

Stammzellen zur Diagnostik und Therapie von Glioblastomen

Dr. U. Kübler, Dr. J. Schnepel^[#]
Brain Tumor 2011, Berlin

Das Glioblastom ist der häufigste und tödlichste Hirntumor bei Erwachsenen. 80% aller operierten Fälle kehren innerhalb von 18 Monaten zurück. Eine Metastasierung wird bisher nicht rechtzeitig erkannt. Die Metastasenprophylaxe durch Strahlen- oder Chemotherapie enttäuscht. Bisherige Impfstrategien, beispielsweise gegen das EGFR, verlängern das durchschnittliche Überleben von 6,3 Monaten auf 14,2 Monate. Bei den monovalenten Vaccinen entstanden jedoch durch den Evolutionsdruck der Immunantwort auf die überlebenden Zellen Resistenzen.^[1]

Ursachen

Es wird bisher, wenn überhaupt, nur gegen Tumorzellen geimpft, nicht gegen Tumor-Stammzellen. Die eigentliche Ursache des Glioblastoms ist der Verlust der Regelbarkeit der normalen Gliazellen und die Entstehung von Tumor-Stammzellen in einer Stammzell-Nische. Der Nachweis des Charakters dieser Zellen ist nunmehr erstmals biopsiefrei durch ein patentiertes Aphereseverfahren der Dr. Kübler GmbH gelungen.^[2]

Verfahren

Dieses Verfahren erlaubt:

1. den biopsiefreien Nachweis zirkulierender Tumor-Stammzellen
2. die Quantifizierung dieser Zellen
3. deren komplette molekulare Charakterisierung: c-Met, Oct-3/4, GFAP, EGFR, erb/B2, erb/B3, c-myc, Urokinase

Diese Tumor-Stammzellen rekrutieren sich eigene Blutgefäße, sie sind angiogenetisch aktiv, sie warten und proliferieren in sog. Stammzell-Nischen, wo sie sich dem Zugriff des Skalpell entziehen. Sie sind chemo- und strahlenresistent.^[3-5]

Nach Isolierung und Kultivierung der Tumor-Stammzelle verwenden wir deren komplettes antigenes Material zur Immunisierung des Patienten und zur Auslösung einer NK-Zell-Antwort.

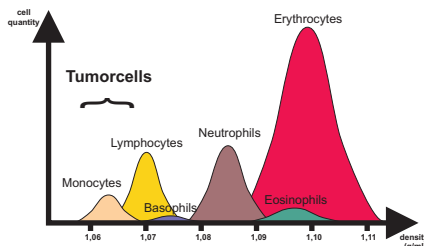
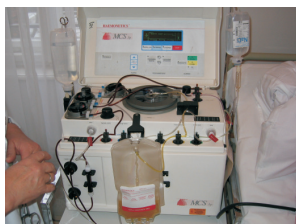
Zusätzlich setzen wir biologische Deacetylierungs-Hemmstoffe und Protease-Inhibitoren ein, die die weitere Entartung der Tumor-Stammzelle und deren Invasionspotential abfangen. Damit erreichen wir Überlebenszeiten, die in den meisten Fällen über denen der Standard-Therapie liegen.

Insbesondere vermeiden wir den Evolutionsdruck auf die Tumor-Stammzelle durch die toxische Chemo- und Strahlentherapie.

Auf diese Weise verlängern wir das Überleben des Patienten mit nicht-toxischen Mitteln.

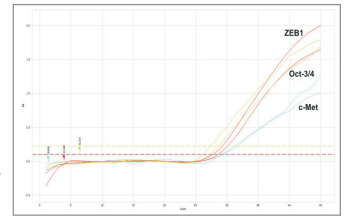
Diagnostische Apherese

Die Diagnostische Apherese ermöglicht die biopsiefreie und quantitative Gewinnung von Tumor-Stammzellen aus der Blutbahn, sowie deren vollständige molekular-pathologische Charakterisierung.^{[2],[6]}



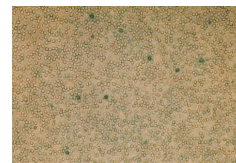
Real-Time RT-PCR

Mit Hilfe der Real-Time RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) lassen sich zirkulierende Zellen mit gestörter epithelio-mesenchymaler Transition in der Blutbahn qualitativ nachweisen.



Detektion

Ein speziell entwickelter ELISA-Test (enzyme linked immunosorbent assay) sowie die Anwendung der FISH-Analytik (fluorescence in situ hybridisation) erlaubt den Einzelzell-Nachweis und somit eine Quantifizierung. Außerdem wird durch die Bestimmung verschiedener molekularer Biomarker ein Expressionsprofil der zirkulierenden Tumor-Stammzelle erstellt.^[6]



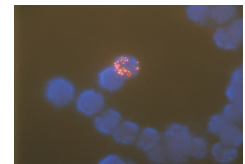
c-Met positive Zellen



Oct-3/4 positive Zellen

Prognostische und prädiktive BIOMARKER:

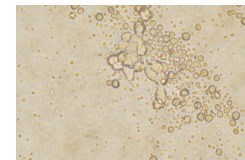
myc	CD44v5/v6
ras	VEGF
p53m	Akt/mTOR
EGFR	GFAP
erb/B2	Indolamineoxygenase
erb/B3	Survivin
MDR	Oct-3/4
c-Met	



c-erb/B2 Genamplifikation

Therapeutische Konsequenzen

Eine kombinierte Immuntherapie mit natürlichen Killerzellen und Heat-Shock-Proteinen kann Tumor-Stammzellen gezielt attackieren und vernichten.^[6]



NK-Zellen

Literatur

- [1] Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma, Sampson, J.H. *et al*, JCO 2010, 28:4722-4729.
- [2] Process for the *in vitro* diagnosis of a glioma or an astrocytoma, 26.01.2011, No. of document 1486787B1
- [3] Cancer Stem Cells, Jordan, CT., Guzman, ML., Noble, M., N. Engl. J. Med. 2006 355;12, 1253-61
- [4] Tumor Cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas, but not in healthy subjects or patients with non-malignant diseases, Allard, J. *et al*, Clin Cancer Research 6897, 2004
- [5] The evidence for Cancer Stem Cells, Niederhuber, J., (NCI, Bethesda) 5th Int. H.F.C. Behr-Symposium 2008, DKFZ Heidelberg
- [6] Dr. Kübler GmbH Deutsches Bundespatent 4228389; Europ. Patent 0.584.715; US-Patent 5,529,903; Japan. Patent JP 211352
Weiterführende Literatur unter www.kueblergmbh.com