

Tumorstammzellen beim Pankreaskarzinom

Den verborgenen Bösewichten auf der Spur

Krebsstammzellen machen nur einen kleinen, aber entscheidenden Teil bösartiger Tumoren aus. Sie sind resistent gegen konventionelle Therapien und verantwortlich für Metastasen. Wissenschaftler aus München und Madrid haben am Pankreaskarzinom gezeigt, wie eine neuartige Triple-Therapie gegen diese „Bösewichte“ eingesetzt werden kann. Erste klinische Studien sollen noch 2010 beginnen.

Das Karzinom der Bauchspeicheldrüse (Pankreas) weist eine extrem schlechte Überlebensprognose auf. Obwohl bezüglich seiner Häufigkeit nur an neunter (Frauen) beziehungsweise zehnter Stelle (Männer), ist es die vierthäufigste Todesursache unter allen Krebserkrankungen: Fünf Jahre nach der Diagnose sind lediglich sechs bis acht Prozent der Patienten noch am Leben. Der Hauptgrund: Das Karzinom ist gegen herkömmliche Krebstherapien weitgehend resistent.

Woran das liegen könnte, haben in den letzten Jahren zwei Arbeitsgruppen aus München und Michigan herausgefunden. Sie stellten fest, dass nur spezielle Subpopulationen von Krebszellen eine erhöhte Resistenz gegenüber Chemotherapien und Bestrahlung aufwiesen. Solche besonders widerstandsfähigen Zellen gibt es in vielen, wenn nicht allen bösartigen Tumoren, doch im Pankreas scheinen sie besonders häufig zu sein. Wegen ihrer Fähigkeit zur fortwährenden Regeneration werden sie als Krebsstammzellen bezeichnet.

Die dahinter stehende Theorie ist noch relativ neu (s. Trillium-Report 4/2007). Sie resultiert aus einem Konzept hierarchisch angeordneter Zelltypen im Tumor, die unterschiedliche Reifegrade und Funktionen haben. Die Stammzellen sichern nach diesem Konzept den Nachschub an immer neuen Krebszellen, wenn diese absterben oder durch eine Therapie zer-

stört werden. Diese Fähigkeit zur stetigen Selbsterneuerung basiert auf der so genannten asymmetrischen Zellteilung: Die beiden Tochterzellen einer Tumorstammzelle sind – ähnlich wie auch bei gesunden Stammzellen – nicht identisch. Die eine wird wieder zur Stammzelle, die andere zu einer „normalen“ Krebszelle, die bestimmte Aufga-

Stammzellen sichern den Nachschub

ben im Tumor wahrnimmt und sich deshalb entsprechend weiter differenziert.

Der kleine Anteil von Tumorstammzellen lebt im Verborgenen und weist eine geringere Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit (Proliferationsrate) auf als die Zellen der großen Tumormasse. Für den Gesamtorganismus ist er kaum belastend, sein Gefahrenpotenzial liegt vielmehr in der Fähigkeit, immer neue Krebszellen mit hoher Proliferationsrate zu generieren, die dann den eigentlichen Tumor bilden. Bildhaft ausgedrückt: Tumorstammzellen sind die verborgenen Bösewichte des Krebses und der Ursprung allen Übels.

Ihre geringe Teilungsrate ist auch ein Grund für ihre hochgradige Resistenz, weil Zytostatika ihre Toxizität in erster Linie auf sich teilende Zellen ausüben. Überdies wurden in der Membran von Tumorstammzellen hohe Konzentrationen von Pumpensystemen gefunden, durch die

viele klassische und auch hoch innovative Krebsmedikamente effizient aus der Zelle entfernt werden. Und schließlich erklärt sich so auch das Vorhandensein ruhender Tumorzellen, die teilweise erst nach vielen Jahren zu Rückfällen (Rezidiven) führen.

Die Krebsstammzellen, die beide Arbeitsgruppen aus Pankreaskarzinomen isolierten, sind dadurch charakterisiert, dass sie sich in immundefiziente Mäusestämme transplantieren ließen und dort nicht nur überlebten, sondern auch neue Tumoren ausbildeten. Diese Zellen trugen auf der Oberfläche entweder eine Kombination aus den in Michigan identifizierten Oberflächenmarkern CD24, CD44 und ESA oder dem in München gefundenen Marker CD133, wie sie ähnlich auch schon bei anderen Krebsstammzellen aufgezeigt



Prof. Dr. Christopher Heeschen führte einen Teil seiner grundlegenden Experimente an der Universität München durch. Heute arbeitet er am Spanischen Nationalen Krebsforschungszentrum in Madrid.

worden waren. Die Behandlung mit Gemcitabin, dem Standard-Chemotherapeutikum beim Pankreaskarzinom, tötete die normalen Tumorzellen ab, nicht jedoch die Stammzellen.

Im Klinikum Großhadern der Universität München hatte die Arbeitsgruppe von Christopher Heeschen, jetzt am Spanischen Nationalen Krebsforschungszentrum in Madrid, die CD133-positiven Tumorstammzellen gefunden. Die Wissenschaftler begannen daraufhin an beiden Standorten, nach Therapiestrategien zu suchen, mit denen sich die Therapieresistenz dieser Zellen überwinden lässt. Eine breit angelegte Suche nach zellulären Signalmechanismen, die in Krebsstammzellen besonders aktiv sind, hatte unter anderem ergeben, dass mindestens ein Gen des „Sonic Hedgehog“-Signalwegs (Shh) in allen untersuchten Pankreaskarzinom-Stammzellen verändert ist. Der Shh-Signalweg ist normalerweise vor allem in der Embryonalentwicklung von zentraler Bedeutung. Wurden die Zellen mit Inhibitoren (Hemmstoffen) des Shh-Systems behandelt, so hatte das allerdings nur mäßigen Erfolg.

Das Gleiche galt für Hemmstoffe des für viele Krebserkrankungen zentralen mTOR-Signalwegs (*mammalian target of rapamycin*), der für Überleben und Proliferation von Krebszellen wichtig ist. Erst als die Wissenschaftler beide Systeme hemmten und diese Behandlung außerdem noch mit dem herkömmlichen Zytostatikum Gemcitabin kombinierten, führte das zu einem massiven Rückgang des Anteils der Stammzellen – sowohl in Kulturen einer Pankreaskarzinom-Zelllinie als auch in Zellkulturen, die direkt aus Operationsmaterial von Patienten mit Pankreaskarzinomen gewonnen worden waren.

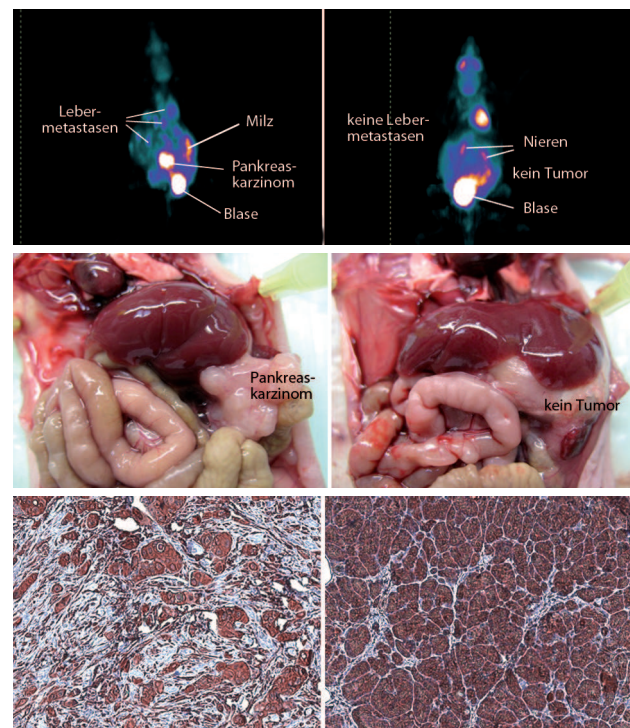
Diese Triple-Therapie wirkte auch in Mäusen, die solche Tumorstammzellen implantiert erhalten hatten: Die Zellzahl nahm rapide ab, und in der Folge kam es

zu einem Schrumpfen der Tumoren, einer Reduktion der Häufigkeit von Metastasen und einer Verlängerung der Überlebenszeiten der behandelten Tiere (s. Abb.). Während alle Tiere in der Gemcitabin-Gruppe innerhalb von 50 Tagen verstarben, überlebten trotz Absetzen der Therapie nach 60 Tagen mehr als 60 Prozent der mit der Triple-Therapie behandelten Tiere über 100 Tage und waren tumorfrei.

Keiner der untersuchten Hemmstoffe konnte alleine die CD133-positiven Zellen komplett eliminieren, das heißt keiner der beiden Signalwege – Shh und mTOR – ist exklusiv für die Stammzeleigenschaften der Zellen verantwortlich. Aber auch die kombinierte Hemmung beider Mechanismen vermochte die Tumorigenität der damit behandelten Zellpopulationen nur sehr mäßig zu unterdrücken. Es bedurfte vielmehr der Zugabe des konventionellen Zytostatikums Gemcitabin, das für sich alleine genommen überhaupt nicht auf die Stammzellen wirkt, um diese Tumor-erzeugenden Eigenschaften vollständig zu eliminieren. Nach dreiwöchiger Behandlung mit dem Triple-Regime aus Shh- und mTOR-Inhibitor sowie Gemcitabin war eine praktisch vollständige Eradikation der Tumorstammzellen sowie eine signifikante und stabile Rückbildung der Tumoren zu sehen.

Der primäre Wirkmechanismus dieser Triple-Kombination scheint also zu sein, dass die beiden Signalweg-spezifischen Sub-

stanzen den Zellen die Stammzeleigenschaften nehmen und diese daraufhin empfindlich für die Zytotoxizität von Gemcitabin werden. Das gilt zumindest für die untersuchten permanenten Pankreaskarzinom-Zelllinien. Bei frisch aus Operationsmaterial isolierten primären CD133-positiven Zellen konnte die Triple-Therapie nur bei einem Teil der Patienten diese Zellen in Kultur eliminieren. Dies korrelierte mit dem Ausmaß der Anreicherung von Tumorstammzellen durch eine Gemcitabin-Monotherapie. Damit stellt sich die Frage, so Heeschen, ob man bei einer künftigen klinischen Anwendung dieses therapeutischen Ansatzes vorher Screening-Untersuchungen durchführen müsste – im Sinne einer Individualisierung der Therapie, die man dann auf Patienten beschränken könnte, die tatsächlich davon profitieren, während sie den übrigen erspart bliebe.



Transplantiert man Pankreaskarzinom-Stammzellen in gesunde Mäuse, so entsteht daraus trotz Behandlung mit Gemcitabin ein Tumor mit Metastasen (links). Die im Text beschriebene Tripel-Therapie wendet sich gezielt auch gegen die Stammzellen im Tumor und verhindert das Krebswachstum (rechts). Oben Positronen-Emissions-Tomographie, Mitte Operations-Situs, unten Histologie. Mit freundlicher Genehmigung von C. Heeschen, Madrid.

Dass Metastasen des Pankreaskarzinoms nur sehr begrenzt auf eine Chemotherapie ansprechen, legt den Verdacht nahe, dass auch hier Tumorstammzellen eine zentrale Rolle spielen. Die Münchner Chirurgen hatten in den Bereichen von Pankreastumoren, die invasiv ins umliegende Gewebe wuchsen, CD133-positive Zellen gefunden, die einen zusätzlichen Oberflächenmarker trugen, den Rezeptor CXCR4. Wurden diese Zellen aus dem Stammzell-Pool entfernt, so konnte dieser in Mäusen weiter Tumoren bilden, die aber keine Fernmetastasen mehr absiedelten. CXCR4 fungiert als Rezeptor für ein Protein namens Stroma-derived Factor 1 (SDF-1), das vor allem in Lunge, Le-

ber, Knochenmark und Lymphknoten vorkommt, in den Organen also, in denen sich bevorzugt Metastasen solider Tumoren ansiedeln. Auch die gutartigen und lebensnotwendigen hämatopoetischen Stammzellen, aus denen sämtliche Blutzellen gebildet werden, tragen das CXCR4-Molekül, mit dessen Hilfe sie sich in ihrer Nische im Knochenmark einnisten können, weil die dortigen Stromazellen SDF-1 exprimieren. CXCR4-positive Stammzellen vom Pankreaskarzinom induzieren in Versuchstieren hochgradig metastasierende Erkrankungen, während CXCR4-negative Stammzellen lediglich am Ort der Inokulation einen Tumor ausbilden, der keine Metastasen erzeugt. Auch an Patienten ließ sich dieser Zusammenhang bestätigen: Patienten, deren Tumoren einen hohen Anteil CXCR4-positiver Zellen aufwiesen, hatten durchweg sehr viel stärker metastasierte Erkrankungen.

Mit diesen Befunden war zum ersten Mal nachgewiesen worden, dass eine spezielle Subpopulation von Krebsstammzellen offenbar ausschließlich für das Metastasierungs-potenzial eines Tumors verant-

wortlich ist. Auch Ansätze für spezifische Therapien konnten die Münchner bereits in ihrer ersten Publikation aufzeigen: Es gibt einen niedermolekularen Antagonisten gegen CXCR4, AMD3100 oder Plerixafor, der die Wechselwirkung zwischen dem Rezeptor und seinem Liganden SDF-1 verhindert. Bei Mäusen, die zugleich mit der Inokulation der Zellen diese Substanz erhielten, war die Metastasierung signifikant reduziert. In den jüngsten Experimenten konnten in Kultur bereits durch die Zweierkombination aus Shh-Inhibitoren und Gemcitabin und erst recht durch die Triple-Kombination alle CD133- und CXCR4-positiven Krebsstammzellen eliminiert werden. In Mäuse transplantiert bildeten mit Gemcitabin vorbehandelte Zellen Metastasen aus. Mit Shh-Inhibitoren trat dies seltener auf. Noch stärker reduziert waren sie nach Doppelbehandlung mit Shh-Hemmer und Gemcitabin. Nach einer Triple-Therapie schließlich, die auch den mTOR-Inhibitor enthielt, war in vivo überhaupt keine Metastasierung mehr zu beobachten.

Wie lassen sich diese Erkenntnisse in die klinische Anwendung überführen? Inhibitoren von mTOR wie Sirolimus (Rapamycin) sind bereits zugelassen zur Verhinderung der Abstoßung von transplantierten Organen sowie zur Behandlung einiger solider und lymphatischer Tumore. „Sonic Hedgehog“-Hemmstoffe befinden sich in klinischen Phase-1- und Phase-2-Studien vor allem beim Basalzellkarzinom, und das Sicherheitsprofil ist bislang relativ gut.

Weil auch normale Stammzellen für ihre Funktion die beschriebenen Signalwege benutzen, muss man jedoch mit Nebenwirkungen rechnen. Diese sollten am ehesten bei der Blutbildung zutage treten, weil Blutzellen permanent verbraucht werden

und aus hämatopoetischen Stammzellen nachgebildet werden müssen. In den Tierexperimenten, so Heesch, waren die Inhibitoren deshalb immer nur für zwei bis drei Wochen gegeben worden, und im Rahmen eines solchen Regimes war keine Leukopenie (Mangel an weißen Blutkörperchen) beobachtet worden – mit der Onkologen im Übrigen gut umgehen können, weil sie bei sehr vielen Krebstherapien regelmäßig auftritt.

Die neuen Daten aus München stimmen gut mit der Hypothese überein, wonach maligne Tumoren von einer kleinen Subpopulation undifferenzierter Zellen mit Stammzell-Eigenschaften erzeugt werden, die sich permanent selbst erneuern können und aus deren stärker differenzierten Nachkommen die Masse des Tumors entsteht. Nach einer Standard-Chemotherapie bleiben die Tumorstammzellen am Leben und behalten ihre tumorigene Kapazität. Theoretisch sollte selbst eine einzelne Tumorstammzelle imstande sein, zu einem ganzen Tumor auszuwachsen – das heißt, wirksame Therapien müssten möglichst sämtliche Tumorstammzellen eliminieren, weil anders eine Heilung nicht möglich sein wird. Zumindest im Experiment scheint das mit der von den Großhaderner Wissenschaftlern vorgestellten Behandlung aus „Sonic Hedgehog“- und mTOR-Inhibitoren und einer klassischen Chemotherapie beim Pankreaskarzinom zu gelingen. Die Nagelprobe wird aber wie immer in der Medizin die klinische Erprobung dieses Ansatzes darstellen. Eine erste klinische Studie soll noch 2010 beginnen. ✿



Josef Gulden
Mitglied der Redaktion