

2. Einleitung

2.1 Morbus Hodgkin: Definition

Morbus Hodgkin (syn.: Hodgkin-Lymphom (HL) oder Lymphogranulomatose, engl. *Hodgkin's disease*) ist eine bösartige Erkrankung des lymphatischen Gewebes. Im Rahmen dieser Erkrankung entstehen schmerzlose Schwellungen der Lymphknoten, die mit Nachtschweiß, Fieber und Gewichtsabnahme einhergehen können. Das mikroskopische Bild eines Hodgkin-Lymphoms ist durch das Auftreten typischer einkerniger Hodgkin-Zellen und mehrkerniger Sternberg-Reed-Riesenzellen gekennzeichnet. Durch diese morphologischen Kriterien ist eine Abgrenzung zu den Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) möglich. Die Behandlung ist stadienabhängig. Die Erstbehandlung besteht aus der Kombination einer Polychemo- und Strahlentherapie. Die Heilungsaussichten sind gut.

2.1.1 Historische Entwicklung

Im Jahr 1832 beschrieb der englische Arzt Thomas Hodgkin erstmals in seinem Artikel „On Some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen“ Lymphknotenveränderungen, die im Zusammenhang mit einer Vergrößerung der Milz auftraten [DIEHL V 2007].

Unabhängig voneinander beschrieben 1898 der österreichische Pathologe Carl Sternberg [Sternberg C 1898] und 1902 die amerikanische Pathologin Dorothy Reed [Reed DM 1902] in diesen Lymphomen die typischen Sternberg-Reed-Zellen. Dadurch ermöglichten sie eine zuverlässige Diagnostik und eine sichere Abgrenzung gegenüber anderen Erkrankungen, die mit einer Vergrößerung von Lymphknoten einhergehen [ANSEN S et al. 2001]. 1947 wurde die erste histopathologische Klassifizierung des Morbus Hodgkin von Jackson und Parker entwickelt. Diese unterteilten damals das Hodgkin-Lymphom in drei Formen. Die heute allgemein gültige histologische Einteilung des Hodgkin-Lymphoms wurde 1966 auf einer Konferenz in Rye (New York, USA) festgelegt und umfasst vier Kategorien: lymphozyten-prädominante Form (LP), nodulär-sklerosierende Form (NS), Mischtyp (MC) und lymphozytenarme Form (LD).

In der Folgezeit kristallisierte sich eine Unterform, das lymphozyten-prädominante Hodgkin-Lymphom, mit einem besseren klinischen Verlauf heraus. Das lymphozyten-prädominante Hodgkin-Lymphom (LPHL) unterscheidet sich morphologisch, immunphänotypisch und klinisch von der klassischen Form des Hodgkin-Lymphoms. In der REAL-Klassifikation wurden 1994 die Formen NS, MC und LD unter dem Begriff „klassisches Hodgkin-Lymphom“ zusammengefasst und dem LPHL gegenübergestellt [HARRIS NL et al. 1994]. Inzwischen wird diese Entität als

eigenständiges Krankheitsbild angesehen [FOSS HD et al. 2000, NOGOVA L et al. 2008].

Aktuell wird das Hodgkin-Lymphom nach der WHO-Klassifikation wie folgt eingeteilt:

- I. Klassisches Hodgkin-Lymphom (ca. 95 % der Fälle)
 - 1.) Noduläre Sklerose (65 %)
 - 2.) Gemischtzelliger Typ (25%)
 - 3.) Lymphozytenreicher klassischer Typ (4%)
 - 4.) Lymphozytenarmer Typ (< 1%)
- II. Lymphozytenreiches prädominantes Hodgkin-Lymphom = LPHD
(ca. 5% der Fälle) [HD FOSS et al. 2000, KAPATAI G et al. 2007]

2.1.2 Sternberg-Reed-Zelle

Histologisch finden sich beim Morbus Hodgkin ausgeprägte Zeichen einer entzündlichen Reaktion der Lymphknoten. Bei der histopathologischen Untersuchung der befallenen Lymphknoten zeigt sich eine geringe Zahl von mehrkernigen Tumorzellen, die Hodgkin-Sternberg-Reed-Zellen. Die klassischen Sternberg-Reed-Zellen besitzen einen meist zwillingsförmig angeordneten Zellkern mit einem großen eosinophilen Nukleolus und einem breiten, meist amphophilen Zytoplasma, wodurch ein eulenaugenartiges Erscheinungsbild entsteht. Die einkernige Variante wird als Hodgkin-Zelle bezeichnet. Hierbei handelt es sich meist um monoklonale B-Lymphozyten aus dem Keimzentrum der Lymphknoten [HUMMEL M et al. 1999, KÜPPERS R et al. 1994]. Immunzytochemisch exprimieren Hodgkin-Sternberg-Reed-Zellen CD15, CD25, CD30 und CD71. Beim lymphozytenreichen Typ finden sich zudem B-Zell-Marker wie CD19 und CD20.

Nur etwa 1% der Zellen in einem Hodgkin-Lymphom besteht aus diesen Tumorzellen. Die restlichen Zellen in einem Hodgkin-Infiltrat setzen sich aus nicht malignen Zellen wie Lymphozyten, Histozyten, Fibroblasten, Plasmazellen und Eosinophilen zusammen. Bei diesen Lymphozyten handelt es sich um aktivierte Helferzellen, sogenannte Bystander-Zellen.

Die Tumorzellen des lymphozytenreichen-prädominanten Hodgkin-Lymphoms zeigen große Ähnlichkeit mit den Tumorzellen des klassischen Hodgkin-Lymphoms. Der Immunophänotyp der Tumorzelle ist entscheidend für die Diagnose. Kennzeichnend ist ein positiver CD20- und negativer CD30- und CD15-Nachweis. Klinisch zeigt die Form ein weniger aggressives Tumorwachstum und eine gute Prognose. Das lymphozytenreiche-prädominante Hodgkin-Lymphom wird, bis auf eine Ausnahme, wie das klassische Hodgkin-Lymphom behandelt [FOSS HD et al. 2000, NOGOVA L et al. 2008].

2.1.3 Epidemiologie

Die Häufigkeit der Erkrankung variiert in den verschiedenen Ländern der Welt zum Teil beträchtlich. In den westlichen europäischen Ländern und unter der weißen Bevölkerung der USA zeigt das Auftreten einen zweigipfligen Verlauf mit einem Gipfel im Alter von 15 – 34 Jahren und einem zweiten Gipfel ab dem 60. Lebensjahr. Die Inzidenz wird mit etwa 5/100.000 Einwohner/Jahr angegeben [CARTWRIGHT RA 2004]. Das Hodgkin-Lymphom macht etwa 1% aller malignen Tumorerkrankungen aus [DIEHL V 2007].

2.1.4 Histologie und Staging

Die Diagnose der Krankheit wird ausschließlich aus einer Lymphknotenbiopsie gestellt. Die Stadieneinteilung erfolgt nach der Ann-Arbor-Klassifikation. Diese Klassifikation erfasst die Anzahl der befallenen Lymphknotenregionen im Bezug auf das Zwerchfell, extranodale Herde und disseminierten Organbefall. Die Stadieneinteilung erfolgt in die Stadien I – IV. Ergänzend erfolgt der Zusatz A beim Fehlen von B-Symptomen und der Zusatz B beim Vorliegen von B-Symptomen.

2.1.5 Ätiologie

Die genaue Ätiologie der Erkrankung ist unbekannt. Erst durch molekularbiologische Methoden konnten B-Lymphozyten als Ursprung der malignen entarteten Hodgkin-Zellen identifiziert werden [FOSS HD et al. 2000, HUMMEL M et al. 1999].

Das Epstein-Barr-Virus (EBV), Erreger des Pfeiffer'schen Drüsenfiebers, scheint eine begünstigende Rolle zu spielen. Personen, die an einem Pfeiffer'schen Drüsenfieber litten, haben ein höheres Risiko an einem Morbus Hodgkin zu erkranken [HUMMEL M et al. 1992, FOSS HD et al. 2000, KAPATAI G et al. 2007, German Hodgkin Study Group]. Allerdings müssen noch weitere Faktoren für die Entstehung von Hodgkin-Lymphomen verantwortlich sein, da einerseits nicht in allen Hodgkin- und Sternberg-Reed-Zellen genetisches Material des Epstein-Barr-Virus gefunden wurde [FOSS HD et al. 2000], andererseits die Durchseuchungsrate mit EBV im 30. Lebensjahr bei über 90 % liegt.

Möglicherweise spielen Störungen des Immunsystems bei der Entstehung des Morbus Hodgkin eine Rolle. So kommt es im Rahmen einer immunsuppressiven Therapie nach Organtransplantation zu einem vermehrten Auftreten von Morbus Hodgkin-Fällen [CAILLARD S et al. 2006, ZAMBELLI A et al. 2005].

2.1.6 Therapie und Therapieentwicklung

Eine Hodgkin-Erkrankung verlief noch bis in die 60er Jahre des letzten Jahrhunderts vor allem in den fortgeschrittenen Stadien meist tödlich. Nur ein Teil der Patienten mit lokalisiertem Befall konnte durch Bestrahlung der betroffenen Areale geheilt werden. Die Ergebnisse der Strahlentherapie wurden in der Folgezeit durch die Einführung neuer Bestrahlungsmethoden wie Hochvoltbestrahlung, Linearbeschleunigung und durch den Einsatz der Großfeldtechnik deutlich verbessert [ANSEN S et al. 2001].

Patienten mit disseminierter Erkrankung hatten vor Einführung der Polychemotherapie in der Regel eine schlechte Prognose. Im Jahre 1943 wurde beobachtet, dass Nitrogen-Mustard bei Hodgkin-Patienten kurzfristige Remissionen hervorrufen kann [GOODMANN LS 1946, ANSEN S et al. 2001]. In den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts lag das mediane Überleben von Patienten mit einem fortgeschrittenen Stadium bei 2 Jahren und die 5-Jahres-Überlebensrate lag bei 5% [DIEHL V 2007]. Eine bedeutende Verbesserung wurde 1964 durch das von deVita und Mitarbeitern am *National Cancer Institute* der USA entwickelte MOPP-Schema (Mechlorethamin (Mustragen), Oncovin, Procarbazin, Prednison) erzielt. Dadurch konnte ein rezidivfreies Langzeitüberleben von über 50% erreicht werden [DEVITA VT et al. 1970, LONGO DL et al. 1986, ANSEN S et al. 2001]. Um bei einem Therapieversagen unter dem MOPP-Regime eine Salvage-Therapie anbieten zu können, wurden Medikamente gesucht, die keine Kreuzresistenz zeigten. 1975 entwickelte die Arbeitsgruppe um Bonadonna das ABVD-Schema (Adriamycin, Bleomycin, Vinblastin, Dacarbazin) [BONADONNA G et al. 1975, 1982]. Das ABVD-Schema löste das MOPP-Schema ab und ist bis heute ein Standardchemotherapieregime [DIEHL et al. 2007] in der Behandlung des Hodgkin-Lymphoms in den Patientengruppen mit lokalisiertem und intermediärem Befall.

Die Behandlung erfuhr in den letzten Jahren wesentliche Veränderungen. Bis in die neunziger Jahre des letzten Jahrhunderts wurde in den frühen Stadien I und II im Allgemeinen eine Strahlentherapie im *extended field* durchgeführt. Dabei werden die befallenen und die benachbarten Lymphknoten in das Bestrahlungsfeld eingeschlossen. In 90% der Fälle konnte damit eine komplette Remission erreicht werden. Die Rezidivrate betrug dennoch 25% bis 30% [STIEFENHAGEN P et al. 1998, ANSEN S et al. 2001].

Als Folge dieser initialen Strahlentherapie trat bei vielen Patienten in einem Zeitraum von 20 Jahren nach Bestrahlung ein solider Zweittumor mit einer kumulativen Inzidenz von ca. 15% auf [KAPLAN H 1966]. In praktisch allen Stadien wird nun eine kombinierte Strahlen-Chemotherapie durchgeführt, wie dies bisher in den Stadien III und IV geschehen war. Durch diese Maßnahme kann die rezidivfreie

Überlebenszeit weiter verlängert und die Rate an Spätkomplikationen wie beispielsweise Sekundärtumore vermindert werden. Bezüglich der Remissionsraten, dem krankheitsfreien Überleben und der Toxizität ist eine alternierende Therapie mit ABVD und COPP ebenso wie die alleinige ABVD-Therapie der alleinigen Therapie mit COPP überlegen [CANELLOS GP et al. 1992, SIEBER M et al. 1998, 2000].

Das von der Deutschen Hodgkin-Lymphom Studiengruppe (DHSG) 1993 etablierte BEACOPP-Schema (Bleomycin, Etoposid, Doxorubicin, Cyclophosphamid, Vincristin, Procarbazin, Prednison) konnte seine Überlegenheit gegenüber COPP/ABVD im fortgeschrittenen Krankheitsstadium beweisen [DIEHL V et al. 1998] und gilt als Standardtherapie in diesem Stadium [ANSEN S et al. 2001, DIEHL et al. 2003, JOSTING A et al. 2005].

2.1.7 Prognose

Die Prognose der Patienten mit einem Hodgkin-Lymphom im frühen und mittleren Stadium ist heutzutage außerordentlich günstig. Heute werden Heilungen in 85 bis 95 % der Fälle erreicht [DIEHL V 2007, SIEBER M et al. 1998]. Die 10-Jahres-Überlebensrate wird für Patienten mit einem frühen Stadium sogar auf 97 % geschätzt [FERME C et al. 2007]. Die Rezidivrate nach vorausgegangener Therapie beträgt in den Stadien I und II etwa 10 – 15 % [SPECHT L et al. 1998] und im fortgeschrittenen Stadium 30 bis 40% [OZA AM et al. 1993, VIVIANI S et al. 1996]. Patienten mit einem Rezidiv nach vorangegangener Chemotherapie haben insgesamt eine schlechte Prognose [JOSTING A et al. 2005].

Neben dem Auftreten eines Rezidives besteht die Gefahr einer malignen Zweiterkrankung als Folge der Therapie. Aus diesen Gründen haben gegenwärtige Studien zum Ziel, die Langzeitfolgen wie z.B. chemotherapieinduzierte Zweitneoplasien durch nebenwirkungsärmere Therapien zu reduzieren und die Rezidivraten durch beispielsweise effizientere Tumorzellzerstörung zu senken.

Grundsätzlich sind Hodgkin-Lymphome einer selektiven Zerstörung residueller Tumorzellen, z.B. durch Antikörper oder antikörpergestützte Toxine, gut zugänglich. Hodgkin-Zellen exprimieren an der Zelloberfläche bestimmte Oberflächenantigene, die ansonsten auf sehr wenigen gesunden Körperzellen vorkommen. Diese Oberflächenantigene wären als Zielstruktur für eine spezifische Immuntherapie geeignet. Hierzu wurden bereits verschiedene klinische Studien mit Immuntoxinen, monoklonalen Antikörpern und bispezifischen Antikörpern durchgeführt [HARTMANN et al. 2001, SCHNELL R et al. 2002], die alle eine Wirksamkeit zeigten.

Rituximab ist ein monoklonaler Antikörper, der gegen das CD20-Antigen gerichtet ist. In einer Phase II-Studie der GHSG konnte die Wirksamkeit von Rituximab bei 21

Patienten mit einem CD20-positiven Rezidiv eines Lymphozyten-predominanten Hodgkin-Lymphoms gezeigt werden. Die Ansprechrate lag bei 94% [SCHULZ H et al. 2008]. Insgesamt sind diese Ergebnisse sehr ermutigend für den Einsatz von monoklonalen Antikörpern bei dieser Erkrankung.

2.2 Immuntherapie

Bereits 1909 postulierte Coley, maligne Zellen gezielt durch das Immunsystem zu bekämpfen [COLEY W 1909]. Erst die Fortschritte der letzten Jahrzehnte in der Entwicklung der Molekularbiologie und Immunologie führten zu immuntherapeutischen Ansätzen. Im Vordergrund steht die Aktivierung des Immunsystems, um gezielt maligne Zellen zu zerstören.

Im Gegensatz zu den Antigenen, die in Form von Bakterien oder Viren in den Körper eindringen, induzieren tumorassoziierte Antigene meist nur eine schwache Immunantwort. Diese Beobachtung wird darauf zurückgeführt, dass Tumorantigene selten neue, für den Organismus völlig unbekannte Antigene darstellen. Die Tumorantigene kommen meist physiologisch vor und werden teilweise auch auf gesunden Zellen exprimiert [OVERWIJK WW et al. 1999]. Um gegen diese Tumorantigene eine effiziente Immunantwort auslösen zu können, muss die vorhandene immunologische Toleranzschwelle durchbrochen werden.

Ein Ansatz ist die aktive Immuntherapie. Hierzu zählt die tumorspezifische Vakzinierung, die unter anderem mit tumorspezifischen Peptiden und Proteinen [OFFINGA R et al. 2000, SUN Y et al. 1999] oder mit Hitzeschock-Proteinen [BOLHASSANI A et al. 2008, SUTO R et al. 1995] erfolgen kann. Grundlage dieser Impfstrategien ist die aktive Beteiligung und Unterstützung des Immunsystems, um gezielt eine Immunantwort gegen Tumorzellen entwickeln zu können.

Gegenwärtig werden mehrere klinische Studien durchgeführt, in denen Tumorstoffe getestet werden. Beispielhaft sei hier auf eine Phase II-Studie von Butts et al. verwiesen. In dieser Studie wurden Vakzine bei Patienten mit einem fortgeschrittenen nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom (NSCLC) eingesetzt. Hierbei konnte durch die liposome Vakzine L-BLP25 eine T-Zellantwort gegen das MUC1-Antigen und eine Interferon-Gamma-Produktion als Indikator für eine Antwort von T-Helfer-Zellen induziert werden. Vakzinierte Patienten mit einem NSCLC zeigten eine Verlängerung des medianen Überlebens von 4,4 Monaten gegenüber der Kontrollgruppe. In der isolierten Betrachtung der Patienten im Stadium IIIB zeichnete sich ein besseres Ansprechen ab. Während das mediane Überleben in der Kontrollgruppe bei 13,3 Monaten lag, lebten in der geimpften Gruppe noch 60% nach einer Beobachtungszeit von 2 Jahren [Butts C et al. 2005, Sangha R, Butts C 2007].

Des Weiteren laufen derzeit zwei Phase-III-Studien zur Wirkung einer MAGE-A3 Vakzine bei MAGE-A3 positiven Melanomen und nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen [Brichard VG, Lejeune D 2007].

Der zweite immunologische Ansatz zur Behandlung maligner Erkrankungen ist die passive Immuntherapie. Hierzu zählt der Einsatz spezifischer monoklonaler Antikörper, die Tumorzellen für immunologische Effektorzellen markieren oder Signalwege der Tumorzelle blockieren.

2.2.1 Monoklonale Antikörper

Die Geschichte der Antikörper in der Krebsforschung reicht zurück bis ins Jahr 1895. Hericourt und Richet [Hericourt J, Richet C 1895] versuchten, Krebspatienten mit Seren, die aus Hunden gewonnen wurden, zu behandeln.

Ein Meilenstein in der Entwicklung monoklonaler Antikörper wurde 1975 von Köhler und Milstein gesetzt. Ihnen gelang durch die Fusion von B-Zellen aus der Milz einer immunisierten Maus mit unbegrenzt wachsenden Myelomzelllinien die Produktion von monoklonalen Antikörpern. Mit dieser Entwicklung ergaben sich ungeahnte diagnostische und therapeutische Möglichkeiten [KÖHLER G et al. 1975]. Antikörper entfalten ihre Aktivität nach Bindung an der Tumorzelle durch die lokale Initiierung der Komplementkaskade oder über die Blockade von Signaltransduktionswegen. Bereits 1982 wurde erstmals über den erfolgreichen klinischen Einsatz von monoklonalen Antikörpern berichtet. Bei einem Patienten mit einem Non-Hodgkin-Lymphom konnte eine komplette Remission mit individuell hergestellten anti-idiotypischen Antikörpern erreicht werden [Miller RA 1982].

In der Folgezeit wurden zahlreiche Therapiestudien bei anderen Tumoren durchgeführt, wobei weitere therapeutische Erfolge ausblieben. Problematisch sind vor allem die hohen Kosten sowie blockierende körpereigene Antikörper (HAMA = humane anti-Maus-Antikörper). Die körpereigenen Antikörper treten nach wiederholter Anwendung auf und sind gegen die eingesetzten murinen Antikörper gerichtet.

Mit der Weiterentwicklung der Molekularbiologie seit Mitte der 90er Jahre war die Grundlage für rekombinante Antikörper geschaffen worden. Die neuen Antikörper werden dabei als chimäre oder vollständig humanisierte Antikörper hergestellt. Dadurch sind wiederholte Therapiezyklen möglich. Verbesserte Produktionsbedingungen lassen zudem eine kosteneffiziente Herstellung der benötigten Mengen zu [DILLMAN R 1994].

Bereits 2002 repräsentierten antikörperbasierte Therapeutika einen Gesamtanteil von 25% an den in der frühen klinischen Forschung befindlichen neuen Produkten [RENNER C et al. 2002].

Die amerikanische Gesundheitsbehörde FDA hatte 2002 neun und 2006 insgesamt 18 monoklonale Antikörper mit unterschiedlicher Indikation zugelassen. Bereits 2002 befanden sich mehr als 70 Antikörper, 2006 mehr als 150 Antikörper in verschiedenen Stadien der klinischen Entwicklung [RENNER C et al. 2002, FISCHER N et al. 2007].

Monoklonale Antikörper können ihre Wirkung auf verschiedenen Wegen entfalten [BUSKE C et al. 2001, WILHELM C et al. 2008]:

- Oponierung und Vermittlung weiterer immunologischer Reaktionen (z.B. Pavilizumab (Synagis) beim *Respiratory Syncytial Virus*)
- Blockade des Zielantigens (z.B. Infliximab bei rheumatoider Arthritis und Morbus Crohn)
- Direkte Wirkung auf die Zielzelle durch Beeinflussung der Signaltransduktion (z.B. Cetuximab, z.B. Rituximab beim Non-Hodgkin-Lymphom) [MANCHES O et al. 2003]
- Blockade von extrazellulären Wachstumsfaktoren (z.B. Bevacizumab)

Hämatologische Erkrankungen stellen ein hervorragend geeignetes Einsatzgebiet für monoklonale Antikörper dar. Gründe dafür sind vor allem die gute Zugänglichkeit der Tumorzellen, die mit malignen Tumorzellen verbundenen spezifischen Antigene (wie z.B. CD19, CD20, CD30 und CD33) und die erhöhte Empfindlichkeit der Tumorzellen auf den durch die Antikörper vermittelten Zelltod [DILLMAN R 2001]. Solide Tumore scheinen dagegen aus verschiedenen Gründen schwieriger direkt mit monoklonalen Antikörpern behandelbar zu sein. Die Ursachen hierfür sind z.B. die Heterogenität der Antigenexpression sowie die verhältnismäßig schlechte Zugänglichkeit und die Resistenz gegenüber humoralen und zellulären Abwehrmechanismen.

Inzwischen werden monoklonale Antikörper nicht nur in der Tumorthherapie eingesetzt, sondern finden auch Anwendung in der Kardiologie, Rheumatologie und Allergologie.

2.2.2 Antikörper in der Onkologie

Die beispielhaft aufgeführten Antikörper zeigten meist in der Kombination mit Chemotherapie eine Verbesserung der Ansprechrate und eine Verlängerung des progressionsfreien und des gesamten Überlebens. Zu unterscheiden ist der Wirkmechanismus der Antikörper. Einige der aufgeführten Antikörper führen nach

Bindung an die Zielzellen zu einer Zerstörung der Zelle durch Aktivierung des Komplementsystems oder Einleitung der Apoptose. Andere Antikörper blockieren spezifische Signalwege.

Aktuelle Beispiele für Antikörper, die Signalwege blockieren, wären Cetuximab (Erbix), Brevacizumab (Avastin) und Trastuzumab (Herceptin). Cetuximab ist ein anti-EGF-Rezeptor-Antikörper (EGF: epidermaler Wachstumsfaktor). Der Antikörper wird bei fortgeschrittenem Kolonkarzinom und bei fortgeschrittenen Kopf-Hals-Tumoren eingesetzt und führte jeweils zu ein verlängertes Überleben [CUNNIGHAM D et al. 2004, VERMORKEN JB et al. 2008]. Brevacizumab ist ein VEGF-Antikörper (VEGF: vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor). Der Antikörper wird in Kombination mit einer Chemotherapie bei metastasiertem Kolonkarzinom und bei fortgeschrittenem nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC) eingesetzt [HURWITZ H et al. 2004, SANDLER A et al. 2006]. Trastuzumab (Herceptin) ist ein anti-HER2/neu-Antikörper und wird erfolgreich neoadjuvant, adjuvant und palliativ bei HER2/neu-überexprimierendem Mammakarzinom eingesetzt.

Rituximab (Mabthera) ist ein chimärer anti-CD20-Antikörper. Rituximab bindet Komplementfaktoren und induziert eine antikörperabhängige Zytotoxizität. Der Antikörper inhibiert zudem die Zellproliferation und induziert direkt eine Apoptose [DAVIS TA et al. 2000, MALONEY DG et al. 2002, SCHULZ H et al. 2008]. Der Einsatz von Rituximab hat die Behandlung von Non-Hodgkin-Lymphomen (NHL) deutlich verbessert. Bei indolenten NHL konnte dieser Antikörper eine Wirksamkeit sowohl in der Monotherapie als auch in Kombination mit einer Chemotherapie zeigen. Es zeigte sich eine Verbesserung der Ansprechrate, der progressionsfreien Zeit und des Gesamtüberlebens. Zudem entfaltet der Antikörper bei indolenten Lymphomen im Rezidivfall eine Ansprechrate von 48% [MCLAUGHLIN P et al. 1998, HEROLD M et al. 2007]. Bei aggressiven NHL lässt sich eine verbesserte Wirksamkeit in Verbindung mit einer Chemotherapie erreichen [PFREUNDSCHUH M et al. 2006]. Zwischenzeitlich wurde Rituximab auch als Rezidivtherapie bei Morbus Hodgkin-Patienten eingesetzt. Der Antikörper zeigte bei einigen Patienten Wirkung, allerdings war diese Wirkung nur von kurzer Dauer [REHWALD U et al. 2003].

2.2.3 Monoklonale Antikörper in der Therapie des Hodgkin-Lymphoms

Die durch monoklonale Antikörper forcierte Zell-Lyse würde sich zur Zerstörung der Hodgkin-Zellen aus folgenden Gründen gut eignen:

- 1.) HRS-Zellen exprimieren kontinuierlich eine große Anzahl an möglichen Zielantigenen wie CD25 und CD30.

- 2.) Humane Hodgkin-Lymphome weisen in der Regel nur eine geringe Anzahl an malignen HRS-Zellen auf, dafür aber eine gute Vaskularisierung. Somit wären diese Zellen gut für Antikörper erreichbar.
- 3.) Die Mechanismen des Zelltodes und die Nebenwirkungen der Antikörpervermittelten Zell-Lyse unterscheiden sich komplett von denen der konventionellen Therapie [SCHWAB U et al. 1982, ENGERT A et al. 1990, HORN-LOHRENS O et al. 1995, SCHNELL R et al. 1995].

Der Einsatz eines monoklonalen Antikörpers gegen das CD30-Antigen wurde bereits getestet und zeigte keinen Nutzen. Ursache ist die geringe natürliche Toxizität des Antikörpers [ENGERT A et al. 1990]. Die geringe ursprüngliche (genuine) zytotoxische Aktivität der monoklonalen Antikörper stellt ein generelles Problem für den Einsatz von Antikörpern in der Onkologie dar. Im Gegensatz zur Blockade einzelner Signalwege verfolgt dieser Ansatz die gezielte Zerstörung der Tumorzelle. Zur Steigerung der genuinen Zytotoxizität werden unterschiedliche Strategien entwickelt. Ziel ist die Kombination bestehend aus der hochselektiven Bindung an der Tumorzelle und einer ausreichenden Zytotoxizität zur Beseitigung der Tumorzelle. Die bisherigen Strategien werden im Folgenden dargestellt.

2.2.4 Konjugierte monoklonale Antikörper

Unkonjugierte monoklonale Antikörper (mAbs) zeigten das grundsätzliche Problem eines variablen und gewöhnlich niedrigen zytotoxischen Potentials. Zur Steigerung der genuinen zytotoxischen Aktivität der monoklonalen Antikörper werden zytotoxische Substanzen oder Enzyme an den Tumor gekoppelt. Somit können höhere und länger anhaltende Remissionsraten erreicht werden.

2.2.5 Immuntoxine

Antikörper werden zum gezielten Transport zytotoxischer Substanzen genutzt. Ein Beispiel für dieses Prinzip findet bei der Rezidivtherapie der akuten myeloischen Leukämie (AML) Anwendung. Hierfür wird der Antikörper Gemtuzumab Otagomicin (Mylotarg) eingesetzt [AMADORI S et al. 2005], der aus der Kopplung eines anti-CD33-Antikörpers mit dem Toxin Calicheamicin besteht.

Auch bei der Hodgkin-Erkrankung wurden Immuntoxin-gekoppelte Antikörper in klinischen Studien getestet. 15 Patienten mit einer refraktären Erkrankung erhielten eine Therapie mit einem anti-CD25-Immuntoxin. Als Ergebnis zeigten sich zwei

partielle Remissionen, eine *minor response* und drei Patienten mit *stable disease* [ENGERT A et al. 1997].

2.2.6 Radioimmunkonjugate

Zur Steigerung der ursprünglichen Toxizität von Antikörpern können diese als Träger von radioaktiven Substanzen verwendet werden. Antikörper werden mit einem Beta-Strahler wie z.B. ^{131}I od oder ^{90}Y ttrium bestückt. Durch die spezifische Bindung an ausgewählten Antigenen resultiert eine sehr gezielte Bestrahlung der gebundenen Zellen und deren benachbarten Zellen. Dieser Effekt wird als Kreuzfeuereffekt bezeichnet [SHARKEY et al. 2008].

Ein Beispiel wäre Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin). Zevalin ist ein anti-CD20-Antikörper, an dem über den Chelator Tiuxetan der Betastrahler ^{90}Y ttrium gebunden wurde [DAVIES AJ 2007]. Dieser radioaktive Antikörper ist zur Behandlung eines Rezidivs eines follikulären Lymphoms nach einer Rituximab-haltigen Vortherapie zugelassen. Zevalin wurde auch erfolgreich bei einem Patienten mit einem CD20-positiven Rezidiv eines klassischen Hodgkin-Lymphoms eingesetzt [SCHNELL R et al. 2008].

2.3 Bispezifische Antikörper

Eine weitere Strategie, die genuine Zytotoxizität monoklonaler Antikörper zu steigern, ist die Konstruktion von bispezifischen monoklonalen Antikörpern (Bi-mAb). Hierbei werden Antikörper mittels der Hybrid-Hybridoma-Technik [Milstein C, Cuello AC 1983] hergestellt, die zwei verschiedene *Fab*-Fragmente besitzen. Jedes dieser beiden *Fab*-Fragmente kann an ein anderes Antigen binden. Dieser bispezifische Antikörper besitzt die Fähigkeit, gleichzeitig zwei verschiedene Antigene zu binden und ermöglicht somit therapeutische Anwendungen, die mit konventionellen monoklonalen Antikörpern nicht zu erreichen wären.

Ein bispezifischer monoklonaler Antikörper wäre beispielsweise in der Lage, mit einem *Fab*-Fragment ein Antigen auf einer Tumorzelle und mit dem anderen *Fab*-Fragment eine immunologische Effektorzelle zu binden [STAERZ UD et al. 1987, FANGER MW et al. 1994, RENNER C et al. 1995]. Nachdem der bispezifische monoklonale Antikörper die Tumorzelle und die immunologische Effektorzelle vernetzt hat, wird eine gezielte Zerstörung der Tumorzelle induziert. Dieses Konzept der bispezifischen monoklonalen Antikörper stellte seine Effizienz in mehreren Tumorsystemen *in-vitro* und am Tiermodell *in-vivo* unter Beweis [HOMBACH et al.

1993, RENNER C et al. 1994, RENNER C et al. 1996]. Immunologische Effektorzellen, die von solchen bispezifischen Antikörpern aktiviert werden können, wären Granulozyten, Makrophagen, natürliche Killerzellen und T-Zellen [GARRIDO MA et al. 1990, FERRINI S 1991, SEGAL DM et al. 1992, FLIEGER D et al. 2000, SHAN D et al. 2000].

Ein Beispiel eines bispezifischen Antikörpers, der in einer Phase I/II seine Wirksamkeit demonstriert hat, ist Catumaxomab. Dieser Antikörper besteht jeweils zur Hälfte aus einem IgG der Maus und einem IgG der Ratte [BURGES A et al. 2007]. Mit einem *Fab*-Arm bindet der Antikörper an EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule), ein Epithelzell-Adhäsionsmolekül, und mit dem anderen *Fab*-Arm an CD3. Somit werden EpCAM-tragende Zellen und T-Zellen vernetzt. EpCAM befindet sich an der basalen Membran der meisten epithelialen Gewebe. Dieses Adhäsionsmolekül wird auch von einigen Tumorgeweben exprimiert, wie z.B. Kopf-Hals-Tumoren, Ovarial-, Brust-, Kolon- und Lungenkarzinomen [ODASHIRO DN et al. 2006]. Wegen der zusätzlichen Wirkung, die über die Aktivierung weiterer immunologischer Effektorzellen, wie z.B. dendritischer Zellen, durch Bindung des Fc-Fragment entsteht, wird dieser Antikörper auch als trifunktionaler Antikörper bezeichnet [BURGES A et al. 2007]. Der Antikörper wurde erfolgreich intraperitoneal bei Patienten mit Ovarialkarzinom und malignem Ascites eingesetzt.

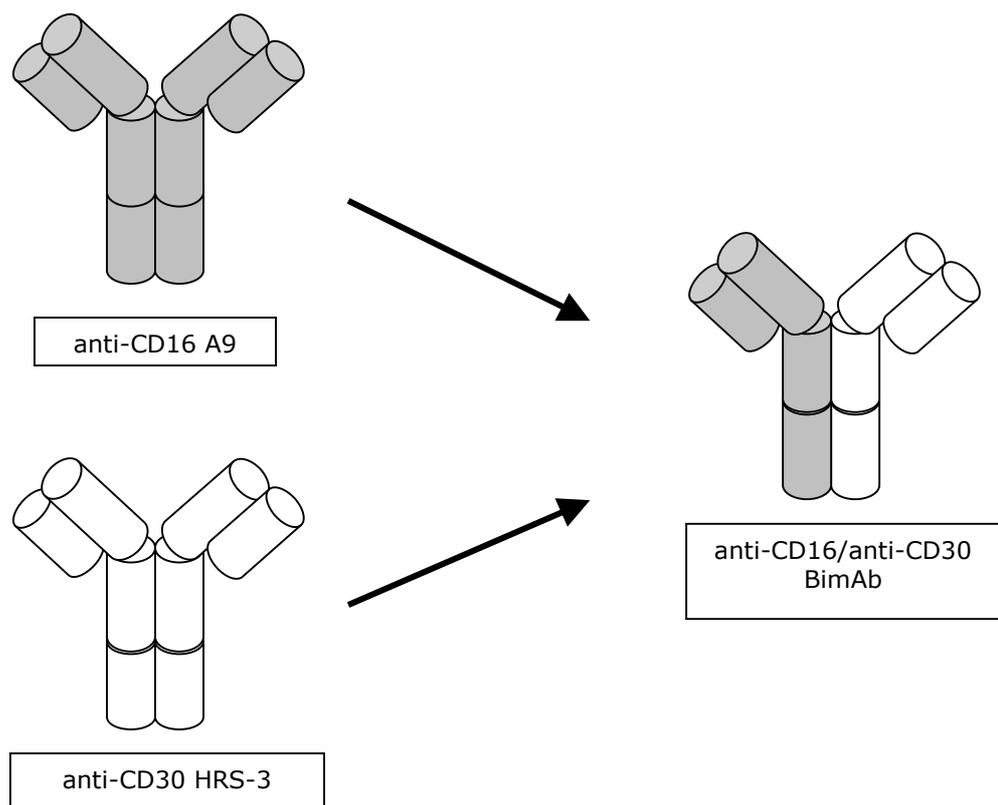
Ein ähnlich konzipierter Antikörper, Ertumaxomab, bindet mit einem *Fab*-Arm an HER2 und mit dem anderen *Fab*-Arm an CD3. Auch dieser Antikörper kann über den Fc-Anteil weitere Effektorzellen aktivieren. In einer Phase I-Studie wurde der Antikörper bei Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom eingesetzt. Ein Drittel der Patientinnen zeigte ein Ansprechen des Tumors auf die Therapie. Die maximal tolerierte Dosis (MTD) betrug 100 µg [KIEWE P et al. 2006]. Aktuell erfolgt eine Untersuchung im Rahmen einer Phase II-Studie [KIEWE P et al. 2008]. Zudem zeigte Ertumaxomab auch bei einer niedrigen Dichte an HER2/neu-Antigenen zytotoxische Aktivität [JÄGER M et al. 2009].

2.3.1 Bispezifischer anti-CD16/anti-CD30-Antikörper (BimAb)

Zur gezielten Eliminierung von CD30-positiven HL-Zellen wurde ein bispezifischer anti-CD16/anti-CD30-Antikörper (BimAb) aus dem ursprünglichen anti-CD30-Antikörper (HRS-3) und dem anti-CD16-Antikörper (A9) entwickelt. Dieser Antikörper zeigt bereits seine zytotoxischen Eigenschaften gegenüber CD30 positiven Hodgkinzellen *in-vitro* als auch *in-vivo* [HOMBACH et al. 1993, RENNER C et al. 1994]. Über die Bindung am CD16-Antigen kommt es zu einer Vernetzung und Aktivierung von natürlichen Killerzellen (NK-Zellen).

In den letzten Jahren wurden zwei klinische Studien mit einem bispezifischen anti-CD16/anti-CD30-Antikörper bei HL-Patienten durchgeführt. Hier konnte in einer Patientengruppe, die gegenüber den Standardtherapeutika resistent war, eine Ansprechrate von 29% gezeigt werden. Die Therapie wurde gut vertragen. Lediglich bei 6 Patienten trat Fieber Grad I bis II auf [HARTMANN F et al. 1997, 2001].

Aufgrund der begrenzten Verfügbarkeit des bispezifischen Antikörpers konnte die maximal tolerierte Dosis (MTD) nicht erreicht werden. Die bisher maximal applizierte Dosis lag bei 64 mg/m^2 . Die eingeschränkte Verfügbarkeit lag an der aufwendigen Herstellung. Aus 44 g Mäuse-Immunglobulinen, die in einem 35 Liter fassenden Fermenter produziert wurden, konnten nur 2,8 g an funktionsfähigem BimAb gewonnen werden [HARTMANN F et al. 2001]. Eine klare Dosis-Wirkungs- oder Dosis-Toxizitäts-Beziehung oder ein immunologischer Parameter, der eine Aussage über ein mögliches Therapieansprechen zulassen würde, konnte in keiner der beiden Studien definiert werden [HARTMANN F et al. 1997, 2001].



2.3.2 CD30-Antigen

Das CD30-Antigen ist als Mitglied der TNF-Rezeptor-Superfamilie ein integrales Membranglykoprotein und wird bei den meisten Hodgkin-Lymphomen auf den Hodgkin- und Reed-Sternberg-Zellen exprimiert. Zudem findet sich das CD30-Antigen auf der Oberfläche einer kleinen Population von aktivierten T-Zellen [ELLIS TM et al. 1993, GILFILLAN MC et al. 1998]. Obwohl seine Funktion immer noch zum größten Teil unbekannt ist, nimmt man an, dass es sowohl in Abläufe des Zelltodes als auch der Zellproliferation eingebunden ist [SMITH CA et al. 1993, LEE SY et al. 1996]. Das CD30-Antigen kann als ein diagnostischer Marker bei der Behandlung des Hodgkin-Lymphoms verwendet werden.

Sein spezifisches Expressionsprofil führte zur Etablierung dieses Antigens als eine ideale Zielstruktur für die Immuntherapie [ANAGNOSTOPOULOS I et al. 2000, SCHNELL R et al. 1995]. CD30-Antikörper zeigten bereits Erfolge bei *In-vitro*- und *In-vivo*-Versuchen mit hämatologischen Erkrankungen wie dem anaplastischen Großzell-Lymphom (ALCL). Allerdings konnte kein Wachstumsstopp CD30-positiver Hodgkin-Zellen erzielt werden. Beobachtungen von GRUSS et al. zeigten, dass das Wachstum der Hodgkin-Zellen sogar durch einen CD30-Antikörper stimuliert wurde [GRUSS HJ et al. 1994].

2.3.3 CD16-Antigen

Das CD16-Antigen stellt die extrazelluläre Domäne des Fc[gamma]-Rezeptor III auf natürlichen Killerzellen (NK) und mononuklearen Phagozyten dar. Die Bindung des anti-CD16/anti-CD30 BimAb an diesen Rezeptor und an eine CD30-positive Zelle bewirkt die Aktivierung der NK-Zelle und die spezifische, durch NK-Zellen vermittelte Lyse der CD30-positiven Zielzellen [HARTMANN F et al. 1997, 2001].

Da Mäuse keine natürlichen CD16-positiven Zellen besitzen, konnte die Biodistribution bezüglich der anti-CD16-Seite des BimAb und des parentalen anti-CD16-Antikörpers A9 nicht getestet werden.