

Internist 2013 · 54:179–187  
 DOI 10.1007/s00108-012-3151-1  
 Online publiziert: 1. Februar 2013  
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

#### Schwerpunktherausgeber

M. Hallek, Köln  
 J. Wolf, Köln

A. Schultheis<sup>1</sup> · J. Wolf<sup>2</sup> · R. Büttner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut für Pathologie, CIO Köln Bonn, Universitätsklinikum Köln

<sup>2</sup> Klinik für Innere Medizin I, CIO Köln Bonn, Universitätsklinikum Köln

# Lungenkarzinom

## Molekulare Pathologie und personalisierte Therapie

Das Bronchialkarzinom ist weltweit die häufigste Ursache krebsassoziierter Todesfälle. Den größten Anteil an den Lungenkrebskrankungen hat mit etwa 85% das nichtkleinzellige Bronchialkarzinom [“non-small cell lung carcinoma“ (NSCLC)]. Bei ungefähr 70% der Patienten wird die Diagnose im fortgeschrittenen oder bereits metastasierten Stadium gestellt [1, 2], für diese Patienten gibt es keine Heilung. Mit platinhaltigen Chemotherapieprotokollen, über Jahrzehnte die Standarderstlinientherapie, beträgt das mediane Überleben nur etwa 1 Jahr [3]. Auch die zielgerichteten Agenzien („targeted drugs“) haben hier bei unselektiertem Einsatz keinen Durchbruch erbracht. Nur 2 dieser Substanzen sind für den nicht genetisch stratifizierten Einsatz beim NSCLC zugelassen: Die Zugabe des monoklonalen Anti-vascular-endothelial-growth-factor(VEGF)-Antikörpers Bevacizumab zur platinbasierten Chemotherapie verlängert bei Patienten, die nicht an einem Plattenepithelkarzinom erkrankt sind, das mediane Überleben um 2 Monate [4], der Epidermal-growth-factor-receptor(EGFR)-Tyrosinkinaseinhibitor (TKI) verlängert bei vorbehandelten Patienten das mediane Überleben im Vergleich zu Placebo ebenfalls um etwa 2 Monate [5].

### Rolle von Treibermutationen in der Therapie

Sogenannte Treibermutationen („driver mutations“) sind genetische Veränderungen, die durch die Aktivierung transformierender Signaltransduktionswe-

ge eine besondere Vulnerabilität für die pharmakologische Hemmung bewirken. Erst nach Entdeckung dieser Mutationen konnte für einen Teil der Patienten die Prognose deutlich verbessert werden. In etablierten personalisierten Therapieansätzen mit zugelassenen Medikamenten werden derzeit EGFR-TKI und Crizotinib, ein Inhibitor der anaplastischen Lymphomkinase (ALK), verwendet. Die Behandlung von Patienten mit aktivierenden EGFR-Mutationen (etwa 12% der Adenokarzinome) mit EGFR-TKI (Erlotinib, Gefitinib) führt zu Ansprechraten von 70–80% und einem medianen Überleben von 27–33 Monaten [6, 7]. Unter Crizotinibtherapie von Adenokarzinompatienten mit einer Translokation des ALK-Onkogens (Häufigkeit: etwa 3–4%) werden Ansprechraten von etwa 60% und ein medianes progressionsfreies Überleben (PFS) von 10 Monaten erreicht [8]. Somit profitieren momentan deutlich mehr als zwei Drittel von etwa 15% der NSCLC-Patienten von personalisierten Therapien mit einem guten klinischen Ansprechen.

Zahlreiche weitere personalisierte Therapieansätze bei zusätzlichen Treibermutationen befinden sich in der klinischen Evaluation. Dies betrifft Adenokarzinompatienten mit:

- Mutationen in
  - *KRAS*,
  - *PIK3CA*,
  - *BRAF* und
  - *HER2*;
- Amplifikationen in
  - *CMET* und
  - *HER2* sowie

- Translokationen von
  - *ALK*,
  - *RET* und
  - *ROS*.

Auch beim Plattenepithelkarzinom finden sich Treibermutationen, die z. T. bereits klinisch evaluiert werden, beispielsweise Amplifikationen von *FGFR1* und Mutationen im *DDR2*-Gen. Somit ist davon auszugehen, dass sich durch die Entwicklung personalisierter Therapieansätze für eine zunehmende Zahl an Lungenkrebspatienten die Prognose in absehbarer Zeit verbessern wird.

Diese Entwicklung wird dadurch beschleunigt, dass die molekularen Mechanismen der Resistenz gegen TKI-Therapien entschlüsselt werden [9]. Das molekulare Verständnis der Resistenz wiederum führt zu rationalen Therapien bei Versagen der initialen TKI-Therapie. Beispiele sind die Entwicklung von EGFR-TKI der zweiten und dritten Generation mit hoher Spezifität für die EGFR-T790M-Resistenzmutation und die Entwicklung von ALK-Inhibitoren der zweiten Generation bei Crizotinibversagen.

Diese Ansätze beruhen ausnahmslos auf der spezifischen Hemmung aktivierter intrazellulärer Signaltransduktionswege. Erst ein präzises molekulares Verständnis hat diesen klinischen Erfolg ermöglicht.

### Das Immunsystem als therapeutischer Ansatzpunkt

Es stellt sich die Frage, ob eine solche Entwicklung auch für andere systemische

Krebstherapieansätze denkbar ist. Seit Jahrzehnten werden Strategien entwickelt, die das körpereigene Immunsystem des Krebspatienten für die Kontrolle oder sogar Remission einer Tumorerkrankung nutzen wollen. Trotz vielversprechender präklinischer Modelle ist der klinische Erfolg bisher weitgehend ausgeblieben, wobei einige molekular ausgerichtete Therapien, z. B. EGFR- oder HER2-Antikörper, wahrscheinlich auch über Immundefektormechanismen wirken. In der jüngeren Vergangenheit wurden nun allerdings Rezeptor-Liganden-Systeme entdeckt, welche die Immunantwort auf maligne Tumoren regulieren. Es zeichnet sich ab, dass das exakte Verständnis der Aktivität dieser Kommunikation zwischen Tumor und Immunsystem mögliche Biomarker liefert, aus denen sich gezieltere Ansätze ableiten lassen.

Das menschliche Immunsystem ist ein komplexes Organ mit angeborenen und epitopspezifischen (adaptiven) Effektorsystemen, das den Körper vor Fremdeinflüssen schützt. In diesem System herrscht ein delikates Gleichgewicht zwischen Zellen und löslichen Faktoren. Wird es gestört, können einerseits Krankheiten entstehen, andererseits bestehende Krankheiten voranschreiten.

### » Die Immunantwort auf maligne Tumorzellen ist zumeist ineffektiv

Maligne Tumoren weisen eine Vielzahl genetischer und epigenetischer Veränderungen auf, die als Neoantigene funktionieren und potenziell vom adaptiven Immunsystem als fremd erkannt werden sollten [10]. Zusätzlich bewirkt der Tumor Zellschädigungen, die über Alarmsignale zu einer Aktivierung des angeborenen Immunsystems führen. Obwohl es eine nachgewiesene Immunantwort auf maligne Tumorzellen gibt [11], ist diese Antwort in der Realität zumeist ineffektiv [10, 12, 13]. Tumoren können multiple Resistenzmechanismen entwickeln, einschließlich einer lokalen Immunsuppression, Toleranzinduktion und systemischen Dysfunktion der T-Zellsignalübermittlung [14]. Darüber hinaus ge-

lingt es Tumoren, bestimmte Signalwege für sich zu nutzen, um aktiv dem Immunsystem und der Zerstörung durch dieses zu entgehen [11]. Mittlerweile ist klar, dass in wachsenden Tumoren die Immuntoleranz überwiegt [10, 11].

Die Tumorummuntherapie versucht, diesen Mechanismus aufzuhalten, im Idealfall umzukehren und das Immunsystem so zu stimulieren, dass es maligne Tumoren kontrollieren und aktiv bekämpfen kann. Hierfür werden die mächtigen Waffen sowohl der adaptiven als auch der angeborenen Immunabwehr genutzt. Therapeutische Ansätze beinhalten [10]:

- die Verwendung monoklonaler Antitumorantikörper,
- „cancer vaccines“,
- den adoptiven Zelltransfer *ex vivo* aktivierter T- und natürlicher Killerzellen sowie
- den Einsatz von Antikörpern oder rekombinanten Proteinen, die entweder eine Kostimulation des Immunsystems bewirken oder immuninhibitorische Signalwege, sog. Immuncheckpoints, aktivieren.

In der Vergangenheit wurden diese Strategien v. a. am malignen Melanom und Nierenzellkarzinom erforscht [15], erst in jüngster Zeit wurden sie auch auf das Bronchialkarzinom übertragen. Neu ist, dass sich auch für einen Teil der immunologischen Therapien bei Patienten mit Lungenkarzinom der Einsatz von Biomarkern abzeichnet. So sollte es gelingen, das außerordentlich erfolgreiche Konzept der personalisierten Therapie auch hier anzuwenden, indem mithilfe einer Biomarkeranalytik Patienten identifiziert werden, bei denen immunologische Therapien wirksam oder ggf. nicht wirksam sind. Dass dieser Ansatz Erfolg versprechend ist, konnte zum ersten Mal bei einem Rezeptor-Liganden-System, dem Programmed-death-1(PD-1)/programmed-deathligand-1(PD-L1)-System, gezeigt werden. In einer gerade abgeschlossenen multizentrischen Phase-I-Studie ließ sich mit einem gezielt gegen den immunregulatorischen Rezeptor PD-1 gerichteten Antikörper zeigen, dass Patienten mit einer erhöhten Expression des Liganden für PD-1, PD-L1, ein erhöhtes Ansprechen auf die Therapie haben [16]. Dies deutet

an, wie wichtig in Zukunft die Identifizierung von zuverlässigen Biomarkern auch im Bereich der Immuntherapie sein wird. Im Folgenden soll ein Überblick über Immuntherapeutika gegeben werden, die aktuell im Rahmen der Therapie des Bronchialkarzinoms erprobt werden.

### Modulierung des Immunsystems mit Antikörpern

Die Erkennung von Antigenen durch T-Zellen wird überwiegend durch die Interaktion zwischen dem T-Zellrezeptor und Major-Histocompatibility-Komplexen (MHC) auf der Zelloberfläche vermittelt. Unterstützt wird der Prozess durch eine Vielzahl koregulatorischer Rezeptoren, die ebenfalls auf der T-Zelloberfläche exprimiert werden [10]. Diese Rezeptoren können sowohl stimulatorische als auch inhibitorische Signalkaskaden induzieren, darunter die Modifikation der T-Zellproliferation, die Zytokinsekretion und die Zytolyse. Eine Dominanz der kostimulatorischen Rezeptoren kann zu einer Toleranzinduktion führen und somit die Antitumorimmunität verhindern [11, 13, 14, 16].

Der bereits erwähnte Rezeptor PD-1 ist ein koinhibitorischer Rezeptor, der unter physiologischen Umständen v. a. auf aktivierten T- und B-Zellen exprimiert wird (■ **Abb. 1**). Die natürliche Funktion von PD-1 ist die Herabregulierung der Immunantwort, um bei immunologischen Prozessen wie Entzündungen eine Zerstörung des angrenzenden, unbeteiligten Gewebes zu verhindern. Darüber hinaus vermittelt der Rezeptor noch weitaus spezifischere immuninhibitorische Signale [13, 16].

### » PD-1 und dessen Liganden erhalten die immunsuppressive Tumorumgebung aufrecht

PD-1 und dessen Liganden B7-H1/PD-L1 und B7-DC/PD-L2 wird eine essenzielle Rolle in der Aufrechterhaltung einer immunsuppressiven Tumorumgebung zugeschrieben. Dieser Signalweg scheint einer der wichtigsten bislang identifizierten Immuncheckpoints zu sein [10, 16, 17]. Im

Hier steht eine Anzeige.



präklinischen Modell konnte gezeigt werden, dass die Inhibition dieses Signalwegs die T-Zellantwort verstärkt und eine antitumoröse Aktivität aufweist [13, 16, 17, 18].

MDX-1106, auch bekannt als BMS-936558 oder ONO-4538, ein vollständig humanisierter monoklonaler Antikörper (MAB) gegen PD-1, zeigte eine signifikante Verbesserung des PFS von Patienten mit refraktären metastatischen Tumoren [13, 16]; die Toleranz war bis zu einer geplanten Maximaldosis von 10 mg/kgKG gut. Gleichfalls wurde immunhistochemisch die Expression von PD-L1, dem Hauptliganden von PD-1, untersucht: 9 der 25 Patienten mit PD-L1-positiven Tumoren zeigten ein Ansprechen ( $p=0,006$ ), dagegen keiner der 17 Patienten mit PD-L1-negativen Tumoren [16].

Auch eine aktuelle multizentrische Phase-I-Studie (NCT00729664), in der ein vollständig humanisierter MAB (BMS-936559) gegen PD-L1 verabreicht wurde, erbrachte vielversprechende Ergebnisse [17]. Neben Patienten mit Melanom, Nierenzellkarzinom, Magen-, Pankreas- oder Kolonkarzinom wurden insgesamt 75 Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC eingeschlossen, die mindestens eine zum Tumor passende Chemotherapie erhalten hatten und eine Progression der Krankheit aufwiesen. BMS-936559 wurde i.v. alle 14 Tage in 6-wöchigen Zyklen dosisesskalierend (0,3–10 mg/kgKG) verabreicht. Das Maximum waren 16 Zyklen. Bei 5 von 49 Patienten mit NSCLC konnte eine partielle oder komplette Remission der Erkrankung erreicht werden.

Die nach wie vor am besten untersuchten koregulatorischen Moleküle sind die CD28-B7-Familie und das zytotoxische T-lymphozytenassoziierte Antigen 4 (CTLA-4), ein Rezeptor für B7-1 und B7-2 [19]. Sie funktionieren analog zum PD-1/PD-L1-Signalweg und spielen eine wichtige Rolle bei der gewebeassoziierten Immunsuppression. Bislang konnte keine Tumorspezifität in der Expression von B7-1 oder B7-2 nachgewiesen werden [10]. Die antitumoröse Aktivität von MAB durch Blockade von CTLA-4 ließ sich sowohl im präklinischen Modell belegen als auch später in klinischen Studien wiederholt aufzeigen [10].

Zwei voll humanisierte, CTLA-4-blockierende MAB, Ipilimumab und Tre-

Internist 2013 · 54:179–187 DOI 10.1007/s00108-012-3151-1  
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

A. Schultheis · J. Wolf · R. Büttner

## Lungenkarzinom. Molekulare Pathologie und personalisierte Therapie

### Zusammenfassung

Die Tumorimmuntherapie hat in den letzten Jahren rasante Fortschritte gemacht. So lieferten Studien zur Behandlung des Bronchialkarzinoms mit „cancer vaccines“ wie dem melanomassoziierten Antigen A3 (MAGE-A3) und liposomalem BLP25 vielversprechende Ergebnisse in den Stadien IB/II und III des nichtkleinzelligen Bronchialkarzinoms. Immunmodulatorische Agenzien wie Talactoferrin oder Ipilimumab scheinen v. a. in Verbindung mit einer platinbasierten Chemotherapie zu wirken, was andeutet, dass insbesondere die Kombination von Immuntherapeutika, konventioneller Chemotherapie und tu-

morspezifischen, zielgerichteten Agenzien das größte therapeutische Zukunftspotenzial besitzt. Das genaue Verständnis der Interaktion zwischen Tumor und Immunsystem bleibt essenziell für die Identifizierung potenzieller Biomarker. Im Idealfall ermöglicht es auch im Bereich der Immuntherapie die Entwicklung gezielter Ansätze.

### Schlüsselwörter

Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom · Immunsystem · Tumorimmuntherapie · Personalisierte Medizin · Biomarker

## Lung cancer. Molecular pathology and personalized therapy

### Abstract

Recent advances in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) are based on the identification of so-called driver mutations, resulting in a more personalized treatment setting. Currently about 15 % of NSCLC patients benefit from improved treatment protocols based on the genetic background of the tumor. In the last few years cancer immunotherapy has returned to the center of attention and comprises a variety of treatment approaches incorporating adaptive, as well as innate immunity. Current strategies involve the use of monoclonal antitumor antibodies, cancer vaccines, adoptive transfer of *ex vivo* activated T and NK cells as well as the blockade of so-called immune checkpoints

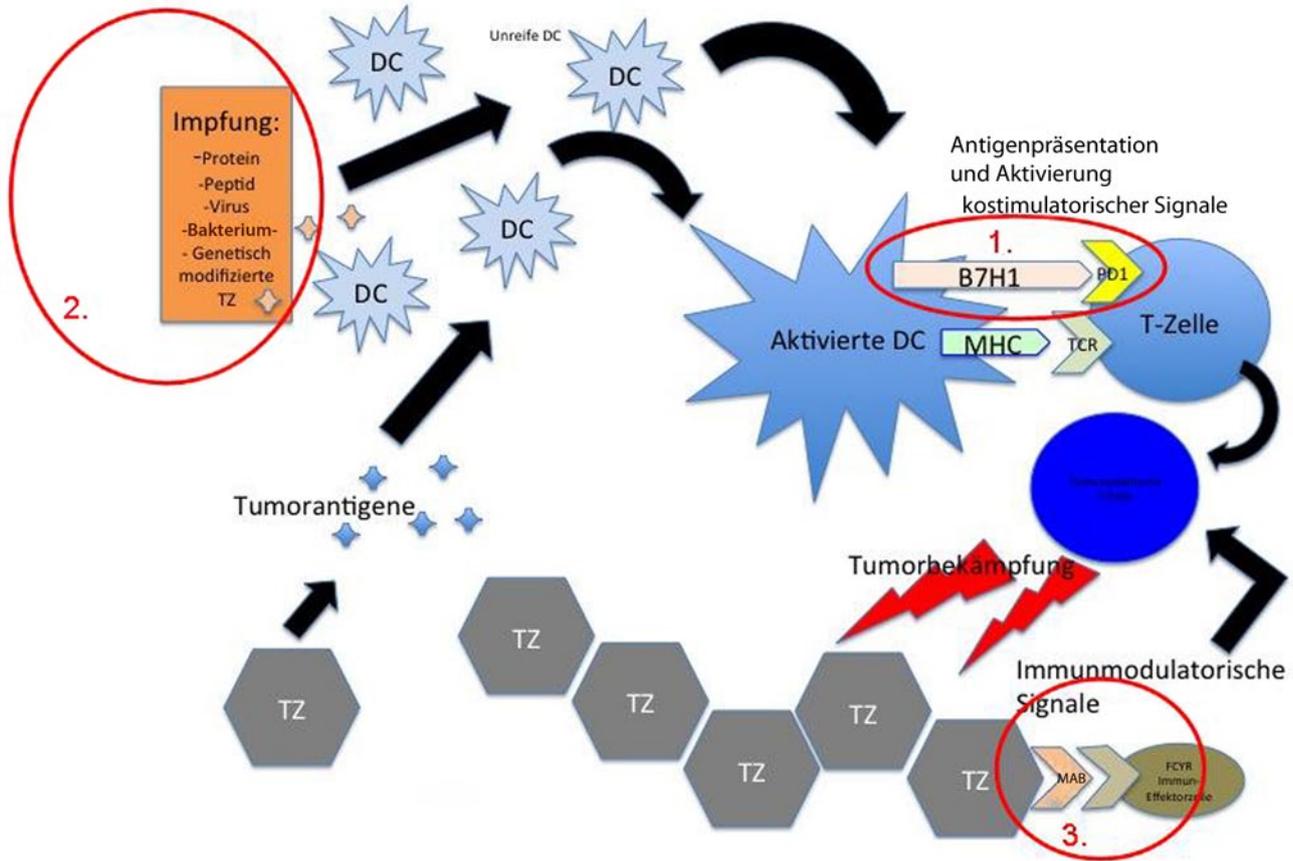
(immune inhibitory pathways). Especially the combination of current treatments with immunotherapy seems promising to achieve highly potent antitumor effects. However, a profound understanding of the dynamic and complex interaction between lung cancer and the host immune system and especially its immune checkpoints is the foundation to identify potential biomarkers for a personalized cancer immunotherapy approach.

### Keywords

Carcinoma, non-small cell lung · Immune system · Cancer immunotherapy · Personalized medicine · Biomarkers

melimumab, wurden bislang am NSCLC untersucht [13, 19]. Eine doppelblinde Phase-II-Studie an 203 unbehandelten Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC untersuchte die Wirksamkeit von Ipilimumab in Kombination mit einer Chemotherapie (Carboplatin oder Paclitaxel) im Vergleich zu einer alleinigen Chemotherapie [13]. Die Verabreichung erfolgte entweder simultan oder aufeinanderfolgend. In der Gruppe, die mit einer Kombinationstherapie behandelt wurde, zeigte sich ein verbessertes PFS verglichen mit der Gruppe, in der Patienten nur eine Chemotherapie erhielten [simultane Verabreichung: Median: 5,52 Monate, 95%-Konfidenzintervall (95%-KI): 4,17–

6,74 Monate,  $p=0,094$ ; aufeinanderfolgende Verabreichung: Median: 5,68 Monate, 95%-KI: 4,76–7,79,  $p=0,026$ ; alleinige Chemotherapie: Median: 4,63 Monate, 95%-KI: 4,14–5,52]. Bis zu 58% der Patienten, die das Medikament simultan erhielten zeigten Grad-3- und Grad-4-Nebenwirkungen, meist waren diese immunologischer Art; bei aufeinanderfolgender Verabreichung lag die Häufigkeit bei 52%; unter alleiniger Chemotherapie bei 42% [13]. Eine aktuelle Phase-III-Studie wird nun das Gesamtüberleben von 900 Patienten mit Plattenepithelkarzinom der Lunge untersuchen (NCT01285609). Tremelimumab zeigte bereits in einer Phase-II-Studie keine Verbesserung des PFS.



**Abb. 1** ▲ Prinzipien der Immuntherapie im Bronchialkarzinom. 1. Die T-Zellaktivierung erfolgt mittels Antigenpräsentation durch Interaktion des MHC-Rezeptors auf der Oberfläche von DC mit dem TCR der T-Zellen. Hierbei spielen koregulatorische Rezeptoren wie Vertreter der B7-Familie eine Rolle. Dem PD-1/B7-H1/PD-L1-Signalweg wird eine immunsuppressive Wirkung zugeschrieben. Diese kann durch eine antikörpervermittelte Inhibition gezielt aufgehoben werden. 2. „Cancer vaccines“ können verschiedene Formen haben (s. Box in der Abb.). Voraussetzung für ihre Wirksamkeit ist eine Aktivierung von DC. Dies geschieht entweder durch das Einfügen von Pattern-recognition-receptor (PRR)-Agonisten in die Impfung oder einen Vektor (Virus, Bakterium u. a.). Aktivierte DC präsentieren daraufhin im Lymphknoten T-Zellen die prozessierten Antigene. Die T-Zellen werden so aktiviert und bekämpfen die TZ. 3. Die antitumoröse Wirkung von MAB beruht auf zahlreichen immunologischen Mechanismen. Hierzu zählen die antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität, die komplementaktivierte Zytotoxizität und die Verstärkung der adaptiven Immunantwort mittels Zytokinfreisetzung. DC Dendritische Zelle; MAB monoklonaler Antikörper; MHC Major-Histocompatibility-Komplex; TCR T-Zellrezeptor; TZ Tumorzelle

Sowohl die CTLA-4-Blockade als auch die Blockade von PD-1 und PD-L1 kann durch eine unkontrollierte T-Zellproliferation zu Nebenwirkungen immunologischer Art führen [16, 17]. Unter PD-L1-Blockade sind deren Spektrum und Häufigkeit am geringsten [10, 13]. In aller Regel sind die Nebenwirkungen unter Steroidgabe ohne Wirkungsverlust gut beherrschbar.

### Talactoferrin

Lactoferrin ist ein eisenbindendes, immunmodulatorisches Glykoprotein, das erstmals in mütterlicher Milch identifiziert wurde. Talactoferrin alfa, auch be-

kannt als rekombinantes humanes Lactoferrin, ist ein oral aktives Lactoferrin, das aus *Aspergillus niger varawamori* isoliert wurde. Strukturell und funktionell ist es identisch mit humanem Lactoferrin.

Oral verabreichtes Talactoferrin bindet an Darmepithelien und wird in darmassoziiertes lymphatisches Gewebe transportiert. Dort rekrutiert es unreife zirkulierende dendritische Zellen (DC), die Tumorantigene tragen, und induziert deren Reifung. Die DC-Aktivierung in Anwesenheit von Tumorantigenen und lymphatischen Effektorzellen bewirkt eine starke Immunantwort des angeborenen und des adaptiven Immunsystems, der die antineoplastische Wirkung von Talac-

toferrin zugeschrieben wird [13, 20]. Talactoferrin wird nicht systemisch aufgenommen.

» Über die Rekrutierung dendritischer Zellen löst Talactoferrin eine starke Immunantwort aus

Zwei Phase-II-Studien mit oral verabreichtem Talactoferrin zeigten ein gegenüber der Standardtherapie verbessertes Gesamtüberleben bei NSCLC-Patienten unter Monotherapie und ebenfalls in Kombination mit Chemotherapie; diese

Ergebnisse bestätigten sich in einer weiteren placebokontrollierten Studie [21, 22, 23].

In 2 aktuellen Phase-III-Studien werden Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC rekrutiert. FORTIS-M (NCT00707304) ist eine doppelblinde, placebokontrollierte Studie an etwa 720 Patienten, die mindestens 2 vorausgegangene Therapien erhalten haben, eine davon platinbasiert. Talactoferrin (1,5 g oral, 2-mal täglich) oder Placebo (2:1-Verhältnis) werden für 12 Wochen verabreicht, gefolgt von einem 2-wöchigen therapiefreien Intervall. Ein Maximum von insgesamt 5 Zyklen à 14 Wochen bis zur Tumorprogression ist in der Studie vorgesehen. Die zweite Studie, FORTIS-C (NCT00706862), untersucht an 1100 Patienten mit neu diagnostiziertem NSCLC in Stadium IIIB oder IV das Gesamtüberleben sowie das PFS unter Verwendung von Talactoferrin – ebenfalls in einer Dosis von 1,5 g oral 2-mal täglich – in Kombination mit Erstlinientherapien mit Carboplatin oder Paclitaxel [13].

### Tumorspezifische, monoklonale Antikörper

Primär erwartete man bei Anwendung von MAB keinen immuntherapeutischen Effekt, was dazu führte, dass dessen Wichtigkeit unterschätzt wurde. Mittlerweile belegen zahlreiche Daten, dass insbesondere die antikörperabhängige, zellvermittelte Zytotoxizität einer der Hauptmechanismen der Aktivität und Wirksamkeit von MAB ist.

Die meisten Daten liegen für den Anti-CD20-Antikörper Rituximab vor [10]. Dessen Antitumoraktivität ist durch die Interaktion mit dem Fc-Rezeptor von Immunzellen bedingt. Auch für andere Antikörper, die auf der Tumorzelloberfläche lokalisierte Antigene zum Ziel haben, gilt dieser Mechanismus, beim Bronchialkarzinom z. B. Bevacizumab (s. Einleitung). Aktuell wird versucht, diese antitumoröse Wirkung durch Modifikationen zu verstärken, u. a. durch eine einfache Glykosylierung des MAB [10].

### „Cancer Vaccines“

Der Versuch, gezielt aktivierte T-Zellen gegen Tumorantigene zu richten, bildet die Grundlage der heutigen „cancer vaccines“. Das Interesse auf diesem Gebiet wurde durch den revolutionären Erfolg prophylaktischer Impfungen gegen infektiöse Erkrankungen geweckt [10, 13] und basiert auf der Tatsache, dass T-Zellen die Fähigkeit besitzen, Zielantigene in Form von an MHC-Oberflächenmoleküle gebundenen Peptiden zu erkennen. Potenziell kann jedes tumoreigene Protein als tumorspezifisches oder tumorselektives Antigen erkannt werden und eine potente CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-Antitumorantwort auslösen [10, 13].

### » Prinzipiell kann jedes tumorspezifische Protein eine potente Antitumorantwort auslösen

Trotz vielversprechender Phase-I- und Phase-II-Studien kam es seit den 1960er Jahren wiederholt zu einem Impfversagen, was eine gewisse Skepsis gegenüber diesem Therapieansatz auslöste [13]. Erst erfolgreiche Phase-III-Studien, die auf der Anwendung einer sog. DC-Impfung basierten, weckten das Interesse erneut [10]. Bei diesem Verfahren nutzt man aus, dass die optimale T-Zellaktivierung von einer adäquaten Antigenprozessierung und -präsentation durch DC abhängt, die wiederum starke kostimulatorische Signale vermitteln, so etwa die Aktivierung von Membranliganden und die Freisetzung von Zytokinen. Sipuleucel-T ist ein solches „DC cancer vaccine“. Im Jahr 2012 wurde es erstmals zur Behandlung des fortgeschrittenen hormonresistenten Prostatakarzinoms zugelassen [10].

An NSCLC wurden bislang 3 „cancer vaccines“ getestet [13].

### Liposomales L-BLP25

Die Peptidimpfung mit liposomalem BLP25 (L-BLP25) zielt auf das MUC-1-Peptid. MUC-1 ist ein membranassoziertes Glykoprotein, das in malignen Tumorzellen überexprimiert und abnorm glyko-

syliert wird [13]. Es nimmt eine wichtige Rolle bei der Zelltransformation, Zellmigration, Immunsuppression und Entwicklung einer Apoptoseresistenz unter hypoxischen Zuständen ein und scheint mitverantwortlich für die Resistenzentstehung gegenüber einigen Chemotherapeutika zu sein [13, 24]. Der L-BLP25-Impfstoff enthält ein synthetisches MUC-1-Lipopetid und Monophosphoryllipid A, ein Immunadjuvans; beide Bestandteile werden gemeinsam in einem liposomalen Transportsystem verabreicht.

### » In einer Phase-IIB-Studie verlängerte L-BLP25 das Gesamtüberleben von NSCLC-Patienten

Im Mausmodell konnten mit L-BLP25 eine antigenspezifische T-Zellproliferation und die Produktion von Interferon- $\gamma$  hervorgerufen werden. In einer randomisierten Phase-IIB-Studie an 171 NSCLC-Patienten in Stadium IIIB oder IV mit stabilem Krankheitsbild oder klinischem Ansprechen nach Erstlinienchemotherapie oder Radiochemotherapie erhielten Patienten entweder L-BLP25 oder unterstützende medizinische Maßnahmen [13, 24]. Drei Tage vor der ersten Impfung erhielten Patienten 1-malig Cyclophosphamid in einer Dosis von 300 bis maximal 600 mg/m<sup>2</sup>, gefolgt von 8 Impfungen je 1-mal wöchentlich (1000  $\mu$ g s.c.) und einer Erhaltungsdosis alle 6 Wochen bis zum Fortschreiten des Krankheitsverlaufs. Das Gesamtüberleben verlängerte sich bei den Patienten, die L-BLP25 erhielten um 4,2 Monate [n=88, 17,2 vs. 13 Monate, Hazard Ratio (HR): 0,745, 95%-KI: 0,533–1,042]. Der größte Unterschied im Gesamtüberleben zeigte sich in der Patientengruppe in Stadium IIIB (n=35, 40% der Patienten), die eine Verbesserung des medianen Gesamtüberlebens von 17,3 Monaten zeigte (30,6 vs. 13,3 Monate, HR: 0,548, 95%-KI: 0,301–0,999, medianes Follow-up: 53 Monate). Häufige Nebenwirkungen in der Impfgruppe waren grippeähnliche Symptome, Irritationen im Bereich der Impfstelle und Übelkeit [13].

Zwei Phase-III-Studien mit ähnlichem Design untersuchen das Gesamtüberleben von Patienten mit nicht resezierbarem NSCLC (Stadium III), die entweder auf eine primäre Chemotherapie angesprochen haben oder einen stabilen Krankheitsverlauf zeigen [Stimulating Target Antigenic Response To NSCLC (START), NCT01015443, und Stimuvax Trial in Asian NSCLC Patients: Stimulating Immune Response (INSPIRE), NCT00409188]. Zusammengefasst schließen die beiden Studien >1800 Patienten ein, die randomisiert in einem 2:1-Verhältnis entweder L-BLP25 oder Placebo erhalten. Hier werden 3 Tage vor Erhalt der ersten Impfdosis 300 mg/m<sup>2</sup> Cyclophosphamid i.v. verabreicht, gefolgt von einer wöchentlichen Dosis von 930 µg L-BLP25 über 8 Wochen. Die Erhaltungsdosis wird in einem 6-wöchigen Intervall verabreicht, bis ein Fortschreiten der Erkrankung zu verzeichnen ist.

### Belagenpumatucel-L

Belagenpumatucel-L ist ein allogener Tumorzellimpfstoff. Er beinhaltet 4 bestrahlte NSCLC-Zelllinien (H460, H520, SKLU-1 und RH2), die zusätzlich mit einem Transforming-growth-factor- $\beta$ 2(TGF- $\beta$ 2)-Antisense-Plasmid behandelt wurden, um eine abgeschwächte TGF- $\beta$ -Expression in den Zellen zu bewirken [12, 25, 26]. TGF- $\beta$  ist Mitglied einer Proteinfamilie und vermittelt durch Induktion verschiedener Signalkaskaden die Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Angiogenese. In einigen Tumoren ist TGF- $\beta$  mitverantwortlich für den „tumor immune escape“, u. a. durch eine Hemmung der Aktivierung zytotoxischer T-Zellen und der Umwandlung unreifer T-Zellen in T-regulatorische Zellen [27]. Im NSCLC konnte eine starke umgekehrte Korrelation zwischen erhöhter TGF- $\beta$ -Konzentration und Prognose belegt werden [12, 25, 26]. Die Kombination von 4 NSCLC-Zelllinien beruht auf der Datenlage, dass NSCLC-Zelllinien immunogene Epitope mit primären Tumorzellen teilen und dass durch die Mischung von 4 dieser Zelllinien eine erhöhte Tumorantigenkonzentration erreicht wird. Zusätzlich verhindert die abgeschwächte

# Hier steht eine Anzeige.



TGF- $\beta$ -Expression eine TGF- $\beta$ -vermittelte Immunsuppression [13, 25, 26].

In einer randomisierten, dosisvariablen Phase-II-Studie an 75 NSCLC-Patienten in Stadium II, IIIA, IIIB und IV wurde je eine von 3 Dosen Belagenpumatucel-L ( $1,25 \cdot 10^7$ ,  $2,5 \cdot 10^7$  oder  $5 \cdot 10^7$  Zellen) intradermal monatlich oder monatlich alternierend verabreicht [25, 26]. Das Maximum lag bei einer 16-maligen Anwendung. Bei der Anzahl der vorausgegangenen Therapieschemata gab es keine Einschränkungen. Insgesamt befanden sich <20% der Patienten im frühen Stadium der Krankheit (n=14). Patienten mit Hochdosisimpfungen ( $\geq 2,5 \cdot 10^7$  Zellen pro Injektion, p=0,0069) zeigten ein signifikant verbessertes Gesamtüberleben im Vergleich zur Gruppe mit niedriger dosierter Therapie. Im Vergleich zu Patienten mit Fortschreiten der Erkrankung zeigten auf die Therapie ansprechende Patienten eine vermehrte Produktion von Zytokinen, v. a. von Interferon- $\gamma$  und Interleukin-6, sowie eine gesteigerte antikörpervermittelte Antwort auf das Impf-HLA-Antigen. Insgesamt wurde Belagenpumatucel-L gut toleriert [26]. Eine zweite, kleinere Studie zeigte ein gleiches Ansprechen bei identischer Sicherheit [13, 25, 26].

In einer doppelblinden Phase-III-Studie [Survival, Tumor-free, Overall, and Progression-free (STOP), NCT00676507] wird nun evaluiert, ob Belagenpumatucel-L das Gesamtüberleben von NSCLC-Patienten in Stadium IIIA (T3, nur N2), IIIB und IV um mindestens 3 Monate verlängern kann (92 Tage). Eingeschlossen werden Patienten mit einem Ansprechen oder stabilen Krankheitsverlauf bei platinbasierter Erstlinienchemotherapie. Andere Chemotherapeutika oder Radiotherapien sind nicht zugelassen. In der behandelten Gruppe erhalten die Patienten 18-monatig eine intradermale Belagenpumatucel-L-Injektion, gefolgt von 2 Injektionen je vierteljährlich.

### Melanomassoziiertes Antigen A3

Das melanomassoziierte Antigen A3 (MAGE-A3), das zur Familie der *MAGE*-Gene gehört, ist eines von zahlreichen tumorspezifischen Antigenen [28]. In gesundem Gewebe findet sich eine physiolo-

gische *MAGE*-Genexpression nur im placentaren Trophoblasten und den Keimzellen des männlichen Hodens; die Funktion ist unbekannt [13]. Auch diverse maligne Tumoren exprimieren dieses Gen, darunter bis zu 35–50% der NSCLC [28, 29]. Im NSCLC zeigte sich eine Assoziation der MAGE-A3-Expression mit dem histologischen Malignitätsgrad und einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium [13, 28, 29, 30, 31]. Die Tatsache, dass Epitope dieses Antigens von HLA-I+zytotoxischen T-Zellen erkannt werden, nutzte man bei der Entwicklung der Impfung [13].

Der MAGE-A3-proteinbasierte Impfstoff enthält ein rekombinantes Antigen mit Protein D, einem Lipoprotein der Oberfläche von *Haemophilus influenzae* Typ B, MAGE-A3-Protein und einem Polyhistidinschwanz. In einer Phase-II-Studie an 17 NSCLC-Patienten in Stadium I oder Stadium II, bei denen es keine Anhaltspunkte für Residuen oder Rezidive des primären Tumors nach dessen Resektion gab, wurden 4 Dosen MAGE-A3-Fusionsprotein allein oder in Kombination mit einer adjuvanten Chemotherapie in einem 3-Wochenintervall verabreicht [30]. Nur 3 von 9 Patienten zeigten einen moderaten, aber signifikanten Anstieg von Antikörpern gegen das rekombinante MAGE-A3-Protein [“enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA)]. Dahingegen zeigten 7 der 8 Patienten, die sowohl das Fusionsprotein als auch die adjuvante Chemotherapie erhielten, einen signifikanten Anstieg der Anti-MAGE-A3-Antikörper im Serum, was auf die Notwendigkeit eines Adjuvans zur Aktivierung der MAGE-A3-Impfung hindeutet. Booster-Impfungen und die Gabe eines Adjuvans ergaben eine wesentlich stärkere Antikörperantwort und ein breiteres Spektrum von CD4+ und CD8+ T-Zellen gegen MAGE-A3-Epitope in behandelten Patienten [13, 28, 29, 30, 31].

In einer anderen doppelblinden Phase-II-Studie wurden Patienten mit vollständig reseziertem NSCLC in Stadium IB oder II, die das MAGE-A3-Gen exprimierten (evaluiert mittels quantitativer Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion), nach einem 2:1-Verhältnis randomisiert [13]. Eine Gruppe erhielt post-

operativ 300  $\mu$ g MAGE-A3 i.m., die andere Gruppe Placebo. Die Impfung erfolgte >6 Wochen postoperativ mit je 5 Verabreichungen in einem 3-Wochenintervall (Induktionsphase), gefolgt von 8 Dosen alle 3 Monate (Erhaltungsphase). Die Zugabe anderer Adjuvanzien war nicht gestattet. Von 1089 untersuchten Patienten zeigten 363 eine MAGE-A3-Expression. Bei 182 Patienten der Behandlungsgruppe zeigte sich nach einem medianen Follow-up von 28 Monaten eine HR des krankheitsfreien Intervalls (primärer Endpunkt) von 0,74 (95%-KI: 0,44–1,20, p=0,107). Die HR für krankheitsfreies Überleben lag bei 0,73 (95%-KI: 0,45–1,16), die für das Gesamtüberleben bei 0,66 (95%-KI: 0,36–1,20). Dies ist ein Trend, aber kein statistisch signifikanter Vorteil gegenüber Placebo [13, 28, 29, 30, 31].

In einer anderen Studie konnte dagegen gezeigt werden [13], dass Patienten mit einem bestimmten Genprofil aus immunassoziierten Genen mit Bezug zum Tumormilieu stärker von der MAGE-A3-Impfung profitierten [13, 32]. Hier betrug die Reduktion des relativen Risikos für die Rezidiventstehung 25% in der nichtselektierten Gruppe (95%-KI: 0,46–1,23), in der Gruppe mit positivem Genprofil dagegen 43% (95%-KI: 0,25–1,34).

Eine laufende Phase-III-Studie [MAGE-A3 as Adjuvant NSCLC Immunotherapy (MAGRIT), NCT00480025] untersucht die Wirksamkeit der MAGE-A3-Impfung in Patienten mit vollständig reseziertem NSCLC in Stadium IB, II oder IIIA, die positiv für MAGE-A3 getestet wurden. In diese randomisierte, doppelblinde, multizentrische Studie mit 4 Gruppen sind >500 Patienten eingeschlossen, die in einem 2:1-Verhältnis die MAGE-A3-Impfung oder Placebo erhalten. Die Verabreichung erfolgt entweder unmittelbar nach der Operation oder nach Beendigung der adjuvanten Chemotherapie. Es ist möglich, nach Ermessen des behandelnden Arztes bis zu 4 Zyklen zu verabreichen. Alle 3 Wochen werden 5 Impfdosen verabreicht, gefolgt von 8 Dosen alle 12 Wochen. Das primäre Zielkriterium ist das krankheitsfreie Überleben nach vollständiger chirurgischer Sanierung. Ein weiteres Kri-

terium ist die Wirksamkeit in der Gesamtgruppe.

## Fazit für die Praxis

- Fortgeschrittene Bronchialkarzinome in den Stadien IIIB und IV sprechen kaum auf konventionelle Chemotherapien an. Die Prognose ist sehr schlecht.
- Zugleich gelten diese Karzinome aber unter den soliden Tumoren als Paradigma für personalisierte Therapieansätze, da in einem zunehmenden Teil onkogene Treibermutationen nachweisbar sind, die neue und effektive Therapien mit niedermolekularen, selektiven Inhibitoren ermöglichen.
- Die molekulargenetische Analytik gilt als wegweisend für die selektiven Therapien mit Tyrosinkinaseinhibitoren.
- Weitere Verbesserungen versprechen immuntherapeutische Ansätze, die sowohl Mechanismen des angeborenen wie auch des adaptiven Immunsystems nutzen.
- Auch bei immuntherapeutischen Ansätzen zeichnet sich ab, dass die molekulare Analytik des Tumorgewebes eine an den einzelnen Patienten angepasste Therapie basierend auf einem kausalen Verständnis der Immunmechanismen ermöglicht.

## Korrespondenzadresse



**Dr. A. Schultheis**  
Institut für Pathologie,  
CIO Köln Bonn,  
Universitätsklinikum Köln  
Kerpener Str. 62, 50937 Köln  
anne.schultheis@uk-koeln.de

**Interessenkonflikt.** Die korrespondierende Autorin gibt für sich und ihre Koautoren an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literatur

1. Macconail LE (2012) Advancing personalized cancer medicine in lung cancer. *Arch Pathol Lab Med* 136:1210–1216
2. Molina JR et al (2008) Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc* 83:584–594
3. Schiller JH et al (2002) Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 346:92–98
4. Sandler A et al (2006) Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 355:2542–2550
5. Shepherd FA et al (2005) Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 353:123–132
6. Mok TS et al (2009) Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 361:947–957
7. Rosell R et al (2009) Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 361:958–967
8. Kwak EL et al (2010) Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 363:1693–1703
9. Sequist LV et al (2011) Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med* 3:75ra26
10. Topalian SL, Weiner GJ, Pardoll DM (2011) Cancer immunotherapy comes of age. *J Clin Oncol* 29:4828–4836
11. Finn OJ (2008) Cancer immunology. *N Engl J Med* 358:2704–2715
12. Murala S et al (2010) Current status of immunotherapy for the treatment of lung cancer. *J Thorac Dis* 2:237–244
13. Thomas A, Hassan R (2012) Immunotherapies for non-small-cell lung cancer and mesothelioma. *Lancet Oncol* 13:e301–e310
14. Poschke I, Mougialakos D, Kiessling R (2011) Camouflage and sabotage: tumor escape from the immune system. *Cancer Immunol Immunother* 60:1161–1171
15. Reck M (2012) What future opportunities may immuno-oncology provide for improving the treatment of patients with lung cancer? *Ann Oncol* 23(Suppl 8):viii28–viii34
16. Topalian SL et al (2012) Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 366:2443–2454
17. Brahmer JR et al (2012) Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 366:2455–2465
18. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM (2012) Targeting the PD-1/B7-H1 (PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 24:207–212
19. Alegre ML, Frauwirth KA, Thompson CB (2001) T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nat Rev Immunol* 1:220–228
20. Spadaro M et al (2008) Lactoferrin, a major defense protein of innate immunity, is a novel maturation factor for human dendritic cells. *FASEB J* 22:2747–2757
21. Digumarti R et al (2011) A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study of oral talactoferrin in combination with carboplatin and paclitaxel in previously untreated locally advanced or metastatic non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 6:1098–1103
22. Hayes TG et al (2006) Phase I trial of oral talactoferrin alfa in refractory solid tumors. *Invest New Drugs* 24:233–240
23. Parikh PM et al (2011) Randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study of single-agent oral talactoferrin in patients with locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer that progressed after chemotherapy. *J Clin Oncol* 29:4129–4136
24. Butts C et al (2005) Randomized phase II trial of BLP25 liposome vaccine in stage IIIB and IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23:6674–6681
25. Nemunaitis J et al (2006) Phase II study of belagenpumatucel-L, a transforming growth factor beta-2 antisense gene-modified allogeneic tumor cell vaccine in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 24:4721–4730
26. Nemunaitis J et al (2009) Phase II trial of Belagenpumatucel-L, a TGF-beta2 antisense gene modified allogeneic tumor vaccine in advanced non small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Cancer Gene Ther* 16:620–624
27. Kong F et al (1999) Plasma transforming growth factor-beta1 level before radiotherapy correlates with long term outcome of patients with lung carcinoma. *Cancer* 86:1712–1719
28. Caballero OL, Chen YT (2009) Cancer/testis (CT) antigens: potential targets for immunotherapy. *Cancer Sci* 100:2014–2021
29. Bolli M et al (2002) Tissue microarray evaluation of Melanoma antigen E (MAGE) tumor-associated antigen expression: potential indications for specific immunotherapy and prognostic relevance in squamous cell lung carcinoma. *Ann Surg* 236:785–793
30. Atanackovic D et al (2008) Booster vaccination of cancer patients with MAGE-A3 protein reveals long-term immunological memory or tolerance depending on priming. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:1650–1655
31. Atanackovic D et al (2004) Vaccine-induced CD4+ T cell responses to MAGE-3 protein in lung cancer patients. *J Immunol* 172:3289–3296
32. Grah J et al (2008) Immunohistochemical expression of cancer/testis antigens (MAGE-A3/4, NY-ESO-1) in non-small cell lung cancer: the relationship with clinical-pathological features. *Coll Antropol* 32:731–736