

Molekulare Grundlagen der Chemoresistenz und Möglichkeiten der Überwindung



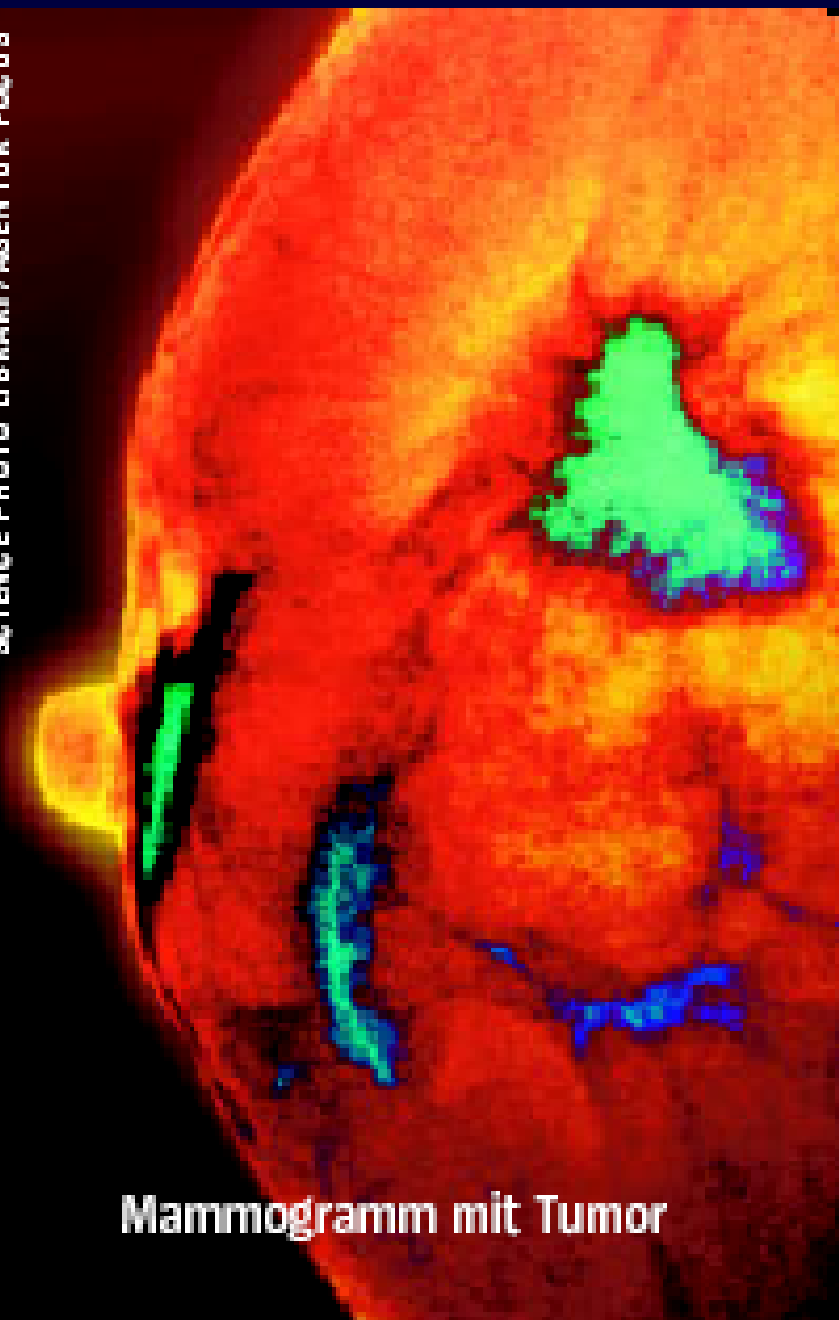
O. Gluz

West German Study Group

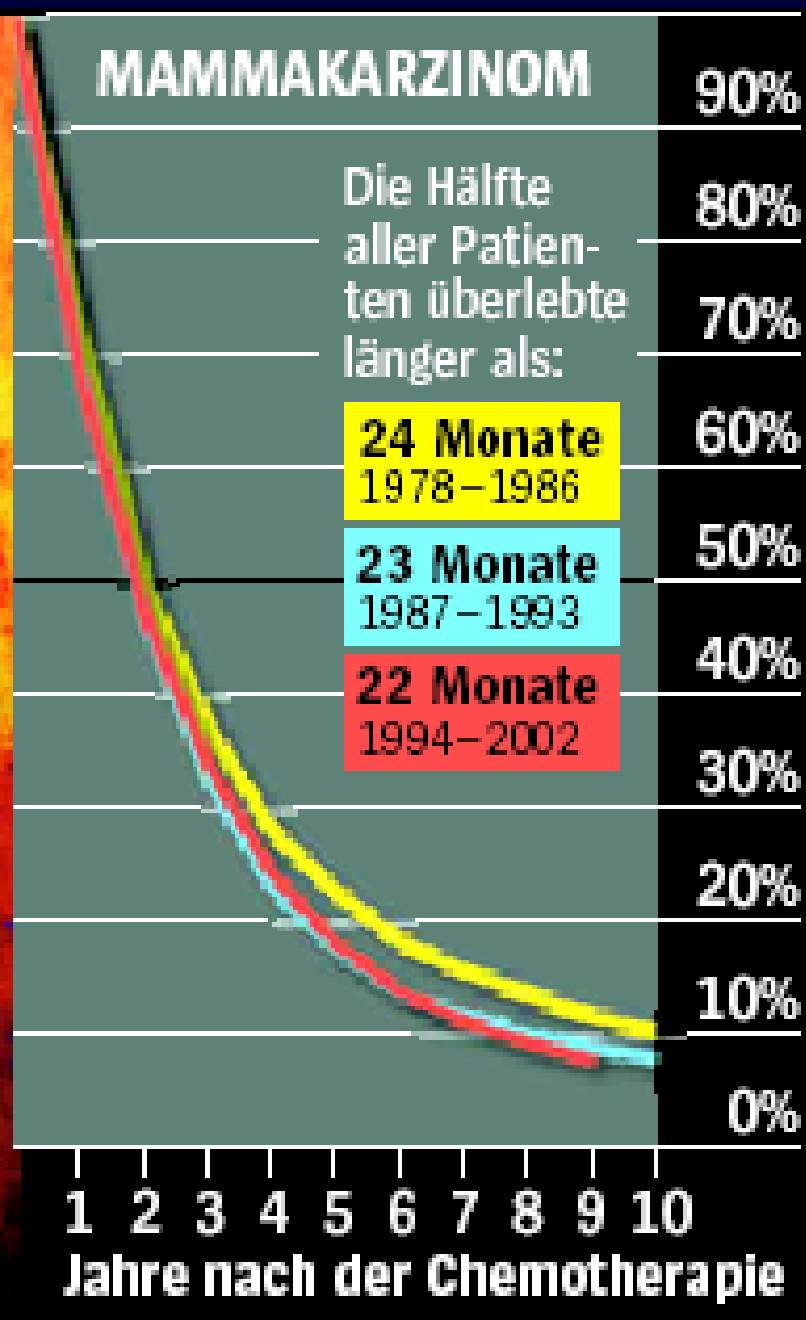
Einführung

- Rückfall der Erkrankung in 30-40% der Patienten mit Mamma-Ca.
- Ca. 5-10% der Patienten sind primär metastasiert
- Medianes Überleben 12-24 Monate
- 17 000 Todesfälle allein in Deutschland
- Die Ansprechsraten variieren von ca. 90% in der Primärsituation bis ca. 50% im metastasierten Setting

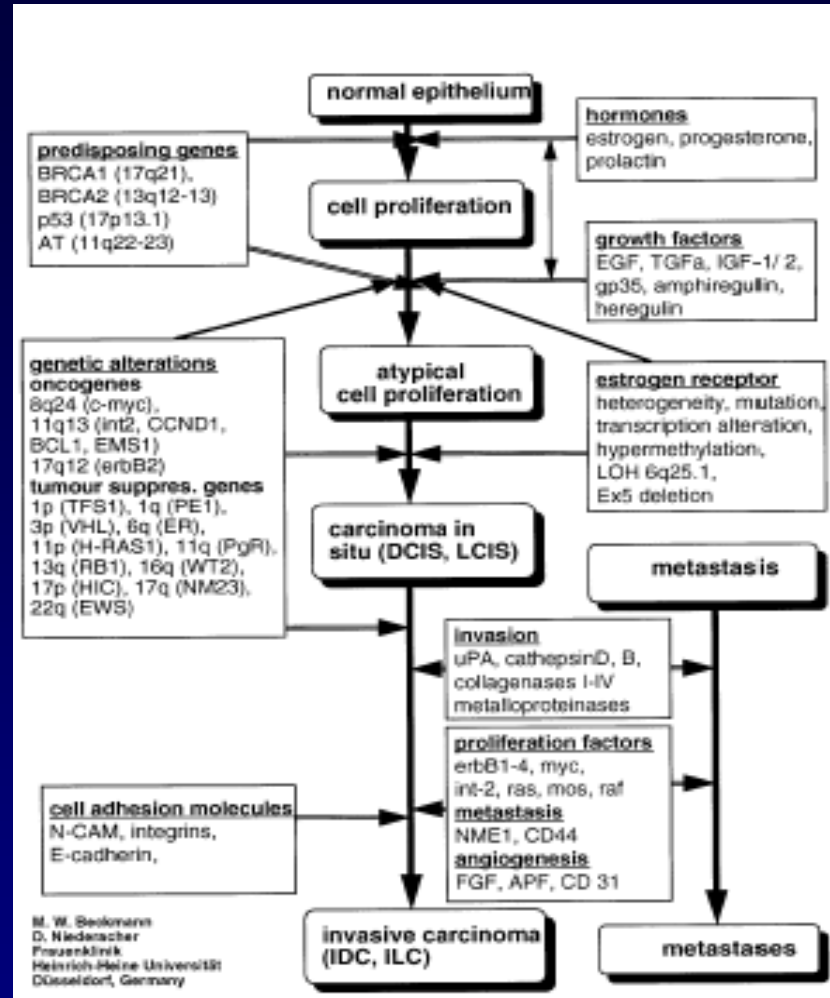
SCIENCE PHOTO LIBRARY/AGENTUR FOCUS



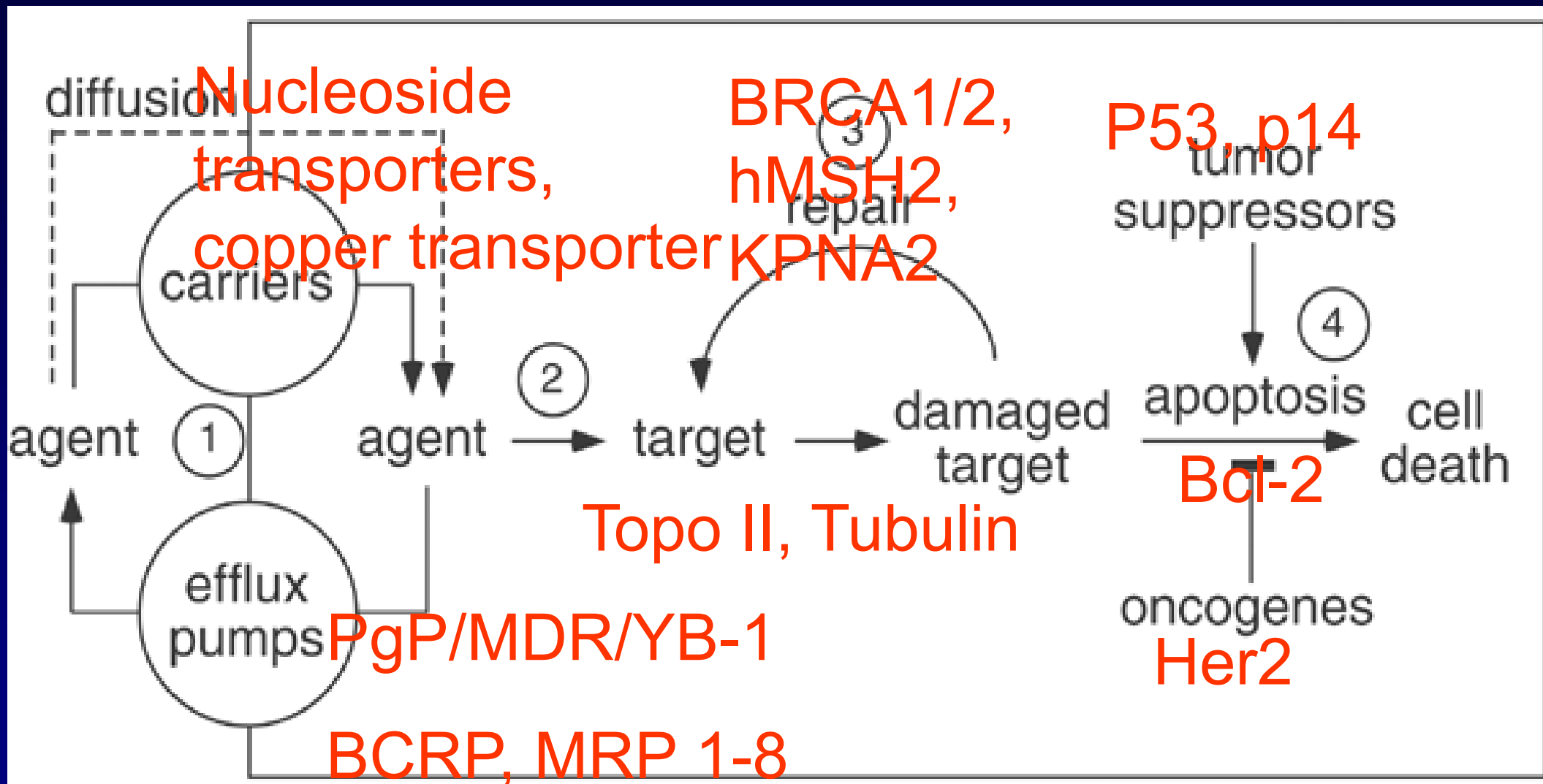
Mammogramm mit Tumor



Mechanismen der Chemoresistenz



- Aufgrund der zahlreichen genetischen Veränderungen in der Karzinogenese gehört das Mamma-Karzinom zu den partiell chemosensitiven Tumoren



Drug transporters

- ATP binding cassette (ABC) transport proteins
- Mehr als 10 bekannte Faktoren, die bei der Resistenz eine Rolle spielen
- MDR (multi drug resistance) gen kodiert das P-Glycoprotein
- PgP ist für zahlreiche physiologische Transporte verantwortlich (Lipide, Hormone), u.a aber auch für Doxorubicin, Vinblastin, Taxol etc.
- PgP schleust die Stoffe aus der Zytoplasma, ist aber auch für die Transport-Hinderung innerhalb der Zelle verantwortlich
- Expression von MDR/PgP wird u.a. durch die Exposition der Zelle einer Chemotherapie (als auch UV, Radiatio etc.) beeinflusst.

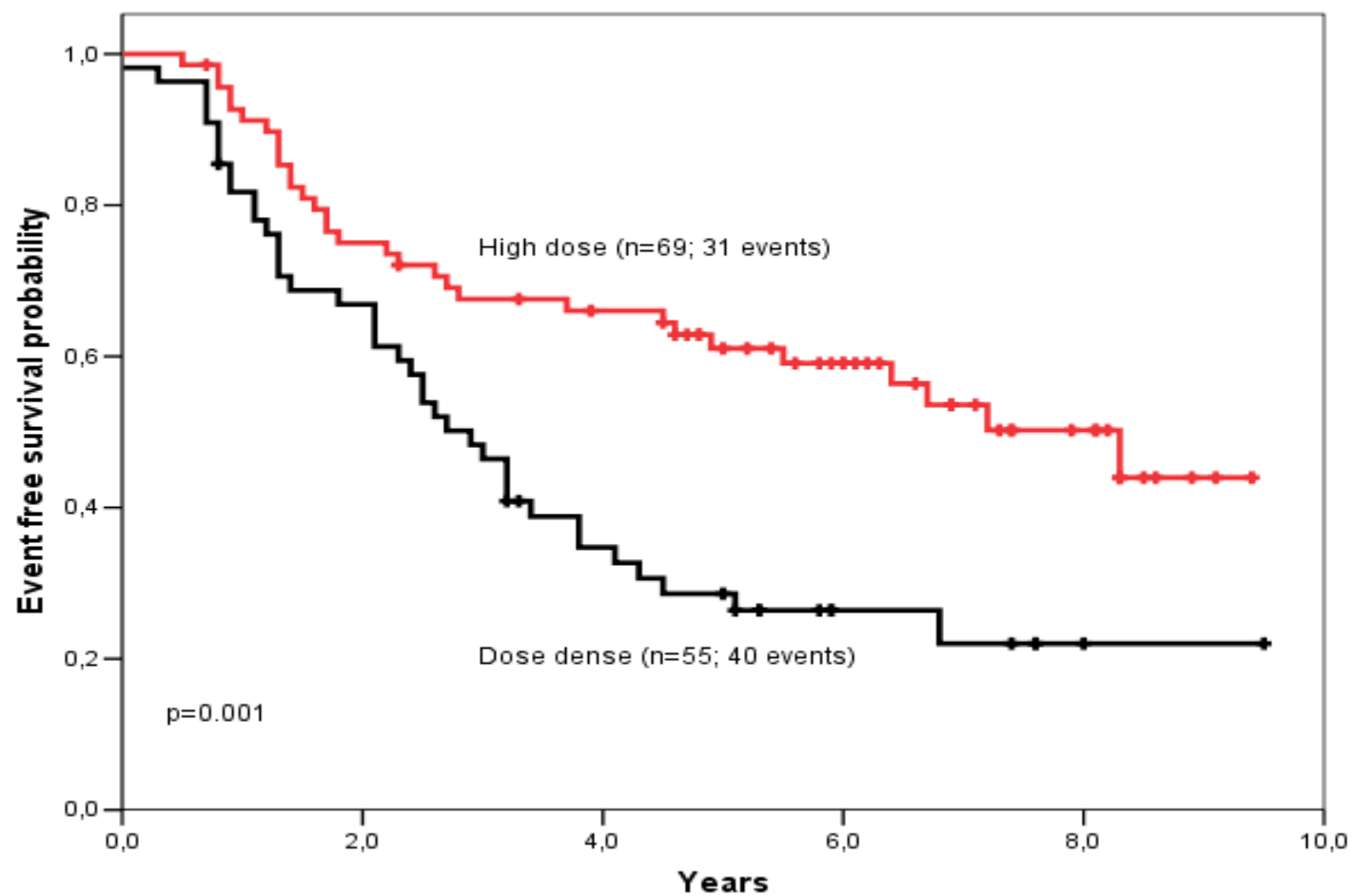
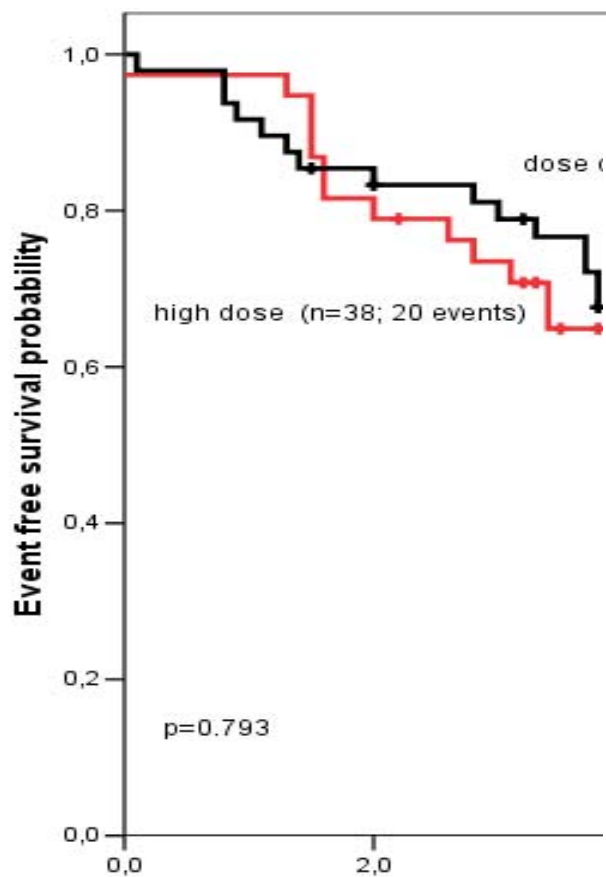
Klinische Bedeutung

- Meta-Analyse der MDR/PgP Expression (San Antonio 2007)
- 94 Studien in 4944 Patienten
- Unterschiedliche Methoden (ICH, RNA)
- RNA Expression war höher nach der CTX (66% vs. 46%), unabhängig von Substanz
- Vor allem die Expression von MDR/PgP nach der Exposition hatte die prädiktive Kraft
- Höheres Ansprechen in PgP- Tumoren
- 4 von 5 Studien beweisen eine signifikante Assoziation zwischen der MDR/PgP und in-vitro Doxorubicin Resistenz
- 10 von 18 Studien fanden eine Korrelation mit dem Überleben

- Zahlreiche Inhibitoren (Verpamil, Amiodaron, tariquidar u.a.)
- Obwohl 7 von 11 Studien fanden eine Umkehr von PD zu SD/PR, keine Daten für die Verbesserung von PR >25%....
- Z.B. PR-Erhöhung in taxane-resistent Ovarial-Ca. nicht aber in Mamma-Ca. durch MDR-Inhibitor+Taxan
- Zusammenfassung:
 - Gesamtkorrelation mit dem Ansprechen auf eine CTX
 - Heterogene Messungsmethoden
 - Substanz-spezifische Resistenz?
 - Zeitpunkt der Messung?
 - Inhibitor-Effekte minimal

YB-1

- YB-1 ist ein Kalt-Schock Protein
- ist mit der intrinsischen MDR1 Genexpression und Expression von P-Glycoprotein (ABCB1) assoziiert
- Schlüssel-Regulator von Zellzyklus und DNA Reparatur
- ist mit der Resistanz gegenüber zahlreichen zytotoxischen Substanzen (Cisplatin, Paclitaxel, Etoposid, Anthrazykline) in in vitro und in vivo Modellen assoziiert
- Involviert in die Tumorgenese durch chromosomale Instabilität
- Spielt eine Role im AKT pathway
- Interaktion mit EGF and p53 pathways



Hazard ratios by treatment and YB-1 Status

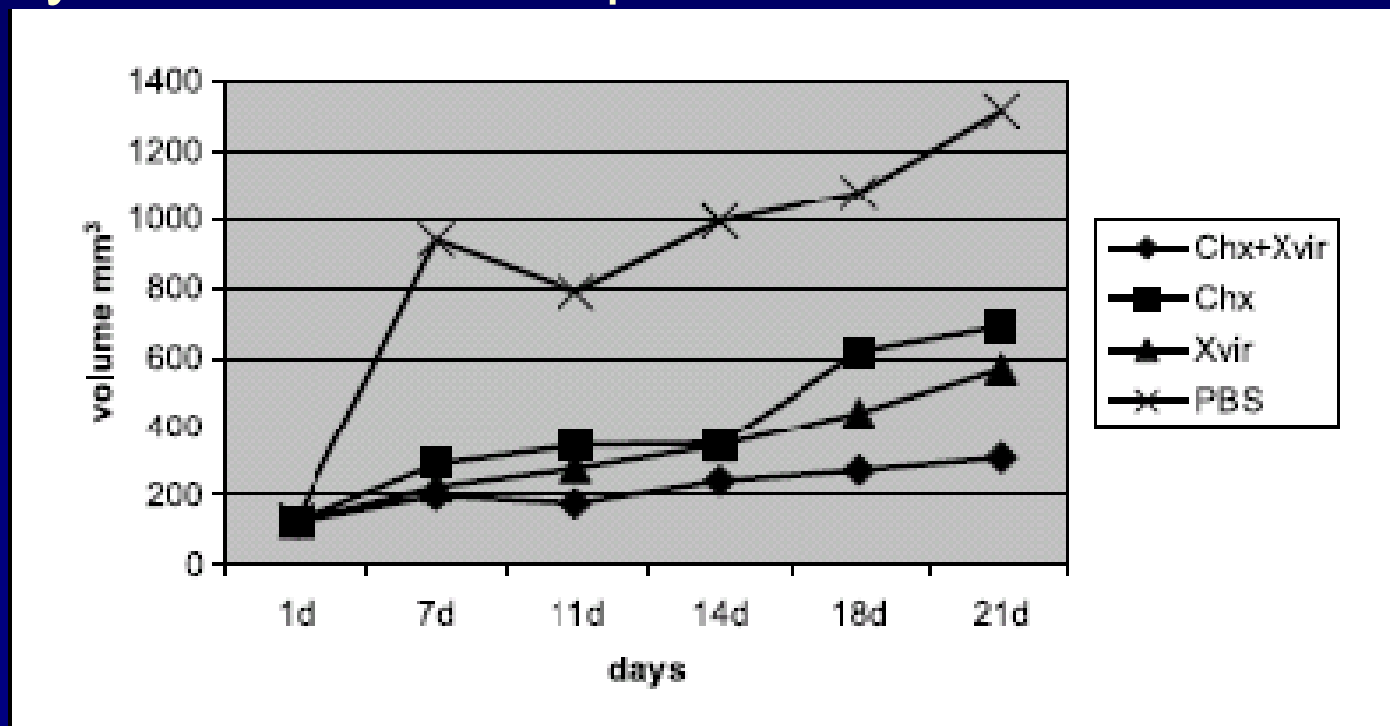


	EFS*			OS*		
	HR	p	95% CI	HR	p	95% CI
Time varying YB-1*treatment	0.29	<0.001	0.16-0.55	0.16	<0.001	0.18-0.43
	<20 months vs. > 20 months			<40 months vs. >40 months		

*time varying Cox proportional hazard model

Virale Therapie des YB-1

- Oncolytisches Onkovirus Xvir 3 führt zur nuklearen Translokation von YB-1 und Lyse der zelle
- Xvir3 “downregulates“ MDR/MRP Expression
- Nukleare Translokation von YB-1 führt zur Re-Sensitivierung der Tumorzellen zur zytotoxischen Therapie



Breast Cancer Resistance Protein und Stammzellen-Theorie

- BCRP ist ein ABC Transporter, häufig assoziiert mit den Stammzellen
- BCRP vermittelt Resistenz gegenüber Mitoxantron, Topotecan, Doxorubicin, MTX
- Expression wird z.B. durch hypoxischen Stress verursacht
- U.a. aufgrund des hohen Transporter-Besatzes bei den normalen und malignen Stammzellen wird die primäre Chemoresistenz angenommen....

Stammzellen-Theorie

- Lin et al. (JNCI 2008)
 - 31 Pat. behandelt mit neoadjuvanter CTX und 21 Pat. mit Lapatinib in Her2+
 - Proportion der CD44⁺/CD24^{low} Zellen von 4,7% → 13,6% (w12)
 - Trend zur Abnahme der SC bei Patienten unter Lapatinib Behandlung
 - Weitere Resistenz-Mechanismen in den Stammzellen, z.B. Expression der aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1), involviert in die Cyclophosphamid-Resistenz
- Stammzellen als Resistenz-Ursache????
- Unklare Bedeutung in der Metastasierung
- Messung?

Stofftransport in die Zelle

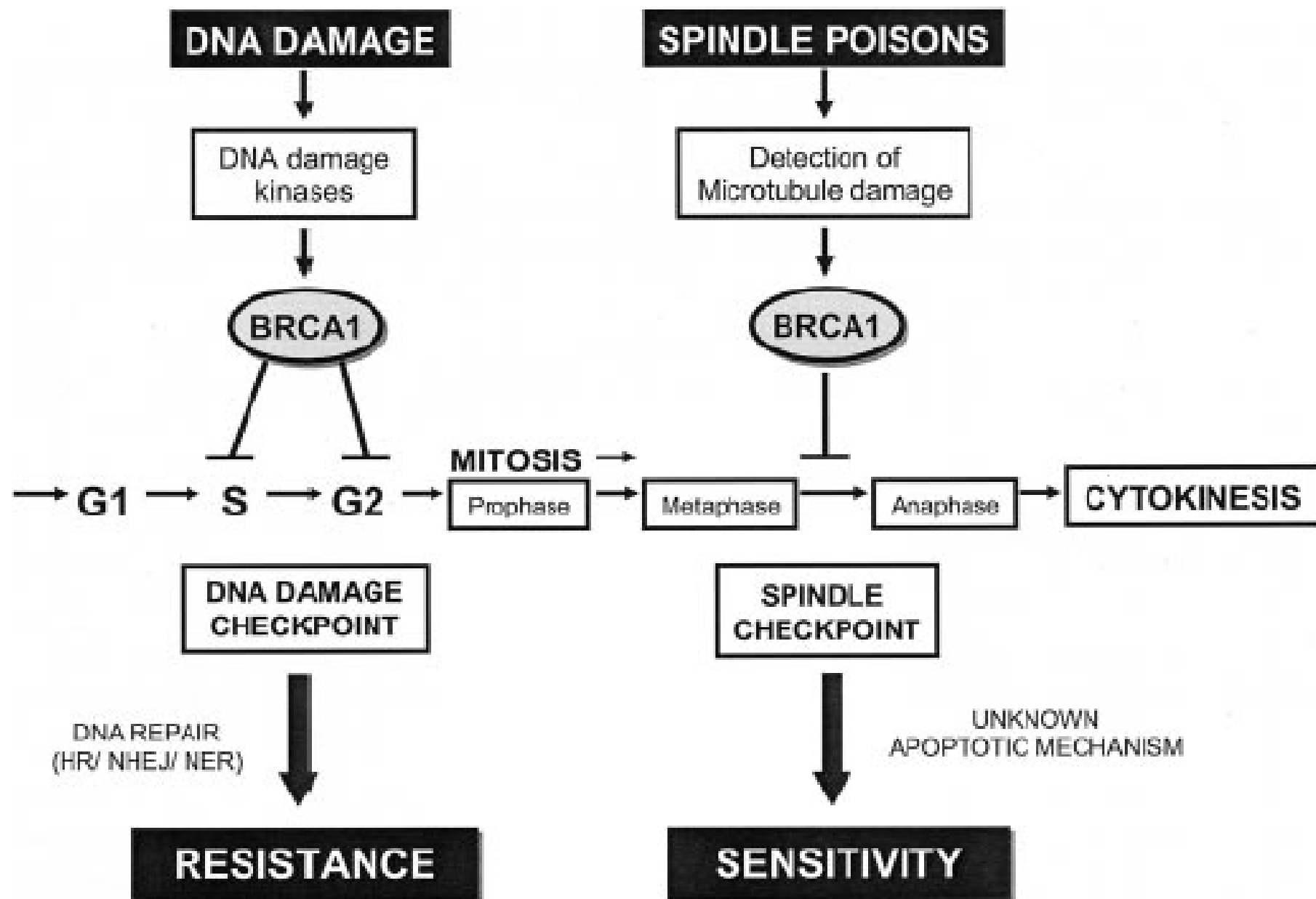
- Chemotherapeutika werden sowohl passiv (Z.b. Paclitaxel) als auch aktiv in die Zelle aufgenommen
- Equilibrative nucleoside transporters (v.a. human ENT 3-4) sind wichtig für den Transport der Nucleosidanaloga
- Concentrative nucleoside transporters (v.a. 1-3) transportieren z.B. Gemcitabine
- Copper transporter CTR1 ist zuständig für den Transport von Platinanaloga
- Reduced folate carrier (RFC) → z.B. Methotrexat-Transport

DNA Reparatur

- Nucleotid excision und base excision repair, homologe Rekombination, mismatch repair and cross-link repair sind bekannte Mechanismen
- Doppelstrangbrüche sind das entscheidende Faktor der Chemotherapie-Wirkung und sollen (abhängig von der p53 Funktion) zu einem Zell-Zyklus Arrest führen.
- Mismatch repair Defekte verursachen die Resistenz gegenüber Methylierungssubstanzen, spielen beim Mamma-Ca. eher untergeordnete Rolle.
 - Eine positive Studie zur MLH1 Expression als Prognosemarker nach CTX im nodal-negativen Bereich (JCO 2000)

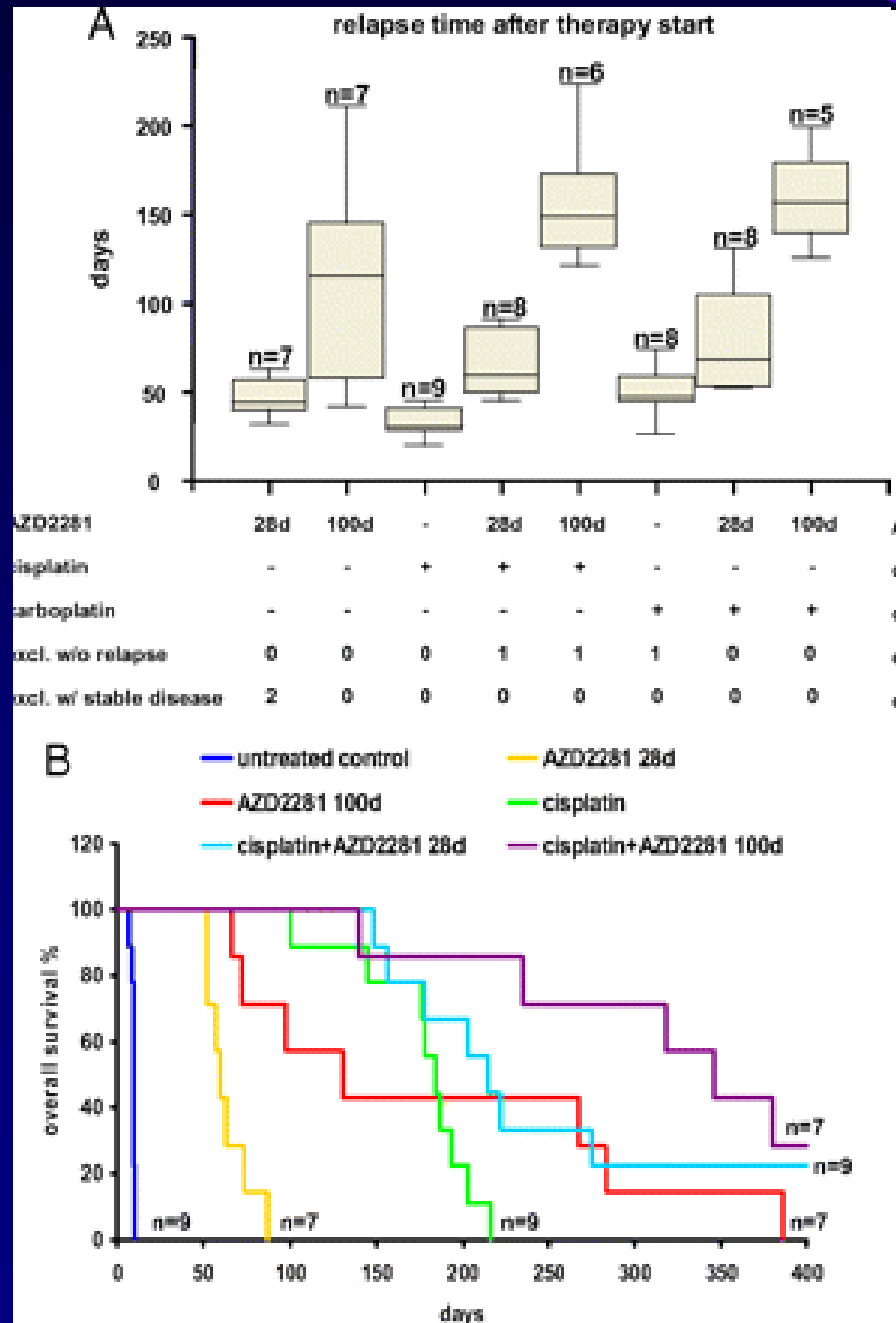
BRCA 1/2

- Zentrale Rolle bei der DNA Reparatur (homologe Rekombination, non homologic end joining der Doppelstrangbrüche)
- Multiple Funktionen im Zellzyklus, Regulation der Transkription etc.
- BRCA 1 und 2 Mutation ist für ca. 5-10% der Mamma-Ca. Fälle verantwortlich
- BRCA1 Mutation ist häufig mit triple-negativen Charakteristika assoziiert (15-20% der Gesamtpopulation)
- Prävalenz einer Mutation in triple-negativen Mamma-Ca. variiert mit dem Alter und Familienvorgeschichte
- 10-15% der sporadischen Mamma-Ca. Fälle haben aber eine BRCA1 Unterfunktion (z.B. aufgrund der promoter methylation)



- BRCA1 assoziierte Tumoren zeigen eine Sensitivität gegenüber Platin, Alkylanzien und eine Resistenz gegenüber Taxanen
- Poly(ADP) ribose polymerase (PARP-1) spielt eine entscheidende Rolle bei BER
- Verlust der PARP Funktion resultiert in der DNA Schädigung, die durch die mutierte/inaktive BRCA1/2 nicht repariert werden kann
- z.B. PARP inhibitor AZD2281 hat klinische Aktivität in BRCA1 defekten Tumoren

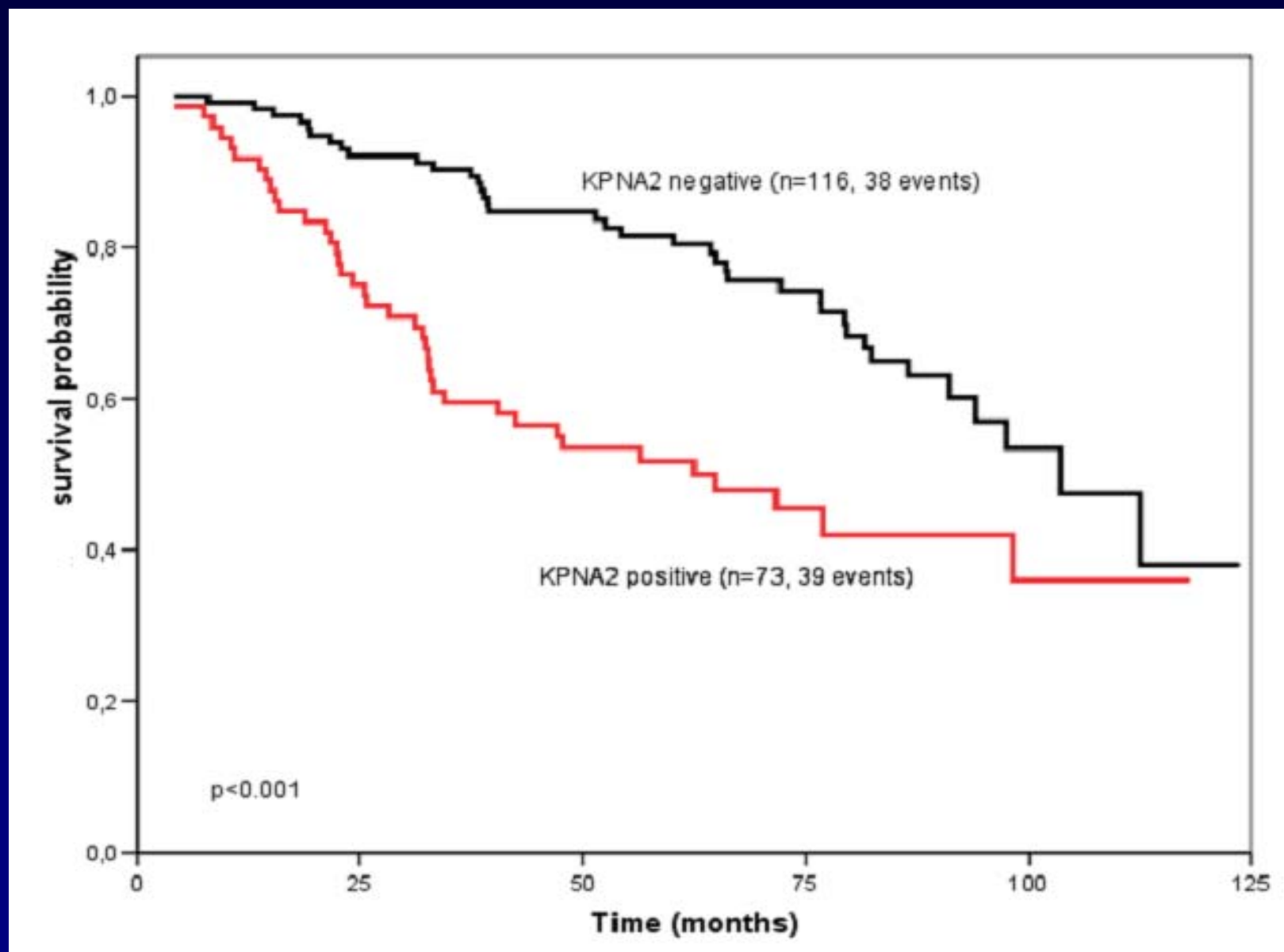
- Rothenberg et al. PNAS 10/2008: AZD2281 +Platin führen zu einem längeren RFS+OS bei BRCA1 mutiertem Maus-Modell
- Behandlung durch AZD2281 führt zu einer Expression von PgP, welche durch tariquidar gehemmt werden kann



KPNA2

- Karyopherin $\alpha 2$ (KPNA2) ist ein Mitglied der karyopherin (importin) Familie, die ein teil des „nuclear transport protein“ Komplexes ist.
- spielt eine Schlüsselrolle beim nukleo-cytoplasmatischen Transport durch Interaktion mit dem NBS1 Komplex (Nijmegen breakage syndrome)
- es wird angenommen, dass BRCA1 durch den KPNA2 in den Nukleus transportiert wird.

KPNA2

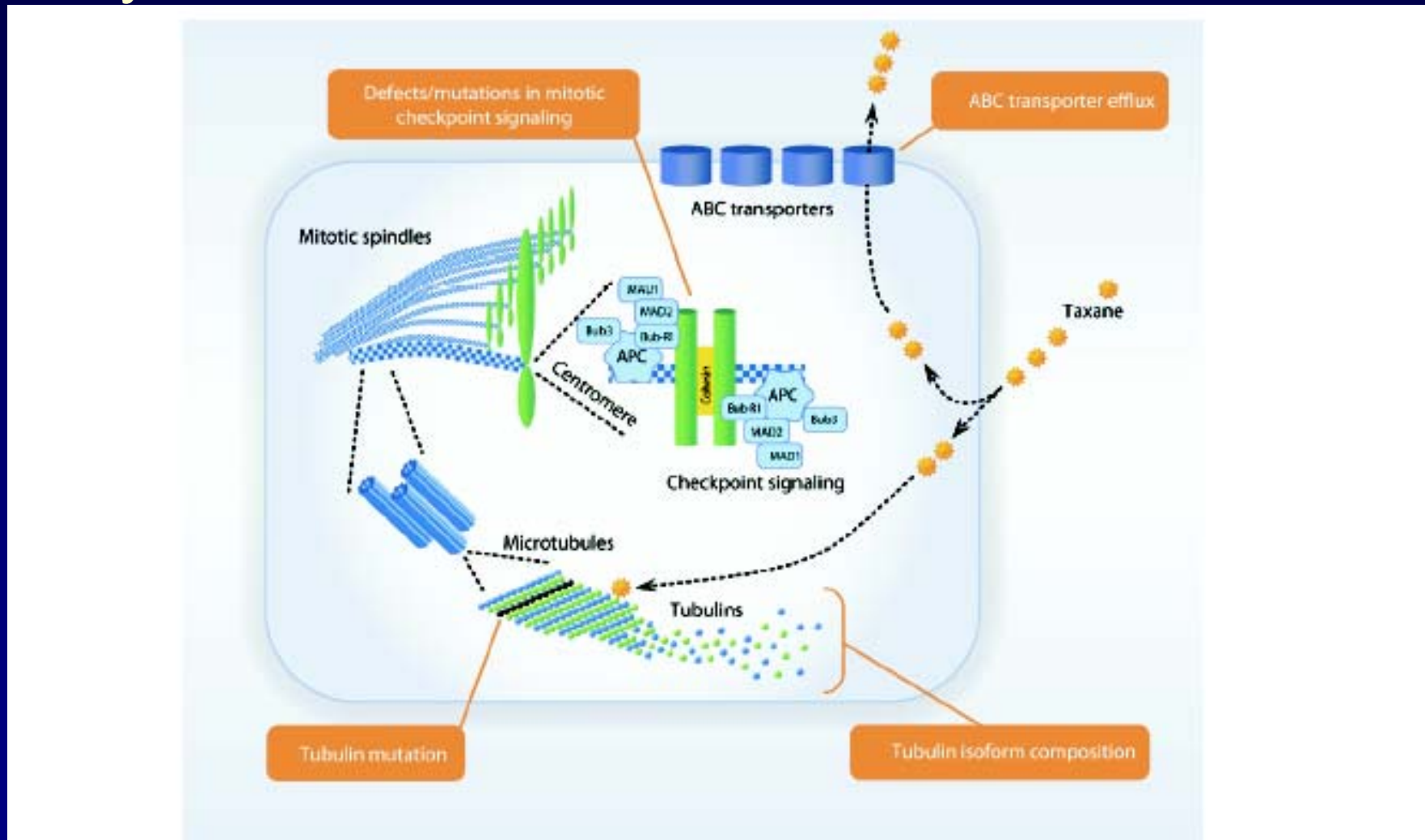


Multivariate Analyse Gesamtüberleben

	Comparison	p	β (log HR)	Hazard ratio [95% CI]
Therapy	HD vs. DD	<0.001	-1.001	0.37 [0.22 – 0.61]
Tumor size	≥ 5 cm vs. ≥ 2 -5 cm vs. <2 cm	0.047	0.424	1.52 [1.00 – 2.32]
Molecular classification	Her-2/neu /basal- like vs. other*	0.001	0.926	2.52 [1.44-4.43]
KPNA2	Pos. vs. neg.	0.03	0.620	1.86 [1.07-3.23]

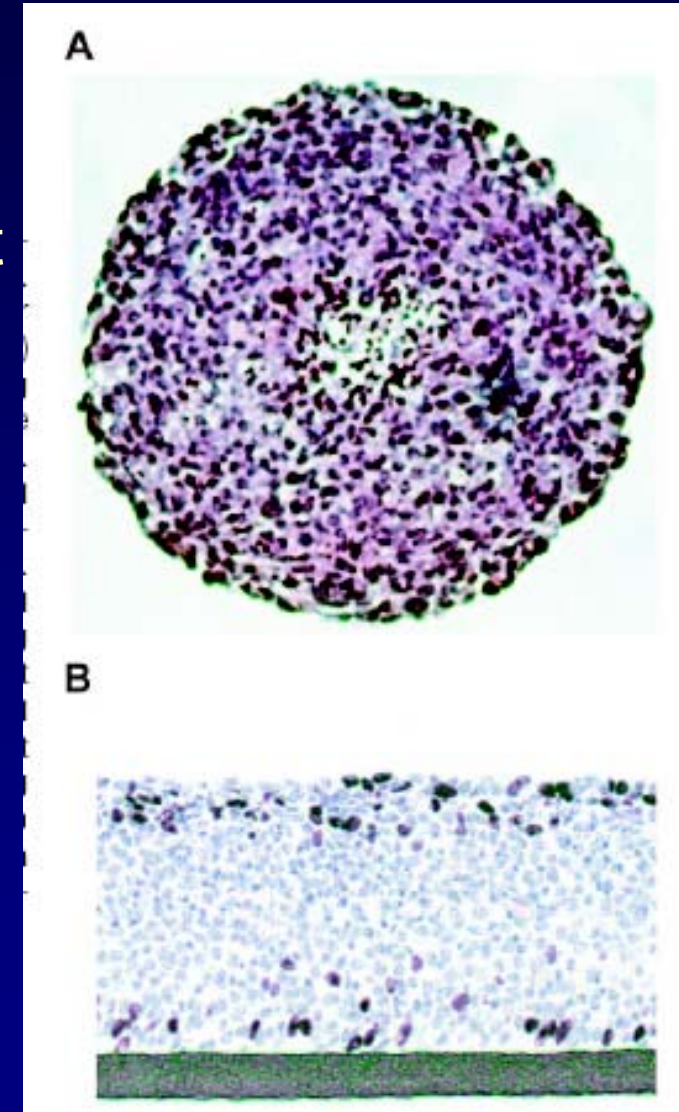
Verlust der Zielstrukturen

Fehlende Expression von Topoisomerase IIa bei Anthrazyklinen oder Mutation der Tubuline bei Taxanen



Microenvironment

- Heterogene Umgebung der Zelle
- Tumor-Stroma Interaktion
- Hypoxie führt zur Up-regulation der drug export pumps
- Azidose (intratumor pH neutral bis basisch → schwach basische Stoffe haben reduzierte Aufnahme in die Zelle).
- Abnorme Neoangiogenese spielt große Rolle für drug Penetration
- Erhöhter interstitieller Druck führt zur erniedrigten Penetration und reduziertem Ansprechen



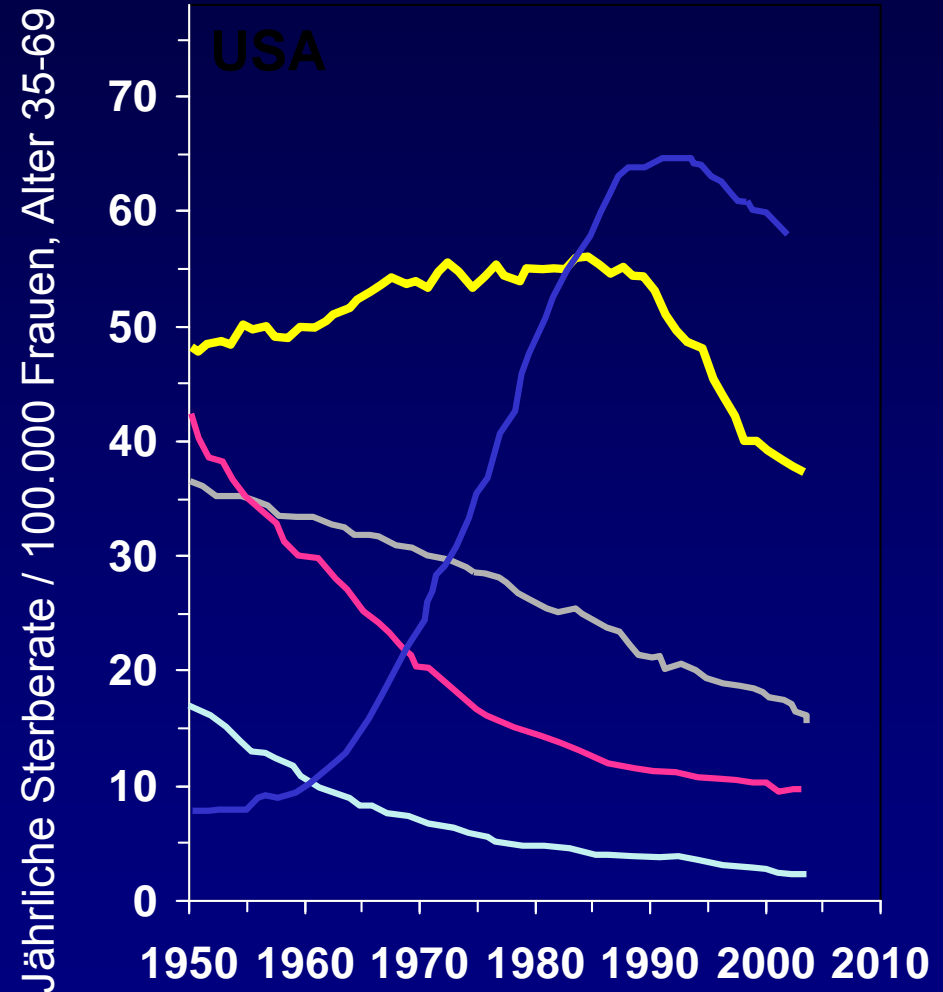
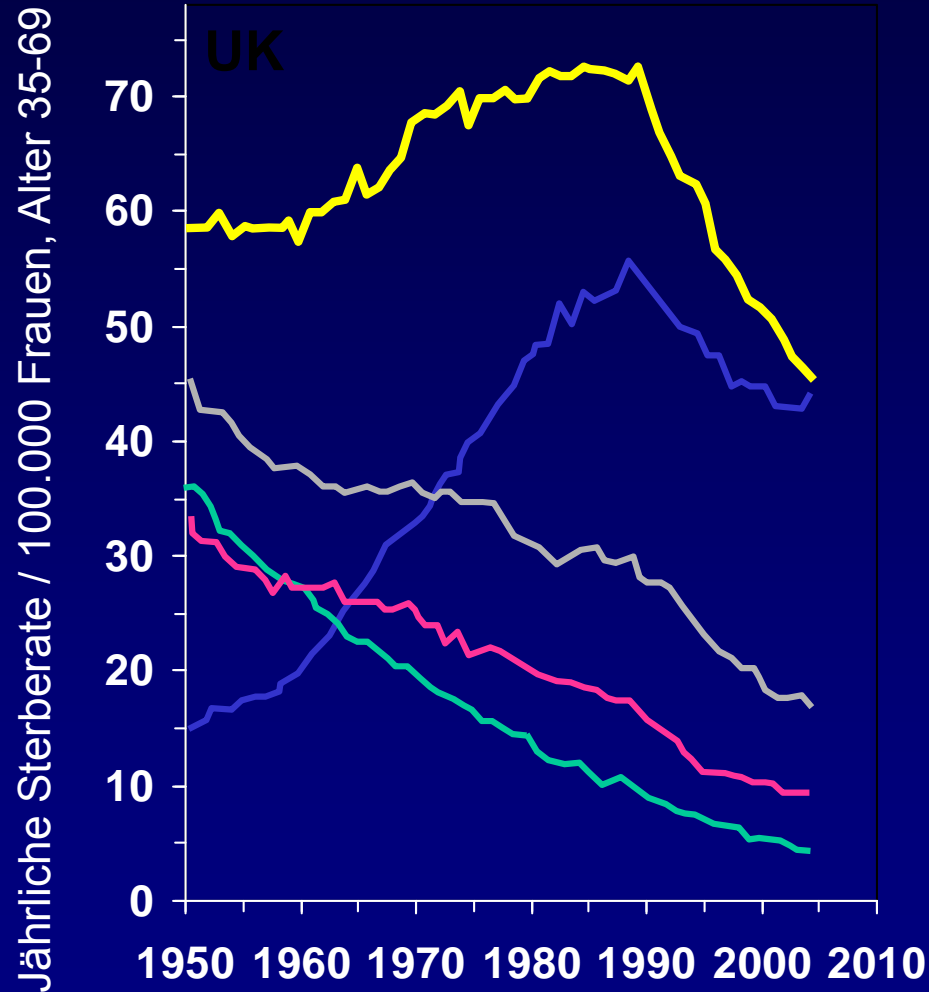
Therapiemöglichkeiten

- Inhibition der Neoangiogenese → Verbesserung der Tumordurchblutung
- Endothelschädigung → erhöhte Blutpermeabilität
- VEGF targeting → Reduktion des interstitiellen Druckes
- Induktion der Apoptose (z.b. Vorbehandlung Paclitaxel) → Reduktion des interstitiellen Druckes
- PDGFbeta targeting → Reduzierung der Interaktion Stroma-Tumor → Verbesserung der Chemotherapieeffekte

Zusammenfassung

- Die meisten Mechanismen der Chemoresistenz sind sekundär
- Adjuvante vs. neoadjuvante vs. metastasierte Situation sind nur bedingt vergleichbar
- In vitro Ergebnisse sind mit größter Vorsicht auf in vivo zu übertragen (z.B. Tumor-Stroma Interaktion, Hypoxie)
- Zahlreiche neue Möglichkeiten zur Behandlung der Chemoresistenz
- Optimale Kombination der neuen Substanzen (TKI, MAB's) mit der Chemotherapie, Therapie des p53

UK und USA 1950-2004: Mortalität an malignen Tumoren Altersgruppe 35-69 Jahre, selektierte Lokalisationen



* Mittelwert der jährlichen Raten in den sieben 5-Jahres-Alterskategorien
 Quelle: WHO mortality & UN population estimates