

Susanne Knecht  
Dr. med.

## **Resistance to epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors in head and neck squamous cell carcinomas - resistance mechanisms and the effect of temsirolimus on the tumor microenvironment**

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde  
Doktorvater: Prof. Dr. Jochen Heß

Epidermal growth factor receptor (EGFR) Inhibitoren werden häufig zur Behandlung von fortgeschrittenen und metastasierten Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen (HNSCC) verwendet. Die Erfolgsraten sind jedoch gering und betragen 10 % bis 13 % . Die meisten Patienten entwickeln unter Therapie Resistenzen gegen die EGFR Inhibitoren, was wiederum zu schlechter Prognose und reduzierten Überlebensraten führt. Mehrere Resistenzmechanismen wurden bereits untersucht und beschrieben, aber eine detaillierte und vollständige Aufschlüsselung der Interaktionsmechanismen fehlt noch. Mediatoren, welche Resistenzen begünstigen und vorantreiben, müssen identifiziert werden. Eine Gruppierung von Tumoren mit ähnlichem Expressionsmuster mag dazu verhelfen, personalisierte Therapiestrategien zu entwickeln. Außer den Tumorzellen selbst ist auch das umgebende Gewebe in den Fokus der Forschung gerückt.

Es ist bekannt, dass Tumorgewebe von Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinomen eine Vielzahl von löslichen Faktoren, wie zum Beispiel Wachstumsfaktoren, enthält. In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Wachstumsfaktoren und Rezeptor-Tyrosinkinasen, welche von den Tumor- und den Stromazellen exprimiert werden, auf die Entstehung von Resistenzen gegen EGFR Inhibitoren wie Gefitinib untersucht. Eine Kombinationstherapie von EGFR und mTOR Inhibitoren hat in der Klinik vielversprechende Ergebnisse geliefert. Darauf basierend wurde die Hypothese aufgestellt, dass Temsirolimus die Expression von Rezeptor-Tyrosinkinasen auf den Stroma-Zellen verändert und damit die durch Wachstumsfaktoren getragene Kommunikation zwischen Tumorzellen und Fibroblasten beeinflusst.

Die Ergebnisse der Experimente zeigen, dass Gefitinib als EGFR Inhibitor deutlich die Viabilität der HNSCC Zelllinien beeinträchtigt. Wachstumsfaktoren wie AREG, HGF, IGF1, FGF1 und FGF2 intensivieren Resistenzen gegenüber EGFR Inhibitoren. Sogar der programmierte Zelltod wird durch Wachstumsfaktoren deutlich beeinträchtigt. Ein hoher Gehalt von einzelnen sowie die Kombination von mehreren Wachstumsfaktoren verstärken diese Effekte noch mehr. Für den Faktor TGF $\beta$ 1 ist bekannt, dass er mehrere Signalwege aktiviert und auf verschiedene Art und Weise wirken kann. Auch hier verursachte er zelllinienabhängig eine Steigerung oder Verminderung der Zell-Viabilität. Doch neben der Wachstumsfaktoren-Sekretion ist auch die Expression von Rezeptor-Tyrosinkinasen von großer Wichtigkeit. Statistische Analysen haben gezeigt, dass die Expression von Rezeptor-Tyrosinkinasen auf Tumorzellen mit dem Effekt der entsprechenden Wachstumsfaktoren auf die Zell-Viabilität korreliert. Des Weiteren induziert Temsirolimus, ein mTOR Inhibitor, die Expression von Rezeptor-Tyrosinkinasen in Fibroblasten, aber beeinflusst die Viabilität der Tumorzellen und Fibroblasten nur geringfügig.

Es ist bekannt, dass Zellwachstum und Tumorprogression maßgeblich von einem komplexen Netzwerk von Interaktionen zwischen den Tumor- und Stromazellen gesteuert werden. Wie bereits in anderen Studien vermutet konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass im Kopf-Hals-Tumorgewebe vorhandene Wachstumsfaktoren wie AREG, HGF, IGF1, FGF1 und FGF2 großen Einfluss auf die Resistenzentwicklung gegen EGFR Inhibitoren haben. Teilweise konnte für die gleichen Faktoren auch in anderen Tumorarten wie zum Beispiel in Nichtkleinzelligen Bronchialkarzinomen ein Beitrag zu erhöhtem Resistenzverhalten und

vermindertem Zelltod nachgewiesen werden. Wahrscheinlich basiert die Resistenz der Kopf-Hals-Tumorzellen gegenüber EGFR Inhibitoren auf einem Zusammenspiel mehrerer Signalwege und wird durch umgebende Wachstumsfaktoren produzierende Stromazellen verstärkt. Jedenfalls korreliert die Rezeptorexpression der Tumorzellen mit dem Einfluss der entsprechenden Liganden auf das Zellüberleben, was die Wichtigkeit sowohl der tumorzeleigenen Rezeptorexpression als auch der Verfügbarkeit von Wachstumsfaktoren unterstreicht. Wie auch in anderen Studien gezeigt hat eine Kombination mehrerer Wachstumsfaktoren, wie sie auch in vivo vorliegt, eine größere Wirkungskraft als einzelne Faktoren. Die Therapie mit Temsirolimus steigerte die Expression von Rezeptor-Tyrosinkinase in Fibroblasten, was als Folge einer negativen Rückkopplung erklärt werden kann. Dadurch beeinflusst Temsirolimus auch die Kommunikation zwischen Tumor- und Stromazellen, welche auf Wachstumsfaktor-induzierte Rezeptoraktivierung basiert, wobei die Wachstumsfaktoren wie oben gezeigt eine wichtige Rolle in der Resistenzentwicklung spielen. Wachstumsfaktoren tragen zu einem großen Teil zu der Entwicklung von Resistenzen gegen EGFR Inhibitoren bei und beeinträchtigen deren Effekt durch die Aktivierung anderer Signalwege, welche eine Steigerung der Zell-Viabilität und eine Verminderung des Zellsterbens nach sich ziehen. Darum sind kombinierte Behandlungsansätze, welche auf mehrere Signalwege oder Moleküle abzielen, ein wichtiges Gebiet in der Therapie vorangeschrittener und metastasierter Kopf-Hals-Tumore. mTOR Inhibitoren, welche in der Klinik erste positive Effekte zeigten, beeinflussten die Zell-Viabilität der Tumorzellen und der Fibroblasten nur geringfügig in den in vitro Experimenten, steigerten jedoch die Rezeptorexpression der Fibroblasten. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass sowohl Tumor- als auch Stromazellen wichtige Angriffspunkte in der Therapie der Kopf-Hals-Tumore darstellen. Realitätsgetreue in vitro Modelle zu entwickeln stellt eine große Herausforderung dar. Die Experimente zeigen jedoch, dass die Entwicklung kombinierter zielgerichteter Therapieansätze, welche auf EGFR und andere Rezeptoren oder Moleküle auf Tumor- oder Stromazellen abzielen, von großer Wichtigkeit ist, um die Antwortraten der Tumore zu verbessern und bessere Ergebnisse und Überlebensraten für Patienten mit fortgeschrittenen Kopf-Hals-Tumoren erreichen zu können.