

ESMO – Symposium on Immuno-Onkology

Fortschritte in der Krebs-Immuntherapie: Von Vakzinen zu Antikörpern und Zelltherapien

Melanoma as proof of concept

„Die T-Zell Aktivierung bietet Ansatzpunkte für verschiedene Immuntherapien“, so begann **Prof. Dr. Olivier Michielin** aus Lausanne seinen Vortrag über die Therapie fortgeschrittener Melanom-erkrankungen.

Zwei Schlüsselsynapsen bei der T-Zell Aktivierung

Die T-Zell Aktivierung weist zwei Schlüsselsynapsen auf. Zum einen die „Priming Phase“, die in den Lymphknoten zwischen den dendritischen Zellen (DC) und den CD8+ T-Zellen stattfindet und zum anderen die „Effector Phase“ zwischen den Melanomzellen und den CD8+ T-Zellen, die die „Priming Phase“ bereits durchlaufen haben. Durch zwei positive Signale der ersten Synapse wird die T-Zell Aktivierung verstärkt. Signal I entsteht infolge des Kontaktes zwischen dem MHC-Komplex der DC und dem T-Zell-Rezeptor (TCR), das zweite Signal ist die Folge des Kontaktes zwischen B7.1 der DC und CD28 der T-Zelle (Abb. 1).

Melanome in fortgeschrittenem Stadium sind schwer zu therapieren. Daher wurden in den letzten Jahren neue Therapieverfahren entwickelt, die teilweise schon erste erfolgversprechende Ergebnisse zeigen. Neben Peptid-Vakzinen wurden Zytokine (IL-2) eingesetzt und Immuntherapie-Verfahren wie der adoptive T-Zell-Transfer (ACT) mit TIL (den Tumor infiltrierende Lymphozyten) oder PBL (Lymphozyten aus dem peripheren Blut) und zusätzlichem Engineering und Checkpoint-Blockaden entwickelt.

Immuntherapien

- ▶ Peptid-Vakzinen kombinieren Klasse I und II Peptide aus Melanomzellen mit dem CpG Oligonukleotid Adjuvanz zur Aktivierung der gegen Tumor-Antigen gerichteten CD8+ T-Zellen. Studien (NCT00112242, NCT00112229) mit MHC I und II Peptiden mit und ohne Kombination mit CpG Adjuvanz zeigten bessere Ergebnisse für die CpG Gruppe.
- ▶ Auch für Interleukin-2 zeigten sich für die Kombinationstherapie aus IL-2 und gp100 Vakzine (Schwartzentruber et al. NEJM 2011) bessere Studienergebnisse als für die Monotherapie mit IL-2 alleine.
- ▶ Beim ACT werden dem Patienten Lymphozyten entnommen und später, oft nach einer induzierten Immunsuppression, wieder zugeführt. Hierbei unterscheidet man je nach Art der entnommenen Lymphozyten, entweder TIL oder PBL, zwei Verfahren. Wie die TIL werden die PBL in der Zellkultur vermehrt, zusätzlich aber genetisch modifiziert (T-cell Engineering). Beim T-cell Engineering unterscheidet man wiederum zwei Methoden: CAR (chimeric antigen receptor) und TCR.
- ▶ Bei der Immunmodulation mittels Checkpoint Blockade bieten sich verschiedene Blockadestellen: CTLA-4-Blockade: 48h–72 h nach Beginn der „Priming Phase“ löst sich das B7.1 Oberflächenprotein der DC vom CD28 und bindet an CTLA-4 der T-Zelle und verursacht dadurch ein hemmendes Signal auf die T-Zell



Prof. Dr. Olivier Michielin, Lausanne

Foto: Dr. Heidrun Ding

Aktivierung. Wird CTLA-4 durch einen spezifischen Antikörper wie Ipilimumab blockiert, bleibt die Hemmung aus und die Immunantwort wird verstärkt. PD-1 Blockade: In der „Effektor-Phase“ führt die Bindung des PD-Liganden-1 an den PD-1 Rezeptor der T-Zelle zur Hemmung der Proliferation der T-Zellen. Die anti-PD-1 Antikörper Lambrolizumab und Nivolumab befinden sich seit 2013 in verschiedenen Melanom Studien.

Momentan werden viele Studien zu ACT mit CAR und TCR modifizierten Zellen, sowie mit Checkpoint-Blockaden durchgeführt mit teilweise schon ersten hoffnungsvollen Ergebnissen. Der gleichzeitige Einsatz von CTLA-4 und PD-1 blockierenden monoklonalen Antikörpern zeigte synergistische Effekte. In der Regel führen Kombinationstherapien zu besseren Ergebnissen, wie längeren Überlebensraten und besserer Verträglichkeit, als Monotherapien (Abb. 2).

Neue Therapieansätze beim Ovarialkarzinom

Prof. George Coukos aus Lausanne unterstreicht zu Beginn seines Vortrages die Wichtigkeit, die Therapieansätze der Behandlung fortgeschrittener Ovarialkarzinome neu zu überdenken. Grund hierfür sind die geringen Therapieerfolge der letzten Jahrzehnte. Neue interessante Ansatzpunkte stellen die Tumorumgebung einschliesslich der TIL (tumor infiltrating lymphocytes) und der vasculären Versorgung des Tumors dar.

Bessere Prognose durch bestehende Immunantwort

Untersuchungen zeigten, dass Ovarialkarzinome nur bei einem Teil der Patientinnen von T-Zellen infiltriert waren. Bei den anderen Patientinnen verblieben die T-Zellen im Stroma. Eine Meta-Analyse (Hwang et al., Gynecol Oncol 2011) ergab, dass Patienten mit einer vorangegangenen TIL Immunantwort eine längere Überlebensrate bzw. eine bessere Antwort auf eine Chemotherapie aufwiesen. Diese Ergebnisse waren unabhängig vom Genotyp, der geographi-

schon Herkunft oder der Behandlungsmethode der Patientin. Die „Immune Signature“ bestätigte diese Resultate dahingehend, dass Patienten mit Genen für T-Zell Aktivierung, ebenfalls einen besseren Outcome zeigten (Verhaak et al., J Clin Invest 2013). Neben autologen Antigenen erkennen TIL auch Tumorantigene anderer Zelllinien wie Her-2, NY-ESO-1+, Mesothelin+ oder hTERT+. Die Ergebnisse eigener Studien mit „humanisierten“ Mäusen korrelierten ebenfalls mit den Resultaten der erwähnten Meta-Analyse, indem CD137pos TIL das Tumolvolumen reduzierten, nicht dagegen die CD137neg TIL.

Tumorbarrieren schwächen

Die Krebstherapie variiert abhängig davon, ob die Patientin eine bestehende Immunantwort aufweist oder nicht. Bei bereits bestehender Immunantwort kann diese aktiviert bzw. verstärkt werden. Kam es infolge des Ovarialkarzinoms zu keiner Immunantwort müssen die Tumorbarrieren geschwächt und/oder die Immunität induziert werden.

Die Untersuchung der Ursachen des Nicht-Einwanderns der T-Zellen in die Tumor Umgebung lassen die Bildung von Barrieren aus Tumor- und Endothelzellen vermuten, die die Immunzellen davon abhalten zu agieren. Die T-Zellen gelangen nicht bis zum Tumor vor (dies ist vermutlich auch der Grund für Unwirksamkeiten von Vakzinen).

Von der Tumor Umgebung ausgesendete angiogene oder immunsuppressive Faktoren führen über einen Parakrin-Dialog mit der Endothelzelle zu erhöhter Expression von die T-Zell Aktivierung hemmenden Endothelantigenen wie PD-L1, PD-L2, IDO, PGE2, VEGF etc.. Daneben bedingen diese Faktoren eine verminderte Expression von ICAM1 und aktivieren death ligands (FasL, TRAIL etc.), die ihrerseits die Transvasion der T-Zellen hemmen oder zum T-Zell-Tod führen (Buckanovich et al, Nature Med. 2008; Motz and Coukos, Immunity 2013).

Die Therapie des Ovarialkarzinoms ist komplex, wie eine nicht randomisierte Studie (UPCC 19809) mit einer personalisierten DC basierten Vakzine aus HOCL Tumorzelllysaten und aktivierten T-Zellen zeigte. Zwar verlängerte die Therapie mit Vakzinen, Bevacizumab und Cyclophosphamid das progressionsfreie Überleben, die Ergebnisse blieben jedoch weit hinter „normalen“ Vakzinierungsergebnissen zurück. Das Ovarialkarzinom ist eine intraperitoneale Krankheit mit speziellen intraperitonealen Immunsuppressionmechanismen zusätzlich zu den allgemein an Krebs beteiligten Signalwegen. So korrelieren niedrige PD-L1 und 2 und hohe CD8+ TIL positiv mit der Überlebensrate von Ovarialkarzinom Patientinnen. Die tumorspezifischen TIL Zellen (NY-ESO-1, Her-2/neu, Mesothelin, hTERT etc.) sind mehrheitlich PD-1 und CTL-4 positiv. PD-1 Blockade führt zu signifikanter Erhöhung von TCR, CTLA-4 ist fast ebenso effektiv und die Kombination aus beiden erhöht die TCR Konzentration additiv.

PD-1 ist sicher ein wichtiger Signalweg beim Ovarialkarzinom, bedarf aber zusätzlicher Intervention mit z.B. CTL-4. Daneben sind zusätzliche Targets zu blockieren und an den Patienten angepasst, verschiedene Methoden anzuwenden.

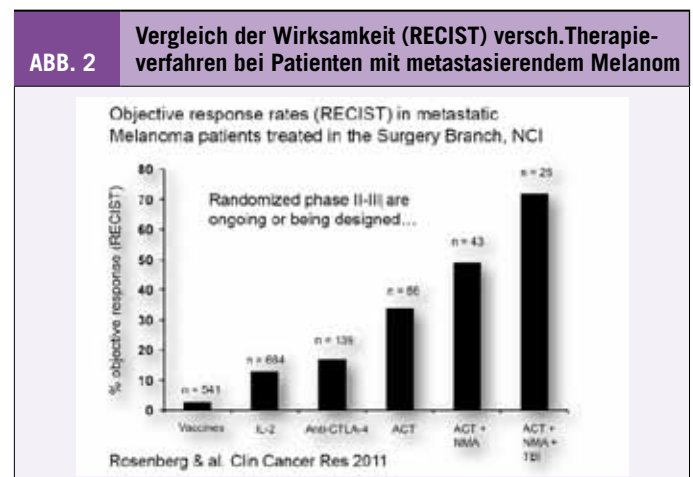
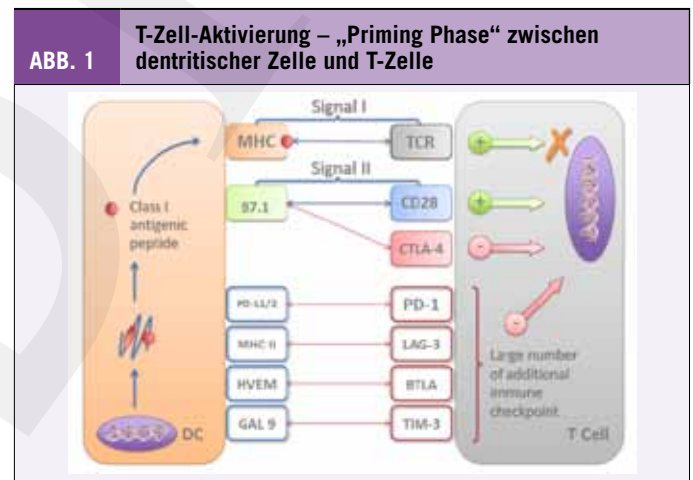
Für eine erfolgreiche Krebstherapie ist es daher wichtig, die Anzahl der Tumor reaktiven T-Zellen zu erhöhen, die tumoralen Regulationsmechanismen der Tumor Umgebung zu unterbrechen und die Angiogenese zu hemmen.

Immuntherapie bei Gehirntumoren: Illusion oder Grund zu Hoffnung?

„Gehirntumoren sind die häufigste Krebsart mit Todesfolge bei Kindern und die dritthäufigste Todesursache durch Krebs bei jungen Erwachsenen“ begann Prof. Pierre-Yves Dietrich aus Genf seinen Vortrag. Die häufigsten und zerstörerischsten Gehirntumore sind maligne Gliome, die derzeit mit Chirurgie, Bestrahlung und Chemotherapie behandelt werden.

Die übliche Immunantwort erfolgt über dendritische Zellen (DC) und Aktivierung der T-Lymphozyten in Lymphknoten. Fraglich ist, ob auch Gehirntumore, in deren Umgebung es keine DC und Lymphgefäße, dafür aber eine Blut-Hirn-Schranke gibt, von der Immunantwort erreicht werden. Der Nachweis menschlicher Gliome mit Infiltraten von CD8+ und Effektor T-Zellen spricht dafür, ebenso wie die direkte positive Korrelation zwischen diesen Infiltraten und der Überlebensrate von Glioblastom Patienten (Perrin et al. Int Immunol 1997; Calzascia et al., J Immunol 2003). Die ins Gehirn einwandernden T-Zellen werden hauptsächlich in den *Lmn. cervicales* aktiviert und erhalten einen Gehirn spezifischen „homing phenotype“, der charakteristische Muster aus Adhäsionsmolekülen und Chemokin-Rezeptoren aufweist.

Gliome verstehen es meisterlich, der Immunabwehr zu entkommen. Dies erfolgt durch Umgestaltung der Tumorumgebung, durch Freisetzung löslicher immunsuppressiver Botenstoffe (IL-10 PGE2 und TGF-β2) ebenso wie durch Zell-Zell-Interaktionen



(Sci. Transl. Med. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003634)

(FasL, B7-H1 mit PDL1) und durch Anreicherung von Treg (regulatorische T-Zelle) in Gehirntumoren (Calzascia et al., Immunity 2005; Masson et al. J Immunol 2007; Calzascia et al, Glia 2008, Choi et al., Clin Cancer Res 2012).

Bei der Gliom Therapie gibt es verschiedene therapeutische Ansatzpunkte, die teilweise bereits angewendet werden, während Wirksamkeit und Sicherheit anderer noch in Studien untersucht werden (Abb. 3).

Bei der therapeutischen Vakzine beispielsweise werden zwei Strategien bezüglich der Antigene verfolgt, einerseits Kombinationen aus DC und Gliom Lysaten und andererseits die Verwendung synthetischer Tumorantigene. Ideale Gliom Antigen Eigenschaften wären die exklusive Expression auf möglichst vielen Tumorzellen möglichst vieler Patienten und zusätzlich immunogene Wirkung zeigend. Nach diesen Kriterien wurden mittels mRNA Microarrays und der Literatur 10 Peptide identifiziert. Bekannte Gliom Antigene sind: EGFRvIII, Eph-2A, gp-100, WT-1, IL-13Ralpha2, TRP2, HER-2, SOX-2, -3, -11 und MAGE-1 (Okada, JCO 2001; Phuphanish, Cancer Immunol Immunother 2013; Terasaki, JCO 2011). Erschwerend ist, dass nur ein Teil der Gliome EGFRvIII positiv sind und Gehirnzellen keine definierten MHC Peptidkomplexe besitzen.

Zu vielen Antigenen laufen klinische Studien (NCT00890032, NCT00846456, NCT01171469, NCT015667202), wie zu EGFRvIII mit Rindopepimut (Phase-III Studie – NCT01480479). Noch gibt es nur wenige Daten über die Immunogenität und die Expression dieser Antigene auf den Tumorzellen (De Vleeschouwer, Cancer Immunol Immunother 2012; Expert Rev Vaccines 2013).

Die T-Zell Therapie verfolgt ebenfalls zwei Hauptstrategien, zum einen die Anwendung von „engineered T cells“ und zum anderen den „chimeric antigen receptor“ (CAR). Bei der Melanom Therapie zeigte die Anwendung Tumor spezifischer TCR interessante Ergebnisse mit 20-30% Tumorrückgang. Jedoch war die Toxizitätsrate durch Beschädigung normaler Zellen, die dieselben Antigene aufwiesen, wie die Tumorzellen hoch (Johnson et al., Science 2006; Blood 2009). Um die Toxizität zu senken, müssen die Ziele besser definiert werden. Gliom spezifische T-Zellklonkandidaten wären BCAN, CHI3L2, CSPG4, FABP7, NLGN4X und PTPRZ1. Die drei Generationen von CAR-T-Zellen zeigten von der 1. zur 3. Generation zunehmende Wirksamkeit mit gleichzeitig steigender Toxizität (NEJM 2011).

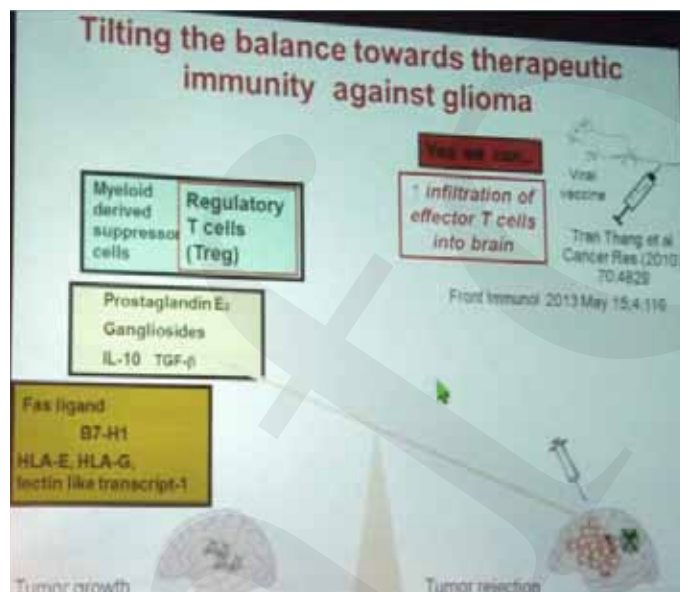


Abb. 3: Verschiedene therapeutische Ansatzpunkte, die bei der Gliom-Behandlung bereits zum Einsatz kommen bzw. deren Wirksamkeit in Studien untersucht werden

Laufende Studien mit CAR bei Gliomen sind NCT01454596 (EGFRvIII) und NCT01109095 (HER2).

Weitere Therapie-Ansatzpunkte stellen die kürzlich identifizierten Oberflächenantigene CSPG4, brevican, NRCAM, neurologin und PTPRZ1 dar.

Die Therapie von Gliomen geht in Richtung Poly-Immuntherapie mit der feindlichen Umgestaltung der Tumor-Umgebung (TGFβ Blockade, Treg Hemmung, Vakzinen, Checkpoint Blockaden), mit T-Zell Therapien (clonotypic TCR und CAR) und mit der Identifizierung und Induktion eines optimalen Gehirn „homing phenotype“, um die Wanderung ins Gehirn zu optimieren (Dutoit et al., Brain 2012; Dietrich et al., Curr Op Oncol 2010).

▼ Dr. Heidrun Ding

Quelle: ESMO – Advances in cancer immunotherapy; From vaccines to antibodies and cell therapies, 15.–16. November 2013, Genf

ANKÜNDIGUNG



Vol. 4 – Ausgabe 2 – April 2014

Was bietet Ihnen die nächste Ausgabe?

- FORTBILDUNG** ➔ Schwerpunkt Magenkarzinom
- MEDIZIN FORUM** ➔ Differenziertes Schilddrüsenkarzinom
- MEDIZIN FORUM** ➔ Oligodendrogliom
- KONGRESS** ➔ deso-Fortbildungskurs, St. Gallen