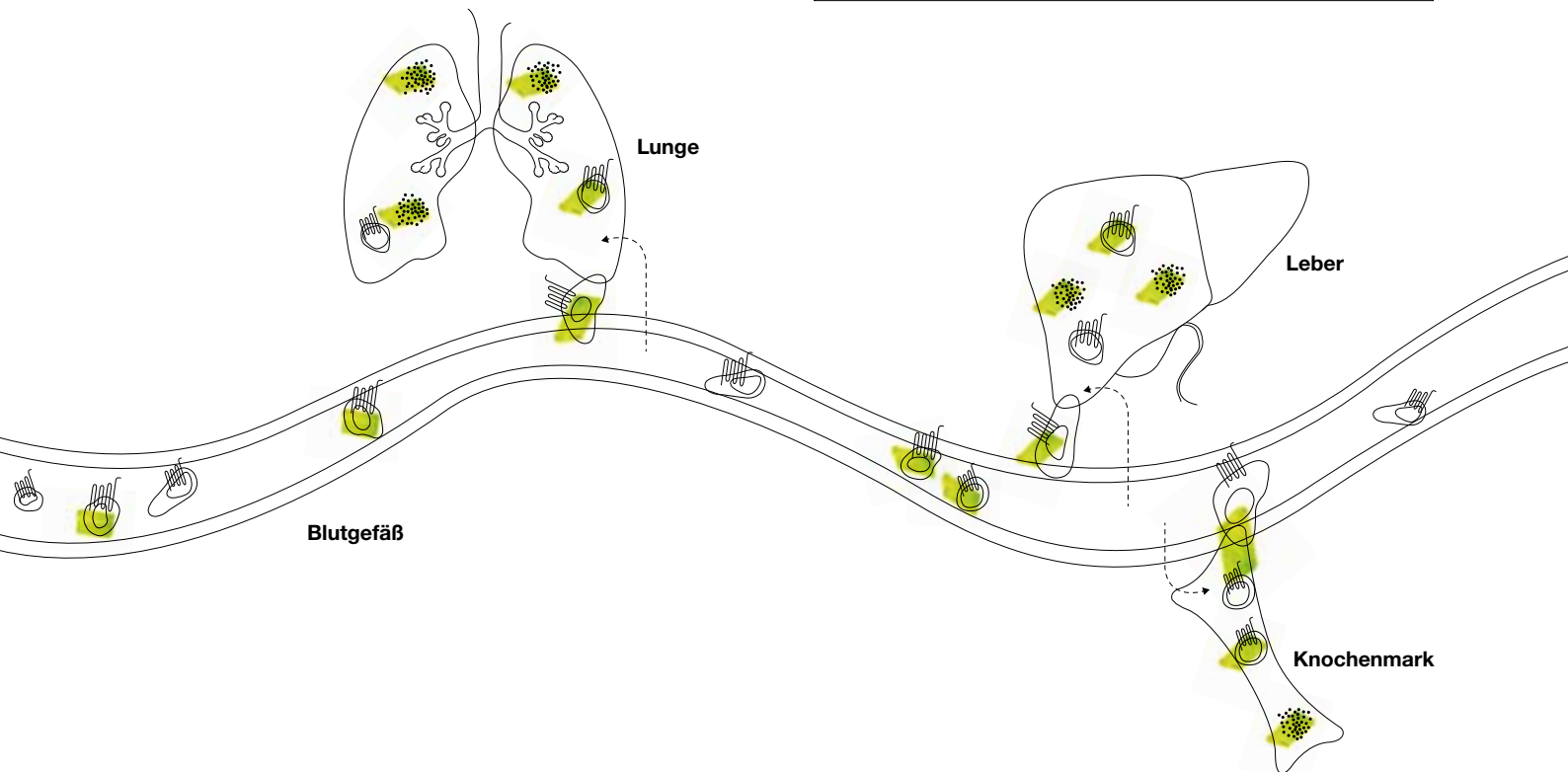


**CXCR4-Rezeptor präsentierende Zellen des Primärtumors und seiner Metastasen**, hier in Lunge, Leber und Knochenmark, binden den intravenös injizierten Marker binnen einiger Minuten und werden so im Rahmen einer PET Untersuchung sichtbar

Link

[www.prc.ch.tum.de](http://www.prc.ch.tum.de)



# Ein neuer Marker für die Tumordiagnostik

Eine Forschergruppe an der TU München entwickelt einen neuen Marker für PET-Untersuchungen in der Onkologie. Das Ziel: eine rasche und individuellere Diagnostik, welche Patienten von einer Chemotherapie profitieren werden und welche nicht

**G**allium-68 besitzt eine Halbwertszeit von 68 Minuten – das können Sie sich leicht merken“, erklärt Prof. Hans-Jürgen Wester. „Aber schnell sollte es schon gehen, wenn Sie dieses Diagnostikum anwenden wollen – nach ungefähr einer Stunde ist die Hälfte davon schon wieder zerfallen.“

Wester, Inhaber des Lehrstuhls für Pharmazeutische Radiochemie an der TU München, zeigt die Produktionsanlage für radioaktiv markierte Substanzen der Universität am Klinikum rechts der Isar. In einem Raum stehen 14 gut kühlschrank-

große Wandschränke: „Heiße Zellen“, erklärt Wester. Hier werden die Tracer produziert – bedarfsgerecht, oft unmittelbar bevor eine nuklearmedizinische Diagnostik für die Patienten ansteht.

Das instabile Gallium-68 ( $^{68}\text{Ga}$ ) sendet beim Zerfall sogenannte Positronen aus und kommt, gekoppelt an eine biologische Sonde, die das Isotop zu seinem Zielgewebe trägt, bei PET-Untersuchungen zum Einsatz. PET, die Positronen-Emissions-Tomographie, ist heute neben der Computertomographie (CT) und der Magnetresonanztomographie ▷



(MRT) eines der wichtigen Verfahren in der bildgebenden Diagnostik (siehe Kasten Seite 44). CT und MRT basieren auf Röntgenstrahlen bzw. magnetischen Wechselfeldern und machen vor allem Strukturen sichtbar, erfassen zum Beispiel die räumliche Gestalt und Abgrenzung von Tumoren. PET hingegen kann Aufschluss über feinste Stoffwechselveränderungen geben und damit frühzeitig Hinweise auf krankhafte Veränderungen – selbst wenn strukturell noch keine Veränderungen zu beobachten sind. Kann. Tut sie aber nach Westers Geschmack viel zu selten. „PET ist die bildgebende Methode mit dem größten Potenzial“, betont der Radiopharmazeut. Das aber eben bislang noch zu wenig erschlossen sei.

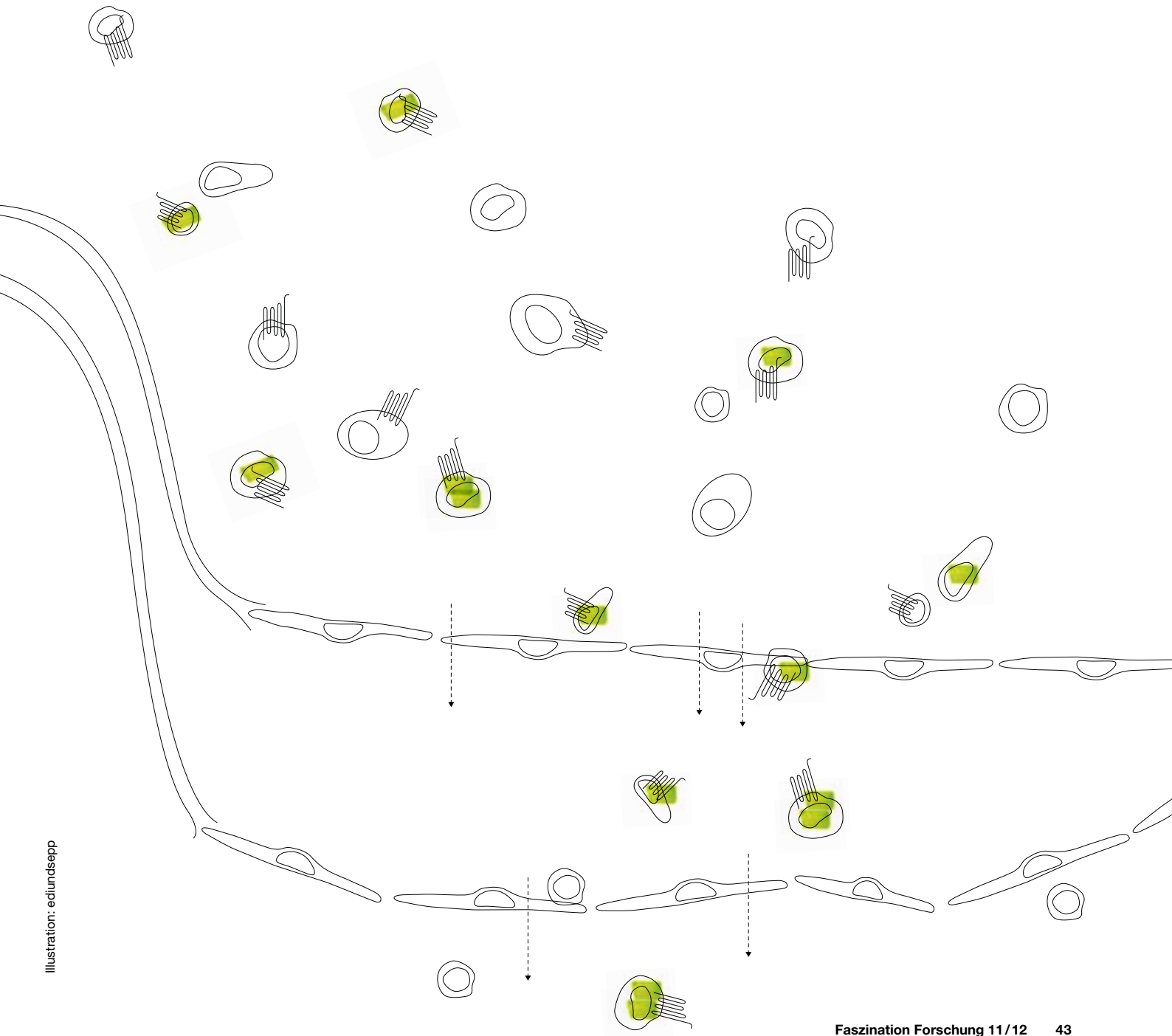
Eine Hürde sind die hohen Kosten. Viele wüssten gar nicht, welchen Aufwand es für Kliniken bedeutet, die Produktionsstätten zu unterhalten“, meint Wester. „Wir müssen hier den gesamten Formalismus erfüllen, der auch für die Arzneimittelproduktion in einem großen Pharmaunternehmen Vorschrift ist, nur dass wir nicht im Tonnenmaßstab, sondern im Nanomol-Bereich arbeiten.“ Und das unter hohem Zeitdruck: Die Nuklide werden mittels eines Isotopengenerators ( $^{68}\text{Ga}$ ) oder in einem Zyklotron (etwa die Isotope  $^{11}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ )

hergestellt, gleich zu den PET-Diagnostika weiterverarbeitet und kommen in der Regel unverzüglich zum Einsatz. Bei  $^{68}\text{Ga}$  ist es der pure Zufall, dass seine Ordnungszahl auch der Halbwertszeit in Minuten entspricht. Beim Kohlenstoff  $^{11}\text{C}$  ist bereits nach 20 Minuten die Hälfte zerfallen, bei Fluor  $^{18}\text{F}$  nach 110 Minuten. Die aufwendige Produktion macht PET teuer. Die Kosten einer Untersuchung, heute meist in Kombination mit einer Computertomographie (CT) als PET-CT, können bis zu 1500 Euro ausmachen. CT oder MRT sind oft für weniger zu haben.

Auch wegen der Kosten gibt es es eine PET-Untersuchung als Kassenleistung regulär nur bei Lungenkarzinomen und manchen Lymphomen. Darüber hinaus nur bei speziellen Fragestellungen oder nach Entscheidung im Einzelfall.

Das Hauptproblem sieht Wester aber ganz woanders: „Wir brauchen spezifischere Marker, um die Methode noch erfolgreicher nutzen zu können.“ Als PET-Tracer für die Tumordiagnostik werden bislang vor allem Glucose- oder Aminosäurederivate eingesetzt, beides nehmen Tumorzellen oft schneller auf als gesunde Zellen. Wester: „In der Regel kommt die PET-CT heute vorrangig zum Einsatz, um onkologische Erkrankungen hinsichtlich Ausmaß und Verlauf ▶

**Im Primärtumor stimuliert CXCL12 über den CXCR4 Rezeptor das Tumorwachstum.** CXCL12/CXCR4 kann auch die Neubildung von Blutgefäßen (Neoangiogenese/Neovasculogenese) im Tumor unterstützen und auf diesem Wege für eine bessere Versorgung des schnell wachsenden Tumors sorgen. Einige wenige CXCR4-exprimierende Zellen des Primärtumors können sich ablösen, wandern in benachbarte Blutgefäße (Intravasation), und werden über das Gefäßsystem im Körper verteilt



zu charakterisieren und den Therapieerfolg abschließend zu bestimmen.“ Das Feld suche aber händeringend bessere Marker. „Etwa um gleich zu Beginn einer Therapie zu klären, ob sie nun einem Patienten nutzen wird oder ob eine andere nötig ist.“ Solche Marker sind aber Mangelware.

### Raus aus dem Schattendasein

Eine Truppe von gut 15 Leuten um Wester will jetzt liefern – gefördert werden sie über den Sonderforschungsbereich 824 der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Im Zentrum steht ein zellmembranständiger Rezeptor, nach Forscher(un)-art reichlich abstrakt benannt als CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4, abgekürzt CXCR4. Der hatte zunächst gute Chancen auf ein Dasein als Minor Important. 1993 fischten mehrere Gruppen die Gensequenz von CXCR4 aus dem Genom – erkannten in ihm einen weiteren von zahllosen Rezeptoren auf Immunzellen. Funktion unklar.

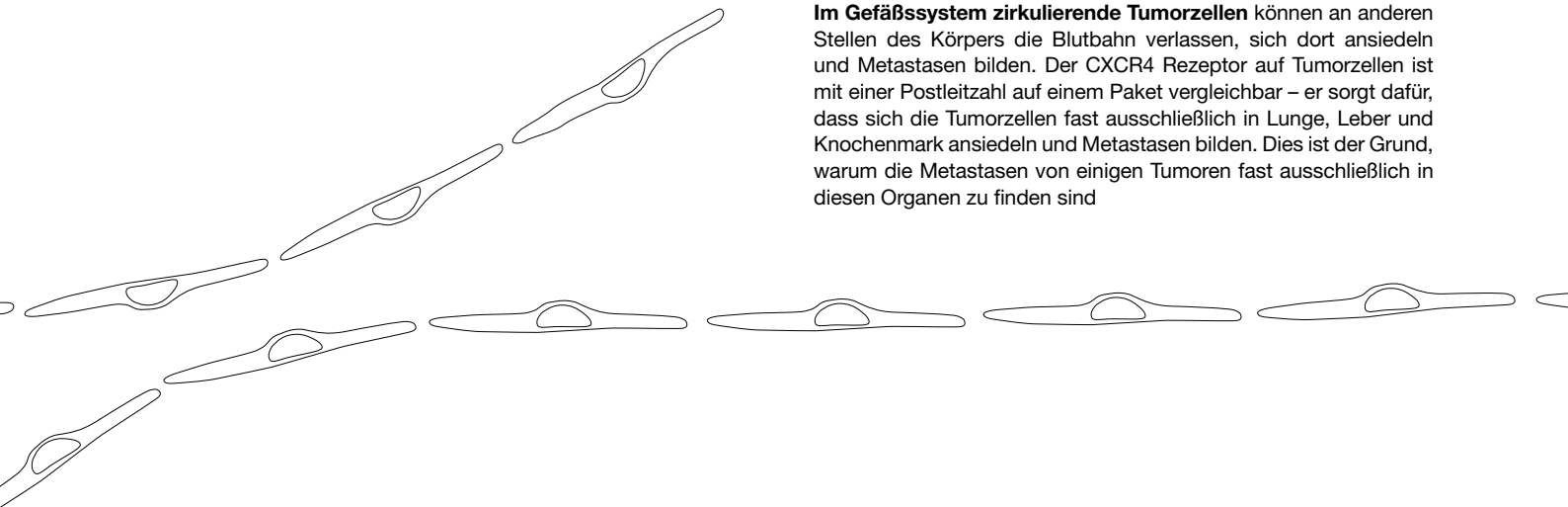
Schon drei Jahre später aber kommt der Nachweis, dass HI-Viren an CXCR4 andocken und ihn oft als Corezeptor für den Befall von menschlichen Immunzellen benötigen. Auf einmal brummt das Feld, denn sofort beginnt die Suche nach neuen Medikamenten gegen Aids-Viren via CXCR4-Blockade. Und bei HIV bleibt es nicht, denn längst ist klar: CXCR4 und das an ihn bindende Molekül, CXCL12, stehen für ein enorm wichtiges chemisches Kommunikationssystem im Körper, ein, so Hans-Jürgen Wester, „universales Adressierungssys-

### Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Eine PET-Untersuchung gibt primär eine Information über Stoffwechselprozesse in einem Gewebe, weniger über dessen exakte Lokalisation. Letzteres ermöglicht eine in Kombination durchgeführte CT-Untersuchung. Die räumliche Auflösung einer PET-CT liegt, ähnlich wie bei CT und MRT, bei einigen wenigen Millimetern.

PET setzt auf sogenannte Positronen, positiv geladene Teilchen mit der gleichen Masse wie Elektronen. Detektiert werden von den PET-Geräten aber zwei diametral emittierte  $\gamma$ -Quanten. Diese entstehen, wenn das Positron mit einem Elektron im angrenzenden Gewebe annihiliert und die Massen beider Teilchen in sogenannte „Annihilationsstrahlung“ umgewandelt werden.

Die Kopplung eines Radionuklids an ein Biomolekül liefert das gewünschte Diagnostikum (den Marker, oder auch Tracer). Besonders oft im Einsatz ist mit  $^{18}\text{F}$  Fluor (Halbwertszeit von 110 Minuten) markierte Glucose alias [ $^{18}\text{F}$ ] Fluorodeoxyglucose (FDG). Viele Tumorzellen nehmen aufgrund ihres erhöhten Stoffwechsels große Mengen Glucose auf. Andere gebräuchliche Radionuklide sind  $^{11}\text{C}$  (Halbwertszeit von 20,3 Minuten) und  $^{68}\text{Ga}$  Gallium (Halbwertszeit 68 Minuten). Ersteres kommt in der modifizierten Aminosäure (O-2[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorethyl)-L-Tyrosin (FET) zum Einsatz. Dieser Tracer ist eine Entwicklung einer AG um Hans-Jürgen Wester aus den 1990er-Jahren. Hirntumoren zeigen eine erhöhte Aufnahme von Aminosäuren. FET ist so heute ein Standard, um die biochemische Ausdehnung eines Tumors zu bestimmen, während z. B. MRT nur die morphologische Ausdehnung zeigt.



**Im Gefäßsystem zirkulierende Tumorzellen** können an anderen Stellen des Körpers die Blutbahn verlassen, sich dort ansiedeln und Metastasen bilden. Der CXCR4 Rezeptor auf Tumorzellen ist mit einer Postleitzahl auf einem Paket vergleichbar – er sorgt dafür, dass sich die Tumorzellen fast ausschließlich in Lunge, Leber und Knochenmark ansiedeln und Metastasen bilden. Dies ist der Grund, warum die Metastasen von einigen Tumoren fast ausschließlich in diesen Organen zu finden sind

tem“. So finden viele Stammzellen bereits im Embryo ihren Bestimmungsort nur, weil sie von CXCR4 auf ihrer Oberfläche quasi hingeführt werden. Ebenso funktioniert auch die Freisetzung von Stammzellen aus ihren Nischen im Knochenmark und ihre Beteiligung bei der Wundheilung bzw. Gefäßneubildung. Gleiches gilt für Immunzellen, die zum Ort einer Infektion strömen. Gelockt werden sie immer dorthin, wo gerade hohe Mengen des Gegenstücks zu CXCR4 produziert werden – des Liganden CXCL12. Wie Schlüssel und Schloss passen Rezeptor und Ligand zusammen.

Fehlregulationen im Gespann CXCR4/CXCL12 treten bei vielen Krankheiten auf. Über 20 Krebsarten zeigen eine Überexpression von CXCR4/CXCL12 mit negativen Folgen. Sei es Brust- oder Prostatakrebs: Die fatale Metastasierung startet, indem einzelne Zellen aus dem Primärtumor in andere Körpergewebe wandern; angelockt werden sie dabei oft von CXCL12. Auch sorgen Tumoren durch Abgabe von CXCL12 mit dafür, dass der Körper ihnen ein besseres Gefäßbett baut – es ist wiederum eine Voraussetzung dafür, dass ein Primärtumor über eine Größe von zwei bis drei Millimetern hinaus wachsen kann. Krebszellen „missbrauchen“ damit ein evolutiv altes Programm im Organismus für ihre Zwecke. „Mit CXCR4 haben wir einen Rezeptor in Händen, der uns beim Verständnis und damit zumindest bei der Diagnostik und Therapiekontrolle weiterhelfen kann“, ist Wester überzeugt.

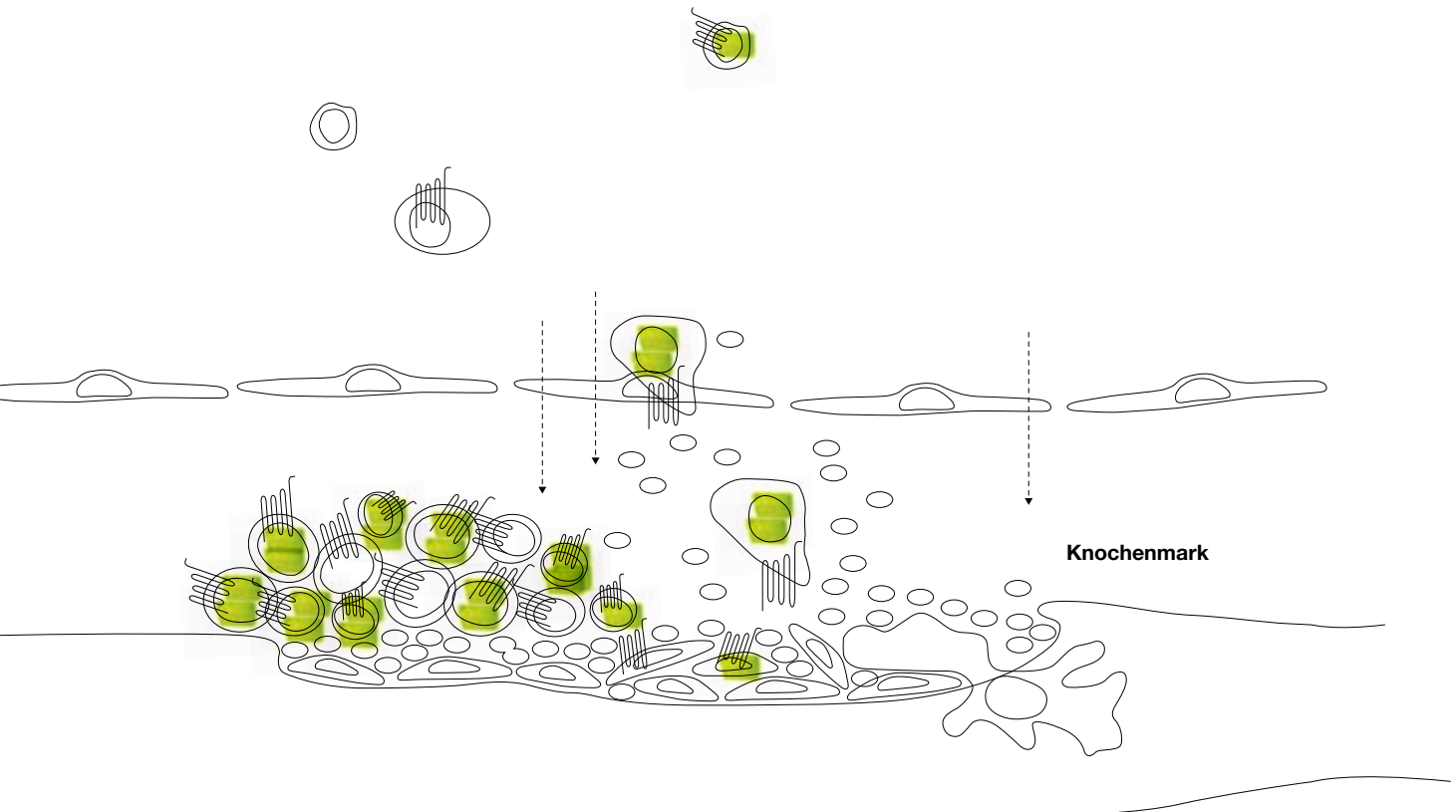
### Anwendung in der Diagnostik

Denn die Hoffnung auf neue Therapeutika hat sich bisher kaum erfüllt. Auch wenn viele Studien mit Wirkstoffkandidaten laufen: Zugelassen ist nur der CXCR4-Blocker AMD3100 zur Mobilisierung von Stammzellen, die Ärzte nach einer Chemo- oder Strahlentherapie retransplantieren. Das große Hindernis für therapeutische Erfolge sind Probleme mit Nebenwirkungen. „Sobald Sie Wirkstoffe gegen CXCR4 in großer Menge und über einen längeren Zeitraum geben müssen, werden Sie immer auch gesunde Stammzellen im Körper in Mitleidenschaft ziehen, das ist ein womöglich kaum lösbarer Zielkonflikt“, betont Wester.

Anders bei einem neuen PET-Diagnostikum. Ein Tracer, der an CXCR4 bindet und ihn dadurch markiert, würde dem Patienten nur für kurze Zeit in kleinsten Mengen injiziert. Und anders als bei einem Medikament sollte es genügen, wenige Rezeptoren zu besetzen. „Für eine PET-Diagnostik reicht es, wenn wir weniger als fünf Prozent der CXCR4-Rezeptoren im Körper markieren“, erläutert Wester. Damit sollte es möglich sein, Tumoren sichtbar zu machen, die sehr hohe Mengen an CXCR4 tragen. Zugleich würde das Gros der nativen Rezeptoren ungestört weiterfunktionieren.

### Erster Marker soll erprobt werden

Die ersten Daten geben dem Konzept recht. Ein erster neuer PET-Marker gegen CXCR4 soll tatsächlich noch ▶





dieses Jahr erstmals in Patienten erprobt werden. Fünf Jahre hat die Entwicklung gedauert. Man nehme: in diesem Fall ein Molekül, das japanische Forscher publiziert haben. 2005 berichtete eine Gruppe von der Kyoto University von ringförmigen kleinen Eiweißmolekülen als neuen Blockadestoffen (Antagonisten) von CXCR4. Die Japaner suchten nach besseren Medikamenten gegen HIV, verkleinerten dafür eine Ausgangssubstanz, ein kleines Eiweiß aus Pfeilschwanzkrebsen, Schritt für Schritt, ohne dass seine Fähigkeit verloren ging, an CXCR4 anzudocken. Dann verpassten sie der ganzen Angelegenheit noch einen Ringschluss – sie koppelten die fünf zentralen Aminosäuren zu einem Ring. Das Ergebnis bekommt noch das Laborkürzel FC131. In der vornehmen Fachsprache ist es ein „Zyklisches Pentapeptid“.

Den Kniff mit dem Ringschluss hatten sich die Forscher aus Kyoto wiederum von Wissenschaftlern der TUM abgeschaut. Es war der renommierte Peptidchemiker Horst Kessler, heute am Institute for Advanced Study der TUM und bei der Entwicklung der neuen PET-Marker ein Hauptakteur, der schon Mitte der 1970er lineare Peptide in Ringform gebracht hatte, um eine gewünschte räumliche Kon-

formation dauerhafter zu stabilisieren. Lineare Moleküle „zittern“ aufgrund der höheren Freiheitsgrade viel stärker im molekularen Maßstab hin und her – wechseln ihre Konformation. „Auch eine gewünschte Bioaktivität können wir durch die Ringform stabilisieren“, erklärt Kessler.

Die Münchener wiederum „fischten“ FC131 aus der Literatur und nahmen es zum Ausgangspunkt ihrer Entwicklung neuer Radiopharmaka. „Die ersten Daten zur Bindung mit dem radiomarkierten Liganden waren gut“, erinnert sich Wester. Doch zeigten Versuche im Mausmodell gravierende Probleme. FC131 markierte zwar Tumoren, doch zeigten die Aufnahmen starke unspezifische Anreicherungen vielerorts im Körper. „Viel zu viel Hintergrundsignal, sodass vor allem Tumoren im Bauchraum schlicht nicht erkannt würden“, erinnert sich Wester. Als Grund der Malaise stellte sich heraus, dass FC131 sehr fettlöslich war, lipophil, und sich deshalb vor allem in Leber und Darm anreicherte. Zunächst war sogar denkbar, dass FC131 in Leber und Bauchraum noch an anderen Rezeptoren als CXCR4 andockte – was einen kompletten Neubeginn der Entwicklung bedeutet hätte. Entwarnung gaben weitere Versuche, die zeigten, dass die Signale in Leber oder Niere mit der ▶





**Innenleben des Kompaktzyklotrons am Klinikum rechts der Isar:** Hier werden Wasserstoffionen beschleunigt und mittels Kernreaktionen radioaktive Isotope produziert. Diese werden dann als Gas oder in Flüssigkeit gelöst in dünnen Kapillaren zur Weiterverarbeitung in das benachbarte GMP (Good Manufacturing Practice) Labor geleitet





Zeit rasch abnehmen, während sie in Tumorgewebe länger konstant blieben. „Das war ein klarer Hinweis, dass die Substanz wirklich spezifisch an CXCR4 bindet“, erklärt Wester.

Es blieb die Schlüsselfrage: Wie lässt sich die Substanz so umbauen, dass sie nur noch wenig unspezifische Bindung eingeht? Geholfen haben Computerprogramme, mit denen sich die räumliche Anordnung von CXCR4 mit neu designten Liganden simulieren lässt. „Wir konnten hieraus schließen, an welchen Molekülteilen wir chemisch variieren können, ohne die Affinität zum Rezeptor zu verschlechtern“, berichtet Wester. Der Rest war viel Fleißarbeit: Design und Synthese zahlreicher chemischer Varianten, gefolgt von Tests und nochmals Tests in Zellkultur und Tiermodell.

Zusätzlich galt es auch noch, eine weitere Moleküleinheit an das Grundgerüst anzufüügen, die das nötige Isotop aufnehmen würde. Besonders gute CXCR4-Liganden ergaben sich, wenn die Münchener einen etablierten Träger just für Gallium-68 an ein verbessertes Grundgerüst von FC131 koppelten, genannt DOTA. Wie ein winziger molekularer Käfig kann DOTA ein Gallium-Molekül festhalten.

Am Ende standen Verbindungen, die in Zellkulturen in sehr geringen Mengen, also nanomolarer Konzentration (6 mal  $10^{11}$  Moleküle je Milliliter Zellkultur), bereits eine sehr hohe Affinität zum Rezeptor zeigten – und dies bei drastisch reduzierter unspezifischer Bindung in anderen Regionen.

Neue zyklische Pentapeptide gegen CXCR4 alias DOTA-konjugierte CPCR4-Marker lautet der sperrige Oberbegriff für die neue Molekülgruppe. „Es sind derzeit die besten PET-Liganden für CXCR4“, betont Wester. Läuft bei der weiteren Entwicklung alles glatt, wären es die ersten Marker für diesen Rezeptor überhaupt im klinischen Einsatz. Noch bleibt vieles zu testen. Inwieweit die Substanzen wirklich funktionieren, müssen klinische Versuche zeigen. Die ersten sollen noch 2012 in Zusammenarbeit mit Prof. Markus Schwaiger, Direktor der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik am Klinikum rechts der Isar der TUM, beginnen.

Auch die Frage nach dem medizinischen Gewinn durch eine solche CXCR4-Diagnostik bleibt dann zu klären. Eine Chance darauf, hier einen Frühmarker für das Ansprechen auf eine Therapie zu haben, besteht. „Wir hoffen, dass wir über das Auslesen der CXCR4-Expression auf Tumoren in Zukunft Ärzten wertvolle, therapierelevante Informationen geben können“, erklärt Wester. Ein rasches Absinken der Dichte dieser Rezeptoren könnte einmal wichtiger Parameter werden für das Ansprechen auf eine Therapie. Wester: „Welcher Patient eignet sich für eine ausgewählte Therapie, wie schnell spricht jemand auf diese Therapie an, und bei welchem Patienten muss man die Therapie wechseln?“ Ein neuer Marker für die PET-Diagnostik als Baustein für eine individuellere Medizin. *Bernhard Epping*



**Die applikationsfertigen Radiopharmaka** werden unter kontrollierten Bedingungen hergestellt. Die Produktion erfolgt vollautomatisch in miniaturisierten Syntheseapparaturen in bleiabgeschirmten „Heissen Zellen“. Die am Ende der Apparatur in sterile Gefäße tropfende, injektionsfertige Lösung wird nach aufwändiger Qualitätskontrolle direkt am PET für die intravenöse Applikation am Patienten verwendet



Foto: Lehrstuhl für Pharmazeutische Radiochemie; Illustration: edlundsepp