

- [26] Loveday C, Turnbull C, Ramsay E et al. Germline mutations in RAD51D confer susceptibility to ovarian cancer. *Nature Genetics* 2011; 43 (9): 879–882
- [27] Loveday C, Turnbull C, Ruark E et al. Germline RAD51C mutations confer susceptibility to ovarian cancer. *Nature Genetics* 2012; 44(5): 475–476; author reply 6
- [28] Mavaddat N, Barrowdale D, Andrulis IL et al. Pathology of breast and ovarian cancers among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2 (CIM-BA). *Cancer Epidemiology, Biomarkers&Prevention: Publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2012; 21 (1): 134–147
- [29] Mavaddat N, Peock S, Frost D et al. Cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: results from prospective analysis of EMBRACE. *Journal of the National Cancer Institute* 2013; 105 (11): 812–822
- [30] Mavaddat N, Pharoah PD, Michailidou K et al. Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants. *Journal of the National Cancer Institute* 2015; 107 (5)
- [31] Meindl A, Hellebrand H, Wiek C et al. Germline mutations in breast and ovarian cancer pedigrees establish RAD51C as a human cancer susceptibility gene. *Nat Genet* 2010; 42 (5): 410–414
- [32] Moorman PG, Havrilesky LJ, Gierisch JM et al. Oral contraceptives and risk of ovarian cancer and breast cancer among high-risk women: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology* 2013; 31 (33): 4188
- [33] Osorio A, Endt D, Fernandez F et al. Predominance of pathogenic missense variants in the RAD51C gene occurring in breast and ovarian cancer families. *Human Molecular Genetics* 2012; 21 (13): 2889–2898
- [34] Park DJ, Lesueur F, Nguyen-Dumont T et al. Rare mutations in XRCC2 increase the risk of breast cancer. *American Journal of Human Genetics* 2012; 90 (4): 734–739
- [35] Pennington KP, Walsh T, Harrell MI et al. Germline and somatic mutations in homologous recombination genes predict platinum response and survival in ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinomas. *Clinical Cancer Research: Official Journal of the American Association for Cancer Research* 2014; 20 (3): 764–775
- [36] Ramus SJ, Song H, Dicks E et al. Germline Mutations in the BRIP1, BARD1, PALB2, and NBN genes in women with ovarian cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2015; 107 (11)
- [37] Rebbeck TR, Levin AM, Eisen A et al. Breast cancer risk after bilateral prophylactic oophorectomy in BRCA1 mutation carriers. *Journal of the National Cancer Institute* 1999; 91 (17): 1475–1479
- [38] Rebbeck TR, Mitra N, Wan F et al. Association of type and location of BRCA1 and BRCA2 mutations with risk of breast and ovarian cancer. *JAMA* 2015; 313 (13): 1347–1361
- [39] Rhiem K, Engel C, Graeser M et al. The risk of contralateral breast cancer in patients from BRCA1/2 negative high risk families as compared to patients from BRCA1 or BRCA2 positive families: a retrospective cohort study. *Breast Cancer Research (BCR)* 2012; 14 (6): R156
- [40] Rhiem K, Wappenschmidt B, Bosse K et al. Platinum sensitivity in a BRCA1 mutation carrier with advanced breast cancer. *Clinical Oncology* 2009; 21 (6): 448–540
- [41] Robert-Koch-Institut. Prognose. Zentrum für Krebsregisterdaten. Im Internet: www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Krebsregisterdaten/krebs_node.html; Stand: 14.06.2016
- [42] Schnurbein G, Hauke J, Wappenschmidt B et al. RAD51C deletion screening identifies a recurrent gross deletion in breast cancer and ovarian cancer families. *Breast Cancer Research (BCR)* 2013; 15 (6): R120
- [43] Stevens KN, Vachon CM, Couch FJ. Genetic susceptibility to triple-negative breast cancer. *Cancer Research* 2013; 73 (7): 2025–2030
- [44] Sun J, Wang YX, Xia YS et al. Mutations in RECQL gene are associated with predisposition to breast cancer. *PLoS Genetics* 2015; 11 (5)
- [45] Thompson ER, Doyle MA, Ryland GL et al. Exome sequencing identifies rare deleterious mutations in DNA repair genes FANCC and BLM as potential breast cancer susceptibility alleles. *PLoS Genetics* 2012; 8 (9): e1002894
- [46] Tumorregister München. Im Internet: www.tumorregister-muenchen.de; Stand: 14.06.2016
- [47] Tutt A, Kilburn L, Gillett C et al. TNT: A randomized phase III trial of carboplatin compared with docetaxel for patients with metastatic or recurrent locally advanced triple negative or BRCA1/2 breast cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium, December 9–13, 2014*
- [48] Tutt A, Robson M, Garber JE et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet* 2010; 376 (9737): 235–244
- [49] Walsh CS. Two decades beyond BRCA1/2: Homologous recombination, hereditary cancer risk and a target for ovarian cancer therapy. *Gynecologic Oncology* 2015; 137 (2): 343–350
- [50] Walsh T, Casadei S, Lee MK et al. Mutations in 12 genes for inherited ovarian, fallopian tube, and peritoneal carcinoma identified by massively parallel sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 2011; 108 (44): 18032–18037
- [51] Wickramanyake A, Bernier G, Pennil C et al. Loss of function germline mutations in RAD51D in women with ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology* 2012; 127 (3): 552–555
- [52] Zentrum Familiärer Brust- und Eierstockkrebs, Uniklinik Köln. Frequenz basierend auf nicht publizierten Daten des Zentrums Köln

4.3 Molekulare Grundlagen der Metastasierung am Beispiel des Mammakarzinoms

T. Fehm, B. Jäger, H. Neubauer, S. Schultz

4.3.1 Allgemeines zum Krankheitsbild

Trotz deutlicher Verbesserungen in der Früherkennung und Therapie des Mammakarzinoms entwickeln bis zu 30% der Mammakarzinom-Patientinnen im weiteren Verlauf eine Metastasierung, die i. d. R. für die karzinomassoziierten Todesfälle verantwortlich ist. 5–10% der Mammakarzinom-Patientinnen weisen bereits bei Primärdiagnose ein metastasiertes Karzinom auf [7], [17]. Die Wahrscheinlichkeit für ein 5-jähriges Überleben nach Diagnose einer Fernmetastase liegt unter 20% und konnte im letzten Jahrzehnt trotz signifikanter klinischer und technologischer Fortschritte nicht wesentlich verbessert werden. Aus diesem Grunde stellt die Metastasierung eines Mammakarzinoms nach wie vor eine unheilbare Krankheit dar [45]. Grundsätzlich jedoch handelt es sich bei der metastasierten Mammakarzinom-Erkrankung um eine sehr heterogene Entität, bei der hochaggressive Krankheitsverläufe einerseits, sehr milden und z. T. eher chronisch anmutenden Krankheitsverläufen andererseits gegenüberstehen.

4.3.2 Datenlage aus der Grundlagenforschung

Tumorprogression

Die Progression eines Tumors ausgehend von einer frühen präneoplastischen Läsion über ein invasives Stadium bis hin zu klinisch nachweisbaren entfernten Metastasen stellt einen evolutionären Prozess dar, der mehrere genetische und epigenetische Veränderungen beinhaltet. Diese betreffen sowohl die Tumorzellen als auch das umliegende Stroma, welches das Ansiedeln der Metastasen an entfernten Stellen unterstützen kann. Insgesamt stellen die einzelnen Schritte zur Metastasierung komplexe und vielschichtige Selektionsprozesse dar, die dazu führen, dass die Metastasierung höchst ineffizient ist. So müssen die Zellen des Primärtumors komplexe physikalische Barrieren wie z. B. die extrazelluläre Matrix, die Basalmembran und das Endothel der Blutgefäße überwinden. Sie müssen ins umliegende Gewebe, das lymphatische System oder das Blutgefäßsystem einwandern und darin überleben können. Ebenso müssen sie diese Umgebungen wieder verlassen und in entfernte Organe infiltrieren können, um dort eine entsprechende Metastase durch Proliferation bilden zu können [51]. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine zirkulierende Tumorzelle (ZTZ) eine Tumorkolonie in einem entfernten Organ gründet, ist äußerst gering und die meisten Zellen, die einen Tumor verlassen, gehen zugrunde [31]. Im Tierexperiment überleben weniger als 0,02% der ZTZ, die dann die Fähigkeit haben, Metastasen zu bilden [9].

Zudem setzen sich Mammakarzinome aus heterogenen Zellpopulationen mit möglicherweise unterschiedlichen Metastasierungspotenzialen zusammen. Man geht davon aus, dass diese Fähigkeit sowohl von der Ursprungszelle („Tumorstammzelle“) als auch von der Art der onkogenen Veränderungen im Tumor bestimmt wird. So können die gleichen onkogenen Mutationen in Zellen verschiedener Differenzierungsstadien oder Abstammung zu unterschiedlichen metastasierenden Potenzialen führen [35], [51]. Auch die Art der sog. onkogenen „Driver-Mutation“ beeinflusst die Fähigkeit eines Tumors zur Metastasierung.

Derzeit existieren unterschiedliche Modelle für eine Metastasierung, die im Folgenden vorgestellt werden.

Lineares Modell der Tumorprogression

Lange Zeit wurde die Metastasierung als spätes Ereignis im Lauf der Tumorprogression angesehen, d. h. erst wenn der Tumor eine bestimmte Größe erreicht und damit genomische Veränderungen angehäuft hat, entwickelt er das Potenzial Metastasen zu bilden [9]. In der Tat ist die Größe des Primärtumors ein Risikofaktor für eine metastatische Progression und unterstützt indirekt das sog. lineare Modell der Tumorprogression [25]. So sind beispielsweise Mutationen von p53 in T1-Tumoren relativ

selten und treten signifikant häufiger in T3-Tumoren auf [38].

Das lineare Modell der Tumorprogression besagt, dass Subklone sequenzielle Selektionsprozesse im Primärtumor durchlaufen, bei denen der Malignitätsgrad der Tumorzellen durch schrittweise genetische und epigenetische Veränderungen gesteigert wird. Am Ende dieses linearen Selektionsprozesses besitzen einzelne Tumorzellen die Fähigkeit den Primärtumor zu verlassen, um in peripheren Organen Metastasen zu bilden (Metastatic Cascade, ► Abb. 4.11 oben). Von dort aus können Tumorzellen mit entsprechendem genetischem Profil ggf. auch sekundäre Metastasen bilden.

Untermauert wird dieses Modell durch Ergebnisse aus Genomanalysen, die ähnliche Genexpressionssignaturen zwischen Metastasen und ihren entsprechenden primären Tumoren zeigen [53]. Klinisch bereitet dieses Modell die theoretische Grundlage für Früherkennungsprogramme (z.B. Mammografie-Screening), um das Risiko einer Metastasierung zu reduzieren.

Paralleles Modell der Tumorprogression

Im Gegensatz hierzu steht das parallele Progressionsmodell, bei dem die Tumorzellen die Fähigkeit zur Metastasierung schon sehr früh während der Tumorgenese entwickeln, wenn der Primärtumor noch sehr klein oder noch nicht klinisch manifest ist (► Abb. 4.11 unten) [19], [40]. Somit besitzen Tumorzellen schon im frühesten Stadium der Erkrankung die Fähigkeit den Primärtumor zu verlassen, über das Lymph- oder Blutgefäßsystem zu sekundären Organen zu gelangen und dort Metastasen zu bilden [24].

Unterstützt wird dieses Modell durch Experimente am Mausmodell. So konnten bei transgenen Mäusen Tumorzellen im Knochenmark, noch vor dem Auftreten eines klinisch manifesten Tumors, nachgewiesen werden. Darüber hinaus können bei Patientinnen mit einem duktalem In-situ-Karzinom Zytokeratin-positive Zellen, die sich zytomorphologisch als Tumorzellen darstellen, im Knochenmark nachgewiesen werden. Daher müssen Veränderungen, die zur Metastasierung der Tumorzellen führen, bereits früh während der genetischen Evolution der Zellen auftreten [19]. Auch hier gibt es unterstützende Daten, die signifikante genetische Unterschiede zwischen Primärtumor und Lymphknotenmetastasen zeigen [47], [49].

Andererseits könnten gleiche Faktoren des Microenvironments eine konvergente Evolution von Primärtumor und Metastase bewirken. Hinweise dafür sind, dass in Abhängigkeit vom Ort der Metastasierung in Tumorzellen charakteristische Genprofile nachgewiesen wurden [32].

Die klinische Konsequenz ist, dass es sich beim Mammakarzinom um eine systemische Erkrankung handelt, die einer systemischen (adjuvanten) Behandlung bereits ihrem Frühstadium bedarf [15], [19].

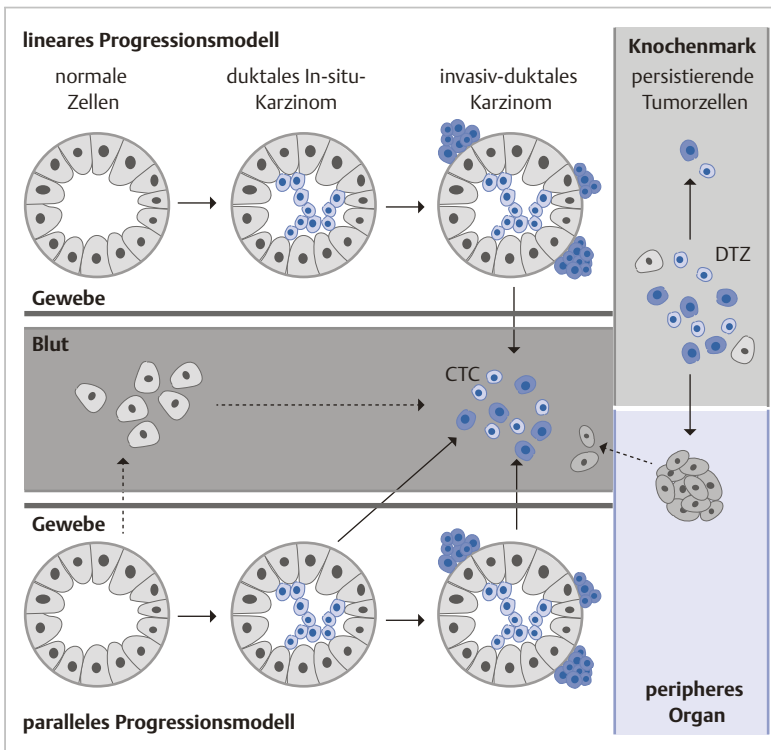


Abb. 4.11 Lineares und paralleles Modell der Tumorentstehung im Vergleich. Beim linearen Progressionsmodell (oben) lösen sich die invasiven Zellen erst spät aus dem Zellverband des Primärtumors und gelangen als metastasierende, zirkulierende Tumorzellen in den Blutkreislauf. Dagegen lösen sich die Tumorzellen während des parallelen Progressionsmodells (unten) schon früh aus dem Zellverband und migrieren ins Blut. Von hier aus können sie im Knochenmark persistieren oder Metastasen in peripheren Organen bilden.

4.3.3 Molekulare Pathophysiologie

Um in peripheren Organen Metastasen bilden zu können, müssen Tumorzellen einige essenzielle Schritte durchlaufen – beginnend mit der Migration in das den Primärtumor umliegende Gewebe und den Übergang und das Überleben im Blutkreislauf. Bei Eintritt in den Blutstrom sind die meisten Tumorzellen bereits apoptotisch oder werden durch Scherkräfte bzw. das Immunsystem eliminiert [18]. Final erfolgen die Invasion und die Ansiedlung im Milieu des Zielorgans.

Diese **Metastasierungskaskade** wird von Genen reguliert, die die Metastasierung fördern, aber auch supprimieren können.

Um ein Fortschreiten der Tumorentstehung zu gewährleisten und den Vorgang der Metastasierung zu starten, ist die Regulation von „**Metastasen-Initiatorgenen**“ wichtig. Sie erlauben aggressiven Zellen ins umliegende Gewebe einzuwandern, unterstützendes Stroma zu rekrutieren, die Streuung der Tumorzellen im Organismus und ihre Infiltration in eine metastatische Nische. Da hierbei Veränderungen in der Adhäsion und Interaktion der Zellen der extrazellulären Matrix (ECM) essenziell sind, spielt z. B. E-Cadherin, das von Epithelzellen exprimiert wird und für die Aufrechterhaltung von Zell-Zell-Kontakten verantwortlich ist, eine wichtige Rolle [8], [28], [54]. Im Gegensatz dazu wird N-Cadherin von Mesenchymzellen exprimiert und verhindert die Adhäsion von Tumorzellen an die Zellen der ECM, sodass die Tumorzellen

mobil bleiben. Neben E-Cadherin und N-Cadherin ist die Expression weiterer Gene, die bei der epithelial-mesenchymalen Transition (EMT) beteiligt sind, wichtig (z. B. TWIST 1, SNAI1, SNAI2) [35], [36], [51], [52]. Zusätzlich vermitteln Matrix-Metalloproteinasen und Integrine den Abbau der ECM an der Invasionsfront des Tumors [23].

Durch Genexpressionsanalysen konnte gezeigt werden, dass derartige „**Metastasen-Initiatorgene**“ bereits im Primärtumor exprimiert werden und mit einem schlechten Outcome assoziiert sind [35].

In die zweite Gruppe fallen Gene, die die Metastasierung fortschreiten lassen. Sie re-initiiieren z. B. das Tumorentstehung im eingewanderten Parenchym des spezifischen Zielorgans [35]. Derartige „**Metastasen-Progressionsgene**“ sind beispielsweise Prostaglandin-Endoperoxid-Synthase 2 (PTGS2) [4], Epireregulin (EREG) [13], Lysyl-Oxidase (LOX) [12] und Claudin 2 (CLDN2) [48], die auch als interessante Kandidaten für eine zielgerichtete Therapie behandelt werden.

Um final im Microenvironment des Zielorgans überleben und proliferieren zu können, exprimieren Tumorzellen sog. „**Metastasen-Virulenzgene**“. Sie statten die disseminierten Zellen mit der Kompetenz aus, das Zielorgan zu kolonisieren. So metastasieren Tumorzellen des Mammakarzinoms bevorzugt ins Knochenmark der Patientinnen. Hier werden Gene exprimiert, die Proteine kodieren, die als Osteoklasten-mobilisierende Faktoren dienen, wie Interleukin 11 (IL 11) und Vascular Cell Adhe-

sion Molecule 1 (VCAM-1). Dadurch wird der Abbau der Knochenmatrix gefördert und die Migration, Invasion und Progression der gestreuten Tumorzellen begünstigt [22], [29].

Im Gegensatz zu den onkogenen Eigenschaften, die die Metastasierung fördern, können Tumorzellen **Metastasen-Suppressorgene** exprimieren, die in den peripheren Organen die eigene Latenzzeit verlängern und die Fähigkeit zur Proliferation regulieren. Die klinische Latenzzeit ist definiert als das Zeitintervall zwischen Entfernung des Primärtumors und nachfolgendem klinischem Wiederauftreten der Erkrankung in Patientinnen, die krankheitsfrei waren. Lange krankheitsfreie Intervalle von bis zu 20 Jahren nach Primärerkrankung sind insbesondere bei Brustkrebs beschrieben. Entsprechend gibt es Anstrengungen die molekularen Mechanismen zu charakterisieren, die diese Latenzzeit bewirken, um therapeutische Strategien für eine dauerhafte Dormancy zu erzielen [50]. Zu den metastasensupprimierenden Genen zählen z.B. Cystatin-6 (CST6), ein lösliches Protein, das von Tumorzellen sezerniert wird und deren Mobilität stark reduziert [21], Retinoic Acid Receptor Responder Protein 3 (RARRES3), das die Zell-Adhäsion bei Lungenmetastasen verhindert [33], oder Kisspeptin-10 (KISS-10), das die Migration von Tumorzellen im Knochenmark inhibiert [37].

4.3.4 Klinischer Bezug

Bei Brustkrebspatientinnen treten Metastasen teils bereits bei Erstdiagnose oder kurz nach Entstehung des Tumors auf, teils jedoch erst viele Jahre nach adjuvanter Behandlung der Primärerkrankung. Trotz optimal gewählter adjuvanter Therapie (operative Entfernung des Primärtumors, adjuvante Chemotherapie sowie je nach Tumorbiologie endokrine bzw. HER2-zielgerichtete Therapie) sind bei Brustkrebspatientinnen Metastasen sogar Dekaden nach Erstdiagnose beschrieben. Essenzielle Voraussetzung für ein Wiederauftreten einer Tumorerkrankung ist das Zurückbleiben von primär therapeutisch nicht erfassten oder resistenten Tumorzellen im Körper. Diese über einen längeren Zeitraum latent bleibenden Tumorzellen werden als Dormant Cells bezeichnet.

Um dazu beizutragen die Mechanismen der Metastasierung besser zu verstehen, ist daher in den letzten Jahren großes Augenmerk auf die Erforschung der minimalen Resterkrankung (MRD) gelegt worden. Bei Brustkrebspatientinnen können disseminierte Tumorzellen (DTZ) im Knochenmark (KM) mit prognostischer Relevanz detektiert werden [6]. Sie werden als Surrogatmarker für eine MRD gewertet. Auch nach Abschluss einer adjuvanten Therapie ist die Tumorzellpersistenz im KM mit einer schlechten Prognose assoziiert und gilt als Marker für ein erhöhtes Metastasierungsrisiko [5], [20], [55]. Insbesondere beim Mammakarzinom ist der Knochen ein häufiger Metastasierungsort, da Tumorzellen in der ECM einen idealen Nährboden finden und – wie zuvor be-

schrieben – den Knochenstoffwechsel zu ihren Gunsten beeinflussen können. Welche Faktoren schließlich dazu beitragen, dass die Latenzphase bis zum Wiederauftreten der Tumorerkrankung endet und DTZ zur Bildung manifester Metastasen führen, ist bisher noch unklar. Es werden daher Anstrengungen unternommen, durch Beeinflussung der ECM oder personalisierter zielgerichteter Therapien diese Latenzzeit zu verlängern (s. Kap. 4.3.5). Zum Therapiemonitoring eignen sich DTZ aufgrund der invasiven Nachweismethode mittels Knochenmarkpunktion allerdings nur eingeschränkt.

Neben den DTZ gilt jedoch auch der Nachweis von ZTZ im peripheren Venenblut als Ausdruck einer MRD. Die prognostische Relevanz von ZTZ konnte ebenfalls anhand von gepoolten Analysen für das metastasierte Mammakarzinom und kürzlich auch durch 2 unabhängige Studien für das primäre Mammakarzinom gezeigt werden [30], [43]. Aktuell ist die Bestimmung von ZTZ noch nicht Teil der klinischen Routine. Die Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Mamma bewertet den Einsatz mit „±“ und empfiehlt die Anwendung derzeit nur im Rahmen klinischer Studien oder in Einzelfällen zur Entscheidungsfindung. Bemerkenswerterweise entwickeln nicht alle Patientinnen mit ZTZ/DTZ immer eine Fernmetastasierung. Bisher ist nicht geklärt, wie sich ZTZ/DTZ mit Potenzial zur Metastasenbildung und damit klinischer Relevanz von ZTZ als temporäre Erscheinung ohne aggressives Potenzial unterscheiden lassen. Dies gilt es in weiterführenden Forschungsprojekten zu untersuchen, um die Metastasierungskaskade besser verstehen und therapeutisch eingreifen zu können.

4.3.5 Therapeutische Ansätze

Nach wie vor besteht hoher Bedarf die adjuvante Therapie beim Mammakarzinom zu optimieren, da v.a. Chemotherapeutika nur schnell teilende Zellen erfolgreich eliminieren. Schlafende (dormant) Tumorzellen werden entsprechend nur bedingt durch einen chemotherapeutischen Ansatz beeinflusst. Aus diesem Grund hat in den letzten Jahren v.a. die zielgerichtete Therapie signifikant an Bedeutung gewonnen. Um Therapie und Prävention von Metastasen zu verbessern, kommen einerseits personalisierte Therapien, andererseits Substanzen zur Beeinflussung der ECM zum Einsatz. Etablierte semipersonalisierte Therapien, wie endokrine oder HER2-zielgerichtete Therapien, werden schon einige Jahre – je nach Tumorbiologie – bei bestimmten Subgruppen eingesetzt.

Trastuzumab ist ein Antikörper, der gegen HER2 gerichtet ist. Er ist inzwischen Standard bei der Behandlung des HER2-positiven Mammakarzinoms und verlängert, wenn er über 1 Jahr nach Chemotherapie oder mit einem Beginn parallel zur taxanhaltigen Chemotherapie appliziert wird, signifikant das Überleben [41]. Dennoch kommt es bei einem Teil der Patientinnen zu einer Resis-

tenz gegenüber Trastuzumab [42]. Eine mögliche Strategie zur Überwindung dieser Resistenz ist die kombinierte HER2-Blockade.

Aktuell wird die **Kombination** der Antikörper **Trastuzumab** und **Pertuzumab** am häufigsten eingesetzt. Die Rationale für ihre gemeinsame Verwendung basiert auf ihren unterschiedlichen, jedoch komplementären Wirkmechanismen:

- **Trastuzumab** blockiert die ligandenunabhängige Dimerisierung des HER2-Rezeptors und bewirkt zusätzlich eine antikörperabhängige zelluläre Toxizität (Dependent Cell-mediated Cytotoxicity, ADCC), indem es an die extrazelluläre Domäne des HER2 bindet. Ein Einfluss auf die ligandenabhängige HER2-Heterodimerisierung ist allerdings nicht beschrieben.
- **Pertuzumab** führt ebenfalls zu ADCC [46]. Zusätzlich spielt es noch eine zentrale Rolle bei der Blockade der ligandenabhängigen HER2-Heterodimerisierung, indem es an den Dimerisierungsarm des HER2-Rezeptors bindet [27].

Die Kombination von Trastuzumab und Pertuzumab blockiert entsprechend synergistisch das Tumorstadium sowohl in vitro als auch in vivo [34], [46]. Im metastasierten Setting hat sich die Doppelblockade bereits bewährt: Patientinnen mit einem metastasierten Mammakarzinom weisen nicht nur ein verlängertes PFS, sondern auch verbessertes Gesamtüberleben unter der dualen Blockade auf [3]. In der adjuvanten Therapiesituation muss sich dies noch zeigen. Eine weitere Möglichkeit der dualen HER2-Blockade ist die **Kombination** aus **Trastuzumab** und **Lapatinib**. Da Lapatinib intrazellulär die Tyrosinkinasedomäne von HER2 blockiert, greifen auch diese Substanzen an unterschiedlichen Stellen des Rezeptors an und wirken so synergistisch. Zudem wurde gezeigt, dass Lapatinib das Potenzial hat, die Bildung zerebraler Metastasen zu verhindern [16].

Weitere zielgerichtete Therapien, die im Zellzyklus eingreifen und eine Proliferation verhindern, sind derzeit in Erprobung: z. B. Inhibitoren für zyklinabhängige Kinasen (CDK 4/6), für PI3-K-Inhibitoren (Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate-3-Kinase) oder Inhibitoren für mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) [39]. Häufig werden diese zielgerichteten Therapien mit endokrinen Therapien kombiniert.

Eine andere Strategie zur Verlängerung der Latenzzeit ist die erweiterte adjuvante Therapie, die eine Therapiedauer der endokrinen Therapie von insgesamt 10 Jahren anstatt der etablierten 5-jährigen Behandlung vorsieht. Hintergrund ist, dass 50% der Metastasen erst nach 5 Jahren auftreten. Diese Spätmetastasierung ist insbesondere beim Mammakarzinom ein relevantes Phänomen. Durch eine erweiterte Therapie soll die Reaktivierung von Dormant Cells vermieden werden. Klinische Studiendaten bestätigen dieses Konzept [11].

Jedoch kann trotz optimal gewählter adjuvanter Therapie basierend auf dem Phänotyp des Primärtumors die

MRD teils nicht effektiv eliminiert werden. Um mithilfe zielgerichteter Therapien im Idealfall jeder Patientin die optimal wirksame Therapie zu verabreichen und möglichst nicht wirksame Therapie und deren Nebenwirkungen zu vermeiden, muss eine weitere Selektion stattfinden. Entsprechend stammen neue interessante Strategien aus dem translationalen Forschungsbereich. Mittlerweile findet eine umfangreiche Phänotypisierung und Genotypisierung der ZTZ statt. Marker, die für die Therapie des Mammakarzinoms entscheidend sind (wie z. B. Östrogen-, Progesteronrezeptor und HER2), können auf DTZ/ZTZ nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass sich sowohl Metastasen als auch MRD bzgl. ihres Hormonrezeptor- oder HER2-Status vom Primärtumor unterscheiden können [2], [14], [44]. Da ZTZ der Ursprung möglicher Metastasen sein können, könnte so die Anpassung der adjuvanten Therapie ein Wiederauftreten der Tumorerkrankung unterdrücken. Der Einsatz einer solchen Therapie, basierend auf Markern der MRD, wird in aktuellen Studien untersucht. ZTZ weisen z. B. häufiger als der Primärtumor eine HER2-Expression auf. Aus diesem Grund ist die TREAT CTC ein interessantes Studienkonzept. Patientinnen mit HER2-negativem Primärtumor erhalten nach abgeschlossener Chemotherapie zusätzlich Trastuzumab mit der Idee, die MRD über eine zielgerichtete Therapie zu eliminieren. Zudem kann die einfache Re-Evaluation im Krankheitsverlauf durch Bestimmung dieser Marker auf ZTZ im Sinne einer Liquid Biopsy von entscheidender Bedeutung sein.

Darüber hinaus werden zusätzliche therapeutische Interventionen zum Einsatz kommen müssen, da ZTZ/DTZ häufig einen triple-negativen Status aufweisen und daher die etablierten zielgerichteten Therapien nicht zum Einsatz kommen können. Ein wichtiger Ansatzpunkt ist die Beeinflussung der mikrometastatischen Nische, sodass Tumorzellen sich nicht weiterentwickeln können. In dem komplexen Mechanismus der Metastasierung spielt auch die Angiogenese eine wichtige Rolle. Allerdings zeigten bis dato Antikörper, welche die Angiogenese inhibieren, nur im metastasierten Setting einen Effekt. Sehr vielversprechend sind hingegen **Bisphosphonate**, die die mikrometastatischen Nischen so verändern, dass nachweislich DTZ aus dem KM eliminiert werden. Bisphosphonate sind aktuell die Standardtherapie zur Prävention und Behandlung von Knochenmetastasen [1], [26]. Sie lagern sich an mineralisierte Oberflächen (wie Knochen) an und blockieren so die durch Osteoklasten induzierte Knochenresorption. Auf diese Weise wird verhindert, dass für das Wachstum der Tumorzellen wichtige Zytokine aus dem Knochen freigesetzt werden [10]. Entsprechend können die Progression vorhandener Läsionen und das Auftreten neuer Knochenmetastasen gehemmt werden. Klinische Daten bestätigen diesen Effekt, da postmenopausale Patientinnen unter einer Bisphosphonattherapie ein verbessertes klinisches Outcome aufweisen. Mittlerweile ist die adjuvante Bisphosphonatgabe auch in die Therapieempfehlungen der AGO aufgenommen worden.

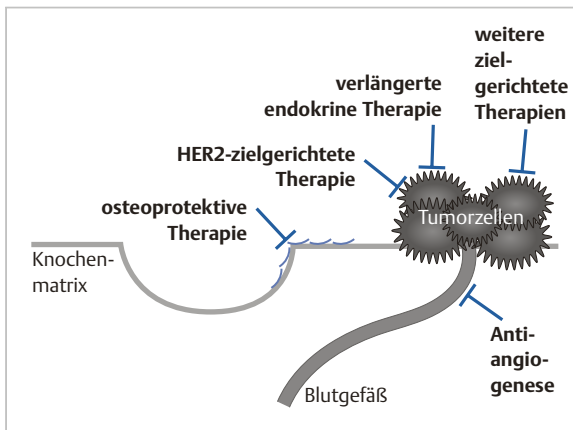


Abb. 4.12 Tumorzellelimination – Strategien. Schematische Übersicht der möglichen Angriffspunkte, um MRD zu eliminieren oder Dormancy zu verlängern.

► Abb. 4.12 fasst die unterschiedlichen Strategien zur Tumorzellelimination zusammen.

4.3.6 Ausblick

Die Metastasierung des Mammakarzinoms ist, in molekularer und klinischer Hinsicht, ein sehr komplexer Vorgang. In Zukunft wird sowohl die Isolierung und Analyse von ZTZ mittels Liquid Biopsy während des frühen oder fortgeschrittenen Stadiums der Erkrankung, als auch die Biopsie der Metastase (sofern diese Möglichkeit besteht) im klinischen Alltag obligatorisch sein. Ein Vergleich der Expressionsprofile bestimmter metastasierungsassoziierter Biomarker des Primärtumors, der Metastase und der ZTZ könnte einen Hinweis auf das metastatische Potenzial der ZTZ liefern. Anhand dieser Biomarker könnten in Zukunft präventive, therapeutische Maßnahmen zur Eliminierung dieser Zellen erstellt werden.

4.3.7 Literatur

[1] Aapro M, Abrahamsson P, Body JJ et al. Guidance on the use of bisphosphonates in solid tumours: recommendations of an international expert panel. *Ann Oncol* 2008; 19: 420–432

[2] Aktas B, Muller V, Tewes M et al. Comparison of estrogen and progesterone receptor status of circulating tumor cells and the primary tumor in metastatic breast cancer patients. *Gynecol Oncol* 2011; 122: 356–360

[3] Baselga J, Cortés J, Kim SB et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2012; 109–119

[4] Bos PD, Zhang XH, Nadal C et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to the brain. *Nature* 2009; 459: 1005–1009

[5] Braun S, Kentenich C, Janni W et al. Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2000; 18: 80–86

[6] Braun S, Vogl FD, Naume B et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353: 793–802

[7] Cardoso F, Costa A, Norton L, et al. 1st International consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 1). *Breast* 2012; 21: 242–252

[8] Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 118–132

[9] Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 563–572

[10] Clézardin P. Bisphosphonates' antitumor activity: an unravelled side of a multifaceted drug class. *Bone* 2011; 48: 71–79

[11] Davies C, Pan H, Godwin J et al. Long-term effects of continuing adjuvant tamoxifen to 10 years versus stopping at 5 years after diagnosis of oestrogen receptor-positive breast cancer: ATLAS, a randomised trial. *Lancet* 2013; 381: 805–816

[12] Erez N. Cancer: Opening LOX to metastasis. *Nature* 2015; 522: 41–42

[13] Farooqui M, Bohrer LR, Brady NJ. Epiregulin contributes to breast tumorigenesis through regulating matrix metalloproteinase 1 and promoting cell survival. *Mol Cancer* 2015; 14: 138

[14] Fehm T, Muller V, Aktas B et al. HER2 status of circulating tumor cells in patients with metastatic breast cancer: a prospective, multicenter trial. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 124: 403–412

[15] Fisher B, Redmond C. Systemic therapy in node-negative patients: updated findings from NSABP clinical trials. National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1992: 105–116

[16] Gril B, Palmieri D, Bronder JL et al. Effect of lapatinib on the outgrowth of metastatic breast cancer cells to the brain. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1092–1103

[17] Gupta GP, Massagué J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006; 127: 679–695

[18] Hunter KW, Crawford NP, Alsarraj J. Mechanisms of metastasis. *Breast Cancer Res* 2008; 10 (Suppl.1)

[19] Hüsemann Y, Geigl J, Schubert F. Systemic spread is an early step in breast cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 58–68

[20] Janni W, Rack B, Schindlbeck C et al. The persistence of isolated tumor cells in bone marrow from patients with breast carcinoma predicts an increased risk for recurrence. *Cancer* 2005; 103: 884–891

[21] Jin L, Zhang Y, Li H et al. Differential secretome analysis reveals CST 6 as a suppressor of breast cancer bone metastasis. *Cell Res* 2012; 22: 1356–1373

[22] Kang Y, Siegel PM, Shu W. A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell* 2003; 3: 537–549

[23] Kelly T, Yan Y, Osborne RL. Proteolysis of extracellular matrix by invadopodia facilitates human breast cancer cell invasion and is mediated by matrix metalloproteinases. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16: 501–512

[24] Klein C. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nature* 2009; 9: 302–312

[25] Koscielny S, Tubiana M, Lê MG. Breast cancer: relationship between the size of the primary tumour and the probability of metastatic dissemination. *Br J Cancer* 1984; 49: 709–715

[26] Kyle RA, Yee GC, Somerfield MR et al. American Society of Clinical Oncology 2007 clinical practice guideline update on the role of bisphosphonates in multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2464–2472

[27] Lee-Hoeflich ST, Crocker L, Yao E et al. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer: Implications for targeted therapy. *Cancer Res* 2008; 68: 5878–5887

[28] Li DM, Feng YM. Signaling mechanism of cell adhesion molecules in breast cancer metastasis: potential therapeutic targets. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 128 (1): 7–21

[29] Lu X, Mu E, Wei Y. VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging alpha4beta1-positive osteoclast progenitors. *Cancer Cell* 2011; 20: 701–714

[30] Lucci A, Hall CS, Lodhi AK et al. Circulating tumour cells in non-metastatic breast cancer: a prospective study. *Lancet Oncol* 2012; 13: 688–695

[31] Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol* 1998; 153: 865–873

[32] Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature* 2005; 436: 518–524

- [33] Morales M, Arenas EJ, Urošević J et al. RARRES3 suppresses breast cancer lung metastasis by regulating adhesion and differentiation. *EMBO Mol Med* 2014; 6: 865–881
- [34] Nahta R, Yu D, Hung M-C et al. Mechanisms of disease: understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 269–280
- [35] Nguyen DX, Bos PD, Massague J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 274–284
- [36] Nguyen DX, Massague J. Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet* 2007; 8: 341–352
- [37] Olbrich T, Ziegler E, Türk G. Kisspeptin-10 inhibits bone-directed migration of GPR54-positive breast cancer cells: Evidence for a dose-window effect. *Gynecol Oncol* 2010; 119: 571–578
- [38] Olivier M, Langerød A, Carrieri P. The clinical value of somatic TP53 gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 1157–1167
- [39] Palmieri C, Patten DK, Januszewski A et al. Breast cancer: current and future endocrine therapies. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 382: 695–723
- [40] Pantel K, Brakenhoff RH. Dissecting the metastatic cascade. *Nat Rev Cancer* 2004; 6: 448–456
- [41] Piccart-Gebhart MJ, Untch M, Smith I et al. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *NEJM* 2005; 1659–1672
- [42] Pohlmann PR, Mayer I, Mernaugh R. Resistance to trastuzumab in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 7479–7491
- [43] Rack B, Schindlbeck C, Andergassen U et al. Prognostic Relevance of circulating tumor cells in the peripheral blood of primary breast cancer patients. Present 33rd Annu San Antonio Breast Cancer Symp Abstract 2010; S6–5
- [44] Riethdorf S, Müller V, Zhang L et al. Detection and HER2 expression of circulating tumor cells: prospective monitoring in breast cancer patients treated in the neoadjuvant GeparQuattro trial. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 2634–2645
- [45] Sánchez-Muñoz A, Pérez-Ruiz E, Ribelles N. Maintenance treatment in metastatic breast cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008; 8: 1907–1912
- [46] Scheuer W, Friess T, Burtscher H et al. Strongly enhanced antitumor activity of trastuzumab and pertuzumab combination treatment on HER2-positive human xenograft tumor models. *Cancer Res* 2009; 69: 9330–9336
- [47] Schmidt-Kittler O, Ragg T, Daskalakis A et al. From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 7737–7742
- [48] Tabariès S, Dupuy F. Claudin-2 promotes breast cancer liver metastasis by facilitating tumor cell interactions with hepatocytes. *Mol Cell Biol* 2012; 32: 2979–2991
- [49] Torres L, Ribeiro FR, Pandis N et al. Intratumor genomic heterogeneity in breast cancer with clonal divergence between primary carcinomas and lymph node metastases. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 102: 143–155
- [50] Uhr JW, Pantel K. Controversies in clinical cancer dormancy; *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 12396–12400
- [51] Vanharanta S, Massague J. Origins of metastatic traits. *Cancer Cell* 2013; 24: 410–421
- [52] Wan L, Pantel K, Kang Y. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic. *Nat Med* 2013; 19: 1450–1464
- [53] Weigelt B, Glas AM, Wessels LF. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 15901–15905
- [54] Wendt MK, Taylor MA, Schiemann BJ. Down-regulation of epithelial cadherin is required to initiate metastatic outgrowth of breast cancer. *Mol Biol Cell* 2011; 22: 2423–2435
- [55] Wiedswang G, Borgen E, Kåresen R et al. Isolated tumor cells in bone marrow three years after diagnosis in disease-free breast cancer patients predict unfavorable clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5342–5348

4.4 Molekulare Grundlagen der Osteoonkologie beim Mammakarzinom

I. Kyvernitakis, P. Hadji

4.4.1 Allgemeines zum Krankheitsbild

Die Knochenmetastasen stellen die häufigste Lokalisation der Metastasen bei Frauen mit primärem Mammakarzinom dar. Bis zu 85 % der Patientinnen mit Mammakarzinom im metastasierten Stadium entwickeln Knochenmetastasen. Demzufolge zeigt sich eine starke Prädisposition der metastasierten Zellen für die knochenmarkreiche Mikroumgebung des Beckens, der Rippen und der thorakolumbalen Wirbel sowie im Schädel und an den langen Knochen. Patienten, welche Knochenmetastasen entwickeln, haben eine prolongierte Überlebenszeit von 24–30 Monaten und werden einem erheblichen Risiko für Skelettmorbidität ausgesetzt [4], [5].

4.4.2 Datenlage aus der Grundlagenforschung

Knochenmetastasen stellen die häufigste Komplikation des fortgeschrittenen Mammakarzinoms dar [43]. Die Infiltration der Tumorzellen in den Knochen ist mit einer Störung des streng kontrollierten Knochenumbaus assoziiert, welcher in dem gut etablierten „Teufelskreis der Knochenmetastasierung“ zu gesteigerter Knochenresorption und letztlich Tumorprogression führt [37] (► Abb. 4.13). Sobald eine Disseminierung der Tumorzellen in das Skelett stattgefunden hat, zählt dieser Zustand zu den unheilbaren Erkrankungen [3]. In diesem Zusammenhang wird ein signifikanter Anteil dieser Patientinnen mit Knochenmetastasen an häufigen oder rezidivierenden skelettassoziierten Komplikationen (SREs) leiden. Diese beinhalten die pathologischen Frakturen, das Rückenmarkskompressionssyndrom, Knochenschmerzen und die Hyperkalziämie [4]. Die Entwicklung dieser tumorassoziierten Skelettkomplikationen ist mit einer erheblichen persönlichen, sozialen und finanziellen Belastung assoziiert und durch eine deutlich verminderte Lebensqualität gekennzeichnet [27]. Demzufolge stellt die Prävention der Knochenmetastasierung einen essenziellen Bezug zu der heutigen klinischen Praxis.

Der aktuelle therapeutische Standard in der Behandlung der Knochenmetastasen wird durch die zielgerichtete osteoonkologische Therapie erreicht. Hier kommen Antiresorptiva, wie z. B. die **Bisphosphonate** und der vollständig humanisierte, synthetisch hergestellte, monoklonale Antikörper **Denosumab** zum Einsatz [3], [13]. Durch

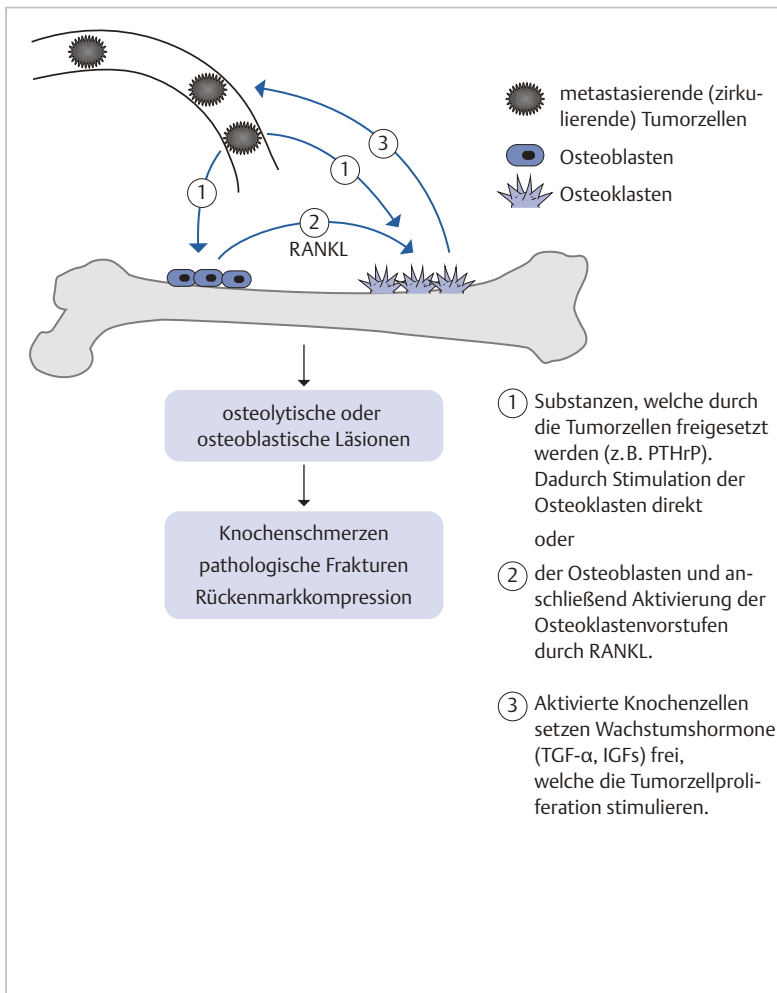


Abb. 4.13 Teufelskreis der Knochenmetastasierung. Zirkulierende Tumorzellen zeigen eine hohe Affinität für Hydroxylapatit. Sobald diese Zellen die Knochenmikroumgebung erreicht haben, setzen sie Faktoren wie PTHrP frei, welche die Osteoblasten direkt aktivieren oder indirekt durch das RANKL-System die Osteoklastenaktivierung induzieren können. Anschließend setzen aktivierte Knochenzellen Wachstumshormone wie TGF- α und IGF frei, welche die Proliferation der Tumorzellen stimulieren. Die möglichen osteoblastischen oder osteolytischen Läsionen könnten zu skelettassoziierten Ereignissen führen – mit dem entsprechenden Risiko für Morbidität und Mortalität. Antiresorptive Substanzen können diesen Teufelskreis unterbrechen, indem sie an mehreren Stellen eingreifen. Es gibt Hinweise, dass Bisphosphonate die Apoptose der Tumorzellen direkt induzieren können. Des Weiteren führen die Bisphosphonate zu einer Reduktion der Resorption durch Hemmung der Osteoklasten mit der Folge, dass weniger Wachstumshormone von den Resorptionsflächen freigesetzt werden. Neueste Untersuchungen werden in Zukunft prüfen, ob Bisphosphonate einen Einfluss auf die Anzahl der zirkulierenden Tumorzellen sowie auf den Prozess der Einnistung (Homing to Bone) oder sogar der Ruhephasen (Dormancy) haben. Antiresorptive Substanzen wie Denosumab greifen in das RANKL-System ein und demzufolge wird die osteoklasteninduzierte Knochenresorption gehemmt.

diese Medikamente können die Rate der Krankheitsprogression reduziert, das Überleben verlängert und die skelettassoziierten Ereignisse verhindert werden. Der relative Erfolg dieser Mittel hat dazu geführt, dass in einigen Fällen Betroffene viele Jahre mit Knochenmetastasen leben können [39]. Dennoch verbleibt die Langzeit-Mortalitätsrate aufgrund von latenten sekundären Tumoren unverändert [32]. Die sekundären Metastasen entstehen häufig durch die disseminierten Tumorzellen (DTCs), welche in einem Zustand von zellulären Ruhephasen oder proliferativer Verhaftung eingetreten sind und dadurch für konventionelle antimitotische Therapien unempfindlich geworden sind. Etliche Jahre nach der initialen Brustkrebstherapie können diese Zellen von der „Ruhephase“ (Cellular Dormancy) in eine aktive Phase übergehen und sekundär Metastasen bilden, welche zu Skelettkomplikationen führen [44]. Als Ruhephase wird das Intervall zwischen Ankunft der disseminierten Tumorzellen im Knochenmark und Entwicklung von sichtbaren Metastasen definiert.

Jedoch sind die exakten molekularen Mechanismen, welche die Induktion und Regulation der zellulären Ruhephasen untermauern, bis heute nicht endgültig geklärt. Die weitere Aufklärung dieser Ruhephasen vermittelnden Wegen ist von zentraler Bedeutung für die Entwicklung von effektiven therapeutischen Lösungen für die gezielte Neutralisierung der disseminierten Tumorzellen und für die wesentliche Verbesserung der Langzeitmortalität der Patientinnen mit Knochenmetastasen.

4.4.3 Molekulare Pathophysiologie

Die Ruhephasen werden durch das Abschwächen der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)-Proteinkinase B (AKT) reguliert, ohne unbedingt die Signalkaskaden des für die Autophagie der disseminierten Tumorzellen wichtigen Rapamycin (mTOR) zu inhibieren [33]. Die Knochenmikroumgebung spielt eigentlich eine Ruhephasenpermissive Rolle, welche die Entstehung der Makrometastasen durch der Down-Regulation des Vascular Cell Adhesion Protein 1 und des Periostin sowie die Hoch-

regulation des Transforming Growth Faktor $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$), des Bone Morphogenetic Protein 4 (BMP-4) und des BMP-7 verhindert. Hingegen kann die Mikroumgebung eine Ruhephasen-restruktive Rolle führen, welche durch die gegenteiligen Effekte mit Induktion der Metastasen gekennzeichnet ist [44]. Die hypothetische Rolle der Zusammenarbeit zwischen Zellen des Immunsystems und Krebszellen am Primarius und im Knochenmark hat an Impetus gewonnen und führte zum Aufkommen neuer Substanzen, welche die Immunzellen gegen die Krebszellen umleiten [34]. Einerseits halten die CD8+T-Lymphozyten und in etwas geringerem Maße die CD4+T-Lymphozyten und NK-Zellen die disseminierten Tumorzellen in einem Ruhezustand, während Helper Cells vom Typ 2T (TH2) Makrophagen, Myeloid-extrahierten Suppressorzellen und regulatorischen T-Zellen (TREG) das Entkommen vom Immunsystem erleichtern und demzufolge für die Metastasenentstehung verantwortlich sein können [40]. Einige Effekte des Immunsystems in der Phase vor dem Ruhezustand sind mit zytotoxischen Eigenschaften der Immuneffektorzellen assoziiert, während andere zytostatisch wirken und von dem Stilllegen der Zelldifferenzierung und der Kontrolle der Angiogenese durch IFN- γ und Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1 sowie CXC Motif Chemokine 9 (CXCL9) und CXCL10 abhängig sind [36].

Die Entwicklung von Knochenmetastasen ist ein kompliziertes Phänomenon (► Abb. 4.13). Nachdem die Tumorzellen sich vom Primärtumor abgelöst haben, erreichen sie den Blutkreislauf. In diesem Zusammenhang gibt der Primarius Zellen frei, welche die extrazelluläre Matrix überschreiten, die Basalmembran der angiolymphatischen Gefäße penetrieren und anschließend ferne Organe durch den Blutkreislauf erreichen. Diejenigen Tumorzellen, welche das Immunsystem überlebt haben, können das Knochenmark besiedeln und sind potenzielle Kandidaten für die Entwicklung von Knochenmetastasen [45]. Es ist anzumerken, dass zirkulierende Mamma- oder Prostatakarzinomzellen eine besonders hohe Affinität zum Knochen aufweisen. In diesem Zusammenhang sind 2 hämatopoetische Nischen am Knochenmark beschrieben worden: die endosteale (oder osteoblastische) und die vaskuläre Nische. Der Stromal Cell derived Factor 1 (SDF-1 oder CXCL12) wird hauptsächlich durch Stromazellen des Knochenmarks, wie Osteoblasten, Endothelzellen und Fibroblasten exprimiert und kann Stammzellen des hämatopoetischen Systems (HSCs) im Knochenmark durch die Bindung an CXC Chemokine Rezeptor vom Typ 4 (CXCR-4) beibehalten [25]. Ein kleiner Anteil von Krebszellen des Mammakarzinoms, aber auch des Prostatakarzinoms und anderer Krebsarten exprimiert CXCR-4, was das Entstehen von Metastasen an Stellen mit rotem Knochenmark erklärt. Tatsächlich ist die osteoblastische Nische für die Aufrechterhaltung der HSC-Ruhephase, während die Endothelzellennische HSC enthält, die für die Differenzierung zu reifen hämatopoetischen Zellen prädisponiert sind.

Eine Reihe von Zytokinen, wie z. B. Angiopoietin-1 und SDF-1, wird durch Osteoblasten sezerniert und behält die HSC in der Nische. Durch die Aktivierung des Notch-Pathway wird ihre Differenzierung blockiert [14]. Zielgerichtete Substanzen gegen CXCL12 oder CXCR-4 bieten die Möglichkeit die HSC aus der schützenden Umgebung des Knochenmarks zu mobilisieren und werden dadurch empfindlich für Chemotherapien oder Radiatio [2].

Sobald die disseminierten Tumorzellen die Knochenmikroumgebung erreicht haben, haben sie die Möglichkeit eine Reihe von Zytokinen und Wachstumsfaktoren zu exprimieren, welche parathormonverwandte Peptide, Prostaglandine und Interleukine einschließen. Diese könnten die Produktion des Receptor Activator of nuclear Factor κB Ligand (RANKL) durch Zellen osteoblastischer Abstammung steigern. Das wird die Aktivierung der Osteoklasten induzieren und zu einem Ungleichgewicht zwischen Knochenformation und -resorption führen. Sobald die Knochenmatrix abgebaut ist, werden multiple Zytokine freigesetzt, welche wiederum zu einem beschleunigten Wachstum und Proliferation der Tumorzellpopulation führen. Diese multiplen Interaktionen zwischen metastasierten Tumorzellen und Knochenmikroumgebung könnten zu der Entwicklung von Metastasen in den – und vielleicht auch außerhalb der – Knochen führen (► Abb. 4.13). Insgesamt zeigt sich ein selbsterhaltender Teufelskreis mit multidirektionalen Interaktionen zwischen Tumorzellen, Osteoklasten, Osteoblasten und der Knochenmikroumgebung [3].

Eine Reihe von wissenschaftlicher Untersuchungen [33] hat den osteolytischen Prozess der Knochenmetastasierung dargestellt und gezeigt, dass eine Vielzahl von tumorzellabgeleiteten Wachstumsfaktoren und Zytokinen die Rekrutierung, Differenzierung sowie Aktivierung der Osteoklasten regulieren. Diese beinhalten PTHrP, TGF- β , IL-6, IL-8 und Tumornekrosefaktoren (TNF). Des Weiteren inhibieren die metastasierten Mammakarzinomzellen die Osteoblastendifferenzierung durch die Runt-related Transcription Factor (RUNX2)-abhängige Expression von Sclerostin der Tumorzellen [15], [35].

Diese Mechanismen stören die enge Kopplung der Knochenformation und -resorption und erlauben die ungehinderte Knochenresorption durch die Osteoklasten.

Die Osteozyten spielen eine Rolle im Aktivierungsprozess der osteolytischen Metastasen durch die Regulation des Wnt-Pathway sowie durch die Expression von Dickkopf-related Protein 1 (DKK-1) und Sclerostin der Tumorzellen [7]. In diesem Zusammenhang produzieren Zellen des multiplen Myeloms RANKL, erhöhen das RANKL/Osteoprotegerin-Verhältnis und supprimieren die Knochenformation durch die Sekretion von Sclerostin. Hierdurch verlieren die Osteozyten die Möglichkeit die Knochenformation zu regulieren [6]. Demzufolge stellt sich die Frage, ob die Inhibition des Sclerostin und die Regulation des Wnt-Signalling eine Behandlungsoption für Patienten mit Mammakarzinom- oder multiplen Myelommetastasen

darstellen. Tatsächlich zeigten Untersuchungen bei postmenopausalen Frauen mit niedriger Knochendichte unter einem Sclerostin-Antikörper (Romosozumab) einen Anstieg der Knochenmasse (BMD) und der Knochenformation [33].

Diese vielversprechenden Erkenntnisse zeigen die potenziellen Ansatzmöglichkeiten von Sclerostin-Antikörpern für den Anstieg der Knochenmasse bei Patientinnen mit osteolytischen Knochenmetastasen. Der potenzielle Nutzen dieser Substanzen sollte vorsichtig interpretiert werden, da bereits existierende osteoanabole Medikamente, wie z. B. Teriparatid, bei Krebspatienten kontraindiziert sind. Grund dafür ist z. B. die mögliche Replikation der Tumorprogression durch PTHrP [45].

Die Vielzahl der existierenden Interaktionen zwischen Knochenzellen und Zellen des Knochenmarks, welche für die Aufrechterhaltung der endokrinen Homöostase verantwortlich sind, erlauben den Einsatz von zielgerichteten knochentherapeutischen Optionen für die Behandlung von dort ansässigen Krebszellen. Hierbei stellt sich der Erhalt der Knochenhomöostase unter einigen Therapien des Mammakarzinoms als sehr schwierig dar. Einige Studien haben die schädlichen Nebenwirkungen der Chemotherapie im Knochenstoffwechsel untersucht und stellten das Ausbleiben der Knochenregeneration nach Abschluss der Therapie fest. Die Autoren haben in diesem Zusammenhang die Verhaltensveränderungen der Aktivität der Osteoklasten, -zyten und -blasten beschrieben [33].

Des Weiteren stehen die modulierenden Effekte der mikroRNAs (miRNAs) an die Genexpression im Mittelpunkt [38]. Der Transfer der miRNAs aus dem Knochenmark durch Gap Junctions oder Exosomen an die Krebszellen könnte einen Einfluss auf die oben beschriebenen Ruhephasen haben (Let-7c, miR-127, miR-197, miR-222, miR-223 und miR-23b) und ggf. auch die Tumorprogression induzieren (miR-204, miR-11, miR-379 und miR-34a). In Zukunft werden Studien deren Einsatz als Biomarker oder als Therapeutika genauer untersuchen [33]. Nach deren Auslösung werden zirkulierende zellfreie miRNAs an spezifischen Proteinen anhaften (Argonaute-2 oder HDL/LDL) oder werden von den Exosomen aufgenommen. Klinische Untersuchungen über metastasierte Mammakarzinompatientinnen und Tiere mit Lungenmetastasen zeigten signifikant höhere miR-16-, miR-378- und miR-378-Konzentrationen als die Referenzgruppen [12], [46].

Östrogene und Knochenstoffwechsel

Der Zusammenhang zwischen Östrogenen, Knochendichteverlust und Frakturrisiko bei postmenopausalen Frauen ist ausführlich beschrieben [8], [31], [41]. Fuller Albright berichtete vor über 70 Jahren über den Zusammenhang zwischen Östrogenmangel und Osteoporose (29). Mithilfe der Photonenabsorptiometrie konnte die Arbeitsgruppe von Lindsay [30] diese Hypothese beweisen, indem sie den akzelerierten Knochenmassenverlust in ovariektomierten Frauen durch die Östrogentherapie stoppen konnte.

Die Östrogene inhibieren den Knochenabbau durch die Inhibition des RANK-Liganden (Receptor Activator of nuclear Factor κ B Ligand) [9], [24]. RANKL ist ein Protein, das für die Regulation von Knochenaufbau und -abbau verantwortlich ist. RANKL wird von Osteoblasten (Zellen, die Knochensubstanz aufbauen) produziert und bindet an RANK-Rezeptoren der Osteoklastenvorstufen, was deren Differenzierung zu Osteoklasten (Zellen, die Knochensubstanz abbauen) induziert [11], [23]. Demzufolge funktionieren Östrogene als natürlicher Suppressor von RANKL. Dies erklärt die Häufigkeit der Osteoporose bei postmenopausalen Frauen, weil hier der natürliche Suppressor der Osteoklastendifferenzierung (Östrogen) nicht mehr in ausreichender Menge produziert wird. Zusätzlich stimulieren Östrogene die Produktion des Osteoprotegerin (OPG), welches die Bindung von RANK an RANKL inhibiert [22]. Der Östrogenmangel kann zu einer erhöhten Osteoklastogenese durch die Up-Regulation von RANK und die Down-Regulation von Osteoprotegerin führen [1]. Infolgedessen regulieren Östrogene die Produktion von vielen Zytokinen durch Osteoblasten und Knochenmarkstromazellen sowie durch die Inhibition der Apoptose in Osteoblasten und gereiften Osteozyten [1]. Zusammenfassend ist bei vielen endokrinen Therapien, wie z. B. unter der GnRH-Therapie bei prämenopausalen Patientinnen oder unter einer AI-Therapie, analog zur postmenopausalen Osteoporose, die RANKL-Sekretion erhöht und die OPG-Sekretion erniedrigt. Der erhöhte RANKL/OPG-Quotient führt in beiden Situationen zu einer gesteigerten Osteoklastenaktivität und damit zu einer verminderten Knochenmasse [29].

4.4.4 Klinischer Bezug

Es ist allgemein akzeptiert, dass die optimale Behandlung des Mammakarzinoms – insbesondere bei Patientinnen mit Knochenmetastasen – die enge Kooperation verschiedener Fachdisziplinen voraussetzt, bestehend aus Radiologie, Gynäkologie, Pathologie, Strahlentherapie und Onkologie. Nur in enger Absprache sind optimale Therapieerfolge erzielbar. Im Frühstadium besteht das Ziel, Metastasen und tumortherapieinduzierten Komplikationen vorzubeugen. In den meisten Fällen einer Metastasierung ist die Therapie dagegen nur palliativ. Jedoch können bestimmte Fälle der Metastasierung mit aggressiven Behandlungen stabilisiert werden, sodass eine prolongierte Remission der Erkrankung erreicht werden kann. Unabhängig von dem Stadium der Erkrankung ist die Therapie fast immer eine Kombination aus direkter Krebstherapie und zielgerichteter osteoonkologischer Therapie. Im Folgenden werden die therapeutischen Ansätze unter besonderer Berücksichtigung der zielgerichteten Knochen-therapie mit Bisphosphonaten und Denosumab dargestellt – sowohl für die Knochenmetastasen, als auch in der Adjuvanz.