

Inhalt

Scriba, P. C., Endres, S., Hartmann, G. <i>Vorwort</i>	691	Kalmus, J. <i>Radioaktiv markierte monoklonale Anti- körper bei Non-Hodgkin-Lymphom</i>	706
Entwicklung und Herstellung monoklonaler Antikörper		Hartmann, G. <i>Induction of Antibodies by Immuno- stimulatory CpG Oligonucleotides</i>	708
Dingermann, T. <i>Durchbrüche in den ersten 30 Jahren der Entwicklung monoklonaler Antikörper</i>	692	Monoklonale Antikörper bei Karzinomen	
Urban, M. <i>Monoclonal Antibodies from Phage Display Libraries</i>	694	Schalhorn, A. <i>Monoklonale Antikörper in der Therapie fortgeschrittener kolorektaler Karzinome</i>	709
Klein, A. <i>Herausforderungen bei der biotechnolo- gischen Herstellung von monoklonalen Antikörpern</i>	696	Kimmig, R., Wimberger, P. <i>Antikörpertherapien beim Ovarialkarzinom</i>	711
Baeuerle, P. A. <i>Bispecific T Cell-recruiting Antibody Constructs for Cancer Therapy</i>	697	Untch, M. <i>Adjuvante Antikörpertherapie beim HER2- neu-überexprimierenden Mammakarzinom</i>	713
Monoklonale Antikörper bei nicht-malignen Erkrankungen		Weitere monoklonale Antikörper	
Schreiber, S. <i>Anti-Tumor Nekrose Faktor-α-Antikörper bei chronisch entzündlichen Darmerkran- kungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa)</i>	699	Wahn, U. <i>Monoklonale Antikörper bei Allergie und Asthma</i>	718
Kalden, J. R. <i>Monoklonale Antikörpertherapie bei rheumatoider Arthritis</i>	700	Late Breaking News	
Boehncke, W.-H. <i>Monoklonale Antikörper bei Psoriasis</i>	701	Untch, M. <i>Wachstumsfaktorrezeptorblockade beim Mammakarzinom – Daten vom ASCO 2005 (Jahreskongress der Amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie)</i>	719
Gold, R. <i>Monoklonale Antikörper bei Multipler Sklerose</i>	702	Anschriften der Referenten	721
Monoklonale Antikörper bei Lymphomen			
Hallek, M., Wendtner, C.-M., Fingerle-Rowson, G., Fischer, K., Goede, V., Schweighofer, C., Fink, A.-M., Elter, T., Kofler, D., Busch, R., Emmerich, B., Eichhorst, B. <i>Chemo-immunotherapy – the Role of Monoclonal Antibodies for the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)</i>	704		

Vorwort

Peter C. Scriba^a, Stefan Endres^a und Gunther Hartmann^b

Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München^a und Klinikum der Universität Bonn^b

Im Januar 1975 gelang Georges Köhler im Labor von Milstein, University of Cambridge, die Verschmelzung von antikörperbildenden Zellen einer immunisierten Maus mit Tumorzellen. Damit legte er die Grundlage für die Generierung von Antikörpern definierter Spezifität in großer Menge.

Heute, 30 Jahre später, haben monoklonale Antikörper das therapeutische Armamentarium nachhaltig erweitert. Siebzehn verschiedene rekombinante Antikörper sind derzeit zur Therapie zugelassen. Tumore und Autoimmunerkrankungen bilden die großen Indikationsgruppen. Weltweit laufen über 400 klinische Studien zu neuen Indikationen mit weiterentwickelten Molekülen. In kaum einem anderen Feld hat sich so ein rasanter Einzug einer neuen Wirkstoffklasse in solch großer Indikationsbreite vollzogen.

Potenz und Präzision sind Leiteigenschaften der Antikörperbindung an das gewünschte Epitop. Molekulare Präzision ist jedoch nicht immer gleichzusetzen mit biologischer Präzision beim Eingriff in das Krankheitsgeschehen. Infektiöse Komplikationen beim Einsatz von Antikörpern gegen Tumor Nekrose Faktor- α (Indikation Morbus Crohn und chronische Polyarthritis), und – gravierender – bei den Phase III-Studien mit Antikörpern gegen Adhäsionsmoleküle (Indikation Multiple Sklerose) zeigen die Grenzen und die Gefahren einer Blockade zentraler Mittelmoleküle des Immunsystems.

Erstmals widmet sich eine wissenschaftliche Tagung in Deutschland ausschließlich dem klinisch wie wirtschaftlich mit großer Dynamik expandierenden Therapieprinzip monoklonaler Antikörpergabe. Wir konnten dafür führende Kliniker und Wissenschaftler aus den Universitätsklinik und der Industrie gewinnen.

Das Paul-Martini-Symposium 2005 setzt die Tradition der früher mit der Mainzer Akademie der Wissenschaften und der Literatur verbundenen Herbstsymposien fort. Es findet wiederum in Verbindung mit der Deutschen Akademie der Naturforscher Leopoldina (Halle) in Berlin statt. Dadurch, daß das Symposium in die unmittelbare Nähe der politischen Entscheidungsträger in Deutschland gerückt ist, erhoffen sich die Organisatoren eine noch höhere Aufmerksamkeit für ihre wissenschaftlichen und gesundheitspolitischen Anliegen. In diesem Ziel ist die Paul-Martini-Stiftung mit der traditionsreichen Leopoldina verbunden. Am Grundanliegen der Paul-Martini-Stiftung, die sich als Mittler versteht und die Diskussion zwischen universitären und industriellen Forschern fördern will, wird unverändert festgehalten. Deshalb werden auch in diesem Jahr Wissenschaftler aus den Universitäten und aus der Industrie sowie Sachverständige aus Ministerien, Behörden und Verbänden teilnehmen.

Wir danken den Gästen, Referenten und Vorsitzenden, daß sie unserer Einladung gefolgt sind und freuen uns auf die gemeinsame fruchtbare Diskussion in den Räumen der Kaiserin-Friedrich-Stiftung zu Berlin.

Unser besonderer Dank geht an den Vorstand der Paul-Martini-Stiftung für die Mitwirkung bei der Erstellung des Programms sowie an den Träger der PMS, den Verband Forschender Arzneimittelhersteller (VFA), für die großzügige Unterstützung der Tagung. Planung und Vorbereitung waren dank der hervorragenden Hilfe von Frau Barbara Schwalbach in der Geschäftsstelle der Paul-Martini-Stiftung eine große Freude.

Entwicklung und Herstellung monoklonaler Antikörper

Durchbrüche in den ersten 30 Jahren der Entwicklung monoklonaler Antikörper

Theodor Dingermann

Johann Wolfgang Goethe-Universität, Institut für Pharmazeutische Biologie, Biozentrum N230, Frankfurt/Main

Die Sprunginnovation „monoklonale Antikörper“

Die Entdeckung und Charakterisierung von Antikörpern hatte einen enormen Impact auf Forschung, Diagnostik und Therapie. Allerdings verursachten die Methoden der Antikörperregenerierung und die große Heterogenität von Antikörperpräparationen große Probleme. Mit einer Sprunginnovation gelang Köhler und Milstein in Form der Hybridoma-Technologie ein Durchbruch. Sie entwickelten ein Protokoll zur Fusion von Antikörper produzierenden B-Zellen mit Tumorzellen, die sich bekanntlich durch ungehemmtes Wachstum auszeichnen. Eine solche Hybridomazelle vereint die Fähigkeiten „Antikörperproduktion“ und „Immortalität“ auf eine Zelle, die in Kultur zu wachsen vermag und einen monoklonalen Antikörper sezerniert.

Allerdings zerschlugen sich zunächst die Hoffnungen auf einen Einsatz monoklonaler Antikörper als hochspezifische Therapeutika – zumindest was die breite Anwendung betraf –, die als „*magic bullets*“ zielgenau und nebenwirkungsarm ihre Arbeit verrichten. Denn monoklonale Maus-Antikörper sind für den humantherapeutischen Einsatz nur mäßig gut geeignet. Ihre Fremdartigkeit veranlaßt das menschliche Immunsystem zu Abwehrreaktionen, die gewünschte Wirkungen unterdrücken und die Gefahr einer anaphylaktischen Reaktion in sich bergen.

Variation monoklonaler Antikörper mit Hilfe der Gentechnologie

Abhilfe – und damit einen sensationellen Einzug monoklonaler Antikörper in den klinisch-therapeutischen Alltag – schaffte die Einbindung der Gentechnologie in ein Gebiet, das bis dahin der Zellbiologie vorbehalten war.

Man setzte um, was auf der Hand lag: Da für die spezifischen Funktionen von Antikörpern nur ganz bestimmte Bereiche der Moleküle erforderlich sind und

Antikörper hinsichtlich ihrer prinzipiellen Struktur unter Säugern sehr große Ähnlichkeiten aufweisen, bot es sich an, durch gentechnische Methoden die Teile der in der Maus generierten und als Hybridomas selektierten murinen monoklonalen Antikörper durch korrespondierende Sequenzen eines humanen Antikörpers zu ersetzen, die für die gewünschten spezifischen Funktionen nicht erforderlich waren. Als Konsequenz wurden immer mehr monoklonale Antikörper in gentechnisch veränderten Organismen (GVOs) produziert, und monoklonale Antikörper reihten sich ein in die Gruppe der gentechnisch hergestellten Wirkstoffe.

Zusätzliche Funktionalisierung von Antikörpern

Funktionalisierung kann auf verschiedene Weise erfolgen. Man kann in Form von bispezifischen Antikörpern eine komplexere Spezifität generieren, oder man kann Antikörpern durch Konjugation mit anderen Gruppen weitere Funktionen verleihen.

Bispezifische Antikörper können zwei Epitope auf dem gleichen Antigen binden und dadurch die Avidität der Antikörper steigern. Sie können aber auch genutzt werden, um verschiedene Antigene zu vernetzen. Hier gilt besonderes Interesse dem Anlocken zytotoxischer T-Zellen in der Tumorthherapie.

Ehrlichs Konzept von den *magic bullets* ist vielleicht am besten repräsentiert in den Antikörperkonjugaten. Zur Multifunktionalisierung lassen sich Antikörper beispielsweise mit radioaktiven Isotopen ausstatten, die üblicherweise über Chelatkomplexe an das Protein gebunden sind. Solche radioaktiv markierten Antikörper haben zwischenzeitlich bereits Eingang in die Medizin gefunden. Dabei bestimmt die Wahl des Radionuklids (weicherer oder härterer Strahler, kürzer- oder längerlebig) den Einsatz des Antikörpers entweder als Therapeutikum als auch als Diagnostikum.

Daneben wurden Antikörper entwickelt, die mit zytotoxischen Wirkstoffen gekoppelt sind. Ein derartiger Wirkstoff ist in Form von Mylotarg® von der FDA bereits zugelassen.

Andere Antikörper in der Pipeline sind konjugiert mit Peptiden, Proteinen, Enzymen und Viren, die als gentherapeutische Vehikel fungieren. Meistens sind diese Antikörper für den Einsatz in der Tumorthherapie konzipiert. Die neueren Entwicklungen sind in vivo stabil und kaum immunogen.

Antikörper wurden auch mit Lipiden und Polyethylenglykol modifiziert, wobei hier pharmakokinetische Aspekte im Vordergrund stehen. Sie helfen dabei, andere Wirkstoffe, die beispielsweise in Liposomen verpackt sind, im Sinne eines *drug targeting* gezielter an ein bestimmtes Ziel zu transportieren. Mit Hilfe von Anti-Transferrin-Rezeptor-Antikörpern wurde versucht, Wirkstoffe über die Blut-Hirn-Schranke zu transportieren. Antikörper-Enzym-Fusionen wurden entwickelt, um wenig toxische *Prodrugs* am Ort der Wirkung enzymatisch zu giften, indem beispielsweise eine maskierende Schutzgruppe abgespalten wird.

Rekombinante Antikörperfragmente

Nicht für alle Applikationen sind intakte Antikörper optimale Moleküle. Beispielsweise sind Fc-induzierte Effektorfunktionen dann nicht erforderlich, wenn Funktionen blockiert werden sollen, wie bei der Zytokin-Inaktivierung, einer Rezeptorblockade oder der Neutralisation von Viren.

Hier bietet der Einsatz von Antikörperfragmenten eine Alternative. Wurden derartige Fragmente früher durch partielle Proteolyse mit Proteasen gewonnen, lassen sich heute Fab- oder *single chain* Fv- (scFV) Fragmente rekombinant exprimieren. Diese Antikörperfragmente besitzen im Vergleich zu den kompletten Antikörpern meist bessere pharmakokinetische Eigenschaften und sind daher in der Lage, sich besser im Gewebe zu verteilen. Allerdings sind sie auch biologisch labiler, was durchaus erwünscht sein kann.

Andererseits zeigen Antikörperfragmente jedoch häufig ungünstigere Bindungseigenschaften – besonders hinsichtlich schnellerer *off*-Raten – und verhalten sich bezüglich der Verweildauer an den Zielstrukturen oft suboptimal. Um dem entgegenzuwirken, wurden die Fragmente weiter modifiziert. Das zwischenzeitlich verfügbare Repertoire enthält Diabodies (Db), *single chain* Diabodies (scDb), tandem *single chain* Diabodies (taDb), tandem scFv (taFv) oder auch *single chain* Diabody-C_H3-Fusionsproteine.

Multispezifische Antikörperfragmente

Auch Antikörperfragmente wurden in Richtung Bispezifität modifiziert. Derzeit sind allerdings derartige Antikörpervarianten noch nicht zugelassen. Jedoch ist zu erwarten, daß auch diese Varianten in die Klinik eingeführt werden.

Alternative Gerüste

Intakte Antikörper, Fab- und scFv-Fragmente erkennen molekulare Oberflächen über sechs, in den CDR-Domänen (CDR-*Loops*) repräsentierten, Kontaktstrukturen. Auch diese können einzeln oder in ihrer Gesamtheit verändert werden, um an beliebige andere Zielstrukturen zu binden.

Einige dieser Strukturen sind für das natürliche Immunsystem „blind“ oder unzugänglich. Hierzu zählen beispielsweise Oberflächeneinstülpungen und Oberflächenspalten, die ausgestülpte CDR-*Loops* erfordern würden, um mit hoher Affinität gebunden werden zu können.

Im natürlichen Antikörperrepertoire der meisten Säuger findet man derartige „penetrierende“ Strukturen so gut wie nicht. Erstaunlicherweise sieht das bei Kameleiden wie Kamelen, Lamas usw. aber auch bei Hai-fischen anders aus. Diese produzieren *single chain*-Fv-ähnliche Fragmente (sog. Nanobodies), die auch CDR-Domänen ausbilden, die in eingestülpte molekulare Oberflächen penetrieren. Hierbei handelt es sich um Antikörperderivate, die aus einer einzelnen Antigenbindenden Domäne bestehen, die sich von einer schweren (V_H) Domäne ableitet.

Diese Entdeckung hat zu einer Vielzahl von Bemühungen geführt, *single chain*-Domänen Display-Bibliotheken auf der Basis von V-Domänen oder anderen Ig-ähnlichen Gerüststrukturen zu konstruieren. Diese kleinen Varianten komplementieren in Zukunft Antikörper und Peptid-Bibliotheken mit dem Potential vorteilhafterer pharmakokinetischer Eigenschaften, u. a. dem Potential, kryptische Oberflächen von Enzymen, Rezeptoren oder Viren zu erreichen, die für klassische Antikörper unzugänglich sind. Unter den Problem-Targets für Antikörper befinden sich beispielsweise auch Prion-Proteine, die eventuell mit Nanobody-Strategien besser zugänglich werden.

Klinische Anwendungen und neue klinische Ansätze

Über den klinischen Einsatz von Antikörpern wird sich der größte Teil des Symposiums beschäftigen. Dennoch sollen hier ein paar wenige Durchbrüche erwähnt werden.

Neben dem diagnostischen Einsatz sind es vor allem Indikationen wie virale Infektionen, Krebs, Allograft-Abstoßung, Autoimmunerkrankungen und Asthma, in denen rekombinante monoklonale Antikörper therapeutische Durchbrüche erzielt haben. Sie besetzen Rezeptoren oder fangen Liganden ab, um so Signaltransduktionswege zu unterbrechen, oder sie markieren Tumorzellen, um sie für das zelluläre und humorale Immunsystem sichtbar zu machen. Sie werden in der Diagnostik eingesetzt, und sie dienen als „Delivery Tools“ die den pharmazeutischen Traum eines wirklichen *drug targeting* einer Realisierung näher bringen, um zytotoxische

Prinzipien an die Tumorzellen heranzubringen oder zytotoxische Prodrugs „vor Ort“ zu giften.

Intrabodies – intrazellulär exprimierte Antikörperfragmente – könnten sich als nützlich erweisen, um bestimmte intrazelluläre Strukturen zu adressieren. Beispiele für Targets, die experimentell angesteuert wurden, sind p21^{ras}, erbB2, Huntingtin, MHC-Moleküle oder Regulatorproteine im Rahmen der Virusreplikation wie Vif, Tat und Rev. Allerdings müßten solche Ansätze in Form von Gentherapiestrategien eingesetzt werden, die sich noch weit vor einem realistischen klinischen Einsatz bewegen.

In Form sogenannter „Troybodies“ werden Antikörpervarianten in Zukunft als Vakzine eingesetzt, die kryptische T-Zell-Epitope tragen und so die Immunantwort steigern. *Troybodies* adressieren effizient Antigenpräsentierende Zellen, um dann nach intrazellulärer Prozessierung die mitgebrachten T-Zell-Epitope zu exponieren.

Durchbrüche in den ersten 30 Jahren der Entwicklung monoklonaler Antikörper

Auf den Punkt gebracht: Gefragt nach Durchbrüchen in den ersten 30 Jahren der Entwicklung monoklonaler Antikörper muß man wohl zu allererst den imposanten Einzug von Antikörpern und Antikörperfragmenten in den klinischen Alltag erwähnen.

Es ist kaum noch möglich, diese Entwicklung korrekt zu beschreiben. Die Herausforderung für die Zukunft

besteht weniger darin, neue Antikörpermoleküle zu generieren, sondern die Validität der Targets zu beweisen. So werden sicherlich viele Antikörper eine schnelle „klinische Clearance“ zeigen. Andere werden aber klinisch reüssieren und den Pharmaunternehmen große Umsätze bescheren. Ob allerdings das heutige hohe Preisniveau gehalten werden kann, ist fraglich.

Aus klinischer Sicht ist das Optimierungspotential für den Einsatz therapeutischer Antikörper und Antikörperfragmente bei weitem noch nicht ausgeschöpft. Fast alle Indikationen, bei denen Antikörper heute zum Einsatz kommen, sind typische Indikationen für komplexe Arzneimittelkombinationen. Antikörper haben das Kombinationsrepertoire deutlich erweitert, das somit nochmals komplexer geworden ist und weiter ausgetestet werden muß. So werden Antikörper – bei allen klinischen Erfolgen – heute fast immer noch unter ihrem potentiellen Wert beurteilt, was bedacht werden sollte, wenn man aufgrund unbefriedigender klinischer Erfahrungen oder unerwarteter Nebenwirkungen einen Antikörper hektisch aus dem Verkehr zieht. Ein jüngstes Beispiel ist Natalizumab, ein humanisierter, VLA-4-spezifischer Antikörper, der wegen schwerer Nebenwirkungen (Induktion des JC-Virus) in zwei Fällen in der SENTINEL-Studie freiwillig wieder vom Markt genommen wurde. Ob diese Rücknahme endgültig ist, kann bezweifelt werden.

Somit ist es in erster Linie den Klinikern vorbehalten, auf der Basis von spektakulären technischen Durchbrüchen im Bereich monoklonaler Antikörper weitere Durchbrüche bei der Behandlung schwerer Krankheiten zu entdecken.

Monoclonal Antibodies from Phage Display Libraries

Margit Urban

MorphoSys AG, Research & Development, Martinsried

During the past 15 years antibody phage display has evolved into a robust and well-accepted technology for the selection of fully human, high-quality monoclonal antibodies. Besides enabling the identification of antibodies in a fast, high-throughput mode for research applications, phage display antibodies have proven their safety and efficacy in clinical trials and one fully human therapeutic antibody has already been approved for therapy.

Major advantages of phage display versus hybridoma technologies are:

- Antibody generation against highly toxic substances or lethal pathogens becomes possible.
- Antibody phage display, particularly using synthetic libraries, is well-suited for the generation of antibodies against self-antigens or homologous antigens that would be eliminated in animals due to tolerance mechanisms.

- As a direct consequence of the *in vitro* process, phage display is made for tailoring the selection of appropriate antibodies. For example, desired cross-reactivity can be selected, e.g. against respective antigens from different species, or undesired cross-reactivity can be excluded, e.g. towards a closely related homologue. It becomes possible to target a specific epitope of the protein of interest, or even generate antibodies against transient conformations of an antigen, e.g. during ligand binding.
- The rapid isolation of antibody DNA from recombinant phagemids or phage genomes by standard techniques facilitates the subsequent antibody engineering, such as optimization of antibody affinity and specificity, format switches between single chain Fv (scFv), Fab fragment and whole immunoglobulin of the subclass of choice, as well as the addition of tags. Modular libraries significantly simplify such engineering steps, as the exchange of defined DNA stretches has now become a 'plug-and-play' exercise.
- Antibody phage libraries are effective in small volumes, which allow a miniaturization and parallelization, and drastically reduce the amount of antigen needed. Since many protocol steps are amenable to standardized automated processes, high throughput systems have been devised for rapid and robust antibody generation.
- The microbial system allows production of antibody fragments at low costs, in high throughput and short timelines, enabling testing of a variety of different antibodies for the desired biological function.

For therapeutic applications, the golden standard are libraries delivering fully human monoclonal antibodies. For library construction, large repertoires of scFv or Fab antibody genes are cloned into engineered phage or phagemid vectors in a way that these antibody fragments can be displayed on the bacteriophage surface. By taking the initial antibody coding sequences from individuals surviving a specific infection, suffering from autoimmune diseases, or vaccinated against a particular pathogen, the antibody library can be biased in favour for particular targets. In contrast, so-called non-immune or naïve human antibody libraries derived

from non-immunized human donors are antigen-independent, i.e. can be panned for specificity against virtually any antigen. Diversity is increased by random pairing of heavy and light chain. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes, which is critical for the generation of high-affinity antibodies *in vivo*, only occurs after immunization. This can be built into the phage library, e.g. by having a mixture between natural and synthetic sequences in so-called semi-synthetic libraries, or by generation of fully synthetic libraries of human antibodies, which cover a much higher diversity as found in the human donors.

The latest version of MorphoSys' *Human Combinatorial Antibody Library*, HuCAL GOLD[®], is one example of such a fully synthetic human antibody library. A limited but comprehensive set of master framework genes, which were kept very close to human germline sequences, was diversified by the insertion of cassettes into all six complementarity determining regions (CDR), each again designed to reflect the natural composition found in rearranged antibodies. The HuCAL[®] sequences are completely modular, which, in contrast to PCR libraries, facilitates a 'plug-and-play' approach to engineering the antibodies. Antibody optimization is restricted to the CDRs and thus, does not compromise the germline configuration of the frameworks. Unlike conventional phage display, in HuCAL GOLD[®] the antibody is not genetically fused to a phage coat protein, but bound by the formation of a disulfide bridge between the Fab fragment and the engineered phage coat protein pIII. Thus, elution of antigen-bound phages is accomplished by simple addition of reducing agents, rendering it independent on the antibody affinity.

The most advanced human monoclonal antibody derived from phage display is Humira developed by Cambridge Antibody Technology in Cambridge (UK) and Abbott Laboratories in Abbott Park, Illinois (USA). This antibody blocks the inflammatory cytokine Tumor Necrosis Factor (TNF)-alpha and was approved in 2002 in the United States and in 2003 in Europe for the treatment of rheumatoid arthritis. Overall, antibody phage display has provided about one third of all human antibodies currently in clinical development.

Herausforderungen bei der biotechnologischen Herstellung von monoklonalen Antikörpern

Andreas Klein

Roche Diagnostics GmbH, Downstream Processing, Penzberg

Der Standort Penzberg (Oberbayern) in der Roche-Gruppe ist eines der größten Zentren für Biotechnologie in Europa und führend in der biotechnologischen Herstellung von Reagenzien und Wirkstoffen. Der Bereich Pharmaceutical Biotech Production and Development produziert in diesem Umfeld unter anderem die vier bedeutenden therapeutischen Proteine Reteplase (Rapilysin), Peginterferon alfa 2a (Pegasys), Epoetin beta (NeoRecormon) und Trastuzumab (Herceptin)¹⁾.

Gerade im sich stark entwickelnden Wachstumsmarkt Onkologie werden besonders die spezifischen Antikörper in den nächsten 10 Jahren den Markt bestimmen. Dieser Erfolg hat seine Ursache unter anderem in den hohen Spezifitäten der monoklonalen Antikörper und der seit den 90er Jahren möglichen Humanisierung der Antikörper.

Herceptin z. B. wurde gezielt gegen den Her2/neu-Rezeptor entwickelt. Durch diese Bindung wird die Übertragung von Wachstumssignalen vom Her2/neu-Rezeptor an den Zellkern blockiert. Dies hemmt nicht nur die Zellteilung, sondern kann sogar zum Absterben der Krebszelle führen.

Die Produktion von Herceptin in Penzberg beginnt mit Zellen aus einer Arbeitszellbank, die bei tiefen Tem-

peraturen aufbewahrt wird. Die sich anschließende Kultivierung erfolgt im Labormaßstab in speziell entwickelten Wachstumsmedien. Eine bestimmte Menge an Zellen wird zur weiteren Proliferation in einen 20 L-Bioreaktor überführt. Nach einer Wachstumsperiode von 3–5 Tagen erfolgen weitere Kultivierungsschritte in 80 L-, 400 L-, 2000 L- und 10000 L-Bioreaktoren. Da die genetisch modifizierten Zellen das gewünschte therapeutische Protein in das Wachstumsmedium sekretieren, müssen die Zellen durch eine Zentrifuge vom Medium getrennt werden. Die Zellen werden verworfen, und der Überstand, der das gewünschte Protein enthält, wird im Erntekessel gesammelt. Die Konzentrierung des Proteins erfolgt durch den ersten chromatographischen Prozeßschritt. Mit Hilfe dreier weiterer chromatographischer Schritte wird Herceptin bis zu einer Reinheit von 99,9 % aufgereinigt. Um die strengen Erfordernisse an Sterilität und Reinheit zu erfüllen, werden die Prozeßanlagen mit automatisierten Systemen in situ gereinigt und sterilisiert (Fermentation) bzw. sanitisiert (Downstreaming). Alle Prozeßschritte erfolgen über elektronische Rezepte computergesteuert. Zellwachstum, Produktbildung und der Verlauf der chromatographischen Aufreinigung werden über Probenziehung aus den Behältern und entsprechender Analytik verfolgt.

Um den stetig steigenden Bedarf an Herceptin auch in Zukunft zu decken, werden zur Zeit die bestehenden Kapazitäten in Penzberg durch eine neue Biotechnologieanlage für rund 290 Millionen Euro ausgebaut. Dadurch werden künftig rund 150 neue hochqualifizierte Arbeitsplätze geschaffen.

¹⁾ Herceptin, Pegasys, NeoRecormon und Rapilysin sind Marken eines Unternehmens der Roche-Gruppe.

Bispecific T Cell-recruiting Antibody Constructs for Cancer Therapy

Patrick A. Baeuerle

Micromet AG, Munich

Monoclonal antibody therapies are a recent addition to the arsenal of cancer therapies showing great promise. This fueled the search for other targeted therapies that may increase the cytotoxic potential of monoclonal antibodies. Conjugation of radioisotopes, toxins, and prodrugs to antibodies is one path. Another approach is the temporary conjugation of target (tumor cells) with cytotoxic immune cells using bispecific antibodies.

BiTE (bispecific T cell engager) molecules constitute a class of bispecific single-chain antibodies for the polyclonal activation and re-direction of cytotoxic T cells against pathogenic target cells. They combine a unique set of properties, which hitherto has not been reported for any other kind of bispecific antibody construct. BiTEs combine two single-chain Fv fragments by a short flexible linker allowing for free rotation and kinking of the two arms. This particular design may be crucial for the efficient induction of T cell activation because it enables optimal interaction with target epitopes on two opposite cell membranes. Moreover, the small size of BiTEs ensures very close proximity of T cell and target cell membranes, allowing for closely adjacent binding of additional bispecific antibodies within the narrow membrane cleft temporarily formed by two cells.

The properties of BiTEs include:

- A 100–10,000 fold higher efficacy in tumor cell lysis relative to other CD3-bispecific formats and monoclonal IgG1 antibodies
- An ability to induce target cell elimination by unstimulated peripheral T cells without the need for extra T cell co-stimuli or T cell pre-activation regimens
- Serial target cell lysis by individual T cells explaining efficacy at low ratios of T cells to target cells
- Formation of lytic immunological synapses with high frequency
- Potent activation of caspases 3 and 7 in tumor cells
- Strictly target cell-dependent, polyclonal activation of most CD4⁺ and CD8⁺ T cells
- High protein stability and homogeneity (no glycosylation)
- Ease of production of secreted protein by mammalian cell culture

MT103, a CD19-specific BiTE (also called bscCD19 × CD3), is currently in a dose-escalating phase I trial.

While it is too early to assess the therapeutic potential of BiTEs in humans, ex-vivo experiments and many in-vivo models have consistently shown a high anti-tumor activity of BiTEs. MT103 showed a high ex-vivo response rate with blood samples from B cell lymphoma patients, and was very efficacious in a severe combined immunodeficiency (NOD/SCID) mouse model. Subcutaneous tumor growth was prevented in all animals with five i.v. doses of 100 ng MT103 in the presence of unstimulated human T cells. In chimpanzees, the only relevant animal species identified, 2-h treatment with doses as low as 0.1 µg/kg MT103 caused a cumulative depletion of peripheral B cells and a transient activation of T cells.

Three different Ep-CAM-specific BiTEs were so far tested in NOD/SCID mouse models against subcutaneously growing human colon carcinoma cells. Tumor cells had to be mixed with unstimulated human peripheral blood lymphocytes at a ratio of 1:1 in order to have a source of human T effector cells. All BiTEs tested showed potent anti-tumor activity in that they prevented tumor outgrowth with 5 daily i.v. injections of 0.1–1 µg BiTE in all animals. Where tested, Ep-CAM-specific BiTEs could also eradicate established subcutaneous tumors with sizes between 100 and 200 mm³, which required slightly higher BiTE doses of 1–10 µg BiTE given daily. This in-vivo activity did not require costimulatory agents of any kind, or preactivation of T cells.

Ep-CAM-specific BiTEs were also capable of eradicating human ovarian cancer tissue in NOD/SCID mice. Apparently, this activity of BiTEs relied on reactivation of the endogenous human T cells carried along by the metastatic tissue. An Ep-CAM-specific BiTE with a murine-specific anti-CD3 portion was highly active in an immunocompetent mouse model against both subcutaneous tumor growth and against disseminated tumor cells growing out in the lung. This is the first model showing that endogenous T cells of the mouse are activated by BiTEs without costimulation and can successfully eliminate disseminated syngeneic tumor cells transfected with human Ep-CAM.

Development of BiTEs against late-stage carcinoma provides an enormous challenge. BiTEs need to penetrate well into tumor tissue and there reactivate tumor-resident T cells, which may have been tolerized or aner-

gized by tumor cells. Tumor cells will present to BiTE-activated T cells with various T cell evasion mechanisms, and at very unfavorable E:T ratios. The same time, healthy cells expressing the target antigen should not be harmed by BiTE-activated T cells. This requires a careful selection of tumor-associated target antigens and the establishment of appropriate pre-clinical models to assess the therapeutic window of new BiTE molecules.

References

- Baeuerle, P. A., Kufer, P., Lutterbüse, R., Bispecific antibodies for polyclonal T cell engagement. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **5**, 413 (2003)
- Baeuerle, P. A., Wolf, E., Neuartige Medikamente mobilisieren T-Zellen gegen Krebszellen. *Deutsche Zeitschrift für Klinische Forschung* **5/6**, 34 (2005)
- Brischwein, K., Schlereth, B., Guller, B., Steiger, C., Wolf, A., Lutterbüse, R., Offner, S., Locher, M., Urbig, T., Raum, T., Kleindienst, P., Wimberger, P., Kimmig, R., Fichtner, I., Kufer, P., da Silva, A. J., Baeuerle, P. A., MT110: A novel bispecific single-chain antibody construct with high efficacy in eradicating solid tumors. *Mol. Immunol.*, in press (2006)
- Dreier, T., Baeuerle, P. A., Fichtner, I., Grün, M., Schlereth, B., Lorenczewski, G., Kufer, P., Lutterbüse, R., Riethmüller, G., Gjørstrup, P., Bargou, R., T cell costimulus-independent and very efficacious inhibition of tumor growth in mice bearing subcutaneous or leukemic human B cell lymphoma xenografts by a CD19-/CD3-bispecific single-chain antibody construct. *J. Immunol.* **170**, 4397 (2003)
- Dreier, T., Lorenczewski, G., Brandl, C., Hoffmann, P., Syring, U., Hanakam, F., Kufer, P., Riethmüller, G., Bargou, R., Baeuerle, P. A., Extremely potent, rapid and costimulation-independent cytotoxic T cell response against B lymphoma cells catalyzed by a single-chain bispecific antibody. *Intl. J. Cancer* **100**, 690 (2002)
- Hoffmann, P., Hofmeister, R., Brischwein, K., Brandl, C., Bargou, R., Itin, C., Crommer, S., Prang, N., Baeuerle, P. A., Serial killing of tumor cells by cytotoxic T cells activated through a bispecific single-chain antibody construct. *Intl. J. Cancer* **115**, 98 (2005)
- Kufer, P., Lutterbüse, R., Baeuerle, P. A., A revival of bispecific antibodies. *Trends Biotechnol.* **22**, 238 (2004)
- Kufer, P., Lutterbüse, R., Baeuerle, P. A., The promise of bispecific antibodies. *Discovery Medicine* **4**, 325 (2004)
- Kufer, P., Zettl, F., Borschert, K., Lutterbüse, R., Kischel, R., Riethmüller, G., Minimal costimulatory requirements for T cell priming and TH1 differentiation: activation of naive human T lymphocytes by tumor cells armed with bifunctional antibody constructs. *Cancer Immunity* **1**, 10 (2001)
- Löffler, A., Gruen, M., Wuchter, C., Schriever, F., Kufer, P., Dreier, T., Hanakam, F., Baeuerle, P. A., Bommert, K., Karawajew, L., Dörken, B., Bargou, R. C., Efficient elimination of chronic lymphocytic B cells by autologous T cells with a bispecific CD19xCD3 single-chain antibody. *Leukemia* **17**, 900 (2003)
- Offner, S., Hofmeister, R., Romaniuk, A., Kufer, P., Baeuerle, P. A., Induction of regular cytolytic T cell synapses by bispecific single-chain antibody constructs. *Mol. Immunol.*, in press (2005)
- Schlereth, B., Fichtner, I., Lorenczewski, G., Kleindienst, P., Brischwein, K., Kufer, P., Lutterbüse, R., Wimberger, P., Kimmig, R., Baeuerle, P. A., Eradication of tumors from a human colon cancer cell line and primary ovarian cancer metastases in immunodeficient mice by a single-chain Ep-CAM-/CD3-bispecific antibody construct. *Cancer Res.* **56**, 2882 (2005)
- Schlereth, B., Kleindienst, P., Fichtner, I., Lorenczewski, G., Brischwein, K., Lippold, S., da Silva, A. J., Locher, M., Kischel, R., Lutterbüse, R., Kufer, P., Baeuerle, P. A., Potent inhibition of local and disseminated tumor growth in immunocompetent mice by a bispecific single-chain antibody construct specific for murine CD3. *Cancer Immunol Immunother.*, in press (2006)
- Schlereth, B., Quadt, C., Dreier, T., Lorenczewski, G., Lippold, S., Fargo, S. P., Cobb, K. E., Leo, E., Kufer, P., Bargou, R., Murthy, K., Baeuerle, P. A., T cell activation and B cell depletion in chimpanzees by an anti-CD19/anti-CD3 single-chain bispecific antibody construct. *Cancer Immunol. Immunother.*, in press (2005)
- Wimberger, P., Xiang, W., Mayr, D., Diebold, J., Dreier, T., Baeuerle, P. A., Kimmig, R., Efficient tumor cell lysis by autologous, tumor-resident T lymphocytes in primary ovarian cancer samples by an Ep-CAM-/CD3-bispecific antibody. *Int. J. Cancer* **105**, 241 (2003)
- Wolf, E., Baeuerle, P. A., Micromet: engaging immune cells for life. *Drug Discovery Today* **6**, S25 (2002)
- Wolf, E., Hofmeister, R., Kufer, P., Schlereth, B., Baeuerle, P. A., BiTEs: Bispecific antibody constructs with unique anti-tumor activity. *Drug Discovery Today* **10**, 1237 (2005)
- Zocher, M., Baeuerle, P. A., A bispecific single-chain antibody fusion protein for the targeted depletion of autoreactive B cells via unstimulated human T lymphocytes. *Mol. Immunol.* **41**, 511 (2004)

Monoklonale Antikörper bei nicht-malignen Erkrankungen

Anti-Tumor Nekrose Faktor- α -Antikörper bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa)

Stefan Schreiber

Christian-Albrechts-Universität, Klinik für Allgemeine Innere Medizin und Institut für Klinische Molekularbiologie, Kiel

Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sind chronisch rezidivierende Erkrankungen, die die Entwicklung langfristiger Therapiekonzepte benötigen. Nicht das Management des einzelnen Schubes, sondern die langfristige Reduktion der Krankheitsaktivität und des Bedarfs an chronischer Medikation senkt Gesamtmorbidität und Komplikationen. Neben der Reduktion der entzündlichen Aktivität ist daher die Vermeidung einer Co-Morbidität durch chronische Therapien (z. B. durch eine chronische Medikation mit Glucocorticoiden) notwendig.

Die Sekretion pro-entzündlicher Botenstoffe wie insbesondere Tumor Nekrose Faktor (TNF) scheint ein Schlüsselement der entzündlichen Pathophysiologie des M. Crohn zu sein. Viele der klinisch eingesetzten Immunsuppressiva (z. B. Glucocorticoide, Azathioprin) inhibieren breit die Freisetzung pro-entzündlicher Botenstoffe. Die spezifische Hemmung des Zytokins TNF durch den intravenösen Einsatz eines chimären Antikörpers (Infliximab) ist eine vor kurzem etablierte Alternative zur Immunmodulation. Eine kurzfristige Wirkung mit schnellem Wirkungseintritt, aber auch eine langfristige Wirkung von Infliximab können als gut etabliert angesehen werden.

M. Crohn und Colitis ulcerosa werden oft als zwar klinisch unterscheidbare Erkrankungen angesehen, die jedoch wesentliche Elemente der Immunpathophysiologie zu teilen scheinen. Die vor kurzem gezeigte Effizienz einer Anti-TNF-Therapie bei Colitis ulcerosa ist ein wesentlicher therapeutischer Fortschritt, beweist jedoch auch, daß viele der aus Mausmodellen für diese Erkrankung abgeleiteten immunologischen Hypothesen (z. B. TH2-Mechanismus der Entzündung bei Colitis ulcerosa) auf die menschliche Erkrankung keine Anwendung finden.

Infliximab ist ein vollständig in der Maus hergestellter Antikörper gegen menschliches TNF, in dem gentechnologisch ein menschlicher Fc-Teil eingebracht wurde. Ein besonderes Problem ist die Immunisierung des Patienten, die zu einem Wirkungsverlust und auch Nebenwirkungen führen kann. Vor kurzem sind erste Phase II-Studien mit Nachfolgesubstanzen abgeschlossen worden. Certolizumab Pegol ist ein murines (Fab)

Antikörperfragment, das dann PEGyliert wurde. Adalimumab wurde komplett aus humaner Sequenz durch das phage-display-System entwickelt. Vor kurzem wurde eine erste 12wöchige Phase II-Studie mit Certolizumab Pegol abgeschlossen. Auffallend war ein ungewöhnlich hoher Anteil von CRP (C-reaktives Protein)-negativen Patienten, die rekrutiert wurden. Die Wirkung bei M. Crohn in der CRP-positiven Population ist der von Infliximab in der Akutphase vergleichbar. Dies wurde auch im bislang nur in Abstract-Form veröffentlichten Phase III-Programm (PRECISE 2-Studie) bestätigt.

Die Nebenwirkungen der Anti-TNF-Therapie sind bislang nur für Infliximab ausreichend bekannt, da dieses seit mehreren Jahren zugelassen ist. Viele (z. B. bronchopulmonale Infekte, opportunistische Infektionen, Reaktivierung von Tuberkulose) sind unmittelbar durch die erhebliche Immunsuppression erklärbar. Andere sind bislang nicht klar. So besteht die Möglichkeit einer Erhöhung der Gesamtmortalität durch die Infliximab-Therapie und einer höheren Frequenz von malignen Erkrankungen. Von besonderer Bedeutung für den behandelnden Arzt ist jedoch die Immunisierung gegen das Protein, die zu Infusionsreaktionen und vor allem zu einem Wirkungsverlust bei chronischer Therapie führen kann. Strategien, diese Immunisierung zu vermeiden, sind nicht gut charakterisiert und basieren entweder auf der Co-Medikation mit Glucocorticoiden (einmalig 100 mg Hydrocortison bei jeder Gabe des Antikörpers) oder dem Einsatz von Immunsuppressiva (z. B. Azathioprin oder Methotrexat).

Ein Einsatz von Anti-TNF-Molekülen sollte Bestandteil eines langfristigen Konzeptes sein. Eine Kombination mit Azathioprin wird oft durchgeführt, wobei bislang formale, prospektiv erhobene Daten fehlen. Verschiedene weitere Anti-TNF-Moleküle (Antikörper wie Adalimumab, rekombinante natürlicherweise TNF-bindende Proteine wie TNF-binding protein I (TBP1, TNF-R p55) oder Antisense-Konstrukte wie Orasense) sind ebenso wie andere therapeutische Prinzipien (z. B. Blockade von Adhäsionsmolekülen) in verschiedenen Stadien der Entwicklung.

Monoklonale Antikörpertherapie bei rheumatoider Arthritis

Joachim Robert Kalden

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Medizinische Klinik 3 mit Poliklinik –
Rheumatologie, Immunologie und Onkologie, Erlangen

1 % der Bevölkerung in der EU leiden an einer rheumatoiden Arthritis (RA). Aufgrund eines begrenzten Therapierepertoires in den vergangenen Jahren führte die rheumatoide Arthritis bei etwa 25 % der Patienten nach 6 Jahren zu einer Arbeitsunfähigkeit und bei etwa 50–60 % der Patienten nach 10 Jahren zu einer Arbeitslosigkeit. Die Lebenserwartung von Patienten mit einer rheumatoiden Arthritis ist auch noch heute gegenüber Kontrollpopulationen signifikant vermindert.

Basierend auf Ergebnissen aus einem Versuchstiermodell der Kollagen II-induzierten Arthritis, die eine klare Inhibition der Arthritis durch die Anwendung eines monoklonalen Antikörpers gegen Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) zeigten, wurde zunächst am Kennedy Institut in London eine Phase I-Studie bei Patienten mit einer RA und dem TNF-inhibierenden monoklonalen Antikörper Remicade durchgeführt, gefolgt von einer doppelblinden Placebo-kontrollierten Studie an vier Zentren in Europa (dem Kennedy Institut in London und den rheumatologischen Einheiten in Leiden/Niederlande, Wien/Österreich und Erlangen). In beiden Studien zeigte sich die signifikante klinische Effizienz einer TNF-Blockade. Begleitende Untersuchungen erbrachten, daß mit einer Blockade des TNF- α auch weitere proinflammatorische Zytokine, wie Interleukin-1 und Interleukin-6, zu blockieren waren. Gleichzeitig kam es zu einer verminderten Expression von Adhäsionsmolekülen. In Folgestudien, besonders der ATTRACT-Studie, wurde herausgearbeitet, daß Patienten, die auf eine Methotrexat-Medikation nicht mehr ausreichend eine klinische Besserung zeigten, durch die zusätzliche Therapie mit Remicade nicht nur eine signifikante Besserung ihrer klinischen Symptomatik aufwiesen, sondern ebenso eine signifikante Verminderung der radiologischen Progression von Knorpel- und Knochendestruktionen zeigten.

Neben Remicade sind zwei weitere Moleküle zur Therapie der RA zugelassen, Humira, ein humaner monoklonaler Antikörper, sowie Enbrel, ein TNF- α p75 Fc-Rezeptor-Fusionsprotein. Mit beiden Medikationen konnte in ähnlicher Weise wie mit Remicade eine signifikante Besserung der klinischen Symptomatik und eine signifikante Inhibition von Knorpel- und Knochendestruktionen bei Patienten mit einer RA erreicht werden. Dabei scheint die Kombination der TNF- α -blockierenden Medikamente mit Methotrexat der Monotherapie mit einem TNF- α -blockierenden Agens überlegen zu sein.

Etwa 60–70 % der Patienten mit einer RA sind mit der Kombination einer TNF- α -Blockade und Methotrexat zufriedenstellend zu therapieren. 35 % der Patienten sind als Non-Responder zu definieren. Von Interesse ist die Beobachtung, daß RA-Patienten, die sich nicht responsiv gegenüber z. B. Humira zeigen, nach einem Wechsel zu Enbrel oder Remicade durchaus eine deutliche klinische Besserung entwickeln können. Mit allen drei auf dem Markt befindlichen TNF- α -blockierenden Medikamenten wurde dieses Wechselphänomen beobachtet. Dieser Befund weist darauf hin, daß neben einer Neutralisation von TNF- α noch weitere unterschiedliche Wirkmechanismen der einzelnen Moleküle bestehen müssen, die diesem Therapieerfolg nach einem Wechsel von einem zu einem anderen TNF- α -Blocker zugrunde liegen.

Die erwarteten Nebenwirkungen hinsichtlich der Entwicklung von Autoimmunität, der Entwicklung von neutralisierenden Antikörpern gegen das Therapieprinzip, sind nicht in signifikantem Maße eingetreten. Auch die Möglichkeit einer höheren Inzidenz von malignen Lymphomen bei RA-Patienten infolge einer TNF- α -Blockade hat sich bislang auch bei sehr großen behandelten Patientenkollektiven nicht gezeigt. Gleiches gilt für die Entwicklung von soliden Tumoren. Anders verhält es sich mit dem Auftreten von Infektionen, wobei besonders das Auftreten bzw. die Reaktivierung einer Tuberkulose unter einer TNF- α -Medikation ein klinisches Problem darstellt, das sich jedoch durch eine entsprechende sorgfältige Anamneseerhebung und durch eine entsprechende Untersuchung mit einer Röntgen-Thoraxaufnahme sowie einem Tine-Test in seiner Bedeutung abgeschwächt hat. Gleichwohl bleiben Infektionen eine kritisch zu betrachtende Nebenwirkung eines TNF-blockierenden Therapieprinzips.

Trotz des immensen Fortschritts in unseren Therapieoptionen für RA-Patienten spricht, wie erwähnt, eine TNF- α -Blockade bei etwa 30 % nicht an. Daher sind weitere Untersuchungen zur Definition neuer Targets notwendig. Vielsprechend sind bereits vorliegende Daten mit der Anwendung eines monoklonalen Antikörpers gegen den Interleukin-6-Rezeptor sowie die Gabe eines CTLA-4 Ig-Fusionsproteins, das die Interaktion zwischen Antigen-präsentierenden- und T-Zellen inhibiert.

Monoklonale Antikörper bei Psoriasis

Wolf-Henning Boehncke

Johann Wolfgang Goethe-Universität, Klinikum und Fachbereich Medizin, Zentrum der Dermatologie und Venerologie, Abteilung Allergologie/Immunologie, Frankfurt/Main

Die Psoriasis wird derzeit als immunvermittelte entzündliche Erkrankung angesehen, wobei T-Lymphozyten eine zentrale Rolle als Effektor-Zellen eingeräumt wird (NEJM **352**, 1899–1912; 2005). Pathogenetisch weist sie Ähnlichkeiten mit allergischen Typ-IV-Reaktionen auf:

Ein putatives (Auto-)Antigen wird von Langerhans-Zellen der Epidermis aufgenommen, in regionäre Lymphknoten transportiert und dort naiven Lymphozyten präsentiert. Antigen-spezifische T-Lymphozyten werden so aktiviert, reifen zu Effektorzellen und rezirkulieren Kompartiment-spezifisch in die Haut, wo sie das Gefäßsystem verlassen, um einem Chemokin-Gradienten folgend in die Epidermis zu migrieren. Re-Aktivierung vor Ort resultiert in der Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine, wodurch ein durch Th1-Zytokine dominiertes Milieu entsteht, die lokale Entzündungsreaktion verstärkt wird und das sichtbare Symptom der erythematö-squamösen Plaques entsteht.

Diesem Pathogenese-Modell folgend lassen sich mindestens fünf therapeutische Interventionsstrategien definieren:

- Blockade der T-Zell-Aktivierung im Lymphknoten bzw. ihrer Re-Aktivierung in der Haut
- Inhibition der Lymphozyten-Extravasation bzw. Chemotaxis
- Neutralisation pro-inflammatorischer Zytokine
- Normalisierung des Th1-Zytokinmilieus
- Beseitigung der Effektor-T-Lymphozyten

Diese Prozesse sind mittlerweile gut untersucht. Zahlreiche Schlüsselmoleküle konnten identifiziert werden, darunter wichtige Adhäsionsmoleküle für die T-Zell-Co-Stimulation und deren Extravasation sowie zentrale pro-inflammatorische Zytokine. Derzeit stehen Biologics gegen alle genannten Strukturen zur Verfügung, und jede der fünf o. g. Therapiestrategien hat sich als prinzipiell wirksam erwiesen. Aktuell (Juni 2005) stehen mehrere Biologics für die Behandlung der Psoriasis zur Verfügung. Innerhalb der EU sind für diese Indikation jedoch lediglich ein monoklonaler Antikörper sowie ein Fusionsmolekül zugelassen, für einen weiteren monoklonalen Antikörper wird mit der Zulassung noch 2005 gerechnet. Nachfolgend werden diese beiden Antikörper charakterisiert.

Efalizumab ist ein humanisierter monoklonaler Antikörper gegen die größere α -Untereinheit von LFA-1. Er blockiert die ICAM-1-abhängige Co-Stimulation von T-Zellen sowie deren feste Adhäsion im Rahmen der

Lymphozyten-Extravasation und schließlich deren weitere Wanderung in Richtung Epidermis.

In zwei großen Phase III-Studien an insgesamt 1095 Patienten wurde die Effektivität von Efalizumab dokumentiert. Die subkutane Injektion von 1 bzw. 2 mg/kg resultierte bei 29,2 % bzw. 27,6 % der Behandelten nach 12 Wochen eine PASI (Psoriasis Area and Severity Index)-Reduktion von mindestens 75 %. Den Patienten einer der beiden großen Phase III-Studien wurde die Möglichkeit gegeben, die Behandlung fortzusetzen. Dabei zeigte sich, daß eine kontinuierliche Therapie längerfristig einen sehr guten Hautzustand zu stabilisieren vermag.

Für die Efalizumab-Studien liegen umfangreiche Daten zur Auswirkung dieser Therapie auf die Lebensqualität der Patienten vor. Zur Messung wurden unterschiedliche Instrumente verwendet. Dabei fand sich übereinstimmend eine robuste und ausgeprägte Verbesserung aller untersuchten Aspekte der Lebensqualität, angefangen bei den subjektiven Hautsymptomen bis hin zu sozialen und Freizeitaktivität.

Die gepoolten Daten der beiden großen Phase III-Studien umfassen die bisher größte Kohorte von mit einem Biologic behandelten Psoriasis-Patienten und sind in sich sehr konsistent. Danach traten relativ häufig akute Nebenwirkungen am Tag der Injektion oder innerhalb der beiden nachfolgenden Tage auf. Dabei handelte es sich meist um Kopfschmerzen, Schüttelfrost, Fieber, Übelkeit, Erbrechen oder Myalgien. Die Inzidenz dieser Symptome war im Zusammenhang mit der ersten Injektion am höchsten und fiel bis zur dritten Injektion auf das Niveau der Placebo-Gruppen ab. Nach Absetzen von Efalizumab kommt es i. d. R. binnen 2 Monaten zum Wiederauftreten der Psoriasis. In bis zu 5 % der Fälle tritt jedoch ein sog. Rebound auf, d. h. eine Verschlechterung auf 125 % gegenüber dem Ausgangsbefund oder ein Wandel des klinischen Bildes hin zu einer entzündlicheren Variante der Psoriasis. Die unter Efalizumab auftretende Lymphozytose ist wahrscheinlich auf dessen Wirkmechanismus zurück zu führen (s. o.) und bildet sich nach Absetzen vollständig zurück. Extrem selten wurden außerdem Thrombozytopenien beobachtet.

Infliximab ist ein gegen Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) gerichteter chimärer IgG1-Antikörper mit einem murinen TNF- α bindenden Anteil. Der Antikörper bindet nicht nur lösliches, sondern auch bereits Rezeptor-gebundenes oder transmembranös gebundenes

TNF- α und blockiert so dessen pro-inflammatorische Effekte. Darüber hinaus vermittelt Infliximab die Lyse von TNF- α produzierenden Zellen.

Nachdem eine gute Wirksamkeit von Infliximab bei rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn belegt war, ergaben sich erste Hinweise auf eine Effektivität auch gegenüber der Psoriasis im Rahmen einer Studie mit 33 Patienten: Die überwiegende Mehrzahl der mit Infliximab behandelten Probanden zeigte einen schnellen und deutlichen Therapieeffekt. Daraufhin wurde eine Placebo-kontrollierte Studie mit 250 Patienten initiiert, von denen je 99 in den Wochen 0, 2 und 6 mit intravenösen Infusionen in einer Dosis von 3 bzw. 5 mg/kg Körpergewicht behandelt wurden. In Woche 10 hatten 88 % der Gruppe mit einer Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht eine Reduktion des PASI um mehr als 75 % erreicht. Bemerkenswert war auch der schnelle Wirkungseintritt mit einem bereits nach 4 Wochen deutlich sichtbaren Therapieerfolg.

Für Infliximab besteht die Möglichkeit, auf umfangreiches Datenmaterial aus dessen Anwendung bei Morbus Crohn und rheumatoider Arthritis zurückzugreifen. Bei knapp 20 % der mit Infliximab behandelten Patienten kommt es zu Infusionsreaktionen. Da es auch zum Auftreten neutralisierender Antikörper kommen kann, besteht die Möglichkeit der Entwicklung einer Serumkrankheit mit einer Latenz von einigen Tagen nach der Infusion. Dieselben Antikörper könnten eine Erklärung für die klinische Erfahrung einer bei manchen Patienten allmählich abnehmenden Wirksamkeit von Infliximab darstellen. Neben neutralisierenden Antikörpern werden unter Infliximab antinukleäre Antikörper beobachtet. Die Manifestation eines Lupus erythematodes stellt hingegen im Rahmen der bisherigen Therapien eine absolute Ausnahme dar. Das Risiko der Entwicklung einer aktiven Tuberkulose unter Infliximab ist höher als unter Patienten mit rheumatoider Arthritis ohne

Infliximab-Therapie (24,4 im Vergleich zu 6,2 Fällen pro 100 000 Patientenjahre). Das Paul-Ehrlich-Institut hat daher Empfehlungen für die Durchführung von Tuberkulin-Hauttests vor Initiation einer Infliximab-Therapie erlassen. Auch die Rate schwerer Infektionserkrankungen liegt unter Infliximab-Therapie höher als erwartet. Im Gegensatz dazu kann jedoch eine Assoziation zwischen Infliximab-Therapie und dem Auftreten von Lymphomen derzeit nicht als gesichert angesehen werden.

Beide o. g. Biologics stellen für Psoriasis-Patienten wertvolle Ergänzungen der therapeutischen Möglichkeiten dar und adressieren einige der vielen „unmet needs“ auf diesem Gebiet: Efalizumab ist leicht applizierbar und macht Patienten somit erheblich unabhängiger. Beide Biologics wirken auch bei sog. „high need“ Patienten mit unzureichendem Ansprechen auf etablierte Therapeutika und weisen aufgrund fehlender Endorgantoxizität weniger Kontraindikationen auf. Infliximab bietet eine hohe Wirksamkeit bei schnellem Wirkungseintritt sowie darüber hinaus auch eine gute Effektivität bei Psoriasis-Arthritis.

Die Effektivität verfügbarer Biologics belegt die Relevanz der gewählten therapeutischen Zielstrukturen. Mehrere weitere Biologics mit vergleichbaren Wirkmechanismen befinden sich in zumeist weit fortgeschrittenen Phasen der klinischen Prüfung. Zukünftig wird es u. a. darum gehen, diese Wirkmechanismen zu optimieren. Beispielsweise gibt es Grund zu der Annahme, daß ein anti-ICAM-1-Antikörper im Vergleich zu dem anti-LFA-1-Antikörper Efalizumab vorteilhaft sein könnte. Neue Entwicklungen könnten die Herstellung niedermolekularer Inhibitoren der als wichtig erkannten Zielstrukturen verfolgen. Zusammenfassend erscheinen die Biologics allgemein und speziell die monoklonalen Antikörper bereits heute als Medizin gewordene Immunologie auf dem Gebiet der Dermatologie.

Monoklonale Antikörper bei Multipler Sklerose

Ralf Gold

Georg-August-Universität, Bereich Humanmedizin, Institut für Multiple Sklerose Forschung, Göttingen

Die Multiple Sklerose (MS) ist eine meist chronisch verlaufende, entzündliche Erkrankung des Zentralnervensystems (ZNS). Die Erforschung der Pathogenese hat in den letzten Jahren erhebliche Fortschritte erzielt. Dazu trugen sowohl Befunde aus humanen Studien als auch experimentelle Untersuchungen bei. Allerdings wurde

auch klar, daß mit der Diagnose MS eine heterogene Erkrankung vorliegt. Die Verbesserungen in der Pathogeneseforschung und Diagnostik führten, parallel zu einer Weiterentwicklung klinischer Studien, zu einer Reihe neuartiger Therapieansätze. Im Zeitalter der molekularen Medizin wurden auch definierte Therapieziele

mittels monoklonaler Antikörper angegangen. Diese stehen im Mittelpunkt des Übersichtsreferates.

Wahrscheinlich spielt eine T-Zell-getriggerte, zytotoxische Immunantwort bei mindestens 50 % der MS-Patienten eine dominante Rolle. In Analogie zu Ansätzen aus der Transplantationsmedizin wurden deshalb verschiedene Reagenzien gegen T-Zell-Differenzierungs- und Aktivierungsmoleküle eingesetzt. Der Antikörper Campath-1H® (Alemtuzumab) erkennt das Differenzierungsmolekül CD52 auf Leukozyten. Die erste größere Studie wurde bei sekundär chronisch-progredienter MS durchgeführt und zeigte eine interessante Dissoziation zwischen Entzündungsbegrenzung und Fortschreiten neurodegenerativer Veränderungen. Als wesentliche Nebenwirkung wurden bis zu 30 % Autoimmunthyreopathien beschrieben. Momentan wird der Antikörper auf Grund seiner guten schubreduzierenden Wirkung bei Patienten mit schubförmiger MS in einer Phase II-Studie untersucht.

Ein wesentliches Aktivierungssignal für T-Zell-Proliferation stellt die Besetzung des Interleukin-2 (IL2)-Rezeptors dar. Der monoklonale Antikörper gegen diesen Rezeptor (Daclizumab, Zenapax®) wurde zunächst ebenfalls für die Verhinderung von Abstoßungsreaktionen entwickelt. Bei der Multiplen Sklerose wurde bereits eine erste, sehr sorgfältig geplante Studie an 10 Patienten durchgeführt, die hohe Entzündungsaktivität hatten und zusätzlich zu Interferon- β in vierwöchentlichen Gaben den Antikörper erhielten. Die Therapie wurde sehr gut vertragen und führte zu einer 78%igen Reduktion neuer, Kontrastmittel aufnehmender Läsionen. Damit verbunden war eine signifikante Verbesserung verschiedener sekundärer und tertiärer Endpunkte. Somit stellt Daclizumab eine mögliche „Add-on-Behandlung“ als Alternative zu aggressiver Immunsuppression bei MS dar, muß aber noch in weiteren Studien charakterisiert werden.

Weitere kleinere Therapieansätze mit monoklonalen Antikörpern richten sich gegen spezialisierte, mit der Erkennung von Autoantigenen im ZNS verknüpfte T-Zell-Rezeptoren, die hier aber nicht im Detail dargestellt werden.

In Analogie zu den T-Zellen zeigen histopathologische Befunde auch, daß bei mindestens 30 % der Patienten die B-Zellen eine dominante Rolle in der Läsionsentstehung durch Ablagerung von Antikörpern einnehmen. Dies wird unterstützt durch die klinische Wirksamkeit der Plasmapherese bei schweren MS-Schüben. Der gegen das B-Zell-Antigen CD20 gerichtete Antikörper Rituximab (Mabthera®) wurde exemplarisch bei einer B-Zell-vermittelten Unterform der MS eingesetzt: Bei der Neuromyelitis optica (Devic-Syndrom) wurden 7 Patienten durch die Gabe des Antikörpers

über mindestens 1 Jahr gebessert und blieben schubfrei. Weitere Studien an MS-Patienten laufen zur Zeit in Nordamerika.

Als nächster Schritt in der pathogenetischen Kaskade ist die Blockade von Adhäsionsmolekülen in die Therapie aufgenommen worden. Dies basiert auf grundlegenden Untersuchungen aus der Steinman-Gruppe Anfang der 90er Jahre. Das Adhäsionsmolekül VLA-4 wurde innerhalb von weniger als 10 Jahren aus dem Labor in klinische Phase III-Studien weiterentwickelt. Die beobachteten Wirkeffekte mit mehr als 70%iger Schubreduktion und ca. 40 % stabilen Patienten über einen Zeitraum von 2 Jahren waren überzeugend und könnten einen Durchbruch bei der Behandlung schubförmiger MS darstellen. Die Kurzzeitverträglichkeit war exzellent. Neutralisierende Antikörper mit entsprechenden allergischen Reaktionen traten bei 6 % der Patienten auf. Völlig überraschend wurden nun jedoch insgesamt drei gesicherte Fälle einer opportunistischen Virusinfektion mit JC-Virus unter Therapie mit dem Anti-VLA-4-Antikörper Natalizumab (Tysabri®) berichtet. Die pathogenetischen Mechanismen werden zur Zeit nur teilweise verstanden. Die Schwere der daraus resultierenden Virusinfektion des Nervensystems, die progressive multifokale Leukenzephalopathie, läßt jedoch befürchten, daß diese Therapie nicht als Basistherapie Eingang in die MS-Behandlung nehmen wird.

In den 90er Jahren wurde dem Zytokin Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) eine zentrale Rolle für die Schädigung des Gehirns bei MS-Patienten eingeräumt. Hierzu wurde vor allem eine Apoptose induzierende Wirkung auf die myelinbildenden Oligodendrozyten in den Vordergrund gestellt. Völlig unbeachtet blieb allerdings, daß über TNF- α auch eine Entzündungsbegrenzung durch apoptotischen Zelltod inflammatorischer T-Zellen erreicht wird. Insofern ist es nicht überraschend, daß eine erste kleinere Studie mit einem monoklonalen Antikörper gegen TNF- α sowie die darauffolgende Studie mit dem rekombinanten p55 TNF-Rezeptor-IgG-Fusionsprotein Lenercept sämtlich negativ verliefen und sogar zu einem Anstieg der Entzündungsaktivität führten. Dies hat deutlich gemacht, daß Zytokine immunbiologisch häufig in einem komplexen Netzwerk stehen.

An laufenden Therapiestudien sind momentan die Untersuchungen mit B-Zell-gerichteten Antikörpern sowie Therapiestudien mit monoklonalen Antikörpern gegen IL-12 besonders anzuführen. In der Grundlagenforschung nehmen Therapien zur Stärkung sogenannter regulatorischer T-Zellen eine zunehmende Bedeutung ein. Zukünftig wird sicher intensiver auf den Netzwerkcharakter biologischer Systeme sowie auf unerwartete Nebenwirkungen neuartiger Immuntherapien geachtet werden müssen.

Monoklonale Antikörper bei Lymphomen

Chemo-immunotherapy – the Role of Monoclonal Antibodies for the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL)

Michael Hallek, Clemens-Martin Wendtner, Günter Fingerle-Rowson, Kirsten Fischer, Valentin Goede, Carmen Schweighofer, Anna-Maria Fink, Thomas Elter, David Kofler, Raymonde Busch, Bertold Emmerich, and Barbara Eichhorst

For the German CLL Study Group (GCLLSG), Klinik I für Innere Medizin, Universität zu Köln, Cologne (Germany)

The last 15 years have seen a dynamic development of new agents for the treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL). Fludarabine and a monoclonal antibody, alemtuzumab, have been approved, and additional antibodies (anti-CD20, rituximab; anti-MHC II) are currently tested in clinical trials [1, 2]. The focus of this short review is the combined use of chemotherapy with monoclonal antibodies (commonly called chemo-immunotherapy) in CLL.

Combination chemotherapy with purine analogs

Fludarabine has been evaluated in a variety of combination regimens. One of the most promising and most thoroughly studied combinations is fludarabine plus cyclophosphamide (FC) [3]. In preliminary, non-comparative trials, the overall response rates did not appear to be better than with fludarabine alone, but the addition of cyclophosphamide appeared to improve the quality of the responses. This combination, with or without mitoxantrone, has achieved response rates of 64 % to 100 %, with complete remission (CR) rates of up to 50 % [3].

In a prospective trial of the German CLL study group (GCLLSG) comparing fludarabine versus FC, results for 375 patients showed superior response rate for the combination [4]. The FC combination chemotherapy resulted in a significantly higher complete remission rate (16 %) and overall response rate (94 %) compared to fludarabine alone (5 % and 83 %; $P = 0.004$ and 0.001 , respectively). The FC treatment also resulted in a longer median duration of response (48 vs. 20 months; $P = 0.001$), and a longer event-free survival (49 vs. 33 months; $P = 0.001$). So far, no difference in the median overall survival could be observed within a median observation period of 22 months. FC caused significantly more thrombocytopenia and neutropenia, but less anemia than fludarabine. FC did not increase the number of severe infections [4].

Rituximab-based chemo-immunotherapy

Rituximab, an anti-CD20 monoclonal antibody, has only recently provoked interest for the treatment of CLL. As a single agent rituximab is less active than in follicular lymphoma, unless very high doses are used [5, 6]. Somewhat surprisingly, combinations of rituximab with chemotherapy have proven to be very efficacious therapies for CLL. There is preclinical evidence for synergy between rituximab and fludarabine [7]. The majority of rituximab combination studies in CLL have focused on combinations with fludarabine or fludarabine-based regimens. A multicenter Phase II study of the German CLL study group has evaluated the efficacy and safety of rituximab plus fludarabine in patients with previously treated or untreated CLL [8]. Of 31 patients treated, 27 (87 %) responded, with 10 patients (32 %) achieving a complete response. Byrd and colleagues combined rituximab with fludarabine in either a sequential or concurrent regimen in a randomized study (CALGB 9712 protocol) [9]. Patients ($n = 104$) with previously untreated CLL received six cycles of fludarabine, with or without rituximab, followed by four once-weekly doses of rituximab. Overall and complete response rates were higher in the concurrent group (90 % and 47 % vs. 77 % and 28 %). Similarly, in a large Phase II trial conducted at the MD Anderson Cancer Center (Houston/Texas, USA) on 224 patients with previously untreated CLL, rituximab plus fludarabine/cyclophosphamide (FC) achieved a response rate of 95 %, with 71 % complete responses [10]. Median overall survival was not reached in patients treated with rituximab plus FC, and was significantly longer than in patients treated with FC alone in a historical comparison.

Alemtuzumab-based chemo-immunotherapy

Alemtuzumab is a recombinant, fully humanized, monoclonal antibody against the CD52 antigen. Monotherapy with alemtuzumab has produced response rates of 33 % to 53 %, with a median duration of response ranging from 8.7 to 15.4 months, in patients with advanced

Table 1: Summary of the therapeutic progress as determined by recent clinical trials on patients with CLL.

	Drugs	n	CR [%]	OR [%]	Survival
Rai et al. [21]	CLB	181	4	37	56
	F	170	20	63	66
Eichhorst et al. [4]	F	164	18	84	?
	FC	164	35	95	?
Keating et al. [10]	FC+R	224	73 ^{a)}	95	?

F = Fludarabine; CLB = Chlorambucil; FC = Fludarabine + Cyclophosphamide; R = Rituximab; CR = complete remission; OR = overall response.

^{a)} Some molecular remissions as determined by polymerase chain reaction.

CLL who were previously treated with alkylating agents and had failed or relapsed after second-line fludarabine therapy [11–13]. In addition, alemtuzumab has proven effective even in patients with poor prognostic factors, including high-risk genetic markers such as deletions of chromosome 11 or 17 and p53 mutations [14, 15]. If these results are confirmed in larger, prospective trials, alemtuzumab might be a rational choice for first-line treatment of patients with these poor prognostic factors.

Alemtuzumab consolidation therapy after fludarabine-based chemotherapy also improved the quality of responses, achieved molecular remissions in a substantial proportion of patients, and increased progression-free survival (PFS) compared with patients who had no further treatment [16–18]. Results of a Phase III trial by the GCLLSG showed improved PFS with alemtuzumab consolidation therapy compared to the observation arm (no progression vs. 24.7 months, $P = 0.036$) when calculated from the start of fludarabine-based treatment [16]. When PFS was calculated from the date of alemtuzumab administration, the same benefit was apparent, with no progression compared to 17.8 months for alemtuzumab versus the observation arm ($P = 0.036$). O'Brien and colleagues reported an overall response rate of 53 %, comprised of 9 of 23 (39 %) at a 10-mg dose and 17 of 26 (65 %) at a 30-mg dose ($P = 0.066$) [18]. Residual disease was cleared from the bone marrow in most patients, and 11 (38 %) of the 29 patients with available data achieved a molecular remission. Median time to disease progression had not yet been reached for patients who achieved MRD (minimal residual disease) negativity, compared to 15 months for patients who still had residual disease after alemtuzumab consolidation treatment [18]. While the GCLLSG trial was halted early because of infectious adverse events, the study by O'Brien et al. had no such issue, perhaps due to a longer time interval between induction therapy and consolidation with alemtuzumab (6 months versus 3 months in the GCLLSG study).

Perhaps the most potent regimen for CLL is the combination of the most effective single chemotherapeutic agent with the most effective monoclonal antibody-fludarabine plus alemtuzumab. The synergistic activity of these two agents was initially suggested by the induction of responses, including one CR, in 5 of 6 patients

who were refractory to each agent alone [19]. The combination of fludarabine and alemtuzumab was investigated in a Phase II trial enrolling patients with relapsed CLL [20]. Using a four-weekly dosing protocol, this combination has proven feasible, safe, and very effective. Among the 36 patients, the ORR was 83 % (30/36 patients), which included 11 CRs (30 %) and 19 PRs (53 %) (overall response rate and partial remission); in addition, one patient achieved stable disease. Sixteen of 31 (53 %) evaluated patients achieved MRD negativity in the peripheral blood by 3 months' follow-up, and resolution of disease was observed in all disease sites, particularly in the blood, bone marrow and spleen. Overall the fludarabine/alemtuzumab combination therapy was fairly well tolerated.

Conclusion

In the last decade, impressive progress has been made in the therapy of CLL by using novel chemo-immunotherapies, which combine monoclonal antibodies with purine analogue-based chemotherapy. This approach has led to an increased response rate and prolonged treatment-free survival, from complete remissions about 4 % with chlorambucil to up to 70 % with the novel chemo-immunotherapies (Table 1). So far, it has not been formally proven by prospective, randomized trials that this approach prolongs overall survival of CLL patients. The ongoing prospective treatment protocols such as the CLL8 protocol of the GCLLSG, which compares the FC versus FC+R combination, will contribute to define the future value of chemo-immunotherapy for CLL.

References

- [1] Nagy, Z. A. et al., *Nature Med.* **8**, 801 (2002)
- [2] Hallek, M., *Nat. Clin. Pract. Oncol.* **2**, 338 (July 2005)
- [3] Hallek, M., Eichhorst, B. E., *Hematol. J.* **5** (Suppl. 1), S20 (2004)
- [4] Eichhorst, B. et al., *Blood*, in press (2005)
- [5] Huhn, D. et al., *Blood* **98**, 1326 (2001)
- [6] O'Brien, S. et al., *J. Clin. Oncol.* **19**, 2165 (2001)
- [7] di Gaetano, N. et al., *Br. J. Haematol.* **114**, 800 (2001)
- [8] Schulz, H., et al., *Blood* **100**, 3115 (2002)
- [9] Byrd, J. C. et al., *Blood* **101**, 6 (Jan 1, 2003)
- [10] Keating, M. J. et al., *J. Clin. Oncol.* **23**, 4079 (June 20, 2005)
- [11] Österborg, A. et al., *J. Clin. Oncol.* **15**, 1567 (1997)
- [12] Rai, K. R. et al., *J. Clin. Oncol.* **20**, 3891 (Sep 15, 2002)
- [13] Keating, M. J. et al., *Blood* **99**, 3554 (May 15, 2002)
- [14] Stilgenbauer, S., Dohner, H., *N. Engl. J. Med.* **347**, 452 (Aug 8, 2002)
- [15] Lozanski, G. et al., *Blood* **103**, 3278 (May 1, 2004)
- [16] Wendtner, C. M. et al., *Leukemia* **18**, 1093 (Jun, 2004)
- [17] Montillo, M. et al., *Haematologica* **87**, 695 (2002)
- [18] O'Brien, S. M. et al., *Cancer* **98**, 2657 (Dec 15, 2003)
- [19] Kennedy, B. et al., *Blood* **99**, 2245 (2002)
- [20] Elter, T. et al., *J. Clin. Oncol.*, E pub ahead of print (Sep 6, 2005)
- [21] Rai, K. R. et al., *N. Engl. J. Med.* **343**, 1750 (2000)

Radioaktiv markierte monoklonale Antikörper bei Non-Hodgkin-Lymphom

Joachim Kalmus

Schering AG, Medical Development Oncology Europe, Berlin

Unter dem Begriff Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) wird eine heterogene Gruppe von über 30 verschiedenen Tumorarten zusammengefaßt. In den westlichen Ländern hat die Inzidenz der NHL während der vergangenen Jahrzehnte stetig zugenommen. Heute liegt sie bei ca. 10/100 000 pro Jahr für Frauen und 14/100 000 pro Jahr für Männer. In den USA wird der Anteil der NHL auf fast 4 % aller diagnostizierten Malignome geschätzt, und unter den Ursachen krebsbedingter Todesfälle nehmen die NHL den sechsten Platz ein.

Klinisch-pathologisch unterscheidet man NHL hohen und niedrigen Malignitätsgrades. Paradoxe Weise sind Lymphome von hohem Malignitätsgrad, d. h. hoher Aggressivität, potentiell heilbar – so z. B. die großzelligen B-Zell-Lymphome. Als Grundlage für die Erstlinienbehandlung dieser Lymphome dient seit Jahrzehnten die Chemotherapiekomination CHOP (Cyclophosphamid, Adriamycin, Vincristin, Prednisolon), die heutzutage aufgrund der positiven Ergebnisse vergleichender Studien häufig zusammen mit dem Antikörper Rituximab gegeben wird. Erfährt der Patient mit großzelligem B-Zell-Lymphom ein Rezidiv, ist die Therapie der Wahl für die jüngeren Patienten unter 65 Jahren die autologe Stammzelltransplantation, ältere Patienten werden wegen der damit verbundenen großen Belastung und des hohen Risikos mit weiteren, oft experimentellen Therapien behandelt, jedoch mit meist unbefriedigendem Ergebnis.

Im Gegensatz zu den NHL hohen Malignitätsgrades sind die Lymphome von niedrigem Malignitätsgrad oder indolente Lymphome, wie z. B. das folliculäre Lymphom, im allgemeinen nicht mit herkömmlichen Therapieformen wie der Chemotherapie heilbar, auch wenn die Patienten mehrere Jahre überleben und mehrmals auf verschiedene Therapien ansprechen können.

Für alle Formen der NHL gilt, daß die Suche nach neuen Behandlungsmethoden von großer medizinischer Bedeutung ist, da die Behandlungserfolge bis heute limitiert sind.

Ein bedeutsamer neuer Behandlungsansatz ist die Radioimmuntherapie (RIT). Wegen der hohen Strahlensensitivität sind NHL für die RIT besonders gut geeignet. Es werden den Patienten radioaktiv markierte monoklonale Antikörper verabreicht, die die Isotope an die Oberfläche der malignen Zellen transportieren und so

mit „gezielter Bestrahlung“ die malignen Zellen zerstören. Die gesunden Zellen werden dabei in nur sehr begrenztem Maße in Mitleidenschaft gezogen. Die radioaktiv markierten Antikörper erreichen mit ihrem „Kreuzfeuereffekt“ auch benachbarte Tumorzellen, die Antigen-negativ oder zu denen keine monoklonalen Antikörper hingelangt sind.

Bei der RIT sind verschiedene Radioisotope gebräuchlich, doch werden in den meisten Studien Iod-131 (^{131}I) oder Yttrium-90 (^{90}Y) verwendet. Beide emittieren Beta-Partikel, deren zytotoxische Wirkung eine Reichweite von vielen Zelldurchmessern hat. Allerdings emittiert ^{131}I zusätzlich Gammastrahlung. ^{131}I wird oft eingesetzt, weil es breit verfügbar und mit relativ geringen Beschaffungskosten verbunden ist, sich leicht mit Antikörpern konjugieren läßt und die Nuklearmediziner mit seiner Anwendung von der Therapie des Schilddrüsenkarzinoms her vertraut sind.

^{131}I in der RIT bereitet allerdings für die klinische Praxis auch Probleme. Die mehrere Meter weit reichende Gammastrahlung verlangt besondere Schutzmaßnahmen während und nach der medizinischen Versorgung, so daß die Patienten für längere Zeit in der Klinik verbleiben müssen. Außerdem ist eine aufwendige, individuelle Dosimetrie aufgrund der variablen Biokinetik des markierten Antikörpers erforderlich, welche durch die individuelle Deiodierung des Antikörpers bedingt ist. Im Unterschied zu ^{131}I emittiert dagegen das kovalent an den Antikörper gebundene ^{90}Y ausschließlich kurz strahlende Beta-Partikel; dadurch ist es im Prinzip möglich, eine Behandlung mit ^{90}Y ambulant durchzuführen.

Die radioaktiv markierten monoklonalen Anti-CD20-Antikörper ^{131}I -Tositumomab und ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan sind klinisch am weitesten entwickelt. CD20 ist ein integrales Zellmembranprotein, das weder moduliert noch abgestoßen und bei NHL in relativ hoher Konzentration exprimiert wird. Als bislang einzige RIT, die in der Europäischen Union zugelassen wurde, wird ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin[®]) mit seiner klinischen Entwicklung beispielhaft vorgestellt:

Mitte der 90er Jahre wurden in einer multizentrischen Phase I/II-Studie Sicherheit und Wirksamkeit von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan an 51 Patienten mit rezidivierendem oder refraktärem B-Zell-NHL geprüft und

dessen maximal tolerierte Dosis (MTD) bestimmt. Dosislimitierend war die Myelosuppression, als MTD wurden 15 MBq/kg (0,4 mCi/kg KG) bzw. 11 MBq/kg (0,3 mCi/kg KG) bei Patienten mit Thrombozyten-Ausgangszahlen von 100 000–149 000/ μ l ermittelt und eine Gesamtansprechrates von 67 % beobachtet. Aus vorangegangenen Beobachtungen wußte man, daß die gezielte Tumorbestrahlung mittels RIT bei NHL durch vorherige Verabreichung eines nicht mit einem radioaktiven Isotop konjugierten („kalten“) Antikörpers verbessert werden kann. Daher wurde unmittelbar vor der ca. 10minütigen Bolusinjektion von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan der CD-20-Antikörper Rituximab infundiert, jedoch in geringeren Mengen als die übliche therapeutische Dosis. Um dosimetrische Messungen und Bildgebung zu ermöglichen, wurde den Patienten außerdem eine Woche vor Gabe von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan das therapeutisch unwirksame Indium-111 (^{111}In)-markierte Ibritumomab Tiuxetan i.v. verabreicht, dem gleichfalls eine Infusion mit niedrig dosiertem Rituximab vorausging. So gelang es, die Biodistribution von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan für die Bildgebung und die Berechnung der Strahlenbelastung zu imitieren. Da alle dosimetrischen Messungen und bildgebenden Verfahren auch in späteren Studien ein gleichbleibendes Verteilungsmuster aufwiesen und nicht mit Toxizität und Wirksamkeit korrelierten, wird heutzutage in der Praxis, aber auch in vielen Studien, auf diese die Patienten durchaus belastende Maßnahme verzichtet. Damit erübrigt sich auch die Gabe von ^{111}In -markiertem Ibritumomab Tiuxetan.

Ausgehend von dieser ersten größeren Studie wurden in der Folgezeit mehrere multizentrische Studien durchgeführt, zunächst fast ausschließlich an vorbehandelten Patienten mit indolenten NHL.

So wurde in einer offenen Studie ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan bei 54 Patienten mit follikulärem NHL geprüft, die auf Rituximab nicht angesprochen hatten. Die Gesamtansprechrates bei diesen vielfach chemotherapeutisch vorbehandelten und Rituximab-refraktären Patienten betrug 74 %, die mediane progressionsfreie Zeit lag bei 8,7 Monaten. Die Myelosuppression, die typischerweise als Thrombozytopenie 6 bis 8 Wochen nach Gabe von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan seine größte Aus-

prägung zeigt, ist die bedeutsamste Begleiterscheinung. Nicht-hämatologische Toxizität wurde hauptsächlich in den Kategorien „mild“ und „moderat“ beobachtet.

In einer randomisierten kontrollierten Phase III-Studie wurden Wirksamkeit und Sicherheit von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan mit dem „kalten“ Antikörper Rituximab bei 143 Patienten mit rezidivierendem oder refraktärem NHL verglichen. Die Ansprechrates war in der Gruppe mit ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan signifikant höher als in der Rituximab-Gruppe (80 % versus 56 %, $p = 0,002$). Fast 80 % der Patienten hatten ein follikuläres Lymphom, und in dieser Untergruppe zeichnete sich besonders deutlich eine längere progressionsfreie Zeit (Median 15,0 versus 10,2 Monate) auch bis zur nachfolgenden Rezidivtherapie (21,1 Monate versus 13,8 Monate) ab. Patienten in kompletter Remission zeigten eine lange Ansprechdauer von 26,4 Monaten (Rituximab: 8,5 Monate), die bei einzelnen Patienten bis zu 5 Jahren und länger anhielt.

Diese Ergebnisse haben schnell das Interesse am Potential von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan in anderen Indikationen geweckt, beispielsweise am Einsatz im Rahmen von Konsolidierungsbehandlungen, im myeloablativen Ansatz (Stammzelltransplantation) und in den aggressiven Verlaufsformen der NHL. Erste Ergebnisse sind veröffentlicht. So wurden im vergangenen Dezember erstmalig die vielversprechenden Ergebnisse einer Phase II-Studie von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan in aggressiven NHL vorgestellt. Ältere Patienten, die nach ihrer Erstlinienbehandlung ein Rezidiv entwickelten und aufgrund ihres Alters keiner Stammzelltransplantation zugeführt werden konnten, wurden mit ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan behandelt. Die Ansprechrates lag in dieser Studie mit über 100 eingeschlossenen Patienten über alle Risikogruppen hinweg bei 44 %, in einzelnen Subgruppen bis zu 58 %. Die Verträglichkeit war gleich gut wie bei den indolenten NHL. Dies ermutigt zu weiteren Studien in dieser Indikation.

Bisher sind nur erste Schritte in der klinischen Entwicklung von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan getan. Weltweit laufen derzeit eine große Anzahl von weiteren Studien, so daß sich das vollständige klinische Potential von ^{90}Y -Ibritumomab Tiuxetan und damit auch der Radioimmuntherapie insgesamt erst in den nächsten Jahren vollständig abzeichnen wird.

Induction of Antibodies by Immunostimulatory CpG Oligonucleotides

Gunther Hartmann

Ludwig-Maximilians-Universität, Medizinische Klinik Innenstadt, Abteilung für Klinische Pharmakologie, Munich; new address: Universitätsklinikum, Abteilung für Klinische Pharmakologie, Bonn

Identification of the mechanisms that regulate B cell activity may help to improve strategies to generate and to use human antibodies for therapy. In general, B cell production of protein antigen-specific antibodies is thought to require (i) binding of the protein antigen to an antigen-specific B cell surface immunoglobulin (B cell receptor), and (ii) co-stimulation by antigen-specific T cells through CD40-CD40 ligand interaction and T cell-derived cytokines. Activated B cells proliferate and differentiate into immunoglobulin (Ig-)-producing plasma cells or long-lived memory cells. Recent data indicate that B cells can be regulated in a T cell-independent manner. As other antigen presenting cells B cells express Toll-like receptors (TLRs), a receptor family that provides the combinatorial repertoire to discriminate among a wide spectrum of pathogen-associated molecules. The role of TLR9 in B cells is unique. The natural ligand for TLR9 is microbial DNA containing CpG motifs. Activation of murine and human B cells by CpG motif containing DNA (CpG DNA) is well established. In fact, CpG motifs were discovered based on B cell stimulation, and B cells were the first immune cell subset in humans identified to respond to CpG DNA in a CpG-specific fashion. Synthetic CpG oligodeoxynucleotides (ODN) stimulate antibody production in B cells and show promising results in clinical trials. In conclusion, our studies emphasize the unique ability of the TLR9 ligand CpG ODN to directly activate human B

cells in vitro. T cell independent stimulation of B cells with CpG ODN will help to generate human monoclonal antibodies in vitro or to induce antigen-specific antibody-mediated immune responses in vivo.

References

- Wagner, M., Poeck, H., Jahrsdoerfer, B., Rothenfusser, S., Prell, D., Bohle, B., Tuma, E., Giese, T., Ellwart, J. W., Endres, S., Hartmann, G., IL-12p70 dependent Th1 induction by human B cells requires combined activation with CD40L and CpG DNA. *J. Immunol.* **172**, 954 (2004)
- Poeck, H., Wagner, M., Battiany, J., Rothenfusser, S., Wellisch, D., Hornung, V., Jahrsdorfer, B., Giese, T., Endres, S., Hartmann, G., Plasmacytoid dendritic cells, antigen, and CpG-C license human B cells for plasma cell differentiation and immunoglobulin production in the absence of T-cell help. *Blood* **103**, 3058 (2004)
- Hornung, V., Guenther-Biller, M., Bourquin, C., Ablasser, A., Schlee, M., Uematsu, S., Noronha, A., Manoharan, M., Akira, S., de Fougerolles, A., Endres, S., Hartmann, G., Sequence-specific potent induction of IFN- α by short interfering RNA in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Nat. Med.* **11**, 263 (2005)
- Bekeredjian-Ding, I. B., Wagner, M., Hornung, V., Giese, T., Schnurr, M., Endres, S., Hartmann, G., Plasmacytoid dendritic cells control TLR7 sensitivity of naive B cells via type I IFN. *J. Immunol.* **174**, 4043 (2005)

Monoklonale Antikörper bei Karzinomen

Monoklonale Antikörper in der Therapie fortgeschrittener kolorektaler Karzinome

Andreas Schalhorn

Ludwig-Maximilians-Universität, Klinikum Großhadern, Medizinische Klinik und Poliklinik III, München

Klinische Erfahrungen mit Bevacizumab und Cetuximab

Bevacizumab (Avastin®)

Bevacizumab, ein humanisierter rekombinanter monoklonaler Antikörper gegen den Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) führt über eine Hemmung der Angiogenese zu einer verminderten Gefäßdichte und zu einer Wachstumshemmung maligner Tumoren. Eine randomisierte Phase II-Studie von Kabbinavar et al. mit einem wöchentlichen Folinsäure/5-Fluorouracil (5-FU)-Protokoll ohne oder mit 5 oder 10 mg/kg KG Bevacizumab alle 2 Wochen i.v. wies bereits eine Steigerung der Effektivität durch die Zugabe von Bevacizumab nach [5]. Unter der Bevacizumab-Dosis von 5 mg/kg stiegen die Remissionsrate von 17 auf 40 %, die Zeit bis zur Progression (TTP) von 5,2 auf 9 Monate und das Überleben von 13,8 auf 21,5 Monate an. Da der Gewinn unter der höheren Dosis Bevacizumab (10 mg/kg KG) weniger beeindruckend war, wurde für die von Hurwitz et al. publizierte Zulassungsstudie die Dosis von 5 mg/kg KG gewählt [4]. Das wegen seiner Bolusgabe von 5-FU aus europäischer Sicht nicht optimale IFL (Irinotecan/5-FU/Leucovorin = Folinsäure)-Protokoll von Saltz et al. [7] wurde durch Bevacizumab oder Plazebo ergänzt [4]. Die Zugabe von Bevacizumab bewirkte eine beeindruckende Verbesserung der Antitumorwirkung von IFL: Die Remissionsraten stiegen von 34,8 % auf 44,8 %, die Dauer des progressionsfreien Überlebens von 6,2 auf 10,6 Monate und das mediane Überleben von 15,6 auf 20,3 Monate an; die Unterschiede waren mit p-Werten von 0,004 bzw. < 0,001 jeweils hoch signifikant [4]. Im Vergleich zum Arm ohne Bevacizumab kam es nicht häufiger zu einer Proteinurie, wohl aber signifikant häufiger zu einer Hypertonie aller Schweregrade mit einem Anstieg von 8,3 auf 22,4 % (Schweregrad 3 Anstieg von 2,3 % auf 11 %). In allen Fällen konnte der Hypertonus mit Standardmedikamenten erfolgreich behandelt werden. Schweregrad 4-Blutungen traten in ca. 1 % und eine gastrointestinale (GI) Perforation in 1,5 % der mit der Kombination IFL plus Bevacizumab behandelten Patienten auf. Bei Behandlung mit Bevacizumab bedürfen die Blutdruckwerte einer engmaschigen Kontrolle, und prinzipiell muß mit der Möglichkeit von Blutungen und einer GI-Perforation gerech-

net werden, auch wenn die Häufigkeit unter 2 % liegt [4]. Frisch zurückliegende Operationen oder geplante Eingriffe müssen bei einer Bevacizumab-haltigen Therapie berücksichtigt werden. Nach einem größeren chirurgischen Eingriff muß der Abstand bis zur Einleitung einer Bevacizumab-Therapie mindestens 4 Wochen betragen. Vor einer geplanten Operation muß Bevacizumab abgesetzt werden. Das Intervall zwischen der letzten Gabe und der Operation sollte mindestens 6–8 Wochen betragen. Derzeit ist Bevacizumab für die First-line-Therapie zugelassen; in allen Fällen ist eine Kombination erforderlich, entweder mit Folinsäure/5-FU oder mit einer Folinsäure/FU-Irinotecan-Kombination. In einer weiteren großen randomisierten Studie wurde der Stellenwert von Bevacizumab nach Versagen einer Chemotherapie mit einem Fluoropyrimidin und Irinotecan untersucht [3]. 579 Patienten wurde entweder mit Folinsäure/5-FU/Oxaliplatin (FOLFOX4) alleine oder FOLFOX4 in Kombination mit Bevacizumab behandelt. Das Überleben stieg durch die Zugabe von 10 mg/kg alle 2 Wochen i.v. hoch signifikant ($p = 0,0024$) von 10,7 auf 12,5 Monate an [3].

Cetuximab (IMC-C225, Erbitux®)

Bei soliden Tumoren einschließlich des kolorektalen Karzinoms (KRK) ist in einem hohen Prozentsatz der Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) überexprimiert. Eine Blockierung von EGFR kann durch Antikörper gegen die extrazelluläre Domäne von EGFR oder durch Hemmung der intrazellulären EGFR-Tyrosinkinase durch sog. „small molecules“ wie z. B. Gefitinib und Erlotinib erzielt werden. Der chimäre IgG1 monoklonale Antikörper Cetuximab erwies sich in mehreren Phase II-Studien nach Versagen einer Irinotecan- bzw. 5-FU/Irinotecan-haltigen Chemotherapie als effektiv [10]: Nach Versagen einer Therapie mit 5-FU und Irinotecan wurden 121 Patienten weiter mit Irinotecan, aber in Kombination mit Cetuximab behandelt [8]. 17 % der Patienten erzielten eine Teilremission, und weitere 31 % profitierten von einem Krankheitsstillstand [8]. Selbst eine Monotherapie mit Cetuximab kann bei 5-FU/Irinotecan-refraktären Tumoren wirksam sein: In 11 % erzielten Saltz et al. doch noch eine Teilremission und in 46 % einen Krankheitsstillstand [9]. Als wichtigste und

für die EGFR-Hemmung typische Nebenwirkung kristallisierte sich ein akneiformer Hautausschlag heraus, der aber nur in 8 % den Schweregrad 3 erreichte [8].

Die Zulassung zunächst für Patienten mit Irinotecan-refraktärem KRK erfolgte aufgrund der randomisierten Studie von Cunningham et al. [2], in der nach Versagen einer Irinotecan-Therapie die Patienten entweder eine Monotherapie mit Cetuximab oder die zuletzt ineffektive Irinotecan-Therapie unter Zusatz von Cetuximab erhielten [2]. Die Remissionsrate war unter der Kombination mit 22,9 % signifikant höher als unter der Monotherapie, mit der aber immerhin noch 10,8 % der Patienten von einer erneuten Remission profitierten. Auch die mediane Zeit bis zur Progression war unter der Kombination länger, die Unterschiede im Überleben mit 8,6 zu 6,9 Monaten waren nicht signifikant, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß gut die Hälfte der Monotherapiepatienten sekundär doch noch zusätzlich Irinotecan erhielten, und die Studie seitens der eingeschlossenen Patientenzahl nicht auf den Nachweis eines signifikanten Überlebensunterschiedes ausgerichtet worden war.

In 1,2 % der Patienten traten unter der Cetuximab-Gabe schwerere anaphylaktische Reaktionen auf, die zum Abbruch der Therapie zwangen. Eine Korrelation zum Ausmaß der EGFR-Expression wurde nicht nachgewiesen, wohl aber zwischen Hautreaktion bzw. akneiformem Hautausschlag und dem Ansprechen. Bei fehlender Hautreaktion sprachen unter der Kombination < 10 % und unter der Cetuximab-Monotherapie 0 % an. Mit zunehmendem Schweregrad der Hautveränderungen, die zumeist innerhalb der ersten 3 Wochen auftreten, stieg die Chance auf ein Ansprechen, bei Schweregrad 1 und 2 auf 20,4 % unter der Kombination und auf 11,6 % mit Cetuximab alleine. Bei Hauttoxizitäten der Schweregrade 3 und 4 wurden Remissionsraten von 55 bzw. 33 % erzielt [2].

Eine aktuelle Phase II-Studie belegt noch einmal an einer großen Fallzahl, daß Cetuximab als Monotherapie sogar nach Versagen von Fluoropyrimidinen, Oxaliplatin und Irinotecan wirksam sein kann: In der Studie von Lenz et al. mit 346 Patienten, die median bereits vier verschiedene Therapieprotokolle erhalten hatten, profitierten 12 % unter Cetuximab von einer Remission und 32 % von einem erneuten Krankheitsstillstand [6]. Im Vordergrund möglicher Nebenwirkungen standen wieder die akneiformen Hautveränderungen, die bei 90 % der Patienten auftraten, wobei aber nur 6 % den Schweregrad 3 oder 4 erreichten [6]. Die Intensität dieser Nebenwirkungen war mit der Effektivität der Therapie korreliert: Die Remissionsraten reichten von 0 % (keine Hautveränderungen) über 7,2 % bei Schweregrad 1,

17 % (Grad 2) bis 20 % (Grad 3), und die mediane Überlebenszeit stieg mit zunehmender Hautreaktion von 1,7 Monaten über 4,9 und 8,9 auf 11,5 Monate an [6].

Zeigt der Tumor eine EGFR-Expression, ist Cetuximab jetzt nach Versagen einer primären Irinotecan-Therapie zugelassen. Nachdem eigene Erfahrungen und erste Untersuchungen an allerdings kleinen Fallzahlen zeigen, daß Cetuximab auch bei fehlender EGFR-Expression wirksam sein kann [1, 6], hoffen wir, daß die Zulassung in Zukunft auch Patienten mit fehlender EGFR-Expression auf dem Tumor erfassen wird und daß auch Kombinationen mit z. B. Oxaliplatin-haltigen Therapien an Bedeutung zunehmen werden.

Literatur

- [1] Chung, K. Y., Shia, J., Kemeny, N. E. et al., Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J. Clin. Oncol.* **23**, 1803 (2005)
- [2] Cunningham, D., Humblet, Y., Siena, S. et al., Cetuximab monotherapy and cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-refractory colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **351**, 337 (2004)
- [3] Giantonio, B. J., Catalano, P. J., Meropol, N. J. et al., High-dose bevacizumab in combination with FOLFOX4 improves survival in patients with previously treated advanced colorectal cancer. Results from the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study E3200. *Proc. ASCO GI Symposium*, # 169a, Hollywood, FL (2005)
- [4] Hurwitz, H., Fehrenbacher, L., Novotny, W. et al., Bevacizumab plus Irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **350**, 335 (2004)
- [5] Kabbinnar, E., Hurwitz, H. I., Fehrenbacher, L. et al., Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* **21**, 60 (2003)
- [6] Lenz, H., Mayer, R. J., Gold, P. et al., Activity of cetuximab in patients with colorectal cancer refractory to a fluoropyrimidine, irinotecan, and oxaliplatin. *Proc. ASCO GI Symposium*, # 225, Hollywood, FL (2005)
- [7] Saltz, L. B., Cox, J. V., Blanke, C. et al., Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* **343**, 905 (2000)
- [8] Saltz, L., Rubin, M., Hochster, H. et al., Cetuximab (IMC-C225) plus irinotecan is active in CPT-11-refractory colorectal cancer (CRC) that expresses epidermal growth factor receptor (EGFR). *Proc. ASCO 20*: #7 (2001)
- [9] Saltz, L. B., Meropol, N. J., Loehrer, P. J. Sr. et al., Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that express epidermal growth factor receptor. *J. Clin. Oncol.* **22**, 1201 (2004)
- [10] Veronese, M. L., O'Dwyer, P. J., Monoclonal antibodies in the treatment of colorectal cancer. *Eur. J. Cancer* **40**, 1292 (2004)

Antikörpertherapien beim Ovarialkarzinom

Rainer Kimmig und Pauline Wimberger

Universitäts-Frauenklinik Essen

Das Ovarialkarzinom weist die höchste Mortalität aller Genitalkarzinome auf. Dies ist auf die späte Diagnosestellung – über 2/3 der Frauen weisen ein fortgeschrittenes Stadium FIGO III und IV bei Erstdiagnose auf – zurückzuführen. Trotz Verbesserungen in der operativen Radikalität und Chemotherapie sind die 5-Jahres-Überlebensraten beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom unter 40 %.

Derzeitiger Standard beim fortgeschrittenen Ovarialkarzinom ist eine optimale operative Zytoreduktion und eine Kombinationschemotherapie mit 6 Zyklen Carboplatin AUC5 und Paclitaxel 175 mg/m² Körperoberfläche. Hierdurch können hohe Remissionsraten erzielt werden, allerdings hat mehr als die Hälfte der Patientinnen ein Rezidiv innerhalb der ersten 2–3 Jahre. Zahlreiche Strategien zur Verbesserung der Langzeitüberlebensraten wurden überprüft, ohne bislang eine weitere Verbesserung des Gesamtüberlebens zu erreichen. Daher sind neue multimodale, molekularbiologische Ansätze zwingend erforderlich. Neben zahlreichen molekularen Targets, wie Zellzyklusregulatoren, Wachstumsfaktorrezeptoren, der Beeinflussung von Signaltransduktions-Pathways, angiogenetischen Mechanismen, small molecules und Gentherapien spielen monoklonale Antikörpertherapien eine bedeutende Rolle. Ziel ist eine individualisiertere, effektivere und weniger toxische Therapie bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

Das Prinzip der Antikörpertherapie ist die direkte zytotoxische Wirkung sowie die Aktivierung tumorspezifischer Abwehrmechanismen.

IgG1-Antikörper waren die erste Generation von Antikörpern. Am bekanntesten ist der IgG1-Antikörper gegen HER-2 (Trastuzumab) (Goldenberg 1999) und gegen EGFR-Antigene (C225) (Mendelsohn 2002) mit hohen Responderaten und erhöhten Time to Relapse-Raten bei soliden Tumoren. Die Kombination mit einer konventionellen Chemotherapie erhöhte die Ansprechraten dieser Antikörper. Die Antitumoraktivität dieser humanen IgG1-Antikörper basiert auf der Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC), Complement-dependent Cytotoxicity (CDC) und in einigen Fällen auf der pro-apoptischen Signaltransduktion. Wichtig zu erwähnen ist, daß die HER-2 neu-Überexpression beim Ovarialkarzinom lediglich bei ca. 20 % der Fälle liegt.

OvaRex (Mab-B43.13) ist ein muriner monoklonaler Antikörper, der spezifisch für CA-125 ist. CA-125 ist ein Tumorantigen, das von Ovarialkarzinomzellen produziert wird und das als Tumormarker fungiert. OvaRex führt zu einer Formation von zirkulierenden Immunkomplexen, die eine zelluläre Immunantwort gerichtet

gegen CA125 und das Ovarialkarzinom triggern können (Noujaim et al. 2001). Gordon et al. konnten bei einer laufenden Studie bei 12 Patientinnen mit adjuvanter OvaRex-Therapie beim Ovarialkarzinomrezidiv den Nutzen dieses Antikörpers evaluieren. Jede Patientin erhielt 12 Wochen OvaRex vor einer konventionellen Chemotherapie. Es zeigte sich eine Immunantwort bei drei von vier Patientinnen. Die Patientinnen blieben progressionsfrei für 18–50 Wochen, bei insgesamt gut verträglicher Therapie (Gordon et al. 2001). Überdies werden zwei Placebo-kontrollierte Studien mit OvaRex bei ca. 400 Patientinnen mit FIGO III/IV-Stadium eines Ovarialkarzinoms durchgeführt.

Ein weiterer Antikörper, der bereits in klinischer Erprobung ist, ist ACA-125.

Der anti-idiotypische monoklonale Antikörper ACA-125 gegen CA-125 exprimierende Ovarialkarzinome wurde im Rahmen einer Phase I/II-Studie (OVAR 2.6 der Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Ovarialkarzinom) s. c. in einer Dosis von jeweils 2 mg als Konsolidierungstherapie nach Platin-sensitivem Ovarialkarzinomrezidiv bei 36 Patientinnen verabreicht. Es wurden zwei verschiedene Vakzinierungsgruppen gebildet mit 9 vs. 6 ACA-125-Injektionen. ACA-125 imitiert ein spezifisches Epitop des tumorassozierten Antigens CA125, das bei über 80 % der Ovarialkarzinome exprimiert ist. Der monoklonale ACA-125-Antikörper konnte anti-anti-idiotypische Antikörper (Ab3) mit Anti-CA125-Spezifität hervorrufen. Das single-chain-Fragment (scFv) ACA125 setzt sich aus variablen Regionen einer schweren und leichten Kette konnektiert mit einem flexiblen Linker zusammen. Primäres Studienziel war die Sicherheit und sekundäres Studienziel die Evaluation der Immunantwort (u. a. Ab3- und HAMA-Analysen). Es ließ sich eine sehr gute Verträglichkeit nachweisen ohne therapiebeeinflussende Toxizitäten. Die ACA-125-Therapie induzierte eine humorale und zelluläre Immunantwort. Es zeigte sich kein Unterschied in der Immunogenität und im Toxizitätsprofil bei den beiden Impfgruppen. Weitere randomisierte Studien sind notwendig, um die klinischen Ansprechraten von ACA-125 zu eruieren. Eine weitere Phase III-Studie ist für Mai 2006 vorgesehen.

Zahlreiche klinische Studien mit Antikörpern vom IgG1-Format zeigten bei soliden Tumoren nur geringe Ansprechraten. Dies führte zur Weiterentwicklung der Antikörper mit neuen und potenteren Effektormechanismen, einschließlich der Konjugation von Antikörpern mit Radioisotopen, bakteriellen Toxinen, Chemotherapeutika und Pro-Drugs. Ein weiterer Ansatz ist die

Einführung von bispezifischen Antikörpern mit Rekrutierung beispielsweise von zytotoxischen T-Zellen und gleichzeitiger Bindung an spezifische Tumorzellantigene.

MT102- und MT201-EpCAM-spezifische Antikörper konnten *in vitro* und *ex vivo* eine spezifische Tumorzell-Lyse beim Ovarialkarzinom zeigen. Das Oberflächenmolekül EpCAM (epithelial cell adhesion molecule) wird nahezu von allen Tumoren epithelialen Ursprungs exprimiert und liegt bei mehr als 90 % der Patientinnen mit Ovarialkarzinom vor. MT201 ist ein voll humaner IgG1-Antikörper, während MT102 ein kleiner bispezifischer Antikörper (bscEpCAM × CD3; 55kDa) ist, der spezifisch T-Lymphozyten rekrutiert und über den CD3-Komplex aktiviert. Sowohl MT102 als auch MT201 konnten bereits bei Konzentrationen von weniger als 10 ng/ml Tumorzellen aus frisch gewonnenen Ovarialkarzinomproben zerstören. Das zytotoxische Potential der Antikörper korrelierte positiv mit der Anzahl der CD45-positiven Zellen in der Tumorprobe. MT102 als bispezifischer Antikörper zeigte generell eine potentere Tumorzell-Lyse als MT201, vermutlich aufgrund der spezifischen Rekrutierung von T-Lymphozyten sowie der höheren Inzidenz von T-Lymphozyten in Tumorproben. Bei 81% der Patientenproben konnte eine dosisabhängige Tumorzellelimination mit MT102 nachgewiesen werden. Eine hohe und spezifische Tumorzell-Lyse konnte bereits bei Konzentrationen von 1 ng/ml bei sehr niedrigen Effektor-Target-Ratios und ohne jegliche T-Zell-Kostimulation gezeigt werden (Wimberger et al. 2003). Derzeit ist eine Phase I-Studie mit MT201 beim metastasierten Mammakarzinom offen.

Eine besondere Stellung nimmt der trifunktionale, bispezifische Antikörper (anti-EpCAM × anti-CD3) Catumaxomab als Hybrid-Hybridoma aus Maus IgG2a und Ratte IgG2b ein. Durch die Trifunktionalität des Antikörpers werden EpCAM-positive Tumorzellen, die T-Zellen über den CD3-Komplex und durch ein intaktes Fc-Fragment über den Fc γ -Rezeptor Typ I/III positive akzessorische Zellen, wie Killerzellen, Makrophagen und dendritische Zellen, gebunden, so daß sowohl das humorale als auch das zelluläre Immunsystem aktiviert werden (Ruf u. Lindhofer 2001). Im Rahmen einer Phase I/II-Studie mit dem intraperitoneal applizierten Antikörper Catumaxomab (n=23) konnten bei Ovarialkarzinom-Patientinnen mit malignem, symptomatischem Aszites und zahlreichen Vortherapien vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich der Reduktion der Aszitesproduktion und der darin nachweisbaren Tumorzellen von 540 000/10⁶ Gesamtzellen auf durchschnittlich 39/10⁶ Zellen erzielt werden. Lediglich bei einer von 23 Patientinnen war am Studienende (Tag 37) erneut eine Punktion erforderlich. Die Therapie mit Catumaxomab zeigte eine gute Verträglichkeit mit meist nur moderatem Nebenwirkungsprofil. Die intraperitoneale Antikörpertherapie scheint effizient die zirkulierenden Tumorzellen zu reduzieren und immunkompetente Zellen im Blut zu aktivieren. Eine Phase IIa-Studie der Arbeitsge-

meinschaft Gynäkologische Onkologie Studiengruppe Ovarialkarzinom beim Platin-refraktären Ovarialkarzinomrezidiv in der Second- bzw. Third line-Therapie mit Catumaxomab (OVAR 2.10) ist mit 45 Patientinnen vor kurzem abgeschlossen worden. Im Rahmen der OVAR 2.10-Studie wurde unter anderem auch die systemische Wirkung des trifunktionellen, bispezifischen Antikörpers anhand von Knochenmarksanalysen von CK-positiven Zellen evaluiert. Die Analyse der Ergebnisse zur Studie werden 2006 zur Verfügung stehen. Derzeit ist die Phase II/III IP-REM-AC01-Studie mit Catumaxomab bei symptomatischem Aszites bei verschiedenen auch nicht-gynäkologischen Entitäten offen. Es handelt sich um eine zweiarmige randomisierte (2:1) Phase II/III-Studie bei EpCAM-positiven Krebspatienten und punktionwürdigen Aszites mit dem trifunktionalen Antikörper versus alleiniger Parazentese. Ein Cross-over zur Antikörpertherapie ist bei erneuter zweimaliger Punktionsbedürftigkeit möglich. Neben Wirksamkeits- und Sicherheits-Analysen werden Pharmakokinetik- und Pharmakodynamikdaten erhoben.

Neue Strategien mit multimodalen Konzepten mit molekularbiologischen Therapien stecken zwar noch in den Anfängen ihrer Entwicklung, aber die Resultate von initialen In-vitro und In-vivo-Studien sind ermutigend. Diese Therapien besitzen ein hohes Potential für eine selektive Zytotoxizität gegen die Tumorzellen, während benigne Zellen geschont werden. Weitere randomisierte Phase III-Studien sind nötig, um zu prüfen, inwieweit diese Immuntherapien in die Standardtherapie des Ovarialkarzinoms zu integrieren sind.

Literatur

- Goldenberg, M. M., Trastuzumab, a recombinant DNA-derived humanized monoclonal antibody, a novel agent for the treatment of metastatic breast cancer. *Clin. Ther.* **21**, 309 (1999) [Review]
- Gordon, A., Whiteside, T., Nicodemus, C., Schultes, B., Noujaim, A., An interim assessment of OvaRex™ Mab-B43.13 in the management of recurrent ovarian cancer. In: Program/Proceedings of the 37th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, May 12–15, 2001; Abstract No. 2499
- Mendelsohn, J., Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. *J. Clin. Oncol.* **20** (18 Suppl.), 1S (2000) [Review]
- Noujaim, A. A., Schultes, B. C., Baum, R. P., Madiyalakan, R., Induction of CA125-specific B and T cell responses in patients injected with MAb-B43.13 – evidence for antibody-mediated antigen-processing and presentation of CA125 *in vivo*. *Cancer Biother. Radiopharm.* **16**, 187 (2001)
- Ruf, P., Lindhofer, H., Induction of a long-lasting antitumor immunity by a trifunctional bispecific antibody. *Blood* **98**, 2526 (2001)
- Wimberger, P. et al., Efficient tumor cell lysis by autologous, tumor-resident T lymphocytes in primary ovarian cancer samples by an EP-CAM-/CD3-bispecific antibody. *Int. J. Cancer* **105**, 241 (2003)

Adjuvante Antikörpertherapie beim HER2-neu-überexprimierenden Mammakarzinom

Michael Untch

Ludwig-Maximilians-Universität, Medizinische Fakultät, Klinikum Großhadern, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, München

Im Jahre 2000 wurde der humanisierte Antikörper Trastuzumab (Herceptin) für die Behandlung des metastasierten, HER2-überexprimierenden Mammakarzinoms zugelassen. Vorangegangen war eine Entwicklungsarbeit, die 1979 mit der Beschreibung des neu-Genes durch Robert Weinberg begann [1]. Anfang der achtziger Jahre klonierte Axel Ullrich das HER2/-neu-Gen. Es folgten klinische Untersuchungen durch Dennis Slamon, die 1987 erstmals in Science publiziert wurden [2]. Die Fa. Genentech entwickelte daraufhin einen monoklonalen Antikörper (4D5), der die Proliferation von HER2-exprimierenden Tumorzellen stoppte. Die Fusion der Gensequenzen des humanen Trägerantikörpers mit dem Genabschnitt der erkennenden Antikörperregion aus der Maus ermöglichte einen breiten Einsatz von Trastuzumab beim Menschen [3].

Mittlerweile ist der Einsatz von Trastuzumab ein etablierter Bestandteil der Systemtherapie beim metastasierten Mammakarzinom. In Kombination mit Paclitaxel oder Docetaxel ist der Antikörper zur Erstlinientherapie bei einer HER2-Überexpression oder HER2-Genamplifikation zugelassen. Sind in der metastasierten Situation bereits zwei Chemotherapien (laut Fachinfoservice der Roten Liste) erfolgt, kann Trastuzumab auch allein gegeben werden. Allerdings haben kleinere Phase II-Studien auch in der Erst- und Zweitlinientherapie mit dem Antikörper alleine beachtliche Wirksamkeit gezeigt, bei wenigen Nebenwirkungen.

Obwohl es sich bei Trastuzumab um ein gut wirksames und um ein gut verträgliches Medikament handelt, gibt es bei der praktischen Anwendung eine Reihe von Fragen, die der Klärung bedürfen. Diese Unklarheiten ergeben sich vorwiegend aus der Tatsache, daß Trastuzumab hochselektiv an einem spezifischen Tumormerkmal angreift, anstatt wie bei der Chemotherapie nur ungezielt antiproliferativ zu wirken. Die gezielte Be-

einflussung der intrazellulären Signalübermittlung erzeugt völlig neue Interaktionsmuster mit anderen Medikamenten, in deren Folge spezifische Nebenwirkungen möglich sind. Die hohe Substratspezifität des Antikörpers weist der prätherapeutischen Diagnostik eine besondere Bedeutung zu.

Untersuchung von HER2

Der Nachweis einer HER2-Überexpression oder -Genamplifikation ist die Voraussetzung für eine Therapie mit Trastuzumab. Für diesen Nachweis stehen eine Reihe von Bestimmungsmethoden zur Verfügung, die mit unterschiedlicher Spezifität und Sensitivität entweder das Rezeptorprotein oder den dazugehörenden, kodierenden Genabschnitt nachweisen.

Für den Routineeinsatz hat sich ein von der Fa. DAKO entwickelter Nachweis-Kit etabliert. Diese Methode ist durch eine Vielzahl von Untersuchungen validiert worden. Die Interpretation der Befunde erfolgt nach einem standardisierten Score. Der Nachteil dieser Methode ist, daß das HER2-Rezeptorprotein sowohl bei der Prozessierung des Gewebes als auch durch die unterschiedlich lange Lagerung verschiedenartigen Einflüssen ausgesetzt ist, die die Sicherheit des Nachweises deutlich beeinflussen können. Daraus resultiert eine relativ breite Grauzone mit falsch negativen, aber auch falsch positiven Nachweisen. Für diese Gruppe empfiehlt sich die Hinzunahme eines weiteren, unabhängigen diagnostischen Verfahrens. Mit Hilfe der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) wird die Vervielfältigung (Amplifikation) des HER2-Genes nachgewiesen. Im Gegensatz zu vielen anderen Tumormerkmalen wird das HER2-Gen im Rahmen der malignen Transformation unterschiedlich stark amplifiziert. Dieser Nachweis ist sehr viel sicherer und von äußeren Einflüssen deutlich unabhängiger, da DNA wesentlich stabiler ist als Proteine. Eine zu vernachlässigende Unschärfe ergibt sich bei dieser Methode aus der Tatsache, daß das eigentliche therapeutische Zielsubstrat das Protein ist und nicht die DNA. Unter Berücksichtigung von diagnostischer Sicherheit, aber auch wirtschaftlichen Aspekten, ist folgendes Vorgehen beim prätherapeutischen Nachweis von HER2 sehr zu empfehlen (Tab. 1).

Der Nachweis von Fragmenten des HER2-Proteins im Serum mit Hilfe eines spezifischen Assays ist derzeit

Tab. 1: HER2-neu-Nachweis und Trastuzumab-Therapie.

Färbeintensität IH	FISH	Trastuzumab
0 negativ		nicht indiziert
+1 schwach		nicht indiziert
+2 mittel	nicht amplifiziert	nicht indiziert
+3 stark	amplifiziert	indiziert

noch unzureichend validiert und damit als Routinemethode nicht zu empfehlen. Auch andere Verfahren wie PCR (polymerase chain reaction), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) oder CISH (chromogenic in situ hybridization) sind in bezug auf die Trastuzumab-Therapie nicht validiert. Sie haben rein experimentellen Charakter.

Trastuzumab beim metastasierten Mammakarzinom

Entsprechend der Zulassung ist die Gabe von Trastuzumab in der Erstlinientherapie in Kombination mit Paclitaxel oder Docetaxel möglich. Erst wenn in der metastasierten Situation bereits erfolglos eine Chemotherapie durchgeführt worden war, kann Trastuzumab auch als Monotherapie verabreicht werden.

Die Dosierung erfolgt gemäß Zulassung mit einer Initialdosis von 4 mg/kg Körpergewicht, gefolgt von einer wöchentlichen Gabe von 2 mg/kg KG. Diese Therapie wird ohne Unterbrechung mindestens bis zur Progression der Erkrankung oder dem Auftreten einer relevanten Kardiotoxizität durchgeführt. Alternativ zu dieser wöchentlichen Gabe hat sich auch eine dreiwöchentliche Gabe bewährt. Dies verbessert die Lebensqualität der Patientin, da sie von den medizinischen Interventionen unabhängiger wird. Die Dosierung ist hier initial 8 mg/kg KG und dann 6 mg/kg KG alle drei Wochen. Die Sicherheit und Effektivität dieser Dosierung wurde in einer Phase II-Studie geprüft [4].

Eine Progression der Erkrankung unter einer laufenden Trastuzumab-Therapie hat ihre Ursache nicht in der Ausbildung einer Resistenz wie bei einer Chemotherapie. Die erfolgreiche Blockade von HER2 kann zu einer deutlichen Hochregulierung des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors (EGFR oder HER1) führen. Daraus folgt, daß nach einer initialen Wachstumshemmung durch Trastuzumab die Progression durch die Hochregulierung von EGFR getragen wird. Wird in dieser Situation Trastuzumab abgesetzt, stehen der Tumorzelle sowohl die HER2-Überexpression als auch eine EGFR-Überexpression zur Vermittlung von Proliferationsimpulsen zur Verfügung. Ein fulminanter Progreß kann dann die Folge sein. Diese Beobachtung an Zellkulturen [5] läßt den Schluß zu, daß eine Trastuzumab-Therapie auch bei einer Progression fortgeführt werden sollte. Die klinischen Daten aus der retrospektiven Auswertung der Zulassungsstudie zeigen einen Vorteil für die mit Trastuzumab weiterbehandelten Patientinnen, deren Erkrankung unter der Therapie progredient war [6, 7]. Überprüft wird dies zur Zeit im Rahmen einer prospektiv-randomisierten Studie, in der Patientinnen mit Progression unter Herceptin im einen Arm auf Capecitabin unter Fortführung von Herceptin umgestellt werden, während sie im Vergleichsarm nur Capecitabin erhalten.

Kombinationsmöglichkeiten in der Erstlinientherapie

Die bevorzugten chemotherapeutischen Kombinationspartner für Trastuzumab sind die Taxane. Paclitaxel zeigte seine gute Wirksamkeit schon bei der Zulassungsstudie für Trastuzumab. Bei dieser Studie fiel auf, daß HER2-überexprimierende Mammakarzinome mit einer Ansprechrate von 17 % eine relative Taxan-Resistenz aufweisen. Diese Resistenz wird dann durch die Kombination mit Trastuzumab überwunden. Ansprechraten von bis zu 49 % sind mit dieser Medikamentenkombination möglich und durchaus noch bis auf 61 %, wie bei Docetaxel gezeigt, steigerbar. Docetaxel ist in Kombination mit Trastuzumab ebenfalls für die Erstlinientherapie des metastasierten Mammakarzinoms zugelassen worden [8].

Die Effektivität der Therapiekombination Trastuzumab/Taxane kann durch die Hinzunahme von Carboplatin weiter verbessert werden. Die Ergebnisse mehrerer Phase II-Studien und einer Phase III-Studie belegen dies [9].

Eine interessante Kombination stellt auch das Chemotherapeutikum Vinorelbin (Navelbine) mit Trastuzumab dar. In den bislang vorliegenden Phase II-Studien konnten Remissionsraten von bis zu 68 % erreicht werden [10].

Eine besondere Rolle bei den verschiedenen Kombinationen spielt die antihormonelle Therapie. Im Gegensatz zu den chemotherapeutischen Partnern werden bei der Kombination aus antihormoneller Therapie und Trastuzumab zwei rationale Therapieprinzipien vereint. Aus einer Vielzahl von In-vitro-Untersuchungen ist bekannt, daß sich das HER2-Gen als auch das Gen für den Estrogen-Rezeptor gegenseitig im Bereich des Promotors beeinflussen. In diese Anhängigkeit greifen sowohl Tamoxifen als auch die Reduktion von Estrogenen durch Aromatasehemmer ein. Dabei scheint die alleinige Gabe von Tamoxifen den klinischen Verlauf bei einer HER2-Überexpression zu verschlechtern, während die Kombination mit Trastuzumab dies aufzuheben vermag. Bei alleiniger antihormoneller Medikation ist die Gabe von Aromatasehemmern effektiver als die von Tamoxifen. Dies gilt insbesondere für Patientinnen in der Postmenopause, die simultan den Estrogen-Rezeptor als auch HER2 exprimieren [11]. Allerdings ist die Datenlage für die gesamte antihormonelle Therapie in Kombination mit Trastuzumab noch nicht so stringent, daß hohe Evidenzlevel erreicht werden können.

Nebenwirkungen von Trastuzumab

Kardiotoxizität

Die wichtigste Nebenwirkung einer Trastuzumab-Medikation ist die Ausbildung einer Herzinsuffizienz. Diese kardiale Beeinträchtigung ist reversibel und unterscheidet sich damit deutlich von einer Anthrazyklin-induzierten Herzinsuffizienz, die nicht reversibel ist. Die

gleichzeitige Gabe von Trastuzumab und Anthrazyklinen ist mit einem deutlichen Risiko behaftet. Deshalb wurde diese Kombination wegen der kardialen Nebenwirkungen nicht zugelassen, obwohl das Ansprechen mit dieser Kombination sehr gut war. Eine schwere Ruhedyspnoe stellt eine absolute Kontraindikation dar. In der Regel ist sie durch einen ausgeprägten Tumorbefall der Lungen bedingt. Hier führt ein gutes Ansprechen auf die Trastuzumab-Therapie, vermittelt durch die begleitende Immunreaktion, zu einer lokalen Reaktion im Sinne eines Ödems. In der Folge kann sich die Lungenstrombahn schlagartig verkleinern und ein Herzstillstand die Folge sein. Daraus ergibt sich die Empfehlung, vor Beginn einer Trastuzumab-Therapie eine basale kardiale Diagnostik durchführen zu lassen. In der Regel beschränkt sich diese auf eine körperliche Untersuchung, bei der auf die klinischen Zeichen einer Herzinsuffizienz wie schnell ausgebildete Ödeme oder eine Hepatomegalie geachtet werden muß. Ergänzend sollte eine Echokardiographie durchgeführt werden. Alternativ zum Herzecho ist die Durchführung eines MUGA (multigated acquisition)-Scan möglich.

Während der Therapie sollten wöchentlich Puls und Körpergewicht kontrolliert werden. Bei einem Anstieg der Pulsfrequenz > 15 % des individuellen Basiswertes und/oder einer Gewichtszunahme von ≥ 2 kg/Woche ist die Bestimmung der linksventrikulären Ejektionsfraktion zu empfehlen.

Trastuzumab in der adjuvanten Therapie des Mammakarzinoms

Auf der Jahrestagung der amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie (ASCO 2005) wurden die ersten Auswertungen von drei Studien vorgestellt, die über den Einsatz von Trastuzumab in der adjuvanten Therapie des Mammakarzinoms berichteten: eine kombinierte Analyse der NSABP-B31 und der NCCTG-N9831 (Romond u. Perez [12]) sowie die Daten der adjuvanten internationalen HERA-Studie (vorgestellt von Piccart [12]).

Das Design der drei Studien sah wie folgt aus:

NSABP-B31 (Abb. 1)

Arm 1: 4 × AC (Adriamycin/Cyclophosphamid) 60/600 mg/m² alle drei Wochen, gefolgt von 4 × Paclitaxel 175 mg/m² alle drei Wochen.

Arm 2: 4 × AC 60/600 mg/m² alle drei Wochen gefolgt von 4 × Paclitaxel 175 mg/m² alle drei Wochen, parallel dazu Trastuzumab wöchentlich (4 mg/kg Erstdosis, anschließend 2 mg/kg pro Woche), gefolgt von wöchentlich Trastuzumab 2 mg/kg (insgesamt 52 Wochen).

NCCTG-N9831 (Abb. 2)

Arm A: 4 × AC 60/600 mg/m² alle drei Wochen, gefolgt von Paclitaxel 80 mg/m² wöchentlich für insgesamt 12 Wochen.

Arm B: 4 × AC 60/600 mg/m² alle drei Wochen, gefolgt von 12 Wochen wöchentlich Paclitaxel 80 mg/m², gefolgt von Trastuzumab wöchentlich (Erstdosis 4 mg/kg, Erhaltungsdosis 2 mg/kg wöchentlich) für insgesamt 52 Wochen.

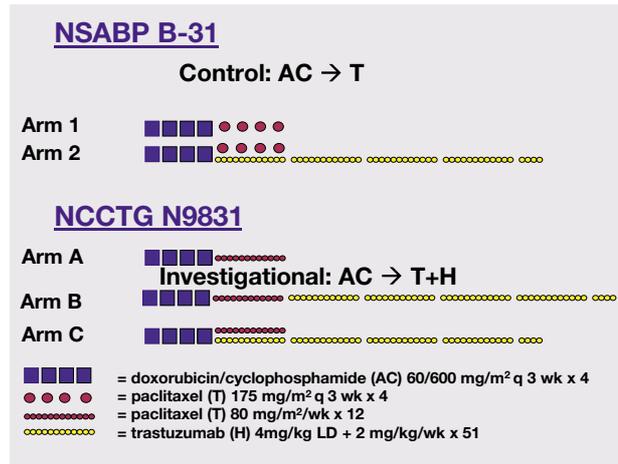


Abb. 1

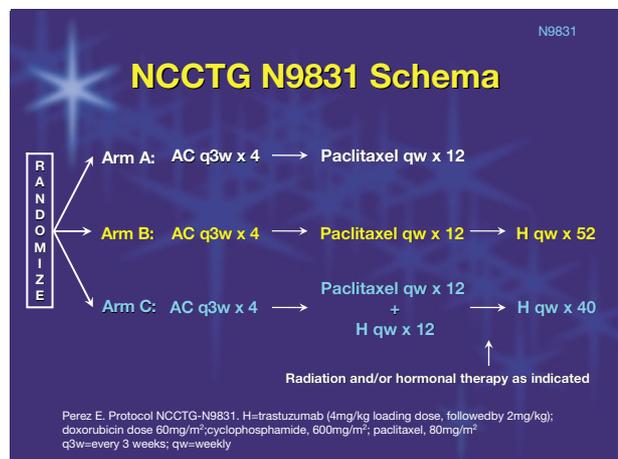


Abb. 2

Arm C: 4 × AC 60/600 mg/m² alle drei Wochen, gefolgt von Paclitaxel 80 mg/m² wöchentlich für insgesamt 12 Wochen kombiniert mit wöchentlich Trastuzumab (4 mg Anfangsdosis, 2 mg/kg pro Woche Erhaltungsdosis), gefolgt von Trastuzumab wöchentlich (Gesamtdauer der wöchentlichen Trastuzumab-Therapie ebenfalls 52 Wochen).

Die kombinierte Analyse der NSABP-B31 und NCCTG-N9831 bezieht sich auf den Vergleich AC gefolgt von Paclitaxel (wöchentlich oder dreiwöchentlich, Kontrollarm Arm A und Arm 1) mit den Studienarmen AC gefolgt von Paclitaxel + Trastuzumab in den Armen 2 und C beider Studien.

Voraussetzung war die HER2-neu-Überexpression im Primärtumor, entweder in der FISH-Analyse oder IHC 3+ durch Nachweis in einem Zentrallabor bzw. in einem Referenzlabor. Eine normale linksventrikuläre Auswurfraction war ebenfalls Voraussetzung. Die linksventrikuläre Auswurfraction wurde in den ersten 18 Monaten alle drei Monate in beiden Studien überprüft. Bei einem absoluten Abfall der linksventrikulären Auswurfraction von mehr als 15 % wurde die Trastuzumab-Therapie beendet. In beiden Studien wurden im wesentlichen Patientinnen mit befallenen axillären Lymphknoten aufgenommen, in die NCCTG-N9831 wurden 12 % der Patientinnen mit nicht befallenen axillären Lymphknoten und zusätzlichen Risikokriterien aufgenommen.

Etwa 52 % der Patientinnen hatten 1–3 befallene axilläre Lymphknoten, 30 % 4–9 befallene Lymphknoten und etwa 15 % mehr als 10 befallene axilläre Lymphknoten. Die mediane Nachbeobachtung betrug zwei Jahre (2,4 Jahre in NSABP-B31 und 1,5 Jahre in NCCTG-N9831). Das primäre Studienendziel ist krankheitsfreies Überleben mit sekundärem Endpunkt Gesamtüberleben und Zeit bis zur ersten Metastase.

Ergebnisse

Die erste Auswertung basiert auf 395 Ereignissen bei 3151 behandelten Patientinnen. Der absolute Unterschied im krankheitsfreien Überleben betrug nach drei Jahren 12 % und nach vier Jahren 18 %, mit einem hochsignifikanten p-Wert zugunsten der Hinzunahme von Trastuzumab zur Chemotherapie. Der absolute Unterschied in der Zeit bis zur ersten Metastasierung betrug nach drei Jahren 9 % und nach vier Jahren 16 % zugunsten der Trastuzumab-haltigen Arme. Das Gesamtüberleben war ebenfalls signifikant mit 94 % versus 92 % nach drei Jahren und 91 % versus 87 % nach vier Jahren in den beiden Studien zugunsten der Trastuzumab-haltigen Arme.

Die kumulative Inzidenz der kardialen Ereignisse betrug im Trastuzumab-haltigen Studienarm 4,1 % versus 0,7 % im Chemotherapie-Arm.

Für nodal positive, HER2-neu-überexprimierende Mammakarzinompatientinnen ergab die Trastuzumab-haltige Therapie zusätzlich zur Chemotherapie eine Rezidivrisikoreduktion nach drei Jahren von 52 %. Alle analysierten Untergruppen hatten einen ähnlichen Benefit von der Trastuzumab-haltigen Therapie. Die Hinzunahme von Trastuzumab reduzierte die Inzidenz von Metastasen um 53 % nach drei Jahren. Nach einem medianen Follow-up von zwei Jahren betrug die relative Gesamtüberlebensverbesserung 33 % durch die Hinzunahme von Trastuzumab (p-Wert signifikant).

Ein sorgfältiges kardiales Monitoring in den Trastuzumab-haltigen Armen wird von der Studienleitung empfohlen.

Für die Kardiotoxizität ergibt sich 0 % Inzidenz im Kontrollarm, 2,2 % im sequentiellen Arm (Chemotherapie gefolgt von Trastuzumab) und 3,3 % im Chemotherapie + Trastuzumab-Arm. Es ist zur Zeit unklar, ob eine gleichzeitige Trastuzumab-Therapie zur Chemotherapie besser ist als eine sequentielle Therapie (Chemotherapie gefolgt von Trastuzumab). Dies werden die weiteren Nachuntersuchungen der Studien ergeben.

Die HERA-Studie (Abb. 3)

Randomisierungsarme: 1 Jahr Trastuzumab versus 2 Jahre Trastuzumab verglichen mit einem Trastuzumab-freien Kontrollarm bei HER2-neu-überexprimierenden Mammakarzinompatientinnen, nach Abschluß der adjuvanten Chemotherapie und Strahlentherapie. Es wurden insgesamt 5090 Patientinnen in dieser Studie behandelt. Die Trastuzumab-Therapie wurde nach abgeschlossener adjuvanter bzw. neoadjuvanter Chemotherapie, Operation sowie abgeschlossener Strahlentherapie durchgeführt. Trastuzumab wurde entweder als 8-mg-Erstdosis gefolgt von 6 mg/kg alle drei Wochen über insgesamt zwei Jahre bzw. über ein Jahr verabreicht. Die HER2-neu-Überex-

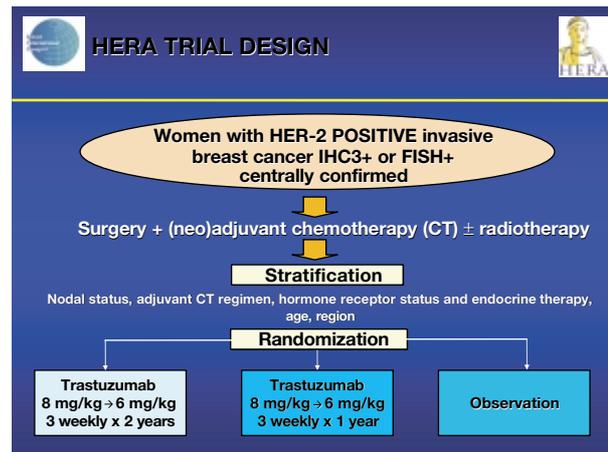


Abb. 3

pression oder Amplifikation mußte obligat für alle Patientinnen exklusiv im Zentrallabor in Kassel bestätigt werden. Es wurden nodal positive und nodal negative Patientinnen aufgenommen mit mindestens vier Zyklen einer adjuvanten Chemotherapie. Die LVEF (left ventricular ejection fraction)-Messung mußte mindestens 55 % ergeben. Das primäre Endziel war rezidivfreies Überleben, die sekundären Endziele rezidivfreies Überleben, metastasenfrees Überleben und Gesamtüberleben sowie der Vergleich zwei Jahre versus ein Jahr adjuvanter Trastuzumab-Therapie.

Etwa 50 % der Patientinnen waren jünger als 50 Jahre. Bei 68 % der Patientinnen wurde eine Anthrazyklin-haltige Chemotherapie durchgeführt, in 25 % der Fälle wurden Anthrazykline und Taxane verabreicht, 33 % der Patientinnen waren nodal negativ, 29 % hatten 1–3 befallene axilläre Lymphknoten, 28 % mehr als 4 befallene axilläre Lymphknoten.

Ergebnisse

Es wurde zunächst 1 Jahr Trastuzumab mit dem nicht Trastuzumab-haltigen Kontrollarm verglichen. Das rezidivfreie Überleben betrug nach median einem Jahr Nachbeobachtung 85,8 % im Trastuzumab-haltigen Behandlungsarm und 77,4 % im nicht-Trastuzumab-haltigen Behandlungsarm mit einer relativen Risikoreduktion für das krankheitsfreie Überleben von 46 %. Alle behandelten Untergruppen profitierten von der Trastuzumab-haltigen Therapie, einschließlich der lymphknotennegativen Patientinnen. Folgende Risikoreduktionen wurden erreicht:

- 50 % für das rezidivfreie Überleben (Zweijahresergebnis 78,6 % versus 87,2 %)
- 49 % für das metastasenfrees Überleben (Zweijahresergebnis 81,8 % versus 89,7 %).

Beide Ergebnisse sind statistisch signifikant.

Für das Gesamtüberleben wurde eine 24%ige Risikoreduktion erreicht; wegen der kurzen Nachbeobachtungszeit war dies noch nicht signifikant.

Die Inzidenz an kardialen Ereignissen betrug 0 % im Kontrollarm und 0,5 % für Patientinnen, die ein Jahr mit Trastuzumab behandelt wurden. Ein Abfall der LVEF von mehr als 10 Punkten oder auf unter 50 % wurde im

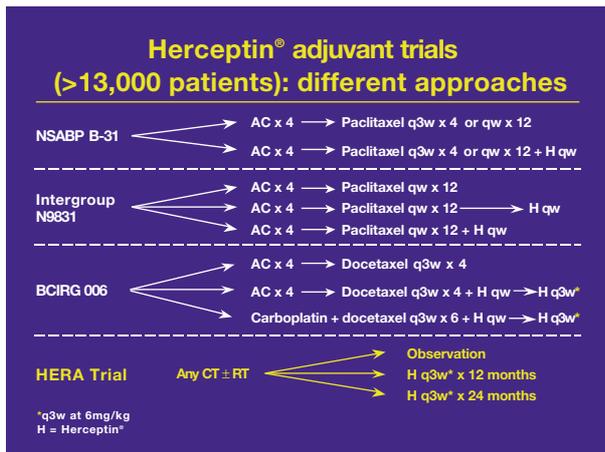


Abb. 4

Kontrollarm in 2,2 % und im 1-Jahr-Trastuzumab-Arm in 7,1 % der Patientinnen verzeichnet (nicht symptomatisch).

Die Auswertung der Zweijahresbehandlung mit Trastuzumab verglichen mit der Einjahresbehandlung wird in etwa 2008 zur Verfügung stehen und war nicht Gegenstand der Präsentation.

Die BCIRG 006-Studie (Abb. 4)

Am 13. September 2005 gab die Fa. Genentech eine Presseerklärung zu einer weiteren prospektiv randomisierten Phase III-Studie mit Trastuzumab bekannt, der BCIRG 006-Studie. Diese Studie untersuchte 3200 Mammakarzinompatientinnen mit einer Her2 2 FISH-Amplifikation im Primärtumor. Es wurden drei Arme adjuvant randomisiert: 4 × AC gefolgt von 4 × Docetaxel mit bzw. ohne Trastuzumab und im dritten Arm die Dreierkombination Docetaxel, Carboplatin Trastuzumab. Die Risikoreduktion für Rezidiv und Metastasierung betrug wie in den anderen internationalen adjuvanten Studien 51 % für die Sequenz Antrazyklin gefolgt von Taxan plus Trastuzumab und etwas niedriger, jedoch auch signifikant, 39 % für die Dreierkombination [13].

Zusammenfassung

Die Ergebnisse dieser vier adjuvanten Studien rücken im Jahr 2005 zum ersten Mal eine adjuvante Trastuzumab-Therapie bei Mammakarzinompatientinnen mit einem HER2-neu-überexprimierenden Tumor in den Mittelpunkt. Auf die Qualität der HER2-neu-Untersuchung im Primärtumor wird in diesem Zusammenhang speziell hingewiesen. Eine zentrale Testung verglichen mit einer HER2-neu-Testung auf lokaler Ebene ergab eine Übereinstimmung in lediglich 81 % der Fälle mit dem Hercep-Test (78–83 % Konfidenzintervall) und für die FISH-Analyse 87 % (84–90 % Konfidenzintervall). Eine zentrale Laboruntersuchung zeigte eine sehr viel höhere Übereinstimmung mit einem Referenzlabor (94,5 % für IHC und 95,1 % für FISH; Perez et al., ASCO 2004, Abstract 567). Angesichts der großen Bedeutung

einer antikörperhaltigen adjuvanten Therapie sowie des zu erwartenden hohen Kostendruckes rückt die qualitätsgesicherte, prädiktiv bedeutsame HER2-neu-Testung entscheidend in den Fokus der Diskussion. Ein regelmäßiges engmaschiges kardiales Monitoring vor und während einer adjuvanten Trastuzumab-Therapie ist ebenfalls zu fordern.

Unter Würdigung dieser einmaligen Datenlage ist nunmehr der Einsatz von Trastuzumab in der adjuvanten Therapie des HER2-neu-überexprimierenden Mammakarzinoms Standard. Die internationalen Leitlinien wissenschaftlicher Fachgesellschaften wurden entsprechend geändert. Die Präsentationen auf dem diesjährigen ASCO und die neueste Mitteilung der BCIRG-Studie belegen eindrucksvoll die potente Risikoreduktion sowohl der Fernmetastasierung als auch der lokalen Rezidive innerhalb der ersten Jahre nach Diagnosestellung. Dabei ist die Art und Zusammensetzung der Chemotherapie eher als sekundär zu betrachten. Die Reduktion des krankheitsfreien Intervalls, aber auch der positive Einfluß auf das Überleben, wie bereits in den amerikanischen Studien belegt, ist ein deutliches Indiz dafür, daß diese Therapie unseren Patientinnen nicht mehr vorenthalten werden kann.

Literatur

- [1] Shih, C., Shilo, B. Z., Goldfarb, M. P., Dannenberg, A., Weinberg, R. A., Passage of Phenotypes of Chemical Transformed cells via Transfection of DNA and Chromatin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76**, 5714 (1979)
- [2] Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A., McGuire, W. L., Human Breast cancer: Correlation of relaps and Survival With Amplification of the HER-2/neu Oncogene. Science **235**, 177 (1987)
- [3] Carter, P., Presta, L., Gorman, C. M., Ridgway, J. B., Henner, D., Wong, W. L., Rowland, A. M., Kotts, C., Carver, M. E., Shepard, H. M., Humanization of an anti-p185 HER2 antibody for human cancer therapy. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **89**, 4285 (1992)
- [4] Leyland-Jones, B., Gelmon, K., Ayoub, J. P., Arnold, A., Verma, S., Dias, R., Ghahramani, P., Pharmacokinetics, safety, and efficacy of trastuzumab administered every three weeks in combination with paclitaxel. J. Clin. Oncol. **21**, 3965 (2003)
- [5] Miller, K. D., The role of ErbB Inhibitors in Trastuzumab Resistance. Oncologist **9** (Suppl. 3), 16 (2004)
- [6] Tripathy, D., Slamon, D. J., Cobleigh, M., Arnold, A., Saleh, M., Mortimer, J. E., Murphy, M., Stewart, S. J., Safety of treatment of metastatic breast cancer with trastuzumab beyond disease progression. J. Clin. Oncol. **22**, 1063 (2004)
- [7] Gelmon, K. A., Mackey, J., Verma, S., Gertler, S. Z., Bange-mann, N., Klimo, P., Schneeweiss, A., Bremer, K., Soulieres, D., Tonkin, K., Bell, R., Heinrich, B., Grenier, D., Dias, R., Use of trastuzumab beyond disease progression: observations from a retrospective review of case histories. Clin. Breast Cancer **5**, 52 (2004)
- [8] Extra, J. M. et al., Eur. J. Cancer **2**, 125, Abstract 239 (2004)
- [9] Perez, E. A., Carboplatin in Combination Therapy for Metastatic Breast Cancer. Oncologist **9**, 518 (2004)
- [10] Burstein, H. J., Harris, L. N., Marcom, P. K., Lambert-Falls, R., Havlin, K., Overmoyer, B., Friedlander, R. J. Jr., Gargiulo, J., Strenger, R., Vogel, C. L., Ryan, P. D., Ellis, M. J., Nunes,

R. A., Bunnell, C. A., Campos, S. M., Hallor, M., Gelman, R., Winer, E. P., Trastuzumab and vinorelbine as first-line therapy for HER2-overexpressing metastatic breast cancer: multicenter phase II trial with clinical outcomes, analysis of serum tumor markers as predictive factors, and cardiac surveillance algorithm. *J. Clin. Oncol.* **21**, 2889 (2003)

[11] Jones, A., Combining trastuzumab (Herceptin®) with hormonal therapy in breast cancer: what can be expected and why? *Ann. Oncol.* **14**, 1697 (2003)

[12] Romond et al., Perez et al., Piccart et al., Advances in Monoclonal Antibody Therapy for breast cancer, ASCO 2005

[13] Presseerklärung Genentech, September 2005

Weitere monoklonale Antikörper

Monoklonale Antikörper bei Allergie und Asthma

Ulrich Wahn

Charité Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Pneumologie und Immunologie, Berlin

Im Verständnis der pathophysiologischen Grundlagen allergischer Erkrankungen einschließlich des Asthma bronchiale wurden in den vergangenen zwei Jahrzehnten wesentliche Fortschritte erzielt:

Die Bedeutung von TH-2-Lymphozyten und ihren Schlüsselzytokinen (IL-4, IL-5, IL-13) für die Immunglobulin E (IgE)-Produktion und die Verhinderung der Apoptose eosinophiler Granulozyten hatte eine Reihe von Arbeitsgruppen zur Entwicklung neuer therapeutischer Optionen stimuliert. Die Rolle regulatorischer T-Zellen für die Toleranzentwicklung bei Allergien und den Erfolg einer allergenspezifischen Hyposensibilisierung hat zu einer Neubewertung künftiger Therapieansätze geführt. Seit Jahrzehnten unverändert anerkannt ist die Schlüsselrolle von IgE als Vermittler der Aktivierung von Mastzellen mit der Freisetzung präformierter und neu generierter Mediatoren, deren pharmakologische Wirkung an verschiedenen Organen für die klinische Symptomausprägung wesentlich mitverantwortlich ist.

Die neuen pathogenetischen Konzepte haben zur Entwicklung von pathogeneseorientierten Therapien geführt. So wurden neben löslichen Rezeptoren zur Neutralisierung spezifischer Zytokine auch monoklonale Antikörper gegen Zytokine (z. B. Anti-IL-4, Anti-IL-5) oder deren Rezeptoren entwickelt. Nach anfänglicher Euphorie waren die klinischen Ergebnisse jedoch ausnahmslos enttäuschend.

Demgegenüber waren nicht nur präklinische, sondern auch klinische Studien mit rekombinantem, humanisiertem Antiimmunglobulin E (Omalizumab) außerordentlich ermutigend, so daß nach Einführung und Registrierung des Antikörpers in den USA in diesem Jahr die Registrierung in einigen europäischen Ländern (Deutschland, England) erfolgt.

Omalizumab bindet IgE an der dritten Domäne des Fc-Fragmentes, wo normalerweise die Bindung zur α -Kette des Fc-Epsilon-Rezeptors erfolgt. Durch Verhinderung der Bindung an basophile Leukozyten und Mastzellen und Komplexierung von IgE-Molekülen als Tri- oder Pentamere wird ein allergenspezifischer Effekt auf IgE-vermittelte Reaktionen erzielt. Die Wirksamkeit dieses innovativen Therapiekonzeptes wurde bei allergischem Asthma bronchiale ebenso wie bei saisonaler allergischer Rhinokonjunktivitis und der Erdnuß-Anaphylaxie dokumentiert. Die Sicherheit des jetzt registrierten Antikörpers scheint nach derzeitigem Kenntnisstand im Gegensatz zu früheren rekombinanten Antikörpern gut zu sein. Die Dosierung erfolgt nach Körpergewicht und IgE-Serumspiegel, die Applikation subkutan. Ein Monitoring der Therapie (freies, nicht komplexiertes IgE) steckt noch in den Anfängen.

Insgesamt kann die Entwicklung rekombinanter humanisierter Anti-IgE-Antikörper als Beginn einer neuen Ära in der Therapie schwerer und komplexer allergischer Erkrankungen angesehen werden.

Late Breaking News

Wachstumsfaktorrezeptorblockade beim Mammakarzinom – Daten vom ASCO 2005 (Jahreskongreß der Amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie)

Michael Untch

Ludwig-Maximilians-Universität, Medizinische Fakultät, Klinikum Großhadern, Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, München

Die HER-Familie (human epidermal growth factor receptor) beinhaltet mehrere Transmembranrezeptoren, die durch Ligandenbindung, Dimerisierung und Phosphorylierung eine Reihe von biologischen Prozessen in Gang setzen, die intrazelluläre Signaltransduktion beinhalten. Dabei werden wichtige biologische Vorgänge aktiviert bzw. beeinflusst wie Apoptose, Zellmigration, Zellwachstum, Zelladhäsion und Differenzierung.

Über die aktuelle Bedeutung der HER-2-Wachstumsfaktorrezeptor-Beeinflussung bei Mammakarzinompatientinnen geben die neuesten Daten der Jahrestagung der amerikanischen Krebsgesellschaft Auskunft; die Hemmung der HER-2/neu-überexprimierenden Mammakarzinomzellen mit dem Antikörper Trastuzumab in der adjuvanten und neoadjuvanten Situation ist damit zu einem neuen Standard geworden. Es ergibt sich eine mindestens 50%ige Reduktion des Risikos für Rezidiv und Metastasierung durch die Hinzunahme dieses biologischen Therapieprinzips. Damit rückt eine ungezielte Maßnahme wie die adjuvante Chemotherapie zunehmend in den Hintergrund. Gezielte Maßnahmen, die sich biologische Eigenschaften der Tumorzellen zunutze machen, werden zunehmend bedeutender. Die Kombination mit anderen Tyrosinkinase-Inhibitoren ist eine weitere Therapiemöglichkeit bei Mammakarzinompatientinnen.

Der HER-1-Rezeptor wird in 15–50 % der Mammakarzinomtumorzellen überexprimiert. Eine präklinische Synergie der HER-1 und HER-2 Rezeptortyrosinkinase-Hemmung konnte in verschiedenen Arbeiten gezeigt werden [1–3].

Der Tyrosinkinase-Inhibitor Erlotinib wurde in einer Phase I-Studie in der Dosierung zwischen 50/100 und 150 mg/die mit Trastuzumab wöchentlich bei 14 Patientinnen kombiniert. Eine antitumorale Aktivität wurde bei Patientinnen bei 150 mg/die beobachtet. Phase II-Studien werden in dieser Kombination momentan durchgeführt.

Der Tyrosinkinase-Inhibitor Gefitinib wird zur Zeit in einer Phase II-Untersuchung bei 36 HER-2/neu-überexprimierenden metastasierten Mammakarzinompatientinnen mit Trastuzumab kombiniert. Dabei wird Trastuzumab wöchentlich gegeben, Gefitinib wird in der Dosierung 250 mg/die appliziert. Bisher wurde eine komplette Remission beobachtet [4]. Die Rezeptortyrosinkinase-Inhibition beider Rezeptoren HER-1 und HER-2 kann auch mit neuen kleinen Molekülen durchgeführt werden (z. B. Lapatinib).

Diese duale reversible Rezeptortyrosinkinase-Inhibition wirkt sich intrazellulär im MAP-Kinase- und im AKT-Stoffwechsel aus. Vorläufige Ergebnisse [5] zeigten in 8 % partielle Remissionen und in 22 % einen klinischen Benefit in einer kleinen Phase II-Studie bei 36 metastasierten Mammakarzinompatientinnen mit Lapatinib 1250 mg/die und Weiterführung mit 1500 mg/die. Eine weitere Studie [6] untersuchte 2 unterschiedliche Dosen von Lapatinib, nämlich 500 und 1500 mg/die für 12 Wochen bei 130 metastasierten HER-2/neu-überexprimierenden Mammakarzinompatientinnen. Es wurden 33 % partielle Remissionen und 20 % Stabilisierung der Erkrankung in der ersten Auswertung festgestellt. Die Toxizität war mild. Beide Dosen waren in der ersten Auswertung ähnlich. Ein synergistischer apoptotischer Effekt von Lapatinib und Anti-HER-2-Antikörpern wurde in In-vitro-Studien durch Anexin V+-Untersuchungen festgestellt [7].

Die Kombination von Lapatinib und Trastuzumab wurde bei Patientinnen mit vorhergehender Progression auf Trastuzumab untersucht [8]. In der Dosierung Lapatinib 750 mg/die wurden 5 partielle und 1 komplette Remission von 27 Patientinnen beobachtet. Die dosislimitierende Toxizität wurde mit 1000 mg/die erreicht. Diese Daten unterstützen die präklinische Synergie der Kombination Trastuzumab und Lapatinib. Zur Zeit werden mehrere Phase III-Studien mit Lapatinib bei Mammakarzinompatientinnen mit metastasierter Erkrankung und auch in der adjuvanten und neoadjuvanten Situation durchgeführt.

Die Untersuchung der Überexpression von HER-2 und vaskulärem epithelialen Wachstumsfaktor (VEGF 121) im Primärtumor von 588 Mammakarzinompatientinnen ergab eine ausgesprochen schlechte Prognose

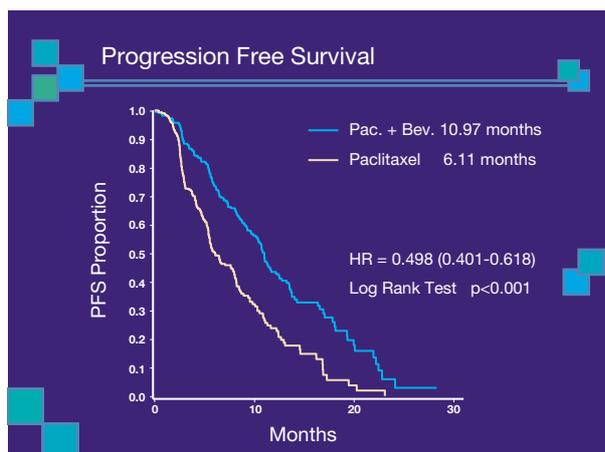


Abb. 1

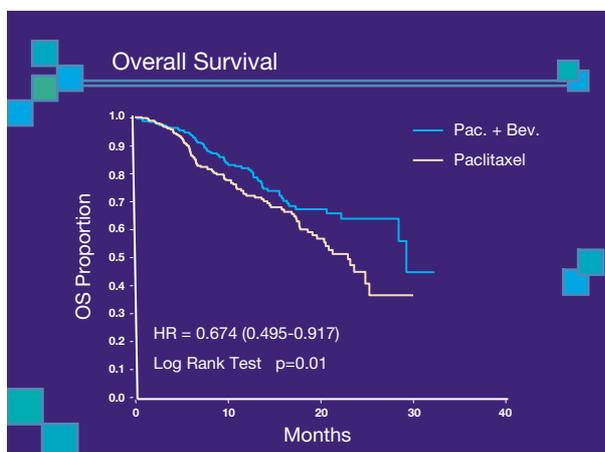


Abb. 2

bei Patientinnen, die entweder beide HER-2- und VEGF-Rezeptoren gemeinsam überexprimierten bzw. eine alleinige VEGF-Überexpression aufwiesen [9].

Die ersten klinischen Daten einer Phase III-Studie zum Einsatz des Antikörpers Bevacizumab gegen den vaskulären epithelialen Wachstumsfaktorrezeptor VEGF wurde auf der Jahrestagung der amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie im Mai 2005 von der Arbeitsgruppe um Katie Miller vom Indiana University Cancer Center vorgestellt (Abb. 1 u. 2).

Der Antikörper erkennt alle VEGF A iso-Formen und zeigte bereits Aktivität als Monotherapie bei Patientinnen mit einem vielfach vorbehandelten metastasierten Mammakarzinom. Die Randomisation wurde durchgeführt in die Arme Paclitaxel 90 mg/m² wöchentlich vs. die gleiche Chemotherapie plus Antikörper Bevacizu-

ma 10 mg/kg d1 + d15. Es wurden Patientinnen mit einem metastasierten Mammakarzinom in die Studie aufgenommen. Eine HER-2/neu-Überexpression mit Trastuzumab-Vorbehandlung war erlaubt. Es handelte sich um eine Erstlinientherapie für die metastasierte Brustkrebserkrankung mit Chemotherapie. Die Studie wurde zwischen Dezember 2001 und März 2004 mit 715 Patientinnen durchgeführt. Nach 355 Ereignissen wurde die Studie ausgewertet und zum ersten Mal vorgestellt. Die beiden Studienarme mit jeweils 350 bzw. 365 Patientinnen waren in bezug auf die biologischen Tumordaten gleichmäßig verteilt. Ein Drittel der Patientinnen hatte Metastasen an mehr als 3 Lokalisationen. Eine adjuvante Chemotherapie war in 65 % der Fälle vorausgegangen. Die Remissionsrate war signifikant besser durch die Hinzunahme von Bevacizumab und verdoppelte das Ansprechen von 14 auf 28 %. Das progressionsfreie Intervall betrug für die Kombination Paclitaxel mit Bevacizumab 11 Monate und für die Monotherapie mit Paclitaxel 6 Monate. Dieser Unterschied war statistisch signifikant. Auch für das Gesamtüberleben ergab sich ein signifikanter P-Wert mit einer Risikoreduktion in bezug auf den krankheitsbedingten Tod von 33 %. Eine leichte Erhöhung der Blutungskomplikationen auf 0,6 % wurde im Bevacizumab-Arm beobachtet, die Proteinurierate war mit 0,9 % ebenfalls leicht erhöht. Ansonsten war die Verträglichkeit sehr gut. Die Neuropathie Grad 3 betrug 20 % verglichen mit 14 % im Paclitaxel-Monoarm. Neutropenie und Herznebenwirkungen waren nicht signifikant erhöht. Damit zeigte diese Studie zum ersten Mal die signifikante positive Wirkung von Bevacizumab bei Patientinnen mit einem metastasierten Mammakarzinom. Für die adjuvante Therapie wird momentan eine Studie durchgeführt mit AC (Adriamycin/Cyclophosphamid) gefolgt von Taxol im Standardarm und die Hinzunahme von Bevacizumab 10 mg/kg alle 14 Tage 4 × gefolgt von Bevacizumab 10 mg/kg alle 14 Tage 18 × im Studienarm.

Neoadjuvante Studien befinden sich ebenfalls in der Planung.

Literatur

- [1] Finn et al., ASCO 2003, #940
- [2] Lynn u. Winer, Br. Canc. Res. **6**, 204 (2004)
- [3] Normanno et al., Ann. Onc. **13**, 65 (2002)
- [4] Arteaga et al., Br. Cancer Res. Treat. **88** (Suppl. 1), 15 (2004), #25
- [5] Blackwell et al., ASCO **23**, 196 (2004), #3006
- [6] Gomez et al., ASCO **23**, 203 (2005), #3046
- [7] Xia et al., J. Clin. Oncol. **23**, 18 (2005)
- [8] Storniolo et al., J. Clin. Oncol. **23**, 18 (2005), #559
- [9] Konecny, Untch et al., Clin. Cancer Res. **10**, 1706 (2004)

Anschriften der Referenten

Prof. Dr. Patrick A. Baeuerle
Micromet AG
Forschungsvorstand
Staffelseestr. 2
81477 München
Tel. +49 89 895277-601
Fax +49 89 895277-205
E-mail: patrick.baeuerle@micromet.de

Prof. Dr. Wolf-Henning Boehncke
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt
Klinikum und Fachbereich Medizin
Zentrum der Dermatologie und Venerologie
Leiter Allergologie/Immunologie
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt/Main
Tel. +49 69 6301-5743
Fax +49 69 6301-5117
E-mail: boehncke@em.uni-frankfurt.de

Prof. Dr. Theodor Dingermann
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt
Institut für Pharmazeutische Biologie
Biozentrum N230
Marie-Curie-Straße 9
60439 Frankfurt/ Main
Tel. +49 69 798-29650
Fax +49 69 798-29662
E-mail: dingermann@em.uni-frankfurt.de

Prof. Dr. Stefan Endres
Ludwig-Maximilians-Universität München
Medizinische Klinik Innenstadt
Leiter der Abt. für Klinische Pharmakologie
Ziemssenstraße 1
80336 München
Tel. +49 89 5160-2317
Fax +49 89 5160-4406
Email: endres@lmu.de

Prof. Dr. Ralf Gold
Georg-August-Universität Göttingen
Bereich Humanmedizin
Institut für MS-Forschung
Waldweg 33
37073 Göttingen
Tel. +49 551 39-13332
Fax +49 551 39-13348
E-mail: imsf@med.uni-goettingen.de

Prof. Dr. med. Michael Hallek
Universität zu Köln
Klinik I für Innere Medizin
Hämatologie und Onkologie
Joseph-Stelzmann-Straße 9
50931 Köln
Tel. +49 221 478-4400
Fax +49 221 478-5455
E-mail: michael.hallek@uni-koeln.de

Prof. Dr. Gunther Hartmann
Universitätsklinikum Bonn
Abteilung für Klinische Pharmakologie
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn
Tel. +49 228 287-6080
Fax +49 228 287-6094
E-mail: gunther.hartmann@ukb.uni-bonn.de

Prof. Dr. med. Drs. h.c. Joachim Robert Kalden
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Medizinische Klinik 3 mit Poliklinik
Rheumatologie, Immunologie und Onkologie
Krankenhausstraße 12
91054 Erlangen
Tel. +49 9131 85-33418
Fax +49 9131 85-34770
E-mail: joachim.kalden@med3.imed.uni-erlangen.de

Dr. Joachim Kalmus
Schering AG
Medical Development Oncology Europe
Müllerstr. 170-178
13342 Berlin
Tel. +49 30 468-14258
Fax +49 30 468-18014
E-mail: joachim.kalmus@schering.de

Prof. Dr. med. Rainer Kimmig
Universitäts-Frauenklinik Essen
Direktor
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Tel. +49 201 723-2441
E-mail: rainer.kimmig@medizin.uni-essen.de

Dr. Andreas Klein
Roche Diagnostics GmbH
Director Downstream Processing
Nonnenwald 2
82377 Penzberg
Tel. +49 8856 60-3359
Fax +49 8856 60-5242
E-mail: andreas.klein@roche.com

Prof. Dr. Ivar Roots
Charité Universitätsmedizin Berlin
Campus Mitte
Institut für Klinische Pharmakologie
Schumannstraße 20/21
10117 Berlin
Tel. +49 30 450 525151
Fax +49 30 450 525932
E-mail: ivar.roots@charite.de

Prof. Dr. med. Andreas Schalhorn
Ludwig-Maximilians-Universität München
Medizinische Fakultät / Klinikum Großhadern
Medizinische Klinik und Poliklinik III
Marchioninistraße 15
81377 München
Tel. +49 89 7095-2250
Fax +49 89 7095-2257
E-mail: andreas.schalhorn@med.uni-muenchen.de

Prof. Dr. Hans-Joachim Schmoll
Martin-Luther-Universität Halle Wittenberg
Direktor der Klinik und Poliklinik
für Innere Medizin IV
Ernst-Grube-Straße 40
06120 Halle/Saale
Tel. +49 345 557-2924
Fax +49 345 557-2950
E-mail: haematologie@medizin.uni-halle.de

Prof. Dr. Stefan Schreiber
Christian-Albrechts-Universität Kiel
Klinik für Allgemeine Innere Medizin
und Institut für klinische Molekularbiologie
Schittenhelmstraße 12
24105 Kiel
Tel. +49 431 597-2350
Fax +49 431 597-1434
E-mail: s.schreiber@mucosa.de

Prof. Dr. Dr. h.c. Peter C. Scriba
Ludwig-Maximilians-Universität München
Med. Klinik Innenstadt
Ziemssenstraße 1
80336 München
Tel. +49 89 5160-4400
Fax +49 89 5160-4422
E-mail: peter.scriba@med.uni-muenchen.de

PD Dr. med. Michael Untch
Ludwig-Maximilians-Universität München
Medizinische Fakultät / Klinikum Großhadern
Klinik u. Poliklinik für Frauenheilkunde
und Geburtshilfe
Marchioninistraße 15
81377 München
Tel. +49 89 7095-2852
Fax +49 89 7095-5852
E-mail: michael.untch@med.uni-muenchen.de

Dr. Margit Urban
MorphoSys AG
Director R&D
Lena-Christ-Str. 48
82152 Martinsried/Planegg
Tel. +49 89 89927-121
Fax +49 89 89927-5121
E-mail: urban@morphosys.com

Prof. Dr. med. Ulrich Wahn
Charité Campus Virchow-Klinikum
Universitätsmedizin Berlin
Direktor d. Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt
Pneumologie und Immunologie
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin
Tel. +49 30 450-566131
Fax +49 30 450-566931
E-mail: ulrich.wahn@charite.de