

## VIII. Metastasiertes kastrationsresistentes Prostatakarzinom: Strategien zur Überwindung therapieassoziierter Resistenzen

Zur Verbesserung des Gesamtüberlebens von Patienten mit metastasiertem kastrationsresistentem Prostatakrebs (mCRPC) tragen verschiedene Hormon- und zytotoxische Therapien bei. Aber sowohl die Inhibition der adrenalen Steroidhormonsynthese als auch die Androgenrezeptor-Signalhemmung und Docetaxel in der Erstlinienchemotherapie verlieren über kurz oder lang ihre Wirkkraft. Ab dem Stadium der Kastrationsresistenz ist die Überlebenswahrscheinlichkeit auch bei initial gutem Therapieansprechen deutlich eingeschränkt. Neben der eher untergeordneten Rolle primärer Resistenzen sind im Therapieverlauf auftretende Resistenzen vielfach mit der Zweckentfremdung von physiologischen Prozessen verbunden, die den natürlichen Zellen Proliferation und Überleben sichern. Zur Eindämmung solcher vom Krebs vereinnahmter Prozesse sind aus einer Reihe von Pilotstudien vielversprechende Wege vorgezeichnet, die aber weit überwiegend ihr Potenzial erst im vorklinischen Forschungsbereich gezeigt haben.

### *Strategien zur Überwindung von Resistenzen gegen neue Hormontherapien*

In der Behandlung des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms stellt die Reaktivierung der Androgenrezeptor (AR)-Signalachse nach dem Versagen von Therapien zur Kontrolle der Serumtestosteronspiegel eine der hauptsächlichen Herausforderungen dar. In den Tumorzellen bindet der AR an tausende genomischer Loci und reguliert hunderte von Gen-Promotoren. Darunter sind Kofaktoren der Transkription einbezogen, die das Chromatin-Remodellierung und die Transkriptionsaktivierung hervorrufen. Insofern bieten sich dem Tumor hinreichende Möglichkeiten, an sich physiologische Prozesse trotz der neuen Therapien zur Blockierung der adrenalen Androgensynthese und des AR-Signalwegs mit Abirateron bzw. Enzalutamid zu seinem Vorteil umzumünzen.

### *Inhibition der Lipidkinase PIP5K1 $\alpha$*

Die Entwicklung und das Fortbestehen von fortgeschrittenem/kastrationsresistentem Prostatakrebs (CRPC) ist mit einer Vielzahl von Aspekten im Zusammenhang mit der AR-Signalübertragung verbunden (Aurilio et al., 2020). Die modifizierte Expression von Koaktivatoren und die damit verbundene anormale Transaktivierung der AR-Zielgene

ist ein Faktor mit besonderem Einfluss auf Invasivität und gesteigerte Wahrscheinlichkeit des Überlebens (Feldman & Feldman, 2001). In diesem Zusammenhang wurde die Lipidkinase Phosphatidylinositol-4-Phosphat-5-Kinase alpha (PIP5K1 $\alpha$ ) als maßgeblicher aktivierender Kofaktor der Transkription von AR-Zielgenen beschrieben, der mit Proliferation und Überleben von Prostatakrebszellen assoziiert ist (Semenas et al., 2014).

Die durch die PIP5K1 $\alpha$  vermittelte funktionelle Verlinkung des AR mit der Matrixmetalloproteinase 9/vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor (MMP9/VEGF)-Signalachse verleiht dem Androgenrezeptor die Rolle eines Schlüsselfaktors bei der Progression und Metastasierung von Prostatakrebs (PCa). Sowohl die MMP9 als auch der VEGF-Signalweg tragen entscheidend zur Vaskularisierung des Tumors und zur Invasion unter kastrationsresistenter Bedingung beitragen. In dieser Hinsicht wurden kooperative Mechanismen unter Einbeziehung der AR, der MMP9/VEGF-Signalachse und PIP5K1 $\alpha$ /AKT-Reaktionswegen nachgewiesen, die als Wegbereiter für Überleben und Tumordinvasion fungieren (Larsson et al., 2020).

Die PIP5K1 $\alpha$  fungiert als ein vorgelagerter Regulator des AR und seiner Zielgene wie der Zyklus-abhängigen Kinase 1 (CDK1) und MMP9. Beides sind Schlüsselfaktoren für die Förderung von Wachstum, Überleben und Invasivität von PCa-Zellen. Die funktionelle Beteiligung der PIP5K1 $\alpha$  an protumorigenen Mechanismen, macht die Lipidkinase zu einem vielversprechenden Ziel in der Krebstherapie; insbesondere zur

Behandlung von CRPC (Wang et al., 2022).

Durch Blockade der PIP5K1 $\alpha$ -Funktion mithilfe des kleinemolekularen PIP5K1 $\alpha$ -Inhibitors ISA-2011B ließen sich das Wachstum und die Invasivität von CRPC-Zellen unterdrücken. Der inhibitorische Effekt des Inhibitors hemmt kooperative Mechanismen, in die AR-, MMP9- und PIP5K1 $\alpha$ /AKT-Signalwege einbezogen sind, durch die Wachstum und Invasivität des Prostatakarzinoms mobilisiert werden (Larsson et al., 2020).

Für die Stabilität des PIP5K1 $\alpha$ -Proteins und seiner Regulierung der mRNA-Expression des AR ist die N-terminale Domäne der Lipidkinase entscheidend. Bei Mäusen mit xenotransplantiertem Tumor und gezielter Deletion der N-terminalen Domäne von PIP5K1 $\alpha$  war das Wachstum der Läsion im Vergleich zu Kontrollen mit PIP5K1 $\alpha$  im Wildtyp-Zustand erheblich reduziert (Abb. 1) (Wang et al., 2022).

Die Lipidkinase PIP5K1 $\alpha$  bildet mit der Androgenrezeptor-Spleißvariante-7 (AR-V7) Protein-Protein-Komplexe, die für AR-V7 stabilisierend sind und zur konstitutiven Aktivität des AR ohne C-terminale Ligandenbindungsdomäne beitragen. Zudem wurde gezeigt, dass die Signalwege der Zyklin-abhängigen Kinase 1 (CDK1) und des AR über die Lipidkinase PIP5K1 $\alpha$  miteinander verbunden sind. Im Metastasengewebe von Prostatakrebs-Patienten wurde eine hohe Expressionsrate an AR-V7 nachgewiesen, die mit erhöhter PIP5K1 $\alpha$ -Expression korrelierte. Mit dem PIP5K1 $\alpha$ -Inhibitor ISA-2011B ließen sich bei Mäusen mit AR-V7 überexprimierenden CRPC-Xenograft-Tumoren Wachstum und Proliferation signifikant supprimieren (Abb. 2). Hierdurch empfiehlt sich ISA-2011B in Kombination mit Enzalutamid als potenzielle Strategie zur Überwindung von Resistenz gegenüber Antiandrogen-Therapien bei CRPC-Patienten (Sarwar et al., 2016).

Aurilio G, Cimadamore A, Mazzucchelli R, et al. 2020. Androgen receptor signaling pathway in prostate cancer: From genetics to clinical applications. *Cells* 9: 2653.

Feldman BJ, Feldman D, 2001. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer* 1:34–45.

Larsson P, Syed Khaja AS, Semenas J, et al. 2020. The functional interlink between AR and MMP9/VEGF signaling axis is mediated through PIP5K1 $\alpha$ /pAKT in prostate cancer. *Int J Cancer* 146:1686–1699.

Sarwar M, Semenas J, Miftakhova R, et al. 2016. Targeted suppression of AR-V7 using PIP5K1 $\alpha$  inhibitor overcomes enzalutamide resistance in prostate cancer cells. *Oncotarget* 7:63065–63081.

Semenas J, Hedblom A, Miftakhova RR, et al. 2014. The role of PI3K/AKT-related PIP5K1 $\alpha$  and the discovery of its selective inhibitor for treatment of advanced prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: E3689–E3698.

Wang T, Sarwar M, Whitchurch JB, et al. 2022. PIP5K1 $\alpha$  is required for promoting tumor progression in castration-resistant prostate cancer. *Front Cell Dev Biol* 10: 2022.

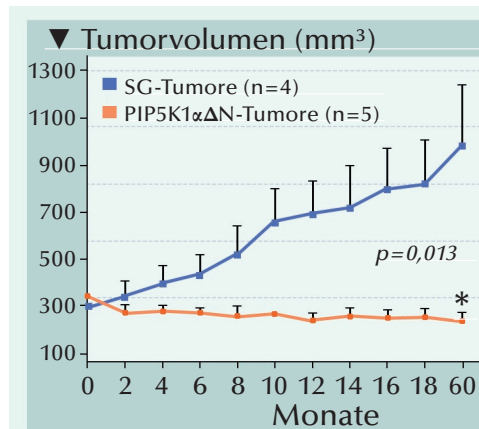


Abb. 1: Wachstum von xenotransplantierten Tumoren in Mäusen mit N-terminal deletierter PIP5K1 $\alpha$ ΔN. Xenograft-Tumore von SG-Zellen und PIP5K1 $\alpha$ ΔN-Zellen wurden in Nacktmäusen hergestellt (Wang et al., 2022).

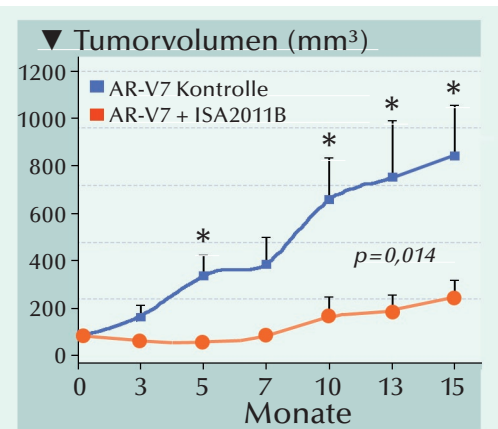


Abb. 2: Inhibitorischer Effekt des PIP5K1 $\alpha$ -Inhibitors ISA-2011B auf das In-vivo-Wachstum von 22Rv1 Xenograft-Tumoren mit erhöhter Expression von PIP5K1 $\alpha$  und AR-V7 (Sarwar et al., 2016).

### Antagonisten von Apoptose-Inhibitoren steigern das Therapieansprechen

Die routinemäßig eingesetzten Therapien für fortgeschrittenen Prostatakrebs wie Androgendepressionstherapie (ADT) und Chemotherapie sind Auslöser von zellulärem Stress und können hierdurch den intrinsischen Apoptoseweg aktivieren. Dabei ist der Erfolg allerdings relativ begrenzt. Als Ursache dafür wurden Apoptose-Inhibitoren (inhibitor of apoptosis protein, IAP) identifiziert. Das sind Regulatoren von Prozessen, die Überleben und Tod von Zellen regulieren. Zu dieser Familie gehörende Proteine sind im Prostatakrebs (PCa) häufig überexprimiert und beeinflussen über Chemoresistenz das Zellüberleben und sind Vermittler von Krankheitsprogression und ungünstiger Prognose (Silke & Meier, 2013).

Eine bedeutende Rolle bei der Regulierung des programmierten Zelltods kommt den Apoptoseregulatoren der Bcl-2-Proteinfamilie zu. Diese Proteine können grob in zwei Klassen eingeteilt werden, je nach proapoptotischer oder antiapoptotischer Wirkweise.

Das Erreichen von Krebszelltod durch Apoptose hängt vom Durchbrechen der Apoptoseschwelle ab. Dagegen führt die Hochregulierung antiapoptotischer Proteine der Bcl-2-Familie zu gesteigerter Tumorprogression durch Androgenunabhängigkeit und Behandlungsresistenz (Westaby et al., 2022). Als einem proapoptotischen Mitglied der Bcl-2-Familie kommt BID (Bcl-2 homology 3 [BH3] interacting domain death agonist) die Rolle als Effektor der kanonischen mitochondrialen Apoptose zu. Beim Empfang von Apoptosesignalen interagiert BID mit Bax, einem anderen Bcl-2-Protein. Das führt zur Einfügung von Bax in die Membran von Zellorganellen; bevorzugt in die äußere Mitochondrienmembran. Die Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran (MOMP) gehört zu zwei Me-

chanismen, über die es zur Aktivierung von Apoptose kommt. Insofern wurde dieser intrinsische mitochondriale Apoptoseweg auch als der Punkt bezeichnet, ab dem es für den Apoptose-Prozess kein Zurück mehr gibt, und der Zelltod unvermeidlich wird (Guilbaud & Galluzzi, 2023).

Apoptose vermeidende Strategien gelten auch als potenzielle Mechanismen der Resistenz gegenüber Inhibitoren der Androgenrezeptor-Achse. Vorklinischer Untersuchungen zur Effektivität der Enzalutamid-Behandlung mit oder ohne Zusatz des IAP-Antagonisten AEG40995 wurden unter Verwendung der PCa-Zelllinie LNCaP mit markanten androgenabhängigen Merkmalen und davon abstammenden C4-2-Zellen durchgeführt (Pilling et al., 2017). Mit dem IAP-Inhibitor AEG40995 wird das Caspase-vermittelte Apoptoseansprechen auf Enzalutamid durch Herbeiführen des TNF- $\alpha$ -Signalwegs erweitert. Das lässt darauf schließen, dass IAP-Antagonisten die Sensitivität auf das Caspase-vermittelte Apoptoseansprechen auf Enzalutamid intensivieren können. Mit der Strategie der Apoptose-Auslösung mittels kleinmolekularer IAP-Antagonisten wie AEG40995 lässt sich das Ansprechen auf Krebstherapien erhöhen. Insbesondere Xenotransplantate von CRPC-Patienten mit Resistenzen gegenüber konventioneller ADT, AR-Inhibitoren der neuen Generation oder Chemotherapie sind vorteilhaft zur Ermittlung effektiverer und spezifischerer Therapieoptionen (Wang et al., 2021).

Guilbaud E, Galluzzi L, 2023. Adaptation to MOMP drives cancer persistence. *Cell Res* 33:93–94.

Pilling AB, Hwang O, Boudreault A, et al. 2017. IAP antagonists enhance apoptotic response to enzalutamide in castration-resistant prostate cancer cells via autocrine TNF- $\alpha$  signaling. *Prostate* 77:866–877.

Silke J, Meier P, 2013. Inhibitor of apoptosis (IAP) proteins—modulators of cell death and inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5: a008730.

Wang Y, Chen J, Wu Z, et al. 2021. Mechanisms of enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer and therapeutic strategies to overcome it. *Br J Pharmacol* 178:239–261.

Westaby D, Jimenez-Vacas JM, Padilha A, et al. 2022. Targeting the intrinsic apoptosis pathway: A window of opportunity for prostate cancer. *Cancers (Basel)* 14: 51.

### *Supprimierung der AR-V7-Expression mit Niclosamid*

Präklinische Ergebnisse ließen erkennen, dass die Überexpression der Androgenrezeptor-Variante AR-V7 zur Resistenz gegenüber Abirateron beiträgt. Zugleich wurde nachgewiesen, dass AR-V7-Expression die Resistenz gegenüber Abirateron verleiht. Die Rolle der AR-V7 ist auch an der Kreuzresistenz von Enzalutamid-resistenten Prostatakrebszellen gegenüber Abirateron beteiligt. Wird die AR-V7-Expression in PRCA-Zellen mittels RNA-Interferenz unterdrückt, stellte sich die Sensitivität ge-

genüber Abirateron wieder ein. In vitro und im Maus-Xenograft-Modell ließ sich die Sensitivität gegenüber Abirateron durch Behandlung auch mit dem Molluski-zid und potentem AR-V7-Inhibitor Niclosamid zurückgewinnen. Danach sei die Entwicklung einer Kombination mit Abirateron und Niclosamid als potenzielle Behandlungsstrategie bei CRPC offenbar aussichtsreich (Liu et al., 2016). Nachfolgend wurden die Untersuchungen der Niclosamid-Inhibition auf Bicalutamid- und Enzalutamid-resistente Prostatakrebszellen ausgedehnt, die AR-Varianten – insbesondere AR-V7 – in signifikant erhöhtem Maße exprimieren. Nach AR-V7-Gen-Knockdown sprachen Bicalutamid- und/oder Enzalutamid-resistente Zellen auf beide Substanzen an. Bei Exposition solcher Zellen mit einer Kombination von Niclosamid und Bicalutamid, wird Enzalutamid-resistentes Tumorstadium inhibiert, so dass sich damit eine potenzielle Behandlungsstrategie für Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakrebs abzeichnet – einschließlich derer, die nicht auf eine Therapie mit Enzalutamid ansprechen Liu et al (2017).

Niclosamid ist einer der ersten in klinischen Prüfungen getesteten AR-V7-Inhibitoren. Das Molluski-zid ist ein gut bekannter mitochondrialer Entkoppler mit pleiotropen Effekten. Aus präklinischen Befunden lässt sich schließen, dass sich mit alleiniger Inhibition des AR-V7 die Fülle von Antitumor-Effekten von Niclosamid – entweder in alleiniger Anwendung oder in Kombination mit Abirateron oder Enzalutamid – nicht erklären lässt (Sakellakis, 2023).

Aus pharmakologischen Studien ging hervor, dass Niclosamid nur eine geringe Bioverfügbarkeit hat. Trotz dieser limitierenden Eigenschaft wurde eine Phase-1-Studie unternommen in der orales Niclosamid in Kombination mit Enzalutamid bei fünf Männern mit CRPC getestet wurde. Die orale Dosis konnte maximal bis auf 500 mg dreimal täglich hochtitriert werden. Bei keinem Patienten wurde ein PSA-Abfall festgestellt. Insofern wurde die Studie aufgrund von Aussichtslosigkeit abgebrochen. Die Aufmerksamkeit sollte sich der Entwicklung von Niclosamid-Analoga mit verbesserter oraler Bioverfügbarkeit und verstärkten Antitumoreffekten zuwenden (Schweizer et al., 2018).

Bei Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom wurden von einer folgenden Phase-1b-Studie mit reformuliertem Niclosamid (Niclosamid/PDMX1001) plus Abirateron und Prednison durch vorerst vielversprechende Indizien für Effektivität mit geringer Toxizität gemeldet. Obwohl eine Phase-1b-Studie nicht daraufhin ausgerichtet ist, Effektivität nachzuweisen, lässt die die Untersuchung erkennen, dass die Kombination von PDMX1001/Niclosamid, Abirateron und Prednison beim CRPC klinisch aktiv ist. Der Wirkmechanismus reformuliertem Niclosamid sollte bei Patienten mit CRPC weiter untersucht werden (Parikh et al., 2021).

Liu C, Armstrong C, Zhu Y, et al. 2016. Niclosamide enhances abiraterone treatment via inhibition of androgen receptor variants in castration resistant prostate cancer. *Oncotarget* 7:32210–32220.

Liu C, Armstrong CM, Lou W, et al. 2017. Niclosamide and bicalutamide combination treatment overcomes enzalutamide and bicalutamide resistant prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 16:(1521–1530).

Parikh M, Liu C, Wu CY, et al. 2021. Phase Ib trial of reformulated niclosamide with abiraterone/prednisone in men with castration-resistant prostate cancer. *Sci Rep* 11. 6377

Sakellakis M, 2023. Niclosamide in prostate cancer: An inhibitor of AR-V7, a mitochondrial uncoupler, or more? *Cancer Treat Res Commun* 35, 100685.

Schweizer MT, Haugk K, McKiernan JS, et al. 2018. A phase I study of niclosamide in combination with enzalutamide in men with castration-resistant prostate cancer. *PLOS ONE* 13: e0202709.

### BET Bromodomänen-Inhibition

Die Bromodomäne und extraterminale Domäne (BET) ist eine Bromodomänen-Familie deren Proteine BRD2, BRD3, BRD4 und BRDT die Fähigkeit haben, sowohl in Histonen als auch in Nicht-Histon-Proteinen an acetylierte Lysinreste zu binden. Hierdurch sind sie in der Lage, epigenetische Informationen acetylierter Histone abzulesen, durch die die transkriptionelle Aktivität einer Vielzahl von Genen reguliert wird, die in die Pathogenese von Krebs eingebunden sind. Zudem sind sie maßgebliche Aktivatorer onkogener Netzwerke in zahlreichen Krebsentitäten. In dieser Funktion stellen BET-Proteine vielversprechende therapeutische Zielstrukturen auch bei metastasiertem kastrationsresistentem Prostatakrebs dar (Mandl et al., 2023; Wahli et al., 2023).

In präklinischen Studien mit CRPC-Zelllinien haben BET-Inhibitoren selbst bei als unheilbar eingestuften Subtypen eine bemerkenswerte antiproliferative Aktivität erkennen lassen. Allerdings war ihre Effektivität als Monotherapie aufgrund Behandlungsassoziierter Toxizität sehr beschränkt (Shorstova et al., 2021).

Mit dem Bromodomänen-Inhibitor JQ1 ließ sich in zur AR-Signaltransduktion befähigten CRPC-Zelllinien die Aktivität auf der AR-Achse durch Inhibition der Bromodomänen supprimieren. Darunter fällt die Induktion der TMPRSS2-ERG-Fusion und deren onkogene Aktivität. Mit dem kleinmolekularen BET Bromodomänen-Inhibitor JQ-1 wird die Interaktion zwischen BRD4 und der N-terminalen AR-Domäne unterbunden. Er verhindert ähnlich wie Enzalutamid, dass AR von den Zielgen-Loci rekrutiert werden. Allerdings war die BET Bromodomänen-Inhibition bei CRPC-Xenograft-Modellen effektiver als die direkte AR-Antagonisierung mit Enzalutamid (Assangani et al., 2014).

Zu den Resistenzen gegenüber Enzalutamid zählt auch das Vorliegen der AR-F877-Mutante, an der Enzalutamid anstatt als Antagonist als Agonist fungiert. Da der BET Bromodomänen-Inhibitor JQ-1 die Aktivierung des Wildtyp-AR durch Androgene inhibiert, testeten Coleman et al. (2016) den Inhibitor auch an F877L-ex-

primierenden CRPC-Xenograft-Modellen. Durch JQ-1 wurde die Aktivierung der AR-Mutante F877L durch Androgen oder Enzalutamid supprimiert. Das wirkte sich in vivo deutlich inhibierend auf das Wachstum der CRPC-Tumore mit der AR-Mutante F877L aus. Mit dieser Strategie könnte eine neue Kombinationstherapie für Patienten mit der AR-Mutanten F877L entwickelt werden (Coleman et al., 2016)

Der First-in-Class-Bromodomänen-Inhibitor Birabresib (MK-8628/OTX015) hat bei ausgewählten hämatologischen Tumoren klinische Aktivität. In einer Phase-Ib-Studie wurden Sicherheit, Effektivität und Pharmakokinetik von Birabresib bei Patienten mit soliden Tumoren (n=46) insbesondere kastrationsresistentem Prostatakrebs (n=26) bewertet. Bei hinreichend beherrschbaren Sicherheitsaspekten wurde bei drei Männern mit einem Nuclear-protein-in-testis (NUT)-Mittellinienkarzinom klinische Aktivität festgestellt (Lewin et al., 2018).

In Prostatakrebs-Modellen hatte die Inhibition der BET-Bromodomänen mit JQ1 eine verminderte PD-L1-Expression und eine abgeschwächte Progression zur Folge. Die mechanistische Untersuchung der BET-Bromodomänen-Inhibition ergab eine erhöhte Expression des MHC-Klasse-I-Komplexes und eine erhöhte Immunogenität der Tumorzellen. Genexpressionsanalysen ließen erkennen, dass die BET-Bromodomänen-Inhibition Immuncheckpoint-Moleküle und Netzwerke der Antigenprozessierung reguliert (Mao et al., 2019).

Assangani IA, Dommeti VL, Wang X, et al. 2014. Therapeutic targeting of BET bromodomain proteins in castration-resistant prostate cancer. *Nature* 510:278–282.

Coleman DJ, van Hook K, King CJ, et al. 2016. Cellular androgen content influences enzalutamide agonism of F877L mutant androgen receptor. *Oncotarget* 7:40690–40703.

Lewin J, Soria J-C, Stathis A, 2018. Phase Ib trial with birabresib, a small-molecule inhibitor of bromodomain and extraterminal proteins, in patients with selected advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 36:3007–3014.

Mandl A, Markowski MC, Carducci MA, Antonarakis ES, 2023. Role of bromodomain and extraterminal (BET) proteins in prostate cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 32:213–228.

Mao W, Ghasemzadeh A, Freeman Z, et al. 2019. Immunogenicity of prostate cancer is augmented by BET bromodomain inhibition. *J Immunother Cancer* 7, 277.

Shorstova T, William D, Foulkes WD, Michael Witcher M, 2021. Achieving clinical success with BET inhibitors as anti-cancer agents. *Br J Cancer* 124:1478–1490.

Wahi A, Manchanda N, Jain P, Jadhav HR, 2023. Targeting the epigenetic reader „BET“ as a therapeutic strategy for cancer. *Mol Cancer Ther* 16: 1521–1530.

### Autophagie-Modulation

Autophagozytose (Autophagie) ist ein im Zytoplasma ablaufender Prozess, bei dem fehlerbehaftete Bestandteile des Zytosols abgebaut werden. Dabei handelt es sich im Wesentlichen um Funktionen, die mit zellulärer Homöostase, Qualitätskontrolle, Fehlerbeseitigung, Wiederverwertung und letztlich der Überlebensfähig-

keit von Zellen verbunden sind. Andererseits besteht ein zwiespältiger Zusammenhang zwischen Autophagie und Apoptose. Bestimmte funktionelle Veränderungen im Autophagie-Kompartiment stehen mit Karzinogenese und Resistenz gegenüber Chemotherapien in Verbindung (Kroemer & Jäätelä, 2005). Dem proapoptischen Effekt bei Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran (MOMP; mitochondrial outer membrane permeabilization) der über die Freisetzung von Cytochrom c zum mitochondrialen Zelltod führt, wirkt die Autophagie der beschädigten Mitochondrien (Mitophagie) entgegen (Garrido et al., 2006). Andererseits können letale Signale, die unter Umständen von Autophagie-Vakuolen ausgehen, als ein Effektormechanismus für Zelltod fungieren (Kroemer & Jäätelä, 2005).

Als mögliche zytoprotektive Reaktion auf therapiebedingten Stress kann Autophagie der Effektivität von Krebsbehandlungen entgegenwirken (Melea et al. 2020; Ashrafizadeh et al. 2022). Insgesamt existiert allerdings eine kontroverse Diskussion darüber, ob Autophagie unter den Stressbedingungen einer Chemo- oder Strahlentherapie zur Tötung von Krebszellen führt, oder ihnen hilft, das Überleben zu sichern. Untersucht wurden solche Effekte bislang insbesondere an kastrationsresistenten Prostatakrebs (CRPC)-Zelllinien.

CRPC-Zellen können sich unter einer Androgendeprivationstherapie durch Autophagie eine Art Resistenz gegenüber Androgenrezeptor-Signalinhibitoren aneignen. In einer präklinischen Pilotstudie ließ sich das Wachstum orthotoper Maus-Xenograft-Tumore in vivo durch Kombination von Enzalutamid und einem Autophagie-Inhibitor (Clomipramin oder Chloroquin) signifikant reduzieren (Nguyen et al., 2014). Durch Inhibition von Autophagozytose ließ sich in Untersuchungen mit LNCaP-Prostatakrebszellen auch der Antitumor-Effekt von Abirateronacetat und Apalutamid signifikant verstärken (Mortezavi et al., 2019; Eberli et al., 2020).

Ein weiteres hauptsächliches Problem der Krebstherapie ist die Chemoresistenz, bei der auch Autophagie eine Rolle spielen kann. Bei Untersuchungen der Wirkungen zweier Autophagie-Aktivatoren (das Disaccharid Trehalose und der mTOR-Inhibitor Rapamycin) auf das Docetaxel-Ansprechen an den klassischen PCa-Zelllinien (LNCaP, PC3 und DU145) zeigten sich zwei deutlich unterschiedliche die Docetaxel-Sensitivität betreffende Reaktionsweisen. Effekte wie die Trehalose-induzierte Mitophagie sind eine entscheidende zelluläre Überlebensreaktion und Grundlage der Chemotherapie-Resistenz. Im Gegensatz dazu wird durch den Rapamycin-vermittelte Aktivierung von Autophagie ein Auslöser des Zelltods herbeigeführt und die Effektivität der Chemotherapie erhöht (Cristofani et al., 2018).

Bei Untersuchungen der Wirkweise von Autophagie bei Prostatakrebs standen insbesondere Funktionen

im Mittelpunkt des Interesses die einerseits Überlebensimpulse oder andererseits Todessignale vermitteln (Hashemi et al., 2023). In einem Experiment lag der Schwerpunkt auf der Tumorsuppressorfunktion der Autophagozytose. Dabei zeigte es sich, dass die Inaktivierung von Autophagozytose zur Stabilisierung von TWIST1, einem an der epithelial-mesenchymalen Transition (EMT) beteiligtem Faktor führt, und damit an der Invasivität von Prostatakrebs beteiligt ist (Shi et al., 2022). Ein weiteres Experiment enthüllt, dass die Induktion der überlebensfördernde Autophagozytose durch das die zirkuläre die Zellmigration induzierende Protein (circCEMIP bei Prostatakrebs zur Anoikis-Resistenz führen kann (Yu et al., 2022).

Ashrafizadeh M, Paskeh MDA, Mirzaei S, et al. 2022. Targeting autophagy in prostate cancer: preclinical and clinical evidence for therapeutic response. *J Exp Clin Cancer Res* 41:105.

Cristofani R, Marelli MM, Cicardi ME, et al., 2018. Dual role of autophagy on docetaxel-sensitivity in prostate cancer cells. *Cell Death Dis* 9: 889.

Eberli D, Kranzbühler B, Mortezavi A, et al. 2020. Apalutamide in combination with autophagy inhibitors improves treatment effects in prostate cancer cells. *Urol. Oncol Sem Orig Investig* 38:683.e19–683.e26.

Garrido C, Galluzzi L, Brunet M, et al. 2006. Mechanisms of cytochrome c release from mitochondria. *Cell Death Diff* 13:1423–1433.

Hashemi M, Zandieh MA, Talebi Y, et al. 2023. Paclitaxel and docetaxel resistance in prostate cancer: Molecular mechanisms and possible therapeutic strategies. *Biomed Pharmacother* 160, 114392.

Kroemer G, Jäätelä M, 2005. Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat Rev Cancer* 5:886–897.

Melea L, Vecchioa V, Liccardoa D, et al. 2020. The role of autophagy in resistance to targeted therapies. *Cancer Treat Rev* 88:102043.

Mortezavi A, Salemi S, Kranzbühler B, et al. 2019. Inhibition of autophagy significantly increases the antitumor effect of abiraterone in prostate cancer. *World J Urol* 37:351–358.

Nguyen HG, Yang JC, Kung H-J, et al. 2014. Targeting autophagy overcomes Enzalutamide resistance in castration-resistant prostate cancer cells and improves therapeutic response in a xenograft model. *Oncogene* 33:4521–4530.

Shi XY, Sun ZW, Jia DL, et al. 2022. Autophagy deficiency promotes lung metastasis of prostate cancer via stabilization of TWIST1 *Clin Transl Oncol* 24:1403–1412.

Yu Y, Song Y, Cheng L, et al. 2022. CircCEMIP promotes anoikis-resistance by enhancing protective autophagy in prostate cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res* 41:188.

### *Antitumor-Effekt der Kombination von Pyrrol-Imidazol-Polyamid mit alkylierender Substanz*

Bei der Behandlung von CRPC-Patienten mit Enzalutamid wurde eine vermehrte Glukokortikoid-Rezeptor (GR)-Expression mit unbefriedigendem Therapieansprechen assoziiert (Arora et al., 2013). Das wird auf die teilweise Übernahme der mittels Enzalutamid supprimierten Transaktivierungsfunktion des AR durch Interaktion des ligandaktivierten GR mit dem Androgen-Response-Element (ARE) zurückgeführt. Letzteres kann durch Herbeiführen von Konformationsveränderungen der DNA im ARE mit interferierenden kleinen

Molekülen wie Pyrrol-Imidazol-Polyamid (PIP) unterbunden werden. Diese Strategie wurde an Enzalutamid-resistenten Prostatakrebs-Zelllinien *in vitro* und an entsprechenden Xenograft-Modellen *in vivo* untersucht. Die Maßnahme erwies sich als vielversprechende Option zur Überwindung der durch GR-Überexpression bewirkten Enzalutamid-Resistenz (Kurmish et al., 2017).

Der Oktamer-Transkriptionsfaktoren OCT1 ist ein polyspezifischer Organo-Kation-Transporter, der als ein mit dem AR kooperierender Faktor fungiert und genomweit AR-Signale für das Prostatakrebs-Wachstum koordiniert. An den Enhancer/Promotor-Regionen der AR-DNA-Bindung unterstützt OKT1 die Androgen-Signaltransduktion. Untersuchungen im vorklinischen Bereich ergaben mit Pyrrol-Imidazol-Polyamiden (PIP), die sich im AR-Gen auf die OKT1-Bindungssequenz blockierend auswirken, eine erhebliche Supprimierung des Wachstums von CRPC-Modellen (Obinata et al., 2016).

Bifunktionelle Konjugate zyklischer Pyrrol-Imidazol-Polyamide mit Chlorambucil (ChB), einer zytostatisch wirksamen Substanz aus der Gruppe der Alkylantien, erkennen die Bindungssequenz von OCT1 und supprimieren die Expression onkogener Gene wie ACSL3 (Fettsäure-CoA-Ligase 3). Vorzugsweise haben sie weniger unerwünschte Begleiterscheinungen auf Nichtkrebszellen. Mit dem OCT1-PIP-ChB-Hybrid, das signifikante inhibitorische Effekte auf die Proliferation von Prostatakrebszellen ausübt, ließ sich das Wachstum von AR-positiven Prostatakrebszellen bei einer geringeren Konzentration spezifisch inhibieren. Bei *In-vivo*-Untersuchungen anhand eines Xenotransplant-CRPC-Modells mit der 22Rv1-Prostatakrebszelllinie, ließ sich das Tumorstadium mit OCT1-PIP-ChB im Vergleich zu einem Kontrollansatz signifikant, ohne offensichtliche Anzeichen unerwünschter Effekte reduzieren. Somit kann die Kombination von PIP mit ChB auf die Zellproliferation im Prostatakrebs und das kastrationsresistente Tumorstadium einen erheblichen inhibitorischen Effekt ausüben. Dies deutet auf eine potenzielle Rolle des mit einer alkylierenden Substanz modifizierten Pyrrol-Imidazol-Polyamids mit zytotoxischer Funktion hin (Funakoshi et al., 2022).

## AR-Phosphorylierung

Während der Prostatakrebsprogression sind insbesondere im kastrationsresistenten Stadium neben den Androgenliganden eine Reihe posttranskriptioneller Modifikationen des AR an der Regulierung von AR-Aktivitäten beteiligt. Dabei handelt es sich mehrheitlich um Phosphorylierungen des Rezeptormoleküls (Wen et al., 2020). Bislang wurden zumindest 19 Stellen im AR-Protein beschrieben, die mit einer Phosphatgruppe reagieren können. Von der AR-Phosphorylierung wird davon ausgegangen, dass sie die AR-Aktivität über die Modifizierung von Protein-Interaktionen verändert.

Eine der am häufigsten untersuchten Modifikationen des AR ist die Phosphorylierung des Serins an Position 81 (S81) des AR-Proteins. Diese reguliert die Proteinstabilität, die zelluläre Lokalisation und die Transaktivierung. Mit Pan-CDK-Inhibitoren lässt sich nicht nur die Aktivität von Proteinkinasen wie CDK1, CDK5 und CDK9 blockieren, sondern zugleich auch die AR-Phosphorylierung an S81 unterbinden. Das führt zur Degradierung des AR-Proteins in Prostatakrebszellen und weist auf ein weiteres Ziel zur Proliferationshemmung von Prostatakrebs hin (Hsu et al., 2011). Dieser Empfehlung folgen auch die Autoren einer weiteren Studie, die ermittelten, dass von CDK1 und CDK9 unterstütztes AR S81 im Prostatakrebs zu AR-vermittelter Transaktivierung führt (Gao et al., 2021).

Von den zur heterogenen Klasse der Chaperone (Anstandsdamen) gehörenden Hitzeschockproteine – wie insbesondere des Hsp90 – ist nicht nur die richtige Faltung des AR abhängig, sondern sie sind auch an der Stabilität des Rezeptors, dessen intrazellulärer Lokalisation und der androgenregulierten Transkription beteiligt (Hessenkemper & Baniahmad, 2012). Dabei sind die Phosphorylierung des Hsp90 und die Chaperonvermittelten Funktionen miteinander gekoppelt (Zhao et al., 2001). Ohne Ligandenbindung ist der AR in Abgeschiedenheit vom Zellkern in komplexierter Form mit Chaperonen im Zytoplasma sequestriert. Erst nach der Ligandenbindung wird ein nukleäres Importsignal zugänglich und der Rezeptor wird im Zellkern angereichert wo er an die DNA bindet, homodimerisiert und mit einer Gruppierung von Koregulatoren der Transkription interagiert. Diese umfassen Transkriptionsfaktoren und Komponenten des basalen Transkriptionsmechanismus (Koryakina et al., 2014).

Bei Prostatakrebspatienten ist der Androgenrezeptor auch unter einer Androgenprivationsstherapie vielfach aktiv. Das hängt mit der Aktivierung zellulärer Reaktionswege zusammen, die den AR trotz niedriger Androgenkonzentration stimulieren. In solchen Tumoren, ist oft der cAMP-abhängige Proteininkinase A (PKA)-Reaktionsweg aktiviert. Es besteht

Arora VK, Schenkein E, Murali R, et al. 2013. Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade. *Cell* 155:1309-1322.

Kurmish AA, Yang F, Welch TR, et al. 2017. A pyrrol-imidazole polyamide is active against enzalutamide-resistant prostate cancer. *Cancer Res* 77: 2207-2212.

Funakoshi D, Obinata D, Fujiwara K, et al. 2022. Antitumor effects of pyrrole-imidazole polyamide modified with alkylating agent on prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 623:9-16.

Obinata D, Takayama K, Fujiwara K, et al. 2016. Targeting Oct1 genomic function inhibits androgen receptor signaling and castration-resistant prostate cancer growth. *Oncogene* 49:6350-6358.

auch Synergie zwischen PKA und geringen Spiegeln an Androgen, die die Zellproliferation durch einen gestärkten Androgen-Signalweg erhöht und letztlich zur Kastrationsresistenz führt (Dagar et al., 2019). Für die PKA-Aktivierung ist die Phosphorylierung des Hitzeschockproteins (HSP90) erforderlich, das im Zytoplasma an den nicht mit einem Liganden gebundenen AR bindet und damit dessen Translokierung in den Zellkern verhindert. Ferner wurde nachgewiesen, dass die PKA-vermittelte Phosphorylierung des Thr89-Restes im HSP90-Protein den AR vom HSP90 freisetzt, was die Bindung des AR an HSP27 und dessen Migration in den Zellkern möglich macht. Die Substitution des Thr89 im HSP90 verhindert dessen Phosphorylierung durch PKA, mit der Folge, dass sich die AR-Transaktivierung und die zelluläre Proliferation erheblich reduzieren. Ferner ist die Transkription von AR-Zielgenen wie PSA, bei der Thr89-Variante des HSP90 ebenfalls verringert. Aus diesen Ergebnissen ließ sich erkennen, dass die Verwendung eines kleinmolekularen Inhibitors gegen den Thr89-Rest im Hsp90 zusammen mit den bestehenden Androgen-ablativen Therapien in der Behandlung von Prostatakrebspatienten effektiver sein könnte als alleiniger Androgenentzug (Dagar et al., 2019).

Der AR besitzt in seiner Ligandenbindungsdomäne ein Phosphorylierungsmotiv. Die Funktionsanalyse des AR in PC-3-Zellen ergaben, dass die ligandeninduzierte nukleäre Translokierung des AR und die Transaktivierung durch Phosphorylierung an Ser815 gestört sind. Der phosphorylierte AR supprimiert den onkogenen AKT-Signalweg und weist auf eine suppressive Funktion bei der Entwicklung von Prostatakrebs hin. Tatsächlich nimmt der Grad der AR-Phosphorylierung mit sich verschlechterndem Krebs in humanen Prostatae zunehmend ab (Yokobori et al., 2021).

**Dagar M, Pratibha J, Gunjan S, et al. 2019.** Phosphorylation of HSP90 by protein kinase A is essential for the nuclear translocation of androgen receptor. *J Biol Chem* 294:8699–8710.

**Gao XR T, Liang J, Wang LY, et al. 2021.** Phosphorylation of the androgen receptor at Ser81 is cosustained by CDK1 and CDK9 and leads to AR-mediated transactivation in prostate cancer. *Mol Oncol* 15:1901–1920.

**Hessenkemper W, Baniahmad A, 2012.** Chaperones for proper androgen action – a plethora of assistance to androgen receptor function. *Hormone. Mol Biol Clin Invest* 11:321–328.

**Hsu F-N, Chen M-C, Chiang M-C, et al. 2011.** Regulation of androgen receptor and prostate cancer growth by cyclin-dependent kinase 5. *J Biol Chem* 286:33141–33149.

**Koryakina Y, Ta HQ, Gioeli D, 2014.** Androgen receptor phosphorylation: biological context and functional consequences. *Endocr Relat Cancer* 21:T131–T145.

**Wen S, Niu Y, Huang H, 2020.** Posttranslational regulation of androgen dependent and independent androgen receptor activities in prostate cancer. *Asian J Urol* 7:203–218.

**Zhao Y-G, Gilmore R, Leone G, et al. 2001.** Hsp90 phosphorylation is linked to its chaperoning function. *J Biol Chem* 276:32822–32827.

**Yokobori K, Kawasaki Y, Sekine Y, et al. 2021.** Androgen receptor phosphorylated at Ser815: The expression and function in the prostate and tumor-derived cells. *Biochem Pharmacol* 194:114794.

## Strategien zur Überwindung von Docetaxel-Resistenz

Docetaxel war die erste Chemotherapie, die bei kastrationsresistentem Prostatakrebs (CRPC) mit einem Überlebensbenefit verbunden war. Bedauernswerterweise spricht ein erheblicher Anteil der CRPC-Patienten nicht auf die Taxan-basierte Therapie an, und letzten Endes entwickeln dann alle Patienten über kurz oder lang eine Docetaxel-Resistenz. Insofern war die Überwindung der Resistenz gegenüber Docetaxel eine Herausforderung, die seit dessen Begründung als Erstlinientherapie des metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinoms zu anhaltend intensiver Forschungstätigkeit.

Zur Überwindung der Docetaxel-Resistenz wurden bereits zahlreiche vielversprechende Ansätze verfolgt. Hierbei wurde ein tiefer gehendes Verständnis der Mechanismen von Wirkung und Resistenz gewonnen, das unter anderem zur Entwicklung weiterer Chemotherapieoptionen verholfen hat. Doch trotz zahlreicher Berichte zu Mechanismen der Taxan-Resistenz in präklinischen Modellen, gibt es nur sehr wenige klinische Studien mit durchwachsenem Erfolg, die sich in vivo an Patientengewebe der Wirkung von Taxanen gewidmet haben.

### Behebung ABCB1-vermittelter Docetaxel-Resistenz

Multidrug-Resistance-Proteine sind zu den ABC-Transportern gehörende ATP-bindende Transmembranproteine. Ihre Fähigkeit, Zytostatika aus Tumorzellen auszuschleusen, beeinträchtigt die Wirkung von Chemotherapien. Das P-Glykoprotein/ATP-bindende Kassetten Subfamilien B Mitglied 1 (ABCB1), ist ein Familienmitglied der ABC-Transporter. ABCB1 bindet hochaffin an Docetaxel und kann das Taxan aus Docetaxel-behandelten Tumorzellen erfolgreich wieder hinausbefördern. Insbesondere die Effektivität von Docetaxel, Mikrotubuli zu stabilisieren, ist geschmälert (Sekino & Teishima, 2020).

Bei Prostatakrebspatienten, die Träger varianter *ABCB1*-Genotypen sind, kann das negative Auswirkungen für die Behandlung mit Docetaxel haben. Die erhöhte Expression bestimmter *ABCB1*-Varianten wurde bei Prostatakrebs mit Docetaxel-Resistenz assoziiert (Sissung et al., 2008). Einzelnukleotid-Polymorphism in einer Reihe unterschiedlicher Gene – darunter rs1045642 im *ABCB1*-Gen – sind bei Docetaxel-behandelten Prostatakrebspatienten mit einer verkürzten Zeit bis zur Progression verbunden (Shiota et al., 2023).

Das Antimykotikum Itraconazol bindet fest an den nach innen gerichteten Abschnitt des ABCB1 und ver-

hindert dadurch den Transport von Docetaxel. Das führte zur Annahme, dass Itraconazol eine praktikable Methode sein könne, um Docetaxel-resistente Zellen zu resensibilisieren. Hiervon wird eine lebensverlängernde Wirkung von Docetaxel bei Männern mit metastasiertem kastrationsresistentem Prostatakrebs erwartet (Lima et al., 2022).

Zur Enträtselung des Mechanismus von erworbener Docetaxel-Resistenz auf vorklinischer Ebene, wurden Docetaxel-resistente Prostatakrebszellen, TaxR, von kastrationsresistenten C4-2B-Prostatakrebszellen, einer Zelllinie mit epithelartiger Morphologie, hergestellt. In diesen C4-2BTaxR-Zellen war die IC<sub>50</sub> für Docetaxel etwa 70-fach höher als in den parentalen C4-2B-Zellen. In den TaxR-Zellen zählte das *ABCB1* zu den am meisten hochregulierten Genen. Mit dem Knockdown der *ABCB1*-Expression durch seine spezifische shRNA oder einen Inhibitor wurden Docetaxel-resistente C4-2BTaxR-Zellen gegenüber der Behandlung mit Docetaxel durch Steigerung des Zelltods durch Apoptose resensibilisiert. Des Weiteren wurde mit Apigenin ein natürliches Produkt der Flavon-Familie gefunden, das die *ABCB1*-Expression inhibiert und Docetaxel-resistente Prostatakrebszellen gegenüber der Behandlung mit Docetaxel wieder ansprechbar macht (Zhu et al., 2013).

Nachdem gezeigt worden war, dass die Inhibition der *ABCB1*-Expression die erworbene Docetaxel-Resistenz in C4-2BTaxR-Zellen zu überwinden vermag (Zhu et al., 2013), wurde ermittelt, dass Bicalutamid und Enzalutamid die ABC-Transporteraktivität der ATP-bindenden Kasette durch Blockieren der *ABCB1*-Effluxaktivität inhibieren. Mit Bicalutamid reduzierte sich die *ABCB1*-Effluxaktivität um 40%, während mit Enzalutamid ~60% erreicht wurden. Sowohl Bicalutamid als auch Enzalutamid wirkten als Inhibitoren der *ABCB1*-ATPase. Bemerkenswerterweise reduzierten Bicalutamid und Enzalutamid die *ABCB1*-Effluxaktivität und desensibilisieren Docetaxel-resistente und Androgenrezeptor-negative DU145-Zellen. Mit der Kombination von Bicalutamid und Docetaxel wurde sowohl bei AR-positiven als auch AR-negativen Docetaxel-resistenten Xenograft-Modellen ein erheblicher Antitumoreffekt erzielt (Zhu et al., 2015).

In den resistenten Zellen war das P-Glykoprotein-kodierende Gen *ABCB1* deutlich hochreguliert und seine Überexpression spielte bei der Docetaxel-Resistenz des CRPC eine wesentliche Rolle. Wenn auf die Zytotoxizität von Gemcitabin getestet wurde, waren die Docetaxel-resistenten Zellen gegenüber dem Taxan-Zytostatikum unvermittelt sensitiv. Dies lässt auf eine zusätzliche phänotypische Transformation in den Docetaxel-resistenten Zellen schließen. Untersuchungen an Xenograft-Modellen ergaben, dass das Tumorstadium einer Kombination von sowohl Docetaxel-

sensitiven als auch Docetaxel-resistenten Zellen am nachhaltigsten blockiert war, wenn Docetaxel und Gemcitabin zusammen verabreicht wurden (Seo et al., 2020).

Weitere Untersuchungen befassten sich mit der Frage, ob zwischen Docetaxel und Cabazitaxel Kreuzresistenz besteht, und suchten nach potenziell zugrundeliegenden Mechanismen bei fortgeschrittenem Prostatakrebs. Dabei wurde erkannt, dass Docetaxel-Resistenz zur Kreuzresistenz mit Cabazitaxel führt. Ferner ließ sich zeigen, dass eine erhöhte *ABCB1*-Expression für die Kreuzresistenz mit Cabazitaxel bestimmend ist, und dass die Inhibition der *ABCB1*-Funktion mit dem kleinemolekularen Inhibitor Elacridar die Ansprechbarkeit Taxan-resistenter Zellen wiederherstellt (Lombard et al., 2017).

Lima TS, Souza LO, Iglesias-Gato D, et al. 2022. Itraconazole reverts *ABCB1*-mediated docetaxel resistance in prostate cancer. *Front Pharmacol* 13:869461.

Lombard AP, Liu C, Armstrong CM, et al. 2017. *ABCB1* mediates cabazitaxel-docetaxel cross-resistance in advanced prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 16:2257–2266.

Sekino Y, Teishima J, 2020. Molecular mechanisms of docetaxel resistance in prostate cancer. *Cancer Drug Resist* 3:676–685.

Seo HK, Lee S-J, Kwon W-A, Jeong K-C, 2020. Docetaxel-resistant prostate cancer cells become sensitive to gemcitabine due to the upregulation of *ABCB1*. *Prostate* 80:453–462.

Shiota M, Akamatsu S, Sekine Y, et al. 2023. Genetic variations predicting progression with docetaxel and novel androgen-receptor pathway inhibitors. *Cancer Sci* 114:1625–1634.

Sissung TM, Baum CE, Deeken J, et al., 2008. *ABCB1* genetic variation influences the toxicity and clinical outcome of patients with androgen independent prostate cancer treated with docetaxel. *Clin Cancer Res* 14:4543–4549.

Zhu Y, Liu C, Nadiminty N, et al. 2013. Inhibition of *ABCB1* expression overcomes acquired docetaxel resistance in prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 12:1829–1836.

Zhu Y, Liu C, Armstrong C, et al. 2015. Antiandrogens inhibit *ABCB1* efflux and ATPase activity and reverse docetaxel resistance in advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 21:4133–4142.

### Unterbinden des Zentrosom-Clusterings

Bei der zytotoxischen Behandlung des kastrationsresistenten mit Prostatakarzinoms ist Resistenz gegenüber Docetaxel letztendlich unvermeidlich. Dabei wurde das Versagen, die Krebszellen zu töten, mit Unregelmäßigkeiten bei der mitotischen Zellteilung in Verbindung gebracht. Zumindest im vorklinischen Bereich wurde mehrfach beschrieben, wie das Überwinden der Docetaxel-basierten Resistenz mit Kinesininhibitoren möglich ist.

In Zellen fungieren Zentrosomen als hauptsächliche Zentren der Mikrotubulus-Organisation. Die Zentralkörperchen werden für die fehlerfreie Zellteilung, die Zellmotilität und die Ziliogenese benötigt. Ihre Anzahl pro Zelle wird strengstens kontrolliert. Dabei findet die Duplizierung der Zentrosomen in jedem Zellzyklus nur einmal statt. Andererseits haben Krebszellen zumeist eine abweichende Anzahl Zentrosomen (Chan, 2011),



die mit chromosomaler Instabilität während der Tumorigenese zusammenhängt (Fukasawa, 2005). Nun sollten überzählige Zentrosome in Krebszellen zur Multipolarität des Spindelapparats führen und nicht lebensfähige Tochterzellen hervorbringen. Das wird von Krebszellen allerdings umgangen, indem Zentrosom-Cluster gebildet werden, die dann eine pseudobipolare mitotische Spindel bilden. Das Ergebnis sind lebensfähige Tochterzellen. Um das zu verhindern, wird nach Strategien geforscht, mit denen sich das Zentrosom-Clustering unterbinden lässt. Damit sollen Krebszellen mit einer vergrößerten Anzahl Zentrosomen in die Mitose-Katastrophe getrieben werden, ohne dass dabei normale Zellen in Mitleidenschaft gezogen werden. Solchen gesunden Zellen fehlt der am Clustern beteiligte Mechanismus. Insofern kann das Declustern der Zentrosomen als ein erfolgversprechender Ansatz gelten, um selektiv Zellen mit zusätzlichen Zentrosomen auszuschalten (Pannu et al., 2014).

Am Zentrosom-Clustering sind eine Reihe von Proteinen beteiligt, und wurden als Ziele für dessen Unterbindung ausgemacht: Poly-ADP-Ribose-Polymerase (PARP), KIFC1 (Mikrotubulus-bindendes Protein der Kinesin-14-Familie), das Hitzeschockprotein 70 (Hsp70), das kortikale Aktin-Zytoskelett, das APC/C-Aktivatorprotein CDH1 und das die Trennung der Spindelpole vermittelnde Eg5. Durch deren Inhibition wird beabsichtigt, mittels Declustering der Zentrosomen spezifisch die Hemmung des Tumorwachstums zu bewirken (Firdous et al., 2023).

Die Kinesin-ähnlichen Proteine KIF11 und KIFC1 interagieren mit den Mikrotubuli und sind darüber in Docetaxel-Resistenz involviert (Rath & Kozielski, 2012). KIF11 ist ein Motorprotein, das ATP hydrolysiert und sich entlang der Mikrotubulus-Filamente fortbewegt. KIF11 und KIFC1 sind an der Steuerung der bi-

polaren Spindelbildung und der Chromosomenstabilität beteiligt. Das Kinesin-ähnliche Protein KIF11 trennt die Spindelpole einer in Mitose begriffenen Zelle, indem es sich zu den Plus-Enden der Mikrotubuli fortbewegt (Sekino & Teishima, 2020). KIF11-Inhibitoren wie der Kinesin-Inhibitor Ispinesib und S-Trityl-L-Cystin haben bei Docetaxel-resistenten PCa-Zelllinien Antitumoraktivität. Das KIFC1 ist ein Motorprotein, das sich auf dem Mikrotubulus in Richtung des sogenannten Minus-Endes fortbewegt und beim Zentrosom-Clustering eine wichtige Rolle übernimmt (Wiltshire et al., 2010, Rath & Kozielski, 2012).

Mittels Immunhistochemie war mit PCa-Zelllinien indirekt nachgewiesen worden, dass KIFC1 mit einer ungünstigeren Prognose nach radikaler Prostatektomie oder nach Docetaxel-Behandlung verbunden sei (et al., 2017). In der Folge wurde in PCa-Zellen mit dem KIFC1-Inhibitor CW069 Apoptose induziert und damit die Docetaxel-Resistenz aufgehoben (Sekino et al., 2019).

Auch mit dem kleinmolekularen KIFC1-Inhibitor AZ82 lassen sich die Transkription und die Translation des Kinesins in PCa-Zellen erheblich supprimieren. Dazu inhibiert AZ82 in PCa-Zellen die KIFC1-Expression sowohl im Zytoplasma als auch im Zellkern. Die durch AZ82 verursachte Inhibition von KIFC1 ruft in PCa-Zellen über das Declustering überzähliger Zentrosomen eine multipolare Mitose hervor und senkt die Rate des Krebszellwachstums. Ferner bewirkt die KIFC1-Deletion durch verminderten Eintritt in den Zellzyklus den Zelltod durch Apoptose (Parvin et al., 2020).

Chan JY, 2011. A clinical overview of centrosome amplification in human cancers. *Int J Biol Sci* 7:1122–1144.

Firdous F, Raza HG, Chotana GA, et al. 2023. Centrosome clustering & chemotherapy. *Mini Rev Med Chem* 23:429–451.

Fukasawa K, 2005. Centrosome amplification, chromosome instability and cancer development. *Cancer Lett* 230:6–19.

Pannu V, Rida PCG, Celik B, et al. 2014. Centrosome-declustering drugs mediate a two-pronged attack on interphase and mitosis in supercentrosomal cancer cells. *Cell Death Dis* 5: e1538.

Parvin A, Hao S-L, Fu-Qing Tan F-Q, Yang W-X, 2020. Inhibition of kinesin motor protein KIFC1 by AZ82 induces multipolar mitosis and apoptosis in prostate cancer cell. *Gene* 15: 760:144989.

Rath O, Kozielski F, 2012. Kinesins and cancer. *Nat Rev Cancer* 12:527–39.

Sekino Y, Oue N, Shigematsu Y, et al. 2017. KIFC1 induces resistance to docetaxel and is associated with survival of patients with prostate cancer. *Urol Oncol* 35:31.e13–31.e20.

Sekino Y, Oue N, Koike Y, et al. 2019. KIFC1 inhibitor CW069 induces apoptosis and reverses resistance to docetaxel in prostate cancer. *J Clin Med* 8:225.

Sekino Y, Teishima J, 2020. Molecular mechanisms of docetaxel resistance in prostate cancer. *Cancer Drug Resist* 3:676–685.

Wiltshire C, Singh BL, Stockley J, et al. 2010. Docetaxel-resistant prostate cancer cells remain sensitive to S-trityl-L-cysteine-mediated Eg5 inhibition. *Mol Cancer Ther* 9:1730–1739.

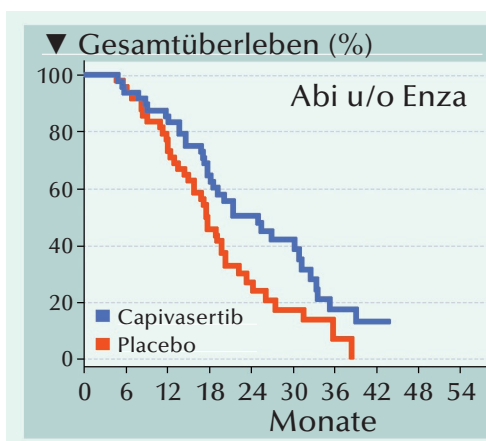


Abb. A: Gesamtüberleben eines Behandlungsarms, der vor der Aufnahme in ProCAID bereits mit Abirateron und/oder Enzalutamid (Abi u/o Enza) behandelt worden war (Crabb et al., 2022).

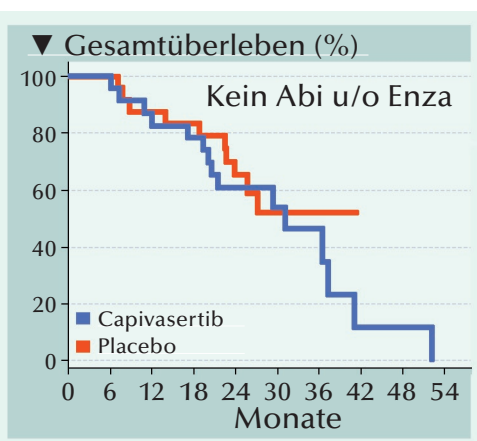


Abb. B: Gesamtüberleben eines Behandlungsarms, der vor der Aufnahme in ProCAID nicht mit Abirateron und/oder Enzalutamid (Abi u/o Enza) behandelt worden war (Crabb et al., 2022).

### PI3K/AKT/mTOR-Signalweg

Der PI3K/AKT/mTOR-Signalweg ist in eukaryontischen Zellen ein evolutionär hoch konserviertes Netzwerk der Signaltransduktion im Zusammenhang mit der Förderung von Zellüberleben, von Zellwachstum und dem Fortschreiten im Zellzyklus. Die PI3K/AKT/mTOR-Achse ist im Krebs der am häufigsten aktivierte Signalweg und ist vielfach in die Resistenzentwicklung von Krebstherapien involviert. Eine Dysfunktion von Komponenten dieses Reaktionswegs wie die Hyperaktivität der PI3K, der Funktionsverlust von PTEN und der Zugewinn an AKT-Funktionen sind berüchtigte Wegbereiter von Behandlungsresistenz und Krebsprogression (Glaviano et al., 2023).

Über den PI3K/AKT/mTOR-Signalweg werden extrazelluläre Signale an Zellen weitergeleitet, die in deren Überleben und Wachstum eingreifen. Phosphoryliertes Akt (pAKT) trägt zur Phosphorylierung verschiedener Proteine bei, die in der Plasmamembran, im Zellkern oder im Zytosol lokalisiert an Zellwachstum und Überleben mitwirken. In aggressiveren Formen von Prostatakrebs mit den Gleason-Graden von 8 bis 10 ist die Expression von pAKT hochreguliert, was auf die Inaktivierung von PTEN zurückgeführt wird (Malik et al., 2002).

Die für die Proteinkinasen B (PKB $\alpha$ - $\gamma$ ) kodierenden Gene *AKT(1-3)* stehen unmittelbar mit der AR-Signalachse in Verbindung. Dabei führt die Blockade des AR zur AKT-Aktivierung, und deutet auf eine reziproke Beziehung bei der Regulierung zwischen AKT und AR hin (Carver et al., 2011). Unter den Bedingungen der Androgensuppression erzeugte C4-2AT6 Zellen (eine kastrationsresistente Prostatakrebs Zelllinie mit epithelartiger Morphologie) hatte nach 6 Wochen in vivo und in vitro eine signifikant fortgeschrittene Resistenz gegenüber Docetaxel entwickelt. Bei langfristiger Behandlung mit Androgendeprivation und mit Docetaxel wird bei Patienten mit CRPC die pAKT-Expression bewirkt. Die Heraufregulierung von phosphoryliertem Akt unter Androgenablation und seiner weiteren Aktivierung durch Docetaxel ließen erkennen, dass der AKT-Reaktionsweg bei der Docetaxel-Resistenz eine Rolle spielt (Kosaka et al., 2011).

Die Möglichkeit der Inhibition des PI3K/AKT-Reaktionswegs beim CRPC legt dem die Rolle eines vielversprechenden therapeutischen Ziels nahe. Das auf PI3K wie auch mTOR inhibierend wirkende Dactolisib (NVP-BE235) wies an humanen Prostatazelllinien in vitro in vivo einen synergistischen Effekt mit zugleich verabreichtem Docetaxel auf (Yasumizu et al., 2014).

Aus weiteren präklinischen Daten geht hervor, dass ein anderer AKT-Inhibitor Capivasertib bei Patienten mit einer PI3KCA- und PTEN-Mutation einen synergistischen Effekt mit Docetaxel aufweist (Sekino & Teishi-

ma, 2020). Dieser selektive AKT-Inhibitor wird aktuell in einer Reihe Phase-III-Studien getestet. Mit ProCAID wurde eine klinische Studie der Phase I bei Prostatakrebs ins Leben gerufen (Crabb et al., 2017).

Bei mCRPC-Patienten wurde mit Capivasertib in der Kombination mit Docetaxel und Prednisolon keine Ausdehnung des progressionsfreien Überlebens erreicht. Dieses negative Ergebnis war vom Aktivierungsstatus des PI3K/AKT/PTEN-Reaktionswegs unabhängig. Indes beim Gesamtüberleben, dem zweiten Endpunkt der Studie, kam es zu einer statistisch signifikanten Verlängerung (Crabb et al., 2021). Zudem war in einer exploratorischen Analyse ersichtlich, dass der OS-Benefit bei einer Untergruppe Patienten erhalten blieb, die zuvor mit gegen den Androgenrezeptor gerichteten Substanzen wie Enzalutamid oder auch Abirateron behandelt worden waren (**Abb. A, B**) (Crabb et al., 2022).

Die Ergebnisse der ProCAID-Studie, einer weitgehend effektiven Interaktion zwischen Docetaxel und Capivasertib, ließen den Schluss zu, dass der Inhibitor die Antitumor-Effekte von Docetaxel verstärken kann, indem es bei Docetaxel-Persister-Zellen unabhängig vom PTEN-Status DNA-Schäden und Apoptose hervorruft. Die Behandlung von PTEN-Null-Zellen und Wildtyp-Docetaxel-Persisterzellen mit Capivasertib reduzierte die Aktivierung des PI3K/AKT-Reaktionswegs und die Zellzyklusprogression (Eberlein et al., 2024). ◀

Carver BS, Chapinski C, Wongvipat J, et al. 2011. Reciprocal feedback regulation of PI3K and androgen receptor signaling in PTEN-deficient prostate cancer. *Cancer Cell* 19:575–586.

Crabb SJ, Birtle AJ, Martin K, et al. 2017. ProCAID: a phase I clinical trial to combine the AKT inhibitor AZD5363 with docetaxel and prednisolone chemotherapy for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Invest N Drugs* 35:599–607.

Crabb SJ, Griffiths G, Marwood E, et al. 2021. Pan-AKT inhibitor capivasertib with docetaxel and prednisolone in metastatic castration-resistant prostate cancer: a randomized, placebo-controlled phase II trial (Pro-CAID). *J Clin Oncol* 39:190–201.

Crabb SJ, Griffiths G, Dunkley D, et al. 2022. Overall survival update for patients with metastatic castration-resistant prostate cancer treated with capivasertib and docetaxel in the phase 2 ProCAID clinical trial. *Eur Urol* 82:512–515.

Eberlein C, Williamson SC, Hopcroft L, et al. 2024. Capivasertib combines with docetaxel to enhance anti-tumour activity through inhibition of AKT-mediated survival mechanisms in prostate cancer. *Br J Cancer* <https://doi.org/10.1038/s41416-024-02614-w>.

Glaviano A, Foo ASC, Lam HY, et al. 2023. PI3K/AKT/mTOR signaling transduction pathway and targeted therapies in cancer. *Mol Cancer* 22: 138.

Kosaka T, Miyajima A, Shirotake S, et al. 2011. Long-term androgen ablation and docetaxel up-regulate phosphorylated Akt in castration resistant prostate cancer. *J Urol* 185:2376–2381.

Malik SN, Brattain M, Ghosh PM, et al. 2002. Immunohistochemical demonstration of phospho-Akt in high Gleason grade prostate cancer. *Clin Cancer Res* 8:1168–1171.

Sekino Y, Teishima J, 2020. Molecular mechanisms of docetaxel resistance in prostate cancer. *Cancer Drug Resist* 3:676–685.

Yasumizu Y, Miyajima A, Kosaka T, et al. 2014. Dual PI3K/mTOR inhibitor NVP-BE235 sensitizes docetaxel in castration resistant prostate cancer. *J Urol* 191:227–234.

Verfasser: Prof. Dr. Dr. Joachim F. Schindler