

Lebensbedrohliche Metastasen

Ansätze für neue Therapieformen finden

■ Der überwiegende Anteil der Krebspatienten stirbt nicht am Primärtumor, sondern aufgrund von Metastasen und einer systemischen Krebserkrankung. Das Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin ITEM in Regensburg möchte Licht in den noch unverständlichen Prozess der Metastasen-Bildung bringen und so Ansätze für neue Therapieformen finden. Dr. Bernhard Polzer, stellvertretender Bereichsleiter im Forschungsbereich Personalisierte Tumorthherapie des Fraunhofer ITEM, erläutert die Hintergründe der methodischen Ansätze.

M&K: Welche methodischen Ansätze haben Sie zur Untersuchung der Mechanismen der Metastasen-Bildung herangezogen?

Dr. Bernhard Polzer: Zunächst einmal ist es wichtig zu verstehen, dass Metastasierung ein mehrstufiger Prozess ist. Hierbei unterscheidet man: die Streuung der Tumorzellen vom Primärtumor, die Ansiedlung sogenannter disseminierter Tumorzellen (DCCs) in fremden Organen sowie die Interaktion von DCCs mit der lokalen Mikroumgebung. Jede dieser Phasen ist von zahlreichen zellulären Veränderungen geprägt, die wir zum einen mit geeigneten In-vivo- und In-vitro-Modellsystemen und zum anderen durch vergleichende molekularbiologische Analysen charakterisieren. Für Letztere isolieren und amplifizieren wir das Genom und das Transkriptom



Dr. Bernhard Polzer

Foto: Fraunhofer ITEM/P. Reinig

individueller Tumorzellen mit einer in unserem Labor speziell hierfür entwickelten Methode. Im nächsten Schritt wird das so amplifizierte Material der einzelnen DCCs sequenziert und mithilfe komplexer bioinformatischer Analysemethoden mit denen des Primärtumors verglichen. Berücksichtigt man zusätzlich den klinischen Krankheitsverlauf und die Behandlung des Patienten, erlaubt uns dies einen Einblick in die Veränderungen, die eine Tumorzelle auf dem Weg zur Metastase durchläuft.

Welche Informationen versprechen Sie sich davon?

Polzer: In erster Linie versuchen wir durch eine komparative Analyse von

DCCs und Primärtumor, zentrale Gene bzw. zelluläre Prozesse zu identifizieren, welche die Tumorzellen befähigen, abseits ihres Ursprungsorts zu überleben und Metastasen zu bilden. Dabei ist ebenso der Zeitpunkt der Veränderung von Interesse wie das Gen bzw. der Prozess selbst. Denn es ist unwahrscheinlich, dass in DCCs Programme aktiv sind, die gleichzeitig die Lösung vom Primärtumor und das Einwandern in ein neues Organ und dessen Kolonisierung ermöglichen. Informationen über die zeitliche Abfolge solcher Veränderungen könnten die Möglichkeit stadienspezifischer Therapien eröffnen.

Die klassische Untersuchungsmethode zur Analyse der Metastasierung ist die pathologische Untersuchung der Lymphknoten. Wie haben Sie diese weiterentwickelt?

Polzer: Bei Krebspatienten hängen alle Therapieentscheidungen maßgeblich von der Ausbreitung der Erkrankung ab, also von der Größe des Tumors und dem Befall von Lymphknoten oder anderen Organen. Deswegen werden seit über 100 Jahren bei der Operation solider Tumoren wie Brust- oder Lungenkrebs Lymphknoten entnommen, um in Gewebeschnitten unter dem Mikroskop nach einer bereits erfolgten Tumorzell-Streuung zu fahnden. Kleinere Zellnester, die zwischen den Schnittebenen liegen, werden bei diesem Verfahren aber oft nicht erfasst. Zudem ist eine molekulare Analytik

weniger Zellen aus diesen Gewebeschnitten oft nur schwer machbar. Gerade diese molekulare Diagnostik bekommt in der modernen Onkologie aber immer mehr Bedeutung, um personalisierte Behandlungsstrategien festzulegen. Wir haben deshalb einen Ansatz entwickelt, bei dem wir die qualitative Schnittdiagnostik in eine quantitative Analytik überführt haben, die es darüber hinaus erlaubt, die identifizierten Tumorzellen molekular zu charakterisieren. Die diagnostische Relevanz dieses Ansatzes konnten wir in Studien mit unseren Kooperationspartnern der Universitäten Regensburg und Tübingen an über 1.000 Patienten mit schwarzem Hautkrebs zeigen. Das Risiko der Patienten, letztendlich am Melanom zu versterben, verdoppelte sich mit jeder Verzehnfachung der Tumorzellzahl im Lymphknoten, wobei bereits eine einzige Tumorzelle relevant ist.

Bitte erklären Sie dies genauer, welche einzelnen Arbeitsschritte sind zur Analyse nötig?

Polzer: Zunächst stellen wir eine Einzelzellsuspension aus den Lymphknoten her und sedimentieren die Zellen auf spezielle Objektträger. Nach einer spezifischen Färbung gegen Proteine der DCCs werden diese am Mikroskop detektiert, quantifiziert und dann einzeln für die anschließende Molekularanalyse isoliert. Hierdurch gelingt es uns, therapierelevante Veränderungen im Erbgut einer einzelnen Zelle



Unter dem Mikroskop isoliert Dr. Polzer eine einzelne Krebszelle. Der Monitor zeigt die Glaskapillare, mit deren Hilfe die auf dem Objektträger detektierte Zelle vereinzelnd und isoliert werden kann.

Foto: Fraunhofer ITEM/P. Reinig



Die Wissenschaftler vom Fraunhofer ITEM in Regensburg diskutieren die genetischen Veränderungen, welche sie in einzelnen gestreuten Zellen eines Patienten nachweisen konnten.

Foto: Fraunhofer ITEM/P. Reinig

zu identifizieren. Da dieser Prozess bei manueller Durchführung sehr zeitintensiv und in dieser ursprünglichen Form nur schwer im Alltag einsetzbar ist, haben wir in den letzten Jahren gemeinsam mit Kollegen vom Fraunhofer IPA in Mannheim und Fraunhofer IIS in Erlangen an einer Weiterentwicklung hin zur Anwendung gearbeitet. Hierbei wurde am Fraunhofer IPA der „Tissue Grinder“ entwickelt, ein Gewebezerkleinerer, der die Zellen schonend und enzymfrei separiert und die parallele Bearbeitung mehrerer Gewebestücke erlaubt. Das Fraunhofer IIS hat an Algorithmen gearbeitet, die mithilfe neuronaler Netzwerke Tumorzellen sicher von normalen Zellen und Färbeartefakten unterscheiden können. In Regensburg haben wir ein Panel von über 400 Genen für die Anwendung auf Einzelzellen etabliert, das Mutationen identifiziert, die die Wirksamkeit bestimmter Krebsmedikamente vorhersagen.

Gestreute Tumorzellen weisen häufig andere Eigenschaften auf als die Primärtumorzellen. Was bedeutet dies

für Ihre Analysen und wie gehen Sie damit um?

Polzer: Wie eingangs erwähnt, versterben die meisten Patienten nicht an den Folgen der primären Krebserkrankung, sondern an den Metastasen. Wir und andere konnten zeigen, dass die Streuung von Tumorzellen oft ein frühes Ereignis ist und sich die DCCs dadurch parallel zum Primärtumor entwickeln. Mit jeder Zellteilung kommt es zu neuen Mutationen, und wenn diese der Zelle einen Überlebensvorteil sichern, setzt sich der entsprechende Klon durch. Man spricht hier von „paralleler Progression“. In einer weiteren Studie zum Melanom konnten wir in einzelnen DCCs aus dem Lymphknoten eine genetische Kolonisierungssignatur identifizieren. Diese Veränderungen, unabhängig davon, ob diese bereits im Primärtumor vorlagen oder nicht, waren entscheidend für den weiteren Krankheitsverlauf.

Was bedeuten Ihre Analysen/Methoden letztlich für die Tumorpatienten unter dem Stichwort personalisierte Medizin und wie sieht es mit dem

Transfer in die klinische Diagnostik aus?

Polzer: Wir halten es für unerlässlich, den aktuellen molekularen Zustand der Krebserkrankung zuverlässig über die Zeit zu messen und so die Behandlung optimal auf den einzelnen Patienten abzustimmen. Zurzeit planen wir eine größere klinische Studie zu unserem Ansatz zur Lymphknotendiagnostik mit mehreren Zentren, um diesen in der klinischen Diagnostik zu implementieren. Außerdem arbeiten wir mit Hochdruck daran, die Einzelzellanalytik auf andere Indikationen auszuweiten. Hier ist insbesondere ein Projekt zur Identifizierung weniger Tumorzellen in der Rückenmarksflüssigkeit von Patienten mit seltenen Hirntumoren zu erwähnen, in dem wir nicht nur die DNA, sondern parallel RNAs aus einzelnen Zellen analysieren. Dadurch kommen wir nicht nur ohne Gewebebiopsie an molekulare Daten zur Krebserkrankung, sondern können durch den sogenannten „Multi-Omics“-Ansatz auch Informationsgehalt und Aussagekraft der erhobenen Daten erhöhen. Natürlich gibt es noch einiges

zu tun, aber ich bin zuversichtlich, dass wir diese Ansätze in absehbarer Zeit in die klinische Anwendung bringen können.

Zur Person:

Dr. Bernhard Polzer hat in München Humanmedizin studiert und zum Thema DCCs bei Patienten mit Prostatakarzinom promoviert. An der Universität Regensburg hat er gemeinsam mit Prof. Christoph Klein das erste akkreditierte Labor zur Einzelzelldiagnostik aufgebaut. Heute leitet er die Arbeitsgruppe Molekulare und Zelluläre Diagnostik am Bereich Personalisierte Tumorthérapie am Fraunhofer ITEM in Regensburg und beschäftigt sich mit der Entwicklung von Einzelzelltechnologien und der „Liquid Biopsy“ sowie deren Transfer in die klinische Diagnostik. ■■

Autor:

Dr. Jutta Jessen, Weinheim