

# Immuntherapie – Die neue Ära in der Onkologie

## Immunotherapy – The New Era of Oncology



Autoren

**Benjamin Kansy, Stephan Lang**

### Institut

Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie,  
Universitätsklinikum Essen, Universität Duisburg-Essen

### Schlüsselwörter

Immuntherapie, Tumormilieu, monoklonale Antikörper,  
adoptive Zelltherapie

### Key words

Immunotherapy, Tumormicroenvironment, monoklonal  
Antibodies, adoptive cell therapy

### Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-121594>

Laryngo-Rhino-Otol 2018; 97: S3–S25

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

ISSN 1615-0007

### Korrespondenzadresse

Benjamin Kansy

Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und  
Halschirurgie

Universitätsklinikum Essen

Universität Duisburg-Essen

Hufelandstr. 55

D-45147 Essen

Benjamin.Kansy@uk-essen.de

### ZUSAMMENFASSUNG

In den letzten Jahren wurden bedeutende Fortschritte auf dem Gebiet der Immuntherapie erreicht mit teils langanhaltendem Therapieansprechen bei unterschiedlichsten Tumorentitäten. Die Basis hierfür bildet ein verbessertes Verständnis der Interaktion zwischen Tumor und Immunsystem und der damit verbundenen Integration immuntherapeutischer Ansätze in die klinische Routine. Die hierbei eingesetzten immuntherapeutischen Strategien greifen auf unterschiedlichen Ebenen der Immunantwort ein, fördern direkt oder indirekt die Zerstörung der Tumorzellen durch die körpereigene Abwehr und reichen von Zytokintherapien über Vakzinierungen und den Einsatz onkolytischer Viren bis hin zu monoklonalen Antikörpertherapien und dem adoptiven Zelltransfer.

### ABSTRACT

In the field of immunotherapy, essential progress was achieved over the past years partially demonstrating long lasting therapeutic responses in different tumor entities. A better understanding of the interactions between the tumor and the immune system as well as the integration of immunotherapeutic approaches into clinical routine were the foundations for this development. The different approaches intervene on multiple levels of the immune response and directly or indirectly mount the patient's own immune defense against tumor cells. Immunotherapeutic approaches are represented by cytokine therapies, vaccinations, the use of oncolytic viruses and monoclonal antibody therapies as well as adoptive cell transfer strategies.

### Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	S3	3. Immuntherapien	S10
Abstract	S3	3.1. Zytokintherapien	S11
1. Einleitung	S4	3.2. Toll-like-Rezeptor Stimulation	S12
2. Tumormunologische Grundlagen	S4	3.3. Onkolytische Viren	S13
2.1. Angeborene Immunantwort	S4	3.4. Monoklonale Antikörper	S13
2.2. Adaptive Immunantwort	S5	3.4.1. mAb gegen Tumorantigene	S14
2.3. Tumorentstehung und Tumorevasion	S5	3.4.2. mAb gegen Checkpoint-Moleküle	S14
2.4. Tumormilieu	S6	3.5. Vakzinierung	S16
2.4.1. Extrazelluläre Matrix	S6	3.6. Adoptiver Zelltransfer	S18
2.4.2. Gefäßversorgung	S7	4. Chancen/ Risiken	S19
2.4.3. Fibroblasten	S7	5. Aktuelle Entwicklungen	S20
2.4.4. Suppressiv Immunzellen	S8	5.1. Biomarker	S20
2.4.5. Tumorstammzellen	S10	5.2. Kombinationstherapien	S21
		6. Zusammenfassung und Ausblick	S21
		Literatur	S22

## 1. Einleitung

Das Gebiet der Immuntherapie war gerade in den letzten Jahren von signifikanten Fortschritten geprägt, obwohl die Idee, das körpereigene Immunsystem für den Kampf gegen Krebs zu verwenden, nicht neu ist. Denn bereits 1891 stimulierte William Coley das Immunsystem von Sarkompatienten mit bakteriellen Bestandteilen und erzielte in einem Teil der Patienten eine kurzzeitige Tumorreduktion [1]. Weshalb also setzte sich dieser initiale, immuntherapeutische Ansatz zunächst nicht durch? Die Gründe hierfür sind vielfältig: Das Immunsystem ist ein hochkomplex reguliertes und balanciertes System, welches durch stimulierende und inhibierende Komponenten einerseits hochspezifisch auf Pathogene reagieren kann, andererseits eine überschießende Reaktion verhindert und somit nicht den eigenen Körper angreift. Zudem sind Tumoren sehr heterogen, da sie individuell entstehen und ihre Charakteristik vom Patienten und dessen Ursprungsgewebe abhängt. Erschwerend kommt hinzu, dass das Ursprungsgewebe der Tumoren eben nicht körperfremd ist, und somit wichtige Mechanismen der Immunantwort, wie sie in der Erkennung von körperfremden Pathogenen funktionieren, nicht greifen. Da es sich bei Coley um eine unspezifische, nicht gegen Tumorantigene gerichtete Reaktion handelte, war der therapeutische Effekt nur transient. Diese aufgeführten Aspekte begründen die anfänglichen Schwierigkeiten und enttäuschenden Ergebnisse, mit denen sich die onkologische Immuntherapie auseinandersetzen musste und weiterhin muss. Doch was hat sich zuletzt verändert? Warum werden aktuell in kaum einem anderen Bereich so viele Mittel und Anstrengungen in die Entwicklung neuer Therapiemodalitäten investiert wie im Bereich der Tumorimmunologie? Ein entscheidender Schritt war sicherlich die Möglichkeit, mit neuen monoklonalen Antikörpern (mAb, engl. monoclonal Antibody) spezifisch auf molekularer Ebene in das Tumorgeschehen einzugreifen. Nachdem über viele Jahre versucht wurde, Immuntherapie im Sinne einer Immunaktivierung zu betreiben, hat man seit einigen Jahren erkannt, dass von noch größerer Bedeutung die Antagonisierung bzw. Beeinflussung von immunologischen Blockaden, „Kontrollpunkten“ (Checkpoints) und immunsuppressiven Mechanismen ist. Dies wurde erstmals beim Malignen Melanom durch Cytotoxische T-Lymphozyten-Associated Protein 4 (CTLA4)- [2] und Programmed Cell Death 1 (PD1)-spezifische [3] Antikörper erreicht. Die Ergebnisse waren derart überzeugend, dass Science diese Form der Immuntherapie als Durchbruch des Jahres adelte [4]. Zusätzlich besteht durch den wissenschaftlichen Fortschritt die Möglichkeit, körpereigene Immunkomponenten auf spezifische (tumorale) Antigene „scharf zu stellen“, wie es bspw. beim adoptiven T-Zelltransfer oder im Rahmen von Vakzinierungen geschieht. Viele dieser Methoden sind aktuell und innovativ, stehen aber auch noch am Beginn ihrer (weiteren) Entwicklung. Im Folgenden werden Chancen und Risiken der Immuntherapie beleuchtet. Hierfür werden zunächst immunologische Grundlagen der Interaktion von Tumoren mit dem Immunsystem erläutert, um darauf aufbauend unterschiedliche Therapieansätze vorzustellen. Dies schließt sowohl einen Überblick über schon existierende Therapiemodalitäten, als auch einen Ausblick auf zukünftige Entwicklungen mit ein.

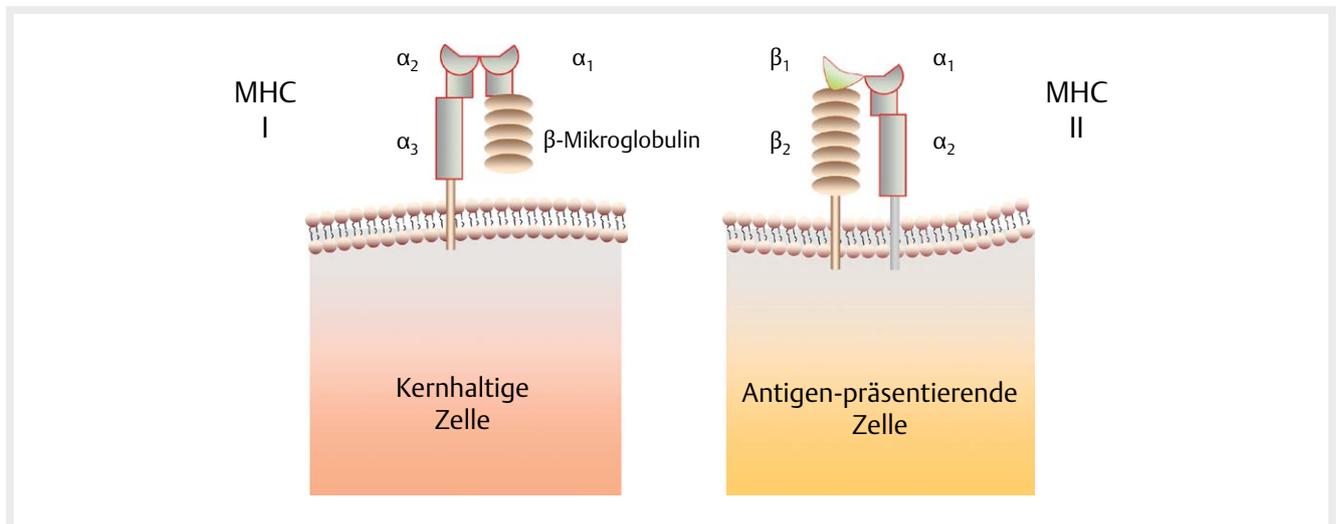
## 2. Tumorimmunologische Grundlagen

Historisch und funktionell lässt sich das Immunsystem in zwei Arme unterteilen: Die angeborene (native) Immunität bildet die erste Front

der Immunabwehr und erkennt, bekämpft und beseitigt – meist erfolgreich – fremde Pathogene schnell und effizient. Allerdings ist die angeborene Immunität weder Antigen-spezifisch, noch lernfähig. Das wiederum sind Eigenschaften der erworbenen (adaptiven) Immunität. Sie passt sich spezifischen Antigenen an und kann dadurch eine langanhaltende, spezifisch angepasste Immunantwort generieren. Beide Arme sind nicht autonom, sondern interagieren intensiv. Zusätzlich wird immer deutlicher, dass die Grenzen zwischen angeborenem und adaptivem Immunsystem fließend sind.

### 2.1. Angeborene Immunantwort

Zur angeborenen Immunantwort gehören physiologische Barrieren sowie humorale und zelluläre Komponenten. Die zellulären Bestandteile zeichnen sich v. a. durch ihre Fähigkeit aus, in Gewebe migrieren zu können und dort die Immunreaktion zu initiieren und gleichzeitig weitere Komponenten des Immunsystems anzulocken. Dafür besitzen die meisten Zellen der angeborenen Immunantwort die Fähigkeit zur Phagozytose, d. h. sie nehmen aktiv Pathogene auf, verarbeiten sie weiter und präsentieren – je nach Zelltyp – Teile davon auf ihrer Oberfläche auf Molekülen des Haupthistokompatibilitätskomplexes II (MHC II, engl. Major Histocompatibility Complex II, ► **Abb. 1**). Zu den zellulären Komponenten der angeborenen Immunantwort zählen die Granulozyten, die Makrophagen, die Dendritischen Zellen (DC) und die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). Makrophagen können über Phagozytose aufgenommene Antigene weiterverarbeiten und effizient über MHC II anderen Zellen präsentieren, um so eine Antigen-spezifische Antwort auszulösen. Sie bilden daher eine wichtige Schnittstelle zwischen der angeborenen und der adaptiven Immunantwort. In Abhängigkeit vom Umgebungsmilieu unterscheidet man bei den Makrophagen im Wesentlichen 2 Phänotypen, den M1- und den M2-Phänotyp. Während der M1-Phänotyp typischerweise durch Interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) oder Bestandteile von Bakterien, wie Lipopolysaccharide (LPS), aktiviert wird, resultiert der M2-Phänotyp überwiegend aus einer Stimulation durch das antiinflammatorisch wirkende Interleukin (IL) 4. M1-Makrophagen werden durch IFN $\gamma$ , LPS, GM-CSF und TNF polarisiert, produzieren hauptsächlich pro-inflammatorische Zytokine wie IL1, IL6, IL12, IL23 und TNF $\alpha$  und bewirken so eine T-Helferzellantwort, die antitumoral gerichtet ist (T<sub>H</sub>1-Antwort). M2-Makrophagen werden v. a. durch IL4, IL10 und IL13 polarisiert, produzieren selbst viel IL10 und TGF $\beta$ , aber wenig IL1, IL6, IL12 und TNF und bewirken daher eine T<sub>H</sub>1-Suppression, T<sub>H</sub>2-Aktivierung sowie Immunsuppression und fördern die Wundheilung und Geweberegeneration. Wegen immunsuppressiver Einflüsse im Tumormilieu polarisieren Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM) meist in Richtung des M2-Phänotyps [5]. Ihre Zahl im Tumor korreliert häufig mit Angiogenese, der Bildung von Metastasen und der Tumorprogression [6]. Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) erkennen pathologisch veränderte Zellen und können sie direkt lysieren. Hierfür besitzen sie verschiedene Rezeptoren wie NKG2 (Natürliche Killer Gruppe 2) und KIR (Killerzell Immunoglobulin-ähnliche Rezeptoren). Diese interagieren mit Liganden auf der Tumorzelle und senden stimulierende oder inhibitorische Signale. NK-Zellen müssen selbst nicht aktiviert werden, ihre Aktivität lässt sich jedoch durch Zytokine wie IL12, IFN $\alpha$  und IFN $\beta$  weiter steigern. NK-Zellen produzieren selbst IFN $\gamma$  und bewirken damit eine direkte Stimulation der an der Tumorabwehr beteiligten Komponenten im Tumormilieu. Auch wenn die angeborene Immunantwort insbesondere in der



► **Abb. 1** MHC-Moleküle. MHC-Moleküle sind auf kernhaltigen, körpereigenen Zellen (MHC I) und Antigen-präsentierenden Zellen (MHC II) exprimiert. MHC I-Moleküle bestehen aus einer α- und einer β-Untereinheit. Die α-Untereinheit enthält drei Domänen, von denen die Domänen α<sub>1</sub> und α<sub>2</sub> die Antigenpräsentation übernehmen, und die α<sub>3</sub> Domäne die Verankerung in der Zellmembran sichert. Das β<sub>2</sub>-Mikroglobulin stellt die vierte lösliche Domäne der MHC I-Moleküle dar. MHC II-Moleküle bestehen aus 2 Untereinheiten, die beide in der Zellmembran verankert sind. Eine Untereinheit (α- oder β) besteht aus je 2 Domänen, α<sub>1</sub> und α<sub>2</sub> bzw. β<sub>1</sub> und β<sub>2</sub>, wobei die α<sub>1</sub> und die β<sub>1</sub> Domäne die Aufgabe der Antigenpräsentation übernehmen. MHC: Haupthistokompatibilitätskomplex.

Fremderkennung eine wesentliche Rolle spielt, ist ihre Rolle – gerade die der zellulären Bestandteile – in der Tumorentstehung und im Tumورprogress immer stärker im Fokus der Forschung.

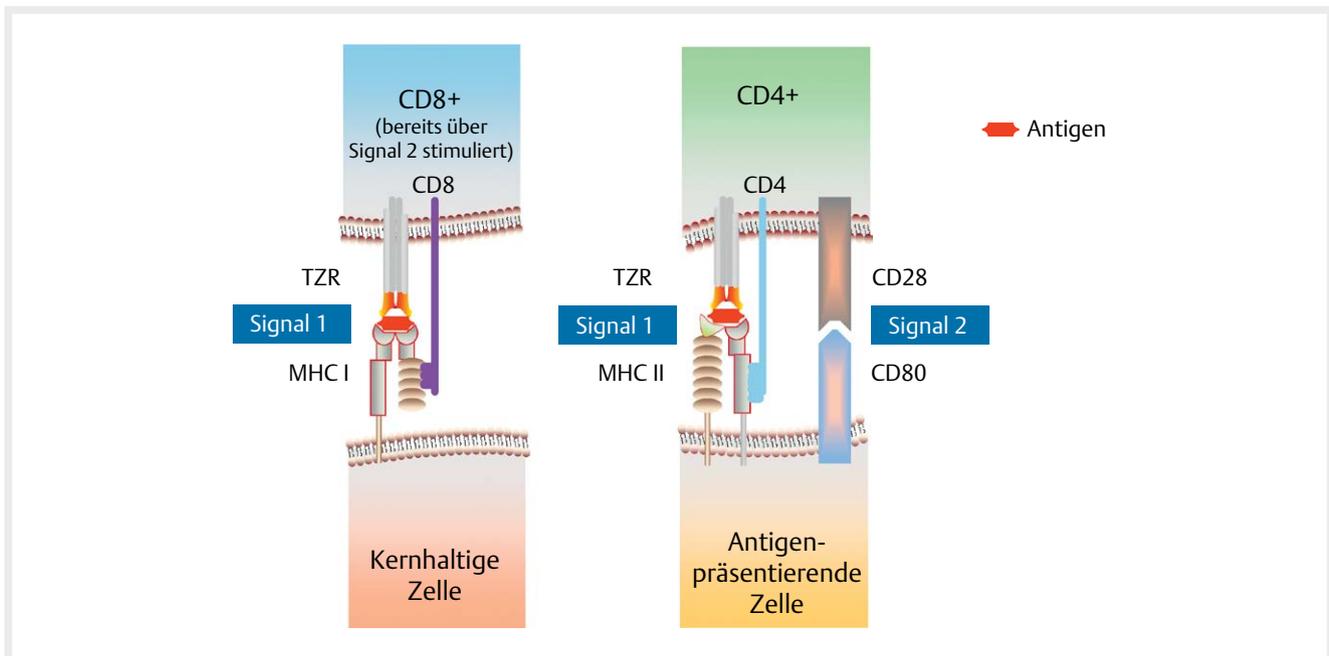
## 2.2. Adaptive Immunantwort

Die adaptive Immunantwort ergänzt die angeborene Immunantwort und ermöglicht die Ausbildung einer persistierenden und Antigen-spezifischen Immunreaktion. Das Prinzip basiert auf der Antigenpräsentation. Antikörper repräsentieren die humoralen Komponenten der adaptiven Immunantwort. Sie wirken durch Opsonisierung, Induktion einer Antikörperabhängigen Zytotoxizität, Neutralisation, Aktivierung des Komplementsystems und Agglutination der Pathogene. Antikörper werden von B-Zellen produziert und sezerniert. Zusätzlich zu B-Zellen sind die T-Zellen verantwortlich für die adaptive Immunantwort. Zytotoxische T-Zellen (CD8+) benötigen dabei zur Aktivierung mehrere Signale: Zum einen muss der spezifische T-Zell-Rezeptor (TZR) mit einem passenden Antigen in Verbindung kommen (► **Abb. 2**). Zusätzlich müssen ko-stimulatorische Rezeptoren der T-Zellen aktiviert werden, um eine Proliferation sowie eine zytotoxische Zellaktivität zu erreichen. Aufgrund ihrer Fähigkeit, hochspezifisch zytotoxisch zu wirken, sind CD8+ T-Zellen im besonderen Fokus neuer onkologischer Therapieansätze: Zum einen im Bereich der adaptiven T-Zell Therapie, bei der Tumorantigen-spezifische T-Zellen vermehrt und dem Patienten (wieder) verabreicht werden [7], zum anderen im Bereich der Checkpoint-Inhibitoren, bei der spezifische inhibitorische Rezeptoren der T-Zellen blockiert werden, um so eine T-Zell-Anergie zu verhindern [8]. T-Helfer-Zellen (CD4+) sind insbesondere an regulatorischen Prozessen der Immunabwehr beteiligt. Sie haben dabei meist keine eigene zytotoxische Wirkung, sondern vermitteln diese über Partnerzellen, bspw. zytotoxische T-Zellen oder NK-Zellen. Die Antigenpräsentation erfolgt dabei über MHC II-Moleküle. Im Gegensatz zu CD8+ T-Zellen benötigen CD4+ T-Zellen deutlich häufigeren Antigenkontakt, um stimuliert zu werden. Auch bei CD4+

Zellen kennt man verschiedene Phänotypen: Der T<sub>H</sub>1-Phänotyp sezerniert IL2 sowie IFN $\gamma$  und stimuliert die antitumorale Immunantwort, wohingegen T<sub>H</sub>2-Zellen IL4 und IL10 produzieren, die wiederum inhibitorische Wirkung auf das Immunsystem im Tumormilieu entfalten. Die Berücksichtigung dieser grundlegenden Phänotypen und deren Einflüsse auf das Tumormilieu ist für die Immuntherapie von entscheidender Bedeutung.

## 2.3. Tumorentstehung und Tumorevasion

In der Mitte des 20. Jahrhunderts stellten Burnet und Thomas die Hypothese der „Immunüberwachung“ (engl. Immunosurveillance) auf [9]. Sie besagt, dass im Laufe des Lebens die Häufigkeit nicht-vererbbarer, genetischer Veränderungen in den Zellen zunimmt. Da dies eine Malignitätsentwicklung begünstigt, müsse ein Überwachungsmechanismus mit immunologischem Hintergrund zur Elimination oder Inaktivierung dieser mutierten Zellen existieren [10]. Die Hypothese der Immunüberwachung ist mittlerweile zum Modell des „Cancer Immunoediting“ erweitert worden. Dabei werden zeitliche Aspekte in der Tumorentstehung berücksichtigt und verschiedene Phasen der Balance zwischen Abwehr und Progress beschrieben (► **Abb. 3**): Die Eliminierungsphase (engl. „Elimination“), die Gleichgewichtsphase (engl. „Equilibrium“) und die Entziehungsphase (engl. „Escape“) [11]. In der Eliminierungsphase können das adaptive und das angeborene Immunsystem Tumorzellen erkennen und zerstören. Die Gleichgewichtsphase repräsentiert die Übergangsphase zwischen Eliminierungs- und Entziehungsphase, in der das Immunsystem die Tumorzellen unter Kontrolle hält. Dabei herrscht ein Gleichgewicht zwischen den Interleukinen IL12 (immunstimulierend) und IL23 (immunsupprimierend) [12]. In der Entziehungsphase verliert das Immunsystem die Kontrolle über den Tumor, und es kommt zum Tumorprogress: Tumorzellen erreichen dies durch Mechanismen, die die Erkennung durch das Immunsystem reduzieren [13–18], die zu einer erhöhten Resistenz der Tumorzellen führen [19, 20] und die eine Inaktivierung



► **Abb. 2** Antigenpräsentation und Antigen-Erkennung. CD8+ T-Zellen erkennen Antigene, die auf MHC I-Molekülen präsentiert werden. CD4+ T-Zellen erkennen Antigene von Antigenpräsentierenden Zellen auf MHC II-Molekülen. MHC I-Moleküle werden mit Peptidfragmenten aus dem Zytosol der Zelle beladen, die permanent aus Abbauprodukten der Proteasomen im Zellinneren entstehen. Dies dient zur Kontrolle, ob die Zelle körpereigene oder körperfremde Proteine produziert. MHC-II Moleküle werden ausschließlich auf Antigenpräsentierenden Zellen exprimiert und präsentieren fremde, extrazelluläre Peptidfragmente, die über Phagozytose oder Endozytose in die Zelle aufgenommen wurden, um Rezeptoren Antigen-spezifischer Zellen zu aktivieren. Zusätzlich zur Aktivierung über den TZR/MHC-Komplex (Signal 1) benötigen die T-Zellen ein ko-stimulatorisches Signal (CD80, Signal 2) um aktiviert zu werden. MHC: Haupthistokompatibilitätskomplex; TZR: T-Zell-Rezeptor.

von Antitumor-Effektorzellen bewirken [21]. Zusätzlich wird das Tumormilieu zugunsten immunsuppressiver Signalwege beeinflusst.

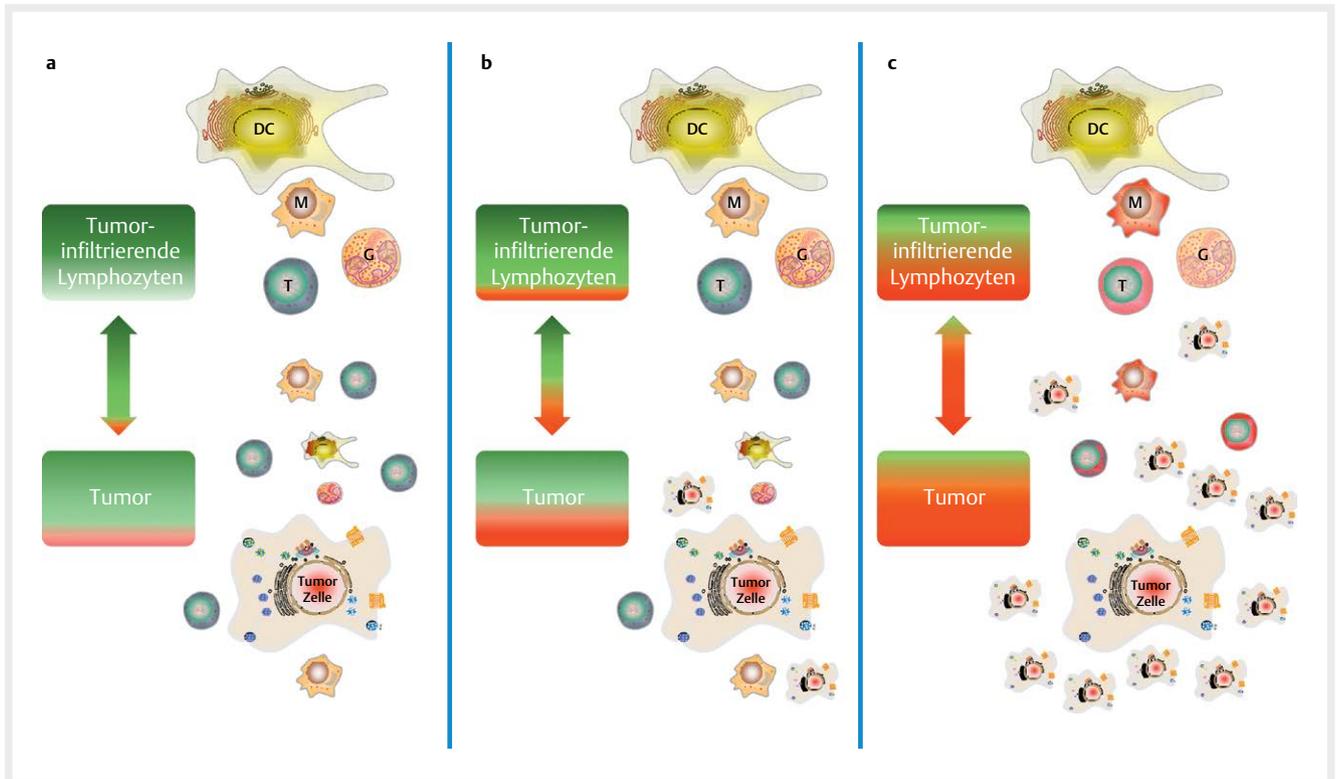
## 2.4. Tumormilieu

Fortschritte in der Tumorthherapie der letzten Jahrzehnte sind insbesondere auf ein profunderes Verständnis der wechselseitigen Einflüsse im Tumormilieu zurückzuführen. Unbestreitbar ist, dass Tumorzellen von der Umgebung beeinflusst werden und vice versa das Tumormilieu beeinflussen. Immer deutlicher wird, dass die Interaktionen zwischen den beteiligten Zellen hochkomplex sind, und eine Unterscheidung zwischen Ursache und Wirkung im Tumormilieu eine wissenschaftliche Herausforderung darstellt. Daher ist eine genaue Betrachtung der beteiligten (zellulären) Strukturen und Signalwege dringend geboten. Im Tumormilieu treffen Tumorzellen mit den Zellen und Strukturen aus dem umgebenden Gewebe aufeinander. Diese beinhalten zusätzlich zu den Zellen des Immunsystems Komponenten der extrazellulären Matrix, Gefäßstrukturen, Stromazellen und Fibroblasten. Daher interagieren die Tumorzellen mit vielen, teils wechselnden Partnern. Aufgrund der heterogenen Zusammensetzung ist das Tumormilieu von Patient zu Patient unterschiedlich. Zusätzlich zur interindividuellen Varianz besteht eine intraindividuelle Dynamik. Dieser Faktor wird in der Analyse von Tumor-/ Patientenproben häufig noch vernachlässigt.

### 2.4.1. Extrazelluläre Matrix

Die Extrazelluläre Matrix (EZM) beschreibt den Raum außerhalb der zellulären Plasmamembranen und wird durch die interstitiellen Ma-

kromoleküle gebildet. Zu diesen Makromolekülen gehören Glykoproteine und Polysaccharide. Zusätzlich enthält die EZM im Wesentlichen Wasser, Elektrolyte und Nährstoffe. Sie wird durch die umliegenden Zellen beeinflusst. Dadurch ist die Zusammensetzung der EZM nicht unveränderlich, sondern durch Stoffaustausch und Produktion sowie Abbau der Makromoleküle einem wechselnden Prozess unterworfen. Neben wichtigen Einflüssen auf die Gewebeeigenschaften der Formgebung, Elastizität und dem Wassergehalt hat die EZM auch eine wichtige regulatorische Funktion in der Beeinflussung von Immunreaktionen und der Wundheilung sowie bei der Signaltransduktion und Bindung von Signalrezeptoren. Dadurch kann eine Beeinflussung der intrazellulären Genexpression erfolgen, die Auswirkungen auf die Adhäsion, Migration und Proliferation der umliegenden Zellen zur Folge haben kann. Dies macht deutlich, welchen wichtigen Einfluss die EZM auf das umliegende Gewebe nimmt. Auch in Tumoren beeinflusst die EZM das Tumormilieu und die Tumorentwicklung [22]. Dabei spielt die Deregulierung der EZM eine wichtige Rolle. Durch erhöhte Kollagenimplementierung in die EZM kann eine Integrin-vermittelte Zellproliferation induziert werden [23]. Durch anti-apoptotische Effekte [24] und Unterstützung onkogener Zelltransformationen [25] kann die EZM somit die Grundlage für einen Tumorprogress bilden. Zusätzlich kann ein Tumorprogress durch inhibierende Einflüsse der EZM auf das Immunsystem verursacht werden [26]. So können T-Zellen in ihrer Proliferation gehindert werden, bspw. durch Bindung von LAIR (Leukozyten assoziierten Immunglobulin-ähnlichen Rezeptor, engl. leukocyte-associated Ig-like receptor) mittels Kollagen I [27] oder durch Kompromittierung Antigen-präsentierender Zellen [28].



► **Abb. 3** Immunoeediting. **a** Eliminierungsphase: In der Eliminierungsphase erkennen und zerstören das adaptive und das native Immunsystem Tumorzellen. **b** Gleichgewichtsphase: In der Gleichgewichtsphase hält das Immunsystem die Tumorzellen unter Kontrolle, eine vollständige Elimination findet nicht mehr statt. **c** Entziehungsphase: In der Entziehungsphase verliert das Immunsystem die Kontrolle über die Tumorzellen mit darauffolgendem Tumorprogress. Der Übergang von Eliminierungsphase über die Gleichgewichtsphase zur Entziehungsphase wird als Immunoeediting bezeichnet. DC: Dendritische Zelle; T: T-Zellen; G: Granulozyten; M: Makrophagen.

#### 2.4.2. Gefäßversorgung

Wie alle stoffwechselaktiven Gewebe sind insbesondere Tumorzellen mit ihrer hohen Zellteilungsaktivität und dem stark aktivierten Stoffwechsel davon abhängig, mit Nährstoffen versorgt werden zu können. Auch der Sauerstoffverbrauch und der Abtransport von Stoffwechselmetaboliten sind wichtige Gründe für die Abhängigkeit der Tumoren von einer adäquaten Gefäßversorgung. Daher ist die Angiogenese im Tumormilieu wichtig für das Tumorwachstum, das Invasions- und Metastasierungsverhalten [29, 30]. Die Angiogenese beschreibt den Prozess der Gefäßneubildung, die aus dem bereits bestehenden Gefäßbett heraus entsteht. Anreize für die Angiogenese werden unter anderem durch Hypoxie, einem niedrigen pH-Wert, Hypoglykämie, Stress und Entzündung hervorgerufen. Dabei werden Endothelzellen durch Wachstumsfaktoren aktiviert, die dann migrieren und proliferieren. Zu diesen Wachstumsfaktoren gehören die vaskulären endothelialen Wachstumsfaktoren (VEGF, engl. Vascular Endothelial Growth Factor), die Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF, engl. Fibroblast Growth Factor), die Plättchen-Wachstumsfaktoren (PDGF, engl. Platelet Derived Growth Factor), die Hepatozyten-Wachstumsfaktoren (HGF, engl. Hepatocyte Growth Factor) und Angiopoetin 1 und 2 [30]. Die Rezeptoren dieser Wachstumsfaktoren, vornehmlich Tyrosinkinaserzeptoren, können dabei nicht nur durch ihre Liganden, sondern auch durch Hormone, Neurotransmitter und Lymphokine stimuliert werden. Gerade Letztere nehmen in der Angiogenese einen wichtigen Platz ein, denn die beteiligten Botenstoffe spielen auch bei Inflammation und Immunzell-

migration eine wichtige Rolle [29]. So können bspw. Mastzellen und Makrophagen durch Tumorzellen rekrutiert und zur Sekretion angiogenetisch-wirksamer Zytokine stimuliert werden.

#### 2.4.3. Fibroblasten

Fibroblasten sind mesenchymalen Ursprungs und als Zellen des Bindegewebes am Aufbau der EZM beteiligt. Sie sezernieren hierfür v. a. Kollagen, Fibronectin und Wachstumsfaktoren. Gleichzeitig sind sie allerdings auch an Umstrukturierungen der EZM beteiligt und können dafür Matrixmetalloproteasen (MMP) herstellen, die Peptidbindungen von Strukturen der EZM lösen und somit eine wichtige Rolle in der Angiogenese, der Wundheilung und dem Tumorwachstum übernehmen. Als Zellen mesenchymalen Ursprungs sind sie somit auch Bestandteil des Tumormilieus solider Tumoren. Mesenchymale Stromazellen können im Tumormilieu zu sogenannten Krebs-assoziierten Fibroblasten (CAF, engl. Cancer Associated Fibroblasts) differenzieren. Diese weisen eine deutlich erhöhte Aktivität im Vergleich zu anderen Fibroblasten auf [31]. Dabei sezernieren sie TGF $\beta$  und andere Wachstumsfaktoren, die fördernd auf das Tumorwachstum wirken [32]. Auch die metabolischen Prozesse in Tumorzellen können durch die CAFs unterstützt werden [33]. Zusätzlich werden die durch CAF sezernierten MMPs mit erhöhter Invasivität und Metastasierung in Verbindung gebracht [32, 34]. Auf das Immunsystem wirken die CAF durch chronische Zytokinsekretion, die eine Ursache der chronischen Inflammationsreaktion im Tumormilieu darstellt. Die mobilisierten Immunzellen wie bspw. Makrophagen werden durch die chronische Stimulation der CAF und weitere immunmodulierende Einflüsse des Tumormilieus im Rahmen der chronischen Inflammationsreaktion zum tumorfördern

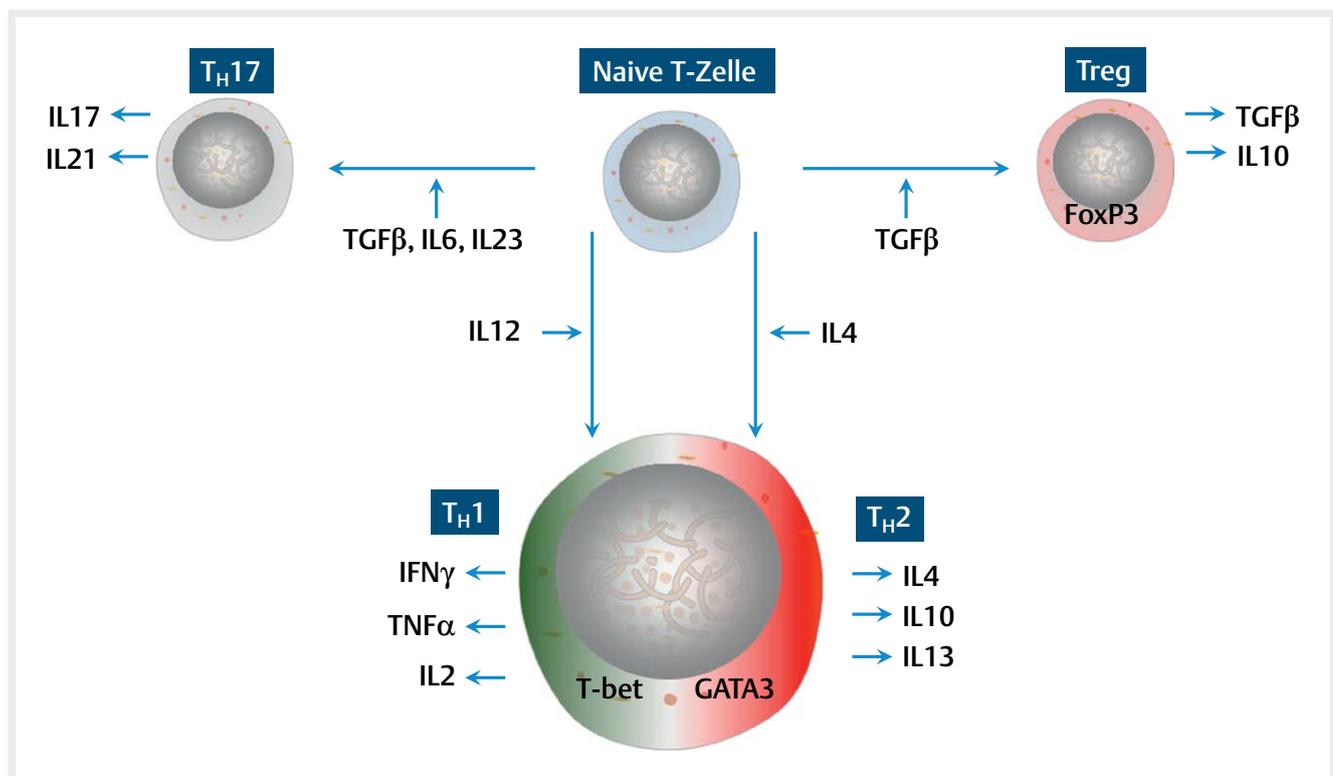
den Phänotyp (M2) konvertiert [35, 36].

#### 2.4.4. Suppressive Immunzellen

Zusätzlich zu den eingangs beschriebenen zellulären Anteilen des Immunsystems gibt es weitere Immunzellen, die insbesondere im Tumormilieu vorhanden sind: Regulatorische T-Zellen (Treg), Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM) und Myeloide Suppressorzellen (MDSC, engl. Myeloid-Derived Suppressor Cell).

**2.4.4.1. Treg** Treg stellen hauptsächlich eine Subpopulation von CD4+ T-Zellen dar, die als sogenannte Suppressorzellen für die Erhaltung der Selbsttoleranz verantwortlich sind. Dies wird durch Inhibition aktivierter T-Zellen erreicht. Treg zeichnen sich durch die Expression von CD4 und CD25 (Untereinheit des IL2 Rezeptors) und des Transkriptionsfaktors FOXP3 (forkhead box protein 3) aus. Bisher sind über vier unterschiedliche CD4+ Subpopulationen von regulatorischen T-Zellen beschrieben worden. Die unterschiedlichen Subpopulationen können gegebenenfalls für die z. T. widersprüchlich erscheinenden Forschungsergebnisse verantwortlich sein. Trotz dessen besteht der weit verbreitete Konsens, dass Treg im Tumormilieu immunsuppressive Eigenschaften aufweisen [37]. Sie vermitteln diese Wirkung nicht nur durch Sekretion spezifischer Interleukine und anderer Zytokine, sondern benötigen für einen Teil ihrer Funktionen auch direkten Zell-zu-Zellkontakt [38]. Die beteiligten Zytokine sind hauptsächlich IL4, IL10, IL35 und TGF $\beta$ . Eine Übersicht

der Zytokineinflüsse auf CD4+ T-Zellen bietet ► **Abb. 4**. Im direkten Zell-zu-Zell Kontakt vermitteln Treg immunsuppressive Eigenschaften über die Expression sogenannter Checkpoint-Moleküle, insbesondere CTLA4 und LAG3 (engl. Lymphocyte-Activation Gene 3), sowie Oberflächen-gebundene Enzyme wie CD39. Die Checkpoint-Moleküle wirken dabei über eine kompetitive Bindung im Zell-zu-Zell Kontakt mit ko-stimulierenden Molekülen von Antigen präsentierenden Zellen und verhindern so eine effektive Antigenpräsentation. Zusätzlich wird die Reifung der Antigen präsentierenden Zellen, insbesondere von Dendritischen Zellen verhindert. Die enzymatische Funktion von CD39, einer Ektonukleotidase, spielt bei der Verarbeitung von ATP zu AMP eine wichtige Rolle. Die pro-inflammatorischen Eigenschaften von extrazellulärem ATP werden dadurch inhibiert. Neben den Dendritischen Zellen haben Treg insbesondere eine inhibitorische Wirkung auf aktivierte CD4+ und CD8+ T-Zellen. Sie tragen wesentlich zu Entwicklung einer T-Zell-Anergie bei [39]. Im anergen Zustand können die T-Zellen dabei nicht mehr stimuliert werden und reagieren auch nicht auf eine erneute Antigenpräsentation. Auch die Proliferation der T-Zellen wird über eine inhibitorische Wirkung auf den Zellzyklus verhindert [39]. Zusätzlich stehen die Treg in Konkurrenz mit den anderen T-Zellen um IL2, welches für die Proliferation und Aktivierung sowohl der Treg als auch der anderen T-Zellen im Tumormilieu benötigt wird. Auch auf die NK-Zellen konnte eine inhibitorische Wirkung der Treg nachgewiesen wer-



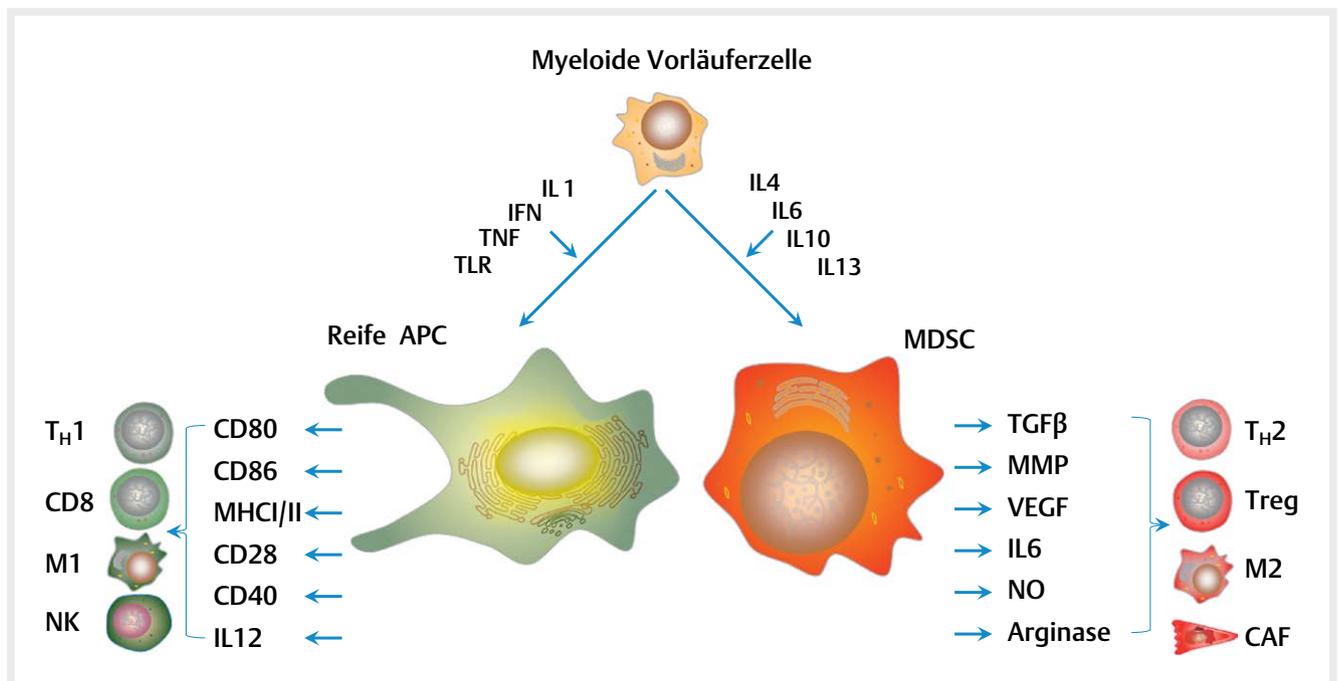
► **Abb. 4** Der Einfluss des Zytokinmilieus auf die Differenzierung naiver CD4+ T-Zellen. CD4+ T-Zellen werden durch unterschiedliche Zytokine zur Differenzierung in TH1 und TH2 sowie TH17 und Treg Zellen beeinflusst. Dabei induziert insbesondere TGF $\beta$  die Entwicklung von Treg. Treg selbst beeinflussen das Tumormilieu mittels TGF $\beta$  und IL10. Zusätzlich unterscheidet man bei der Entwicklung von T-Zellen die Differenzierung in TH1, TH2 und TH17 Zellen. IL12 stimuliert eine Differenzierung in TH1-Zellen, die mit einer antitumoralen Antwort im Tumormilieu assoziiert sind. IL4 ist für die Induktion von TH2-Zellen wichtig, die eine protumorale Rolle im Tumormilieu mittels IL4, IL10 und IL13 Sekretion übernehmen. Die Rolle der TH17-Zellen im Tumormilieu ist noch umstritten, sie werden durch IL6 und IL23 und TGF $\beta$  stimuliert. Grün: vorwiegend antitumorale Wirkung; Rot: vorwiegend protumorale Wirkung; IL: Interleukin; TGF: Transformierender Wachstumsfaktor; IFN: Interferon; TNF: Tumornekrosefaktor; T-bet: T-box Transkriptionsfaktor; GATA3: GATA Transkriptionsfaktor; FoxP3: F box protein 3-Transkriptionsfaktor.

den. Die Sekretion von TGF $\beta$  bewirkt eine verminderte Expression von NKG2D, einem aktivierenden NK-Zellrezeptor [40]. Die Möglichkeiten der Treg, auf die Immunantwort Einfluss zu nehmen, sind daher sehr vielfältig und im Tumormilieu besonders deutlich ausgeprägt [41].

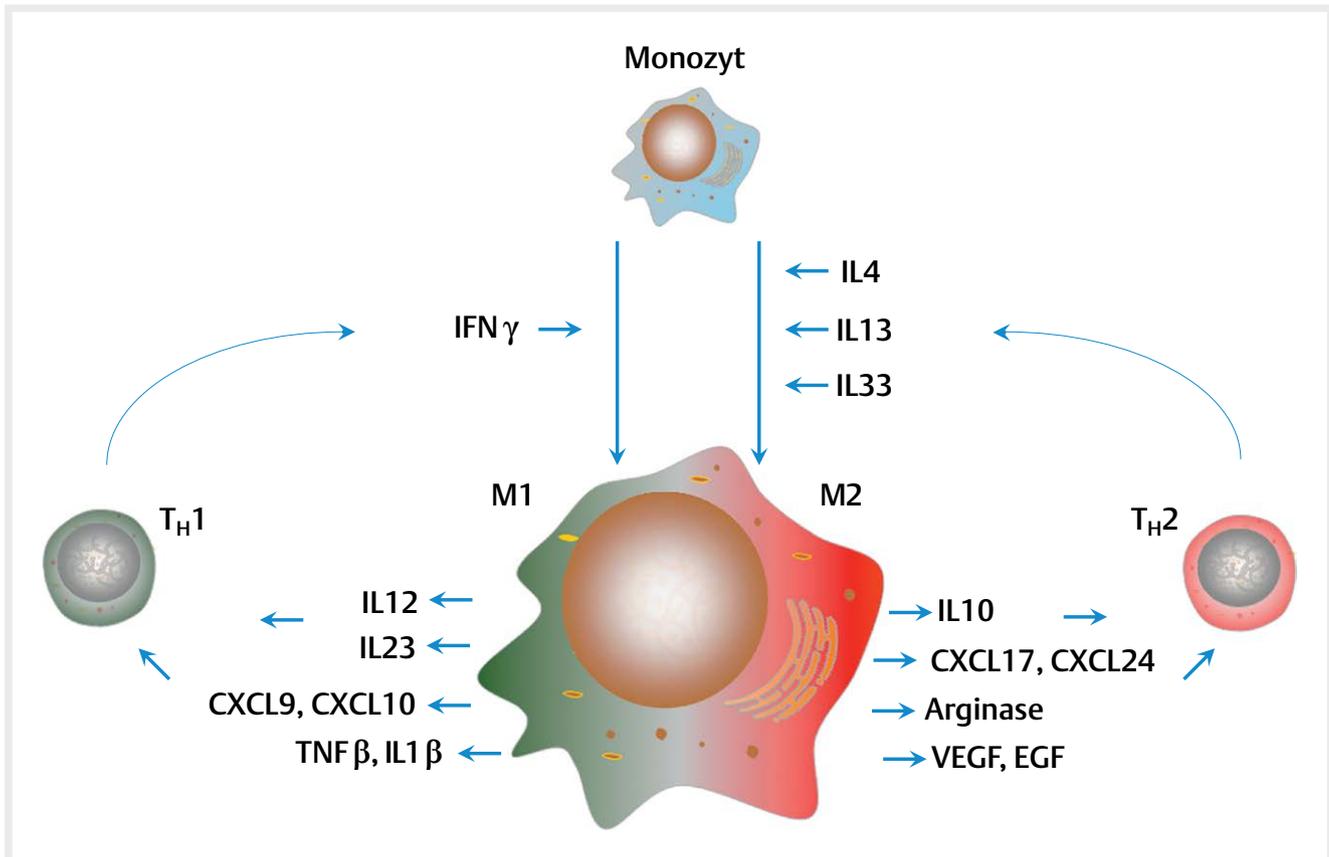
**2.4.4.2 MDSC** MDSC ist der Überbegriff für eine Subgruppe von Suppressorzellen, die myeloiden Ursprungs sind. Sie werden durch die Expression spezifischer Oberflächenmoleküle definiert (CD11b+, CD33+ und CD34+) und konnten in den meisten soliden Tumoren nachgewiesen werden. Sie zeichnen sich insbesondere durch eine protumorale Differenzierung aus. Im Gegensatz zu reifen Dendritischen Zellen supprimieren MDSC die Immunantwort im Tumormilieu (► **Abb. 5**). MDSC werden durch pro-inflammatorische Signale stimuliert und sind daher besonders relevant in der Steuerung der Immunantwort im Tumormilieu [42]. Ähnlich wie Treg üben MDSC ihre immunsupprimierende Wirkung in vielen Bereichen der adaptiven und der angeborenen Immunantwort aus. Dabei bedienen sie sich unterschiedlicher Mechanismen: T-Zellen werden in der Antigenerkennung durch Nitrierung des T-Zell-Rezeptors gestört. Außerdem verhindern sie die T-Zell-Aktivierung über den Verbrauch von Cystein, einer für T-Zellen essentiellen Aminosäure [43]. Auch die Proliferation von T-Zellen wird über eine Hemmung der IL2-Produktion beeinflusst. Die Produktion von Arginase und Sauerstoffradikalen behindert die Antigenerkennung und die T-Zell-Aktivierung [44]. Zusätzlich beeinflusst die vermehrte Differenzierung zu MDSC aus Vorläuferzellen myeloiden Ursprungs die adaptive Immunantwort über eine Reduktion antigenpräsentierender Zellen zugunsten der MDSC. Darüber hinaus unterstützen MDSC die Bildung von Tregs

über die vermehrte Produktion von IL10, TGF $\beta$  und Arginase [42]. Auch Teile der angeborenen Immunantwort werden durch die MDSC gehemmt, insbesondere NK-Zellen und M1-Makrophagen, die über eine vermehrte Produktion von IL10 und eine Verminderung der IL12-Sekretion in ihrer Funktion gestört werden [45]. Die Entwicklung von MDSC wird durch verschiedene Zytokine beeinflusst, darunter VEGF, Granulozyten- und Monozytenkolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF, engl. Granulocyte Monocyte Colony-Stimulating Factor), IL6, IL1 $\beta$ , PGE2 (ProstaGlandin E2) und Komplement C5a.

**2.4.4.3. TAM** Aufgrund ihrer Vielseitigkeit, Mobilität und der Zugehörigkeit zum angeborenen Immunsystem sind Makrophagen in vielen Pfaden der Immunabwehr – einschließlich Wundheilung und Entzündungsprozessen – aktiv. Dies schließt auch das Tumormilieu mit ein, in dem Makrophagen an der Angiogenese, der Leukozyteninfiltration, der Veränderung der EZM und der Immunsuppression beteiligt sind [46]. In Zusammenhang mit dem Tumormilieu ist dabei in den letzten Jahren eine heterogene Gruppe von Makrophagen beschrieben worden, die als Tumor-assoziierte Makrophagen bezeichnet wird. Dabei ist zu beachten, dass einige Autoren in Zusammenhang mit Tumoren vornehmlich den M2-Phänotyp beschreiben, andere aufgrund der hohen Plastizität der Makrophagen auch bei TAM zwischen dem M1- und dem M2-Phänotyp unterscheiden (► **Abb. 6**). In der überwiegenden Mehrzahl der Tumoren (bis auf das Kolonkarzinom) korrelieren TAM mit einer schlechten Prognose [47]. Dabei können sie bis zu einem Drittel der zellulären Bestandteile des Tumormilieus ausmachen [48]. TAM werden über Chemokine (z. B. Chemokinligand 2, CCL2 und CCL5), die meist von Tumor- oder Stromazellen sezerniert werden, in das Tumormilieu rekrutiert. Außer-



► **Abb. 5** Myeloide Suppressorzellen und Antigenpräsentierende Zellen im Tumormilieu. MDSC werden durch pro-inflammatorische Signale stimuliert und supprimieren die Immunantwort im Tumormilieu. Sie induzieren die Bildung von Treg und T<sub>H</sub>2-Zellen und fördern die Differenzierung zu M2-Phänotypen. Reife Antigenpräsentierende Zellen können die antitumorale Immunantwort stimulieren, indem sie durch Antigenpräsentierende und Ko-Stimulation CD8+ T-Zellen, CD4+ T<sub>H</sub>1-Zellen und NK-Zellen unterstützen. Grün: vorwiegend antitumorale Wirkung; Rot: vorwiegend protumorale Wirkung; IL: Interleukin; TGF: Transformierender Wachstumsfaktor; IFN: Interferon; TNF: Tumornekrosefaktor; M1: M1 Phänotyp; NK: Natürliche Killerzelle; TLR: Toll-like-Rezeptor-Stimulation; MMP: Matrixmetalloprotease; VEGF: vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor; NO: Stickoxid.



► **Abb. 6** Monozyten im Tumormilieu. Monozyten differenzieren im Tumormilieu in M1- und M2-Makrophagen in Abhängigkeit der vorherrschenden Einflüsse. M1-Makrophagen stimulieren über IL12 die T<sub>H</sub>1-Antwort und sind mit einer antitumoralen Wirkung assoziiert. M2-Makrophagen stimulieren eine T<sub>H</sub>2-Antwort und wirken durch die Bildung von IL10, VEGF und Arginase protumoral im Tumormilieu. Grün: vorwiegend antitumorale Wirkung; Rot: vorwiegend protumorale Wirkung; IL: Interleukin; IFN: Interferon; TNF: Tumornekrosefaktor; M1: M1 Phänotyp; CXCL: Chemokin; VEGF: vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor; EGF: epidermaler Wachstumsfaktor.

dem sind VEGF, PDGF, M-CSF und TGF $\beta$  an der Makrophagenrekrutierung beteiligt [49]. M1-Makrophagen werden durch IFN $\gamma$ , LPS, GM-CSF und TNF polarisiert, produzieren viel IL1, IL6, IL12, IL23, TNF und niedrige Level an IL10 und bewirken eine T<sub>H</sub>1-Antwort, Gewebeerstörung und Immunstimulation. M2-Makrophagen werden v. a. durch IL4, IL10 und IL13 polarisiert, produzieren viel IL10, TGF $\beta$  und wenig IL1, IL6, IL12 und TNF und bewirken eine T<sub>H</sub>1-Suppression, T<sub>H</sub>2-Aktivierung, Immunsuppression und fördern die Wundheilung und Geweberegeneration. Da Makrophagen eine hohe Plastizität aufweisen und stark von den Einflüssen des Tumormilieus abhängen, sind die TAM daher eher dem M2-Phänotyp zugeordnet [5]. Daher korrelieren sie im Tumor mit der Angiogenese, der Bildung von Metastasen und dem Tumorprogress [6].

#### 2.4.5. Tumorstammzellen

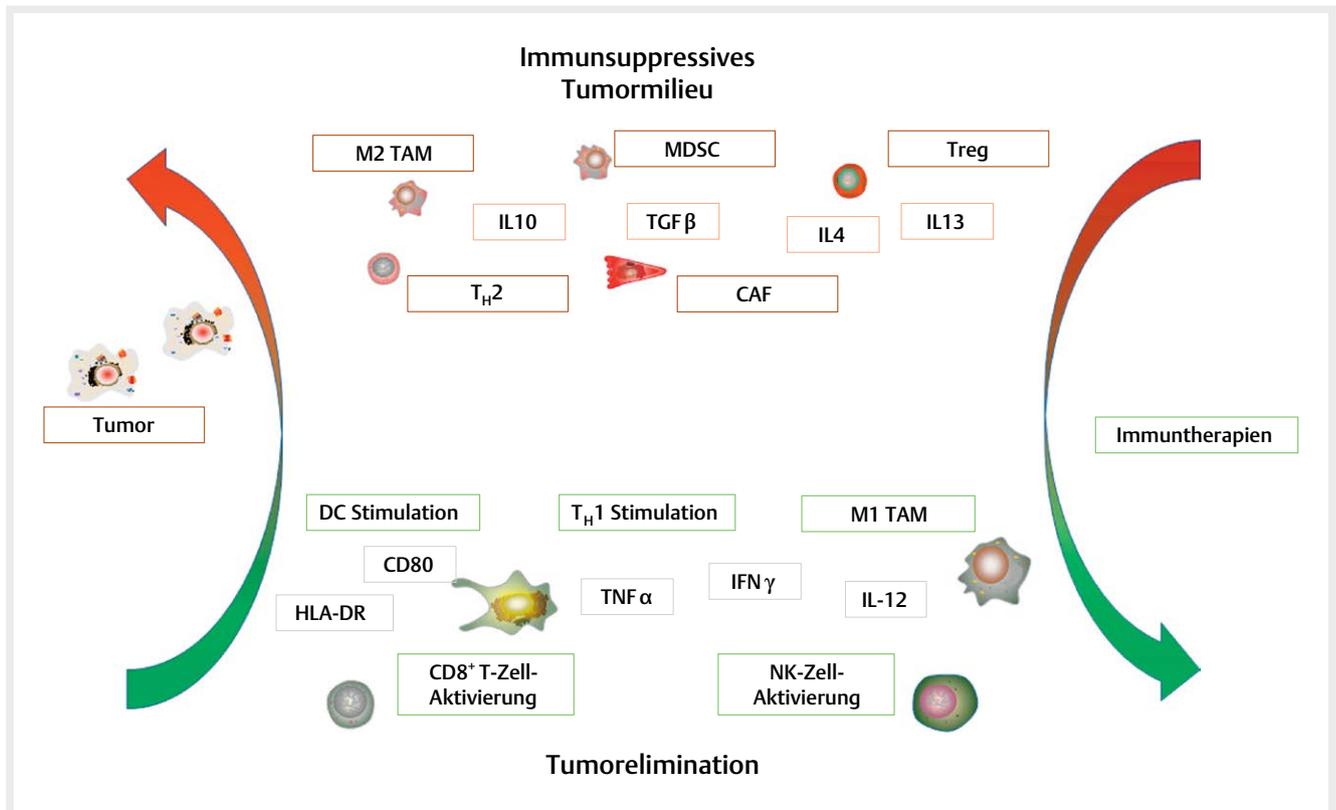
Als Tumorstammzellen (CSC, engl. Cancer Stem Cells) werden Tumorzellen mit Stammzeleigenschaften bezeichnet. Zu diesen Eigenschaften gehören die Selbsterneuerung sowie das Potenzial zur Differenzierung [50]. Die Hypothese der Tumorstammzellen ist zwar umstritten [51], es verdichten sich jedoch die Hinweise, dass in unterschiedlichen Tumorentitäten Tumorzellen mit Stammzeleigenschaften gefunden werden [52]. Tumorstammzellen werden z. T. für die Ausbildung von Therapieresistenzen verantwortlich gemacht [53]. In Verbindung mit

Chemotherapie konnte zuletzt eine Konversion von Glioblastomzellen in Tumorstammzellen gezeigt werden [54]. Eine weitere wichtige Eigenschaft von Tumorstammzellen ist die niedrige Immunogenität [55]. Die Fähigkeit, dem Immunsystem auszuweichen, basiert auf unterschiedlichen Eigenschaften. Zum einen exprimieren CSC inhibitorische Liganden, wie z. B. FasL und inhibitorische NK Liganden, zum anderen anti-apoptische Moleküle wie Bcl2 und Survivin. Außerdem sezernieren sie die klassischen immunsupprimierenden Zytokine wie TGF $\beta$ , IL4, IL6, IL10 und PGE2. Zusätzlich inhibieren CSC die T-Zell-Proliferation STAT3-vermittelt [56].

### 3. Immuntherapien

Ziel der unterschiedlichen Immuntherapien ist es, die Aktivität des Immunsystems möglichst gezielt gegen den Tumor zu richten, protumorale Effekte aufzuheben und eine Tumorelimination zu ermöglichen (► **Abb. 7**). Auf die Grundlagen der pro- und antitumoralen Prozesse und die beteiligten zellulären und nichtzellulären Strukturen wurde in den vorherigen Kapiteln eingegangen. Im Folgenden sollen daher die einzelnen therapeutischen Ansätze hinsichtlich ihrer Wirkungsweisen genauer betrachtet werden.

#### 3.1. Zytokintherapien



► **Abb. 7** Übersicht über pro- und antitumorale Einflüsse im Tumormilieu. Durch den Einfluss des Tumors wird ein protumorales Tumormilieu geschaffen und damit werden Zelltypen stimuliert, die ihrerseits die Tumorentwicklung begünstigen. Die verschiedenen Ansätze der Immuntherapien unterstützen die Bildung eines antitumoralen Milieus mit dem Ziel der Tumorelimination. Grün: vorwiegend antitumorale Wirkung; Rot: vorwiegend protumorale Wirkung; IL: Interleukin; IFN: Interferon; TNF: Tumornekrosefaktor; M1: M1-Phänotyp; M2: M2-Phänotyp; MDSC: Myeloide Suppressorzelle; Treg: regulatorische T-Zelle; NK: Natürliche Killerzelle; DC: Dendritische Zelle; CD: Cluster of Differentiation; HLA-DR: Humane Leukozytenantigen-DR; CAF: Krebs-assoziiertes Fibroblast; TGF: Transformierender Wachstumsfaktor.

Zytokine sind Proteine, welche die Aktivität, die Migration und die Differenzierung von Zellen regulieren. Im Tumormilieu ist die Zytokinsekretion ein wichtiger Kommunikationsweg zwischen Tumor- und Immunzellen. Die Bedeutung des Zytokinmilieus wird ersichtlich, wenn man sich vor Augen führt, dass bspw. die Differenzierung – und damit die Funktion – von CD4+ T-Zellen ganz wesentlich von Zytokinen gesteuert wird. Sie entscheiden darüber, ob eine TH1-Zelle mit antitumoraler Aktivität entsteht oder eine Treg Zelle mit immunsupprimierender Funktion [57]. Zur Gruppe der Zytokine gehören die Interleukine, die Chemokine, die Tumornekrosefaktoren (TNF), die Interferone und die koloniestimulierenden Faktoren (CSF, engl. Colony Stimulating Factor).

Interleukine sind Peptidhormone, die zu den Zytokinen gehören und Zellwachstum und -differenzierung beeinflussen und von allen Zellen des Immunsystems gebildet werden. Sie können sowohl stimulierend, als auch inhibierend auf Wachstum, Teilung und insbesondere Differenzierung anderer Immunzellen wirken. Aufgrund ihrer meist pleiotropen Wirkung beeinflussen Interleukine mehrere phänotypische Merkmale. Mittlerweile sind über 40 Interleukine mit unterschiedlichen physiologischen Funktionen bekannt, die ihrer Entdeckung entsprechend chronologisch beziffert werden. Interleukine wirken im Tumormilieu hauptsächlich parakrin.

Aufgrund ihrer Funktion bieten sich Interleukine als therapeutisches Mittel an, um auf die Kommunikation und die Steuerung des

Immunsystems Einfluss nehmen zu können. In den letzten Jahrzehnten sind daher verschiedene immuntherapeutische Ansätze auf der Basis von Interleukintherapien entwickelt worden [58]. Dazu gehören die Interleukine IL2, IL7, IL12, IL18 und IL21 [57]. Eines der wichtigsten bisher therapeutisch genutzten Interleukine ist IL2. Wie bereits erwähnt nimmt es eine zentrale Rolle bei der Aktivierung und Proliferation von T-Zellen ein. Es ist das erste Interleukin, welches im Menschen als Krebsmedikament angewendet wurde und klinische Erfolge erzielen konnte. Historisch gesehen wurde IL2 – der T-Zell Wachstumsfaktor – 1976 entdeckt [59] und 1994 als Medikament zur Behandlung von metastasierten Nierenzellkarzinomen sowie 1998 in den USA auch für das metastasierte maligne Melanom zugelassen. Die systemische Anwendung des IL2 gerade bei metastasierten Tumoren birgt aber den Nachteil beträchtlicher Nebenwirkungen. Unter Umständen kann IL2 zu einem sogenannten Vascular Leak Syndrom führen, bei dem die Durchlässigkeit der Gefäßwände aufgrund einer endothelzellvermittelten Hyperpermeabilität stark erhöht ist. Dadurch kommt es zu Paravasaten, die behandlungslimitierende Folgen haben können [60]. Für einen kleinen Teil (8%, 33 von 409) der behandelten Patienten konnte allerdings eine komplette, langanhaltende (mediane Beobachtungszeit > 7 Jahre) Remission von metastasierten Nierenkarzinomen (9,3%) und Melanomen (6,6%) erreicht werden [61]. Weitere Interleukine sind aktuell Gegenstand klinischer Studien [62].

Chemokine wirken auf andere Zellen chemotaktisch und werden

im Falle einer Entzündung oder eines anderen akuten Ereignisses vermehrt freigesetzt. Chemokine werden unter anderem mit einer erhöhten Angiogenese in Verbindung gebracht [63]. Interessanterweise ist die Chemokinrezeptorexpression in Tumor-infiltrierenden Lymphozyten herunterreguliert, was mit einer erhöhten Internalisierung der Rezeptoren aufgrund der starken Konzentration im Tumormilieu begründet wird [64]. In klinischen Studien wurden auch monoklonale Antikörper gegen Chemokinrezeptoren bei Patienten mit T-Zell Malignomen [65] untersucht. Zusätzlich behandelt eine aktuelle Studie die Chemokinmodulation in Patienten mit Kolonkarzinomen (NCT01545141).

Tumornekrosefaktoren (TNF $\alpha$  und TNF $\beta$ ) sind an der Proliferation, Differenzierung, Apoptose, Nekrose, Angiogenese und Aktivierung des Immunsystems beteiligt. TNF haben zusätzlich Einfluss auf den Fettstoffwechsel, die Insulinresistenz und die Endothelzellen, wirken systemisch über Fieber und können Kachexie (TNF $\alpha$  wurde früher als Kachexin bezeichnet) verursachen. In der Tumorthherapie wird TNF $\alpha$  beim Malignen Melanom und bei Sarkomen des Weichgewebes eingesetzt [66]. Im Tumor selbst induziert es eine Hyperpermeabilität der Gefäße mit darauffolgender hämorrhagischer Nekrose und Zerstörung der Gefäßstruktur [67]. Dennoch haben sich die initialen Hoffnungen, eine TNF $\alpha$ -basierte Tumorthherapie breit einsetzen zu können, bisher nicht bestätigt. Begründet wird dies z. T. mit der pleiotropen Charakteristik von TNF $\alpha$  und mit der vom zeitlichen Verlauf abhängenden, unterschiedlichen Wirkungsweise.

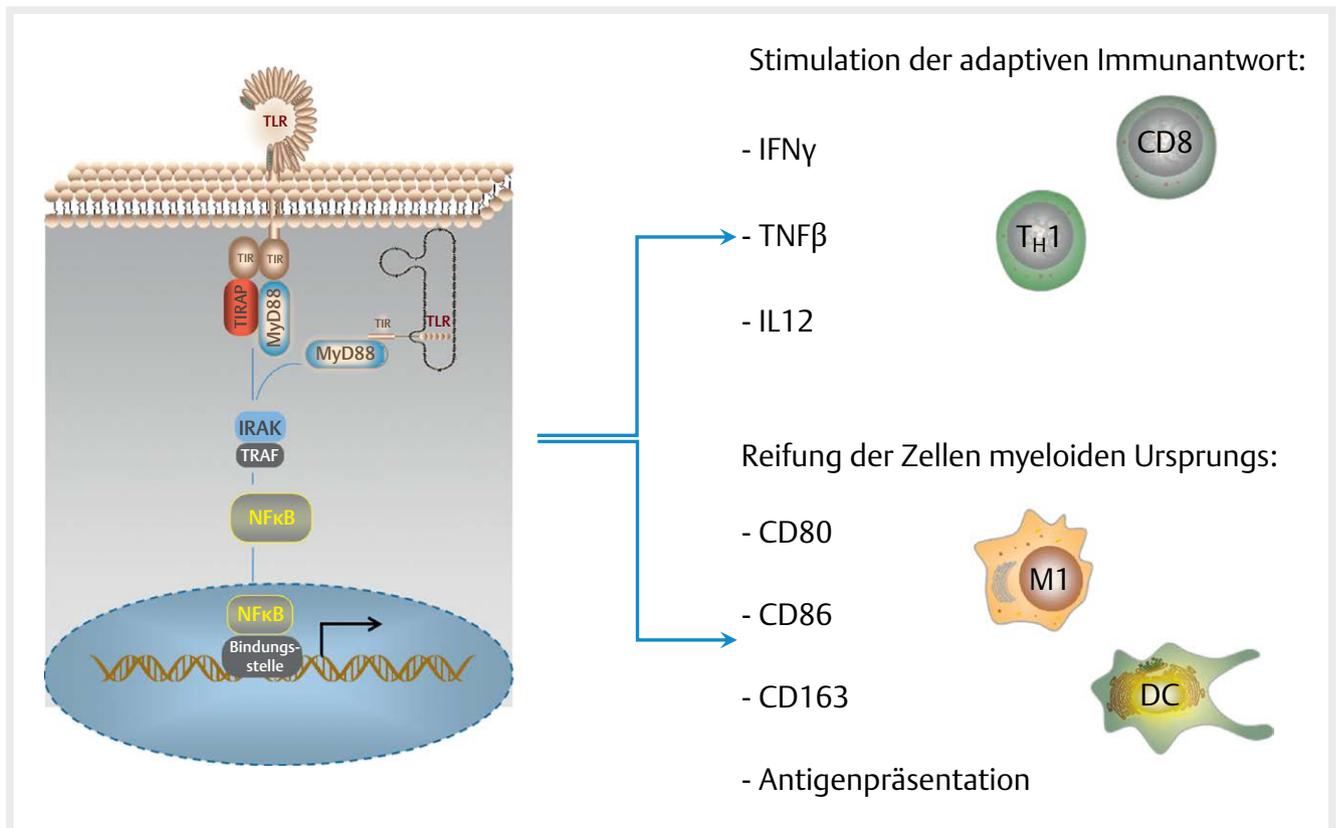
Interferone sind pleiotrope Zytokine, die sowohl von Stromazellen, als auch von Immunzellen gebildet werden und eine breite immunstimulierende Wirkung über die Aktivierung von Transkriptionsproteinen (Jak-STAT Signalweg) und eine erhöhte Expression von Komponenten der Antigenpräsentation (z. B. MHC-Moleküle) besitzen. Physiologisch erfolgt die Interferonbildung v. a. nach Aktivierung durch virale oder bakterielle Antigene. Im Menschen werden IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  (Typ I Interferone) und IFN $\gamma$  (Typ II Interferon) unterschieden. IFN $\alpha$  und IFN $\beta$  verstärken die MHC I-Expression, aktivieren Dendritische Zellen, T-Zellen und NK-Zellen [68] und inhibieren die Bildung immunsuppressiver Treg und MDSC [69, 70]. Zusätzlich besitzen sie eine Wirkung auf Tumorzellen und führen zu einer vermehrten Differenzierung und einer erhöhten Tumorantigenpräsentation [71]. IFN $\gamma$  aktiviert insbesondere CD8+ T-Zellen und verstärkt die MHC II-Expression sowie die Bildung des Makrophagen M1-Phänotyps [68]. Andererseits wurde in den letzten Jahren auch eine Interferon-abhängige immunsupprimierende Wirkung im Tumormilieu beobachtet. [72] Diese basiert auf einer vermehrten Expression eines Checkpoint-Rezeptor-Liganden (PDL1, engl. Programmed Death receptor Ligand 1) nach Interferonstimulation. Somit werden auch inhibierende Effekte vermehrt beobachtet [73]. Dabei kann die Dauer der Stimulation eine wichtige Rolle spielen und den Unterschied zwischen einer akuten Entzündungsreaktion mit tumorhemmenden Eigenschaften und einer chronischen Entzündungsreaktion mit tumorfördernden Eigenschaften ausmachen. Dies hat wesentliche Konsequenzen für den klinischen Einsatz. Die immunaktivierenden Eigenschaften der Interferone werden therapeutisch eingesetzt, um bspw. virale Hepatitiden (IFN $\alpha$ ) zu behandeln. Aber auch in der Tumorthherapie wird die Behandlung mit Interferonen gegen spezifische Tumorentitäten eingesetzt (z. B. spezielle Lymphome, Leukämien, Kaposi-Sarkome, Malignes Melanom). Zu beachten ist auch hier, dass eine Limitierung durch teils starke Nebenwirkungen

auftreten kann. Daher gibt es Bestrebungen, die Wirkung zu optimieren und gleichzeitig die Nebenwirkungen zu reduzieren [74]. Beim Malignen Melanom konnte ein grenzwertig signifikanter Einfluss auf das progressionsfreie Überleben nach erfolgter Resektion eines Stadium III Melanoms im Vergleich zur klinischen Beobachtung festgestellt werden [75]. Daher ist der Interferoneinsatz in der Tumorthherapie unter anderem von der Tumorentität, dem Nebenwirkungsspektrum und der ggf. damit verbundenen Patientencompliance abhängig und muss individuell in Absprache mit dem Patienten erfolgen.

Koloniestimulierende Faktoren sind Glykoproteine, die die Proliferation und Differenzierung von Zellen beeinflussen können, die dem hämatopoetischen System entstammen. Es werden mehrere CSF unterschieden: G-CSF (Granulozyten), M-CSF (Monozyten), GM-CSF (Granulozyten und Monozyten), Meg-CSF (Megakaryozyten) und der SCF (Stammzellfaktor). Außerdem werden einige Interleukine, z. B. IL2 sowie Erythropoetin, zu den CSF gezählt, da sie ebenfalls Proliferation und Differenzierung von Zellen des hämatopoetischen Systems beeinflussen. Die Bildung und Sekretion erfolgt im Knochenmark, im Stroma und in Immunzellen (B und T-Zellen, Makrophagen u.w.). In der Onkologie werden CSF als Adjuvantien eingesetzt, um nach Suppression eine Restitution der hämatopoetischen Zelllinien zu erreichen. Allerdings werden CSF auch in der aktiven Tumorbildung untersucht. So ist wie zuvor beschrieben die Anzahl an intratumoralen TAM mit einer schlechten Prognose assoziiert. Daher gibt es Bestrebungen, den Rezeptor von M-CSF zu blockieren, um das Überleben der Makrophagen zu verhindern und somit die Anzahl an TAM zu reduzieren. Phase I und II Studien zeigten bisher eine limitierte bis moderate Wirkung in der Monotherapie bei moderatem Nebenwirkungsprofil [76, 77]. Auch GM-CSF wird in der onkologischen Immuntherapie verwendet, da gezeigt werden konnte, dass eine Differenzierung der Dendritischen Zellen, eine Suppression der MDSC und eine Ausbildung des M1-Phänotyps induziert wird [78, 79].

### 3.2. Toll-like-Rezeptor Stimulation

„Pattern Recognition“ Rezeptoren (PRR) erkennen Moleküle, die mit Pathogenen wie bspw. Viren oder Bakterien assoziiert sind (PAMP, Pathogen-assoziierten molekularen Muster). Diese Rezeptoren initiieren eine Abwehrreaktion und gehören zu den epigenetisch ältesten Komponenten der Immunantwort. Die Toll-like-Rezeptoren (TLR), eine Hauptgruppe der PRR, sind daher auch innerhalb der verschiedenen Spezies weit verbreitet und wurden Mitte der 1990er Jahre erstmals bei *Drosophila melanogaster* entdeckt. Im Menschen sind seitdem 10 verschiedene TLR-Subtypen identifiziert worden. Die Aktivierung der TLR hat eine intrazelluläre Signalkaskade zur Folge (► **Abb. 8**), die im Wesentlichen eine Differenzierung von Zellen myeloiden Ursprungs bewirkt und deren Reifung und Proliferation stimuliert. Zusätzlich werden in der Folge auch Zellen der adaptiven Abwehr aktiviert. Die immunologisch aktivierende Wirkung einzelner TLR-Agonisten wurden in verschiedenen Krebsentitäten untersucht und führte zur Zulassung einzelner Immuntherapeutika dieser Wirkstoffklasse. Dazu gehören die TLR2/4-Agonisten Bacillus Calmette-Guérin (BCG, inaktiviertes Mykobakterium Bovis) bei Blasenkarzinomen, der TLR4-Agonist Picibanil bei Kopf-Hals-Karzinomen [80], oder der TLR7-Agonist Imiquimod bei Basalzellkarzinomen. Resiquimod, ein potenterer TLR7- und TLR8-Agonist ist aktuell als Nachfolger in der klinischen Entwicklung. Ein weiterer TLR8-Agonist, der zurzeit in der Klinik erforscht wird, ist Motolimod bei Kopf-



► **Abb. 8** Toll-like-Rezeptoren. Toll-like-Rezeptoren können sowohl auf der Zelloberfläche als auch intrazellulär gebunden werden. Ihre Aktivierung hat eine Signalkaskade zur Folge, die hauptsächlich über MyD88 und NF $\kappa$ B eine Produktion von IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  und IL12 initiiert. Zusätzlich wird eine Zelldifferenzierung stimuliert. NF $\kappa$ B: Transkriptionsfaktor; MyD88: Myeloides Differenzierungsprotein 88; TIR: Toll/IL-1 R Homologie Domäne; TIRAP: Adaptermolekül; IRAK: Interleukin-1 Rezeptor assoziierte Kinase; TRAF: TNF Rezeptor-assoziierter Faktor; IFN: Interferon; TNF: Tumornekrosefaktor.

Hals-Karzinomen und anderen soliden Tumoren (NCT01836029). Außerdem werden TLR-Agonisten mittlerweile aufgrund ihrer Förderung der Reifung und Ausdifferenzierung antigenpräsentierender Zellen häufig mit Vakzinierungen zur Unterstützung der Antigenpräsentation kombiniert [81].

### 3.3. Onkolytische Viren

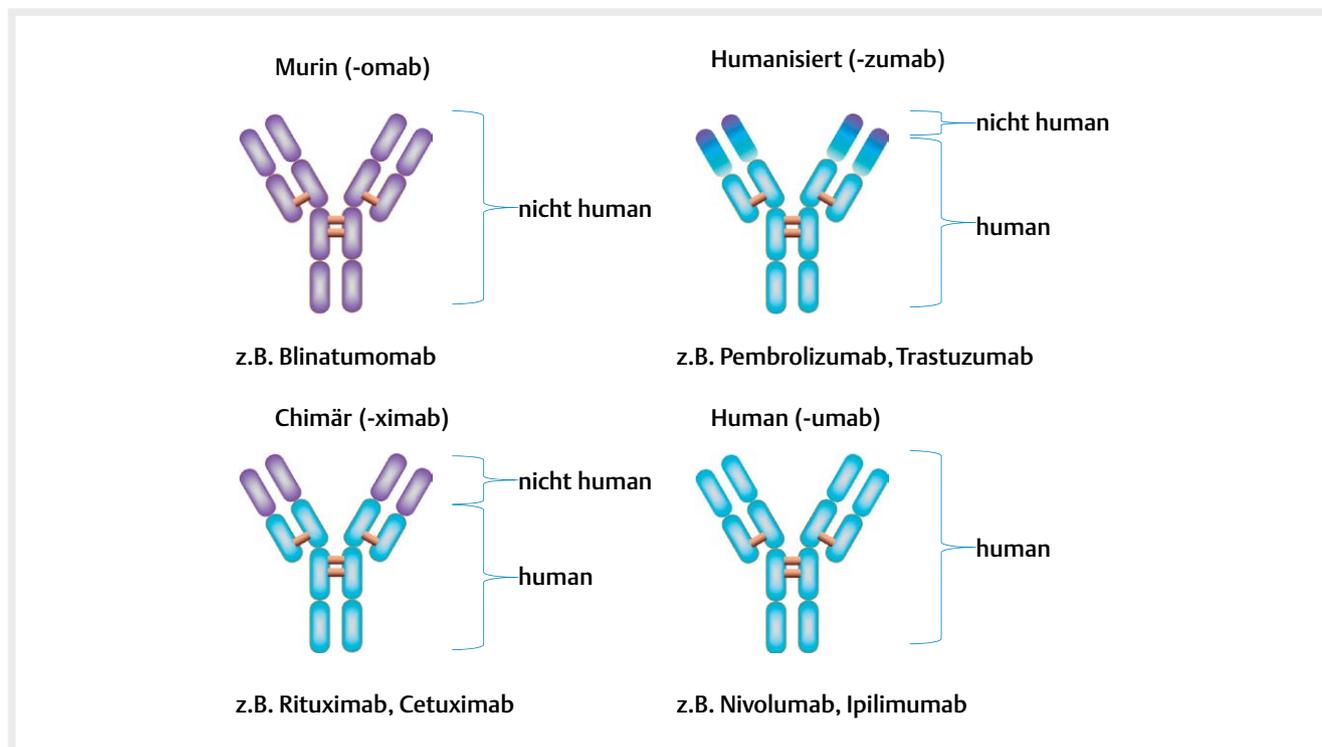
Onkolytische Viren können Tumorzellen direkt oder indirekt zerstören. Im engeren Sinne infizieren onkolytische Viren die Tumorzelle und lysieren diese. Es gibt aber weitere Möglichkeiten, mittels Virus-basierter Methoden die Tumorzellen anzugreifen. Dazu gehören das Einschleusen von Tumorsuppressorgenen und Toxinen in die Tumorzelle oder die Generation einer Immunantwort mit darauffolgender Tumorzellzerstörung. Es werden daher onkolytische Viren verwendet, die sowohl direkt einen Tumorzelltod verursachen können, als auch die systemische Immunantwort stimulieren können [82]. Studien, die den Einsatz der onkolytischen Viren analysieren, werden bereits in größeren Phase II- und III-Studien durchgeführt. In einer Phase III-Studie bei Patienten mit fortgeschrittenem Malignen Melanom konnte mit einer Herpes simplex-basierten viralen Therapie (talimogene laherparepvec, T-VEC) eine Verbesserung der Ansprechraten beobachtet werden [83]. Außerdem werden zur Zeit Studien im Bereich des Hepatozellulären Karzinoms (Phase II, pexastimogene devacirepvec, Posavec, NCT01387555) und des Kopf-Hals-Karzinoms (Phase III, pelareorep, Reolysin in Kombination mit Che-

motherapie, NCT01166542) durchgeführt [84].

### 3.4. Monoklonale Antikörper

1975 entwickelten Kohler und Milstein eine Technologie, mit der es möglich ist, nahezu unbegrenzte Mengen eines einzelnen, spezifischen Antikörpers herzustellen [85]. Durch die Verschmelzung einer Antikörper-produzierenden B-Zelle mit einer unsterblichen „Myelom-Zelle“ entsteht ein „Hybridom“, das einen Antikörper einer Ursprungs-B-Zelle produziert; man spricht von einem monoklonalen Antikörper. 1984 erhielten Kohler und Milstein für diese Arbeiten zusammen mit Niels Jerne den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin. Dies würdigte insbesondere die Anwendungsmöglichkeiten, hochspezifische Antikörper in theoretisch unbegrenzten Mengen herstellen zu können. Für die Anwendung von Antikörpern in Forschung und Klinik war dies der Durchbruch, denn es standen nun Antikörper in ausreichender Menge zur Verfügung, um etwa auf molekularer Ebene gezielt in zelluläre Signalwege einzugreifen.

Für einen therapeutischen Einsatz waren monoklonale Antikörper anfangs nur beschränkt geeignet. Da sie in der Regel aus Mäusen stammten, waren sie für den Menschen ‚fremd‘ und induzierten eine Immunantwort, die sogenannte HAMA-Reaktion (human antibodies against mouse antibodies). Mittlerweile lassen sich Antikörper herstellen, die teilweise oder vollständig humanen Ursprungs sind. Die Terminologie der therapeutischen Antikörper gibt Auskunft über Ur-



► **Abb. 9** Aufbau der monoklonalen Antikörper. Monoklonale Antikörper werden abhängig von ihrer Zusammensetzung und dem daraus resultierenden humanen Anteil unterschieden.

sprung und Zusammensetzung: Die Endung -omab steht für Antikörper murinen Ursprungs, -imab für Antikörper mit Ursprung von Primatenspezies, -ximab für chimäre Antikörper (variabler Antikörperteil murin, Rest human), -zumab für humanisierte Antikörper (Antigenbindungsstelle murin, Rest human) und -umab für vollständig humane Antikörper (► **Abb. 9**).

Die therapeutische Spannbreite, in der mAb mittlerweile eingesetzt werden, ist groß. Sie reicht von Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis über hämatologische Erkrankungen wie der Hämophilie hin zu onkologischen Erkrankungen wie dem Malignen Melanom, dem Bronchialkarzinom oder auch den Kopf-Hals-Karzinomen [86]. Die Onkologie stellt dabei ein Hauptgebiet in der Entwicklung, Erforschung und Anwendung monoklonaler Antikörper dar, die meist gegen Tumorantigene oder Checkpoint-Rezeptoren gerichtet sind.

### 3.4.1. mAb gegen Tumorantigene

Tumorantigene sind Proteinstrukturen, die von Tumorzellen produziert werden und eine Immunantwort auslösen können. Man kennt tumorspezifische Antigene (TSA, engl. Tumor-Specific Antigens) und tumorassoziierte Antigene (TAA, engl. Tumor-Associated Antigens). TSA werden ausschließlich von Tumoren produziert und entstehen bspw. durch Mutationen in einem Protein-kodierenden Gen. TAA dagegen kommen auch auf gesunden Zellen vor, werden aber auf Tumorzellen deutlich höher exprimiert. Beispiele hierfür sind die TAA der ErbB-Familie, eine Rezeptorfamilie von vier Tyrosinkinase-Rezeptoren. Zwei Familienmitglieder, ErbB-1 (EGFR) und ErbB-2 (Her2), sind in der Onkologie von besonderer Bedeutung. EGFR wird auf den meisten Kopf-Hals-Karzinomen, Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC, engl. Non Small

Cell Lung Cancer) und kolorektalen Karzinomen überexprimiert, Her2 in Mamma- und Ovarialkarzinomen [87]. Antikörper gegen EGFR und Her2 werden seit Jahren in der Klinik angewendet (Cetuximab, Trastuzumab, ► **Tab. 1**) [88]. Leider liegen die Ansprechraten auf diese Therapien deutlich unter den Expressionsraten, weshalb neue Entwicklungen auf Kombinationstherapien fokussieren, um Resistenzen der Tumorzellen effektiver umgehen zu können.

### 3.4.2. mAb gegen Checkpoint-Moleküle

Eine neue Möglichkeit, spezifisch in die Signalwege des Immunsystems eingreifen zu können, ergibt sich mit der Einführung der mAb, die Checkpoint-Moleküle stimulieren oder blockieren können. Checkpoint-Moleküle sind überwiegend Rezeptoren auf Zellen des Immunsystems, vorwiegend T-Lymphozyten, die eine stimulierende bzw. eine inhibierende Wirkung ausüben.

Aus der Gruppe der Checkpoint-Moleküle sind die Moleküle CTLA4 und PD1 besonders hervorzuheben, da mit therapeutischen Antikörpern, die gegen diese Moleküle gerichtet sind, in den letzten Jahren teils signifikante therapeutische Erfolge in unterschiedlichen Tumorentitäten erreicht werden konnten (► **Tab. 2**). PD1 ist ein Rezeptor für die Liganden PDL1 und PDL2. Insbesondere die Bindung von PDL1 führt zur T-Zell-Anergie (► **Abb. 10**), d. h. die IFN $\gamma$ -Sekretion und die Proliferation von T-Zellen werden supprimiert. Im Tumormilieu wird dadurch eine Expansion aktivierter, Tumor-reaktiver T-Lymphozyten verhindert [8]. Interessanterweise ist PD1 auch stark auf Treg exprimiert, führt bei diesen jedoch zu einer Steigerung der Funktionalität [89]. Eine PD1-Blockade mit dem mAb Nivolumab wurde erstmals 2010 erfolgreich in einer klinischen Phase I-Studie

► **Tab. 1** Tumorantigen-mAb.

Tumorantigen	mAb	Indikation
CA-125	Oregovomab	Ovarialkarzinom
CD19	Blinatumomab	Akute Lymphatische Leukämie (ALL)
CD20	Ofatumumab	Chronisch Lymphatische Leukämie (CLL)
CD20	Obinutuzumab	CLL, Non Hodgkin Lymphome (NHL)
CD20	Rituximab	NHL
CD20	Ibritumomab	NHL
CD20	Tositumomab	NHL
CD22	Inotuzumab	AML
CD22	Epratuzumab	NHL, ALL
CD33	Gemtuzumab	AML
CD38	Daratumomab	Multipl. Myelom
CD4	Zanolimumab	T Zell-Lymphome
CD52	Alemtuzumab	ALL, CLL, T Zell-Lymphome
DLL3 (delta-like protein 3)	Rovalpituzumab	Kleinzelliges Bronchialkarzinom (SCLC)
EGFR	Necitumumab	Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC), Magenkarzinom
EGFR	Cetuximab	Kopf-Hals-Karzinome, Kolonkarzinome
EGFR	Panitumumab	Solide EGFR+ Tumoren
EpCAM-Antigen	Catumaxomab	maligner Aszites
HER2/neu-Rezeptor	Trastuzumab	Mammakarzinom, Magenkarzinom
HER2/neu, HER2/neu-Rezeptor	Pertuzumab	Ovarialkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom, Prostatakarzinom

angewendet [90]. Seitdem konnten langanhaltende Erfolge erzielt werden mit vereinzelt kompletter, über 3 Jahre anhaltender Regression von Patienten mit Malignem Melanom, Nierenzellkarzinom oder Kolorektalkarzinom [91].

CTLA4 wird auf T-Zellen exprimiert und induziert eine Immunsuppression über 2 wesentliche Mechanismen: Einerseits agiert es aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zum ko-stimulatorischen Molekül CD28 als kompetitiver Bindungspartner für die Oberflächenmoleküle CD80 und CD86 auf antigenpräsentierenden Zellen und verhindert so die Aktivierung von T-Zellen (► **Abb. 11**). Zum anderen inhibiert die Bindung von CTLA4 die T-Zellen direkt, unter anderem durch Inaktivierung der T-Zell-Rezeptoren. Anti CTLA4-mAb waren die ersten Immuncheckpoint-mAb, die klinisch getestet wurden [92] und signifikante, langanhaltende Therapieerfolge erzielten [2].

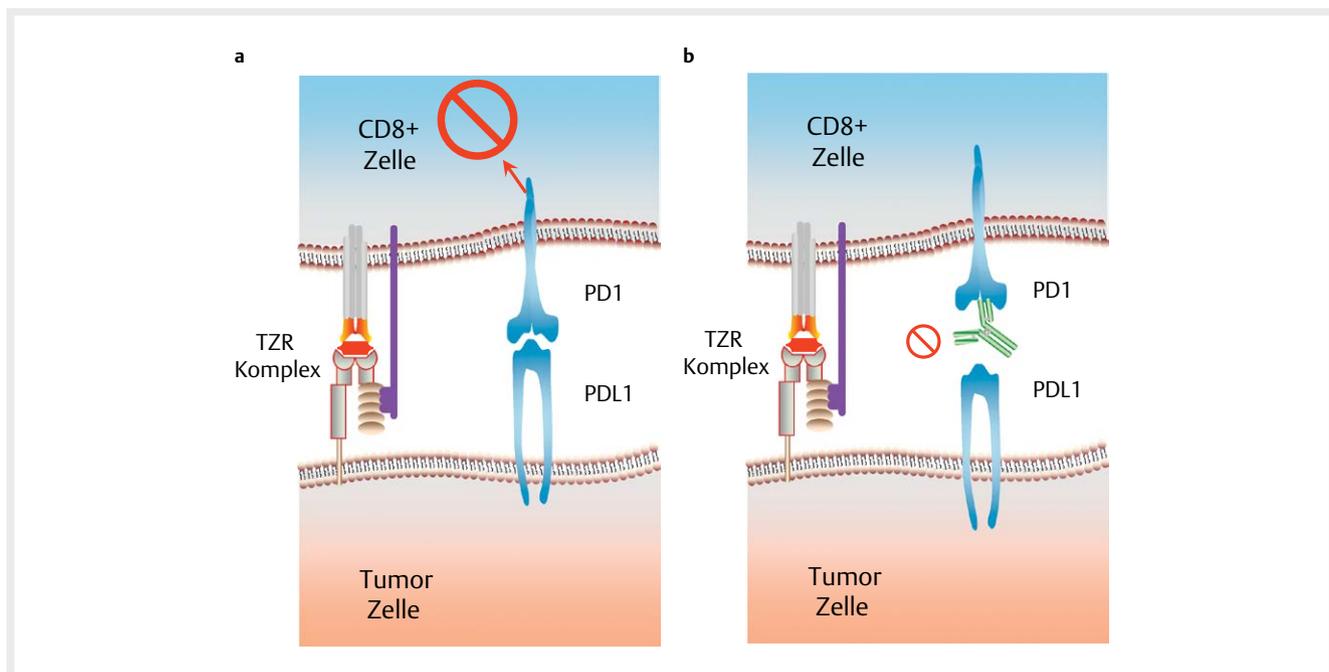
**3.4.2.1. Immunstimulierende Checkpoint-Moleküle** Zu den immunstimulierenden Checkpoint-Molekülen zählen CD27, CD28, CD40, CD122, CD134 (OX40), CD137, CD278 (ICOS) und GITR (engl. Glucocorticoid-Induced TNFR family Related Gen) (► **Tab. 3**) [93]. CD27 ist wichtig für die Induktion von Gedächtnis T-Zellen und unterstützt die T-Zell Expansion. CD28 ist ein wesentlicher ko-stimulierender T-Zell-Rezeptor, der für die Aktivierung von CD4+ T-Zellen benötigt wird und mit CD80 und CD86 von antigenpräsentierenden Zellen bindet. CD40 wiederum ist auf antigenpräsentierenden Zellen exprimiert und wird durch seinen Liganden, CD40L, der auf CD4+ T-Zellen exprimiert wird, aktiviert. CD122 wird auf CD8+ T-Zellen exprimiert und unterstützt deren Proliferation. CD134 (OX40) wird auf CD4+ und CD8+ T-Zellen exprimiert und wirkt gleichfalls proliferationsfördernd. Zusätzlich verhindert eine Stimulation mittels

OX40 die Ausbildung von Treg Zellen. CD137 wird auf CD8+ T-Zellen exprimiert, stimuliert die Proliferation und verhindert die aktivierungsabhängige Induktion einer Apoptose. CD278 (ICOS, engl. Inducible T cell COStimulator) ist auf aktivierten T-Zellen exprimiert und interagiert mit antigenpräsentierenden Zellen und B-Zellen. GITR stimuliert die Expansion von T-Zellen und wird ebenfalls von antigenpräsentierenden Zellen stimuliert. Für viele der stimulierenden Checkpoint-Rezeptoren werden aktuell klinische Studien durchgeführt, um über medikamentöse Liganden eine verstärkte, anhaltende Immunantwort generieren zu können.

**3.4.2.2. Inhibierende Checkpoint-Moleküle** Zu den inhibierenden Checkpoint-Molekülen die bisher identifiziert werden konnten, gehören die Rezeptoren A2AR (Adenosin A2A Rezeptor), B7-H3, B7-H4, BTLA (engl. B and T Lymphocyte Attenuator), CTLA4, KIR, LAG3, PD1, TIM3 (engl. T-cell Immunoglobulin and Mucin domain 3) und VISTA (engl. V-domain Ig Suppressor of T cell Activation) (► **Tab. 4**). A2AR vermittelt über die Adenosinbindung im Tumormilieu eine supprimierende Aktivität auf Zellen des Immunsystems [94]. B7-H3 und B7-H4 werden auf Tumorzellen exprimiert, inhibieren T-Zellen und fördern die Tumormigration [95]. BTLA wird auf T-Zellen exprimiert und führt nach Bindung zu einer Inhibition der T-Zell Aktivität [96]. KIR werden insbesondere auf NK-Zellen exprimiert und können inhibierend auf die NK-Zellfunktion wirken [97]. LAG3 wirkt insbesondere über die MHC II-Bindung immunsuppressiv auf CD4+ T-Zellen und ist ein wichtiges Molekül in der supprimierenden Funktion von Treg Zellen [98]. TIM3 wiederum ist für die Aktivierung von Makrophagen verantwortlich, gleichzeitig kann eine Apoptose von T<sub>H</sub>1-

► **Tab. 2** Checkpoint-Rezeptoren-mAb.

Checkpoint-Rezeptoren	mAb	Indikation
CTLA4	Tremelimumab	Bronchialkarzinom, Mesotheliom
CTLA4	Ipilimumab	Malignes Melanom
PD1	Nivolumab	Malignes Melanom Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)
PD1	Pembrolizumab	Malignes Melanom, Mesotheliom, NSCLC
PDL1	Atezolizumab	Blasenkarzinom
PDL1	Avelumab	Blasenkarzinom, NSCLC, Merkelzellkarzinom
PDL1	Durvalumab	Bronchialkarzinom



► **Abb. 10** Wirkung der Checkpoint-Moleküle und der Checkpoint-Blockade. **a** Die CD8+ T-Zelle wird über die Bindung des PD1-Rezeptors durch das von den Tumorzellen exprimierte PDL1 inhibiert. Die Bindung des Rezeptors führt zur T-Zell-Anergie durch Hemmung der Proliferation und der T-Zell-Funktion. **b** Durch die Checkpoint-Blockade wird die inhibierende Wirkung aufgehoben. TZR: T-Zell-Rezeptor-Komplex; PD1: Programmed Death-Rezeptor 1; PDL1: PD1 Ligand.

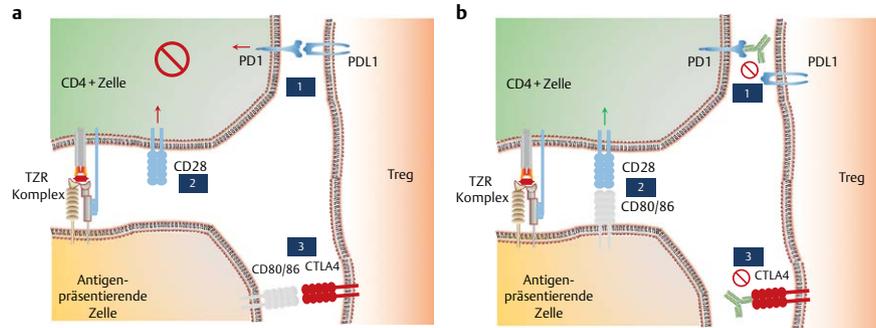
Zellen durch die Bindung von Galectin-9 induziert werden [99]. VISTA wurde als weiterer immunregulatorischer Checkpoint in therapierefraktären Melanompatienten identifiziert [100].

Andere mAb sind gegen Zytokine oder Wachstumsfaktoren gerichtet (► **Tab. 5**). Für viele der vorgestellten Moleküle sind die intra- und extrazellulären Signalwege noch nicht vollständig entschlüsselt – mit entsprechend unentdeckten Wirkmechanismen. Eine strikte Einteilung sollte daher mit Vorsicht erfolgen, da viele Signalwege in der Immunologie sowohl stimulierende als auch inhibierende Effekte induzieren können. Dies kann nicht nur zu teils widersprüchlich erscheinenden präklinischen Resultaten führen, sondern auch ein unterschiedliches Therapieansprechen bewirken. Umso wichtiger ist es daher, bereits in präklinischen Studien die Wirkweise der Signalwege genau zu analysieren und kritisch in vitro-Ergebnisse mit validen in vivo-Modellen zu überprüfen.

### 3.5. Vakzinierung

In der Onkologie müssen 2 Vakzinierungsstrategien unterschieden werden: Zum einen kann eine präventive Vakzinierung vor der Entstehung von Krebs angewendet werden. Dies ist in Zusammenhang mit Impfungen gegen onkogene Viren möglich und kann daher einen protektiven Effekt gegen viral assoziierte Karzinome bewirken. Zum anderen gibt es Bestrebungen, in anderen, i. e. nicht ausschließlich viral bedingten Tumoren, eine therapeutische Vakzinierung zu etablieren.

Präventive Impfungen zur Vermeidung von Infektionen mit onkogenen Viren haben sich als hocheffizient in der Vermeidung von virus-assoziierten Karzinomen gezeigt. Durch die Entwicklung von Vakzinierungen gegen die Hochrisiko-Virusstypen der onkogenen humanen Papillomaviren (HPV) 16 und 18 konnte eine Protektion vor HPV-Infektionen erreicht werden [101]. Für die Arbeiten, die zur Entdeckung des Zusammenhangs zwischen HPV-Infektionen und



► **Abb. 11** Wirkung der Checkpoint-Moleküle und der Checkpoint-Blockade. **a** Die CD4+ T-Zelle wird auf mehreren Ebenen inhibiert: Die Bindung des PD1 Rezeptors durch PDL1 führt zur T-Zell-Anergie (1). Das fehlende ko-stimulatorische Signal durch die Antigen-präsentierende Zelle bewirkt ebenso eine Inhibition (2). Das von der Treg exprimierte CTLA4 bindet den ko-stimulatorischen Liganden der Antigen-präsentierenden Zelle kompetitiv (3) und verhindert so das ko-stimulatorische Signal. **b** Durch die Checkpoint-Blockade wird die inhibierende Wirkung bei (1) aufgehoben. Ebenso steht der ko-stimulatorische Ligand (CD80/86) wieder für das ko-stimulatorische Signal zur Verfügung (2), da der kompetitive Bindungspartner CTLA4 ebenso durch einen Antikörper blockiert ist (3). TZR: T-Zell-Rezeptor-Komplex; PD1: Programmed Death-Rezeptor 1; PDL1: PD1 Ligand; CTLA4: Zytotoxische T-Lymphozyten-assoziiertes Protein; CD28: Ko-stimulatorischer Rezeptor; CD80/86 Ko-stimulatorischer Ligand.

► **Tab. 3** Immunstimulierende Checkpoint-Moleküle.

Molekül	Exprimiert auf	Wirkung
CD27	(Gedächtnis-)T-Zellen	T-Zell-Expansion
CD28	CD4+ /CD8+ T-Zellen	Essentielles Signal für T-Zell-Aktivierung
CD40	APC	Bindet mit CD40L auf T-Zellen, stimuliert Aktivität
CD122	CD8+	Proliferation
CD134 (OX40)	CD4+ /CD8+ T-Zellen	Proliferation
CD137(4-1BB)	CD8+	Schutz vor Apoptose, Proliferation
CD278 (ICOS)	CD4+ /CD8+ T-Zellen	Interaktion mit APC und B-Zellen
GITR	CD4+ /CD8+ T-Zellen	Proliferation

► **Tab. 4** Immuinhibierende Checkpoint-Moleküle.

Molekül	Exprimiert auf	Wirkung
A2AR	T-Zellen	T-Zell-Inhibition, TGFβ Induktion
B7-H3	Tumorzellen	T-Zell-Inhibition, Tumormigration
B7-H4	Tumorzellen	T-Zell-Inhibition, Tumormigration
BTLA	T-Zellen	T-Zell-Inhibition
CTLA4	Treg, CD4+ /CD8+ T-Zellen	T-Zell-Inhibition, APC Inhibition
KIR	NK-Zellen	NK-Zell-Inhibition
LAG3	Treg, CD4+ /CD8+ T-Zellen	T-Zell-Inhibition
PD1	Treg, CD4+ /CD8+ T-Zellen	T-Zell-Anergie von CD4+ /CD8+ T-Zellen
TIM3	CD4+ /CD8+ T-Zellen	T-Zell-Apoptose
VISTA	MDSC, Treg	T-Zell-Inhibition

dem Zervixkarzinom geführt hatten, erhielt Harald zur Hausen 2008 den Nobelpreis für Medizin oder Physiologie [102]. Daher besteht mittlerweile eine Impfpflicht für die Hochrisiko-Virussubtypen für junge Frauen, möglichst vor dem ersten Geschlechtsverkehr. Mittlerweile ist bekannt, dass onkogene HPV-Infektionen in der westlichen Zivilisation nicht nur für fast alle Zervixkarzinome, sondern auch für über 90% der Analkarzinome, 70% der Oropharynxkarzinome, 70% der Vaginalkarzinome, 40% der Vulvakarzinome und 50% der Peniskarzinome verantwortlich sind [101]. Aufgrund der hohen Inzidenz von HPV16-positiven Oropharynxkarzinomen wird untersucht, ob eine Vakzinierung einen protektiven Effekt im Hinblick auf die Inzidenz von Kopf-Hals-Karzinomen bewirken kann [103]. Daher wird auch eine Impfpflicht für Jungen und junge Männer diskutiert [104]. Der Einfluss der in den letzten Jahren begonnenen Impfungen für Mädchen und junge Frauen auf diese epidemiologischen Zahlen wird in den kommenden Jahren besser zu analysieren sein.

Im Gegensatz zu präventiven Impfungen, die gegen onkogene virale Strukturen immunisieren, sind auch therapeutische Impfungen gegen Tumorzellantigene in der Entwicklung. Anders als in der Therapie mit mAb soll hier jedoch das Immunsystem selbst gegen die Tumorzellantigene aktiviert werden, um so spezifische T-Zellen, Antikörper und andere Komponenten insbesondere der adaptiven Immunantwort gegen die Tumorzellen zu mobilisieren. Diese Aktivierung basiert auf dem Zusammenspiel zwischen Dendritischen Zellen und T-Zellen. Hierzu existieren verschiedene Techniken, wie Dendritische Zellen mit den Tumorzellantigenen konfrontiert werden: Entweder werden die DC mit Tumorlysaten, Proteinen oder Peptiden beladen oder mit DNA oder RNA transfiziert [105].

Aktive onkologisch wirksame Vakzinierungen sind in der Klinik bisher noch nicht breit etabliert. Gerade bei in situ-Karzinomen

► **Tab. 5** Sonstige onkotherapeutisch eingesetzte mAb.

Zielstruktur	mAb	Indikation
CCR4	Mogamulizumab	Adulte T-Zell-Leukämie, NHL
HLA-DR	Apolizumab	Akute lymphatische Leukämie (ALL), Chronisch lymphatische Leukämie (CLL), Non Hodgkin Lymphome (NHL), solide Tumoren
IgG1 auf PDGF Rezeptor- $\alpha$ (platelet-derived growth factor receptor $\alpha$ )	Olaratumab	Sarkom
IL6-Rezeptor	Tocilizumab	Zytokinsturm nach CART-Zelltherapie
IL6	Siltuximab	Multipl. Myelom
RANK Ligand (Rezeptoraktivator des NF- $\kappa$ B Liganden, RANKL)	Denosumab	Knochenmetastasen
Signaling Lymphocyte Activation Molecule (SLAMF7)	Elotuzumab	Multipl. Myelom
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	Bevacizumab	Kolonkarzinom, Mammakarzinom, Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)
VEGF Rezeptor	Ramucirumab	Bronchialkarzinom, Magenkarzinom

konnten jedoch in klinischen Studien substantielle Erfolge erzielt werden. Bei intraepithelialen Neoplasien, z. B. bei der vulvären intraepithelialen Neoplasie (VIN), führten Impfungen gegen HPV16 Onkoproteine zu einem Regress der Läsionen, wobei das Therapieansprechen unmittelbar mit der durch die Impfung induzierten T-Zellantwort korrelierte [106–108]. Ähnliche Ergebnisse zeigten Czerniecki und Kollegen beim Duktalen Karzinom in situ (DCIS) mit einer gegen Her2/neu gerichteten Impfung [109]. Morse und Kollegen belegten ein signifikant erhöhtes Gesamtüberleben bei Patienten mit resezierten Kolonkarzinom-Metastasen nach einer Impfung gegen die Tumorantigene CEA und MUC1 [110]. In einer Phase I-Studie mit einer Vakzinierung gegen das Tumorantigen p53 konnte bei Kopf-Hals-Karzinompatienten eine 2-Jahresüberlebensrate von 88 % beobachtet werden [111].

Eine Schwierigkeit, die auch die Effektivität der Vakzinierungen beeinflussen kann, stellt dabei das immunsuppressive Tumormilieu dar. Durch die Ausbildung von Treg, TAM und MDSC werden immunsupprimierende Signalwege gefördert, die eine Expansion Tumorantigen-spezifischer T-Zellen erschweren. Um dies zu vermeiden, beschreiben Mould und Kollegen bspw. eine therapeutische Effizienzsteigerung durch multiple Impflokalisationen [112]. Andere Strategien zielen auf die Kombination mit anderen Immunstimulation ab, bspw. mit Toll-like-Rezeptor Agonisten [113].

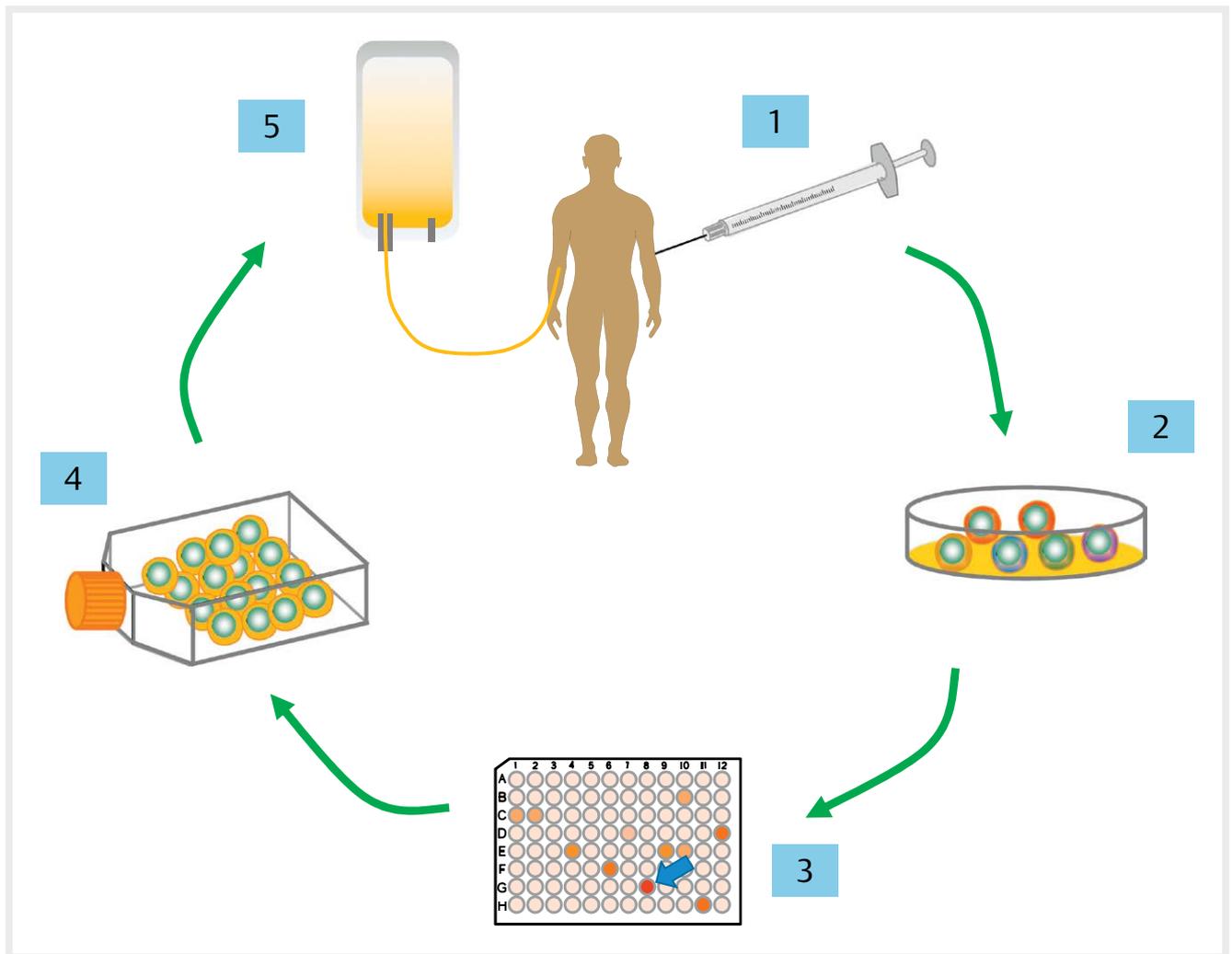
### 3.6. Adoptiver Zelltransfer

Beim adoptiven Zelltransfer werden Lymphozyten (meist T-Zellen, aber auch Dendritische Zellen, NK-Zellen u. a.) aus dem peripheren Blut der Patienten isoliert. Anschließend können Tumorantigen-spezifische (T) Zellen hergestellt bzw. expandiert werden, die dann dem Patienten wieder verabreicht werden [114, 115] (► **Abb. 12**). Ein Vorteil des adoptiven Zelltransfers besteht darin, die Lymphozyten außerhalb des immunsuppressiven Tumormilieus beeinflussen und expandieren zu können [115].

Erste klinische Studien zum adoptiven T-Zelltransfer wurden bereits in den 90er Jahren durchgeführt [61]. Hier konnte in ca. 30 % der behandelten Melanompatienten ein Therapieansprechen erzielt

werden. Mittlerweile werden in speziellen Tumorentitäten Remissionsraten von bis zu 90 % der behandelten Patienten berichtet, so z. B. bei Patienten mit akuten CD19+ Leukämien [116]. Einen Beitrag dazu leistet die „Präkonditionierung“, bei der Patienten mit einer Lymphodepletionstherapie vorbehandelt werden [117]. Dadurch werden (auch) suppressive Immunzellen wie regulatorische T-Zellen oder MDSC reduziert, die die Effektivität der re-infundierten antigenspezifischen T-Zellen inhibieren würden. Für eine erfolgreiche Antigen-spezifische Expansion der Zellen werden Antigenpräsentierende Zellen benötigt. Zu den APC, die beim adoptiven Zelltransfer für die Antigenpräsentation verwendet werden, gehören natürliche Dendritische Zellen, künstliche Zellen oder mit Antigenen beladene „Beads“. T-Zellen können aus dem peripheren Blut oder aus dem Tumor gewonnen werden. Ex vivo erfolgt dann mit verschiedenen Methoden eine Expansion der Tumorantigen-spezifischen Zellen auf eine Zellzahl von über  $10^9$ – $10^{11}$  T-Zellen [118]. Eine Selektion der Tumorantigen-spezifischen T-Zellen erfolgt nach Isolation einzelner T-Zelllinien, die anschließend auf die Reaktivität gegen verschiedene Tumorantigene getestet werden. So werden die T-Zelllinien expandiert, die die stärkste Reaktivität auf die dargebotenen Tumorantigene aufweisen. Moderne Methoden bedienen sich einer gentechnisch bestimmten Antigen-Spezifität der T-Zellen und können so noch präziser und variabler auf spezifische Tumorantigene angepasst werden. Neben dem Vorteil extrakorporal Antigen-spezifische T-Zellen selektiv auszuwählen und in großer Anzahl zu expandieren, besteht diese Expansion außerdem nicht unter dem Einfluss des immunsuppressiven Tumormilieus. Die T-Zellen können daher in einem funktionellen Zustand expandiert werden. Dabei muss eine qualitativ hochwertige Expansion der T-Zellen gewährleistet werden, um die Tumorantigen-Spezifität der T-Zellen zu erhalten. So ist nicht nur der Differenzierungsstatus der T-Zellen wichtig, sondern auch die zellulären metabolischen Prozesse [119]. Um die re-infundierten, expandierten T-Zellen zu stimulieren, werden Zytokine verwendet [120].

Wenn statt eines Tumorantigen-spezifischen T-Zell-Rezeptors ein chimärer Antigenrezeptor (CAR) verwendet wird, spricht man von CAR-T-Zelltransfer. Die chimären Antigenrezeptoren bestehen dabei



► **Abb. 12** Adoptiver Zelltransfer. (1) Lymphozyten werden dem Patienten entnommen, entweder aus dem peripheren Blut, oder aus dem Tumor selbst. (2) Anschließend werden die Lymphozyten isoliert und gegebenenfalls modifiziert. (3) Dann erfolgt die Selektion der Lymphozyten mit der höchsten Spezifität. (4) Die selektierten Lymphozyten werden vermehrt und anschließend reinfundiert (5).

aus einer antigenbindenden Komponente – bspw. einem Antikörper – sowie einer weiteren, T-Zell-aktivierenden, ko-stimulierenden Komponente, um die Effektivität der T-Zellantwort zu erhöhen [121]. Diese ko-stimulierende Komponente wirkt sich auf die Zytokinsekretion aus und kann die Proliferation der T-Zellen stimulieren. In CAR-T-Zellen der dritten Generation sind 2 oder mehr immunstimulierende Domänen in den Rezeptor integriert. Zu den verwendeten ko-stimulatorischen Molekülen gehören CD28, OX-40 (CD134) oder 4-1BB (CD137). Besondere Effektivität dieser therapeutischen Methoden konnte bisher bei hämato-onkologischen Erkrankungen demonstriert werden. Gerade in B-Zell Malignomen zeigten sich eine gute Ansprechrate und klinische Effektivität (NCT02435849, [116, 122]). In soliden Tumoren stehen überzeugende Resultate in diesen Dimensionen noch aus. Dies wird v. a. der Tatsache zugeschrieben, dass die Identifikation der spezifischen Tumorantigene erschwert ist. Bisher wurden Studien zu CAR-T-Zelltherapien insbesondere für Her2+ Tumoren, EGFR+ Tumoren, CEA+ (Karcinoembryonales Antigen, engl. CarcinoEmbryonic Antigen) Tumoren und Mesothelin+ Tumoren durchgeführt [123–126].

## 4. Chancen/ Risiken

Eine wesentliche Aufgabe ärztlicher Tätigkeit ist es, den potentiellen Nutzen und das Risiko einer therapeutischen Maßnahme gegeneinander abzuwägen. Dies gilt insbesondere auf onkologischem Gebiet, da hier therapeutische Maßnahmen die Lebensqualität der Patienten stark einschränken können. Daher ist es wichtig, auch die Nebenwirkungen und möglichen Risiken der verschiedenen immuntherapeutischen Verfahren zu berücksichtigen.

Da das immuntherapeutische Prinzip darauf basiert, das Immunsystem zu stimulieren und blockierende Auswirkungen des Tumormilieus aufzuheben, werden viele Nebenwirkungen durch überschießende, autoimmune Prozesse hervorgerufen. Üblicherweise hängt dabei das Nebenwirkungsprofil stark von der Breite des immuntherapeutischen Ansatzes ab. Je pluripotenter die beeinflussten Signalwege, desto größer das Risiko möglicher Nebenwirkungen.

Dies gilt insbesondere für Zytokin-basierte Immuntherapien. So kann IL2 Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, gastrointestinale Beschwerden, ein schweres Krankheitsgefühl, erhöhte Kapillar-

permeabilität, kardiale Schädigungen und einen niedrigen Blutdruck verursachen [61]. Viele dieser Nebenwirkungen können so stark ausgeprägt sein, dass sie einen Therapieabbruch erzwingen. Für IL21 wurden ähnliche Nebenwirkungen beschrieben, insbesondere Fieber, Schüttelfrost, Leberschädigungen und Auswirkungen auf das hämatopoetische System mit Neutropenie und Thrombozytopenie [127]. Interferone können neben einer Leukopenie Schwindel, Anorexie und Depressionen induzieren [68].

Bei den monoklonalen Antikörpern, die gegen Tumorantigene gerichtet sind, beeinflussen insbesondere 2 Aspekte die Ausbildung und das Profil der Nebenwirkungen: Zum einen die zuvor beschriebene Zusammensetzung des Antikörpers. Mit steigendem „humanen“ Anteil wird die Fremdreaktion des Körpers reduziert, eine allergische Reaktion gegen das Medikament vermieden. Mittlerweile kann dies durch molekularbiologische Veränderung der Antikörper erreicht werden. Zum anderen ist auch wichtig, ob das Zielmolekül des Antikörpers auch auf gesunden Zellen vorkommt. Je unspezifischer das Tumorantigen ist, desto stärkere Nebenwirkungen können beobachtet werden. Zusätzlich kann bei einer hohen Tumorlast eine unkontrollierte Freisetzung von Zytokinen durch Zytolyse erfolgen (engl. Cytokine-release Syndrome). Gegen Tumorantigen-gerichtete mAb können Fieber, Schüttelfrost, Atembeschwerden und Hautausschläge verursachen. Unter der Behandlung von Rituximab (anti-CD20 mAb) kann in seltenen Fällen eine progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML) auftreten [128]. Eine typische Nebenwirkung, die der anti-EGFR mAb Cetuximab hervorrufen kann, ist ein Hautausschlag, dessen Ätiologie immer noch nicht vollständig geklärt ist [129]. Der anti-Her2 mAb Trastuzumab kann insbesondere kardiale Nebenwirkungen hervorrufen, die eine regelmäßige Kontrolle der kardialen Funktion während und nach der Therapie erfordern [130]. Bevacizumab wiederum ruft häufig gastrointestinale Beschwerden hervor, ebenso wie eine arterielle Hypertonie und eine Proteinurie [131].

mAb, die gegen Checkpoint-Moleküle gerichtet sind, steigern die Immunreaktion. Dadurch können Entzündungsreaktionen im Körper hervorgerufen werden. Nivolumab, ein anti-PD1 mAb, kann unter anderem eine Arthritis, eine Kolitis und insbesondere eine Pneumonitis hervorrufen. Ipilimumab, ein anti-CTLA4 mAb, ist mit Nebenwirkungen assoziiert, die unter anderem die Haut, Leber, Augen, Darm und Hypophyse betreffen.

Auch bei Vakzinierungstherapien können Impfreaktionen und andere Nebenwirkungen hervorgerufen werden. Selbst die spezifische T-Zell-Rezeptorselektion im Rahmen des adoptiven T-Zelltransfers kann Antigen-abhängig starke Nebenwirkungen verursachen. Daher werden aktuell Methoden entwickelt, die die Wahrscheinlichkeit derartiger Komplikationen reduzieren. Kunert und Kollegen schlagen spezifische Methoden vor, um eine Risiko-Einschätzung hinsichtlich der Toxizität mittels TZR-Selektion zu ermöglichen [132]. Dazu gehört unter anderem die Analyse großer Genomdatenbanken, ob die Zielantigene auch in anderen gesunden Geweben und Organen vorkommen. Ein anderer Ansatz liegt in der Entwicklung von Kombinationstherapien, die eine synergistische, therapeutische Wirkung ermöglichen, bei gleichzeitiger Reduktion der Einzeldosis und damit verbundener dosisabhängiger Nebenwirkungen.

## 5. Aktuelle Entwicklungen

Eine herausragende klinische Relevanz im Bereich der Immuntherapien hatten in den letzten Jahren insbesondere die Checkpoint-Inhibitoren. Bisher sind CTLA4-, PD1- und PDL1-Inhibitoren in der onkologischen Therapie zugelassen. Der anti-CTLA4 mAb Ipilimumab (Yervoy®, Bristol-Myers Squibb) ist seit 2011 in Europa bei der Behandlung des fortgeschrittenen, metastasierten oder nicht resektablen Malignen Melanoms zugelassen. PD1-Inhibitoren sind seit 2015 für mehrere Tumorentitäten erhältlich: Zur Behandlung des fortgeschrittenen metastasierten oder nicht resektablen Malignen Melanoms. Als Second-Line-Therapie besteht zusätzlich die Zulassung für die Behandlung des fortgeschrittenen Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinoms, des fortgeschrittenen Nierenzellkarzinoms und des fortgeschrittenen Hodgkin Lymphoms. Außerdem stehen das therapie-refraktäre Kopf-Hals-Karzinom und das Urothelkarzinom kurz vor der Zulassung zur Indikation einer anti-PD1 Therapie. Bisher zugelassene anti-PD1 mAb sind Nivolumab (Opdivo®, Bristol-Myers Squibb) und Pembrolizumab (Keytruda®, Merck Sharp & Dohme). Im März 2017 wurde der anti-PDL1 mAb Avelumab (Bavenico®, Merck KGaA, Pfizer und Eli Lilly and Company) für die Behandlung des metastasierten Merkelzellkarzinoms durch die FDA in den USA zugelassen. Atezolizumab (Tecentriq®, Genentech/Roche), ebenfalls ein PDL1 mAb, ist seit 2016 in den USA zur Behandlung für das fortgeschrittene oder metastasierte Urothelkarzinom und das vorbehandelte, metastasierte Nichtkleinzellige Lungenkarzinom zugelassen. Anti-PDL1 mAb sind bisher in Europa noch nicht zugelassen. Die Anzahl klinischer Studien, die zu Checkpoint-Modulatoren durchgeführt werden, ist immens. Alleine für Kopf-Hals-Karzinome wurden seit 2010 über 45 klinische Phase I – III Studien durchgeführt [133]. Die Mehrzahl der Studien untersucht Medikamente, die den PD1/PDL1 Signalweg beeinflussen. Aber auch andere immunstimulierende und -inhibierende Checkpoint-Moleküle werden erforscht. Ein mAb zur Stimulation von OX40 zeigte in einer Phase I-Studie eine Regression metastatischer Befunde in einem Drittel der Patienten (NCT01644968, [134]). Auch andere stimulatorische Moleküle wie CD137 oder inhibitorische Moleküle wie LAG3 sind Gegenstand klinischer Studien (NCT02658981).

### 5.1. Biomarker

Nicht alle Patienten profitieren von den neu etablierten Therapien, die Gründe hierfür sind meist unbekannt. Die zuvor erwähnten Nebenwirkungen und die hohen Therapiekosten fordern daher die Identifikation von immuntherapeutischen prädiktiven Biomarkern, die eine Prognose über das therapeutische Ansprechen und damit eine Therapieselektion ermöglichen. Untersuchungen bisher zeigen hier jedoch ein heterogenes Bild. Insbesondere die PDL1 Expression wurde in verschiedenen Studien untersucht, mit teils widersprüchlichen Ergebnissen. Dies wird unter anderem darauf zurückgeführt, dass unterschiedliche Standards zur PDL1 Bestimmung bestehen. Zusätzlich werden unterschiedliche Grenzwerte für eine Positivität berücksichtigt. Außerdem ist die PDL1 Expression als Biomarker auch Tumor-abhängig. So ist bei Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen die PDL1 Expression als Biomarker eher etabliert als bspw. bei Kopf-Hals-Karzinomen [135]. Auch bei PDL1 negativen Patienten wurde ein Therapieansprechen nach Blockade des PD1 / PDL1 Signalweges beobachtet [136]. Daher fehlen bisher im Bereich der Checkpoint-

Immuntherapie verlässliche Biomarker. Kürzlich publizierte Untersuchungen an Patienten mit Kopf-Hals-Karzinomen weisen darauf hin, dass das Ausmaß der PD1-Expression von CD8+ T-Zellen mit der Zellfunktionalität und dem Gesamtüberleben der Patienten assoziiert ist [137].

Die Ansprechraten in der Immuntherapie hängen damit nicht nur von den Medikamenten und den Tumorentitäten, sondern auch von den Patienten ab. Da die Ansprechraten variieren und bei Monotherapien weiterhin meist unter 50% liegen, werden verstärkt Kombinationstherapien eingesetzt, um bei möglichst vielen Patienten einen therapeutischen Erfolg erzielen zu können. Dies erhöht zum einen die Chance, dass patientenspezifisch relevante Signalwege beeinflusst werden können. Zum anderen können dadurch potentiell synergistische Therapieeffekte erzielt werden.

## 5.2. Kombinationstherapien

Gerade die Checkpoint-Rezeptor-Therapien sind für eine Kombinationstherapie besonders interessant, da sie direkt im Bereich der antitumorspezifischen Zellen ansetzen und einen Mechanismus blockieren, der die Effektivität anderer Therapieansätze potentiell behindert. Dies gilt sowohl für klassische therapeutische Verfahren wie die Strahlentherapie, die nachweislich eine PDL1-Expression induziert [138], als auch für andere immuntherapeutische Ansätze. Auch in der Kombination mit Zytokintherapien und Vakzinierungsstrategien kommen die Checkpoint-Rezeptor-Therapien zum Einsatz.

In präklinischen Studien wurde bspw. die Kombination eines GM-CSF modifizierten Prostatakarzinom-Vakzins mit einer PDL1 Blockade untersucht [139], da bisherige Vakzinierungstherapien durch die PDL1 Induktion in ihrer Effektivität supprimiert wurden. In dieser murinen Studie konnte ein starker Anstieg an CD4+ und CD8+ T-Zellen mit gesteigerter IFN $\gamma$ -Sekretion beobachtet werden, assoziiert mit einem Tumorregress. Ein ähnliches Ergebnis konnte mit dem onkolytischen Virus Onkovex in Kombination mit GM-CSF und anti-CTLA4 erreicht werden [140]. In diesem Modell konnten sowohl eine systemische Wirkung durch Behandlungserfolge in nicht direkt injizierten Tumoren (50%), als auch eine lokale, höhere Effektivität (100%) in direkt injizierten Tumoren beobachtet werden. Zusätzlich zur direkten onkolytischen Therapie im Tumor war eine CD8+ T-Zellreaktion im nicht injizierten Tumor zu beobachten.

In einer klinischen Studie untersuchten Hodi und Kollegen die Kombination von GM-CSF (Sargramostim) mit dem anti-CTLA4 mAb Ipilimumab in Patienten mit nicht resektablem Malignen Melanom im Stadium III oder IV [141] und verglichen diese Therapie mit einer Ipilimumab Monotherapie. Im Rahmen dieser Studie konnte kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf das progressionsfreie Überleben beobachtet werden, aber eine signifikante Verlängerung des Gesamtüberlebens und eine Reduktion der Nebenwirkungen durch die Kombinationstherapie.

Zusammen mit den Checkpoint-Molekülen werden aktuell hohe Erwartungen an die adoptive T-Zelltherapie gestellt. Aufgrund vielversprechender Ergebnisse ist die erste CAR-T-Zelltherapie in den USA im August 2017 zugelassen worden. CTL019 (Tisagenlecleucel<sup>®</sup>, Novartis) wird damit zur Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit akuter, therapierefraktärer B-Zell Leukämie verwendet. Für die Zukunft wird ein deutlicher Anstieg der Zulassungen und der damit verbundenen Indikationen erwartet. Eine Kombination der adopti-

ven T-Zelltherapie mit Eingriffen in den PD1 Signalweg der CAR T-Zellen wird aktuell in einer Phase I Studie an Patienten mit metastasiertem Nichtkleinzelligem Bronchialkarzinom untersucht (NCT02793856). Hier wird durch die moderne Technik der CRISPR/Cas-Methode das Genom der T-Zellen gezielt und exakt verändert und die PD1 Expression ausgeschaltet. Die derart veränderten T-Zellen werden nach Selektion und Proliferation anschließend reinfundiert.

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Die Interaktionen im Tumormilieu sind hochkomplex und stellen onkologische Therapieansätze vor eine große Herausforderung. Trotzdem hat die onkologische Immuntherapie in den letzten Jahren wesentliche Fortschritte erzielt. In einigen Tumorentitäten konnten Erfolge mit langanhaltenden Therapieansprechraten, teilweise kompletten Remissionen erzielt werden. Doch nicht alle Patienten können von den Entwicklungen bisher profitieren. Bei vielen Tumorentitäten sind die Ansprechraten bei einem monotherapeutischen Ansatz begrenzt. Dennoch bilden Fortschritte in der Grundlagenforschung und der klinischen Forschung die Basis für ein verbessertes Verständnis der Interaktion zwischen Tumor und Immunsystem. Dies ermöglicht neue therapeutische Kombinationen, um synergistische Effekte zu nutzen. Insbesondere die Entwicklungen der Checkpoint-spezifischen Antikörper hebt die Blockade durch immuninhibierende Signalwege auf und lässt Kombinationen mit anderen therapeutischen Strategien, die bisher aufgrund dieser Inhibition nicht von Erfolg gekrönt waren, vielversprechend erscheinen. Gleichzeitig können immunstimulierende Signalwege Zellen stärken, die bisher durch das Tumormilieu supprimiert wurden, und zu einer Verbesserung der Immunantwort führen. Die Etablierung prädiktiver Marker und eine damit verbundene Verbesserung der Patientenselektion für die verschiedenen Therapiemodalitäten wird zukünftig weiter an Bedeutung gewinnen. Gerade weil die Immuntherapie in der Onkologie ein derartiges Potenzial aufweist, ist aber auch ein kritischer und reflektierter Umgang mit Studienergebnissen und therapeutischen Ansätzen wichtig, um der aktuellen und zukünftigen Bedeutung im Klinikalltag gerecht zu werden.

**Anmerkung:** Die Abbildungen des Beitrags wurden mit Microsoft Powerpoint 2016<sup>®</sup> (Microsoft Corporation, Redmond, USA) und Science Slides<sup>®</sup> (VisiScience Inc., Chapel Hill, USA) erstellt.

## Danksagung

Wir danken Herrn Prof. Dr. Sven Brandau und Herrn Prof. Dr. Reinhard Zeidler für das kritische Korrekturlesen und die wertvollen Kommentare bei der Erstellung dieses Beitrages.

## Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## Literatur

- [1] Coley WB II. Contribution to the Knowledge of Sarcoma. *Annals of surgery* 1891; 14: 199–220
- [2] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 711–723
- [3] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2443–2454
- [4] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. *Cancer immunotherapy*. *Science (New York, NY)* 2013; 342: 1432–1433
- [5] Mantovani A, Sozzani S, Locati M et al. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends in immunology* 2002; 23: 549–555
- [6] Komohara Y, Jinushi M, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer science* 2014; 105: 1–8
- [7] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science (New York, NY)* 2015; 348: 62–68
- [8] Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annual review of immunology* 2008; 26: 677–704
- [9] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature immunology* 2002; 3: 991–998
- [10] Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Progress in experimental tumor research* 1970; 13: 1–27
- [11] Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases — elimination, equilibrium and escape. *Current opinion in immunology* 2014; 27: 16–25
- [12] Teng MW, Vesely MD, Duret H et al. Opposing roles for IL-23 and IL-12 in maintaining occult cancer in an equilibrium state. *Cancer Res* 2012; 72: 3987–3996
- [13] Grandis JR, Falkner DM, Melhem MF et al. Human leukocyte antigen class I allelic and haplotype loss in squamous cell carcinoma of the head and neck: clinical and immunogenetic consequences. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2794–2802
- [14] Mizukami Y, Kono K, Maruyama T et al. Downregulation of HLA Class I molecules in the tumour is associated with a poor prognosis in patients with oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2008; 99: 1462–1467
- [15] Ogino T, Shigyo H, Ishii H et al. HLA class I antigen down-regulation in primary laryngeal squamous cell carcinoma lesions as a poor prognostic marker. *Cancer Res* 2006; 66: 9281–9289
- [16] Goeppert B, Frauenschuh L, Zucknick M et al. Major histocompatibility complex class I expression impacts on patient survival and type and density of immune cells in biliary tract cancer. *Br J Cancer* 2015; 113: 1343–1349
- [17] Zhang J, Xu Z, Zhou X et al. Loss of expression of MHC class I-related chain A (MICA) is a frequent event and predicts poor survival in patients with hepatocellular carcinoma. *International journal of clinical and experimental pathology* 2014; 7: 3123–3131
- [18] Watson NF, Ramage JM, Madjd Z et al. Immunosurveillance is active in colorectal cancer as downregulation but not complete loss of MHC class I expression correlates with a poor prognosis. *Int J Cancer* 2006; 118: 6–10
- [19] Wang JH, Bi XW, Li PF et al. Overexpression of MYC and BCL2 Predicts Poor Prognosis in Patients with Extranodal NK/T-cell Lymphoma, Nasal Type. *Journal of Cancer* 2017; 8: 793–800
- [20] Wang T, Niu G, Kortylewski M et al. Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells. *Nature medicine* 2004; 10: 48–54
- [21] Gastman BR, Atarshi Y, Reichert TE et al. Fas ligand is expressed on human squamous cell carcinomas of the head and neck, and it promotes apoptosis of T lymphocytes. *Cancer Res* 1999; 59: 5356–5364
- [22] Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *The Journal of cell biology* 2012; 196: 395–406
- [23] Paszek MJ, Zahir N, Johnson KR et al. Tensional homeostasis and the malignant phenotype. *Cancer Cell* 2005; 8: 241–254
- [24] Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Current opinion in cell biology* 2004; 16: 558–564
- [25] Levental KR, Yu H, Kass L et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell* 2009; 139: 891–906
- [26] Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO reports* 2014; 15: 1243–1253
- [27] Meyaard L. The inhibitory collagen receptor LAIR-1 (CD305). *Journal of leukocyte biology* 2008; 83: 799–803
- [28] Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD et al. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology* 2011; 29: 235–271
- [29] Fox SB, Gasparini G, Harris AL. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth-factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. *The Lancet Oncology* 2001; 2: 278–289
- [30] Fayette J, Soria JC, Armand JP. Use of angiogenesis inhibitors in tumour treatment. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1109–1116
- [31] Li H, Fan X, Houghton J. Tumor microenvironment: the role of the tumor stroma in cancer. *J Cell Biochem* 2007; 101: 805–815
- [32] Xing F, Saidou J, Watabe K. Cancer associated fibroblasts (CAFs) in tumor microenvironment. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library* 15: 166–179
- [33] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Harris AL et al. Comparison of metabolic pathways between cancer cells and stromal cells in colorectal carcinomas: a metabolic survival role for tumor-associated stroma. *Cancer Res* 2006; 66: 632–637
- [34] Thomasset N, Lochter A, Sympon CJ et al. Expression of autoactivated stromelysin-1 in mammary glands of transgenic mice leads to a reactive stroma during early development. *Am J Pathol* 1998; 153: 457–467
- [35] Herrera M, Herrera A, Dominguez G et al. Cancer-associated fibroblast and M2 macrophage markers together predict outcome in colorectal cancer patients. *Cancer science* 2013; 104: 437–444
- [36] Comito G, Giannoni E, Segura CP et al. Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression. *Oncogene* 2014; 33: 2423–2431
- [37] Chaudhary B, Elkord E. Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting. *Vaccines* 2016; 4:
- [38] Shevach EM. Mechanisms of foxp3+ T regulatory cell-mediated suppression. *Immunity* 2009; 30: 636–645
- [39] Elkord E, Alcantar-Orozco EM, Dovedi SJ et al. T regulatory cells in cancer: recent advances and therapeutic potential. *Expert opinion on biological therapy* 2010; 10: 1573–1586
- [40] Ghiringhelli F, Menard C, Terme M et al. CD4+ CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *J Exp Med* 2005; 202: 1075–1085
- [41] Jie HB, Gildener-Leapman N, Li J et al. Intratumoral regulatory T cells upregulate immunosuppressive molecules in head and neck cancer patients. *Br J Cancer* 2013; 109: 2629–2635

- [42] Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *J Immunol* 2009; 182: 4499–4506
- [43] Srivastava MK, Sinha P, Clements VK et al. Myeloid-derived Suppressor Cells Inhibit T Cell Activation by Depleting Cystine and Cysteine. *Cancer Res* 2010; 70: 68–77
- [44] Rodriguez PC, Quiceno DG, Zabaleta J et al. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses. *Cancer Res* 2004; 64: 5839–5849
- [45] Barnie PA, Zhang P, Lv H et al. Myeloid-derived suppressor cells and myeloid regulatory cells in cancer and autoimmune disorders. *Experimental and therapeutic medicine* 2017; 13: 378–388
- [46] Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature* 2013; 496: 445–455
- [47] Quail DF, Joyce JA. Molecular Pathways: Deciphering Mechanisms of Resistance to Macrophage-Targeted Therapies. *Clin Cancer Res* 2017; 23: 876–884
- [48] Solinas G, Germano G, Mantovani A et al. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *Journal of leukocyte biology* 2009; 86: 1065–1073
- [49] Allavena P, Sica A, Solinas G et al. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. *Critical reviews in oncology/hematology* 2008; 66: 1–9
- [50] Reya T, Morrison SJ, Clarke MF et al. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105–111
- [51] Yoo MH, Hatfield DL. The cancer stem cell theory: is it correct? *Molecules and cells* 2008; 26: 514–516
- [52] Chen J, Li Y, Yu TS et al. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature* 2012; 488: 522–526
- [53] Tang C, Ang BT, Pervaiz S. Cancer stem cell: target for anti-cancer therapy. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2007; 21: 3777–3785
- [54] Auffinger B, Tobias AL, Han Y et al. Conversion of differentiated cancer cells into cancer stem-like cells in a glioblastoma model after primary chemotherapy. *Cell Death Differ* 2014; 21: 1119–1131
- [55] Bhatia A, Kumar Y. Cancer stem cells and tumor immunoediting: putting two and two together. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12: 605–607
- [56] Wei J, Barr J, Kong LY et al. Glioblastoma cancer-initiating cells inhibit T-cell proliferation and effector responses by the signal transducers and activators of transcription 3 pathway. *Molecular cancer therapeutics* 2010; 9: 67–78
- [57] Anastakis D, Petanidis S, Kalyvas S et al. Mechanisms and Applications of Interleukins in Cancer Immunotherapy. *International journal of molecular sciences* 2015; 16: 1691–1710
- [58] Amedei A, Prisco D, MM DE. The use of cytokines and chemokines in the cancer immunotherapy. *Recent patents on anti-cancer drug discovery* 2013; 8: 126–142
- [59] Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science (New York, NY)* 1976; 193: 1007–1008
- [60] Baluna R, Vitetta ES. Vascular leak syndrome: a side effect of immunotherapy. *Immunopharmacology* 1997; 37: 117–132
- [61] Rosenberg SA, Yang JC, White DE et al. Durability of complete responses in patients with metastatic cancer treated with high-dose interleukin-2: identification of the antigens mediating response. *Annals of surgery* 1998; 228: 307–319
- [62] Sim GC, Radvanyi L. The IL-2 cytokine family in cancer immunotherapy. *Cytokine & growth factor reviews* 2014; 25: 377–390
- [63] Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA et al. CXC chemokines in angiogenesis. *Journal of leukocyte biology* 2000; 68: 1–8
- [64] Balkwill F. Cancer and the chemokine network. *Nature reviews Cancer* 2004; 4: 540–550
- [65] Yoshie O, Matsushima K. CCR4 and its ligands: from bench to bedside. *International immunology* 2015; 27: 11–20
- [66] Taeger G, Grabelius F, Podleska LE et al. Effectiveness of regional chemotherapy with TNF-alpha/melphalan in advanced soft tissue sarcoma of the extremities. *International journal of hyperthermia: the official journal of European Society for Hyperthermic Oncology, North American Hyperthermia Group* 2008; 24: 193–203
- [67] van Horssen R, Ten Hagen TL, Eggermont AM. TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility. *The oncologist* 2006; 11: 397–408
- [68] Parker BS, Rautela J, Hertzog PJ. Antitumour actions of interferons: implications for cancer therapy. *Nature reviews Cancer* 2016; 16: 131–144
- [69] Srivastava S, Koch MA, Pepper M et al. Type I interferons directly inhibit regulatory T cells to allow optimal antiviral T cell responses during acute LCMV infection. *J Exp Med* 2014; 211: 961–974
- [70] Zoglmeier C, Bauer H, Norenberg D et al. CpG blocks immunosuppression by myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 1765–1775
- [71] Greiner JW, Hand PH, Noguchi P et al. Enhanced expression of surface tumor-associated antigens on human breast and colon tumor cells after recombinant human leukocyte alpha-interferon treatment. *Cancer Res* 1984; 44: 3208–3214
- [72] Abiko K, Matsumura N, Hamanishi J et al. IFN-gamma from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer. *Br J Cancer* 2015; 112: 1501–1509
- [73] Zaidi MR, Merlino G. The two faces of interferon-gamma in cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6118–6124
- [74] Rozati S, Naef L, Levesque MP et al. Real-life experience with pegylated interferon and conventional interferon in adjuvant melanoma therapy. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md: 1997)* 2013; 36: 52–56
- [75] Eggermont AM, Suci S, Testori A et al. Long-term results of the randomized phase III trial EORTC 18991 of adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation in resected stage III melanoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 3810–3818
- [76] von Tresckow B, Morschhauser F, Ribrag V. et al. An Open-Label, Multicenter, Phase I/II Study of JNJ-40346527, a CSF-1 R Inhibitor, in Patients with Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 1843–1850
- [77] Ries CH, Cannarile MA, Hoves S et al. Targeting tumor-associated macrophages with anti-CSF-1 R antibody reveals a strategy for cancer therapy. *Cancer Cell* 2014; 25: 846–859
- [78] Waller EK. The role of sargramostim (rhGM-CSF) as immunotherapy. *The oncologist* 2007; 12: (Suppl 2): 22–26
- [79] Yan WL, Shen KY, Tien CY et al. Recent progress in GM-CSF-based cancer immunotherapy. *Immunotherapy* 2017; 9: 347–360
- [80] Okamoto M, Oshikawa T, Tano T et al. Mechanism of anticancer host response induced by OK-432, a streptococcal preparation, mediated by phagocytosis and Toll-like receptor 4 signaling. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md: 1997)* 2006; 29: 78–86
- [81] Goldinger SM, Dummer R, Baumgaertner P et al. Nano-particle vaccination combined with TLR-7 and -9 ligands triggers memory and effector CD8(+) T-cell responses in melanoma patients. *European journal of immunology* 2012; 42: 3049–3061
- [82] Lichty BD, Breitbach CJ, Stojdl DF et al. Going viral with cancer immunotherapy. *Nature reviews Cancer* 2014; 14: 559–567
- [83] Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2780–2788

- [84] Kaufman HL, Andtbacka RHI, Collichio FA et al. Durable response rate as an endpoint in cancer immunotherapy: insights from oncolytic virus clinical trials. *Journal for immunotherapy of cancer* 2017; 5: 72
- [85] Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256: 495–497
- [86] Ecker DM, Jones SD, Levine HL. The therapeutic monoclonal antibody market. *mAbs* 2015; 7: 9–14
- [87] Lanitis E, Dangaj D, Hagemann IS et al. Primary Human Ovarian Epithelial Cancer Cells Broadly Express HER2 at Immunologically-Detectable Levels. *PLoS One* 2012; 7:
- [88] Wang Z. ErbB Receptors and Cancer. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)* 2017; 1652: 3–35
- [89] Francisco LM, Salinas VH, Brown KE et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* 2009; 206: 3015–3029
- [90] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3167–3175
- [91] Lipson EJ, Sharfman WH, Drake CG et al. Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 462–468
- [92] Hodi FS, Mihm MC, Soiffer RJ et al. Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 4712–4717
- [93] Giuroiu I, Weber J. Novel Checkpoints and Cosignaling Molecules in Cancer Immunotherapy. *Cancer journal (Sudbury, Mass)* 2017; 23: 23–31
- [94] Ma SR, Deng WW, Liu JF et al. Blockade of adenosine A2A receptor enhances CD8+ T cells response and decreases regulatory T cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular cancer* 2017; 16: 99
- [95] Chen YW, Tekle C, Fodstad O. The immunoregulatory protein human B7H3 is a tumor-associated antigen that regulates tumor cell migration and invasion. *Current cancer drug targets* 2008; 8: 404–413
- [96] Spodziewa M, Lach S, Iwaszkiewicz J et al. Design of short peptides to block BTLA/HVEM interactions for promoting anticancer T-cell responses. *PLoS One* 2017; 12: e0179201
- [97] Muntasell A, Ochoa MC, Cordeiro L et al. Targeting NK-cell checkpoints for cancer immunotherapy. *Current opinion in immunology* 2017; 45: 73–81
- [98] Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG et al. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunological reviews* 2017; 276: 80–96
- [99] Zhu C, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM-3 and its regulatory role in immune responses. *Current topics in microbiology and immunology* 2011; 350: 1–15
- [100] Kakavand H, Jaccett LA, Menzies AM et al. Negative immune checkpoint regulation by VISTA: a mechanism of acquired resistance to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma patients. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2017. doi:10.1038/modpathol.2017.89
- [101] Lee LY, Garland SM. Human papillomavirus vaccination: the population impact. *F1000Research* 2017; 6: 866
- [102] Hampton T. Nobel Prize honors HIV, HPV discoveries. *Jama* 2008; 300: 2109
- [103] Ramqvist T, Dalianis T. Oropharyngeal Cancer Epidemic and Human Papillomavirus. *Emerging Infectious Diseases* 2010; 16: 1671–1677
- [104] Osazuwa-Peters N. Human papillomavirus (HPV), HPV-associated oropharyngeal cancer, and HPV vaccine in the United States – do we need a broader vaccine policy? *Vaccine* 2013; 31: 5500–5505
- [105] van der Burg SH, Arens R, Ossendorp F et al. Vaccines for established cancer: overcoming the challenges posed by immune evasion. *Nature reviews Cancer* 2016; 16: 219–233
- [106] Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med* 2009; 361: 1838–1847
- [107] van Poelgeest MI, Welters MJ, Vermeij R et al. Vaccination against Oncoproteins of HPV16 for Noninvasive Vulvar/Vaginal Lesions: Lesion Clearance Is Related to the Strength of the T-Cell Response. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 2342–2350
- [108] Welters MJ, Kenter GG, de Vos van Steenwijk PJ et al. Success or failure of vaccination for HPV16-positive vulvar lesions correlates with kinetics and phenotype of induced T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 11895–11899
- [109] Czerniecki BJ, Koski GK, Koldovsky U et al. Targeting HER-2/neu in early breast cancer development using dendritic cells with staged interleukin-12 burst secretion. *Cancer Res* 2007; 67: 1842–1852
- [110] Morse MA, Niedzwiecki D, Marshall JL et al. A randomized phase II study of immunization with dendritic cells modified with poxvectors encoding CEA and MUC1 compared with the same poxvectors plus GM-CSF for resected metastatic colorectal cancer. *Annals of surgery* 2013; 258: 879–886
- [111] Schuler PJ, Harasymczuk M, Visus C et al. Phase I dendritic cell p53 peptide vaccine for head and neck cancer. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 2014; 20: 2433–2444
- [112] Mould RC, AuYeung AWK, van Vloten JP et al. Enhancing Immune Responses to Cancer Vaccines Using Multi-Site Injections. *Scientific Reports* 2017; 7:
- [113] Mehrotra S, Britten CD, Chin S et al. Vaccination with poly(IC:LC) and peptide-pulsed autologous dendritic cells in patients with pancreatic cancer. *Journal of hematology & oncology* 2017; 10: 82
- [114] Krishnadas DK, Wang Y, Sundaram K et al. Expansion of cancer germ-line antigen-specific cytotoxic T lymphocytes for immunotherapy. *Tumour biology: the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2017; 39: 1010428317701309
- [115] Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive-cell-transfer therapy for the treatment of patients with cancer. *Nature reviews Cancer* 2003; 3: 666–675
- [116] Maude SL, Frey N, Shaw PA et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1507–1517
- [117] Dudley ME, Gross CA, Langan MM et al. CD8+ enriched "young" tumor infiltrating lymphocytes can mediate regression of metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 6122–6131
- [118] Neal LR, Bailey SR, Wyatt MM et al. The Basics of Artificial Antigen Presenting Cells in T Cell-Based Cancer Immunotherapies. *Journal of immunology research and therapy* 2017; 2: 68–79
- [119] O'Sullivan D, Pearce EL. Targeting T cell metabolism for therapy. *Trends in immunology* 2015; 36: 71–80
- [120] Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive Cell Transfer Therapy. *Semin Oncol* 2007; 34: 524–531
- [121] Sadelain M, Brentjens R, Riviere I. The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov* 2013; 3: 388–398
- [122] Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T et al. Long-Duration Complete Remissions of Diffuse Large B Cell Lymphoma after Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 2017, doi:10.1016/j.ymthe.2017.07.004
- [123] Morgan RA, Yang JC, Kitano M et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 2010; 18: 843–851

- [124] Feng K, Guo Y, Dai H et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer. *Science China Life sciences* 2016; 59: 468–479
- [125] Katz SC, Burga RA, McCormack E et al. Phase I Hepatic Immunotherapy for Metastases Study of Intra-Arterial Chimeric Antigen Receptor-Modified T-cell Therapy for CEA+ Liver Metastases. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 3149–3159
- [126] Beatty GL, Haas AR, Maus MV et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies. *Cancer immunology research* 2014; 2: 112–120
- [127] Davis ID, Skrumsager BK, Cebon J et al. An open-label, two-arm, phase I trial of recombinant human interleukin-21 in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3630–3636
- [128] Punch C, Schofield C, Harris P. Rituximab-Associated Inflammatory Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *Case reports in infectious diseases* 2016; 2016: 8915047
- [129] Hasheminasab SM, Tzvetkov MV, Schumann C. et al. High-throughput screening identified inherited genetic variations in the EGFR pathway contributing to skin toxicity of EGFR inhibitors. *Pharmacogenomics* 2015; 16: 1605–1619
- [130] Jain D, Ahmad T, Cairo M et al. Cardiotoxicity of cancer chemotherapy: identification, prevention and treatment. *Annals of translational medicine* 2017; 5: 348
- [131] Morris KA, Golding JF, Blesing C et al. Toxicity profile of bevacizumab in the UK Neurofibromatosis type 2 cohort. *Journal of neuro-oncology* 2017; 131: 117–124
- [132] Kunert A, Obenaus M, Lamers CH et al. T cell receptors for clinical therapy: in vitro assessment of toxicity risk. *Clin Cancer Res* 2017, doi:10.1158/1078-0432.ccr-17-1012
- [133] Dogan V, Rieckmann T, Munscher A et al. Current studies of immunotherapy in head and neck cancer. *Clinical otolaryngology: official journal of ENT-UK; official journal of Netherlands Society for Oto-Rhino-Laryngology & Cervico-Facial Surgery* 2017, doi:10.1111/coa.12895
- [134] Curti BD, Kovacsovics-Bankowski M, Morris N et al. OX40 is a potent immune-stimulating target in late-stage cancer patients. *Cancer Res* 2013; 73: 7189–7198
- [135] Takada K, Okamoto T, Toyokawa G et al. The expression of PD-L1 protein as a prognostic factor in lung squamous cell carcinoma. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* 2017; 104: 7–15
- [136] Daud AI, Wolchok JD, Robert C et al. Programmed Death-Ligand 1 Expression and Response to the Anti-Programmed Death 1 Antibody Pembrolizumab in Melanoma. *J Clin Oncol* 2016; 34: 4102–4109
- [137] Kansy BA, Concha-Benavente F, Srivastava RM et al. PD-1 status in CD8+ T cells associates with survival and anti-PD-1 therapeutic outcomes in head and neck cancer. *Cancer Res* 2017, doi:10.1158/0008-5472.can-16-3167
- [138] Adams DL, Adams DK, He J et al. Sequential Tracking of PD-L1 Expression and RAD50 Induction in Circulating Tumor and Stromal Cells of Lung Cancer Patients Undergoing Radiotherapy. *Clin Cancer Res* 2017, doi:10.1158/1078-0432.ccr-17-0802
- [139] Shi X, Zhang X, Li J et al. PD-1/PD-L1 blockade enhances the efficacy of SA-GM-CSF surface-modified tumor vaccine in prostate cancer. *Cancer Lett* 2017; 406: 27–35
- [140] Moesta AK, Cooke K, Piasecki J et al. Local Delivery of OncoVE-XmGM-CSF Generates Systemic Anti-Tumor Immune Responses Enhanced by Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein Blockade. *Clin Cancer Res* 2017, doi:10.1158/1078-0432.ccr-17-0681
- [141] Hodi FS, Lee S, McDermott DF et al. Ipilimumab plus sargramostim vs ipilimumab alone for treatment of metastatic melanoma: a randomized clinical trial. *Jama* 2014; 312: 1744–1753