

Systemmedizinische Forschung in Lymphomen und Leukämien

Der Blick auf die Tumorumgebung und die Medikamentensensitivität im Labor helfen, Therapien zu verbessern

von Peter-Martin Bruch, Nora Liebers und Sascha Dietrich

Lymphome und Leukämien, umgangssprachlich auch als Lymphdrüsenkrebs oder als Blutkrebs bezeichnet, verlaufen bei jeder Patientin und jedem Patienten individuell. Während viele Patient:innen durch moderne Therapien eine

sehr gute Prognose haben, erleiden immer noch zu viele Menschen den Lymphdrüsenkrebs als wiederkehrende, teilweise tödlich verlaufende Erkrankung. Um die Therapie von Lymphom- und Leukämiepatient:innen weiter zu verbessern, führen wir unsere systemmedizinische Forschung durch. Dies bedeutet, dass wir versuchen, alle Informationen über die Patientinnen, ihre Erkrankung, potenzielle Therapien und weitere Faktoren zusammenzuführen, um Rückschlüsse auf die Biologie der Erkrankung, die beste individuelle Therapie und die Prognose im einzelnen Fall zu ziehen.

Das Therapieansprechen von Patient:innen mit bösartigen Erkrankungen des blutbildenden Systems (hämatologischen Neoplasien) wird nicht nur durch die Krebszellen selbst, sondern auch durch weitere Faktoren bestimmt, wie die umstehenden gesunden Zellen im Gewebe, dem Tumormikromilieu. Das Zusammenspiel dieser sogenannten *tumorextrinsischen* Faktoren mit den Eigenschaften der Krebszellen selbst (*tumorintrinsisch*) ist komplex, da Tumoren in ihrer Entstehung und ihrem Therapieansprechen vom Mikromilieu beeinflusst werden, jedoch umgekehrt auch selbst ihr Mikromilieu beeinflussen. Dieses komplexe Zusammenspiel bestimmt

Abbildung 1: Krebszellen können – je nach Erkrankung – mittels Blutentnahme, Knochenmarkspunktion oder Biopsie isoliert werden. Diese Zellen können dann außerhalb des Körpers mit einer Vielzahl an Medikamenten behandelt werden, um die wirksamste Therapie vorherzusagen. Noch ist die direkte Anwendung dieser Technologie nicht in der breiten klinischen Praxis angekommen, doch eine Vielzahl an Forschern arbeitet daran (Quelle: Sascha Dietrich, entworfen von DrawImpacts).



gemeinsam mit genetischen Veränderungen der Tumorzellen das Therapieansprechen und damit langfristig das Überleben der Patient:innen. Hier stellen wir Ihnen an einigen Beispielen unsere Forschung und deren Nutzen für eine bessere Versorgung der Patient:innen dar.

Die Sensitivität von Medikamenten *ex vivo* testen

Obwohl heute viele Resistenzmechanismen und prognostische Marker bekannt sind, lässt sich immer noch nicht sicher vorhersagen, wie gut Patient:innen auf bestimmte medikamentöse Therapien ansprechen, was die Auswahl der bestmöglichen Therapie erschwert. Wir haben deshalb die Strategie gewählt, direkt primäre Leukämie- und Lymphomzellen mit potenziellen Medikamenten zu untersuchen, um das Therapieansprechen vorherzusagen und die wirksamste Therapie im individuellen Fall zu bestimmen.

Wir haben hierzu eine klinische Studie unter dem Namen „SMARTrial“ durchgeführt, welche die Anwendung des sogenannten *Drug Response Profiling* im klinischen Alltag untersucht und etabliert hat. Profiling bedeutet hier, das Therapieansprechen auf verschiedene Chemotherapeutika bei einer individuellen Patientin oder einem Patienten zu testen. Diese Untersuchungen werden an zuvor der Person entnommenen Krebszellen außerhalb des menschlichen Körpers (*ex vivo*) durchgeführt, sodass die Patient:in hierdurch nicht belastet wird.

Die Krebszellen wurden mittels Blutentnahme, Knochenmarkspunktion oder chirurgischer Biopsie entnommen und mit einer breiten Palette an potenziell wirksamen Medikamenten behandelt (Abbildung 1). Im Durchschnitt

waren die Untersuchungsergebnisse des *Drug Response Profiling* innerhalb von drei Tagen verfügbar. Dies ist wichtig, um diese Untersuchung auch für den klinischen Alltag sinnvoll anwendbar zu machen, da beispielsweise bei akuten Leukämien und aggressiven Lymphomen in der Regel sehr schnell Therapieentscheidungen getroffen werden müssen.

Ein Vorteil ist, auf diese Weise deutlich mehr Medikamente *ex vivo* zu testen, als beim Patienten angewendet werden. Solche breit angelegten Screening-Untersuchungen sind durch hochautomatisierte Pipettierverfahren möglich, die hunderte Versuche parallel durchführen.

Mithilfe mathematischer Modelle haben wir das Therapieansprechen jeder Patient:in auf die verschiedenen Standardmedikamente und experimentellen Medikamente mit dem Ansprechen aller anderen Studienpatient:innen auf die gleichen Medikamente abgeglichen. Das so experimentell vorhergesagte Therapieansprechen wurde dann mit der tatsächlichen Wirkung der vom behandelnden Arzt ausgewählten Therapie verglichen. Das Resultat ist jeweils ein individuelles Profil an Medikamentenwirkungen, hierdurch lassen sich individuelle Verwundbarkeiten der Krebszellen identifizieren, aus denen unmittelbar eine Therapiemöglichkeit folgen kann.

Bei Patient:innen mit einer Akuten Myeloischen Leukämie (AML), der größten Einzelgruppe in dieser Studie, konnte die Wirkung der Standardtherapie mit den beiden

Medikamenten Daunorubicin und Cytarabin auch über die bereits bekannten genetischen Risiken hinaus vorhergesagt werden. Insbesondere bei einem ungünstigen genetischen Risikoprofil (nach ELN-22 Leitlinien) könnten so Patient:innen identifiziert werden, die von einer alternativen Therapie profitieren könnten.

Ein Beispiel: Ein Studienteilnehmer mit aggressivem Lymphom wurde nach Versagen aller Standardtherapien

basierend auf dem *ex vivo* ermittelten Medikamentenansprechen seiner Krebszellen in einer individualisierten Therapie mit Methotrexat behandelt. Diese Therapie zeigte eine deutliche Wirkung und ermöglichte es, bei diesem Patienten eine Stammzelltransplantation durchzuführen, die zu einem langfristig guten Ansprechen geführt hat (Liebers *et. al.*, 2023).

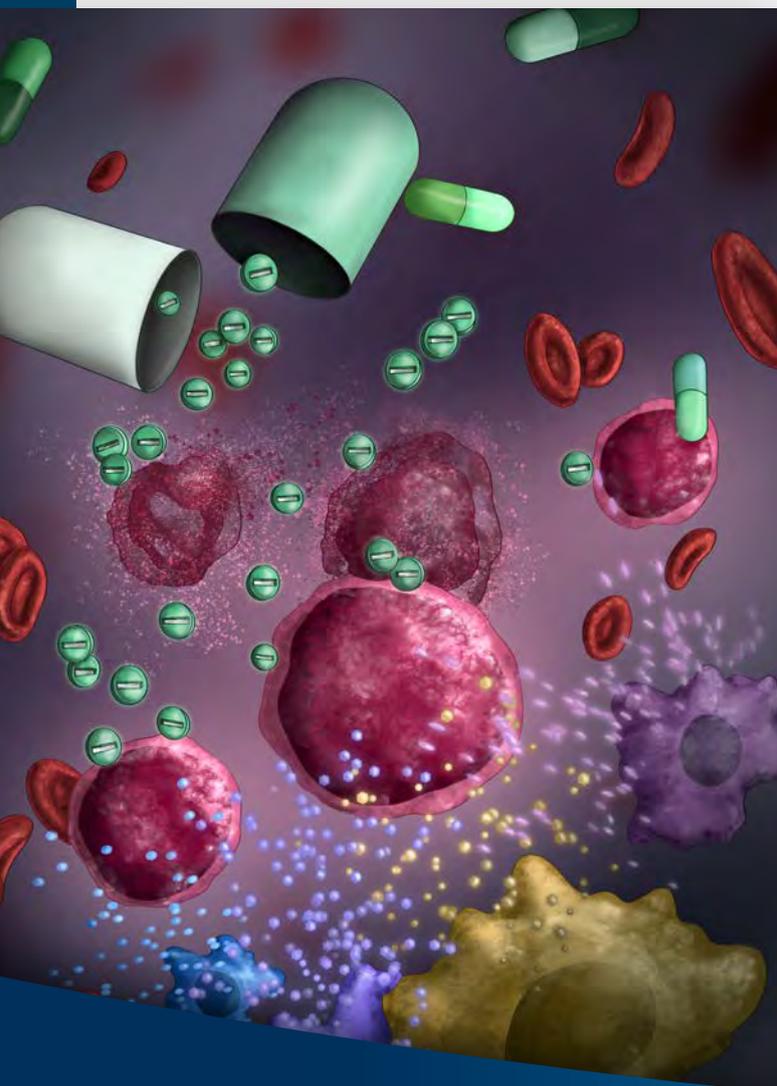
Weitere Studien sind notwendig, um den genauen Stellenwert dieser Technik in der klinischen Anwendung zu bestimmen, doch die ermutigenden Forschungsergebnisse der letzten Jahre versprechen eine deutliche Verbesserung der personalisierten Therapie von Blutkrebs. Mithilfe des *Drug Response Profiling* sollen zukünftig mehr Menschen von ihrer Erkrankung geheilt werden können und weniger unnötige Therapien mit potenziell starken Nebenwirkungen angewendet werden.

Einfluss des Tumormikromilieus auf die Medikamentenwirkung

Wie bereits eingangs erwähnt, wird das Therapieansprechen bei Krebs nicht nur durch die Krebszellen selbst, sondern auch von anderen Faktoren beeinflusst. So können gesunde Zellen im Gewebe, die zusammen das Tumormikromilieu bilden, zur Resistenz gegenüber Chemotherapien und zielgerichteten Medikamenten führen.

In weiteren Studien integrieren wir deshalb auch diese Effekte des Tumormikromilieus in die Untersuchung von Medikamentenwirkungen. So haben wir beispielsweise bei der chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) den Einfluss löslicher Faktoren des Mikromilieus auf die Wirkung von Chemotherapien und zielgerichteten Medi-

Abbildung 2: Lösliche Faktoren des Mikromilieus beeinflussen Leukämiezellen in ihrer *ex vivo* Medikamentensensitivität. Titeldarstellung *Molecular Systems Biology* August 2023 zur Publikation (Quelle: Bruch *et.al.*, 2022, entworfen von DrawImpacts).



kamenten analysiert (Abbildung 2). Hierbei zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den Leukämiezellen der einzelnen Patient:innen. Insbesondere konnten wir durch die funktionellen *ex vivo* Untersuchungen eine Gruppe von Patient:innen identifizieren, die eine deutlich schnellere Progression ihrer Erkrankung erlitten (Bruch *et.al.*, 2022). Diese funktionelle Charakterisierung kombinierten wir mit genetischen Daten, wodurch der Einfluss von Mutationen der Tumorzellen auf Mikromilieueffekte dargestellt werden konnte. Darüber hinaus wurde der Effekt des Mikromilieus auf klinisch relevante Medikamente wie Chemotherapien und B-Zell-Rezeptor-Inhibitoren untersucht. Hierbei führte Interleukin-4, ein von Immunzellen im Lymphom produzierter Botenstoff, zur stärksten Resistenz gegenüber den untersuchten Therapien.

Verschiedene Immun- und Bindegewebszellen (sogenannten Stromazellen), bilden lösliche Faktoren, die auf die Tumorzellen wirken. Insbesondere direkte zelluläre Interaktionen zwischen Stromazellen und Krebszellen jedoch, können die Wirkung von Medikamenten beeinflussen. In einem komplexen Kokulturmodell haben wir deshalb auch die Einflüsse dieser Zell-Zell-Interaktionen untersucht. Die Messung dieser Effekte wird hierbei erschwert, da auch gesunde Zellen durch die Medikamente beeinflusst werden. Wir haben deshalb die Interaktion mittels konfokaler Hochdurchsatzmikroskope beobachtet und gemessen. Tatsächlich beeinflussten die gesunden Zellen die Wirkung der Medikamente auf Krebszellen massiv. Die hierdurch gewonnenen Erkenntnisse über Zell-Zell-Interaktionen sind insbesondere für die Entwicklung neuer Medikamente wichtig, die in der Regel zunächst im Labor und erst später an Tieren und Menschen getestet werden (Herbst *et.al.*, 2023).

Die Assoziation von genetischen Veränderungen, den funktionellen Messungen an den Leukämiezellen und dem klinischen Verlauf der Erkrankung erlaubt es, Rückschlüsse auf die Mechanismen der unterschiedlichen genetischen Alterationen zu ziehen. Dieses tiefe biologische Verständnis der Erkrankung soll in Zukunft noch individuellere, zielgerichtetere Therapien erlauben und so mehr Menschen ein langes Überleben mit der Erkrankung oder eine Heilung ermöglichen.

Untersuchung des Tumormikromilieus im Krebsgewebe

Die funktionelle Untersuchung von Krebs- und Mikromilieuzellen kann wichtige Erkenntnisse über Mechanismen von Therapieresistenzen hervorbringen, jedoch sind diese Untersuchungen sehr aufwendig und im klinischen Alltag jenseits von Universitätskliniken nur schwer realisierbar. Darüber hinaus lassen sich im Labor oft nur Interaktionen zwischen einzelnen Komponenten der komplexen Situation im Menschen abbilden.

Um den genauen Einfluss des gesamten Mikromilieus zu untersuchen, analysieren wir diagnostische Biopsien, welche regelhaft bei fast allen Patient:innen entnommen werden. Diese Gewebeproben werden zur Diagnostik gebraucht und können darüber hinaus nach Zustimmung der Patient:innen zudem für wissenschaftliche Zwecke genutzt werden. Wir untersuchen hierbei insbesondere die im Gewebe neben den Krebszellen vorhandenen Immunzellen. In der Regel nämlich können Immunzellen die Entstehung von Krebs verhindern. Jedoch können fehlerhafte Funktionen dieser Immunzellen oder Ausweichmechanismen der Krebszellen dazu führen, dass Menschen erkranken. Umgekehrt können Immunzellen

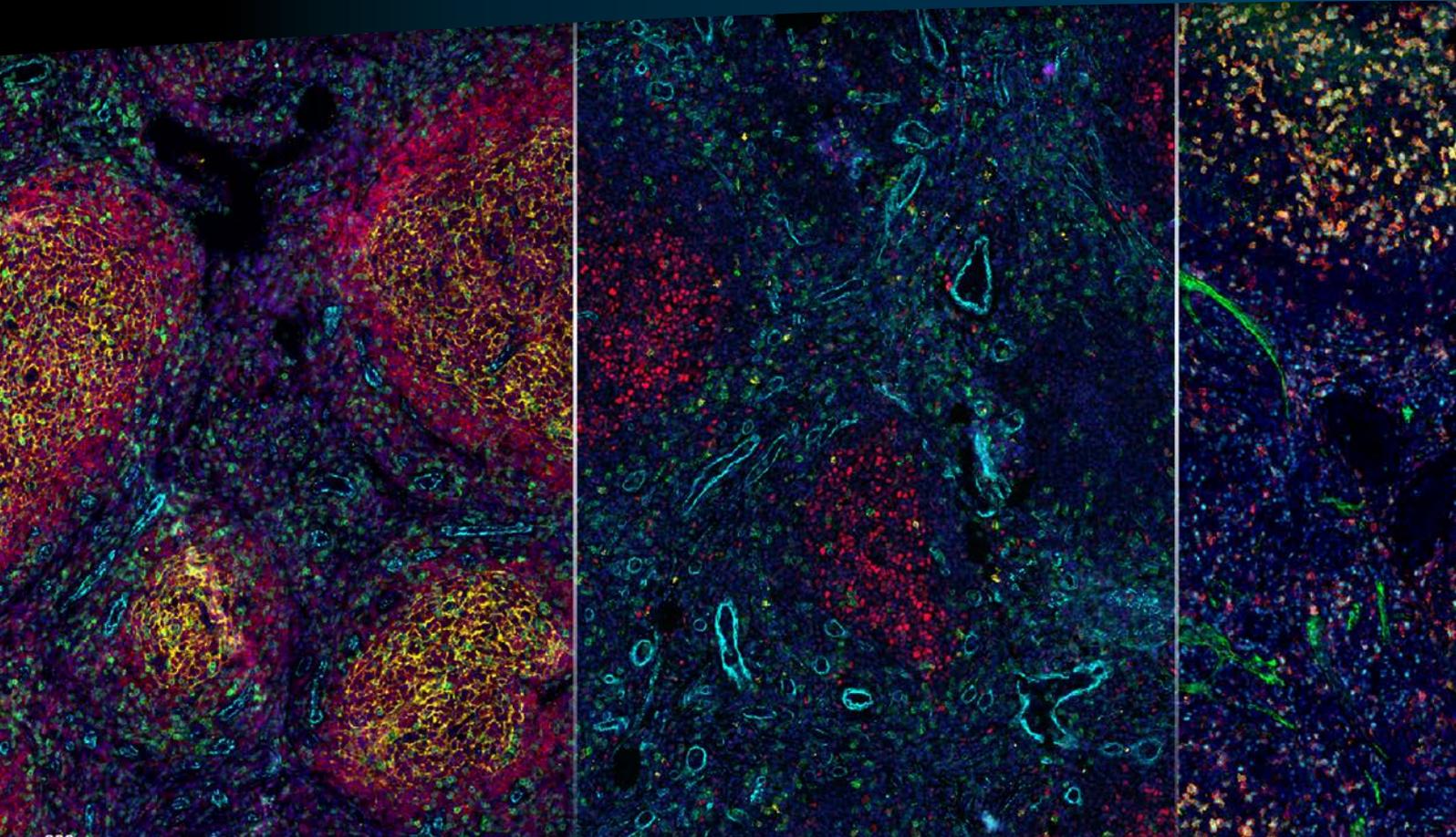


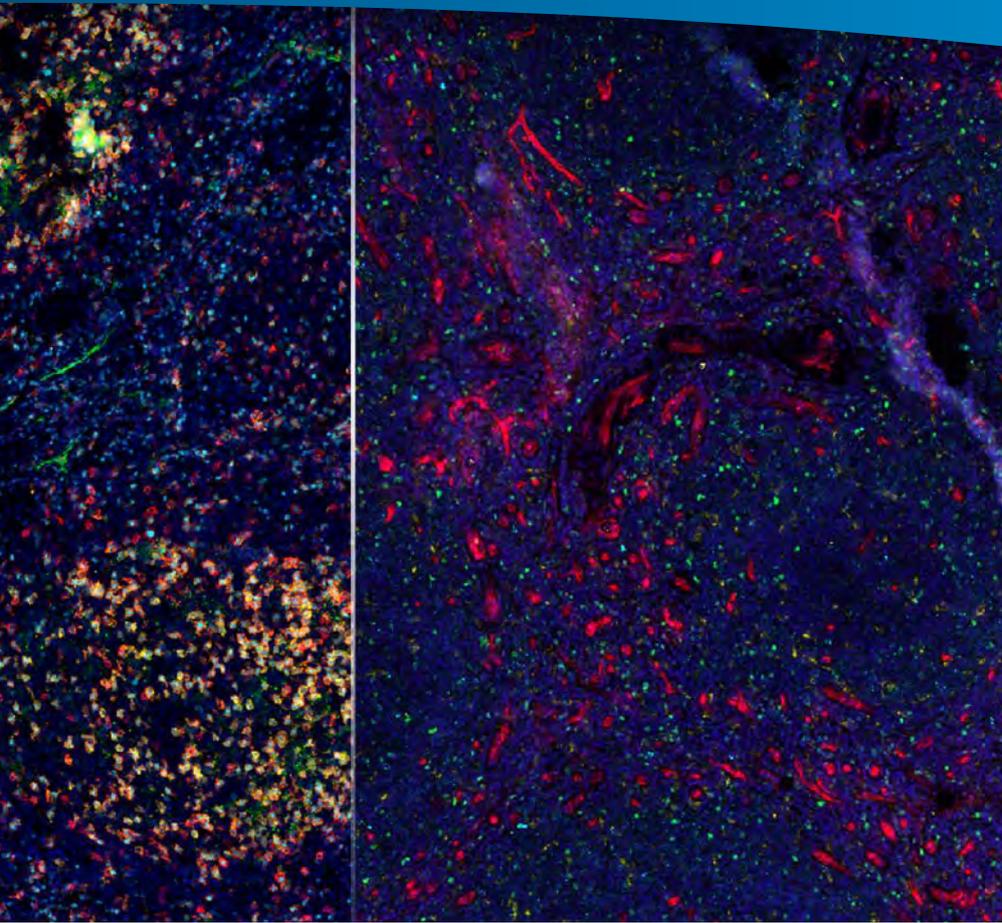
Abbildung 3: Multiparametrische Immunfluoreszenzfärbung von Zellen in einem folliculären Lymphom. Die verschiedenen Farben in den vier Paneelen repräsentieren verschiedene Oberflächenmoleküle. Durch die Kombination dieser Informationen lassen sich die verschiedenen Zellen im Gewebe erkennen (Quelle: Sascha Dietrich).

durch moderne Therapien, sogenannte Immuntherapien, wieder aktiviert werden, um Krebszellen anzugreifen. Dieses komplexe Bild aus pro- und anti-Krebs-Wirkungen entsteht, da viele verschiedene Subgruppen von Immunzellen im Gewebe vorhanden sind und unterschiedliche Funktionen erfüllen. Diese Zusammensetzung der Immunzellen zu verstehen, ist ein wichtiger Schritt zur Verbesserung zukünftiger Therapien.

Beispielsweise konnten wir vor kurzem in einer Studie an B-Zell-Lymphomen, der häufigsten Gruppe der Lymphdrüsenkrebskrankungen, die Infiltration von Immunzellen beobachten und mit dem klinischen Voranschreiten der Erkrankung verknüpfen. Es zeigte sich, dass insbesondere erschöpfte T-Zellen, welche weniger Aktivität gegen Krebszellen zeigen, mit einer schlechteren Prognose der Patient:innen assoziiert sind. Dies kann daran liegen, dass die T-Zellen, welche in der Regel Krebszellen erkennen und zerstören sollten, durch ihre Erschöpfung nicht mehr in der Lage sind, die Erkrankung zu kontrollieren (Roeder *et al.*, 2024).

Über die Zusammensetzung der Immunzellen hinaus ist auch die räumliche Darstellung des Gewebes entscheidend. Schließlich müssen die Immunzellen zunächst die Krebszellen erreichen, bevor sie diese angreifen können. Zur Charakterisierung dieser Gewebeproben nutzen wir multiparametrische Immunfluoreszenzfärbungen (Abbildung 3). Diese Technik erlaubt uns, eine Vielzahl von Oberflächenmolekülen darzustellen und so die Zelltypen im Gewebe zu identifizieren. Durch die daraus abgeleiteten Informationen zur Häufigkeit, räumlichen Verteilung und Aktivität verschiedener Immunzellen lassen sich Rückschlüsse auf die biologischen Vorgänge im Tumorgewebe ziehen.

Zusammenfassend versuchen wir durch die genaue Untersuchung von Krebszellen und des umliegenden Gewebes, die Entstehung von Krebskrankungen und ihr Ansprechen auf Therapien besser zu verstehen. Dieses biologische Verständnis ist die Grundlage für die bisherigen Entwicklungen zielgerichteter Therapien und soll auch in Zukunft zur weiteren Verbesserung von Therapien und dadurch der Heilungschancen der Patient:innen führen.



Referenzen:

Liebers, N., Bruch, P.-M., *et al.* (2023). „Ex vivo drug response profiling for response and outcome prediction in hematologic malignancies: the prospective non-interventional SMARTrial.“ *Nature Cancer*. DOI: 10.1038/s43018-023-00645-5

Bruch, P. M. H. A., Giles, *et al.* (2022). „Drug-microenvironment perturbations reveal resistance mechanisms and prognostic subgroups in CLL.“ *Mol Syst Biol*, 18(8), e10855. DOI: 10.15252/msb.202110855

Herbst S. A, Kim,V., *et al.* (2023). Comparing the value of mono- vs coculture for high-throughput compound screening in hematological malignancies. *Blood Adv.* Oct 10;7(19):5925-5936. doi: 10.1182/bloodadvances.2022009652. PMID: 37352275; PMCID: PMC10558604.

Roider, T. M., Baertsch, A., *et al.* (2024). „Multimodal and spatially resolved profiling identifies distinct patterns of T cell infiltration in nodal B cell lymphoma entities.“ *Nat Cell Biol*. DOI: 10.1038/s41556-024-01358-2

Kontakt:



Prof. Dr. med. Sascha Dietrich

Universitätsklinikum Düsseldorf,
Direktor der Klinik für Hämatologie,
Onkologie und Klinische Immunologie
Düsseldorf
Klinikleitung.Haematologie@
med.uni-duesseldorf.de

<https://uniklinik-duesseldorf.de/dietrichlab>

Diese Arbeit wurde im Rahmen der e:Med Nachwuchsgruppe SYMPATHY durch das BMBF gefördert.

