

04. August 2016

---

## Tumorstroma im Pankreaskarzinom – Vielversprechendes Therapieziel oder -hemmnis?

**Duktale Adenokarzinome des Pankreas entstehen im exokrinen Anteil des Pankreas. Ihr charakteristisches histopathologisches Phänomen ist eine ausgeprägte fibrotische Stromareaktion mit entzündlicher Komponente, die bis zu 80% der Tumormasse einnehmen kann und die sowohl prognostisch als auch prädiktiv relevant ist (1). Mit zunehmender Kenntnis der Tumorbiologie hat sich die Therapie der Pankreaskarzinome über die letzten Jahre graduell gewandelt. Neue effektive Chemotherapieschemata wie FOLFIRINOX oder Kombinationen von Gemcitabin mit nab-Paclitaxel bzw. 5-Fluorouracil mit nanoliposomalem Irinotecan (nal-Irinotecan) oder Oxaliplatin verlängern das Überleben signifikant, sind auch sequentiell in der Zweitlinientherapie wirksam und eröffnen darüber hinaus die Möglichkeit neuer neoadjuvanter Therapieansätze bei potentiell resektablen Patienten (2). Nach wie vor beträgt jedoch die 5-Jahres-Überlebensrate bei fortgeschrittenem Tumorleiden weniger als 5% und selbst nach kurativer Resektion mit optimaler adjuvanter Therapie sind weniger als 30% der Patienten im Langzeitverlauf nach 5 Jahren tumorfrei (3). Innovative molekulare Strategien richten sich deshalb gegen die Interaktion der Tumorzellen mit dem fibrotischen und entzündlichen Tumorstroma, zielen auf die Steigerung der Immunabwehr oder adressieren identifizierbare molekulare Targets.**

### **Stromareaktion im Pankreaskarzinom**

Pankreaskarzinome sind histologisch durch ein ausgeprägtes fibrotisches desmoplastisches Stroma charakterisiert. Ursächlich hierfür ist die Aktivierung pankreatischer Sternzellen (4). Häufig finden sich nur einzelne Tumorzellen in einer dichten hypovaskulären Matrix. Das Stroma beim Pankreaskarzinom, das den Großteil der Tumormasse ausmachen kann, ist heterogen mit aktivierten Myofibroblasten (AMF) bzw. pankreatischen Sternzellen (PSC), einem inflammatorischen Immunzellinfiltrat und einer überwiegend azellulären extrazellulären Matrix (ECM) aus z.B. Kollagen, Desmin, Fibronectin und Hyaluronsäure. Zusammen mit löslichen Zytokinen (z.B. Interleukin-6, Wachstumsfaktoren), Proteasen und den Oberflächenstrukturen der ECM bildet sich ein komplexes Netzwerk, das interaktiv nicht nur die Tumorpheriferation unterhalten und stimulieren, sondern auch über die epithelial-mesenchymale Transition (EMT) die Invasion und die frühe Metastasierung begünstigen kann (5).

Von zentraler Bedeutung bei der Stromareaktion sind pankreasspezifische, Tumor-assoziierte aktivierte pankreatische Sternzellen (aPSC) bzw. AMF, die ähnlich wie hepatische Sternzellen in der Leber profibrotische Proteine sezernieren und durch Interaktion mit den Tumorzellen die ausgeprägte Bindegewebsreaktion unterhalten (4). Pankreatische Sternzellen sind die Hauptproduzenten und Regulatoren der extrazellulären Matrix. Im Gegensatz zu Fibroblasten

exprimieren sie kontraktile Mikrofilamente, die denen aktivierter Myofibroblasten ähneln und reich an  $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA) sind. In anderen Organen wurden diese Zellen auch als CAF (cancer associated fibroblasts) beschrieben (6). Daneben stimulieren aPSC/AMF über die Sekretion von Wachstumsfaktoren (z.B. hepatocyte growth factor, HGF, oder stromal cell-derived factor, SDF) direkt das Tumorwachstum. Durch Überexpression z.B. von PD-L1 sind sie zudem in der Lage, die Immunüberwachung zu unterbrechen. So entsteht ein immunosuppressives Microenvironment (7). Zudem generiert die Stromareaktion durch Kompression der Gefäße eine hypovaskuläre und hypoxische Umgebung mit physikalischer Barrierefunktion für die medikamentöse Tumorthherapie (4, 8). Insgesamt stellt das Stroma somit ein attraktives Target für neue Therapieansätze dar, wenngleich die Interaktionen komplex sind und die genaue Bedeutung der einzelnen Komponenten noch nicht zweifelsfrei geklärt ist.

## **Hedgehog-Signalweg**

Multiple Signalwege vermitteln die Interaktion von Stroma und Tumor. Zentral ist dabei die Aktivierung des embryonalen Hedgehog-Signalwegs, der normalerweise im adulten Gewebe deaktiviert ist. Dagegen ist in fast allen Pankreaskarzinomen eine Reaktivierung des Hedgehog-Signalwegs nachweisbar, parallel zur Mutation von KRAS (9). Der Hedgehog-Signalweg wird auch durch die begleitende Entzündungsreaktion frühzeitig reaktiviert, und über die parakrine Stimulation aus Tumorzellen während der Tumorprogression weiter verstärkt (10, 11).

Untersuchungen an Tumorzellen mit induzierbarem KRAS zeigen, dass im Stroma eine bidirektionale Interaktion zwischen Tumorzellen und Fibroblasten beobachtet werden kann, die durch KRAS gesteuert wird. Mutiertes KRAS in Tumorzellen reguliert nicht nur das Wachstum der Tumorzelle selbst, sondern aktiviert Fibroblasten über die Sekretion von Sonic Hedgehog (Shh), dem Liganden im Hedgehog-Signalweg. Gleichzeitig werden die Shh-sezernierenden Tumorzellen resistent gegen die Wirkung von Shh. Aktivierte Fibroblasten ihrerseits sezernieren Wachstumsfaktoren (z.B. IGF1 und GAS6) und stimulieren somit reziprok das Wachstum der Tumorzellen und wirken gleichzeitig als Signalverstärker und -vermittler für andere Komponenten des Stromas (12).

Bereits 2009 wurden erste Daten zur pharmakologischen Hemmung des Hedgehog-Signalwegs im KPC-Mausmodell veröffentlicht. Die mit IPI-926 (Saridegib) führt zu einer deutlichen Reduktion des Tumorstromas mit einer signifikanten Zunahme der intratumoralen Gefäße. Dadurch konnte die Perfusion des Tumors gesteigert und die intratumoralen Gemcitabin-Spiegel erhöht werden, was mit einer Krankheitsstabilisierung einherging (13). Vergleichbare Resultate wurden mit dem Hedgehog-Inhibitor AZD8542 erzielt.

Die gleiche Arbeitsgruppe konnte jedoch in der Folge zeigen, dass die gezielte Deletion des Liganden Shh zwar die Stromamasse reduziert und die Tumoren wie erwartet besser vaskularisiert sind, dass sie dadurch jedoch wesentlich aggressiver und schlechter differenziert wachsen (10). Ähnliche Ergebnisse publizierten Özdemir et al. (14) und Lee et al. (15) ebenfalls in transgenen Mausmodellen. Zumindest eine der Studien zeigt auch, dass die Hemmung der neu stimulierten Angiogenese mit einem Antikörper gegen den VEGF-Rezeptor das Überleben der Mäuse mit Shh-defizienten Tumoren verlängern kann. Es liegt nahe, dass die Hedgehog-induzierte Stromareaktion das Tumorwachstum durch die Reduktion der Vaskularisierung hemmt (10).

Retrospektive klinische Untersuchungen an resezierten Tumoren zeigen, dass die Aktivierung des Hedgehog-Signalwegs mit der Sekretion von  $\alpha$ SMA assoziiert ist und dass die Expression von  $\alpha$ SMA aus Myofibroblasten negativ prognostisch ist (14, 16).

Die positiven präklinischen Resultate zur Hemmung von Hedgehog bestätigten sich leider nicht in klinischen Studien. Erste Studien mit dem Hedgehog-Inhibitor IPI-926 (Saridegib) in Kombination mit FOLFIRINOX (17) ebenso wie eine weitere Phase-II-Studie in Kombination mit Gemcitabin (18) mussten abgebrochen werden wegen fehlender Wirksamkeit bzw. erhöhter Letalität. Auch der Hedgehog-Inhibitor Vismodegib in Kombination mit Gemcitabin war in einer frühen klinischen Studie nicht wirksamer als Gemcitabin allein (19) und blieb ohne Einfluss auf die Gemcitabin-Konzentration im begleitenden Mausmodell. Die Ursachen dafür sind unklar. Mögliche Erklärungen sind Unterschiede bei der chronischen bzw. akuten Hemmung des Hedgehog-Signalwegs oder off-target-Effekte der Inhibitoren (20).

## **Hyaluronsäure**

Als ein weiteres Target bietet sich das Polysaccharid Hyaluronsäure im Tumorstroma an. Hohe Hyaluronsäurespiegel im Pankreaskarzinom erhöhen den intratumoralen Druck und damit die Diffusionsbarriere, so dass zytotoxische Substanzen die Tumorzellen nicht erreichen können. Im Mausmodell konnten mittels pegylierter humaner rekombinanter Hyaluronidase (PEGPH20) die stromalen Hyaluronsäurespiegel und gleichzeitig der intratumorale Druck verringert werden. In einer randomisierten Phase-II-Studie bestätigte sich die Wirksamkeit dieses Therapieansatzes. PEGPH20 in Kombination mit nab-Paclitaxel und Gemcitabin führte bei den Patienten mit nicht vorbehandeltem metastasierten duktalem Adenokarzinom des Pankreas, die hohe Hyaluronsäurespiegel im Tumor aufwiesen, zu einer verbesserten Ansprechrate und zu einem längeren progressionsfreien Überleben (21).

## **Immunzellantwort**

Pankreaskarzinome generieren ein hypoxisches, stark immunsuppressives Gewebe. Im bereits oben beschriebenen KPC-Mausmodell führte die Depletion von Myofibroblasten zur Infiltration von Tumor-stimulierenden T-Zellen (CD4+Foxp3+ Tregs). Während diese Myofibroblasten-depletierten Tumoren nicht auf Gemcitabin angesprochen haben, konnte eine Immuntherapie mit dem anti-CTLA-4-Antikörper Ipilimumab sowohl die Krankheitsaktivität verringern als auch das Überleben der Tiere verlängern (14). Ein anderer möglicher Vermittler ist die Überexpression von PD-1 und PD-1-Liganden an den Endothelzellen des Stromas (7), die mit einer schlechten Prognose einhergeht (22).

Aktuelle Studien mit einem stimulierenden Antikörper von CD40, einem weiteren zentralen Faktor der T-Zell-abhängigen Immunantwort, zeigen eine Tumorregression von 30% im Mausmodell, die ihrerseits durch Makrophagen vermittelt wird. Nach ersten klinischen Daten mit CP-870893 – einem monoklonalen Antikörper, der CD40 stimuliert – in Kombination mit Gemcitabin erreichten 4/22 Patienten eine partielle Remission mit komplettem Verlust von Tumor-infiltrierenden Lymphozyten und reichlich Makrophagen in den Biopsien nach Therapie.

## **Vakzinierung**

Ein alternativer neuer Behandlungsweg ist die kombinierte Vakzinierung mit Pankreas-Antigenen und Ko-Stimulatoren nach Vortherapie mit niedrig dosiertem Cyclophosphamid. GVAX Pancreas selbst ist eine Vakzine, die aus bestrahlten Pankreastumorzelllinien gewonnen wird und den GM-CSF (Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) exprimiert. GM-CSF mobilisiert Antigen-präsentierende dendritische Zellen (APC), die in Pankreaskarzinomen typischerweise supprimiert sind. Durch die Vortherapie mit Cyclophosphamid werden regulatorische T-Zellen gehemmt, während die gleichzeitige Gabe von CRS-207, einer Vakzine aus attenuierten Listerien, die so modifiziert ist, dass sie Mesothelin ins Zytosol der APC sezerniert, die APC-Antwort weiter potenzieren kann. In einer Phase-II-Studie an Patienten mit metastasierten Pankreaskarzinomen verlängerte GVAX/Cyclophosphamid/CRS-207 das Überleben um 2 Monate im Vergleich zu GVAX/Cyclophosphamid (6 vs. 4 Monate) (23). In tierexperimentellen Studien mit Mäusen führte GVAX zu einer signifikanten Zunahme der PD-L1-Expression, und die Kombination von GVAX Pancreas mit einem PD-1-Antikörper verbesserte das Überleben (24). Aktuell rekrutiert eine randomisierte, kontrollierte Phase-II-Studie Patienten mit metastasiertem Pankreaskarzinom, um die Wirksamkeit von CRS-207 und GVAX Pancreas in Kombination mit dem Checkpoint-Inhibitor Nivolumab zu evaluieren (STELLAR-Studie, NCT02243371).

### **Modulation aktivierter Myofibroblasten**

Auch die direkte Modulation der aktivierten Myofibroblasten (oder PSC) wurde als Therapieprinzip getestet. Aktivierte Myofibroblasten exprimieren den Vitamin-D-Rezeptor (VDR). Die antiinflammatorischen Eigenschaften von 1,25 Hydroxy-Vitamin D3 sind seit langem bekannt. Neu ist hingegen, dass die Stimulation aktivierter Myofibroblasten mit Vitamin D3 (hier: Calcipotriol) deren metabolische Aktivierung hemmt und die Zellen zurück zu inaktiven Fibroblasten konvertieren (25). Im Mausmodell nimmt dadurch die Tumormasse ab, die Konzentration an intratumoralem Gemcitabin steigt und die so behandelten Mäuse leben länger. Ähnlich wirkt die all-trans-Retinolsäure (ATRA), die Fibroblasten in ihren Ruhezustand zurückführt und im Organmodell in Kombination mit Gemcitabin die Tumorproliferation hemmt (26). Das gemeinsame Prinzip der chemischen Modulation ist wohl die Rückführung aktivierter Fibroblasten in den Ruhezustand mit Reduktion der inflammatorischen und proliferativen Wirkung. Es gibt allerdings entgegengesetzte Effekte durch Chemotherapie-assoziierte Schäden an den PSC (27). Die Einwirkung von Gemcitabin auf PSC führt zu vermehrter Expression inflammatorischer Zytokine und zur verstärktem Tumorwachstum – ein Effekt der zumindest nach kurzfristiger Exposition durch Hemmung der Stress-assoziierten MAP-Kinase revertiert werden kann. MAP-Kinase-Inhibitoren sind in der klinischen Testung und wären gemäß diesem Modell gut geeignet, um in Kombination mit Chemotherapie die off-target-Schäden der Chemotherapie an den PSC abzumildern.



**Prof. Dr. med. Manfred P. Lutz**

Caritasklinikum St. Theresia  
Rheinstrasse 2  
66113 Saarbrücken

Tel.: 0681/4061001

Fax: 0681/4061003

E-Mail: [m.lutz@caritasklinikum.de](mailto:m.lutz@caritasklinikum.de)

## ABSTRACT

M.P. Lutz, Caritasklinikum St. Theresia, Saarbrücken

---

Pancreatic ductal adenocarcinomas arise in the exocrine part of the pancreas. They are histopathologically characterised by a pronounced fibrotic stroma with an inflammatory component which can account for 80% of the tumor mass and is of prognostic and predictive relevance. With increasing knowledge in tumor biology treatment of pancreatic cancer has changed gradually over the past few years. New effective chemotherapy regimens such as FOLFIRINOX or combinations of gemcitabine with nab-paclitaxel and 5-fluorouracil with nal-irinotecan or oxaliplatin prolong survival significantly. Furthermore, they are sequentially effective in second-line and also provide a possibility for new neoadjuvant therapies in potentially operable patients. However, 5-year survival rate in advanced malignancy is still below 5%, and even after curative resection accompanied by optimal adjuvant therapy less than 30% of the patients are tumor-free after more than 5 years. Innovative molecular strategies are directed against the interaction of tumor cells with fibrotic and inflammatory stroma or aim to enhance the immune system or to address identifiable molecular targets.

---

**Keywords:** *fibrosis, extracellular matrix, pancreatic stellate cells, myelofibroblasts, cancer associated fibroblasts, growth factors*