

Tumorangiogenese-Hemmung in der onkologischen Therapie

Heutiger Stand und offene Fragen

Die zielgerichtete, selektive Unterdrückung der Tumorangiogenese gewinnt zunehmend an Bedeutung in der Onkologie. Gegen 100 Moleküle mit antiangiogenetischer Wirkung waren oder sind in klinischer Prüfung. Obwohl die klinische Wirksamkeit in der Tumorbekämpfung anfänglich enttäuschte, kam es zu umfangreichen Folgearbeiten, die das Verständnis des Wirkprinzips dieser Substanzen vertieft haben. Zugleich wurden Fragen aufgeworfen hinsichtlich Zeitpunkt des Therapiebeginns, Behandlungsdauer, Kombinationstherapie, Langzeiteffekten und Resistenzbildung. Diese Arbeit zeigt Grundlagen sowie offene Fragen in klinischer Prüfung und Behandlung auf.

MARTIN ZWEIFEL UND CURZIO RÜEGG

Die Progression einer gesunden Zelle zu einer malignen transformierten Zelle und schliesslich zu einem Tumor bedingt, dass diese Zelle fortwährend proliferiert und sich den endogenen Kontrollen von Zellzyklus und DNA-Schäden, den Einflüssen von externen inhibitorischen Faktoren und schliesslich dem Zelltod entzieht. Dies geschieht durch die Aktivierung von Proto-Onkogenen zu Onkogenen (z.B. Ras), die Inaktivierung von Tumorsuppressor-Genen (z.B. p53) und die Hinaufregulierung von antiapoptotisch wirksamen (z.B. Bcl-2) und immortalisierenden (z.B. hTERT) Molekülen (1). In den vergangenen Jahren wurde jedoch klar, dass diese zellautonomen Ereignisse nicht genügen, um aus einer Tumorzelle einen klinisch manifesten Tumor entstehen zu lassen.

Tumorentwicklung erfordert Gefässneubildung

Ein Tumor benötigt für Wachstum, Invasion und Metastasierung «Unterstützung» seitens des normalen, ihn umgebenden Gewebes. Dieses Gewebe, welches auch als Tumorstroma bezeichnet wird, besteht im Wesentlichen aus Fibroblasten, infiltrierenden Entzündungszellen wie Monozyten/Makrophagen, Mastzellen, Lymphozyten, Blut- und lymphatischen Endothelzellen (2). Vor allem aber legt sich ein Tumor zur Versorgung mit Nährstoffen selber ein Gefässnetz an – ein Vorgang, der als tumorbedingte Gefässneubildung oder Tumorangiogenese bezeichnet wird.

Dies geschieht durch die tumorabhängige Expression von proangiogenetischen Proteinen, hauptsächlich Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (3). Bei fehlender Tumorangiogenese tritt der Tumor in einen Zustand des «Schlafes» ein, welcher durch ein Gleichgewicht zwischen Zellproliferation und -apoptose gekennzeichnet ist. Die Tumormasse kann sich dabei bei einem Volumen von wenigen Kubikmillimetern (entsprechend 10^5 bis 10^6 Zellen) über längere Zeit hinaus stabilisieren (4). Neben ihrer ernährenden Funktion erleichtern Tumorgefässe auch das Eindringen von Tumorzellen in den Blutkreislauf und tragen damit zur Entstehung von Fernmetastasen bei.

Angiogenese aus Vorläuferzellen

Bis vor kurzem war man der Ansicht, dass sich neue Blutgefässe nach der Geburt nur durch Proliferation und Migration von Endothelzellen aus bereits bestehenden Gefässen bilden können. Kürzlich konnte jedoch gezeigt werden, dass Vorläufer von Endothelzellen aus dem Knochenmark im Blut von gesunden Menschen und Tieren zirkulieren, ebenso bei Gewebeschämie und Krebs (5). Diese zirkulierenden Endothelzellen können sich am Ort der Angiogenese festsetzen und die Gefässneubildung unterstützen, vermutlich durch Differenzierung vor Ort zu reifen Endothelzellen. Diese neuen Erkenntnisse könnten weit reichende diagnostische und therapeutische Konsequenzen haben.

Therapeutische Hemmung der Tumorangiogenese

Die medikamentöse Unterdrückung der tumorbedingten Gefäßneubildung anstelle der direkten Zerstörung der Tumorzellen gewinnt zunehmend an Bedeutung als ein neuer Behandlungsansatz, um lokales Tumorwachstum und Metastasierung zu kontrollieren (6). Eine der Hoffnungen ist, dass die zielgerichtete Therapie gegen die im Vergleich zur Tumorzelle genetisch relativ stabile Endothelzelle die Rate therapieresistenter Tumoren vermindern könnte.

Zurzeit gibt es mehr als 250 Moleküle mit experimentell belegter antiangiogenetischer Aktivität; über 80 davon waren oder sind in klinischer Prüfung zur Behandlung von Krebskrankheiten. Diese Angiogenese-Hemmer werden aufgrund ihres Wirkprinzips in verschiedene Klassen eingeteilt (vgl. Tabelle). Interessant ist in diesem Zusammenhang das Konzept, dass Tumoren selber Angiogenese-Inhibitoren sezernieren können. In experimentellen Modellen führt die tumorbedingte Sekretion endogener Inhibitoren zu einer partiellen Hemmung des Metastasenwachstums. Sobald der Tumor chirurgisch entfernt wird, fällt diese Hemmung weg, und die Metastasen wachsen schneller.

Bevacizumab (Avastin[®], Genentech, Inc. und Roche), ein Antikörper gegen VEGF, ist das erste Medikament, das selektiv die Tumorangiogenese hemmt und die Lebenszeit der Patienten verlängert. Erste Hinweise darauf, dass Bevacizumab eine potente antitumorale Aktivität gegen Tumoren von Menschen haben könnte, stammen von einer Phase-II-Studie an Patienten mit einem metastasierten Nierenkarzinom. Dabei erreichten die Krebskranken, welche Bevacizumab erhielten, eine längere Zeit bis zur Tumorprogression als solche, welche Placebo einnahmen (7). In einer im Jahr 2004 publizierten Phase-III-Studie wurde gezeigt, dass Patienten mit fortgeschrittenem Kolorektalkarzinom, welche Bevacizumab (5 mg/kg alle zwei Wochen) in Kombination mit Irinotecan, Fluorouracil und Leukovorin erhielten, ein besseres objektives Ansprechen des Tumors, eine verlängerte Zeitdauer des Ansprechens, eine verlängerte Zeit bis zur Progression und eine signifikant verlängerte Gesamt-

Tabelle:
Die verschiedenen Klassen der Angiogenese-Hemmer

Inhibitor-Klasse	Wirkprinzip	Substanzen/Medikamente
VEGF-Antagonisten	Monoklonale Anti-VEGF-Antikörper	Bevacizumab (Avastin [®]); HuMV833
	VEGF-bindende Moleküle	sFlt-1; sFlk-1; sFlt-1/Flk-1
Wachstumsfaktoren (GF)-Antagonisten	Monoklonale Anti-VEGF-Rezeptor-2-Antikörper	IMC-1C11
	VEGF-Rezeptor-2-Tyrosin-Kinase-Inhibitoren	SU5416 (Semaxanib [®]); SU6668; PTK787/ZK2284; ZDK4190; ZD6474; SU11248
	PDGF-Rezeptor-Inhibitor	STI574 (Glivec); SU11248
Antagonisten der Zelladhäsion	Endothelin-Rezeptor (AT4) Inhibitor	GBC-590; ABT-627
	Monoklonale Anti- α V β 3-Antikörper	LM-609 (Vitaxin [®])
	α V β 3/ α V β 5-Antagonisten	EMD121974 (Cilengitide [®]); SCH221153; BCH-14661, BCH-15046
	α 5 β 1-Antagonist	M200 (Volociximab [®])
Signal-Transduktions-Inhibitoren	N-Cadherin-Antagonist	ADH-1 (Exherin [®])
	PKC-Inhibitoren	PKC-412; CGP 41251; Bryostatin-1; Ro 31-8220; Ro 32-0432
	Raf-Inhibitoren	BAY43-9006 (Sorafenib)
	MAPK-Inhibitoren	PD 98039
	mTOR-Inhibitoren	Rapamycin, RAD001 (Everolimus)
Antiinflammatorische Substanzen	Farnesyltransferase-Inhibitoren	R115777; L-778123; Sch-66336; L-744832; BMS-214662
	NSAR	Indomethacin; Aspirin; Sulindac
	COX-2-Inhibitoren	Celecoxib (Celebrex [®])
	PLA-A ₂ /COX-2-Suppressoren	Cortisol
Proteinase-Inhibitoren	Inhibitoren der Makrophagen-Aktivierung	Thalidomid
	MMP-Inhibitoren	Batimastat; BMS-275291; CGS-27023; COL-3; Neovastat; MMI-166
Zytotoxische Substanzen	Proapoptotische Faktoren	Tumor Necrosis Factor (Beromun [®])
	Tubulin-bindende Substanzen	Combrestatin A4; ZD6126, BMS 186527
Kombinierte Mechanismen	ATP-Synthase-Inhibitoren	Angiostatatin
	Inhibitoren der Endothelzell-Proliferation	TNP-470; Interleukin-12; IFN α
	HSP90-Inhibitor	Geldanamycin-Derivate (17-AAG)

überlebenszeit haben (8). Bevacizumab wurde daraufhin als erstes systemisches antiangiogenetisches Medikament zur Behandlung von Krebs beim Menschen von der FDA zugelassen und gehört mittlerweile zur Erstlinientherapie beim metastasierten Kolorektalkarzinom. Ähnliche Effekte zeigt Bevacizumab auch beim fortgeschrittenen nichtkleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC), beim Mamma- und Nierenzellkarzinom. Die Zulassung für die Behandlung dieser Krebserkrankungen wird erwartet. Verschiedene Angiogenese-Hemmer sind zurzeit in klinischer Prüfung (Phase II/III) bei Krebspatienten. Es handelt sich dabei vor allem um Blocker der Zell-Adhäsion (Cilengitide[®], Volociximab[®], Exherin[®]), VEGF-Rezeptor-2-Antagonisten

(IMC-1C11, PTK787/ZK2284), und Zell-Signaling-Inhibitoren (BAY43-9006/Sorafenib, PKC-412, RAD001/Everolimus) (siehe Tabelle).

Offene Fragen in klinischer Prüfung and Anwendung

Vor dem Durchbruch von Bevacizumab fielen die Evaluationen klinischer Studien vieler antiangiogenetischer Substanzen enttäuschend aus. Nach genaueren Analysen zeigte sich, dass mehrere Gründe dafür verantwortlich sein könnten. Obwohl Bevacizumab als der erste Substanzvertreter mittlerweile für die Klinik zugelassen ist, bleiben nach wie vor grundsätzliche Fragen in der Anwendung von Angiogenese-Hemmern unbeantwortet.

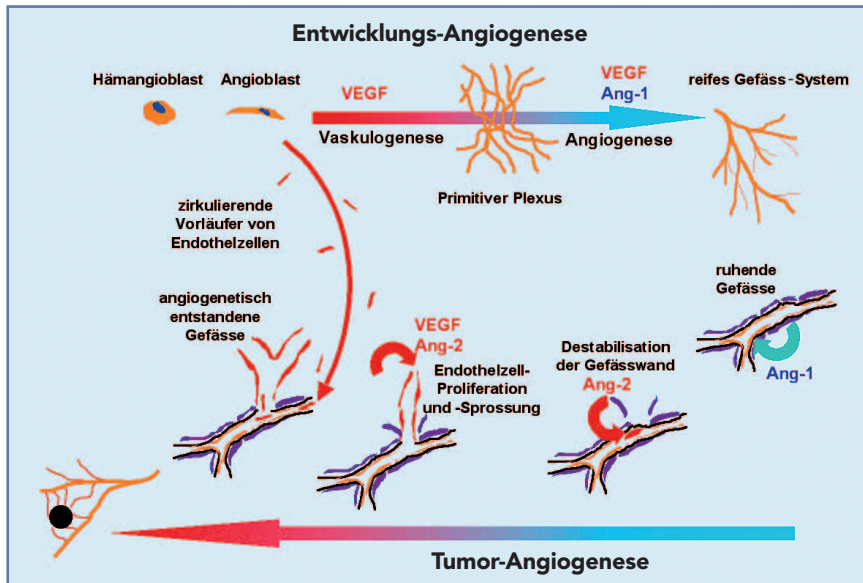


Abbildung: Normale Bildung neuer Blutgefäße und Tumor-induzierte Angiogenese: Unter dem Einfluss von Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) proliferieren und differenzieren sich Endothelzellen aus ihren Vorläufern (Hämangioblasten und Angioblasten) und bilden einen primitiven, wenig differenzierten Gefäßplexus (vaskulogenetische Etappe). Angiopoietin (Ang-1) induziert die Umformung des Gefäßplexus durch Teilung der Endothelzellen, selektiven Umbau und Anlagerung von Perizyten (Angiogenese), sodass ein hierarchisch gegliedertes, reifes Gefäß-System entsteht. Bei der tumorinduzierten Angiogenese destabilisiert Angiopoietin-2 (Ang-2) die Gefäßwände der reifen Blutgefäße und ermöglicht damit Proliferation und – unter Mitwirkung von VEGF und anderen angiogenetischen Faktoren – Auswanderung ruhender Endothelzellen, um neue Gefäße zu bilden. Vorläufer von Endothelzellen aus dem Knochenmark finden sich im peripheren Blut und am Ort der Angiogenese.

Zeitpunkt und Dauer der Behandlung

Viele antiangiogenetisch wirksame Medikamente wurden an Patienten getestet, bei denen jede vorgängige Therapie versagt hatte. Definitionsgemäss würde also jedes zugelassene Krebsmedikament in einer solchen klinischen Situation versagen. Zusätzlich ist zu bedenken, dass fortgeschrittene Tumoren schlecht vaskularisierte und weit gehend hypoxische und nekrotische Areale enthalten; ihr Wachstum ist daher weniger von einer tumorbedingten Gefäßneubildung abhängig als das weniger fortgeschrittener Tumoren. Aus diesem Grund wäre es wichtig, dass neue antiangiogenetisch wirksame Medikamente früher im Verlauf einer Krebserkrankung getestet werden könnten. Dazu würden sich insbesondere Tumoren eignen, welche sich in Form eines ersten Rezidivs (nach chirurgischer Entfernung des Primärtumors) manifestieren.

Ferner muss gefragt werden, inwieweit eine zusätzliche antiangiogenetische Therapie die Wirksamkeit einer neoadjuvanten (präoperativen) oder adjuvanten Behandlung verbessern kann.

Weiterhin ungewiss sind Behandlungsdauer und optimaler Dosierungszeitplan

der meisten antiangiogenetischen Therapien.

Optimale Medikamentenkombinationen

Viele antiangiogenetische Medikamente wurden als Einzelsubstanzen in klassischen Phase-II-Studien getestet. Wir berichteten aber schon früher, dass Verabreichung von Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) mittels isolierter Extremitätenperfusion (Isolated Limb Perfusion, ILP) nur dann eine antitumorale Wirkung zur Folge hat, wenn sie gleichzeitig mit einer Chemotherapie erfolgt (9). Die antitumorale Wirkung von Bevacizumab konnte ebenfalls – mit der bis jetzt einzigen Ausnahme des Nierenkarzinoms – erst in Kombination mit Chemotherapie gezeigt werden.

Für eine noch bessere antitumorale Wirksamkeit könnten zusätzlich zur Chemotherapie mehrere antiangiogenetisch wirksame Medikamente kombiniert werden. Beispielsweise hat die Inhibition des β -Rezeptors von PDGF die antiangiogenetische und antitumorale Wirkung der Inhibitoren von VEGF massiv verstärkt. Daher sollten klinische Onkologen neue Strategien zur Prüfung antiangiogene-

tisch wirksamer Medikamente als Erstlinien- und Kombinationstherapie erarbeiten. Da Tierversuche gezeigt haben, dass eine antiangiogenetische Behandlung die Wirksamkeit einer Strahlentherapie massiv erhöht, sollte auch untersucht werden, ob antiangiogenetische Medikamente kombiniert mit Strahlentherapie, allein, prä- oder postoperativ, das Behandlungsergebnis verbessern.

Langzeiteffekte

Eine weitere Unbekannte ist die Frage nach den Langzeiteffekten einer antiangiogenetischen Therapie. Bis jetzt sind die kurzzeitigen Erfahrungen mit Bevacizumab erfreulich: Die Toleranz war im Allgemeinen gut, ernsthafte unerwünschte Wirkungen und Komplikationen wie gastrointestinale Perforationen und Wundheilungsstörungen wurden nur in etwa 2 Prozent der Patienten beobachtet. Zusätzliche unerwünschte Wirkungen beinhalteten Bluthochdruck, thromboembolische Ereignisse, Blutungen und Proteinurie.

Resistenz gegen Angiogenese-Hemmer

Forschungsergebnisse von Tiermodellstudien zeigen allerdings, dass auch unter der Therapie mit Angiogenese-Hemmern eine Resistenzbildung auftreten kann. Dies zeigt sich im initialen Ansprechen des Tumors und anschliessender Tumorprogression trotz ununterbrochener antiangiogenetischer Therapie. Die Beobachtung, dass die meisten Patienten, die mit Bevacizumab behandelt werden (in Mono- oder Kombinationstherapie), doch an ihrem Krebsleiden sterben werden, weist schon darauf hin, dass das Resistenzphänomen auch beim Menschen relevant ist.

Der dafür verantwortliche Mechanismus scheint nicht in einer zunehmend schlechteren Blockade des VEGF-Rezeptors zu liegen, sondern in der Aktivierung anderer Systeme, welche die Tumorangiogenese stimulieren. In einer Studie am Tiermodell konnte eine zweite tumorbedingte angiogenetische Substanz, Fibroblast Growth Factor (FGF), identifiziert werden, welche in den Mechanismus der Resistenzentwicklung verwickelt sein könnte. Interessant erscheint die Tatsache, dass die Resistenzentwicklung

nur in fortgeschrittenen Tumoren beobachtet wurde, was zeigt, dass die VEGF-abhängige Gefässneubildung vor allem in der Frühphase des Tumorwachstums eine zentrale Bedeutung hat (10). Tumoren im Frühstadium sollten deshalb ebenfalls eine bessere Ansprechbarkeit auf eine VEGF-Blockade erwarten lassen.

Monitoring von Angiogenese und antiangiogenetischen Effekten

Die Wirksamkeit einer konventionellen Krebstherapie wird im Allgemeinen anhand der Änderung der Tumorgrosse (daraus folgt die Ansprechrate) und des Fortschreitens der Krankheit (daraus folgt die Zeit bis zur Progression und die Zeit bis zum Tod) gemessen. Die Ansprechrate ist jedoch ein ungenügender Endpunkt, um einen antiangiogenetischen Effekt zu messen, da der antitumorale Effekt eines antiangiogenetischen Medikamentes indirekter Natur ist.

Wenn es gelänge, den Effekt eines antiangiogenetischen Medikamentes auf die Tumorangiogenese bei einem Patienten zu bestimmen, würden Fragen nach der besten Dosierung, dem Verabreichungsschema, den besten Kombinationstherapien und der klinischen Entwicklung von antiangiogenetischen Behandlungsregimen leichter beantwortet werden können. Einige bildgebende Verfahren wie die Kontrast-verstärkte dynamische Nuklear-Magnetresonanz (CED-NMR), die Computertomografie (CED-CT) und die Positronen-Emissions-Tomografie (PET) bieten sich zur Messung der Perfusion und der vaskulären Permeabilität in Tumoren an, werden aber in der Klinik nicht routinemässig eingesetzt wegen ihrer hohen Kosten und ihres Bedarfs an Tracersubstanzen, Kontrastmitteln und geschultem Personal. Mehrere im Blut zirkulierende Moleküle wie VEGF-A, Matrix-Metalloproteinasen (MMP) oder lösliche VEGF-Rezeptoren wurden mit angiogenetischen Prozessen in Verbindung gebracht und in mehreren Krebserkrankungen erforscht. Obwohl erhöhte Spiegel einiger dieser Faktoren mit dem Vorliegen einer Tumorerkrankung, ihrem Stadium, ihrem Grad, ihrer Progression oder dem klinischen Verlauf korrelieren, erlaubt keine ein Monitoring einer antiangiogenetischen Therapie. Beobachtungen in präklinischen Studien zeigen,

dass die Zirkulation von aus dem Knochenmark stammenden endothelialen Vorläuferzellen (Circulating Endothelial Precursor Cells, CEP), welche zur Tumorgefässentstehung beitragen, von angiogenetischen Faktoren reguliert wird. Ferner korreliert sie mit dem Grad der sich abspielenden Angiogenese sowie ihrer Inhibition. Dies zeigt, dass die Messung der CEP als substitutiver Marker der Angiogenese nützlich sein könnte, um die antiangiogenetische Therapie von Patienten zu monitorisieren und anzupassen.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Im Gegensatz zur direkten, nichtselektiven Zerstörung der Tumorzellen gewinnt die zielgerichtete, selektive Unterdrückung der Tumorangiogenese zunehmend an Bedeutung. Mit dem besseren Verständnis des Wirkprinzips der Angiogenese-Hemmer bei der Tumorbekämpfung werden neue Fragen zum Therapie-regime, zu Langzeitwirkungen und zur Resistenzbildung aufgeworfen. Zusätzlich müssen neue Methoden zur Wirkungsmessung und zur klinischen Prüfung der antiangiogenetischen Medikamente gefunden werden. Dies bedingt auf der klinischen Seite vor allem einen grundlegenden Wandel in der Art, wie klinische Studien geplant, durchgeführt und ausgewertet werden, und auf der Forschungsseite die Identifikation und Validierung von biochemischen Markern zur Erfassung der antiangiogenetischen Wirkung während der Therapie. In unseren Labors werden zurzeit mehrere klinische und Grundlagenforschungsstudien mit dieser Zielsetzung durchgeführt.

Danksagung

Die Arbeiten unseres Labors werden unterstützt von

- ▲ dem National Center of Competence in Research (NCCR), Molecular Oncology, einem Forschungsinstrument des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung
- ▲ dem Fonds der Schweizerischen Krebsliga/Oncosuisse
- ▲ dem Schweizerischen Nationalfonds
- ▲ der Fondazione San Salvatore
- ▲ der Fondation Leenards

- ▲ der Fondation de la Banque Cantonale Vaudoise
- ▲ dem Roche-Forschungs-Fonds
- ▲ dem Novartis-Fonds
- ▲ der Medic-Foundation. ▲

Dr. med. Martin Zweifel
Prof. Dr. med. Curzio Ruegg*

(Korrespondenzadresse)

Institut Suisse de Recherche Expérimentale sur le Cancer (ISREC)

Chemin des Boveresses 155

1066 Epalinges

Tél. 021-692 58 53

E-Mail: curzio.ruegg@isrec.ch

Quellen:

1. Hanahan, D. and Weinberg, R.A.: The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100: 57-70.
2. De Wever, O. and Mareel, M.: Role of tissue stroma in cancer cell invasion. *J. Pathol.* 2003; 200: 429-447.
3. Carmeliet, P.: Angiogenesis in health and disease. *Nat. Med.* 2003; 9: 653-660.
4. Holmgren, L., O'Reilly, M.S., and Folkman, J.: Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat. Med.* 1995; 1: 149-153.
5. Rafii, S., Lyden, D., Benezra, R., Hattori, K., and Heissig, B.: Vascular and haematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? *Nat. Rev. Cancer.* 2002; 2: 826-835.
6. Ferrara, N. and Kerbel, R.S.: Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 2005; 438: 967-974.
7. Yang, J.C., Haworth, L., Sherry, R.M., Hwu, P., Schwartzentruber, D.J., Topalian, S.L., Steinberg, S.M., Chen, H.X., and Rosenberg, S.A.: A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 427-434.
8. Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W., Cartwright, T., Hainsworth, J., Heim, W., Berlin, J., Baron, A., Griffing, S., Holmgren, E. et al.: Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2335-2342.
9. Lejeune, F.J., Ruegg, C., and Lienard, D.: Clinical applications of TNF-alpha in cancer. *Curr. Opin. Immunol.* 1998; 10: 573-580.
10. Casanovas, O., Hicklin, D.J., Bergers, G., and Hanahan, D.: Drug resistance by evasion of antiangiogenic targeting of VEGF signaling in late-stage pancreatic islet tumors. *Cancer Cell.* 2005; 8: 299-309.

* Forschungsabteilung des Centre Pluridisciplinaire d'Oncologie (CePO), Fakultät für Biologie und Medizin, Universität Lausanne, Institut Suisse de Recherche Expérimentale sur le Cancer (ISREC), und National Center of Competence in Research (NCCR), Molecular Oncology