

Entwicklung therapeutischer Vakzinierungsmöglichkeiten für die Behandlung von Brust- und Eierstockkrebs

Brigitte Gückel

Wissenschaftliche Grundlagen

Brustkrebs gehört zu den häufigsten Tumorleiden, an dem in Deutschland jede 7.-10. Frau erkrankt. Trotz Früherkennung und guter adjuvanter Therapieregime tritt in ca. 30% der Fälle die Erkrankung zu einem späteren Zeitpunkt wieder auf. Eierstockkrebs (OvarialCa) ist das gynäkologische Malignom mit der höchsten Sterblichkeit, nicht zuletzt weil es aufgrund seines asymptomatischen Verlaufs oft erst in Spätstadien diagnostiziert wird. Für beide Krebsformen wird die gezielte Aktivierung des Immunsystems durch so genannte „Krebs-Vakzinen“ als potentiell hochspezifischer und systemischer Therapieansatz bewertet. Aktuelle Entwicklungen von „Krebs-Vakzinen“ basieren auf neuen Kenntnissen immunologischer Effektormechanismen und den wesentlich verbesserten Möglichkeiten, Immunantworten auf humoraler (Antikörper) und zellulärer (T-Zellen) Ebene zu analysieren. So weiß man, dass Tumore Antigene tragen, die aufgrund genetischer und epigenetischer Veränderungen im Verlauf der Krebsentwicklung neu ausgebildet werden und von T-Zellen als „fremd“ erkannt und angegriffen werden können. Initial wurden verschiedene manipulierte Tumorzellen selbst als "Antigenreservoir" gezüchtet und in der Klinik als Vakzinen erprobt. Neue Techniken zur genauen Charakterisierung tumorassoziierter Antigene, die die Zielstrukturen für "Killerzellen" (zytotoxische T-Zellen) oder Antikörper sind, bilden derzeit die Basis für neue Diagnostika oder innovative Therapieentwicklungen in Form peptidbasierter Vakzinen.

Ziele

Das Ziel unserer Arbeit ist es, innovative Therapieverfahren für Brust- und Ovarialkrebs zu entwickeln. Dazu möchten wir die spezifischen Strukturen identifizieren, die es den T-Zellen als Hauptakteuren des Immunsystems erlauben, die entartete Krebszelle von gesunden Zellen zu unterscheiden und zu bekämpfen. Weiter möchten wir lernen, wie durch die Applikation dieser Krebsantigene, z. B. in Form synthetischer Peptide in Kombination mit geeigneten Adjuvanzen, das Immunsystem der Patientinnen - ähnlich einer Impfung - gezielt aktiviert werden kann. Diese Fragen sollen in sorgfältig geplanten und kontrollierten klinischen Studien beantwortet werden, die neben der Beobachtung des klinischen Ansprechens auch Vakzine-abhängige Immunantworten genauestens analysieren.

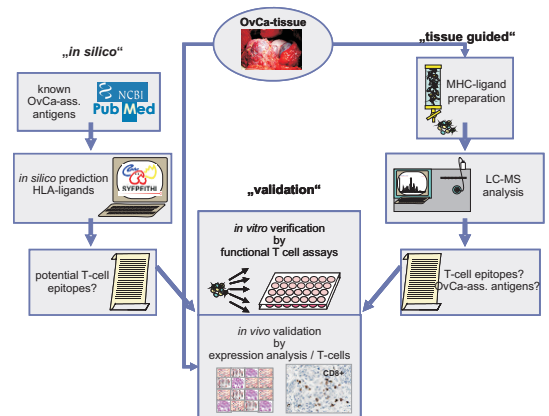


Abb. 1: „Flow-chart“ zur Charakterisierung neuer Tumor-assoziiierter Antigene. In den Aminosäuresequenzen bekannter OvarialCa-assoziiierter Antigene kann über Datenbanken (www.syfpeithi.de) nach HLA-Liganden gesucht werden („in silico-Ansatz“). Sie werden in T-Zell-basierten Tests als potentiell aktivierende T-Zellepitope untersucht. Aus Tumorproben selbst können HLA-Liganden isoliert und mittels massenspektrometrischer Analysen direkt charakterisiert werden.

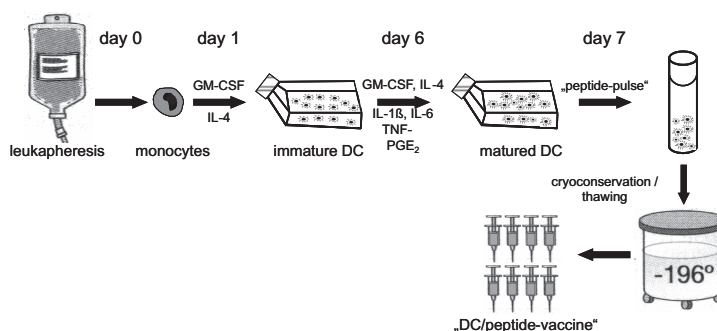


Abb. 2: Herstellung DC-basierter Vaccine: Dendritische Zellen (DCs), die auch „natures adjuvant“ genannt werden, können aus dem Blut mittels der Gabe diverser Zytokine differenziert und gereift werden. Ihre Beladung mit Tumor-assoziierten Antigenen in Form HLA-bindender Peptide erfolgt im reifen Zustand. Peptid-„gepulste“ DCs werden als zelluläre Vakzinen bereits in ersten klinischen Studien erprobt.

Strategie

Krebspezifische Antigene sollen mit Hilfe aktueller Methoden der Genomsequenzierung, der Mutationsanalyse und der massenspektrometrischen Peptidanalyse aus Brust- und Eierstockkrebszellen identifiziert werden. Um die Spezifität des Ansatzes zu gewährleisten wird überprüft, ob ein so gefundenes Kandidatenantigen tatsächlich nur bzw. hauptsächlich in Tumorgewebe vorkommt. Die Eignung eines Antigens als "Krebs-Vakzine" wird weiter validiert, indem es zunächst in Zellkultursystemen zur Aktivierung von T-Zellen herangezogen wird und deren Potential Tumorzellen abzutöten so überprüft werden kann. Ob ein neu identifiziertes Antigen tatsächlich therapeutisches Potential hat oder sich als Biomarker für die Diagnose oder Prognose eignet, kann nur in klinischen Studien beantwortet werden.

Development of immunotherapeutic vaccination strategies for the treatment of breast and ovarian cancer

Therapy of breast cancer has been improved considerably due to the development of target directed drugs. However, the results in metastatic disease are still unsatisfactory. In ovarian carcinoma resistance to chemotherapy is the main cause of therapeutic failure. Thus, additional therapeutical options are urgently needed such as peptide-based cancer vaccines. The purpose of our study is to find new tumor-associated antigens as well as corresponding T-cell epitopes in breast and ovarian cancer by combinations of HLA-ligand analysis (mass spectrometry) and expression profiling. Candidate epitopes were further validated by T-cell based functional assays. We identified many tumor-related antigens of potential therapeutical value, i.e. MHC class-I ligands derived from L1-CAM and HDAC (histone deacetylase), antigens already discussed as marker for poor prognosis in ovarian cancer. In this context a clinical trial was conducted to evaluate the safety and efficacy of dendritic cell (DC)-based vaccination of patients with metastatic breast cancer, particularly bone metastases. Mature DCs were pulsed with HLA-A*02-binding peptides derived from six shared breast cancer associated antigens, namely Her-2/neu, MUC-1, CEA, NY-ESO-1, MAGE-A1, and SSX-2 (represented by 14 different peptides identified as T-cell epitopes) to diminish the risk of tumor escape. Half of the patients tested developed T-cell respon-

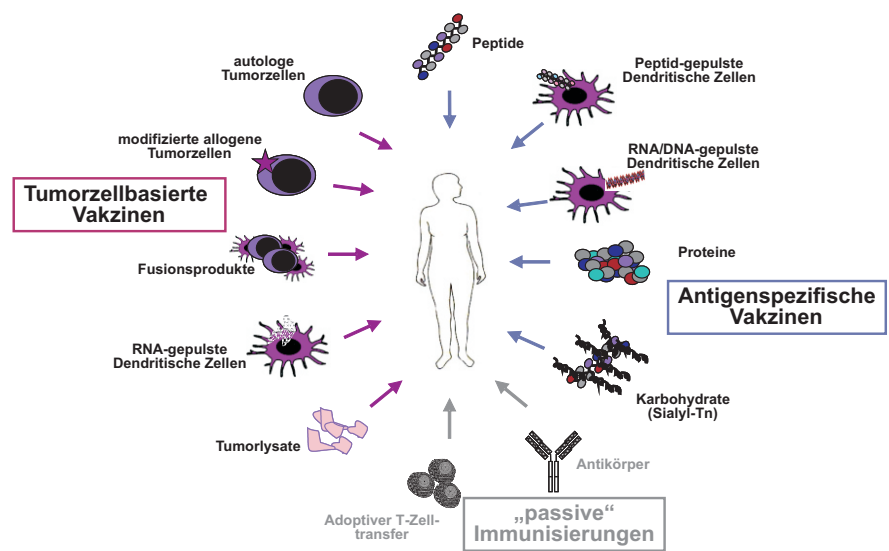


Abb. 3: Vakzinen können in „aktive“ (Tumorzellen-basierte und antigen-spezifische Vakzinen) oder „passive“ (adoptiver T-Zelltransfer) Immunisierungsstrategien unterteilt werden. Beim adoptiven T-Zelltransfer werden ex vivo aktivierte, immunkompetente Effektorzellen direkt appliziert. Zu den „passiven“ Immunisierungen wird die Applikation therapeutischer Antikörper gerechnet, obwohl eine ihrer Wirkungsweisen die Aktivierung zellulärer Immunantworten sein kann. Bei Antigen-definierten Vakzinen in Form von Proteinen, Peptiden, DNA oder RNA können Dendritische Zellen als „Fähren“ genutzt werden, da sie eine Schlüsselrolle in der T-Zellaktivierung spielen. Tumorzellen selbst können nach immunogenitätssteigernden Modifikationen als Antigenreservoir genutzt werden. Die autologe Tumorzellenvakzination hat heute in klinischen Studien kaum noch eine Bedeutung.

ses against antigens included in the vaccine as shown by enzyme-linked immunospot-assay. The treatment was well tolerated demonstrating that immunization strategies could be added to current standard therapeutical regimens such as the application of zoledronic acid and letrozol.

Projektleitung

PD Dr. Brigitte Gückel
Prof. Dr. med. Diethelm Wallwiener

Eberhard Karls Universität Tübingen
Frauenklinik
AG Tumorimmunologie/Immuntherapie
Calwerstraße 7
72076 Tübingen

Tel.: 0049/(0)7071/29 77626
Fax: 0049/(0)7071/29 5653

brigitte.gueckel@uni-tuebingen.de
diethelm.wallwiener@med.uni-tuebingen.de

www.universitaetsfrauenklinik-tuebingen.de/forschung/
forschungsschwerpunkte/
onkologie.html

