

Abstract:

Additive Verfahren: Stellenwert Autologer Spezifischer Immunmodulation (ASI)

Prinzip:

Die ersten Versuche einer gezielten zellulären Therapie gehen bis auf die 70er Jahre des vergangenen Jahrhunderts zurück. Zu ihnen zählte unter anderem die „Aktiv-Spezifischen Immuntherapien“, kurz ASI. Meist handelte es sich dabei um Ansätze, bei denen Patienten eigene Tumorzellen entnommen und nach einer inaktivierenden Behandlung als Impfstoff wieder zurückgegeben wurden. Um die immunstimulierende Wirkung der Zellen auszulösen, versuchte man auch, sie zusammen mit aktivierenden Substanzen, so genannten Adjuvantien, zu verabreichen.

Die verschiedenen ASI-Entwicklungen sollten vor allem gegen nach einer Operation oder anderen Standardbehandlung im Körper noch vorhandene Tumorzellen vorgehen und diese vernichten. Wegen der Vielfalt der unter dem Namen ASI angebotenen Therapien und der unklaren Datenlage lässt sich bis heute allerdings nur wenig zum Stellenwert dieser Therapieform sagen. Während sich einige Konzepte als unwirksam erwiesen haben, beginnen mit anderen Ansätze immer wieder klinische Studien zur Prüfung, fast immer als Versuch der Ergänzung einer Standardtherapie. Als sicher gilt jedoch heute: Auf keinem Fall hilft eine Aktiv-Spezifische Immuntherapie alleine gegen Krebs, sie stellt also keine Alternative zu einer Operation, Chemo- oder Strahlentherapie dar.

1. Aktiv-spezifische Immuntherapie (ASI)

Dies ist eine neue Modalität der Krebsbehandlung, bei der das Immunsystem des Patienten mit einbezogen und aktiviert wird. Es handelt sich um ein Immuntherapieverfahren, bei dem Tumorzellen zur aktiven Immunisierung von Krebspatienten eingesetzt werden. Eine derartige ASI-Immuntherapie wird normalerweise bei Patienten nach Operation des lokal wachsenden Tumors durchgeführt, um ein Risiko, die Entwicklung von Metastasen, zu reduzieren. ASI könnte eine neue Zusatztherapie bei der Krebsbehandlung werden, als sinnvolle Ergänzung anderer Verfahren wie Operation, Radiotherapie und Chemotherapie.

2. Tumorzellen

Tumorzellen enthalten als spezifische Komponente ein oder mehrere Tumor-assoziierte Antigene (TAA) gegen die T-Lymphozyten des Krebspatienten aktiviert werden sollen. Da spezifische T-Lymphozyten für ihre Aktivierung sogenannte kostimulatorische Signale benötigen, enthalten die meisten Tumorzellen zusätzliche adjuvante Komponenten zur unspezifischen Immunaktivierung. Verschiedene Varianten der ASI stehen zur Verfügung, darunter auch die autologe patienteneigene Virus-modifizierte Tumorzellenvakzine, die als ATV-NDV bezeichnet wird, ein Begriff, der für autologe durch Newcastle Disease Virus (NDV) modifizierte Tumorzellen steht. Dabei werden als spezifische Komponente autologe patienteneigene Tumorzellen, die vom Primärtumor oder von operierten Metastasen verwendet. Die Zellen werden danach inaktiviert und durch einen apathogenen nicht virulenten Stamm des NDV Virus infiziert. NDV kann leicht an die Tumorzellen der Vakzine binden und vermittelt kostimulatorische Signale zur Aktivierung tumorreaktiver T-Lymphozyten.

3. Tumor-assoziierte Antigene (TAA)

Das erste beim Menschen identifizierte, klonierte und sequenzierte TAA stammt von einem Melanom, das von patienteneigenen zytotoxischen T-Lymphozyten spezifisch erkannt werden kann. Dieses TAA stellt ein Peptid aus 9 Aminosäuren dar, das spezifisch mit einem menschlichen Histokompatibilitätskomplex I-Molekül (HLA-A1) assoziiert ist. Das Peptid stammt von einem intrazellulären Protein. Das korrespondierende Gen ist als normales zelluläres Gen mehr oder weniger exklusiv nur in Tumorzellen exprimiert. In der Zwischenzeit sind viele andere menschliche TAA's identifiziert worden, die in einer ähnlichen Weise von T-Zell-Rezeptoren spezifischer immuner T-Lymphozyten erkannt werden. Dieses zeigt an, daß TAA nicht unbedingt körperfremde Proteine darstellen müssen (z.B. viralen Ursprungs), sondern auch von normalen zellulären Genen kodiert werden können, die für intra-zelluläre Proteine kodieren. Voraussetzung ist offenbar, daß die davon abgeleiteten und abgebauten Peptide an bestimmte HLA-Moleküle binden können und damit an die Zelloberfläche transportiert werden, um dort eine Immunantwort zu induzieren.

4. T-Lymphozyten vermittelte Immunantworten

Spezifische Immunantworten gegen TAA involvieren, wie auch andere adaptive Immunantworten, wichtige Einzelschritte: i) Erkennung des TAA's durch spezifische T-Zellrezeptoren, ii) die T-Zellaktivierung, die erfolgt, wenn der Rezeptor der Lymphozyten das entsprechende Antigen gebunden hat und wenn die Zelle zusätzliche akzessorische Signale zur Aktivierung bekommt und iii) Entfernung der TAA-tragenden Zielstrukturen (Tumorzellen), ein Schritt, der eine T-Zelleffektorfunktion voraussetzt, wie zum Beispiel Zytotoxizität oder Freisetzung von bestimmten Botenstoffen (Zytokinen).

5. DNA-Vakzine.

DNA-Vakzine verwenden Gene (Polynukleotide), die für Eiweißstoffe (Proteine) kodieren, die von Pathogenen oder Tumoren stammen. Sie bestehen in der Regel aus einem bakteriellen Plasmid mit einem starken Promoter, in dem das Gen von Interesse integriert ist, sowie Sequenzen zur Transkriptions -Initiation und -Termination. Die Plasmide werden in Bakterien (E. Coli) vermehrt, gereinigt, in Flüssigkeit aufgenommen und dann in den Wirt appliziert. Die Plasmide werden von Wirtszellen aufgenommen, in entsprechende Boten-RNA transkribiert und in entsprechende Proteinantigene übersetzt. Das heißt, bei DNA-Vakzinen sind es die Wirtszellen, die die eigentliche Vakzine produzieren, nämlich die Protein-Antigene. Zwei Haupteigenschaften charakterisieren DNA-Vakzine: die niedrige Menge von intra-zellulär exprimiertem Antigen und die lang anhaltende Genexpression. DNA-Vakzine haben bereits erfolgreich protektive Immunität (Schutzfunktion) in einer Vielzahl präklinischer Modelle ergeben, gegen ein breites Spektrum infektiöser Agentien (Herpes- und Influenza-Viren, Leishmaniasis, Malaria etc.), aber auch gegen Allograft-Abstoßung und gegen Tumorzell-Überimpfung. Auch konnten Immundisfunktionen wie Allergie oder Autoimmun-Reaktivitäten durch DNA-Vakzinierung positiv beeinflusst werden.

6. Graft-versus-Leukämie-(GvL)Reaktivität

Die sogenannte Graft-versus-Leukämie-Reaktivität wurde bei der allogenen Knochenmarkstransplantation bei Leukämie-Patienten beobachtet. Dieser Antitumor-Effekt wird vor allem auf T-Lymphozyten zurückgeführt, die sich in dem Spenderknochenmark neben den Stammzellen befinden. Vielleicht ließen sich in Zukunft auch andere Tumore wie Karzinome durch einen ähnlichen Graft-versus Tumor-(GvT)Effekt behandeln, wenn bestimmte allogene Spenderlymphozyten eingesetzt werden. Derartige allogene Effekte sind aber nicht ohne Risiko. Das Hauptrisiko besteht in einer Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD), die vor allem dann auftreten kann, wenn Spender und Empfänger nicht gut durch HLA-Typisierung gematched sind. Wir haben ein interessantes Tiermodell für GvL- und

GvH-Reaktionen aufgebaut. Bei diesem werden allogene immune T-Zellen in tumortragende Rezipienten transferiert. Durch diese adoptive zelluläre Immuntherapie (ADI), die in sublethal bestrahlten tumortragenden DBA/2-Mäusen erfolgt, kommt es zu kompletten Tumor-Remissionen und zur Abstoßung selbst von makroskopischen Metastasen. Unsere derzeitige Arbeit beschäftigt sich mit den Abstoßungsmechanismen dieses interessanten Phänomens. Die wichtigsten Komponenten dieses Therapie-Effektes stellen CD4 und CD8 T-Lymphozyten des Donors dar sowie eine bestimmte Subpopulation von Makrophagen in der Leber tumortragender Rezipienten, mit denen die Donor-T-Lymphozyten feste Zell-Zell-Cluster bilden. In diesen T-Zell-Makrophagen-Clustern werden offenbar TAA's präsentiert und es wird das Enzym Nitric-Oxide-Synthase induziert. Dadurch kommt es zur lokalen Produktion von Stickstoffmonoxid (NO), einer chemischen Substanz, die einen zytotoxischen Effekt auf Tumorzellen ausüben kann.

7. Stickstoffmonoxid (NO)

Stickstoffmonoxid (NO) wurde im Jahre 1992 als das "Molekül des Jahres" erklärt. Es ist bei der Neurotransmission, bei der Regulation des Blutdrucks sowie bei der Effektorfunktion von Makrophagen und Endothelzellen involviert. NO wird aus der Oxidation von L-Arginin hergestellt, eine Reaktion, die durch das induzierbare Enzym Nitric-Oxide-Synthase (iNOS) katalysiert wird. Große Mengen von NO, die durch Aktivierung von iNOS in Makrophagen und Endothelzellen produziert werden, können Mikroben und Tumorzellen effizient abtöten. Dieser zytotoxische Effekt von NO konnte mit Apoptosis, dem programmierten Zelltod, in Tumorzellen assoziiert werden. Wir konnten zeigen, daß 1. die Regression von ESb-Lymphom-Lebermetastasen nach adoptiver Immuntherapie (ADI) in tumortragenden DBA-Mäusen durch immune T-Lymphozyten mit einem erhöhten Level von NO-Synthese in Lebermakrophagen und Endothelzellen korrelierte. 2. Aktivierte Endothelzellen und Makrophagen induzierten Apoptose in ko-inkubierten ESb-Lymphomzellen in vitro. 3. Die Hemmung endogener NO-Produktion durch den iNOS Inhibitor NMMA führte zur kompletten Hemmung des apoptotischen Effektes. Ähnliche Ergebnisse wurden auch nach Exposition menschlicher neoplastischer T- oder B-Zellen gegenüber Chemikalien erhalten, die exogen NO freisetzen. Wir konnten weiterhin zeigen, daß die NO induzierte Apoptose in neoplastischen Zellen die Aktivierung von intrazellulären Caspasen erforderte und eine Schädigung mitochondrialer Funktionen bewirkte.

8. Metastasen

Die Fähigkeit von Tumorzellen, sich von einem lokal wachsendem Tumor abzulösen, zu einer anderen Stelle im Körper zu wandern und sekundäre Tumorherde zu etablieren, wird als Metastasierungskapazität bezeichnet. Die Konsequenz hiervon ist die Bildung sekundärer Tumore, sogenannter Metastasen. Der metastatische Prozess ist sehr komplex und involviert viele Teilschritte, die alle auf regelmäßigen Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und Zellen des Wirtsorganismus basieren. Alle für die Metastasierung relevanten Moleküle könnten potentielle therapeutische Zielstrukturen zur Intervention bei der Metastasenbildung dienen. Zwei Beispiele wären die Zielstruktur CD44-Variant oder Wachstumsfaktor-Rezeptoren (EGFR, oder Erb-B2). Therapeutische Zielstrukturen könnten auch Tumor-assoziierte Gene (Onkogene, Suppressorgene) sowie Tumorassoziierte Antigene (TAA) darstellen.

9. Die Immuntherapie mit dendritischen Zellen

Eine weitere Form der zellulären Immuntherapie stellt die Verabreichung von so genannten dendritischen Zellen dar. Dendritische Zellen nehmen eine Schlüsselfunktion bei der Aktivierung der Immunantwort ein. Sie präsentieren auffällige Merkmale, die Tumorzellen von anderen Geweben unterscheiden, dem Immunsystem so, dass überhaupt eine ausgeprägte

Reaktion erfolgen kann und auch zahlenmäßig über einzelne Zellen hinausgeht. Die Theorie hinter der Verwendung von dendritischen Zellen zur Immuntherapie geht von einer gezielten Verstärkung dieser Reaktion aus. Die meist vom Patienten selbst stammenden, in der Zellkultur herangezogenen dendritischen Zellen werden mit Tumorzellen oder Teilen davon zusammengebracht und dann dem Patienten zurückgegeben. Im Körper sollen die so beladenen dendritischen Zellen dann diese Information an andere Immunzellen vermitteln und so eine Immunreaktion gegen den Tumor auslösen.

10. Der Stellenwert zellulärer Immuntherapien heute:

Zelluläre Immuntherapien gehören noch nicht zu den Standardverfahren in der Krebsbehandlung. Noch sind viele Fragen offen, zum Beispiel kennt man noch längst nicht bei allen Tumorarten die winzigen Unterschiede, die die Krebszellen von gesunden unterscheiden. Auch zum Wie und Wann muss noch viel Forschung betrieben werden. Wie oft Patienten wohin geimpft werden müssen, um eine optimale Reaktion zu erreichen, ist zum Beispiel bei den Ansätzen mit dendritischen Zellen derzeit in der Prüfung. So kann es durchaus Unterschiede machen, ob unter die Haut, in Lymphknoten nahe Regionen oder anders vakziniert wird.

Zitiert aus: Krebsinformationsdienst KID (www.google.at)

Anmerkung (DDr. Bacowsky H.):

Trotz dieser und anderer extrakorporaler in vitro Methoden zur Steigerung der Antigenität, kann nicht vorausgesagt werden, ob die durch diese aufwendigen Verfahren - z.B. durch Virusbeladung toter Tumorzellen aktivierte T-Lymphozyten - auch die entsprechende Information zur Kennung von Tumorzellen – in der Regel nach Operation vorhandenen sog. residual cancer cells im Blut – übernommen haben. Dieses Problem der Ansprechbarkeit stellt sich generell für jede immunstimulierende Therapie, aber auch für die state of the art etablierten Standardverfahren der Chemo – und Strahlentherapie.

In der Praxis gelingt die Stimulation des Immunsystems in der Regel sehr gut, jedoch sind Tumorzellen kein körperfremdes Material, besitzen oft nur geringe, wahrscheinlich auch wechselnde Antigene. Selektionsdruck zusammen mit der Fähigkeit der Tumorzelle sich an unterschiedlichste Umgebungsbedingungen anzupassen, lassen einen monotherapeutische Fokussierung auf spezifische T-Zellen eine Immuntherapie in der Regel früher oder später scheitern. Eine Immunzellzahl Erhöhung führt nicht unbedingt zu einer erhöhten Kompetenz der vermehrten Immunzellen. Auch in der Immuntherapie gilt Polypragmasie, wie neuere Studien zeigen, was die Aussichten für den betroffenen Patienten in Form einer erfolgreichen Behandlung verbessern.

Dazu seien nachfolgende Ausführungen aus 2 Abschnitte einer Arbeit von Dr. med. Christian Stremmel (med. Universität Erlangen) „Immuntoleranz und aktive Immunsuppression in der Onkologie, Immunologische Grundlagen und therapeutische Optionen (www.google.at)“ zitiert:

„Tumorescapemechanismen:

Diese Gruppe an Mechanismen, durch die sich der Tumor einer erfolgreichen Immunüberwachung entzieht, basiert auf der Modulation der Expression von Molekülen, die direkt die Interaktion mit Immunzellen betrifft bzw. deren Aktivierung beeinflusst. Im Mittelpunkt stehen dabei Proteine auf der Zelloberfläche oder im Zytoplasma der Tumorzellen, die an der Präsentation oder intrazellulären Aufarbeitung von Antigenen beteiligt sind. Für verschiedene Tumorentitäten ist die Herunterregulation von MHC-Klasse-I-Molekülen [19] und der Verlust von Tumorantigenen beschrieben worden [32]. Aber auch Moleküle, die intrazellulär an der Aufarbeitung von Antigenen beteiligt sind, wie z.B. das Transporter-assoziierte-Protein (TAP), werden herunter reguliert [20]. Gerade der Verlust von Tumorantigenen während einer Immuntherapie stellt eine Limitation dieser Therapieform dar

[32]. Der Selektionsdruck auf den Tumor ist ein typisches Phänomen, das auch bei einer Chemotherapie oder Strahlentherapie beobachtet wurde.

Schlussfolgerungen:

Eine erfolgreiche Tumorstimmung muß an der durch den Tumor induzierten Immuntoleranz ansetzen. Wird diese Toleranz gegen den Tumor überwunden, so kann die endogene, anti-tumorale Immunantwort ihrer Aufgabe nachkommen und den Tumor abstoßen.

Bei Tumorstimmungen sollte die Physiologie der T-Zellaktivierung berücksichtigt werden, wodurch auf APCs basierenden Vakzinierungen eine besondere Rolle zukommt.

Veränderungen von Proteinen in der Signaltransduktion von T-Zellen und die damit verbundene verminderte Ansprechbarkeit des Patienten bei Vakzinierungen sind wichtig für die Selektion von Patienten für eine Immuntherapie. Eine normale Expression von NF- κ B p65 oder der ζ -Kette des T-Zellrezeptors sollte vor jeder Immuntherapie getestet werden, um somit bessere Subgruppen zu charakterisieren.

In der Zukunft sollten Vakzinierungen mit mindestens 3 verschiedenen Tumorstimmantigenen erfolgen. Dadurch wird versucht auch diejenigen Tumorzellen anzugreifen und zu zerstören zu können, denen es gelingt, die Expression von einem, schlimmstenfalls von mehreren der anvisierten Tumorstimmantigenen abzuschalten.

Auch bei einer Immuntherapie sollten verschiedene Ansätze kombiniert werden: Eine spezifische Vakzinierung mit unterschiedlichen Antigenen, kombiniert mit einer ungerichteten Immunstimulation mit Zytokinen oder der Aktivierung von Immunzellen über costimulierende Moleküle.

Eine Immuntherapie sollte im Rahmen einer multimodalen Therapie bei Patienten mit "minimal residual disease" erfolgen. Durch eine chirurgische Therapie muß zunächst die Tumorstimmlast soweit reduziert werden, daß eine Immuntherapie erfolgsversprechend sein kann.“

Literaturauswahl:

- www.Krebsinfo.de

- www.nosomi.at

- www.google.at

- Lersch C., Classen M.: Übersicht: Zum Stand der palliativen Therapie lokal fortgeschrittener und metastasierender Pankreaskarzinome. Tumordiagn. u. Ther. 16 (1995), 171-179

- Riethmüller G., Holz E., Schlimok, G. et al: Monoclonal antibody adjuvant therapy of Dukes C colorectal carcinoma: 7-year update of a prospective randomized trial. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 15 (1994), 444

- Riethmüller G., Schneider-Gädick E., Schlimok G. et al.: Randomized trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes C colorectal carcinoma. Lancet 343 (1994), 117-1183

- Schlimok G., Riethmüller G.: Monoclonal antibodies in the therapy of minimal residual solid tumors. Onkologie 18 (1995), 403-408

- Schneider M.R.: Hormonale Therapie maligner Tumoren. In: Zeller W.J., zur Hausen H. (Hrsg.): Onkologie. Grundlagen, Diagnostik, Therapie, Entwicklungen. Ecomed Verlagsgesellschaft Ag & Co. KG, Landsberg/Lech. IV-5 (1995) 1-43

- Seymour M.T., Seevin M.L., Kerr D.J. et al: Randomized trial assessing the addition of interferon alpha-2a to Fluorouracil and leucovorin in advanced colorectal cancer. J. Clin. Oncol. 14 (1994), 2280-2288

- Winkler V., Bohlen H., Schlimok G. et al: Immuntherapie hämatookologischer Erkrankungen. Med. Klinik 91 (1996), 226-233

- Krackhardt A., In vitro Elimination maligner Zellen bei chronischer myeloischer Leukämie durch Aktivierung autologer Lymphozyten mit Kombinationen von Zytokinen und CD3-

- monoklonalen Antikörpern - Effektivitätsprüfung mittels Durchflußzytometrie und PCR. Freie Universität Berlin 1998.
- Lehrbuchbeitrag aus "Eigenbluttherapie und andere autologe Verfahren - Ein Lehrbuch für die ärztliche Praxis" erschienen 2000, im HAUG-Verlag, ISBN 3-8304-7021-5
 - Stand der Eigenblut-Therapie und ihre Perspektiven bei Tumorerkrankungen. 1. Berichtsband, Bad Heilbrunner Therapiegespräche, November 1997, A. Vogl, München
 - Heiss, Mempel et al.: Blood transfusion-modulated tumor recurrence: first results of a randomized study of autologous versus allogeneic blood transfusion in colorectal cancer surgery. *J. Clin. Oncol.* 1994, Sept 12 (9); 1859-1865
 - Bastert, G., Ahlert, T., Schmid, H., Kaufmann, M.: Ultra-low-dosis Interleukin-2 (Poleukin) und Interferon-a (Roferon-A3) mit und ohne Tumorzellvaccine in Kombination mit Antiimmunsuppressiva bei fortgeschrittenen Malignomen. *Onkologisches Labor der Universitätsfrauenklinik Heidelberg*, 2. Version, Januar 1992
 - Mahl, A., Nasiv, W., Nechit, M., Vatou, V., Klehr, N.W.: EigenblutZytokine, spezifische Signaltransduktion. 9. informationstagung über Eigenblut-Transfusion, München, 1996
 - Mahl, A., Nechit, M., Vatou, V., Klehr, N.W.: In vitro activation of cytokine-genes. Pt International Dresden Symposium on Immunotherapy of Cancer, Dresden 19 9 6
 - Klehr, N.W.: Die Therapie mit Eigenblut-Zytokinen. IV. Internationale Konferenz für Naturheilkunde in Budapest, 7. bis 9. Juni 1996
 - Klehr, N. W.: Krebstherapie: Eigenblut-Zytokine (ATC), die gesteuerten Selbstheilungskräfte des Körpers. *Der Freie Arzt* (37) 16-18, Nr. 3 (1996)
 - Rauchfuß, E., Mahl, A., Nasif, W., Klehr, N.W.: Anwendung von Eigenblut-Zytokinen in der Behandlung des fernmetastasierten Pankreaskarzinomes. *Klinitschna Chirurgija (Zeitschr. Klinische Chirurgie)* 8, 1996, 21-23
 - Rauchfuß, E., Mahl, A., Nechit, M., Vatou, V.: Effectiveness of autologous cytokines (interferon, interleukin, tumor necrosis factor) in the treatment of pancreatic cancer. Ist International Dresden Symposium on Immunotherapy of Cancer. Dresden 19 9 6
 - Pantel, K.: Detection, monitoring and characterization of micrometastatic carcinoma cells: Implications for autologous stem cell transplantation. *Recent Advances in hematopoietic stem cell transplantation clinical progress, new progress, new technologies and gene therapie.* University of California, San Diego, School of Medicine, March 10- 12, 1994, San Diego, Hilton Beach & Tennis Resort, California
 - Kiesewetter, H: Gutachterliche Stellungnahme zur Beurteilung der allgemeinen Wirksamkeit des Azneimittels Eigenblutzytokine in der Tumormedizin. Berlin 1999
 - Sauter B, Albert ML, Francisco L, Larsson M, et al, Consequences of cell death: exposure to necrotic tumor cells, but not primary tissue cells or apoptotic cells, induces the maturation of immunostimulatory dendritic cells. *J Exp Med* 191:423, (2000)
 - Zhang ZX, Yang L, Young KJ, Temple BD, Zhang L, Identification of a previously unknown antigen-specific regulatory T cell and its mechanism of suppression. *Nature medicine* 7: 782, (2000)