



Prof. Dr. Ulrich Lauer,
Tübingen

Immunonkologie – Onkolytische Viren

Interview mit Herrn Prof. Dr. med. Ulrich Lauer, Tübingen.

Als onkolytische Viren werden Viren bezeichnet, die Tumorzellen infizieren und lysieren, eine spezifische Immunantwort hervorrufen oder Toxine und Tumorsuppressorgene in Tumorzellen einbringen. Die Virotherapie soll dabei gut verträglich sein und keine schweren Nebenwirkungen bei den Patienten hervorrufen. Derzeit wird viel auf diesem Gebiet geforscht und einige vielversprechende Kandidaten befinden sich in klinischen Studien. Ein erster Vertreter dieser Klasse – Talimogen laherparepvec (T-VEC) – wurde in der EU im Dezember 2015 bereits zur Behandlung des metastasierten malignen Melanoms zugelassen. JOURNAL ONKOLOGIE sprach mit Prof. Dr. Ulrich Lauer, Tübingen, dem Leiter der Virotherapie-Studie mit GL-ONC1, einem onkolytischen Vaccinia-Virus, dessen Wirksamkeit bei Peritonealkarzinosen getestet wird, über den derzeitigen Stand des Wissens bezüglich dieser möglichen neuen Säule der Tumorthherapie.

JOURNAL ONKOLOGIE: Woher stammt die Idee, dass Tumoren mit Hilfe von Viren bekämpft werden können?

LAUER: Die Idee einer Virotherapie mit Krebszell-auflösenden (onkolytischen) Viren stammt nicht von einer genialen Überlegung eines Forschers am Schreibtisch, sondern von unserer „Mutter Natur“ selbst: im Zuge natürlicher viraler Infektionen von Krebspatienten wurden immer wieder spektakuläre Schrumpfung von äußerlich sichtbaren Tumoren beobachtet und als Einzelfallbeschreibungen über die letzten 100 Jahre dokumentiert.

Von Anfang an wurde vermutet, dass es sich dabei nicht um bloße Koinzidenzen handeln kann. Man kam zu dem Schluss, dass unter den richtigen Umständen bestimmte Viren bestimmte Tumore kausal zerstören können, ohne den Patienten dabei einen unangemessenen Schaden zuzufügen. Dabei wurden Krebserkrankungen als bevorzugt angesehen, bei denen das Immunsystem in besonderer Weise kompromittiert ist (z.B. Lymphome und Leukämien). Diese historisch beobachteten Virus-assoziierten Tumorremissionen waren meist nur von kurzer Dauer, die Zeitspanne betrug in aller Regel lediglich 1-2 Monate.

JOURNAL ONKOLOGIE: Welche Mechanismen sind für die onkolytische Wirkung verantwortlich?

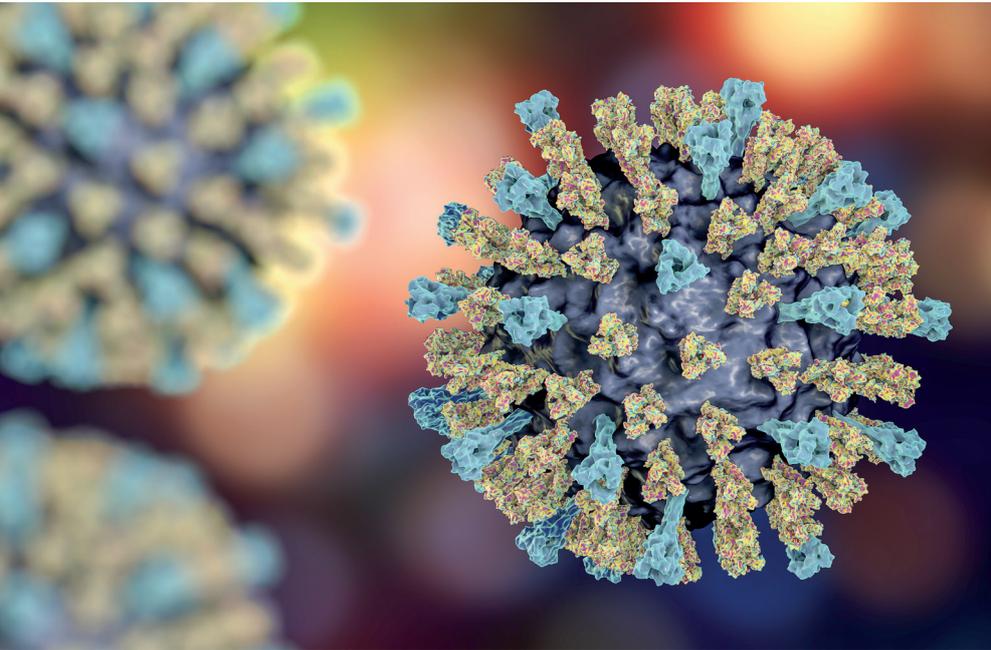
LAUER: Beim Befall durch Viren wird der Stoffwechsel der infizierten Krebszellen vollkommen umgekrempelt und unterliegt von nun ab dem Primat, fast ausschließlich nur noch der Produktion neuer Viruspartikel zu unterstehen. Pro infizierter Krebszelle entstehen auf diese Weise dann hunderte bis tausende Nachkommenviren. Darunter erschöpft sich die infizierte Krebszelle und kann ihre zelluläre Integrität nicht mehr aufrecht erhalten; sie löst sich regelrecht auf und „onkolytisiert“. In diesem Zuge werden die neu gebildeten Viruspartikel massenhaft freigesetzt, die dann sofort bis dahin noch nicht infizierte Krebszellen in der Nachbarschaft befallen und ebenfalls onkolytisieren. Dieser Prozess hält im Idealfall so lange an, bis keine einzige noch neu zu infizierende Krebszelle mehr vorhanden ist. Entsprechend können dann keine weiteren Viren mehr gebildet werden; die Virusvermehrung kommt von alleine vollständig und dauerhaft zum Erliegen.

Neben dieser „direkten“ Onkolyse gibt es den noch wichtigeren Prozess der „indirekten“ Virus-vermittelten Onkolyse: wenn eine Virus-infizierte Krebszelle zerplatzt, setzt sie quasi wie bei einer „stellaren Supernova“

auf einen Schlag massenhaft Virus-Antigene gemeinsam mit Tumorzell-spezifischen Antigenen frei. Bis dato war die Präsentation dieser Tumorzell-spezifischen Antigene für das Immunsystem nicht ausreichend, um dagegen genügend aktiv zu werden. Nun aber wird in dem durch das Virus induzierte Entzündungsmilieu das Immunsystem so stark stimuliert, dass gleichzeitig – quasi im Huckepack – auch eine effektive antitumorale Immunantwort gegen Tumorzell-spezifische Antigene induziert wird. Einmal ausreichend stimuliert, erkennen unsere Immunzellen von da ab sämtliche Krebszellen als fremd und zwar unabhängig davon, ob sie Virus-infiziert sind oder nicht. Auf diese Weise kann nun jede einzelne Krebszelle überall im Körper der betroffenen Patienten durch unsere Immunzellen aufgespürt und vernichtet werden. Somit stellt die Virotherapie eine besondere Form der Immuntherapie dar.

JOURNAL ONKOLOGIE: Wie lässt sich feststellen, ob ein Virus tatsächlich mit Erfolg Krebszellen infiziert hat?

LAUER: Der direkte Nachweis der Virusinfektion von Krebszellen sowie der daraufhin unmittelbar gestarteten Produktion an Nachkommenviren gelingt mit dem Elektronenmikroskop, das eine ausreichende Auflösung zum Nachweis dieser kleinsten aller Lebensformen



bietet. Da diese Art des Virusnachweises aber sehr aufwändig und langwierig ist, werden Virotherapeutika sehr häufig mit zusätzlichen Fremd-Genen, sog. Marker-Genen, ausgestattet, die in menschlichen Zellen nicht vorkommen. Der Nachweis der davon gebildeten Marker-Proteine kann dann mit in der klinischen Routine zur Verfügung stehenden laborchemischen und histopathologischen Verfahren in einfacher Weise zeitnah geführt werden. Da solche Marker-Gene immer gekoppelt mit den Virus-Genen vermehrt und weitergegeben werden, bedeutet jeder Nachweis eines Marker-Proteins, dass die exprimierende Zelle definitiv auch mit dem entsprechenden Virotherapeutikum infiziert ist.

JOURNAL ONKOLOGIE: Können onkolytische Viren prinzipiell bei allen Tumorarten eingesetzt werden, sind alle dafür empfänglich oder sind Unterschiede zu erwarten?

LAUER: Unsere Immunüberwachung hat nicht nur zur Aufgabe, infizierte Zellen in unserem Körper aufzuspüren und zu bekämpfen, sondern auch möglichst frühzeitig Prozesse der Immortalisierung und malignen Transformation an bis dato gesunden Körperzellen zu erkennen und mit effektiven antitumoralen Gegenmaßnahmen zu beantworten. Als eine der wichtigsten

Zytokin-Effektoren sind dabei Interferone (IFN) immunmodulierend aktiv und zwar sowohl in der antiviralen als auch in der antitumoralen Abwehr.

Vor diesem Hintergrund kommt es zur Selektion von Krebszellen, die erfolgreich „Escape“-Mechanismen zur Unterwanderung der IFN-vermittelten Immunüberwachung akquirieren. Kommt es beispielsweise zu Alterationen in den zellulären IFN-Signalwegen, kann keine IFN-getriggerte Transkriptionsstimulation von Genen, die an den diversen antitumoralen Aktivitäten von IFN beteiligt sind, mehr erfolgen. Damit erwirbt sich die Krebszelle zwar einen bedeutsamen Schutz vor der Erkennung und Vernichtung durch unser Immunsystem, kann aber gleichzeitig nun Virusinfektionen aller Art nicht mehr adäquat abwehren (s. die historisch beobachteten Beispiele erfolgreicher natürlich ablaufender Virotherapien).

Diese Achilles-Ferse von Tumorzellen besteht bei nahezu allen Tumor-entitäten, weshalb die Virotherapie ein ausgesprochen breites Einsatzgebiet bei sämtlichen soliden und nicht soliden Tumorarten aufweist. Je nachdem wie schlecht bzw. wie gut die IFN-Abwehr gegen Virotherapeutika in den jeweiligen Krebszellen noch funktioniert, desto besser bzw. schlechter wirken Virotherapeutika. Dabei haben unsere

eigenen präklinischen Untersuchungen gezeigt, dass auch geringe Defizienzen in der IFN-Abwehr z.B. durch zusätzlichen Einsatz von Virotherapeutika-kodierten Suizidgenen nutzbar gemacht werden können, um zu einer effektiven Tumorzell-Abtötung zu kommen.

JOURNAL ONKOLOGIE: Welche Nebenwirkungen können auftreten bzw. sind zu erwarten? Ist z.B. ein Tumorzellsyndrom ein Problem?

LAUER: Die häufigsten Nebenwirkungen, die beim Einsatz von Virotherapeutika bei Krebspatienten verzeichnet werden, entsprechen denen, die bei natürlichen Viruserkrankungen beobachtet werden: grippeähnliche Symptome wie Fieber, Müdigkeit, Glieder- und Kopfschmerzen. Im Vergleich zu den Nebenwirkungen von Standard-Chemotherapien werden diese Infektionssymptome von den Krebspatienten in aller Regel als deutlich weniger belastend empfunden, auch angesichts der Tatsache, dass diese nur passager auftreten und nach kurzer Zeit wieder komplett verschwunden sind.

In aller Regel werden bei der Virotherapie die Krebszellen erst nach und nach zerstört, da die Virusinfektion sich ja von einer zur nächsten benachbarten Krebszelle erst einmal „durcharbeiten“ muss. Auch die zusätzliche antitumorale Wirkung des Immunsystems ist langsam in ihrer Natur und häufig erst nach vielen Wochen spür- und messbar. Nur in sehr seltenen Fällen kann es auch bei der Virotherapie zu einem Tumorzellsyndrom kommen, wenn aufgrund von Mutationen in den Krebszellen die Virusabwehr nahezu komplett außer Kraft gesetzt wurde, und Virusvermehrung und Onkolyse dadurch exorbitant schnell einsetzen und verlaufen.

JOURNAL ONKOLOGIE: Wie oft kann oder muss die Therapie wiederholt werden?

LAUER: Vom Wirkprinzip her kann bei der Virotherapie bereits die einmalige Gabe eines Virotherapeutikums ausreichend sein, damit sämtliche Krebszellen abgetötet werden und eine lang anhaltende antitumorale Immunität erzeugt wird.

Dies zeigt sich am Beispiel einer Plasmazytom-Patientin, die 2013 einmalig eine sehr hohe Dosis an Masern-Impfviren intravenös infundiert bekam und dann für mehr als zwei Jahre komplett Tumor-frei war. Ende 2015 traten bei ihr an zwei Stellen im Knochen zwar Tumorrezidive auf; diese konnten allerdings erfolgreich bestrahlt werden. Seither ist die Patientin wieder komplett Tumor-frei und erhält auch keine weiteren Krebstherapeutika. Dieser Verlauf wird so interpretiert, dass das Immunsystem dieser Patientin durch die einmalige Virotherapie so nachhaltig stimuliert wurde, dass im Körper noch vorhandene, aber mit den momentan zur Verfügung stehenden Nachweismethoden nicht nachweisbare Krebszellen, überwiegend sehr gut in Schach gehalten werden können.

Bei dem ersten und einzigen bisher klinisch zugelassenem Virotherapeutikum Talimogen laherparepvec (Imlygic®) hingegen erfolgt die Applikation mittels intratumoraler (intralesionaler) Feinnadel-Injektionen, die alle zwei Wochen wiederholt werden, bis im besten Falle keine injizierbaren Tumorherde mehr nachweisbar sind.

Somit bestehen derzeit noch große Unterschiede, was die Applikationsart und die Häufigkeit der Gabe von Virotherapeutika anbelangt. Dies zeigt, dass sich das Verfahren der Virotherapie immer noch in einer frühen Phase der klinischen Entwicklung befindet.

JOURNAL ONKOLOGIE: Für die intralesionale Verabreichung sind große Mengen an Viruspartikeln notwendig. Stellt diese große Virusmenge in der Verabreichung oder Herstellung ein Problem dar?

LAUER: Viele Virotherapeutika leiten sich von Impfstoffen ab, die ursprünglich gegen natürliche Virusinfektionen entwickelt wurden. Die bei Krebspatienten eingesetzten Virus-Dosen sind in der Regel um viele Größenordnungen höher als die Dosen, die bei Impfungen eingesetzt werden. Beispielsweise werden bei der Impfung gegen Masern lediglich Dosen in einem Bereich von 1.000 (10^3) infektiösen Viruspartikeln eingesetzt. Bei

der Virotherapie hingegen werden bis zu 100.000.000.000 (10^{11}) infektiöse Viruspartikel infundiert. Bei intralesionaler Verabreichung werden in der Regel nicht so hohe Dosen benötigt (für Imlygic® sind das beispielsweise „lediglich“ 100.000.000 (10^8) infektiöse Viruspartikel).

Die Applikation von ausgesprochen hohen Virus-Dosen kann grundsätzlich mit einer sehr starken Entzündung einhergehen, die auch Kreislauf-wirksam sein kann, so dass eine entsprechende Überwachung angezeigt ist.

Grundsätzlich sind sämtliche GMP-Verfahren der Virusproduktion seit vielen Jahrzehnten etabliert und damit leicht zugänglich. Allerdings ist die Herstellung von Virotherapeutika im Vergleich zu Impfstoffen gegen Viruserkrankungen aufwändiger und kostenintensiver. Die Herstellungsverfahren müssen für jedes Virotherapeutikum hochskaliert bzw. technologisch neu aufgestellt werden.

JOURNAL ONKOLOGIE: Lassen sich damit auch Krebsstammzellen abtöten?

LAUER: Viele Virotherapeutika lassen sich mittels rekombinanter Technologien zwanglos so modifizieren, dass sie nur noch an ausgewählte, therapeutisch interessante Zielstrukturen auf den Oberflächen von Krebszellen binden und diese nachfolgend selektiv infizieren.

Mit der Entdeckung neuer Oberflächenmarker von Krebsstammzellen können auf diese Weise spezielle Virotherapeutika entwickelt werden, die passgenau Krebsstammzellen abtöten können. Etliche derartige Prototypen befinden sich derzeit in klinischer Entwicklung.

JOURNAL ONKOLOGIE: Wie kann ein unkontrolliertes Vermehren der onkolytischen Viren verhindert werden?

LAUER: Gegen viele der für die Virotherapie eingesetzten Virus-Typen stehen klinisch zugelassene und erprobte Virostatika zur Verfügung. Beispielsweise ist Imlygic®, das auf Basis eines

Herpes-simplex-Virus vom Typ 1 (HSV-1) entwickelt wurde, nachweislich sensibel für das HSV-1-Virostatikum Aciclovir.

JOURNAL ONKOLOGIE: Kann eine Therapie mit onkolytischen Viren auch bei Patienten eingesetzt werden, deren Immunsystem nicht intakt ist?

LAUER: Virotherapeutika sollten bei stark immungeschwächten Patienten auf keinen Fall eingesetzt werden, da sonst eine überschießende, unkontrollierte und schwer wieder einzufangende Virusvermehrung mit unabsehbaren Folgen eintreten kann. Insofern ist vor jedem Einsatz von Virotherapeutika eine Einzelfall-Einschätzung der Immunkompetenz putativer Virotherapie-Patienten erforderlich.

JOURNAL ONKOLOGIE: Welche Viren werden bisher in Studien zur onkolytischen Therapie eingesetzt?

LAUER: Derzeit werden weit mehr als 10 unterschiedliche Virus-Typen klinisch auf ihre Eignung für virotherapeutische Behandlungen von Krebspatienten entwickelt.

Zu den prominenten und am weitesten entwickelten Virus-Typen zählen: HSV-1, Masern-Impfviren, Pocken-Impfviren (Vaccinia-Viren), Adenoviren, Vesikuläres-Stomatitis-Virus (VSV) und viele andere mehr. Anzumerken ist, dass alle diese Virus-Typen nicht in ihrer ursprünglichen Form eingesetzt werden, sondern jeweils mit unterschiedlichen genetischen Modifikationen ausgestattet sind. Dies führt zu einer besseren Verträglichkeit, Nachweisbarkeit und antitumoraler Wirkeffizienz.

JOURNAL ONKOLOGIE: Ist es ein Problem, wenn der Empfänger früher bereits mit dem entsprechenden Virus in Kontakt war? Bekämpft das Immunsystem den Virus dann nicht, bevor er am Tumor wirken kann?

LAUER: Bislang ist unklar, ob erwachsene Krebspatienten, die als Kinder beispielsweise gegen Masern geimpft wurden, weniger gut auf eine Virotherapie mit Masern-Impfviren ansprechen.

Prinzipiell können bei Vorliegen einer Präimmunisierung Virotherapeutika bereits in der Blutbahn neutralisiert werden, so dass nachfolgend Infektionen an Tumorgewebe gar nicht mehr stattfinden können.

Allerdings kann die humorale Immunabwehr nur eine limitierte, im Einzelfall nicht näher zu definierende Menge an intravenös applizierten Viruspartikeln neutralisieren. Somit sollte es prinzipiell möglich sein, die Virusabwehr durch im Überschuss infundierte Virotherapeutika auch bei geimpften Krebspatienten quasi überrennen zu können.

Bei intratumoraler Applikation von Virotherapeutika hingegen kann die humorale Immunabwehr komplett umgangen werden. Entsprechend sind bei dieser Applikationsart in der Abschätzung auch geringere Virus-Dosen ausreichend, um eine relevante Anzahl an Krebszellen infizieren und onkolysieren zu können.

JOURNAL ONKOLOGIE: Sie untersuchen ja selbst in einer Phase-I-Studie die mögliche Verwendung eines bestimmten Pockenvirus bei Peritonealkarzinose. Können Sie die Studie kurz vorstellen?

LAUER: Bei vielen soliden Tumorarten kann es zu Absiedelungen in die Bauchhöhle kommen, z.B. beim Magen- und Ovarialkarzinom. Darüber hinaus können auch vom Mesothel selbst Peritonealtumore ausgehen. Grundsätzlich gilt für alle Formen der Peritonealkarzinose, dass Systemtherapien wie z.B. Chemotherapien nur sehr eingeschränkt wirksam sind. Dementsprechend bietet es sich an, direkt in die mit Tumorknoten besetzte Peritonealhöhle neuartige Krebstherapeutika einzubringen.

Vor diesem Hintergrund wurden am Universitätsklinikum Tübingen weltweit erstmals Pocken-Impfviren für eine intraperitoneale Virotherapie eingesetzt. Hierbei galt es in erster Linie, die Sicherheit dieses Verfahrens zu prüfen und zu testen, bis zu welcher Dosis rekombinante Pocken-Impfviren intraperitoneal appliziert werden können. Die Ergebnisse dieser Virotherapiestudie

wurden bislang nur in Abstraktform vorgestellt [1]; eine Publikation aller Studienergebnisse befindet sich in Vorbereitung.

JOURNAL ONKOLOGIE: Wäre es denkbar, dass durch eine Immunantwort, die durch die Virotherapie hervorgerufen wurde, auch eine Immunität gegen die Bildung von Rezidiven entsteht?

LAUER: In der Tat zeigt das oben aufgeführte Beispiel der im Jahr 2013 einmalig mit einer sehr hohen intravenösen Dosis an Masern-Impfviren behandelten Patientin, dass durch Virotherapeutika prinzipiell eine lang anhaltende antitumorale Immunität induziert werden kann.

Zwar kam es bei dieser Patientin Ende 2015 zu Rezidiven am Schädelknochen und am Brustbein. Diese konnten aber durch einfache Bestrahlung komplett abgetötet werden. Seither ist die Patientin ohne zusätzliche Krebstherapie erneut Tumorfrei. Entsprechend ist davon auszugehen, dass die durch die einmalige Virotherapie-Applikation induzierte antitumorale Immunität lang anhaltend ist und – bis auf die geschilderte Ausnahme – das Auftreten von Rezidiven verhindern kann.

JOURNAL ONKOLOGIE: Es wurde ja bereits die erste Therapie mit onkolytischen Viren in der EU zugelassen – Talimogen laherparepvec beim malignen Melanom. Um welche Viren handelt es sich hier und wie wirken sie?

LAUER: Bei Talimogen laherparepvec (Imlygic®) handelt es sich um ein vom Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) abgeleitetes, gentechnisch verändertes und dadurch abgeschwächtes Virotherapeutikum, das so verändert wurde, dass infizierte Zellen das immunstimulierende humane Protein GM-CSF produzieren. Imlygic® wird als intraläsionale Injektion zur Behandlung von Erwachsenen mit nicht-resezierbarem, lokal oder entfernt metastasiertem Melanom (Stadium IIIB, IIIC und IVM1a) ohne Knochen-, Hirn-, Lungen- oder andere viszerale Beteiligung angewendet.

Imlygic® nutzt die zelleigene Maschinerie der Melanomzellen zur eigenen Vermehrung und bewirkt das Absterben von Tumorzellen sowie die Freisetzung von Antigenen, die von diesen Tumor-Zellen abstammen. Imlygic® kann zwar auch in gesunde Zellen eindringen, sich in ihnen aber nicht vermehren.

Die von Imlygic® induzierte Onkolyse bewirkt zusammen mit GM-CSF eine systemische Antitumor-Immunantwort und eine antitumorale Effektor-T-Zell-Antwort. Mäuse mit einer vollständigen Rückbildung der Primärtumoren nach der Behandlung waren resistent gegenüber einer nachfolgenden Tumor-Reexposition.

JOURNAL ONKOLOGIE: Können Sie sagen, ob wir bald mit der Zulassung der nächsten Virotherapie in der Onkologie rechnen können?

LAUER: Aufgrund der sehr intensiven und breiten klinischen Entwicklung diverser Virotherapeutika-Typen ist in den nächsten Jahren mit weiteren klinischen Zulassungen zu rechnen.

Momentan wird das auf einem gentechnisch veränderten und dadurch abgeschwächten Vaccinia-Virus-basierten Virotherapeutikum Pexastimogen devacirep-vec (Pexa-Vec®) in einer Phase-III-Studie beim fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinom (HCC) getestet. Hierbei wird Pexa-Vec® zunächst dreimal im Abstand von jeweils 14 Tagen intraläsional mit einer speziellen Injektionsnadel in bis zu fünf in der Leber gelegene Tumorherde eingebracht. Im Anschluss an diese virotherapeutische Induktionsbehandlung werden die Studienpatienten mit dem zugelassenen HCC-Standardtherapeutikum Sorafenib (Nexavar®) bis zu einem mittels Bildgebung dokumentiertem Tumorprogress weiter behandelt. Im Kontrollarm erhalten die Studienpatienten ausschließlich das HCC-Standardtherapeutikum Sorafenib.

Vielen Dank für das Gespräch!

1. Lauer U et al. J Clin Oncol 2013; 31(suppl; abstr 3098).