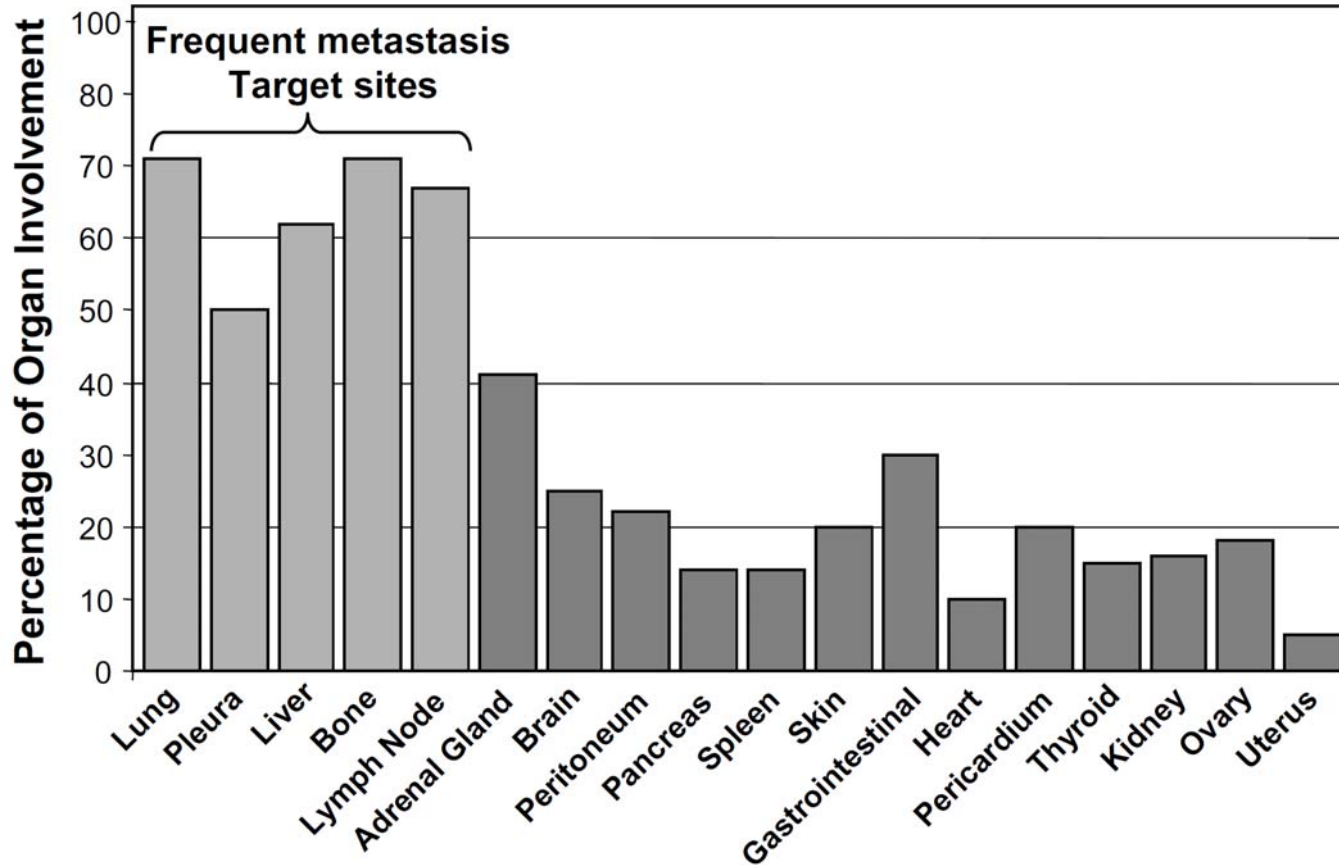


# Prädiktion des Metastasierungsortes am Primarius – seed and soil?

Carsten Denkert  
Institut für Pathologie  
Charité, Berlin

# Metastasierung beim Mammakarzinom



Kang, 2007, 2147 autopsy cases with metastatic breast cancer

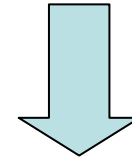
# Stephen Paget 1889



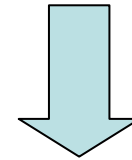
Figure 1 | Stephen Paget.

The distribution of secondary growth in cancer of the breast.  
Lancet 1, 571-573, (1889)

Die Metastasierungsorgane  
beim Mammakarzinom  
sind nicht zufällig verteilt.



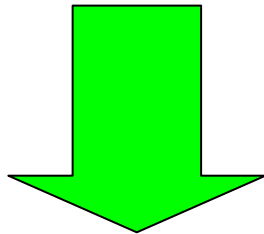
Seed and soil Hypothese



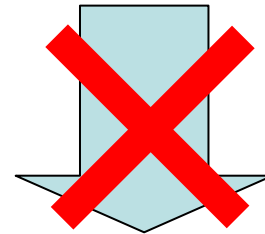
Tumorzellen siedeln sich  
dort an, wo  
gewebsspezifische  
Faktoren passen

# Charles Ewing, 1929

„Mechanische Faktoren spielen die wesentliche Rolle (Architektur des Gefäßsystems).“



Lymphatische  
Metastasierung



Hämatogene  
Metastasierung

# 5 Metastasierungs-Modelle

1. Seed-and-soil Hypothese
2. Dominanz der Gefäßarchitektur
3. Evolutionsmodel – klonale Selektion
4. Prädeterminanz-Modell
5. Modell der ökologischen Nischen



# Metastasierungskaskade – Teil 1

## Metastatic Prerequisites

Self-sufficiency in growth signals

Limitless replicative potential

Apoptotic resistance

(a)

## Development of Aggressive Malignant Phenotype

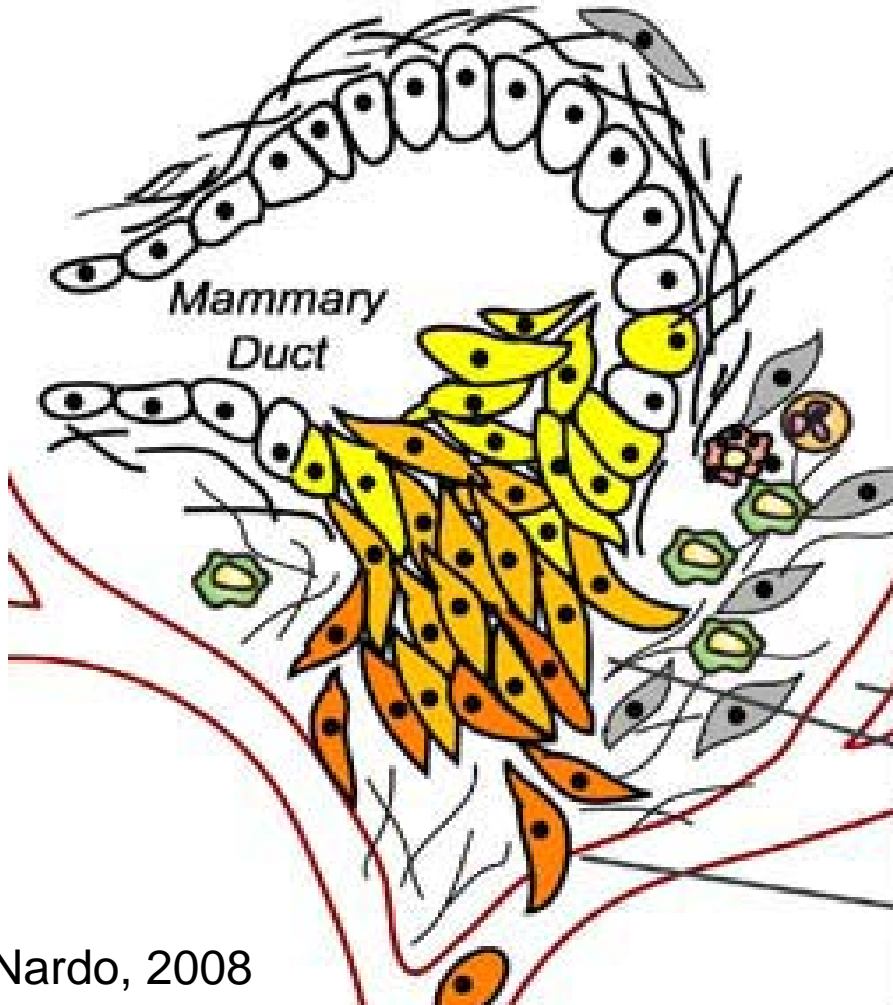
Co-opted stroma/ Pro-tumor inflammatory microenvironment

Sustained angiogenesis

Local invasion

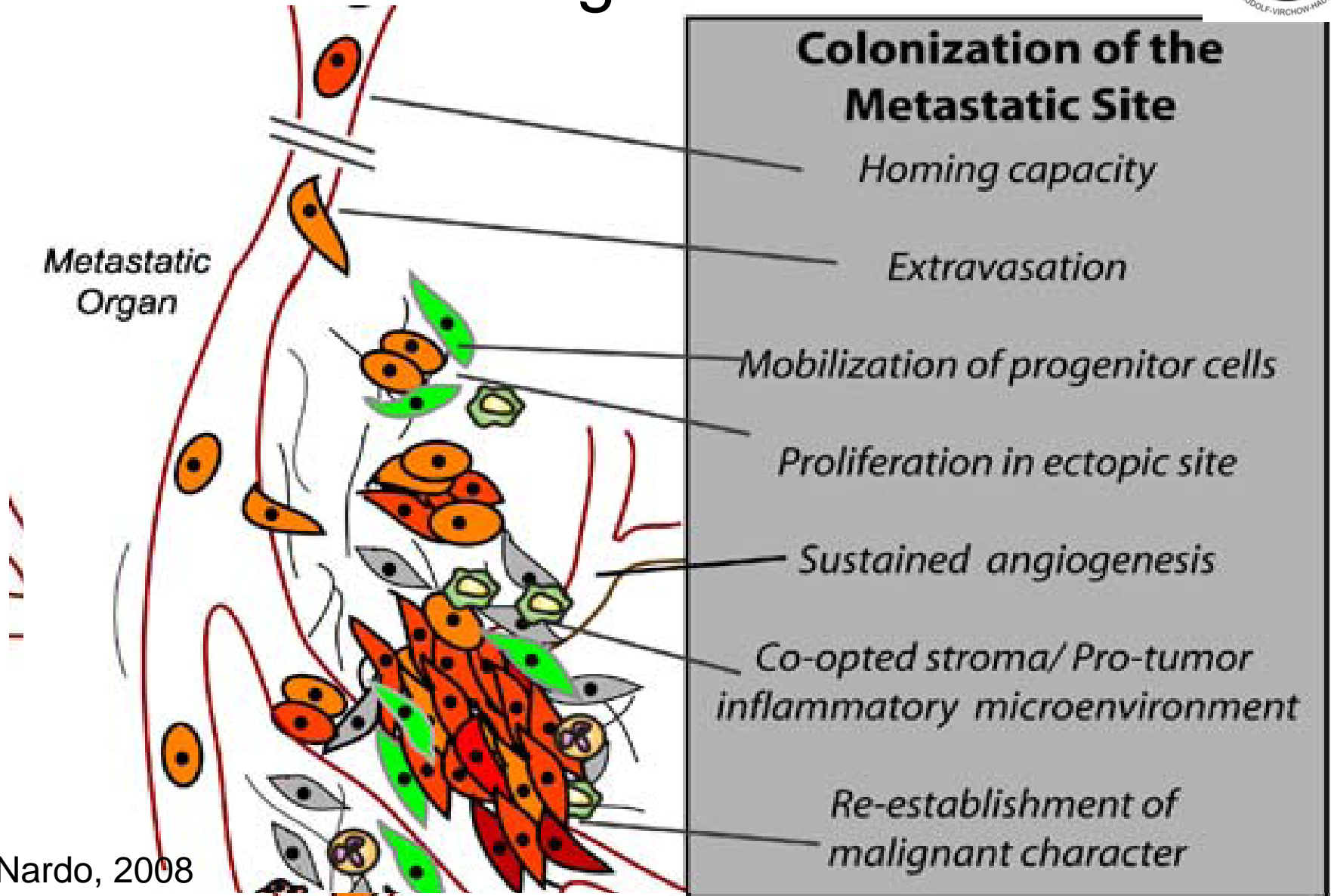
Intravasation

(b)

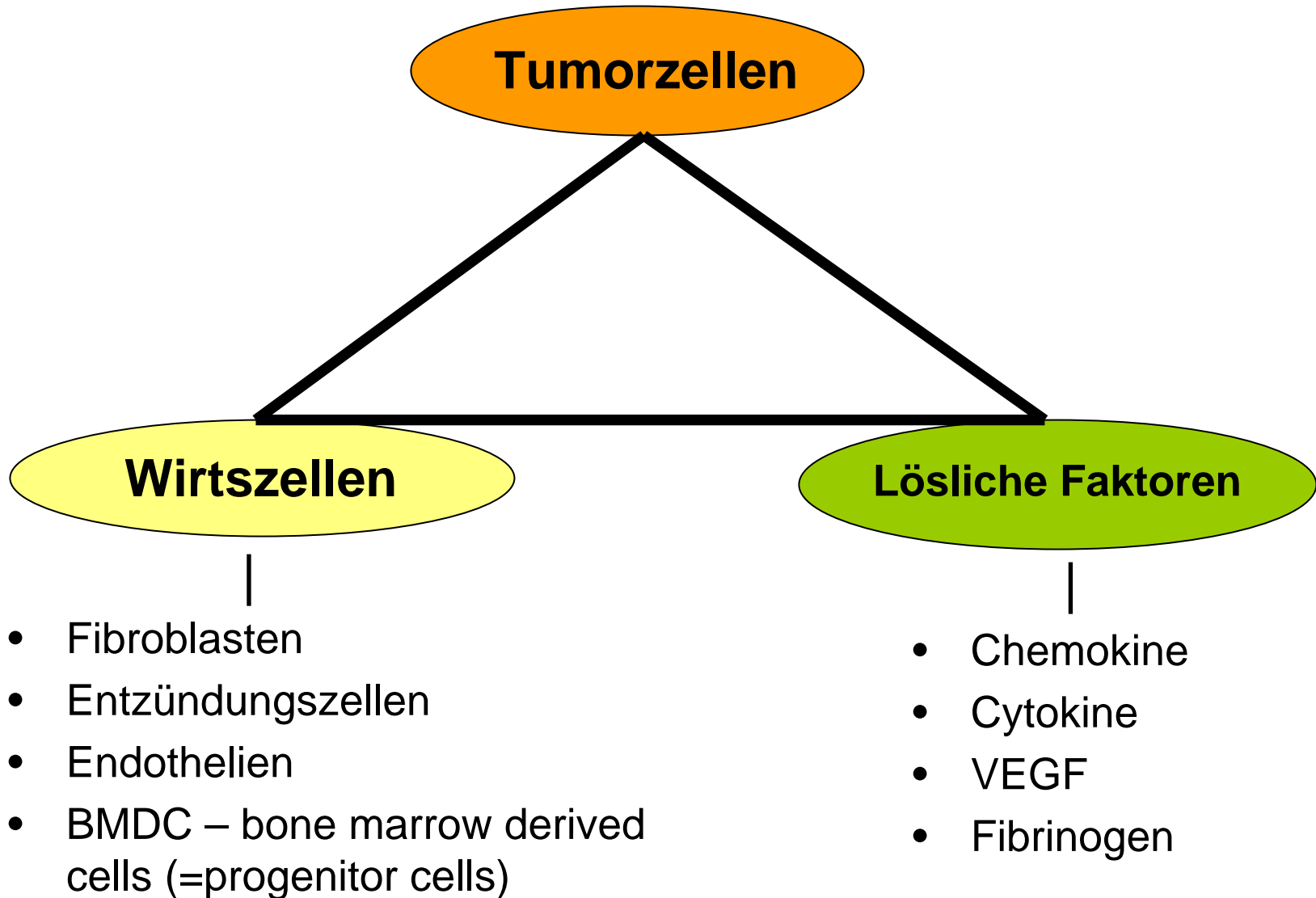


Mammary  
Duct

# Metastasierungskaskade – Teil 2



# Multifaktorielle Regulation der Metastasierung

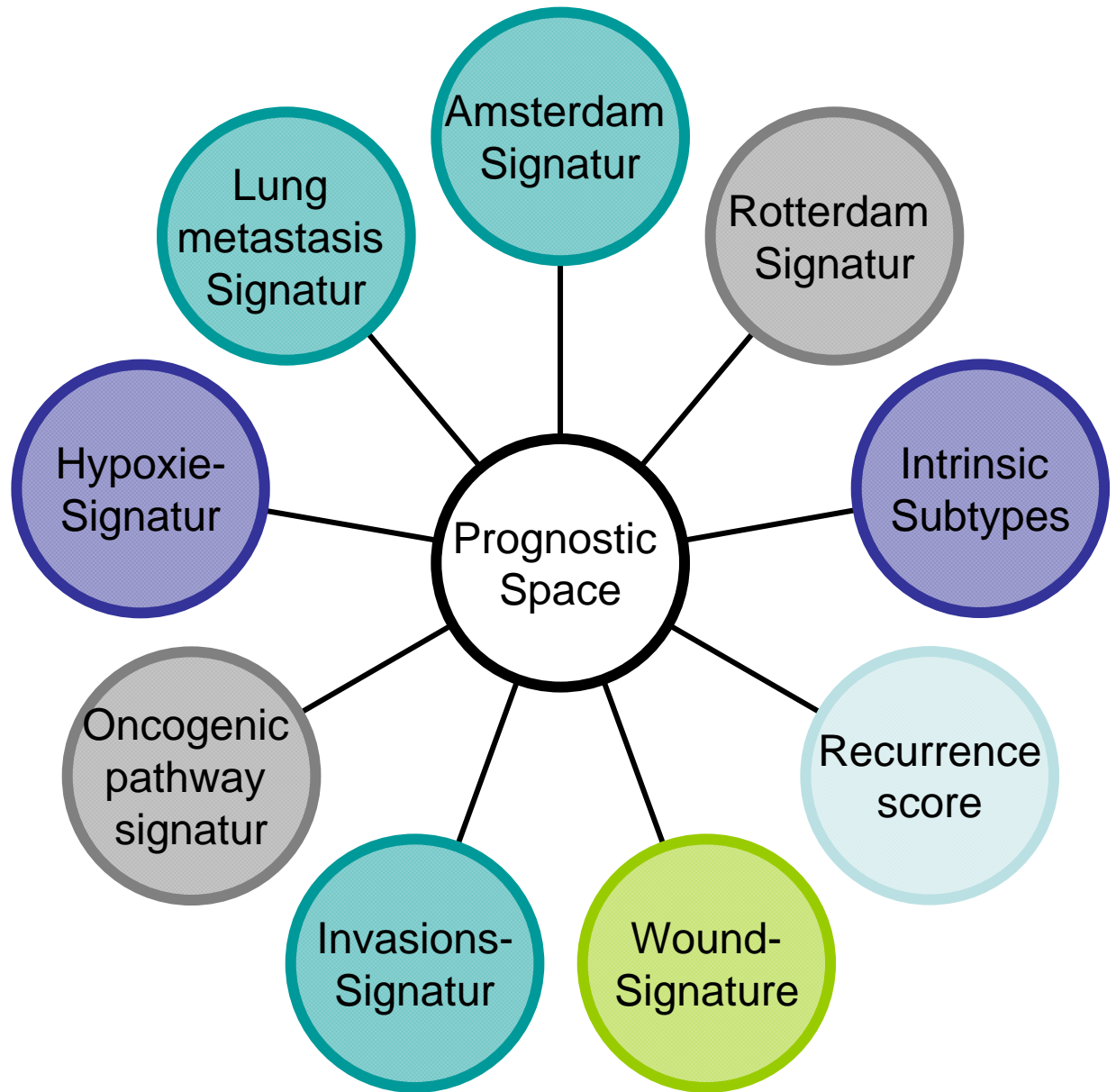




# Wie lässt sich Metastasierung vorhersagen?

- Vorhersage, dass eine Metastasierung stattfinden wird
- Vorhersage des Metastasierungsortes anhand von typischen Signaturen
  - Knochenmetastasierung
  - Pulmonale Metastasierung
- Welchen Einfluss haben Wirtszellen?
- Beteiligte Faktoren
- Grundlage für therapeutischen Konzepte

9 prädiktive  
Signaturen für  
Metastasierung  
beim  
MammaCa

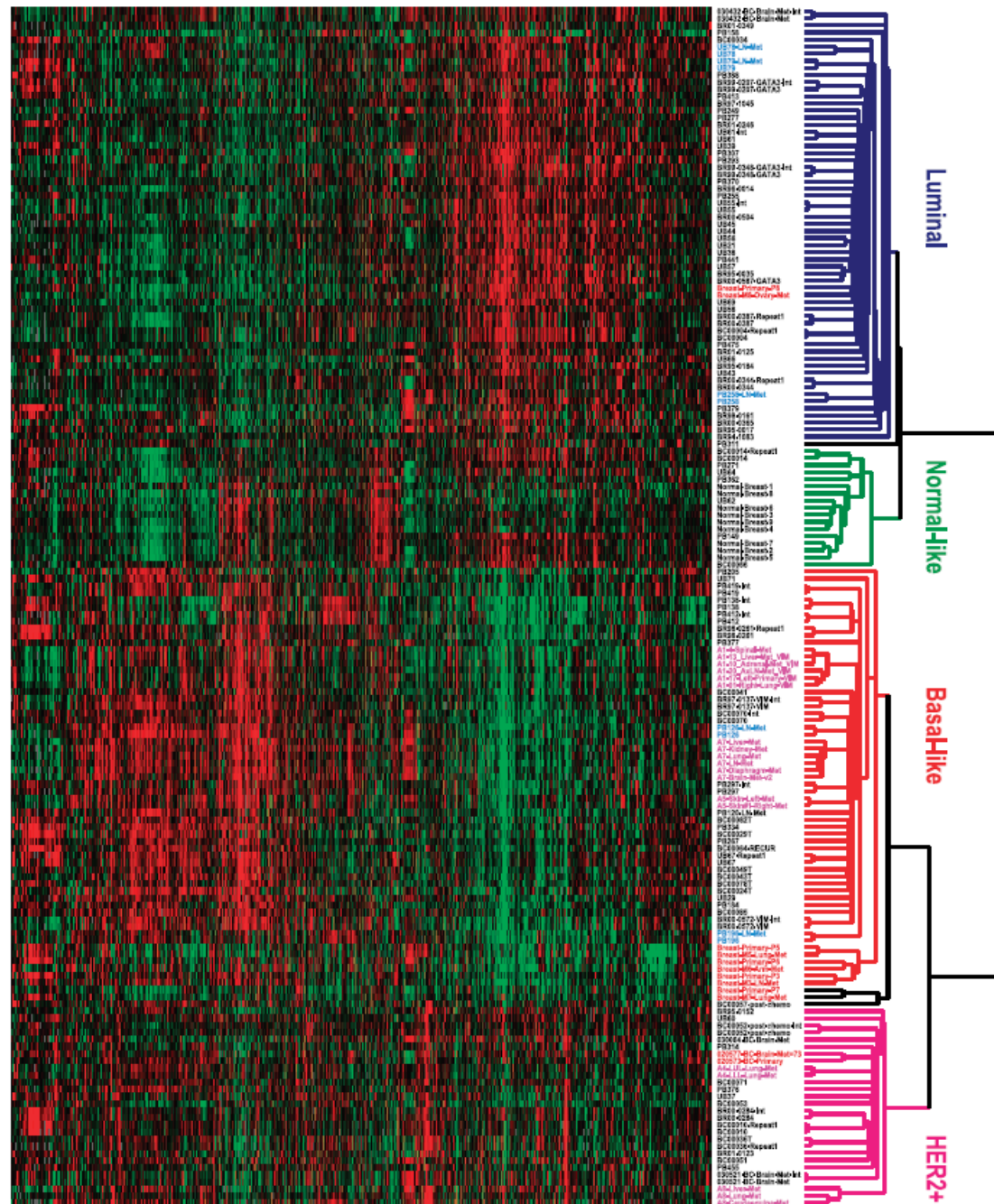


Wo ist festgelegt,  
dass eine  
Metastasierung  
stattfindet?

# Vergleich Primärtumor und Metastasen

- Genexpressionsmuster sind bei Metastasierung stabil
- Grosse Ähnlichkeit zwischen Metastasen und Primärtumor

Weigelt, Cancer Res 2005



# Schlussfolgerungen aus den Gensignaturen

## Genchips

Die Fähigkeit zur Metastasierung ist als Gensignatur im Primärtumor vorhanden und kann zur Prädiktion genutzt werden.  
Metastase und Primärtumor sind genetisch ähnlich.

## Klinik

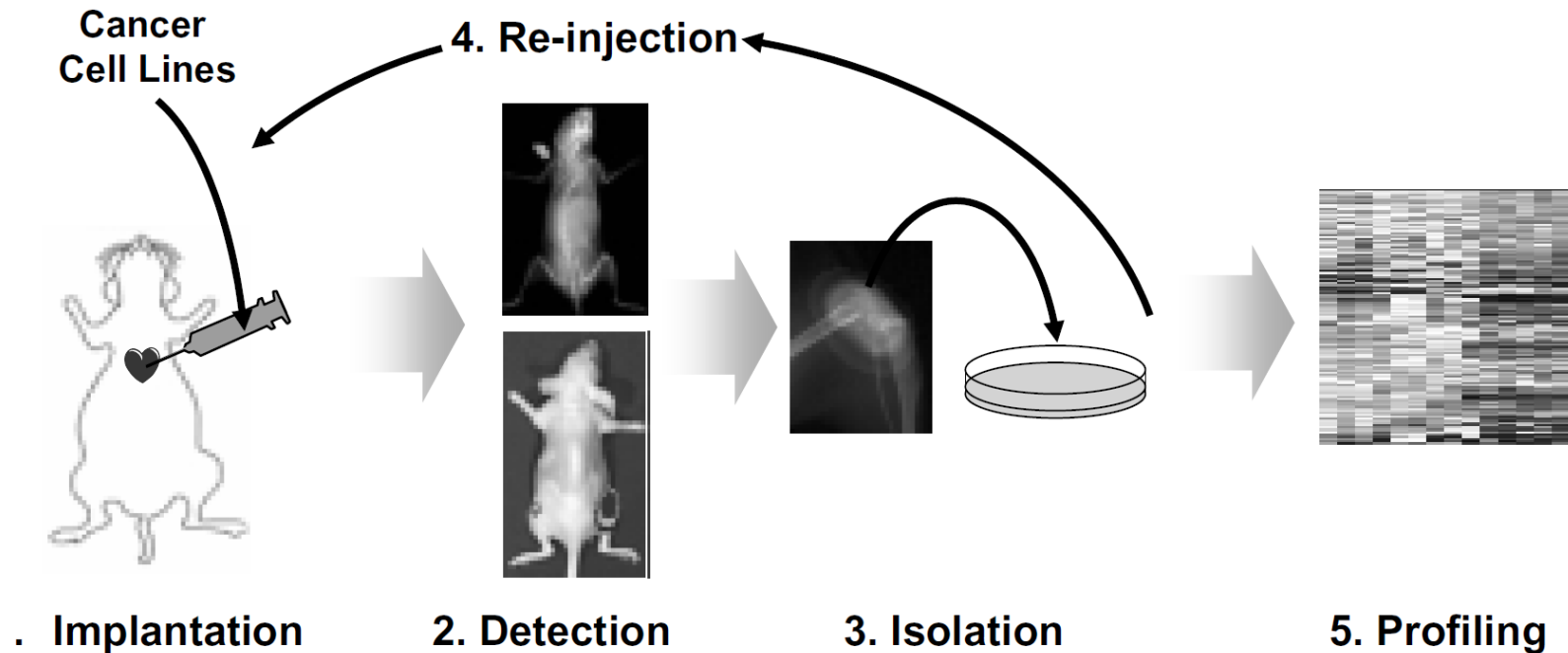
Nur eine kleine Subpopulation der Tumorzellen metastasiert wirklich.  
**Entsteht diese Subpopulation neu oder ist sie im PrimärTu schon vorhanden?**

# Wie lässt sich Metastasierung vorhersagen?

- Vorhersage, dass eine Metastasierung stattfinden wird
- Vorhersage des Metastasierungsortes anhand von typischen Signaturen
  - Knochenmetastasierung
  - Pulmonale Metastasierung
- Welchen Einfluss haben Wirtszellen?
- Beteiligte Faktoren
- Grundlage für therapeutischen Konzepte

# A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone

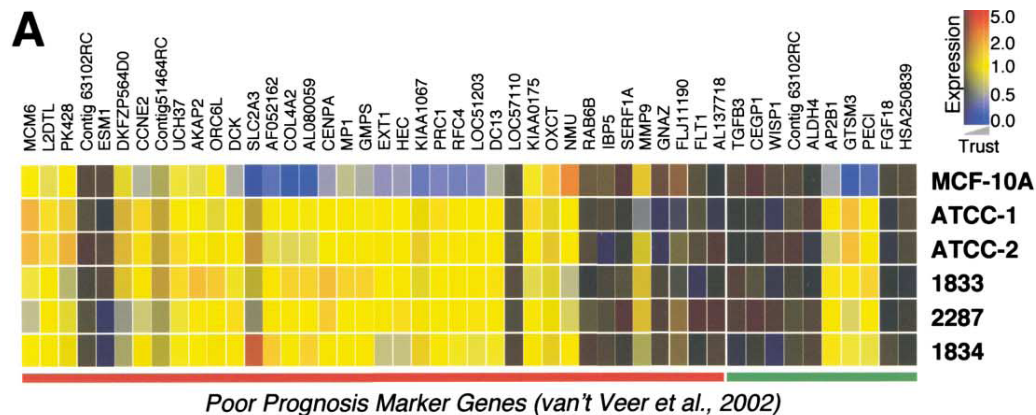
Yibin Kang,<sup>1</sup> Peter M. Siegel,<sup>1</sup> Weiping Shu,<sup>1</sup> Maria Drobnjak,<sup>2</sup> Sanna M. Kakonen,<sup>3,4</sup> Carlos Cordón-Cardo,<sup>2</sup> Theresa A. Guise,<sup>3,5</sup> and Joan Massagué<sup>1,\*</sup>



Selektion von Zelllinien im Tiermodell

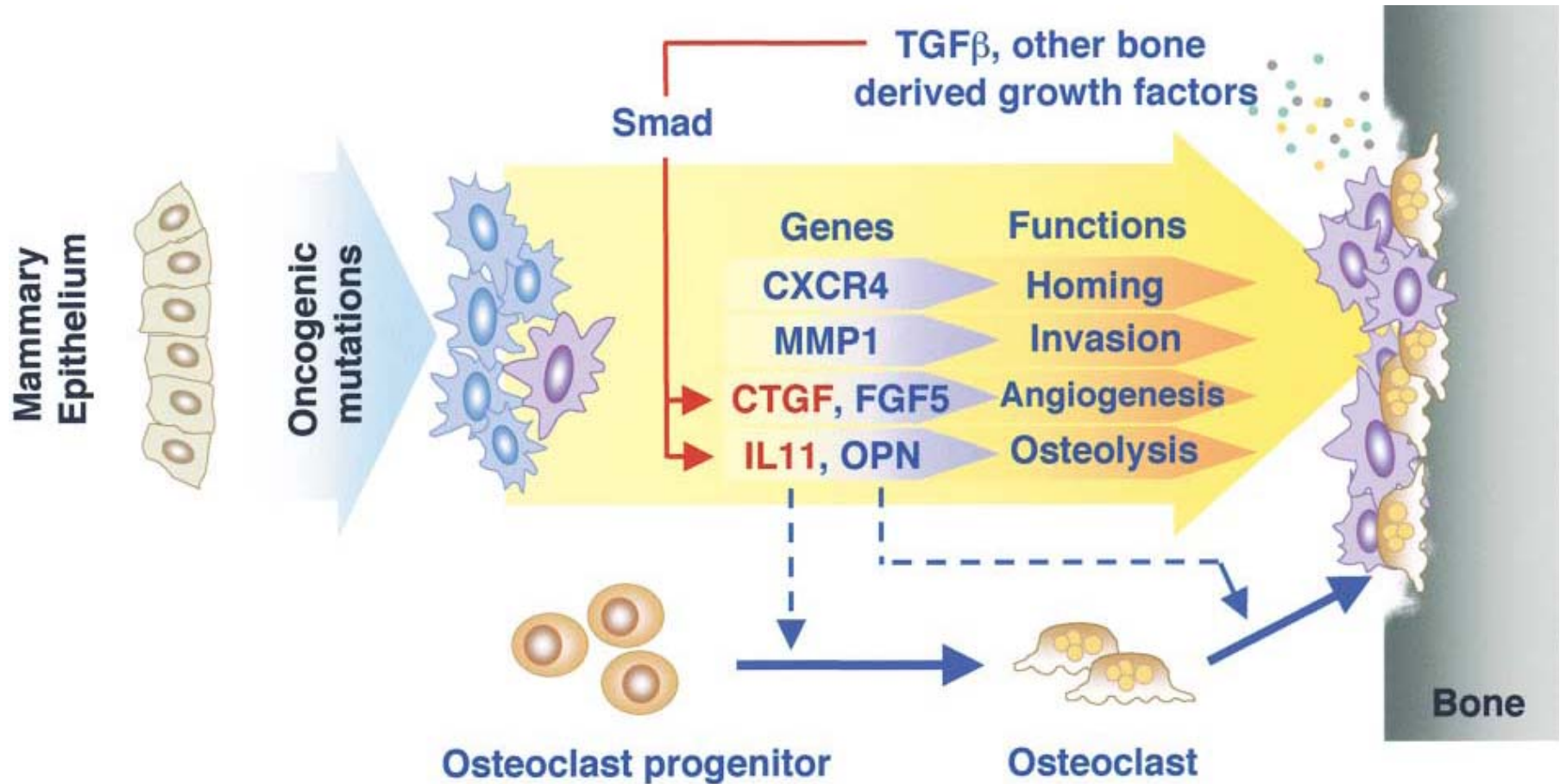
# A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone

Yibin Kang,<sup>1</sup> Peter M. Siegel,<sup>1</sup> Weiping Shu,<sup>1</sup> Maria Drobnjak,<sup>2</sup> Sanna M. Kakonen,<sup>3,4</sup> Carlos Cordón-Cardo,<sup>2</sup> Theresa A. Guise,<sup>3,5</sup> and Joan Massagué<sup>1,\*</sup>



- Selektion von Sub-Zelllinien mit gewebetypischer Metastasierung (v.a. Knochen)
- Starke Überlappung zwischen Genen für die Knochenmetastasierung und der prognostischen Amsterdam Signatur.
- Tumorzellen mit gewebe-spezifischer Metastasierungsfähigkeit sind im Primärtumor präexistent.

# Gene für die Knochenmetastasierung

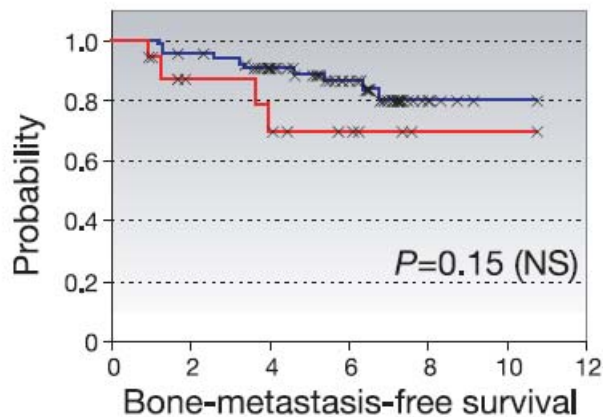
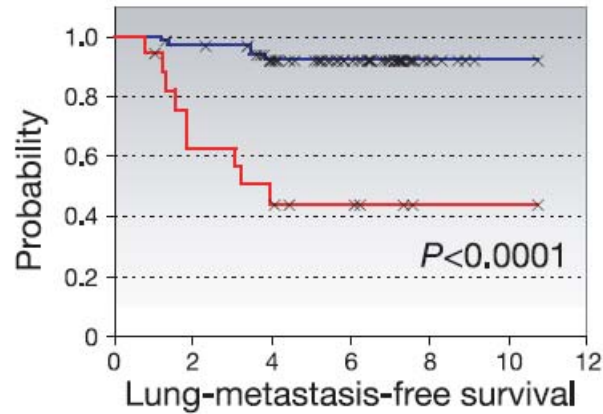
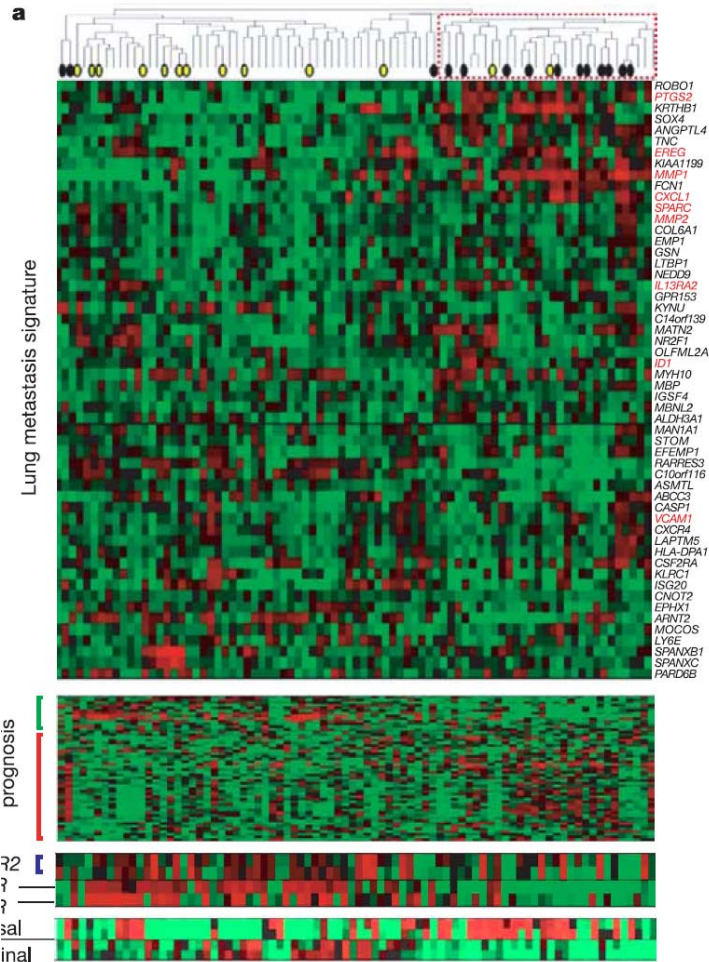




# Wie lässt sich Metastasierung vorhersagen?

- Vorhersage, dass eine Metastasierung stattfinden wird
- Vorhersage des Metastasierungsortes anhand von typischen Signaturen
  - Knochenmetastasierung
  - Pulmonale Metastasierung
- Welchen Einfluss haben Wirtszellen?
- Beteiligte Faktoren
- Grundlage für therapeutischen Konzepte

# Gensignatur für Lungenmetastasierung beim Mammakarzinom

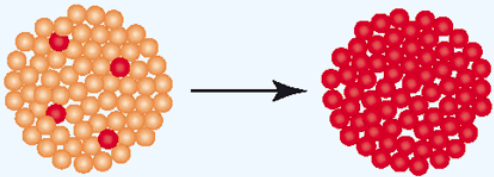


# Multifaktorielle Lungenmetastasierung beim Mammakarzinom

- LMS – lung metastasis signature - wesentliche beteiligte Gene
  - COX-2
  - Epiregulin (=EGFR Ligand)
  - MMP1
  - MMP2
- Funktionen: Tumorwachstum, Angiogenese, Extravasation – 4 Gene wirken in Kombination
- Therapieansätze im Tiermodell
- Cetuximab und Celecoxib – Inhibition der Lungenmetastasierung
- Einzelne Substanzen ohne Effekt

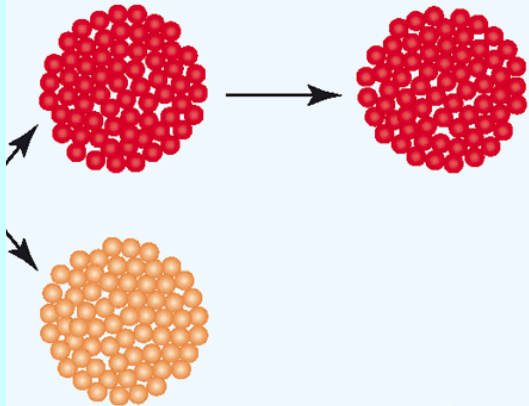
# Integratives Metastasierungsmodell 2003

Modell 1



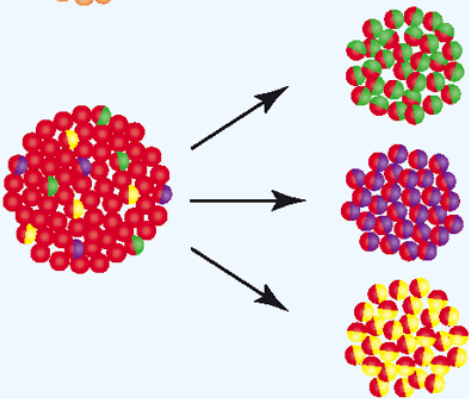
Seltene metastatische Subpopulationen –  
Met.fähigk. entsteht spät - klonale Selektion

Modell 2



Schlechte Prognostische Gensignatur  
=metastasierender Tumor  
vs. „gute“ Gensignatur  
=nicht-metastasierender Tumor  
(Metastasierungsfähigkeit ist prädeterminiert)

Modell 3



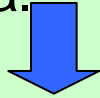
1. Gensignatur im gesamten Tumor
2. Subpopulationen mit gewebespez. Signaturen
3. Gewebespezifische Metastasierung

©beriv Homer

# Wie lässt sich Metastasierung vorhersagen?

- Vorhersage, dass eine Metastasierung stattfinden wird
- Vorhersage des Metastasierungsort anhand von typischen Signaturen
  - Knochenmetastasierung
  - Pulmonale Metastasierung
- **Welchen Einfluss haben Wirtszellen?**
- Beteiligte Faktoren
- Grundlage für therapeutischen Konzepte

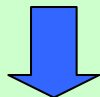
1. Stromazellen im Tumor produzieren TGFbeta.



2. Zellkultur: TGFbeta Signatur



3. In-vivo: Korrelation mit Metastasierung

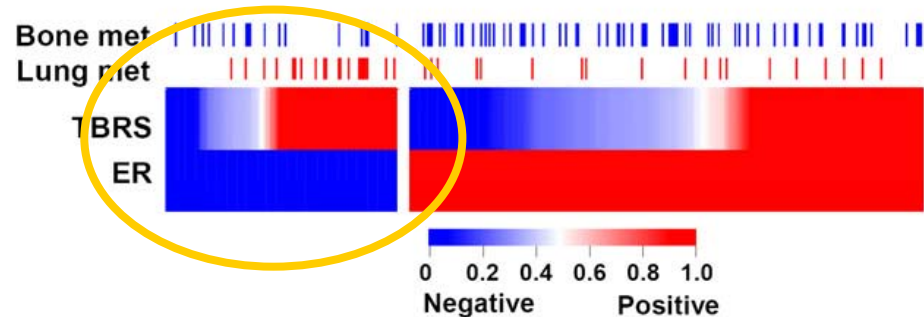
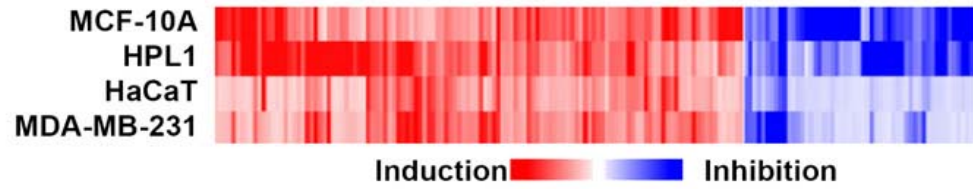


4. TGF-beta Signatur ist prognostisch für pulmonale Metastasen in ERneg. Tumoren

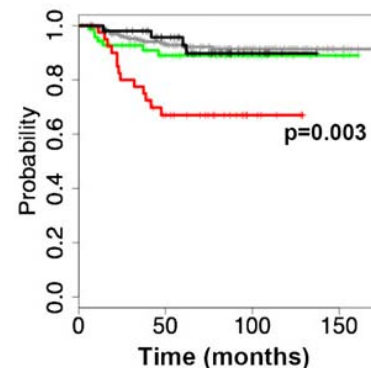
# TGFβ Primes Breast Tumors for Lung Metastasis Seeding through Angiopoietin-like 4

Cell, 2008

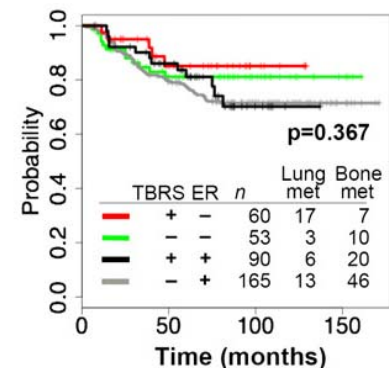
David Padua,<sup>1</sup> Xiang H.-F. Zhang,<sup>1</sup> Qionqing Wang,<sup>1</sup> Cristina Nadal,<sup>5</sup> William L. Gerald,<sup>2</sup> Roger R. Gomis,<sup>4</sup> and Joan Massagué<sup>1,3,4</sup>



C Lung metastasis-free survival



Bone metastasis-free survival



# Knochenmarkszellen sind metastasierungsfördernd

- Hypothese: Tumorzellen siedeln sich in „ökologischen Nischen“ an, und werden bei der Metastasierung von Knochenmarkszellen unterstützt.
- BMDC= bone marrow derived cells

nature

Vol 438|8 December 2005|doi:10.1038/nature04186

## ARTICLES

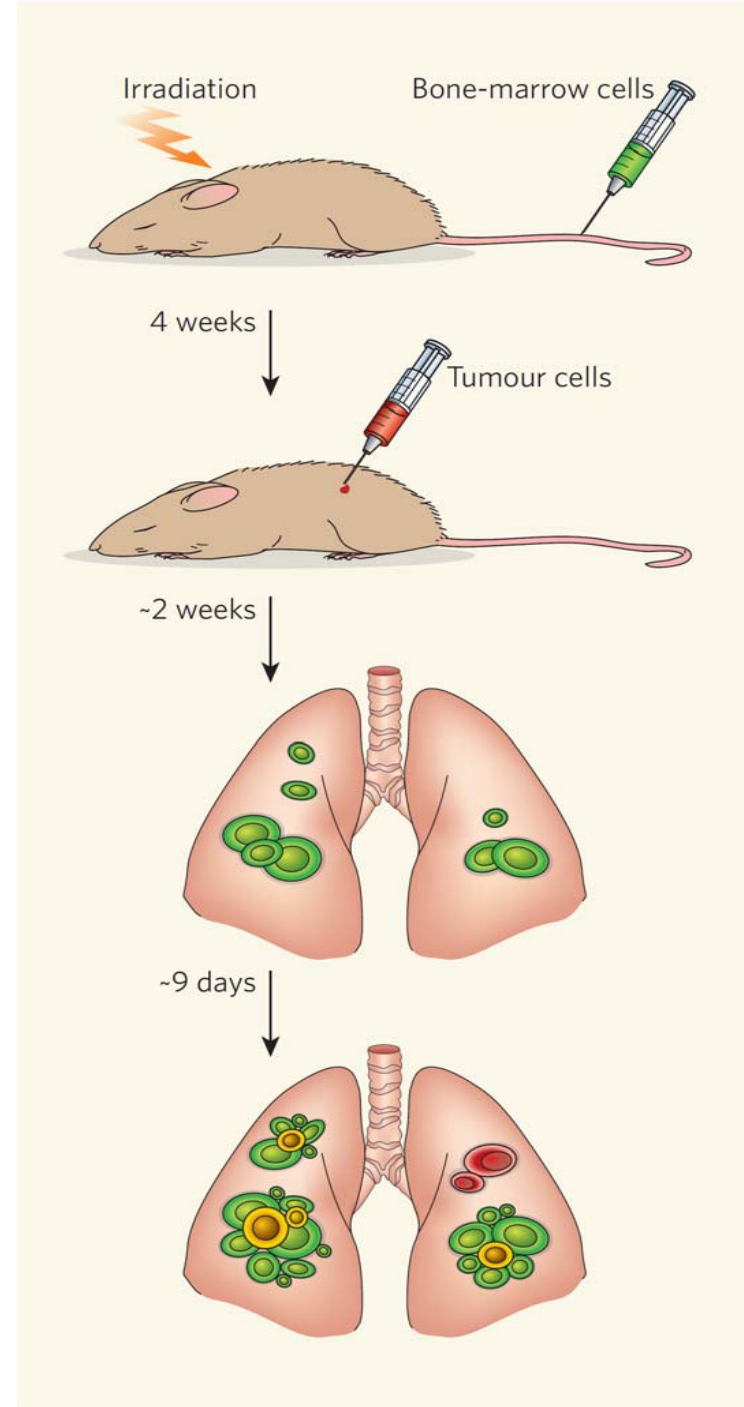
### **VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche**

Rosandra N. Kaplan<sup>1,2,6\*</sup>, Rebecca D. Riba<sup>1,2\*</sup>, Stergios Zacharoulis<sup>1,2,6\*</sup>, Anna H. Bramley<sup>1,2</sup>, Loïc Vincent<sup>4</sup>, Carla Costa<sup>1,2</sup>, Daniel D. MacDonald<sup>1,2</sup>, David K. Jin<sup>4</sup>, Koji Shido<sup>4</sup>, Scott A. Kerns<sup>1,2</sup>, Zhenping Zhu<sup>8</sup>, Daniel Hicklin<sup>8</sup>, Yan Wu<sup>8</sup>, Jeffrey L. Port<sup>5</sup>, Nasser Altorki<sup>5</sup>, Elisa R. Port<sup>7</sup>, Davide Ruggero<sup>9</sup>, Sergey V. Shmelkov<sup>1,2,4</sup>, Kristian K. Jensen<sup>1,2</sup>, Shahin Rafii<sup>3,4</sup> & David Lyden<sup>1,2,6</sup>

# Das Konzept der „premetastatischen Nische“

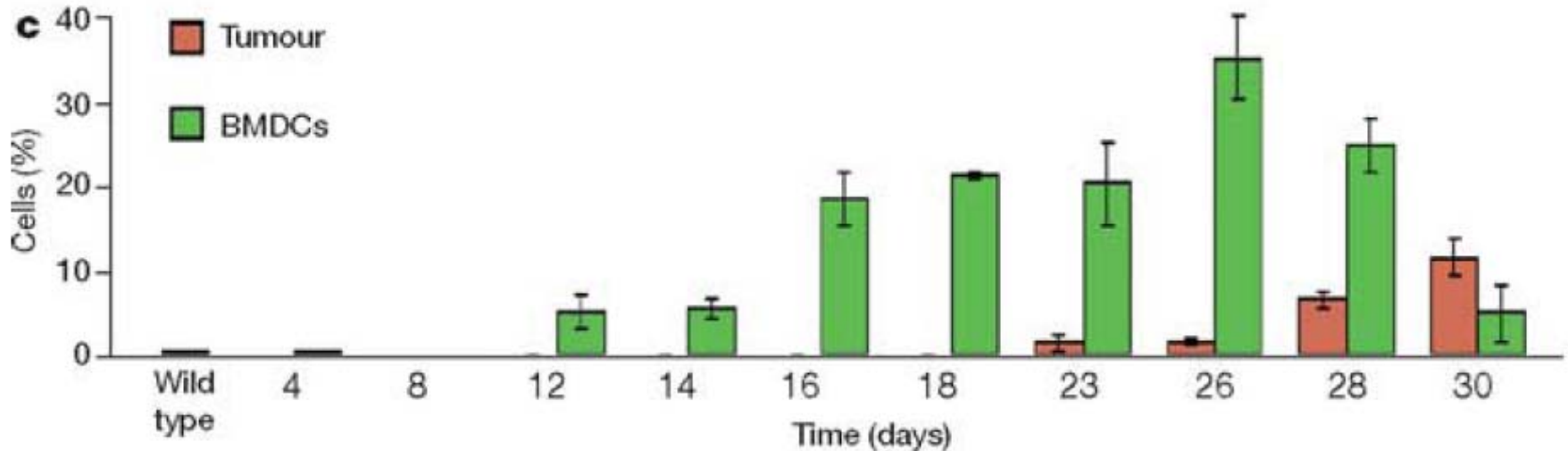
## Im Mausmodell

- Bestrahlung und Knochenmarks-transplantation (grün markierte Zellen)
- Injektion von Tumorzellen (rot markiert)

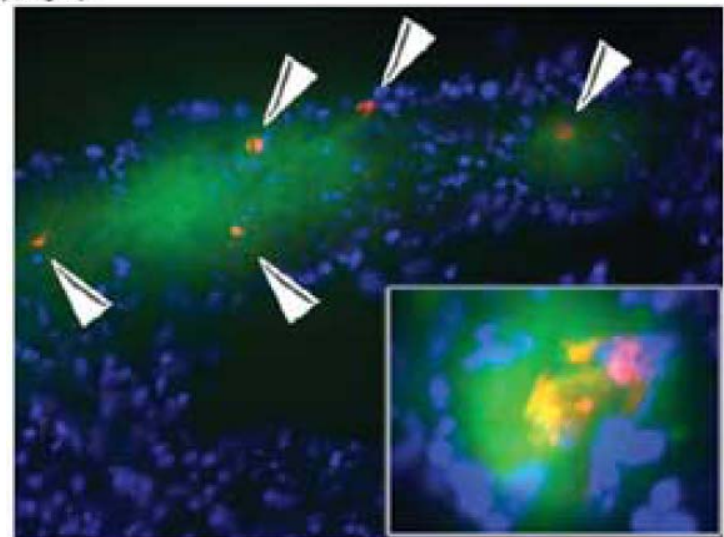




# BMDCs bilden eine „premetastatic niche“



- BMDC siedeln sich ca. 2 Wochen vor den Tumorzellen in der Lunge an und bilden eine prämetastatische Nische.
- In dieser Nische bilden sich dann die ersten Mikrometastasen.

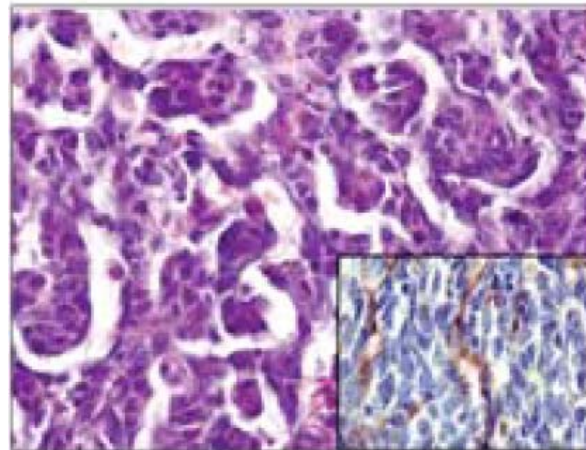


## Das Konzept der „prämetastatischen Nische“

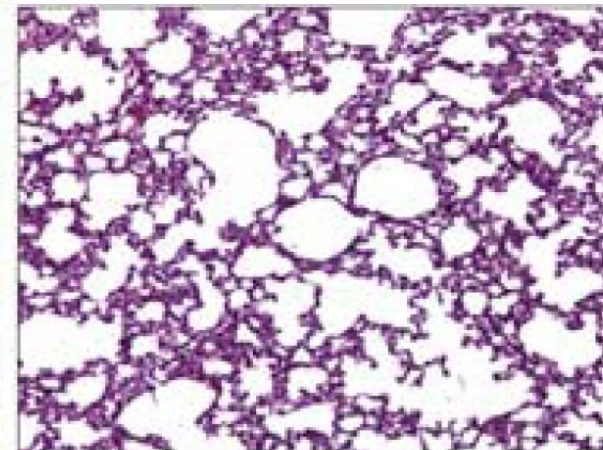
1. Knochenmarkszellen bilden vor der Metastasierung eine prämetastatische Nische. Dort siedeln sich dann die ersten Mikrometastasen an.
2. Ohne Tumorzellen finden sich keine BMDCs in der Lunge.
3. Tumor-Zellkulturmedium führt ebenfalls zu BMDC Ansiedlung, dabei führen verschiedene Medien zu verschiedenen Metastasierungsmustern.
4. D.h. lösliche Faktoren aus dem Tumorgewebe bestimmen die Metastasierung, in dem sie die Ansiedlung von BMDCs steuern.
5. Die BMDCs produzieren dann Chemokine (z.B. CXCL-12) die die Tumorzellen anlocken.
6. Weitere molekulare Faktoren: Integrin VLA-4, Fibronectin, MMP-1, Chemokine, VEGF, PlGF

## VEGF-Rezeptor als therapeutisches Target

1. BMDC sind hämatogene Progenitorzellen und exprimieren VEGFR1.
2. VEGFR1 ist essentiell für die metastasierungsfördernde Funktion.
3. Antikörper gegen VEGFR1 hemmen die Metastasierung.
4. Ähnliche BMDCs finden sich auch in humanem Gewebe von Pat. mit MammaCa.



Wild type



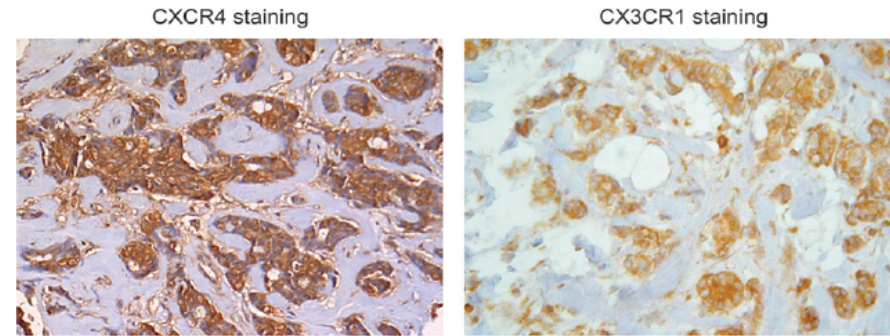
Anti-R1

# Das Konzept der „prämetastatischen Nische“ (spekulative) klinische Schlussfolgerungen

1. Die Entfernung des Primärtumors macht in gewissen Fällen auch in der metastasierten Situation Sinn, weil dadurch die Stimulation der BMDCs durch lösliche Faktoren aus dem Tumorgewebe verringert wird.
2. Latenzzeit vor der klinischen Metastasierung bei zu geringer Stimulation durch BMDCs (dormant tumor cells).
3. VEGFR1 Inhibition könnte therapeutisch antimetastatisch wirken.

**Expression of chemokine receptors predicts the site of metastatic relapse in patients with axillary node positive primary breast cancer**F. Andre<sup>1\*†</sup>, N. Cabioglu<sup>4†</sup>, H. Assi<sup>1†</sup>, J. C. Sabourin<sup>1</sup>, S. Delaloge<sup>1</sup>, A. Sahin<sup>4</sup>, K. Broglio<sup>4</sup>, J. P. Spano<sup>2</sup>, C. Combadiere<sup>3</sup>, C. Bucana<sup>4</sup>, J. C. Soria<sup>1†</sup> & M. Cristofanilli<sup>4†</sup><sup>1</sup>Department of Medicine and Translational Research Unit UPRES03535, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France; <sup>2</sup>Unité d'Oncologie Médicale, Pitié Salpêtrière Hospital, Paris, France; <sup>3</sup>Immunology Unit, INSERM U543, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France; <sup>4</sup>Departments of Pathology, Breast Medical Oncology, Biostatistics and Cancer Biology, MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas, USA

Received 14 October 2005; revised 15 February 2006; accepted 16 February 2006



Chemokine rezeptor	Metastasen	OR	P-Wert
CXCR4	Leber	3.71	p = 0.005
CX3CR1	Gehirn	13.18	p = 0.01
CCR6	Pleura	2.82	p = 0.06
CCR7	Haut	11% vs. 0%	p = 0.017

# „Seed and soil - 2008“

1. Metastasierung ist multifaktoriell (Tumorzellen, Stromazellen, Knochenmarkszellen, Endothelien)
2. Metastatische Signaturen betreffen eine Subpopulation, sind aber im Primärtumor schon nachweisbar.
3. Metastasen entstehen in prämetastatischen Nischen, die von Knochenmarkszellen vorbereitet werden.
4. Diese werden durch Faktoren aus dem Tumor aktiviert („The tumor prepares the soil.“).
5. Die Verteilung der Tumorzellen im Organismus wird durch Chemokine und ihre Rezeptoren gesteuert.

# Metastasierungsmodelle – Schlussfolgerungen für Therapiekonzepte

- Angiogenese als zentraler Schritt bei der Bildung der prämetastatischen Nische
  - Angiogeneseinhibitoren (Anti-VEGF, Anti-VEGFR)
- Einbeziehung der Wirtszellen
  - Tumorstroma
  - Progenitor Zellen im Knochenmark
- Kombinationstherapien
  - z.B. Celecoxib und EGFR Inhibitor
- Unterschiedliche Mechanismen für ER+ und ER-Tumoren
  - Selektive Studienkonzepte