcitabin liegen deutlich unter 20 %, die mediane Zeit bis zur Progression bei 3-4 Monaten und die mediane Überlebenszeit bei 6-8 Monaten. Wie bei den lokal fortgeschrittenen Stadien wurde auch durch Kombinationstherapien trotz teilweise höherer Ansprechraten keine signifikante Überlebensverlängerung im Vergleich zur Monotherapie mit Gemcitabin erreicht (z.B. 7, 8). Einen Überblick über die Behandlungsergebnisse beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom gibt Tabelle 2.

0

1

### **Biologie des Pankreaskarzinoms: Signaltransduktionswege und ihre Verbindungen zum Immunsystem**

Das äußerst schlechte Ansprechen des fortgeschrittenen Pankreaskarzinoms auf Chemo- und Strahlentherapie lässt sich vermutlich durch eine Vielzahl von Resistenzmechanismen des Tumors erklären wie z.B. Mutationen von KRAS, CDKN2A, TP53, BCRA2 und SMAD4/DPC4. Der Tumor ist durch eine beachtliche genetische Instabilität und Aneuploidie gekennzeichnet (11). Auch bei initialem Ansprechen auf die Therapie kommt es häufig zur raschen Proliferation resistenter Subklone. Der maligne Phänotyp der Pankreaskarzinomzelle ist, wie bei anderen malignen Tumoren auch, durch ein komplexes Zusammenspiel gestörter Wachstumsfaktorsignalwege, die Zellproliferation und Zelldifferenzierung steuern, charakterisiert.

### **Epidermal growth factor receptor (EGFR)-Signalweg**

Pankreaskarzinome exprimieren sowohl verschiedene Rezeptoren der EGFR-Familie (EGFR, ERBB2 oder Her2/neu und ERBB3) als auch deren Liganden „transforming growth factor alpha“ (TGF $\alpha$ ) und „epidermal growth factor“ (EGF). Die Überexpression des EGFR und mindestens eines seiner Liganden (EGF, TGF $\alpha$ ) in Tumorzellen geht statistisch signifikant mit verringertem Überleben bei Patienten mit Pankreaskarzinomen einher (12). Dies sind deutliche Hinweise

darauf, dass EGFR und seine Liganden im Sinne eines autokrinen positiven feedback zur Entwicklung der malignen Eigenschaften der Zellen des Pankreaskarzinoms beitragen. Die Aktivierung des EGF-Rezeptors durch seine Liganden kann Signaltransduktionswege aktivieren, die Zellproliferation und verankerungsfreies Wachstum stimulieren können (12). Unter anderem wird durch EGFR-Aktivierung über den Transkriptionsfaktor STAT 3 die Expression von „vascular endothelial cell growth factor“ (VEGF) stimuliert (Abb.1).

In einem orthotopen Maus-Modell mit humanen Pankreaskarzinomzellen konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit dem chimären EGFR-blockierenden Antikörper Cetuximab (Erbitux®) zur Herunterregulierung von VEGF und Interleukin 8 (IL-8) sowie zur Hemmung der Angiogenese und des Tumorwachstums führt (12). Diese Effekte wurden durch zusätzliche Behandlung mit Gemcitabin potenziert. Histologisch zeigte sich, dass Cetuximab eine Tumorzellapoptose und Proliferationshemmung aber auch Endothelzellapoptose und eine Abnahme der Mikrogefäßdichte induziert. Diese Experimente belegen eindrücklich, dass die EGFR-Blockade durch Cetuximab auch eine antiangiogenetische Wirkkomponente besitzt.

### **VEGF-Signalweg**

Dem Wachstumsfaktor VEGF wird eine besonders bedeutsame Rolle bei der Angiogenese von Pankreaskarzinomen zugeschrieben und die Hemmung seines Signalweges stand in den letzten Jahren im Focus der pharmazeutischen Entwicklung.

VEGF wird von Pankreaskarzinomzellen in Form zahlreicher Isoformen exprimiert und fördert die Angiogenese über eine Vielzahl von Mechanismen. Pankreaskarzinomzellen synthetisieren und sezernieren VEGF. Darüber hinaus exprimieren sie die Rezeptoren VEGFR1 und VEGFR2 auf der Zelloberfläche, deren Aktivierung durch Bindung von VEGF das Wachstum der Tumorzellen direkt stimuliert. Dies entspricht einem autokrinen Mechanismus der Pankreaskarzinomzelle zur Förderung des eigenen Wachstums („positiver feedback loop“). Darüber hinaus stimuliert sezerniertes VEGF Endothelzellen zur Ausbildung neuer Gefäße (parakriner Effekt).

2

Einige Studien konnten einen negativen prognostischen Einfluss der Blutgefäßdichte und VEGF-Expression bei Pankreastumoren nachweisen und lassen somit vermuten, dass besonders aggressive Pankreaskarzinome besonders gute Angiogeneseinduktoren sind bzw. eine starke VEGF-Produktion gleichzeitig autokrin zu aggressivem Tumorwachstum und parakrin zur verstärkten Angiogenese führt (13). Es wurde auch über eine positive Korrelation postoperativer VEGF-Spiegel im Serum von Pankreaskarzinompatienten mit der Rezidivrate und einer verminderten Überlebenszeit berichtet. Neben seiner proangiogenetischen Wirkung übt VEGF aber auch einen immunsuppressiven Effekt aus, indem er die Reifung dendritischer Zellen hemmt. Unreife dendritische Zellen wirken tolerogen auf T-Zellen, d.h. sie hemmen die Ausbildung einer T-Zellantwort (14).

Der monoklonale Anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab (Avastin®) wird derzeit in einer randomisierten Phase-III-Studie der CALBG in Kombination mit Gemcitabin versus Gemcitabin-Monotherapie beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom geprüft, nachdem in einer Phase-II-Studie mit 52 Patienten ein medianes Überleben von 8,8 Monaten beobachtet worden war (15).

### **„Transforming growth factor beta“ (TGFβ)**

TGFβ stellt ein Schlüsselmolekül in der Pathogenese des Pankreaskarzinoms dar und zeigt pleiotrope Effekte. Pankreaskarzinomzellen exprimieren sowohl verstärkt TGFβ als auch seinen Rezeptor Typ II (TGFβRII) (16). Durch Bindung von TGFβ an TGFβ RII wird der TGFβ Typ I Rezeptor

phosphoryliert und führt zur Aktivierung der Transkriptionsfaktoren smad 2, smad 3 und smad 4, die einen Komplex bilden und gemeinsam mit anderen Transkriptionsfaktoren die Expression von wachstumssteuernden Genen induzieren (17).

Während die Aktivierung des TGF $\beta$ -Signalweges in der frühen Phase der Karzinogenese die Zellproliferation hemmt, trägt TGF $\beta$  in fortgeschrittenen Tumorstadien zum Fortschreiten der Erkrankung bei, indem er die Angiogenese und Tumorzellausbreitung ins Gewebe induziert (17). Die Resistenz der Tumorzellen gegenüber dem antiproliferativen Effekt von TGF $\beta$  kann einerseits durch inaktivierende Mutationen im TGF $\beta$ -Rezeptorgen, aber auch durch selektive Verluste von Einzelkomponenten des smad-Signalweges oder nachgeschalteter Signalwege entstehen (18). Neben seinen direkten Effekten auf die Tumorzellen fördert TGF $\beta$  die Bildung von Komponenten der extrazellulären Matrix (Kollagen, Fibronectin und Proteoglykane), hemmt deren Abbau (19), und trägt somit zu der bei Pankreaskarzinomen häufig beschriebenen Fibrose bei.

TGF $\beta$  wirkt zudem stark immunsuppressiv durch Hemmung der T-Zellaktivierung und -proliferation. Zudem hemmt TGF $\beta$  die Zytolyse von Tumorzellen durch T-Zellen, indem es die Genexpression der zytolytisch wirkenden Proteine Perforin, Granzyme A und B, Fas-Ligand und Interferon $\gamma$  in T-Zellen hemmt (20).

Aufgrund seiner in den fortgeschrittenen Stadien des Pankreaskarzinoms ausgeprägten proinvasiven und immunsuppressiven Effekte trägt TGF $\beta$  wahrscheinlich entscheidend zur ausgeprägten Malignität dieses Tumors bei. TGF $\beta$ -antagonisierende Substanzen befinden sich zur Zeit in frühen Stadien der klinischen Entwicklung.

### **„Signal transducer and activator of transcription 3“ (STAT3)**

Der Transkriptionsfaktor STAT 3 wird konstitutiv in verschiedenen hämatologischen und epithelialen Tumoren exprimiert, fördert deren Proliferation und Angiogenese und hemmt die Tumorzellapoptose. Zudem hemmt STAT3 in Tumorzellen die Produktion proinflammatorischer Zytokine, z.B. Interleukin-6 (IL-6) und Chemokine, z.B. RANTES („regulated upon activation normal T cell expressed and secreted“) und IP-10 („interferon-inducible protein 10“), sowie die Reifung dendritischer Zellen, u.a. über VEGF und Interleukin 10 (IL-10). Die Blockade von STAT 3 führte in verschiedenen präklinischen Modellen zur Tumorapoptose und verstärkter Expression proinflammatorischer Zytokine und Chemokine sowie der Aktivierung von neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und T-Zellen (20). Im Übrigen kann durch Blockade von STAT3 über eine verminderte Expression von VEGF und HIF die Tumorangiogenese gehemmt werden (21). Die Ergebnisse dieser präklinischen Untersuchungen legen eindrücklich nahe, dass die Blockade dieses Transkriptionsfaktors verschiedene für das Tumorwachstum entscheidende Prozesse hemmen kann. Die Inhibition von STAT3 stellt somit einen attraktiven therapeutischen Ansatz dar.

## **Klinische Erfahrungen mit der Blockade des EGFR-Signaltransduktionswegs beim Pankreaskarzinom**

### **Blockade des EGFR-Signalweges**

Die Blockade des EGFR-Signalweges kann sowohl durch monoklonale Antikörper als auch durch Tyrosinkinaseinhibitoren erfolgen. Der chimäre monoklonale anti-EGFR-Antikörper Cetuximab kam im Rahmen einer multizentrischen Phase-II-Studie bei 41 Patienten mit fortgeschrittenem Pankreaskarzinom in der Firstline-Therapie in Kombination mit Gemcitabin zum Einsatz. Nach einer loading-dose von 400 mg/m<sup>2</sup> Cetuximab in Woche 1 erhielten die Patienten den Antikörper einmal wöchentlich in einer Dosierung von 250 mg/m<sup>2</sup>. Parallel hierzu erfolgte am jeweils gleichen Tag die Behandlung mit Gemcitabin 1000 mg/m<sup>2</sup> wöchentlich (zunächst ein 8-Wochen-

Zyklus gefolgt von 4-Wochen-Zyklen). 12% der Patienten zeigten ein objektives Tumoransprechen (partielle Remission) und 63% eine Krankheitsstabilisierung (stable disease). Die mediane Zeit bis zur Tumorprogression betrug 3,8 Monate, die mediane Überlebenszeit 7,1 Monate. Die häufigsten Nebenwirkungen der Kombinationstherapie waren akneiformes Exanthem (87%), Asthenie und gastrointestinale Nebenwirkungen (22). Eine weitere klinische Studie, die derzeit in Deutschland Patienten rekrutiert, untersucht die Kombination von Gemcitabin, Oxaliplatin und Cetuximab bei Patienten mit fortgeschrittenem Pankreaskarzinom (23). Die Kombination von Cetuximab mit Chemoradiotherapie in Patienten mit lokal fortgeschrittenem Pankreaskarzinom wird in der PARC-Studie untersucht, die derzeit ebenfalls in Deutschland aktiv ist (24). Weiterhin wird in den USA im Rahmen einer Phase-III-Studie (SWOG S0205) Gemcitabin mit oder ohne Cetuximab in der Erstlinientherapie des fortgeschrittenen Pankreaskarzinoms untersucht.

Der oral applizierbare reversible Inhibitor der EGFR-Tyrosinkinase Erlotinib (Tarceva®) wurde in einer Dosierung von täglich 100 mg in Kombination mit Gemcitabin (1000 mg/m<sup>2</sup>/Woche über 7 Wochen/Pause Woche 8 gefolgt von 1000 mg/ m<sup>2</sup>/Woche über 3 Wochen/Pause Woche 4) in einer randomisierten doppelblinden Phase-III-Studie bei Patienten mit lokal fortgeschrittenen oder metastasierten Pankreaskarzinomen getestet. Die Patienten im Kontrollarm erhielten eine Monotherapie mit Gemcitabin. Aufgrund einer statistisch signifikanten Verbesserung des 1-Jahresüberlebens von 17% auf 24% im Kombinationsarm und des medianen Überlebens von 6,0 auf 6,4 Monate erhielt Erlotinib Ende 2005 in den USA eine Zulassung für die Firstline-Therapie des Pankreaskarzinoms in Kombination mit Gemcitabin. (25).

### **Aktive Immuntherapie**

In den letzten Jahren ist auch die aktive Immuntherapie von Tumorerkrankungen zunehmend ins Interesse der Krebsforschung gerückt. Die Beobachtung, dass sich die Tumorzinzidenz athymischer Nacktmäuse nicht von der immunkompetenter Mäuse unterscheidet, wurde in den 1980er Jahren als Zeichen für das Fehlen einer Kontrolle des Tumorwachstums durch das Immunsystem gewertet. Nachfolgende Experimente zeigten jedoch, dass bei athymischen Nacktmäusen funktionelle T-Zellen nicht komplett fehlen. Die Gruppe um R. D. Schreiber zeigte dann 2001, dass Interferon und Perforin die Bildung karzinogeninduzierter Tumore bei Mäusen hemmen und dass es im Verlauf der Tumorentwicklung zu einer Selektion nicht-immunogener Tumorzellen kommt (26). Diese Experimente werden heute weitgehend als Beleg für eine Kontrolle von Tumorwachstum durch das Immunsystem anerkannt („cancer immunosurveillance“). Der Selektionsprozess nicht immunogener Tumorzellen („cancer immunoediting“) wird als Erklärung für die Entstehung maligner Tumore bei immunkompetenten Individuen angesehen.

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl unterschiedlicher Mechanismen beschrieben, die dazu beitragen, dass ein Tumor dem Angriff des Immunsystems entkommt („immune escape“) (27, 28).

Das Ziel einer aktiven Immuntherapie ist die Aktivierung gegen den Tumor gerichteter T-Zellen und deren Rekrutierung in das Tumorgewebe mit dem Ziel einer spezifischen Erkennung und Zytolyse der Tumorzellen durch die T Zellen. Bei der Ausbildung einer solchen T-Zellantwort ist ein komplexes Netzwerk aus NK-Zellen, Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und T-Helferzellen beteiligt, deren Aktivierung mittels verschiedener therapeutischer Methoden angestrebt wird. Idealerweise würden bei der Ausbildung der T-Zellantwort auch T-Gedächtniszellen ausgebildet, die bei erneutem Tumorwachstum wieder eine schnelle T-Zellantwort auslösen und die Tumorausbreitung eindämmen könnten.

Während beim Nierenzellkarzinom und beim malignen Melanom aktive Immuntherapien in Form

von Vakzinen oder Zytokinen (Interleukin 2 (IL2) und Interferon alpha) schon seit Jahren zum Einsatz kommen und bei einem geringen Prozentsatz der Patienten auch lang anhaltende Remissionen selbst in fortgeschrittenen Tumorstadien erzielen konnten, wird mit der Entwicklung ähnlicher Therapien bei anderen Tumoren erst begonnen.

Aufgrund des malignen Verlaufs und der relativen Resistenz gegenüber Chemo- und Strahlentherapie ist die Schwelle zum Erfolg einer Immuntherapie beim Pankreaskarzinom sicherlich hoch. Da die Ausbildung einer T-Zell-Immunantwort eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt, könnte die Überlebenszeit der Patienten in rasch progredienten Fällen nicht ausreichen, um eine immunologisch vermittelte Tumorkontrolle zu ermöglichen. Die Erfolgsaussichten erscheinen in früheren Tumorstadien (Adjuvanz und lokal fortgeschrittene Tumoren) daher besser als in weit fortgeschrittenen metastasierten Stadien, in denen vermutlich nur Kombinationstherapien zum Erfolg führen können.

Neben der grundsätzlichen Zeiterfordernis für die Ausbildung einer Immunantwort beim Pankreaskarzinom ist auch das „immunoediting“ zu beachten. Auch wenn „immunsensible“ Subklone vom Immunsystem eradiziert werden, kann eine genetisch oder epigenetisch veränderte „immunresistente“ Population überleben. Beim Pankreaskarzinom wurden die verminderte Expression von HLA-A1 Molekülen, eine verstärkte Expression immunsuppressiver Faktoren wie z.B. TGF $\beta$ , IL-10 und VEGF und die Herunterregulierung essentieller co-stimulatorischer Moleküle für die Aktivierung von T-Zellen z. B. B7-H1 als immunsuppressive Mechanismen beschrieben (29). Auch wurde eine unzureichende Rekrutierung von CD8-T-Lymphozyten im Tumor sowie eine Infiltration von Pankreaskarzinomen durch regulatorische T-Zellen, eine Subgruppe von T-Zellen, die immunologische Toleranz vermitteln, beschrieben (30). Eine effektive Immuntherapie muss diese Resistenzen überwinden, um den Aufbau einer effektiven T-Zellantwort gegen den Tumor zu ermöglichen. Auch wenn dies gelingt, ist es jedoch möglich, dass unter einer initial wirksamen aktiven Immuntherapie eine resistenter Subpopulation überlebt. Dies macht den kombinierten oder sequentiellen Einsatz mit anderen Therapiemodalitäten wie Chemo- und Strahlentherapie, mit denen keine Kreuzresistenzen zu erwarten sind, interessant.

Eine für die Entwicklung von Immuntherapien beim Pankreaskarzinom wichtige Frage ist, ob sich eine Chemotherapie mit Gemcitabin möglicherweise nachteilig auf die Ausbildung einer Immunantwort z.B. im Rahmen eines Impfprotokolls auswirkt. Diese Frage wurde sowohl in präklinischen Modellen als auch in einer klinischen Studie an 10 Patienten unter Standardtherapie mit Gemcitabin untersucht. In der klinischen Studie war die Fähigkeit der T-Zellen zu Interferon  $\gamma$ -Produktion erhalten und auch dendritische Zellen blieben nach der Therapie funktionell. Insgesamt sprechen die Ergebnisse dafür, dass Gemcitabin die Wirkung aktiver Immuntherapien wahrscheinlich nicht negativ beeinflusst (31, 32).

### **Vakzine in klinischer Entwicklung**

Die derzeit am häufigsten in der Therapie maligner Tumoren zum Einsatz kommende aktive Immuntherapie ist die Vakzinierung. Beim Pankreaskarzinom werden derzeit die folgenden Vakzine klinisch geprüft.

#### **MUC 1- Vakzine**

Mucin-1 (MUC1) ist ein transmembranäres Glykoprotein und wird häufig als Zielantigen für Vakzine zur Therapie verschiedener Tumore eingesetzt. Dieses Protein ist beim Pankreaskarzinom stark überexprimiert und aberrant glykosyliert. Bereits 1996 veröffentlichte die Gruppe um Olivera Finn Ergebnisse einer Phase-I-Studie, in der ein synthetisches MUC1-

Peptid als Grundlage einer Vakzine bei Patienten mit Pankreaskarzinom eingesetzt wurde (33). MUC1 ist auch wesentlicher Bestandteil einer Vakzine, die derzeit beim Pankreaskarzinom entwickelt wird. Diese Vakzine, PANVAC-VF, enthält CEA und MUC1 als Antigene, gegen die eine Immunantwort erzeugt werden soll. Seit Juni 2004 wurden 250 Patienten mit progredientem Pankreaskarzinom nach Erstlinientherapie mit Gemcitabin in eine Phase-III-Studie eingeschlossen. Ergebnisse dieser Studie werden Mitte 2006 erwartet. Eine weitere Vakzine, die eine Immunantwort gegen MUC1 induziert, stellt L-BLP25 (Stimuvax ®) dar. In einer randomisierten Phase-IIb-Studie bei Patienten mit fortgeschrittenem nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom nach Radiochemotherapie (NSCLC Stadium III und IV) zeigte sich eine signifikante Verbesserung des 2-Jahresüberlebens von 36,7% im Kontrollarm auf 60% im Vakzinearm (34). L-BLP 25 wird in Kürze in einer Phase-III-Studie beim nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom im Stadium IIIb untersucht und hat ebenfalls ein mögliches Anwendungsgebiet beim Pankreaskarzinom.

### **K-Ras Vakzine**

Das K-RAS Gen ist in Pankreaskarzinomzellen häufig mutiert, und die meisten Mutationen konzentrieren sich auf 3 Regionen des Moleküls. Daher stellt dieses Molekül eine attraktive Zielstruktur für die Entwicklung von Vakzinen beim Pankreaskarzinom dar. Dieses Konzept wurde von der Gruppe um Gaudernack in Oslo verfolgt. Eine Phase-I/II-Studie, in die 48 Patienten mit fortgeschrittenem oder reseziertem Pankreaskarzinom eingeschlossen wurden, zeigte, dass Patienten mit einer Immunantwort gegen die Vakzine ein besseres Überleben hatten als Patienten ohne Immunantwort (35).

### **Gastrinvakzine**

Gastrin steht im Verdacht, an der Entstehung des Pankreaskarzinoms entscheidend beteiligt zu sein. Gastrin führt in Pankreaskarzinomzellen zur vermehrten Transkription von sEGFR-Liganden, Matrix-Metalloproteinasen und antiapoptotischen Faktoren. Basierend auf diesen Befunden wurde mit G17DT eine Vakzine entwickelt, die in vivo die Bildung von Gastrin-neutralisierenden Antikörpern induziert. Diese Vakzine wurde zunächst in einer Phase-II-Studie (36) und anschließend in einer randomisierten Phase-III-Studie an Patienten mit fortgeschrittenem Pankreaskarzinom geprüft, die für eine Chemotherapie nicht in Frage kamen. In der Phase-III-Studie zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil für die Patienten der Vakzine-Gruppe im Vergleich zur best supportive care-Gruppe (152 vs. 82 Tage) (37).

Im Rahmen einer Phase-I-Studie mit einer Survivin-Peptid-Vakzine (SUMO Studie) entwickelte ein Patient mit einer solitären Lebermetastase eines Pankreaskarzinoms eine komplette Remission. Der HLA A2 positive Patient wurde mit dem über HLA-A2 präsentierten Peptid Survivin 96-104 mit dem Adjuvans Montanide® ISA-51 geimpft. Die komplette Remission trat 6 Monate nach Beginn der Therapie ein, hielt über 8 Monate an und wurde von einer T-Zellantwort gegen das Impfpeptid begleitet (38).

### **Autologe Vakzine**

Auch Vakzine mit weniger genau definierten Zielantigenen wurden beim Pankreaskarzinom untersucht. So benutzten Stift et al. (2003) autologe dendritische Zellen, die mit autologem Tumor-Lysat inkubiert worden waren, zur Therapie von Patienten mit metastasiertem Pankreaskarzinom (39). Obwohl objektive Tumorregressionen und eine Abnahme von Tumormarkern beobachtet wurden, wurden die Kriterien einer partiellen Remission nicht erreicht. Jaffee et al. verfolgten das Konzept, eine humane Pankreaskarzinom-Zelllinie, die humanes GM-

CSF stark exprimiert, zur Vakzinierung zu verwenden. GM-CSF kann die Wirkung einer Vakzine über die Stimulierung dendritischer Zellen verstärken. Bisher sind nur Ergebnisse einer Phase-I-Studie publiziert (40) sowie Ergebnisse der Analyse der immunologischen Antwort bei 3 Patienten aus dieser Phase-I-Studie (41). Interessanterweise zeigte sich, dass alle 3 Patienten nach der Vakzinierung T-Zellen mit Reaktivität gegen Mesothelin, ein Molekül, das in Pankreaskarzinomzellen verstärkt exprimiert wird, entwickelten.

Hitzeschockproteine haben die Fähigkeit, Bruchstücke einer Vielzahl von Proteinen binden zu können, die insgesamt für einen einzelnen Tumor charakteristisch sein können. Diese Kombination eines definierten Moleküls mit undefinierten, individuell-spezifischen Antigenen macht Hitzeschock-Proteine zu attraktiven Kandidaten für eine autologe Vakzine. Die Gruppe um Srivastava untersucht diesen Ansatz seit einiger Zeit mit Hilfe von Oncophage®, einer auf HSP96-basierten Vakzine, die individuell aus autologem Tumor hergestellt wird. In einer Phase-I-Studie bei Patienten mit reseziertem Pankreaskarzinom wurden ermutigende Überlebensdaten sowie ein unter der Vakzinetherapie deutlich ansteigender Anteil von T-Zellen, die gegen das autologe HSP96-Material reaktiv waren, beobachtet (42).

Insgesamt belegen all diese Studien, dass mittels Vakzinierung sowohl T-Zell-Immunantworten gegen Pankreaskarzinome induziert werden können und in einzelnen Fällen sogar in fortgeschrittenen Tumorstadien mit messbarer Erkrankung vorübergehende Tumorremissionen erzielt werden können.

### **Immunzytokine**

Immunzytokine sind aus einem monoklonalen Antikörper und einem Zytokin bestehende Fusionsmoleküle. Derzeit befinden sich verschiedene IL-2-tragende Immunzytokine in frühen Stadien der klinischen Entwicklung für die Therapie solider Tumoren (Phase 0-I). Ein Vertreter dieser Gruppe ist KS-IL2, dessen Antikörperanteil gegen das Zelloberflächenglykoprotein „Epithelial cell adhesion molecule“ (EpCAM) gerichtet ist. Therapeutisches Prinzip ist eine selektive Anreicherung von IL-2 im Tumor. In verschiedenen Maus-Tumormodellen wurde gezeigt, dass Immunzytokine über die Ausbildung einer CD8 T-Zell-vermittelten Immunität zu einer Hemmung des Tumorwachstums führen (44). Da das Pankreaskarzinom eine deutliche Oberflächenexpression von EpCAM aufweist, kommt es prinzipiell auch für die Therapie mit KS-IL2 in Betracht, welches eine sinnvolle Ergänzung von Tumorkvakzinen darstellen könnte.

### **Ausblick und Zusammenfassung**

Da der EGFR-Signalweg über die Aktivierung von STAT3 sowohl zur Steigerung der Angiogenese über verstärkte VEGF-Expression beiträgt als auch immunsuppressive Faktoren induziert, besteht die Möglichkeit, dass die Blockade dieses Signalweges über Antikörper oder Tyrosinkinaseinhibitoren eine sinnvolle Unterstützung einer aktiven Immuntherapie darstellt (siehe Abb. 1). Auch die VEGF-Blockade bietet sich für eine Kombination mit aktiven Immuntherapien an, da sie die VEGF induzierte Reifungsstörung dendritischer Zellen abschwächen könnte.

Die Kombination von Cetuximab und Bevacizumab zeigte in einer klinischen Studie bei Patienten mit fortgeschrittenem Kolorektalkarzinom deutliche synergistische Effekte (44). Die Kombination von EGFR-Blockade und Anti-VEGF-Therapie wird derzeit in einer randomisierten Phase-II-Studie beim Pankreaskarzinom untersucht (45). In dieser Studie wird die Behandlung mit Gemcitabin und Bevacizumab in Kombination mit Cetuximab versus Erlotinib verglichen.

Die Kombination oder Vorbehandlung mit einer zytostatischen Therapie oder Strahlentherapie erfüllt zum einen die Aufgabe der raschen Reduktion der Tumorlast, zum anderen können im



Rahmen des Zellunterganges aber auch verstärkt Tumorantigene zur Präsentation durch dendritische Zellen zur Verfügung stehen. Zumindest das beim Pankreaskarzinom immer noch am häufigsten eingesetzte Zytostatikum Gemcitabin scheint nach den bisherigen Erfahrungen für eine Kombination mit aktiven Immuntherapien geeignet zu sein, da es die Ausbildung einer T-Zellimmunität nicht hemmt. Wir meinen, dass die kombinierte Anwendung der heute zur Verfügung stehenden aktiven und passiven Immuntherapien in Verbindung mit den konventionellen Behandlungsmöglichkeiten insbesondere in den fortgeschritteneren Stadien des Pankreaskarzinomes zu einer grundlegenden Verbesserung der Therapie beitragen könnte.

Quelle: Literatur

1. El Kamar F.G., Grossbard M.L., Kozuch P.S.(2003): *Metastatic Pancreatic Cancer: Emerging strategies in chemotherapy and palliative care. The Oncologist 8: 18-34*
2. Chua Y. J., Cunningham D. (2005): *Adjuvant Treatment for resectable pancreatic cancer. J Clin Oncol 23: 4532-4537*
3. Willet C.G., Czito B.G., Bendell J. and Ryan D.P.(2005). *Locally advanced pancreatic cancer. J Clin Oncol 23: 4538-4544*
4. Stocken DD, Buchler MW, Derveniz C et al (2005): *Meta-analysis of randomised adjuvant therapy trials for pancreatic cancer. Br J Cancer: 92:1372-81*
5. Neuhaus P, Oettle H, Post S et al (2005) *A randomised, prospective, multicenter , phase III trial of adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients with resected pancreatic cancer. J Clin Oncol, ASCO Annual Meeting proceedings 23 (16S) : abstract number 4013*
6. Regine K., W., Winter R., Abrams H. et al. (2006) *RTOG 9704 : A Phase III study of adjuvant pre and post chemoradiation 5-FU vs. gemcitabine for resected pancreatic adenocarcinoma. J Clin Oncol, ASCO Annual meeting proceedings, 24 (18S): abstract number 4007*
7. Chauffert B., Mornex F., Bonnetain F. et al. (2006) *Phase III trial comparing initial chemotherapy (intermittent cisplatin and infusional 5-FU) followed by gemcitabine vs. gemcitabine alone in patients with locally advanced non metastatic pancreatic cancer. J Clin Oncol , ASCO Annual meeting proceedings: 24 (18S); abstract number 4008*
8. Rocha Lima C.M., Green M.R., Rotche R. et al. (2004). *Irinotecan plus gemcitabine results in no survival advantage compared with gemcitabine monotherapy in patients with locally advanced or metastatic pancreatic cancer despite increased tumor response rate. J Clin Oncol 22: 3776-3783*
9. Louvet C., Labianca R., Hammel P. et al (2005). *Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: Results of a GERCOR and GISCAD Phase III trial. J Clin Oncol 23: 3509-3516*
10. Wilkowski R, Thoma M, Heinemann V, Rau HG, Wagner A, Stoffregen C, Duhmke E. (2003) *Radiochemotherapy with gemcitabine and cisplatin in pancreatic cancer - feasible and effective. Strahlenther Onkol 179(2):78-86.*
11. Bardeesy N. and De Pinho R. A. (2002). *Pancreatic cancer biology and genetics. Nat Rev Cancer 12 :897-909.*
12. Bruns C. J., Harbison M. T., Davis D.W. et al. (2000) *Epidermal Growth factor Receptor Blockade with C225 plus gemcitabine results in regression of human pancreatic carcinoma growing orthotopically in nude mice by antiangiogenic mechanisms. Clinical Cancer Research 6: 1936-1948*
13. Xie K., Wei D. and Huang S. (2006) *Transcriptional anti-angiogenesis therapy of human pancreatic cancer. Cytokine Growth Factor Rev. 17: 147-56*
14. Dikov M.M., Ohm J.E, Ray, N. et al. (2005) *Differential roles of vascular endothelial cell growth factor*

receptors 1 and 2 in dendritic cell differentiation. *The Journal of Immunology* 174: 215-222

15. Kindler H.L., Friberg G, Singh D.A et al. (2005). Phase II trial of bevacizumab plus gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 23:8033- 40.
16. Friess , H., Yamanaka Y., Buchler M. et al.(1993) Enhanced expression of the type II transforming growth factor , receptor in human pancreatic cancer cells without alteration of type III receptor expression. *Cancer research* 53: 2704-2707
17. Ellenrieder V., Hendler S. Boeck W. et al. (2001). Transforming growth factor ,1 treatment leads to an epithelial-mesenchymal transdifferentiation of pancreatic cancer cells requiring extracellular signal-regulated kinase 2 activation. *Cancer Research* 61: 4222-4228
18. Thomas DA, Massagué J. (2005). TGF-beta directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. *Cancer Cell* 8 :369-80
19. Menke A., Adler G (2002). TGFβ-induced fibrogenesis of the pancreas. *Int J Gastrointest Cancer* 31: 41-46
20. Wang T, Niu G, Kortylewski M et al. (2004) Regulation of the innate and adaptive immune responses by STAT-3 signaling in tumor cells. *Nature Medicine* 10: 48-54
21. Xu Q, Briggs J, Park S. (2005) Targeting Stat3 blocks both HIF-1 and VEGF expression induced by multiple oncogenic growth signalling pathways. *Oncogene* 24: 5552-55560
22. Xiong H., Rosenberg A., Lo Buglio A. et al. (2004). Cetuximab, a monoclonal anti body targeting the epidermal growth factor receptor, in combination with gem citabine for advanced pancreatic cancer: A multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 22: 2610- 2616
23. Macarulla T., Casado E., Valverde C., and Tabernero J. Epidermal growth factor re ceptor (EGFR) inhibitors in gastrointestinal cancer. *Onkologie* 29: 99-105
24. Krempien R, Muentner MW, Huber PE et al. (2005). Randomized phase III study evaluating EGFR targeting therapy with Cetuximab in combination with radio therapy and chemotherapy for patients with locally advanced pancreatic cancer - PARC: study protocol *BMC Cancer* 5: 131, 2005s
25. Moore D. Goldstein, J. Hamm, A. Figer, J. Hecht, S. Gallinger, H. Au, K. Ding, J. Chri sty-Bittel, and W. Parulekar (2005). Erlotinib plus gemcitabine compared to gem citabine alone in patients with advanced pancreatic cancer. A phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 23 (16S): 1.
26. Shankaran V, Ikeda H, Bruce A T et al (2001) IFNÁ and lymphocytes prevent pri mary tumour development and shape tumour immunogenicity *Nature* 410: 1107-1111
27. Ahmad M., Rees R.C., Ali S.A. (2004) Escape from immunotherapy: possible me chanisms that influence tumor regression/porogression. *Cancer Immunol Immu nother* 53: 844-854
28. Willimsky G and Blankenstein T (2005) Sporadic immunogenic tumours avoid destruction by inducing t-cell tolerance. *Nature* 437:141-146
29. Laheru D and Jaffee E. (2005). Immunotherapy for pancreatic cancer-science driving clinical progress. *Nature Reviews Cancer* 5: 459-467
30. Terabe M and Berzofsky J A (2004): Immunoregulatory T cells in tumor immunity. *Current Opinion in Immunology* 16: 157-162
31. Plate J M D, Plate A E, Shott S et al. 2005: Effect of gemcitabine on immune cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Immunol Immunother* 54: 915-925
32. Nowak A K, Robinson W S, Lake R A 2002 Gemcitabine exerts a selective effect on humoral immune response: Implications for Combination chemo-immuno therapy. *Cancer Research* 62: 2353-2358
33. Goydos JS, Elder E, Whiteside TL, Finn OJ, Lotze MT (1996). A phase I trial of a synthetic mucin peptide vaccine. Induction of specific immune reactivity in pa tients with adenocarcinoma. *J Surg Res* 63 :298-304

34. Butts C, Murray N, Maksymiuk A, Goss G, Marshall E, Soulieres D, Cormier Y, Ellis P, Price A, Sawhney R, Davis M, Mansi J, Smith C, Vergidis D, Ellis P, MacNeil M, Palmer M. (2005) Randomized phase IIB trial of BLP25 liposome vaccine in stage II IB and IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 6674-81
35. Gjertsen MK, Buanes T, Rosseland AR et al (2001) Intradermal ras peptide vaccination with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjuvant: Clinical and immunological responses in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Int J Cancer* 92: 441-50
36. Brett BT, Smith SC, Bouvier CV, Michaeli D, Hochhauser D, Davidson BR, Kurzawinski TR, Watkinson AF, Van Someren N, Pounder RE, Caplin ME. (2002). Phase II study of anti-gastrin-17 antibodies, raised to G17DT, in advanced pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 20:4225-31.
37. Gilliam A. D., E. G. Topuzov, A. M. Garin, I. Pulay, P. Broome, S. A. Watson, B. Rowlands, A. Takhar, I. Beekingham (2004). Randomised, double blind, placebo-controlled, multi-centre, group-sequential trial of G17DT for patients with advanced pancreatic cancer unsuitable or unwilling to take chemotherapy. *J Clin Oncol ASCO Annual Meeting Proceedings 22 (14S):abstract number 2511*
38. Wobser M, et al., Complete remission of liver metastasis of pancreatic cancer under vaccination with a HLA-A2 restricted peptide derived from the universal tumor antigen survivin (2005) *Cancer Immunol Immunother.* Nov 29;1-5
39. Stift A, Friedl J, Dubsy P, Bachleitner-Hofmann T, Schueller G, Zontsich T, Benkoe T, Radelbauer K, Brostjan C, Jakesz R, Gnant M. (2002). Dendritic cell-based vaccination in solid cancer. *J Clin Oncol.* 21:135-42.
40. Jaffee EM, Hruban RH, Biedrzycki B, Laheru D, Schepers K, Sauter PR, Goemann M, Coleman J, Grochow L, Donehower RC, Lillemoe KD, O'Reilly S, Abrams RA, Pardoll DM, Cameron JL, Yeo CJ. (2001) Novel allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic cancer: a phase I trial of safety and immune activation. *J Clin Oncol* 19:145-56.
41. Thomas AM, Santarsiero LM, Lutz ER, Armstrong TD, Chen YC, Huang LQ, Laheru DA, Goggins M, Hruban RH, Jaffee EM. (2004). Mesothelin-specific CD8(+) T cell responses provide evidence of in vivo cross-priming by antigen-presenting cells in vaccinated pancreatic cancer patients. *J Exp Med* 200: 297-306.
42. R.G. Maki, J.J. Lewis, S. Janetzki, D. Klimstra D. DeSantis, C. Hirst, A.N. Houghton, P.K. Srivastava, M.F. Brennan (2003) Phase I study of HSPPC-96 (Oncophage®) vaccine in patients with completely resected pancreatic adenocarcinoma *European Journal of Cancer Supplements; Vol. 1, No. 5, page S19*
43. Becker JC, Pancook J D, Gillies SD et al. (1996) Eradication of human hepatic and pulmonary melanoma metastases in SCID mice by antibody-interleukin 2 fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 2702-2707
44. Saltz LB, Lenz H, Hochster H et al. (2005) Randomized Phase II Trial of Cetuximab/Bevacizumab/Irinotecan (CBI) versus Cetuximab/Bevacizumab (CB) in Irinotecan-Refractory Colorectal Cancer *Clin Oncol ASCO Annual meeting proceedings 23 (16S): abstract no 3508*
45. H.L. Kindler, K.A. Bylow, H.S. Hochster et al. (2006) A randomized phase II study of Bevacizumab and gemcitabine plus Cetuximab or Erlotinib in patients with advanced pancreatic cancer: A preliminary analysis. *J Clin Oncol ASCO Annual meeting proceedings 24 (18S): abstract number 4040*