

Molekulare Pathogenese

Ihre Bedeutung für die zielgerichtete Therapie beim kolorektalen Karzinom

Das Konzept der zielgerichteten Therapie

Bei der Therapie des kolorektalen Karzinoms wird neben konventionellen Therapieansätzen auch der Ansatz der sog. zielgerichteten Therapie (targeted therapy) verfolgt. Zielgerichtete Therapien sind gezielt gegen molekulare Strukturen auf den Tumorzellen gerichtet und können das Tumorstadium hemmen, ohne normale Zellen zu schädigen. Bei Patienten mit fortgeschrittener Tumorerkrankung

kann durch den Einsatz solcher Therapien eine Chemotherapieresistenz durchbrochen und eine signifikante Lebensverlängerung erreicht werden [1, 5].

Wichtige Beispiele beim fortgeschrittenen kolorektalen Karzinom bereits zugelassener zielgerichteter Therapien ist der Einsatz von Bevacizumab, einem monoklonalen Antikörper gegen VEGF (vascular endothelial growth factor), oder von Cetuximab bzw. Panitumumab, die beide gegen EGFR (epidermal growth factor receptor) gerichtet sind [3, 14]. Thera-

pien mit diesen Antikörpern zielen auf Signalwege von Wachstumsfaktoren ab und können die Gefäßneubildung oder das Tumorstadiumwachstum inhibieren.

Das Konzept der zielgerichteten Therapie ist an den Gedanken einer individualisierten Medizin gekoppelt. Die Grundlagenforschung zu molekularen Mechanismen der Tumorentstehung hat schon früh gezeigt, dass kolorektale Karzinome keine homogene Tumorentität darstellen, sondern durch verschiedene pathogenetische Mechanismen entstehen. Ent-

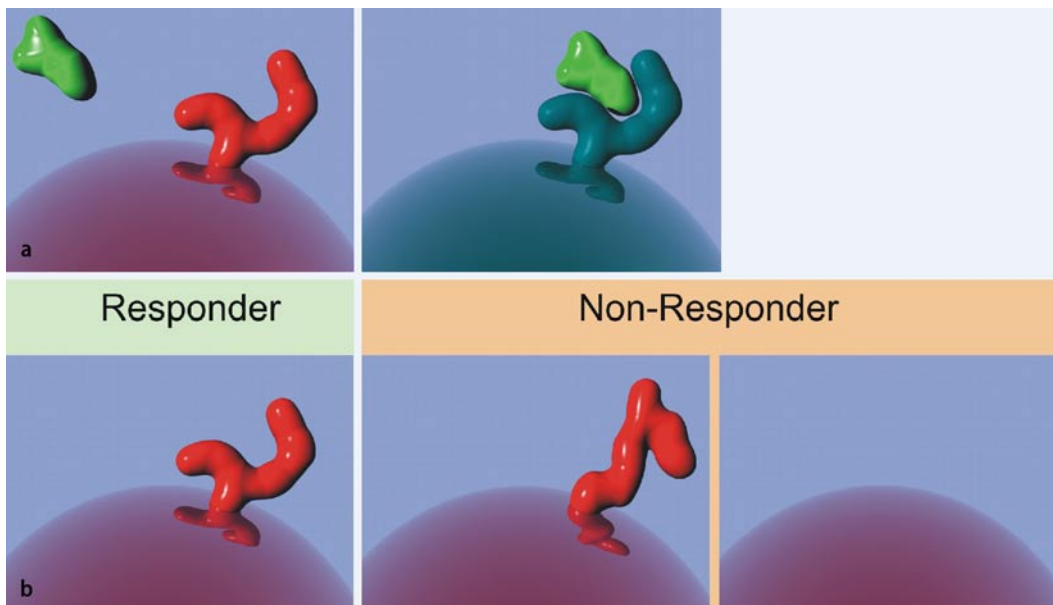


Abb. 1 **a** Blockade der Zielstruktur. Die Entwicklung zielgerichteter Therapien erfordert die Identifikation einer Zielstruktur (links), die für das Tumorstadiumwachstum relevant ist und deren Blockade (rechts) das Tumorstadiumwachstum inhibieren kann.

b Der Nachweis der Zielstruktur kann in der klinischen Anwendung zur Prädiktion eines möglichen Therapieansprechens dienen (Responder). Sollte die Zielstruktur auf der Tumorzelle nicht vorhanden sein (z. B. durch Mutation, Allelverlust oder epigenetische Inaktivierung) oder in ihrer Konformation verändert sein, ist ein Ansprechen auf die zielgerichtete Therapie nicht zu erwarten (Non-Responder)

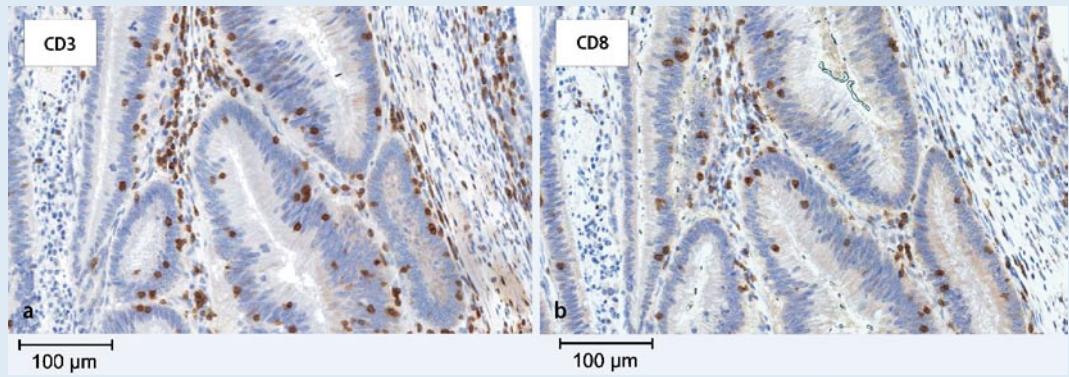


Abb. 2 ▲ Tumorinfiltrierende Lymphozyten in MSI-Kolonkarzinomen. MSI-Kolonkarzinome zeigen eine hohe Dichte intraepithelialer tumorinfiltrierender T-Zellen (**a** immunhistochemische Färbung mit einem monoklonalen Antikörper gegen den T-Zell-Marker CD3), von denen ein großer Teil zytotoxisches Potenzial besitzt (**b** immunhistochemische Färbung mit einem monoklonalen Antikörper gegen CD8)

Repeatlänge

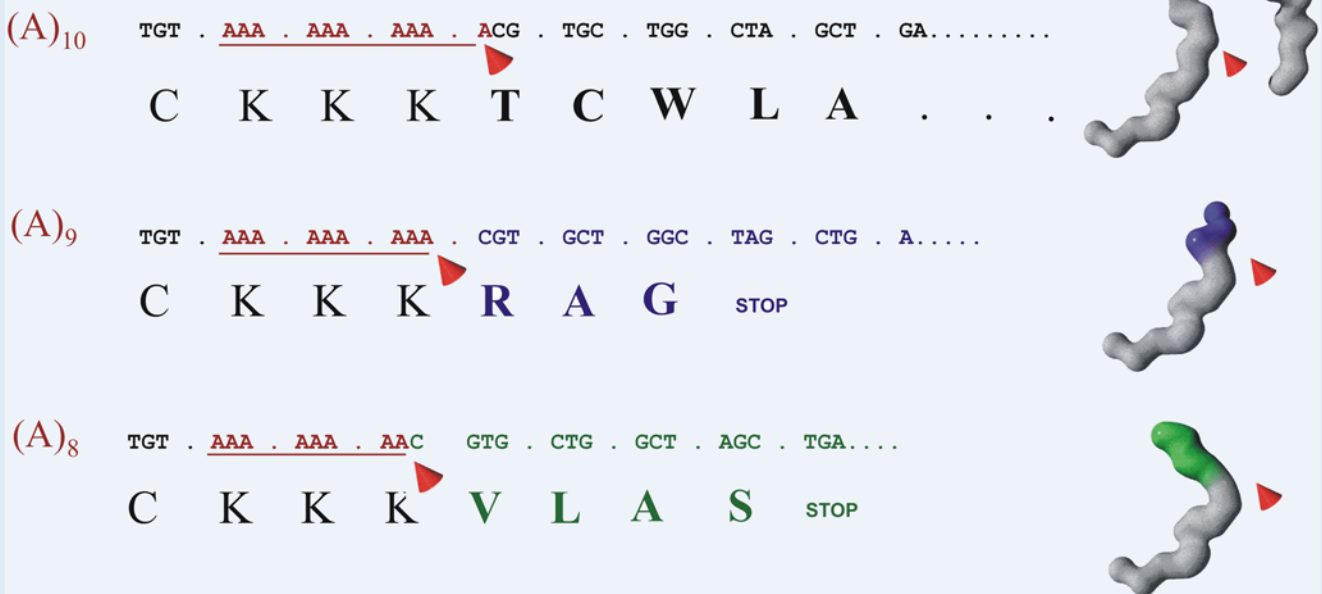


Abb. 3 ▲ Entstehung tumorspezifischer Neopeptide durch Mutation kodierender Mikrosatelliten. Durch Deletion bzw. Insertion einzelner Basen an kodierenden Mikrosatelliten (rote Pfeile) kommt es zur Verschiebung des translationalen Leserasters und somit trotz identischer anschließender Basenfolge potenziell zur Synthese völlig neuer Peptidsequenzen, die vom Immunsystem als körperfremd erkannt werden können

sprechend ihrer heterogenen Pathogenese sind das klinische Erscheinungsbild und die Therapieresponsivität bei individuellen Patienten mit kolorektalem Karzinom sehr unterschiedlich (■ Abb. 1).

Etwa 15% aller kolorektalen Karzinome entstehen durch einen Defekt der DNA-Mismatch-Reparatur und sind durch Mikrosatelliteninstabilität (MSI) gekennzeichnet. Diese MSI-Tumoren unterscheiden sich grundlegend hinsichtlich Tumorstadium, Metastasierung und Chemotherapiesensitivität von der Mehrheit der kolorektalen Karzinome, welche über den

klassischen Weg der Adenom-Karzinom-Sequenz entstehen und häufig chromosomale Instabilität aufweisen [4]. Konventionelle adjuvante Therapien wie die Chemotherapie mit 5-Fluorouracil scheinen bei der Untergruppe kolorektaler Karzinome mit MSI keinen Nutzen für die Patienten zu zeigen [8], was die klinische Relevanz der molekularen Subklassifikation der heterogenen Gruppe der kolorektalen Karzinome unterstreicht.

Mikrosatelliteninstabilität beim kolorektalen Karzinom

Während die Mehrzahl der kolorektalen Karzinome durch größere chromosomale Veränderungen gekennzeichnet ist und charakteristische genetische Veränderungen wie Mutationen oder Allelverluste von Tumorsuppressorgenen wie APC oder p53 bzw. aktivierende Onkogenmutationen (KRAS) zeigt, findet sich bei etwa 15% aller Kolonkarzinome ein Defekt im DNA-Mismatch-Reparatursystem als ursächlicher Mechanismus. Tumoren mit

M. Kloor · S. Michel · M. von Knebel Doeberitz

Molekulare Pathogenese. Ihre Bedeutung für die zielgerichtete Therapie beim kolorektalen Karzinom

Zusammenfassung

Das kolorektale Karzinom steht in Deutschland an zweiter Stelle der Mortalitätsrate aller Krebserkrankungen. Trotz verbesserter chirurgischer und chemotherapeutischer Verfahren besteht ein großer Bedarf an der Entwicklung effizienter neuer Therapieansätze. In den letzten Jahren wurden durch neue zielgerichtete Therapiestrategien (targeted therapies), die im Gegensatz zur Chemotherapie möglichst gezielt in veränderte Signalwege maligner Zellen eingreifen, wichtige Fortschritte erzielt. Da kolorektale Karzinome eine heterogene Gruppe von Tumoren darstellen, ist ihr Ansprechen auf zielgerichtete Therapien unterschiedlich. Etwa 15 % der kolorektalen Karzinome sind durch Defekte im DNA-Mismatch-Reparatursystem und durch

Mikrosatelliteninstabilität (MSI) gekennzeichnet. Diese MSI-Tumoren scheinen eine geringe Chemotherapiesensitivität zu besitzen und zeigen häufig Zeichen einer starken Immunantwort gegen den Tumor, die durch eine hohe Zahl tumorspezifischer Antigene bedingt zu sein scheint. Interventionen, die auf diese Antigene abzielen, könnten die Grundlage für neue therapeutische Ansätze bei kolorektalen Karzinomen mit MSI bilden und stehen vor der Evaluierung in klinischen Studien.

Schlüsselwörter

Kolorektales Karzinom · DNA-Mismatch-Reparatur · Immuntherapie · Mikrosatelliteninstabilität · Zielgerichtete Therapie

Molecular pathogenesis. Its importance in targeted therapy in colorectal cancer

Abstract

Colorectal cancer has the second highest mortality of all cancers in Germany. In spite of advances in surgical and chemotherapeutic treatment, efficient new therapies need to be developed. In recent years, advances have been achieved by novel targeted therapies that are specifically directed against altered signaling pathways of malignant cells. Colorectal cancers represent a heterogeneous tumor entity, and response to targeted therapies varies individually. About 15% of colorectal carcinomas are characterized by a deficient DNA mismatch repair system and microsatellite instability (MSI). These MSI cancers apparently have a decreased sensitivity

to chemotherapy and frequently show evidence of a pronounced anti-tumoral immune response of the host. This immune response is likely to be mediated by a high number of tumor-specific antigens generated during MSI tumorigenesis. Interventions specifically targeting these antigens may be the basis for novel therapeutic strategies in MSI colorectal cancer and will be evaluated in clinical trials.

Keywords

Colorectal carcinoma · DNA mismatch repair · Immune therapy · Microsatellite instability · Targeted therapy

defizienter DNA-Mismatch-Reparatur sind durch die Akkumulation kleiner genetischer Veränderungen, d. h. die Deletion oder Insertion einzelner Basen an repetitiven DNA-Sequenzen (Mikrosatelliten) gekennzeichnet und werden daher als mikrosatelliteninstabil (MSI) bezeichnet. Da Tumoren, die im Rahmen des hereditären nichtpolypösen Kolonkarzinoms (HNPCC, Lynch-Syndrom) auftreten, verglichen mit sporadischen Kolonkarzinomen in wesentlich höherer Frequenz MSI zeigen, wird die MSI-Analyse im Tumor diagnostisch zur Identifikation von Patienten mit erblichem Darmkrebs eingesetzt [15].

Die klinische Bedeutung der unterschiedlichen Pathogenese von MSI-Kolonkarzinomen zeigt sich in einem grundsätzlich anderen Verhalten dieser Tumoren. Sie sind histologisch häufig durch eine Mischdifferenzierung mit muzinösen und siegelringzelligen Anteilen charakterisiert [10], haben oft ein fortgeschrittenes lokales Tumorstadium, aber sehr selten Organmetastasen [2]. Ein weiteres Kriterium, dass in der histopathologischen Begutachtung einen Hinweis auf MSI geben kann, ist eine hohe Dichte tumorinfiltrierender Lymphozyten [13]. Die große Zahl von Immunzellen an der Primärtumorkalisation legt nahe, dass MSI-Tumoren eine hohe Immunogenität aufweisen und ähnlich wie virusinfizierte Zellen vom Immunsystem als körperfremd erkannt werden können (■ Abb. 2).

Immunologische Konsequenzen

Die erhöhte Immunogenität von MSI-Tumoren scheint dadurch bedingt zu sein, dass es durch den Ausfall der DNA-Mismatch-Reparatur zu Mutationen in Mikrosatelliten kommt, die in genkodierenden Bereichen liegen. Solche Mutationen bedingen eine Längenveränderung dieser kodierenden Mikrosatelliten und damit eine Verschiebung des translationalen Leserasters. Dies wiederum hat zur Folge, dass veränderte Proteine gebildet werden, die ihre normale physiologische Funktion nicht mehr erfüllen können. Mutationen kodierender Mikrosatelliten betreffen Tumorsuppressorgene wie TGFBR2 oder apoptoserelevante Gene wie BAX. Die Inaktivierung dieser Gene stellt einen we-

sentlichen Mechanismus der Progression von MSI-Karzinomen dar. Die Immunogenität von MSI-Tumoren wiederum scheint daraus zu resultieren, dass durch die Leserasterverschiebung neue Proteinsequenzen entstehen, die tumorspezifisch sind – also nur in Zellen, die einen Defekt des DNA-Mismatch-Reparatursystems aufweisen, gebildet werden (■ Abb. 3).

Diese neuen Peptide stellen tumorspezifische Antigene dar, die vom Immunsystem erkannt werden können und somit potenziell eine Immunreaktion gegen den Tumor auslösen können. Bei gesunden Spendern konnte gezeigt werden, dass durch Stimulation von T-Zellen eine Immunantwort gegen MSI-Tumor-spezifische Neopeptide induziert werden kann [6, 9, 11]. Tatsächlich zeigen auch Patienten mit MSI-Kolonkarzinom in hoher Frequenz eine zelluläre Immunantwort, die spezifisch gegen diese Antigene gerichtet ist [12]. Außerdem sind solche T-Zell-vermittelten Immunantworten auch bei einigen nicht an einem Tumor erkrankten Personen nachweisbar, die eine genetische Anlage für das HNPCC- oder Lynch-Syndrom aufweisen [12]. Die Hypothese einer protektiven Wirkung des Immunsystems könnte erklären, warum das HNPCC-Syndrom nicht wie die familiäre adenomatöse Polyposis (FAP) eine nahezu komplette Penetranz besitzt, sondern nur mit einem Lebenszeitrisko für ein kolorektales Karzinom von etwa 40–70% assoziiert ist [7].

Neopeptide bei MSI-Tumoren sind ideale Zielstrukturen für zielgerichtete Therapien, da sie hochspezifisch für Tumorzellen sind und nicht in normalen, nichtneoplastischen Zellen gebildet werden. Die Applikation von solchen tumorspezifischen Peptiden im Rahmen einer adjuvanten Therapie stellt einen vielversprechenden Ansatz in der Behandlung kolorektaler Karzinome mit MSI dar. Die Entwicklung neuer adjuvanter Therapien bei MSI-Kolonkarzinomen ist von klinischer Bedeutung, da konventionelle adjuvante Therapien wie die Chemotherapie mit 5-Fluorouracil bei Patienten mit MSI-Kolonkarzinomen keinen Nutzen zu zeigen scheinen [8]. Weiterhin könnten MSI-Tumor-spezifische Neopeptide potenziell bei Personen mit hohem Risiko einer Kolonkarzinomentwicklung, d. h. bei Trä-

gern einer genetischen Anlage für das HNPCC-Syndrom, als präventive Impfung eingesetzt werden. Klinische Studien sind erforderlich, um die Wirksamkeit einer Vakzinierung mit MSI-Tumor-spezifischen Peptiden bei Patienten mit MSI-Kolonkarzinomen zu untersuchen.

Korrespondenzadresse

Dr. M. Kloor

Abteilung für Angewandte Tumorbilogie,
Institut für Pathologie, Universitätsklinikum
Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 220, 69120 Heidelberg
matthias.kloor@med.uni-heidelberg.de

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Amado RG, Wolf M, Peeters M et al. (2008) Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 26: 1626–1634
2. Buckowitz A, Knaebel HP, Benner A et al. (2005) Microsatellite instability in colorectal cancer is associated with local lymphocyte infiltration and low frequency of distant metastases. *Br J Cancer* 92: 1746–1753
3. Dietel M, Tannapfel A, Baretton G et al. (2008) Molekularpathologische KRAS-Mutationsanalyse. *Chirurg* 79: 576–579
4. Fearon ER, Vogelstein B (1990) A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61: 759–767
5. Kerr DJ (2004) Targeting angiogenesis in cancer: clinical development of bevacizumab. *Nat Clin Pract Oncol* 1: 39–43
6. Linnebacher M, Gebert J, Rudy W et al. (2001) Frameshift peptide-derived T-cell epitopes: a source of novel tumor-specific antigens. *Int J Cancer* 93: 6–11
7. Quehenberger F, Vasen HF, van Houwelingen HC (2005) Risk of colorectal and endometrial cancer for carriers of mutations of the hMLH1 and hMSH2 gene: correction for ascertainment. *J Med Genet* 42: 491–496
8. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ et al. (2003) Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 349: 247–257
9. Ripberger E, Linnebacher M, Schwitalle Y et al. (2003) Identification of an HLA-A0201-restricted CTL epitope generated by a tumor-specific frameshift mutation in a coding microsatellite of the OGT gene. *J Clin Immunol* 23: 415–423
10. Rüschoff J, Roggendorf B, Brasch F et al. (2004) Molekularpathologische Diagnostik beim erblichen Dickdarmkarzinom – Empfehlungen und Resultate aus dem Verbundprojekt der Deutschen Krebshilfe „Krebsvorsorge und Krebsfrüherkennung bei Familiärem Darmkrebs“. *Pathologie* 25: 178–192
11. Schwitalle Y, Linnebacher M, Ripberger E et al. (2004) Immunogenic peptides generated by frameshift mutations in DNA mismatch repair-deficient cancer cells. *Cancer Immunol* 4: 14
12. Schwitalle Y, Kloor M, Eiermann S et al. (2008) Immune response against frameshift-induced neopeptides in HNPCC patients and healthy HNPCC mutation carriers. *Gastroenterology* 134: 988–997
13. Smyrk TC, Watson P, Kaul K, Lynch HT (2001) Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma. *Cancer* 91: 2417–2422
14. Thalheimer A, Illert B, Reimer P et al. (2008) Antikörpertherapie beim metastasierten kolorektalen Karzinom – was der Chirurg wissen sollte. *Zentralbl Chir* 133: 101–106
15. Umar A, Risinger JI, Hawk ET, Barrett JC (2004) Testing guidelines for hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 4: 153–158