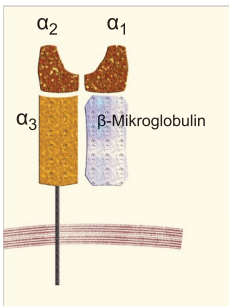


# Uro-Onkologie

## Immunologie des Prostatakarzinoms Immunüberwachung, Immunoediting und immuntherapeutische Ansätze



Entwicklung und Progression von Prostatakrebs – wie auch anderer Krebsentitäten – beruhen wesentlich darauf, dass sich neoplastische Zellen der Kontrolle durch das Immunsystem entziehen. In diesem Szenario spielen Entzündung und Infektion für malignitätsauslösende Ereignisse und dynamische Prozesse, die sowohl für die Eliminierung von Tumorzellen als auch für die Modulation des immunogenen Phänotyps von Tumoren verantwortlich sind, eine zentrale Rolle. Dabei stehen tumorförderliche Entzündungsprozesse und protektive Tumormunität gemäß dem Krebs-Immunoediting-Konzept in einem dynamischen Zusammenhang. Dieses Konzept beinhaltet unterschiedliche Phasen, in denen eine Vielzahl von Mechanismen dazu beitragen kann, dass es letztendlich zum Escape, d.h. trotz Immunkompetenz der Patienten zu unkontrolliertem Wachstum und zur Absiedelung von Metastasen kommt. Die Erforschung dieser Mechanismen hat bereits zur Entwicklung von Immuntherapien geführt, die das Immunsystem wieder in die Lage versetzen sollen, den Kampf gegen den Prostatakrebs aufzunehmen. Aufgrund positiver Ergebnisse aus Phase-III-Studien hat die amerikanische Arzneimittelbehörde Sipuleucel-T als ersten therapeutischen Impfstoff zur Behandlung des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms zugelassen [1-5].

### Immunologische Verbindung zu Entzündungsprozessen und Infektion

Entzündungen der Prostata haben vielfach eine sehr komplexe Ätiologie. Abgesehen von einer Minderheit der Fälle, in denen sich eine akute oder chronische bakterielle Infektion nachweisen lässt, wird deutlich häufiger ein Entzündungsgeschehen ohne nachweisbare Infektion beobachtet (chronische Prostatitis/chronisches Beckenbodenschmerzsyndrom [CP/CPPS]).

Zwischen entzündlichen Reaktionen in der Prostata und Krebsentstehung wurde anhand epidemiologischer Daten ein Zusammenhang hergestellt: Nach einer Prostatitis ist das spätere Risiko für Prostatakrebs erhöht.

Das akute Entzündungsgeschehen ruft zunächst das angeborene Immunsystem (Makrophagen, Monozyten, natürliche Killerzellen, T-Lymphozyten, neutrophile Granulozyten) auf den Plan. Häufig folgt eine erworbene (adaptive) Immunantwort zum Schutz vor Pathogenen und Krebs. Diese kann bei chro-

# Das Immunsystem schützt den Organismus vor Zerstörung durch Tumorzellen und „formt“ zugleich den Krebs durch Selektionsdruck

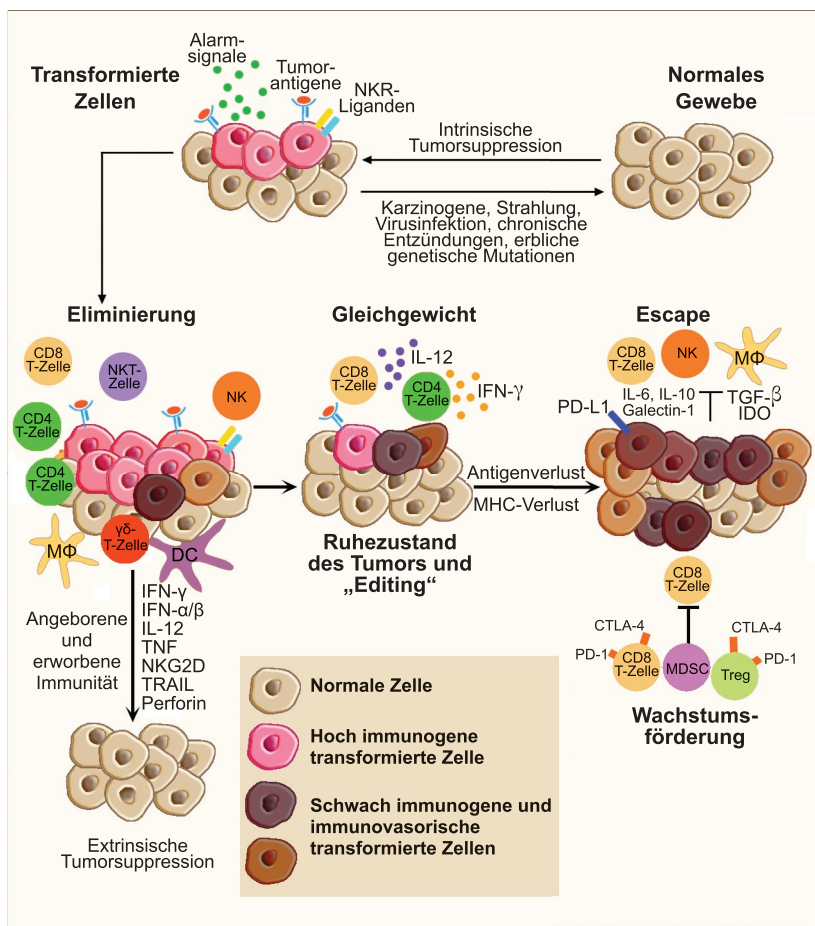
nischen Entzündungen aber auch eine wesentliche Rolle bei der Tumorigenese spielen. Als Reaktion auf die entzündliche Reaktion entsteht genotoxischer Stress und trägt zur Initiation von Krebszellen bei. Ferner fördert die angeregte Zellproliferation den Krebs und durch verstärkte Angiogenese und Gewebsinvasion wird die Krankheitsprogression beschleunigt [2].

Bei und Schreiber (2007) formulierten die These, wonach das tumorförderliche Entzündungsgeschehen und die protektive Tumorimmunität in einem dynamischen Zusammenhang stehen. Sie wetteifern um die Dominanz bei der Entstehung von Tumorzellen und allen Stadien der Entwicklung zur klinisch manifesten Krebserkrankung [6]. Seit Kurzem ist bekannt, dass Komponenten des Immunsystems mit pro-onkotischer Aktivität in bestimmten Stadien der Krebsentwicklung auch die Induktion von Tumorimmunität fördern können. In Tumor-Modellen bei Mäusen hatte der Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sowohl tumorförderliche als auch antitumoröse Aktivität [7].

In der Prostata finden sich häufig Viren wie humane Papillomaviren (HPV), Herpes Simplex Viren und Zytomegalievirus. Ob bzw. inwieweit Viren allerdings mit Prostatakrebs im Zusammenhang stehen, kann anhand diskrepanter Studienergebnisse nicht abschließend beurteilt werden.

In den letzten Jahren entstand eine Debatte über einen möglichen Zusammenhang zwischen dem neu entdeckten Gammaretrovirus *xenotropic murine leukemia virus-related virus* (XMRV) und Prostatakrebs. Amerikanische Untersucher fanden eine 40 %ige Prävalenz des XMRV im Prostatakrebsgewebe von Patienten, die Träger einer homozygoten R462Q-Mutation im RNaseL-Gen sind. Bei Vorliegen dieser Mutation ist die antivirale Abwehr durch Interferon Typ I gestört. Zugleich gilt diese Mutation als Suszeptibilitätsfaktor für Prostatakrebs. Andererseits stellt sich die Frage, ob die karzinogene Transformation das Prostataepithel anfällig für die Infektion mit XMRV macht, oder ob XMRV ein Prostatakrebs auslösendes Pathogen ist.

Hohn et al. (2009) untersuchten das Vorkommen XMRV-spezifischer Sequenzen in 589 Tumorproben von Prostatakrebs-Patienten der Charité in Berlin. Sie fanden bei den Männern mit unterschiedlichen Stadien der Krankheit keine Indizien einer Infektion mit XMRV. Die Untersucher schließen daraus auf eine möglicherweise beschränkte geo-



**Abb. 1: Krebs-Immunoediting:** Sofern intrinsische Tumorsuppressor-Mechanismen (DNA-Reparatur, Seneszenz, Apoptose) keinen Erfolg haben und es zur zellulären Transformation gekommen ist, greifen extrinsische Tumorsuppressor-Mechanismen ein. Nach dem Krebs-Immunoediting-Konzept führt der Weg zur klinisch manifesten Krebserkrankung durch drei Phasen:

**Eliminierungsphase:** Beim frühzeitigen Angriff auf transformierte Zellen wirken das angeborene und das erworbene Immunsystem zusammen.

**Gleichgewichtsphase (Equilibrium):** Vereinzelt entziehen konnten, werden in der Gleichgewichtsphase vom adaptiven Immunsystem daran gehindert auszuwachsen und unterliegen zugleich der „Formung“ ihrer Immunogenizität. Aus experimentellen Versuchen mit Mäusen ist bekannt, dass T-Lymphozyten und IFN- $\alpha$  als Effektoren an der Aufrechterhaltung des Gleichgewichts mitwirken.

**Escape-Phase:** Ständiger Selektionsdruck durch das Immunsystem kann zur Entstehung von Varianten führen, die vom Immunsystem nicht mehr erkannt werden, die den Effektoren der Immunabwehr widerstehen oder ein immunsuppressives Milieu schaffen. Zu den beteiligten Mechanismen zählen insbesondere eine fehlende oder unzureichende Antigen-Präsentation, eine vermehrte Bildung immunsuppressiver Substanzen, eine verstärkte Expression von Suppressor-Zellen, eine fehlende Aktivierung der T-Zell-Rezeptoren und eine verringerte Bildung von Überlebensfaktoren für B- und T-Lymphozyten.

MΦ = Makrophage; DC = Dendritische Zelle; IDO = Indolamin-2,3-Dioxygenase; IL = Interleukin; TNF = Tumornekrosefaktor; IFN = Interferon; NK = Natürliche Killerzelle; NKG2D = Immunrezeptor (wirkt als aktivierender Rezeptor auf Natürlichen Killer-Zellen); PD-L1 = programmed death 1 ligand; MDSC = Myeloid-derived suppressor cells; CTLA-4 = cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4; Treg = regulatorischer T-Lymphozyt (inhibiert andere T-Zellen zur Aufrechterhaltung immunologischer Toleranz) (adaptiert nach [1,2]).

## Im Immunoediting-Konzept werden diverse Einflüsse des Immunsystems auf Entstehung und Auswachsen von Tumoren berücksichtigt

graphische Verbreitung der Infektion mit XMRV [8].

### Immunoediting: Drei Phasen der immunologischen Krankheitskontrolle

Nachdem Paul Ehrlich bereits im Jahr 1909 Vorstellungen über den Schutz des Organismus vor neoplastischen Krankheiten entwickelt hatte, formulierten Burnet und Thomas 50 Jahre später formell die Hypothese der Immunüberwachung zur Abwehr von Krebserkrankungen. Danach erkennen und eliminieren Lymphozyten fortwährend neu entstehende transformierte Zellen. Obwohl die Überprüfung dieser Hypothese zunächst negative Ergebnisse lieferte, erfährt die Immunüberwachung im Rahmen einer erweiterten These – dem so genannten Immunoediting – heute eine Renaissance. Die aktuelle Vorstellung berücksichtigt, dass das Immunsystem zwar vor der Entstehung von Krebskrankheiten schützt, andererseits aber auch einen Selektionsdruck auf Tumorzellen ausübt und

so in genetischer Hinsicht eine „formende“ Wirkung entfaltet. Der duale Prozess verläuft in drei Phasen, die von Dunn et al. (2004) als die drei E des Immunoediting „getauft“ wurden: Eliminierung, Equilibrium und Escape (**Abb. 1**) [5].

In der **Eliminierungsphase** kommen angeborene und erworbene Immunreaktionen zur Anwendung. Als besonders schlagkräftig erweisen sich hierbei die T-Lymphozyten und die natürlichen Killerzellen. Ist deren mehrstufiger Einsatz erfolgreich, d.h. lassen sich sämtliche transformierten Zellen in statu nascendi ausmerzen, bleibt die Krankheit auf die höchstwahrscheinlich unentdeckt abgelaufene Eliminierungsphase beschränkt. Bei Prostatakrebs-Patienten haben sich dagegen einige Tumorzellen der Entdeckung und Vernichtung durch die Immunüberwachung entziehen können.

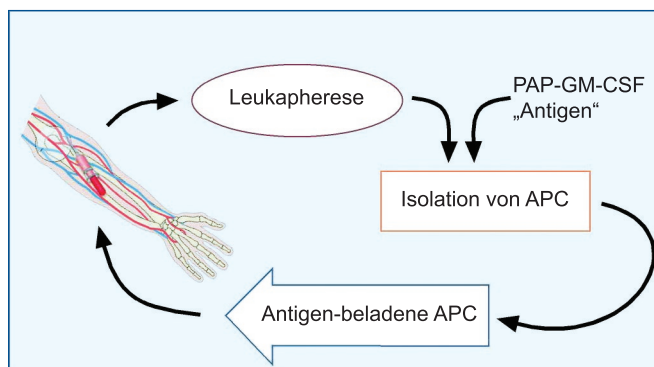
In der **Gleichgewichtsphase (Equilibrium)** herrscht Ausgewogenheit zwischen dem Wachstum von Tumorzellen, die der Eliminierung

entgangen sind, und der fortdauernden Zerstörung maligner Zellen durch das Immunsystem. Diese Phase kann sich über längere Zeiträume hinziehen und gibt den Tumorzellen Gelegenheit, sich genetisch weiter so zu verändern, dass dem Angriff des Immunsystems immer besser gewappnete Mutanten gegenüberstehen. Andererseits wird die Gleichgewichtsphase als mögliches stabiles Endstadium des Immunoediting-Prozesses postuliert, d.h. sie erstreckt sich dann über das gesamte restliche Leben des Wirtes, ohne dass es zur klinisch manifesten Krankheit kommt.

In der dritten, der **Escape-Phase** einer Prostatakrebs-Erkrankung proliferieren Tumorzellen ungehemmt. Diese Populationen bedienen sich verschiedener Mechanismen, mit denen sie sich der Entdeckung und Zerstörung durch das Immunsystem entziehen. Hierzu zählen insbesondere eine fehlende oder unzureichende Antigen-Präsentation, eine vermehrte Bildung immunsuppressiver Substanzen, eine verstärkte Expression von Suppressor-Zellen, eine fehlende Aktivierung der T-Zell-Rezeptoren und eine verringerte Bildung von Überlebensfaktoren für B- und T-Lymphozyten.

### Nichterkennen neoplastischer Zellen

Bevor neoplastische Zellen vom Immunsystem eliminiert werden können, müssen sie sich als solche zu erkennen geben. Hierbei spielt der Histokompatibilitätskomplex (HLA) der Klasse I eine essenzielle Rolle. Durch ihn werden den T-Lymphozyten zelleigene Antigene (Proteinfragmente in Peptidlänge) präsentiert, die der Immunabwehr sozusagen als Identitätsnachweis dienen. Erkennen diese die Antigene als eigen, werden sie toleriert und eine Immunreaktion bleibt



**Abb. 2:** Schematische Darstellung der Aufbereitung und Verabreichung des Immuntherapeutikums Sipuleucel-T: Autologe Androgen-präsentierende Zellen (APC) werden *ex vivo* mit einem Fusionsprotein bestehend aus Prostata-spezifischer saurer Phosphatase (PAP) und dem Granulozyten-Makrophagen-koloniestimulierenden Faktor (GM-CSF) inkubiert. Die körpereigenen Blutzellen werden den Patienten erstmals 40 Stunden nach der Inkubation als Suspension in Ringer-Laktat-Lösung infundiert.

aus. Krebszellen exprimieren Antigene, die sich von denen gleichartiger, nicht transformierter Zellen unterscheiden. Es handelt sich um Proteinprodukte mutierter Gene, anormal exprimierter Gene oder um Gene, die für virale Proteine kodieren. Solche Tumor-Antigene auf transformierten Zellen haben für Antigen-spezifische T-Zellen den „Geruch“ des Fremden, so dass eine spezifische Immunreaktion zur Zerstörung der Tumorzellen ausgelöst wird. Dieser Überwachungsmechanismus ist bei Prostatakrebs häufig gestört. Oft exprimieren die Tumorzellen in verringertem Maße HLA-Klasse-I-Antigene und entziehen sich hierdurch weitgehend der Fremderkennung durch Antigen-spezifische T-Lymphozyten.

**Immunsuppressiva**

**Interleukin (IL)-6** wirkt immunsuppressiv. Die Expression von IL-6 korreliert bei Prostatakrebs signifikant mit dem klinischen Stadium. Prostatakrebs-Patienten mit einem hohen IL-6-Spiegel haben dementsprechend eine verschlechterte Prognose.

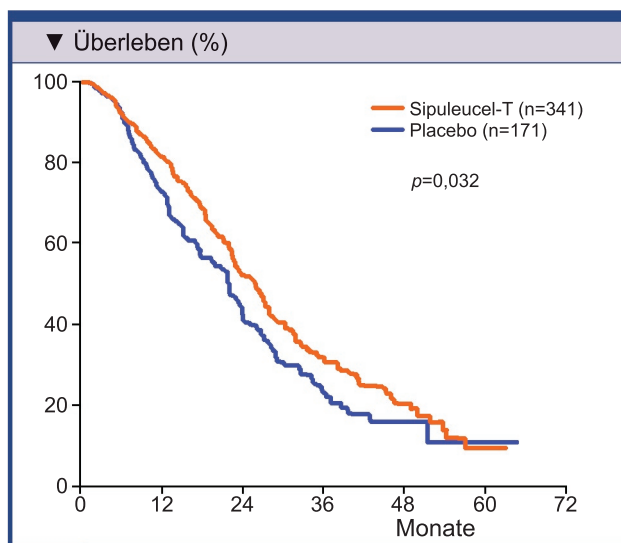
**Zyklooxygenase-2 (COX-2)** ist in der neoplastischen Prostata vielfach überexprimiert. Das aktivierte Enzym katalysiert die von Arachidonsäure zu Prostaglandinen und anderen Eikosanoiden führende Reaktion. Eine starke Expression von COX-2 in Prostatakarzinomen steht im Zusammenhang mit einem hohen Gleason Score und forciertem Neovaskularisation. Die Behandlung hu-

maner Prostatakrebs-Zelllinien mit einem COX-2-Inhibitor löst Apoptosen aus. Im Tierexperiment reduzierte sich nach Gabe eines COX-2-Inhibitors die Dichte der Kapillaren im Tumorgewebe und die Angiogenese geht stark zurück. Diese Effekte beruhen darauf, dass das Hypoxie-bedingte Hochregulieren des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors (VEGF) verhindert wird. Mit der Deprivation von VEGF wird der potenteste angiogenetische Faktor ausgeschaltet [9].

**Deprivation von B- und T-Zell-Überlebensfaktoren**

In der menschlichen Prostata finden sich intraepithelial und im Stroma unterschiedliche Lymphozyten-Populationen, die sich auch zu stromalen Lymphfollikeln mit einem Keimzentrum organisieren können. Hierdurch wird eine lokale Immunreaktion ermöglicht. Intraepithelial liegen hauptsächlich CD8<sup>+</sup> T-Lymphozyten, für deren Entwicklung, Aktivierung und Überlebensfähigkeit Zytokine wie Interleukin (IL) IL-7 und der aus der Familie der Tumornekrosefaktoren stammende B-Zell-Aktivierungsfaktor BAFF eine Rolle spielen. Da IL-7 und BAFF fundamentale Überlebensfaktoren für B- und T-Zellen darstellen, eröffnet ihre Fehlsteuerung transformierten Prostataepithelzellen möglicherweise einen Weg zum Immuno-Escape. Diesbezüglich wurde untersucht, inwieweit sich ihre Expression in der normalen und neoplastischen Prostata unterscheidet: In der immunhistochemischen Analyse zeigte sich eine erhebliche konstitutive Produktion von IL-7 und in geringerem Maße auch von BAFF durch das normale Prostataepithel. Hingegen war die Bildung der Zytokine in der neoplastischen Drüse dramatisch reduziert. Entsprechend wurde eine signifikant verringerte Population an intraepithelialen Lymphozyten und stromalen Lymphfollikeln beobachtet. Die verbliebenen Lymphozyten waren überwiegend CD8<sup>+</sup> ohne ter-

**Krebszellen überleben aufgrund immunologischer Toleranz trotz Immunkompetenz des Wirtes**



**Abb. 3:** Kaplan-Meier-Überlebenskurven von Patienten mit asymptomatischem oder minimal symptomatischem metastasiertem, kastrationsresistentem Prostatakrebs bei Behandlung mit Sipuleucel-T oder Placebo: In der Phase-III-Studie wurden insgesamt 512 Männer im Verhältnis 2:1 in einen Arm mit Sipuleucel-T-Behandlung und einen Placebo-Arm randomisiert. Das Mediane Überleben war im Sipuleucel-T-Arm um 4,1 Monate länger als im Placebo-Arm (nach [12]).

minale Differenzierung und kaum fähig, in neoplastisches Drüsengewebe einzudringen. Das bestätigt eine offenbar essenzielle Rolle für IL-7 und BAFF als Effektoren der Überlebensfähigkeit intra-prostatischer Lymphozyten und spricht für einen weiteren Tumor-Escape-Mechanismus [10].

### Erste marktreife Immuntherapeutika

Krebszellen überleben aufgrund immunologischer Toleranz. Die Patienten selbst sind nach wie vor immunkompetent. Das eröffnet die Möglichkeit für therapeutische Strategien zur „Wiederbelebung“ anti-neoplastischer Aktivität durch zytotoxische T-Lymphozyten. Gegenwärtig läuft eine Vielzahl immunologischer Studien, in denen differente Ansätze geprüft werden. Zwei Immuntherapeutika – darunter Sipuleucel-T (Provenge®) für Prostatakrebs – sind in den Vereinigten Staaten von der Food and Drug Administration (FDA) bereits zugelassen.

Sipuleucel-T besteht aus autologen dendritischen Zellen, die ex vivo mit dem Fusionsprotein (PA2024) bestehend aus Prostata-spezifischer saurer Phosphatase (PAP) und dem Granulozyten-Makrophagen-koloniestimulierenden Faktor (GM-CSF) inkubiert werden. Die körpereigenen Blutzellen werden den Patienten erstmals 40 Stunden nach der Inkubation als Suspension in Ringer-Laktat-Lösung infundiert (Abb. 2). Die behandelten Antigen-präsentierenden Zellen stimulieren T-Lymphozyten zur Vernichtung der prostatistischen Krebszellen.

Für die Zulassung von Sipuleucel-T zur Behandlung des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms war eine Placebo-kontrollierte Phase-III-Studie maßgebend, bei der das Immuntherapeutikum an Patienten mit metastasiertem kastrationsrefraktärem Prostatakrebs geprüft worden ist. Im Behandlungsarm (n=341) wurde eine um 4,1 Monate längere Überlebenszeit als im Placebo-Arm (n=171) erreicht (25,8 Monate vs. 21,7 Monate). Die relative Reduktion des Mortalitätsrisikos betrug im Vergleich zu Placebo 22 % (Abb. 3). Allerdings wurde die Zeit bis

zur Krankheitsprogression nicht verlängert [11]. Seit letztem Jahr ist Sipuleucel-T als Provenge® in den USA zur Behandlung des fortgeschrittenen/metastasierten Prostatakarzinoms zugelassen.

Ipilimumab (Vervoy) ist ein humaner Antikörper, der an CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) bindet. Diesem Antigen wird eine entscheidende Rolle bei der Regulation der Immunantwort beigemessen. Bei Fehlen von CTLA-4 wird eine gesteigerte T-Zell-Immunreaktion beobachtet. Dementsprechend wird erwartet, durch Komplexierung von CTLA-4 mit Ipilimumab einen aktiven Angriff der zytotoxischen T-Lymphozyten auf Krebszellen zu provozieren. Verschiedene klinische Prüfungen mit Ipilimumab zur Behandlung von metastasiertem, kastrationsrefraktärem Prostatakrebs, Melanomen und kleinzelligen Bronchialkarzinomen werden gegenwärtig durchgeführt.

Vorläufige Ergebnisse mit Ipilimumab aus der Mayo-Klinik ließen bei Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakrebs ein drastisches Schrumpfen des Tumors erkennen. Weitere positive Vorveröffentlichungen von laufenden Studien bedürfen allerdings noch der Bestätigung.

Ipilimumab wurde Anfang dieses Jahres von der FDA zur Second-line-Behandlung des fortgeschrittenen Melanoms zugelassen.

Kombinationstherapien mit zytotoxischen Substanzen und Immuntherapeutika sind ebenfalls in der Erprobung. Positive Ergebnisse wurden Cyclophosphamid und behandelten Dendritischen Zellen bei Patienten mit kastrationsrefraktärem Prostatakrebs berichtet [12].

### Fazit

Im letzten Jahrzehnt wurden große Fortschritte hinsichtlich eines vervollkommenen Verständnisses immunologischer Prozesse im Zusammenhang mit der Entstehung und Progression von Krebserkrankungen gemacht. Daraus resultierten bereits erste zunächst in den USA zugelassene Immuntherapeutika, die bei Prostatakrebs bzw. Melanomen ihre Wirksamkeit in Phase-III-Studien unter

Beweis gestellt haben. Im Krebs-Immunoediting-Konzept mit einem dreiphasigen Entwicklungsgang hin zum klinisch relevanten Krebs kommt die duale Rolle des Immunsystems bei Krebs zum Ausdruck. Darin wird sowohl den wirtsprotektiven als auch den tumorförderlichen Aktionen des Immunsystems Rechnung getragen. Mit der weiteren Aufklärung der molekularen und zellulären Mechanismen bei Eliminierung, Equilibrium und Escape erhofft man sich die Grundlage für verbesserte Immuntherapien gegen eine Reihe von Krebsarten schaffen zu können.

Prof. Dr. Dr. Joachim F. Schindler

### Literatur

- [1] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ, 2011. Cancer Immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 331: 1565-1570.
- [2] Grivnennikov SI, Greten R, Karin M, 2010. Immunity, inflammation and cancer. *Cell* 140: 883-899.
- [3] Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ, 2011. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* 29:235-71.
- [4] Rajarubendra N, Lewrentschuk N, Bolton DM, et al. 2010. Prostate cancer – an update for Urologists. *BJU Int* 107:1046-1051.
- [5] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD, 2004. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 22:329-360.
- [6] Bui JD, Schreiber RD, 2007. Cancer immunosurveillance, immunoediting and inflammation: independent or interdependent process? *Curr Opin Immunol* 19:203-208.
- [7] Cordero JB, Macagno JP, Stefanatos RK, et al. 2010. Oncogenic Ras diverts a host TNF tumor suppressor activity into tumor promoter. *Dev Cell* 18:999-1011.
- [8] Hohn O, Krause H, Barbarotto P, et al. 2009. Lack of evidence for xenotropic murine leukemia virus-related virus (XMRV) in German prostate cancer patients. *Retrovirology* 6:92.
- [9] Wang W, Bergh A, Damber J, 2005. Cyclooxygenase-2 expression correlates with local chronic inflammation and tumor neovascularization in human prostate cancer. *Clin Cancer Res* 11:3250-3256.
- [10] Di Carlo E, D'Antuono T, Pompa P, et al. 2009. The lack of epithelial interleukin-7 and BAFF/BLyS gene expression in prostate cancer as a possible mechanism of tumor escape from immunosurveillance. *Clin Cancer Res* 15:2979-2988.
- [11] Higano C, Schellhammer PF, Small EJ, et al. 2009. Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trials of active cellular immunotherapy with sipuleucel-T in advanced prostate cancer. *Cancer* 115:3670-3679.
- [12] Rozková D, Tiserová H, Fuciková, et al. 2009. FOCUS on FOCIS: combined chemoimmunotherapy for the treatment of hormone-refractory metastatic prostate cancer. *Clin Immunol* 131:1-10. R.