

Aus der Medizinischen Kleintierklinik der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Katrin Hartmann

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Johannes Hirschberger  
und Dr. Thomas Brill

**Immuntherapien solider Tumoren  
bei Hund, Katze, Pferd und Rind  
- eine Literaturübersicht -**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Julia Nora Inneken Nevoigt  
aus  
Brannenburg

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. P. Märtlbauer

Referent: Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Korreferent: Prof. Dr. Hermanns

Tag der Promotion: 09. Februar 2007

Meiner Mutter



# Inhaltsverzeichnis

---

<b>Einleitung</b>	1
<b>Schrifttum</b>	3
<b>A Grundlagen der Immuntherapie</b>	3
<b>1. Effektorzellen des Immunsystems</b>	3
1.1 Dendritische Zellen (DC)	3
1.2 CD4 <sup>+</sup> -T-Zellen (T-Helfer-Zellen)	4
1.3 CD8 <sup>+</sup> -T-Zellen (zytotoxische T-Zellen)	5
1.4 Natürliche Killerzellen (NK)	6
1.5 Natürliche Killer T-Zellen (NKT)	7
1.6 Makrophagen	7
<b>2. Tumorimmunologie</b>	8
<b>3. Tumorimmunität</b>	10
3.1 Tumorantigene	10
3.1.1 Onkofetale Antigene	11
3.1.2 Differenzierungs-Antigene	11
3.1.3 Produkte mutierter Gene	11
3.1.4 Viren-assoziierte Tumorantigene	11
3.1.5 Idiotypische Epitope	12
3.2 <i>Tumor escape</i>	12
3.2.1 Reduktion oder Verlust der MHC-I-Expression	12
3.2.2 Fehlende MHC-II-Expression	12
3.2.3 Fehlende Expression von Kostimulations- und Adhäsionsmolekülen	13
3.2.4 Produktion immunsuppressiver Faktoren	13
3.2.5 Antigenmodulation	13
3.2.6 Fas-Ligand (FasL) induzierte Apoptose	14
3.2.7 Defektes <i>antigen-processing</i>	14
3.2.8 Antigenmaskierung	14

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>4.</b>	<b>Immunstimulation als Krebstherapie</b>	<b>15</b>
<b>4.1</b>	Aktive und passive Immunstimulation	15
<b>4.1.1</b>	Nicht-spezifische aktive Immunstimulation	15
<b>4.1.2</b>	Spezifische aktive Immunstimulation („ <i>cancer vaccines</i> “)	16
<b>4.1.2.1</b>	Peptid-Vakzine	17
<b>4.1.2.2</b>	DNA-Vakzine	17
<b>4.1.2.3</b>	Tumorzell-Vakzine	18
<b>4.1.2.4</b>	DC-Vakzine	19
<b>4.1.3</b>	Passive Immuntherapie	19
<b>4.1.3.1</b>	Zelltherapie	19
<b>4.1.3.2</b>	Antikörper-Therapie	20
<b>4.2</b>	Modulation der Immunabwehr gegenüber Krebszellen	20
<b>4.2.1</b>	Inaktivierung von Onkogenen	20
<b>4.2.2</b>	Hemmung der Tumorangiogenese	21
<b>4.2.3</b>	Ersatz defekter Tumorsuppressor-Gene	22
<b>4.2.4</b>	Einschleusen von „Suizid-Genen“ in die Tumorzelle	22
<b>4.2.5</b>	Transfer von „ <i>drug-resistance</i> -Genen“	23
<b>4.3</b>	Vektoren des Gentransfers	23
<b>4.3.1</b>	Viraler Gentransfer	24
<b>4.3.1.1</b>	Retroviren	25
<b>4.3.1.2</b>	Adenoviren	26
<b>4.3.1.3</b>	Adeno-assoziierte Viren	26
<b>4.3.1.4</b>	Andere virale Vektoren	26
<b>4.3.2</b>	Non-viraler Gentransfer	27
<b>4.3.2.1</b>	In-vivo-Gentransfer nackter DNA	27
<b>4.3.2.2</b>	Lipid-vermittelte Gentransfersysteme	29
<b>4.3.2.3</b>	Polymer-Gentransfersysteme	30
<b>4.4</b>	<i>Drug-targeting</i>	31
<b>4.4.1</b>	Zellspezifisches <i>drug-targeting</i>	31
<b>4.4.2</b>	Lokoregionäres <i>drug-targeting</i>	31
	Zusammenfassung	33
	Quellenverzeichnis	34

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>5.</b>	<b>Kanon zur Beurteilung klinischer Studien</b>	<b>47</b>
	Quellenverzeichnis	50
<b>B</b>	<b>Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind</b>	<b>51</b>
<b>6.</b>	<b>Ein Gesamtüberblick der Tumoren, an welchen ein immuntherapeutischer Ansatz angewandt wurde</b>	<b>51</b>
	Quellenverzeichnis	58
<b>7.</b>	<b>Immuntherapien unter Verwendung von Zytokinen</b>	<b>66</b>
<b>7.1</b>	Allgemeiner Teil	66
<b>7.1.1</b>	Interleukine	68
<b>7.1.1.1</b>	Interleukin-1	70
<b>7.1.1.2</b>	Interleukin-2	72
<b>7.1.1.3</b>	Interleukin-3	75
<b>7.1.1.4</b>	Interleukin-4	76
<b>7.1.1.5</b>	Interleukin-5	77
<b>7.1.1.6</b>	Interleukin-6	77
<b>7.1.1.7</b>	Interleukin-7	78
<b>7.1.1.8</b>	Interleukin-8	79
<b>7.1.1.9</b>	Interleukin-9	79
<b>7.1.1.10</b>	Interleukin-10	79
<b>7.1.1.11</b>	Interleukin-12	80
<b>7.1.1.12</b>	Interleukin-15	83
<b>7.1.1.13</b>	Interleukin-18	83
<b>7.1.2</b>	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor (GM-CSF)	84
<b>7.1.3</b>	Interferone (IFN)	88
<b>7.1.4</b>	Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)	94
<b>7.2</b>	Spezieller Teil	95
<b>7.2.1</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes	99
<b>7.2.2</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze	123
<b>7.2.3</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Pferdes	133
<b>7.2.4</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes	141

# Inhaltsverzeichnis

---

	Zusammenfassung	151
	Quellenverzeichnis	155
<b>8.</b>	<b>Immuntherapien unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“</b>	<b>173</b>
<b>8.1</b>	Allgemeiner Teil	173
<b>8.1.1</b>	Bazillus Calmette-Guérin (BCG)	174
<b>8.1.2</b>	<i>Corynebacterium parvum</i> ( <i>C. parvum</i> )	176
<b>8.1.3</b>	Acemannan	177
<b>8.1.4</b>	Muramyl-dipeptid (MDP), Muramyl-tripeptid (MTP), Lipopolysaccharid (LPS)	178
<b>8.1.5</b>	Medikamente mit immunstimulatorischer Wirkung	180
<b>8.1.5.1</b>	Levamisol	180
<b>8.1.5.2</b>	Piroxicam/Meloxicam/Deracoxib	180
<b>8.1.5.3</b>	Cimetidin	182
<b>8.1.5.4</b>	PIND-ORF	182
<b>8.2</b>	Spezieller Teil	184
<b>8.2.1</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes	184
<b>8.2.2</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze	220
<b>8.2.3</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Pferdes	223
<b>8.2.4</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes	233
	Zusammenfassung	239
	Quellenverzeichnis	242
<b>9.</b>	<b>Immuntherapien unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen</b>	<b>255</b>
<b>9.1</b>	Allgemeiner Teil	255
<b>9.2</b>	Spezieller Teil	257
<b>9.2.1</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes	257
<b>9.2.2</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze	267
<b>9.2.3</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Pferdes	268
<b>9.2.4</b>	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes	272
	Zusammenfassung	277
	Quellenverzeichnis	279

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>10.</b>	<b>Immuntherapien unter Verwendung monoklonaler Antikörper (mAK)</b>	283
10.1	Allgemeiner Teil	283
10.2	Spezieller Teil	284
10.2.1	Immuntherapie bei Tumoren des Hundes	284
	Zusammenfassung	286
	Quellenverzeichnis	287
<b>11.</b>	<b>Immuntherapien unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren</b>	288
11.1	Allgemeiner Teil	288
11.1.1	Die Verwendung von Tumorantigenen zur Behandlung von Tumoren	288
11.1.2	FasL als Agens zur Behandlung des malignen Melanoms	290
11.1.3	Suizid-Gentherapie anhand von Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase und Ganciclovir	291
11.1.4	Die Verwendung der humanen MHC-unabhängigen zytotoxischen T-Zell-Linie TALL-104	292
11.1.5	Die Verwendung eines attenuierten Salmonella typhimurium-Präparates (VNP20009)	293
11.2	Spezieller Teil	295
11.2.1	Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes	295
	Zusammenfassung	313
	Quellenverzeichnis	316
<b>12.</b>	<b>Ein Gesamtüberblick über alle relevanten Behandlungsansätze in der Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind</b>	321
	Quellenverzeichnis	324
<b>13.</b>	<b>Ein Gesamtüberblick über alle wissenschaftlich relevanten Studien bei Hund, Katze, Pferd und Rind</b>	332
	Quellenverzeichnis	355

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>Zusammenfassung</b>	360
<b>Summary</b>	361
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	362
<b>Tabellenverzeichnis</b>	369
<b>Danksagung</b>	371

## Einleitung

---

In den letzten zwei Jahrzehnten haben immuntherapeutische Verfahren zur Behandlung von Krankheiten von Mensch und Tier für Aufsehen gesorgt. Manche Erfolge erzeugten großes Erstaunen, sorgten aber in gleicher Weise für kontroverse Diskussionen. Diese Fälle versprachen ein unglaubliches Potential hinsichtlich der Möglichkeit, eine wahre Revolution in den Verfahrensweisen der konventionellen Medizin bewirken zu können. Doch auch die Skeptik wuchs. Man konnte nicht glauben, dass die Gentherapie ihrem Versprechen gerecht werden könnte. Diese Reaktion ist verständlich, da die Öffentlichkeit von diesem Enthusiasmus regelrecht überrollt wurde. Niemand war aber seinerzeit in der Lage, exakte Aussagen bezüglich Potential und Wirkung machen zu können, da die Gentherapie, ein Verfahren der Immuntherapie, noch in den Kinderschuhen steckte. Es stellte sich natürlich auch die Frage, wieviel Zeit noch verstreichen würde, bis es möglich sein würde, repräsentative Ergebnisse aufweisen zu können.

Die Gentherapie wird klinisch v. a. in Form der Immuntherapie gegen Tumoren eingesetzt. Dabei wurde u. a. genetisches Material, das für in der Natur vorkommende Zytokine kodiert, in Krebszellen eingeschleust und seine anti-tumorale Wirkung *in vitro*, aber auch *in vivo* untersucht (2).

Im Rahmen der Behandlung von Tumoren stellt die Immuntherapie gegenüber den konventionellen Therapieformen eine wünschenswerte Alternative und Ergänzung dar. Bei der adjuvanten Anwendung des Granulozyten-Kolonie-Stimulierender-Faktor (G-CSF) können letale Neutropenien verhindert werden. Die Gentherapie basiert auf der Unterstützung einer lokalen Produktion immunstimulierender Proteine, welche eine Immunantwort direkt auf das Tumorgewebe lenken. Gesunde Zellen bleiben somit unbeeinflusst und werden in ihren Zellzyklen nicht gestört (2).

Auf diese Weise ist es auch realisierbar, schlecht zugängliche Tumoren und Metastasen zu erreichen und zu zerstören, da die Funktion von patienteneigenen Immunzellen unterstützt und gesteigert wird. Zudem bietet sich die Möglichkeit, die Grenzen „traditioneller“ Tumorstoffen zu umgehen, da die Expression der Tumorantigene nun individuell bei jedem Patienten, gefördert werden kann. Ziel der Forschung soll sein, dass endogene Tumorantigene besser vom Immunsystem (anhand antigen-präsentierender Zellen) erkannt und

## Einleitung

---

bekämpft werden können. Hierbei sollen Zellen, welche eine effektive antitumorale Immunantwort hervorrufen können, entstehen. Dies kann durch das Setzen einer Entzündung, die die Funktion eines „*danger signal*“ erfüllt, verstärkt werden. Auf diese Weise ist es möglich anhand tumor-spezifischer Immunzellen, die mittels systemisch oder lokal erfolgreicher Immuntherapie aktiviert werden, neoplastische Zellen zu bekämpfen. Der effektivste Mechanismus wäre die gezielte Induktion einer Apoptose neoplastischer Zellen seitens des Immunsystems. Obgleich der Vorgang einer Apoptose bekannt ist, stellte ihr instrumenteller Gebrauch die Wissenschaftler vor ein großes Rätsel. Vor kurzem konnten gentherapeutische Strategien entwickelt werden, durch die die Induktion apoptotischer Vorgänge möglich wurde (1, 3).

Bereits Leonardo da Vinci (1452-1519) äußerte treffend (hier in englischer Übersetzung zitiert): *“The supreme misfortune is when theory outstrips performance.”* Die moderne Immuntherapie ist wohl solch ein Gebiet, welches die Befürchtung Leonardos treffend widerspiegelt (4).

### Quellenverzeichnis:

- 1            **Albert, M.L., B. Sauter, J.N. Bhardwa;** Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature*, 1998, 392: 86-89.
- 2            **Elmslie, R.E.;** Genetic immunotherapy for cancer. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*, Aug. 1997, 12(3): 193-205.
- 3            **Henry, F., O. Boisteau, L. Bretaudeau, B. Lieubeau, K. Meflah, M. Grégoire;** Antigen-presenting cells that phagocytose apoptotic tumor-derived cells are potent tumor vaccines. *Cancer Res.*, July 1999, 59: 3329-3332.
- 4            **Rosenberg, S.A.;** A new era of cancer immunotherapy: converting theory to performance; *CA Cancer J. Clin.*, March/April 1999, 49(2): 70-73.

## **A Grundlagen der Immuntherapie**

### **1. Effektorzellen des Immunsystems**

Hinsichtlich der Erkennung und Bekämpfung neoplastischer Zellen gibt es nur wenige Beispiele, in denen B-Zellen, Antikörper, neutrophile Granulozyten und lösliche Mediatoren, wie z. B. der Tumor-Nekrose-Faktor (TNF), eine direkte Rolle spielen. Im Vordergrund stehen hierbei meist als eigentliche Effektorzellen der Tumormunität  $CD4^+$ -T-Lymphozyten,  $CD8^+$ -T-Lymphozyten und Natürliche Killerzellen (NK-Zellen). Um allerdings eine Immunantwort induzieren zu können, sind  $CD4^+$ - und  $CD8^+$ -T-Lymphozyten auf die Aktivierung durch antigen-präsentierende Zellen (APC) angewiesen (41). Zu ihnen zählt man B-Zellen, Makrophagen und Dendritische Zellen (DC). Diese Zellen sind in der Lage, Antigene auf ihrer Zelloberfläche zu präsentieren und infolgedessen, eine zelluläre und humorale Immunreaktion in Gang zu setzen. In diesem Zusammenhang haben v. a. die Dendritischen Zellen einen besonderen Stellenwert erlangt. Sie besitzen die Fähigkeit, Tumorantigene sehr effektiv präsentieren zu können, da sie größere Mengen an *major-histocompatibility-complex*- (MHC-), Kostimulations- und Adhäsionsmolekülen besitzen. Sie sind die einzigen Zellen, welche eine Aktivierung naiver T-Zellen zu induzieren vermögen (135, 14, 37).

#### **1.1 Dendritische Zellen (DC)**

Dendritische Zellen entstehen aus myeloischen Progenitorzellen. Sie sind wahre Spezialisten, wenn es darum geht, Fremd- und Eigenantigenmaterial aufzunehmen, aufzubereiten und auf ihrer Oberfläche zu präsentieren. Aus diesem Grund sind sie bei der Induktion einer erworbenen zellulären, aber auch humoralen Immunantwort, von großer Bedeutung (135, 7, 14). Bereits im unreifen Stadium sind sie in der Lage, effektiv Antigene aufzunehmen. Diese unreifen Dendritischen Zellen sind z. B. in Form der Langerhanszellen in der Haut zu finden (6). Eine Ausreifung Dendritischer Zellen erfolgt nach Einwirkung unterschiedlicher mikrobieller und inflammatorischer Produkte (z. B. Lipopolysaccharide (LPS), Interleukin-1 (IL-1),  $TNF-\alpha$ , *heat-shock-proteins* (HSP), CD40)

(28, 77, 89, 71). Derartige Stimuli werden als „*danger signals*“ bezeichnet. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Aktivierung Dendritischer Zellen, da auf diese Weise eine gegen tumor-assoziierte Antigene (TAA) gerichtete Immunantwort ermöglicht wird (100). Nach Aktivierung wandern sie auf lymphatischem Wege in T-zellreiche Regionen der lymphatischen Organe (Lymphknoten, Milz). Hier angekommen, werden DC einer Reihe von phänotypischen Verwandlungen unterzogen. Sie erlangen nun die Fähigkeit, vermehrt immunstimulatorische Moleküle (MHC, B7, B7-2 und IL-12) zu exprimieren. Auf diese Weise erreichen DC den Status antigen-präsentierender Zellen und sind somit auch in der Lage mit T- und B-Zellen zu interferieren (66, 14). DC exprimieren darüber hinaus sog. „*death-receptor-ligands*“ und sind somit auch selbst im Stande, neoplastische Zellen zu zerstören (43).

## **1.2 CD4<sup>+</sup>-T-Zellen (T-Helfer-Zellen)**

Hauptaufgabe der CD4<sup>+</sup>-T-Zellen ist es, CD8<sup>+</sup>-T-Zellen zu aktivieren. Der T-Zell-Rezeptor (TCR) von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen bindet ausschließlich an MHC-II-Komplexe, welche allerdings nur von spezialisierten APC exprimiert werden. Dies geschieht z. B. durch die Aufnahme von exogenem Material (Endozytose) und der Zerschneidung dieser Partikel mit Hilfe proteolytischer Enzyme. Übrig bleiben lange Peptidfäden, welche dann im Endoplasmatischen Retikulum (ER) an MHC-II-Moleküle gebunden, im Golgiapparat in exozytotische Vesikel verpackt, und danach auf der Zellmembran als MHC-II/Peptid-Komplex präsentiert werden (27). Bindet nun der TCR an diesen MHC-II/Protein-Komplex, wird dies als sog. immunologische Synapse bezeichnet (122). Solch eine Synapse besteht aus mehreren MHC-Komplexen, Adhäsions-Molekülen (z. B. ICAM-1) und kostimulatorischen Molekülen.

Zur Aktivierung der CD4<sup>+</sup>-T-Zelle ist eine ausreichend lange und enge Bindung zwischen diesen beiden Partnern vonnöten. Nur so kann die CD4<sup>+</sup>-T-Zelle eine Reihe stimulatorischer Zytokine, wie z. B. IL-2, Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) und TNF- $\alpha$ , sezernieren und somit die Aktivität von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen steigern (11).

Zur gleichen Zeit kann nun auch der CD40-Ligand, welcher auf der CD4<sup>+</sup>-T-Zelle anzutreffen ist, an dem auf APC exprimierten CD40-Rezeptor binden. Auf diesem Wege kommt es auch zur Aktivierung dieser APC. Es folgt eine Steigerung der Expression von MHC-II-Komplexen, Zytokinen und Kostimulationsmolekülen, welche auch in der Aktivierung zytotoxischer T-Zellen resultiert (108, 16, 127).

Im gleichen Zuge werden aber von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen und APC auch inhibitorische Zytokine, wie z. B. IL-4, IL-5, IL-10 und TGF- $\beta$  („*transforming-growth-factor- $\beta$* “) sezerniert. Diese Zytokine bewirken eine zelluläre Immuntoleranz, wodurch eine Überstimulation des Immunsystems vermieden wird (108). Ein weiterer Kontrollmechanismus besteht in der Expressierung des zytotoxischen T-Lymphozyten-Antigen-Rezeptors-4 (CTLA-4) von aktivierten T-Helfer-Zellen. Dieser Rezeptor hat eine viermal größere Affinität zu dem Kostimulationsmolekül B7. Bindet dieses, wird eine Bildung weiterer Synapsen verhindert (22). Auch die Expression eines Fas-Liganden auf aktivierten CD4<sup>+</sup>-T-Zellen trägt zur Kontrolle der Situation bei. Bindet dieser nämlich an einem entsprechenden Fas-Rezeptor, welcher häufig von aktivierten Lymphozyten exprimiert wird, kommt es zur Apoptose der Zielzelle (96).

### 1.3 CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (zytotoxische T-Zellen)

CD8<sup>+</sup>-T-Zellen sind die eigentlichen Effektorzellen des Immunsystems im Kampf gegen neoplastische Zellen. Sie binden ausschließlich an MHC-I-Komplexe. Diese Komplexe binden nur kurze Peptidfragmente intrazellulärer Proteine, welche maximal aus neun Aminosäuren bestehen (53).

Die Aktivierung von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen ist signalgebunden. Das erste Signal besteht in der Erkennung zwischen dem spezifischem TCR und dem MHC-I/Peptid-Komplex, wobei die Stärke dieses Signals direkt proportional zur Anzahl der dabei beteiligten TCR und MHC-I-Moleküle ausfällt (41, 36). Als zweites Signal ist sowohl die Bindung von Kostimulations- und Adhäsionsmolekülen, als auch der Einfluss stimulatorischer Zytokine essentiell (143, 122). Dieses Signal wird allerdings von bereits aktivierten CD8<sup>+</sup>-T-Zellen nicht mehr benötigt, da sie einmal aktiviert, das zytolytische Protein „Perforin“ sezernieren. Perforin bewirkt eine Porenbildung in der Membran der Zielzelle, wodurch das Eindringen des

Granenzym B ermöglicht und die Kaspase-Kaskade ausgelöst wird. Folge ist die Apoptose der Zielzelle (122). Findet allerdings eine Aktivierung naiver CD8<sup>+</sup>-T-Zellen in Abwesenheit des zweiten Signals statt, kommt es zur Entwicklung einer Immuntoleranz zytotoxischer T-Lymphozyten (CTL).

Zur Sicherstellung einer adäquaten Immunantwort gibt es auch hier Kontrollmechanismen. Mangelt es z. B. an der Anwesenheit stimulatorischer Zytokine, führt dies zum Tode von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (92). Auch die wiederholte Erkennung großer Antigenmengen führt zur Expressierung eines Fas-Rezeptors, aber auch eines Fas-Liganden auf der Zelloberfläche zytotoxischer T-Zellen. Dies hat zur Folge, dass ähnlich aktivierte T-Zellen abgetötet werden oder es zur Apoptose der betroffenen CD8<sup>+</sup>-T-Zelle kommt (96).

In diesem Zusammenhang müssen auch die sog. „tumor-infiltrierenden Lymphozyten“ (TIL) genannt werden. Dabei handelt es sich um mononukleäre Zellen, die von intratumoralen Entzündungszellinfiltraten abstammen. Zu diesen Zellen werden auch CTL gezählt, welche in der Lage sind, diejenigen Tumorzellen zu lysieren, in deren Anwesenheit sie entstanden sind (1).

#### **1.4 Natürliche Killerzellen (NK-Zellen)**

Als Vertreter des angeborenen Immunsystems handelt es sich bei Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) um große, granulierte Lymphozyten, deren Reifung thymusunabhängig verläuft. Die Entwicklung einer zytotoxischen Aktivität ist hier von dem Erkennen autologer MHC-I-Moleküle unabhängig. Da MHC-I-Moleküle die Unterdrückung einer Aktivitätsentwicklung nach sich ziehen, lysieren NK-Zellen nur Zellen, die keine, wenige oder nur fremde MHC-I-Moleküle auf ihrer Oberfläche exprimieren (107, 53). Auf diesem Wege werden gesunde Wirtszellen vor dem Angriff von NK-Zellen geschützt.

Werden NK-Zellen durch DC angeregt, sezernieren sie Zytokine (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor (GM-CSF), Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor (M-CSF), IL-2, IL-3, IL-5, IL-8) und nehmen somit Einfluss auf das erworbene Immunsystem, welches v. a. durch T-Zellen und Makrophagen geprägt wird (85, 48). Zytokine, wie z. B. IL-2 und IFN- $\gamma$ , erfüllen dabei auch regulatorische Funktionen, indem sie auf das Wachstum von NK-Zellen stimulierend einwirken.

## Schrifttum

### Immunität gegenüber Tumoren

---

NK-Zellen sind in der Lage, neoplastische Zellen und Zellen abzutöten, welche von Viren, Bakterien (*Staph. aureus*, *S. enterica typhimurium*) oder Pilzen infiziert worden sind (141). Unter normalen Bedingungen ist die Fähigkeit von NK-Zellen, Tumorzellen zu erkennen und zu lysieren nur begrenzt. Hohe Dosen an IL-2 ermöglichen *in vivo* jedoch eine Verwandlung von NK-Zellen in sog. lymphokin-aktivierte Killerzellen (LAK-Zellen), welche ein großes Potential hinsichtlich der Zerstörung neoplastischer Zellen aufweisen (159, 2).

#### 1.5 Natürliche Killer T-Zellen (NKT-Zellen)

Diese Art von Zellen blieb lange unentdeckt, dann wurde jedoch erkannt, dass diese Zellen sowohl einen TCR, als auch einen NK-Rezeptor exprimieren. Diese Zellen sind in der Lage, die antitumorale Aktivität zytotoxischer T-Lymphozyten, aber auch die der NK-Zellen zu regulieren (58, 132).

NKT-Zellen präsentieren Antigene mit Hilfe eines CD1-Moleküls, welches dem MHC-Molekül sehr ähnlich ist. Dieses Molekül bindet v. a. Epitope, die lipiden oder glykolipiden Ursprungs sind. Diese kommen z. B. in der Zellwand pathogener Mykobakterien vor (121).

Werden NKT-Zellen durch DC aktiviert, findet eine Sekretion von Typ 1 (stimulatorischer) sowie von Typ 2 (inhibitorischer) Zytokinen statt. NKT-Zellen sind somit fähig, die angeborene Immunität mit der erworbenen zu verbinden. Darüber hinaus wird eine auslösende sowie regulatorische Wirkung, hinsichtlich der Entwicklung einer Immunantwort, angenommen (121).

#### 1.6 Makrophagen

Die Funktionen von Makrophagen sind sehr vielseitig. Daher ist es nicht verwunderlich, dass auch diese Zellen bei der Bekämpfung oder sogar Abtötung neoplastischer Zellen wichtige Funktionen erfüllen.

Makrophagen setzen Sauerstoffradikale und Tumor-Nekrose-Faktoren frei, sezernieren aber auch Zytokine. Aufgrund dessen und durch ihre Funktion als APC weisen sie eine regulierende Wirkung auf das Immunsystem und somit einen indirekten antitumoralen Effekt auf (84). Die Aktivierung ihrer Tumortoxizität erfolgt über Stimulation bakterieller Zellwandprodukte (Lipopoly-

saccharide), aber v. a. durch Zytokine, wie IFN- $\gamma$ , GM-CSF oder M-CSF (101, 59).

Als „tumor-assoziierte Makrophagen“ werden Makrophagen bezeichnet, welche durch das vom Tumor sezernierte Zytokin MCP-1 (Monozyten-chemotaktisches-Protein-1) zum Tumor gelockt werden und diesen infiltrieren (163). Diese Makrophagen sind je nach Tumorstadium in der Lage, die Tumorangiogenese zu hemmen, aber auch zu fördern (137).

## **2. Tumorimmunologie**

In einem gesunden Organismus unterliegen die Zellen einer Wachstumskontrolle. Kommt es zu einer malignen Zellentartung, ist dies nicht mehr möglich. Trotzdem können maligne Zellen, auch wenn sie weniger immunogen sind als andere Pathogene (z. B. Bakterien, Viren), eine Immunantwort auslösen (19, 1).

In manchen Fällen kann das Immunsystem die Entstehung von Tumoren verhindern, manchmal aber auch nicht. Der Grund für diese Tatsache konnte bisher noch nicht vollständig eruiert werden. Wichtige Ansätze dafür liefert die sog. „*immunosurveillance-theory*“, welche die Wechselwirkungen zwischen Tumor und Immunsystem beschreibt. Tumorzellen können demnach eliminiert werden. Es ist aber auch möglich, dass sich ein Gleichgewicht (*equilibrium*) zwischen Tumorzellen und Immunsystem einstellt, wobei zwar maligne Zellen vorhanden sind, sich jedoch nicht vermehren. Kommt es allerdings zum Tumorwachstum, nennt man diesen Zustand „*tumor escape*“ (19, 141).

Im Zuge einer Elimination reagieren NK-Zellen, die dem angeborenen Immunsystem angehören, zunächst auf sog. „*danger signals*“. Diese Signale spiegeln eine vom Immunsystem bemerkte Zelltransformation oder Veränderungen in dem Tumor umgebenden Gewebe wieder und induzieren eine lokale Entzündung sowie die Aktivierung von antitumoral wirksamen Effektorzellen (19).

Die meisten Tumorzellen unterscheiden sich in einer abnormalen Proteinexpression von normalen Zellen (141). Neoplastische Zellen tragen auf

## Schrifttum

### Immunität gegenüber Tumoren

---

ihrer Zelloberfläche Tumorantigene. Diese Antigene können von T-Lymphozyten jedoch nur bemerkt und als "fremd" erkannt werden, wenn sie mittels einem „*major-histocompatibility-complex*“ (MHC) präsentiert werden (41). Die Antigenerkennung durch T-Zellen erfolgt in Abhängigkeit der vorhandenen Klasse des MHC (MHC-I- oder MHC-II-Moleküle) (122, 1). Fast alle Zellen, einschließlich der meisten Tumorzellen, tragen MHC-I-Moleküle auf ihrer Oberfläche, aber kaum MHC-II-Moleküle (41, 1). MHC-II-Moleküle sind hauptsächlich auf aktivierten antigen-präsentierenden Zellen (APC), wie B-Zellen, Makrophagen und Dendritischen Zellen zu finden (122, 1). Die Erkennung der auf der Tumorzelloberfläche mittels MHC-I präsentierten Peptide erfolgt anhand einer Bindung an T-Zell-Rezeptoren (TCR) zytotoxischer CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Auf den weiteren Fortgang wurde bereits unter **1.3** näher eingegangen. CD4<sup>+</sup>-Lymphozyten (T-Helfer-Zellen) hingegen erkennen ausschließlich MHC-II-Moleküle und erkennen folglich nur Peptide, die ihnen an MHC-II-Moleküle gebunden präsentiert werden. Diese Funktion wird hauptsächlich durch APC erfüllt, die Proteine bereits zugrunde gegangener oder phagozytierter Tumorzellen verarbeiten und diese Antigene in Form von Peptid-MHC-II-Komplexen an der Oberfläche präsentieren (41, 122). Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, dass Antigene durch die Tumorzellen selbst, sofern sie MHC-II-Moleküle auf ihrer Oberfläche besitzen, den CD4<sup>+</sup>-T-Zellen präsentiert werden (1). Erfolgt eine Erkennung seitens der CD4<sup>+</sup>-Zelle anhand ihres TCR, wird sie aktiviert. Es kommt zu einer Aktivierung des immunologischen Gedächtnisses und damit zu einer vermehrten Bildung spezifischer CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten. Abgesehen davon werden nun Zytokine freigesetzt, u. a. auch IL-2 und IFN- $\gamma$ , welche eine Steigerung der antitumoralen Wirkung zytotoxischer T-Lymphozyten und die Aktivierung von Makrophagen und Eosinophilen bewirken (41, 117). Die Zytokinsekretion stärkt die Effektivität der T-Zell-Antwort, da durch sie auch andere Immunzellen aktiviert werden (z. B. TNF- $\alpha$  ist auch direkt an der Abtötung von Tumorzellen beteiligt) (84). IFN- $\gamma$  spielt hier ebenfalls eine große Rolle, denn es ist in der Lage, sowohl die MHC-I-, als auch die MHC-II-Expression auf Transkriptionsebene über zytokin-aktivierte Transkriptionsfaktoren hoch zu regulieren. Je mehr MHC-Moleküle gebildet werden, desto effektiver erfolgt die Steigerung der Antigenpräsentation.

Auch die Erkennung neoplastischer Zellen kann auf diesem Wege verbessert werden (1).

Mindestens vier verschiedene Zelltypen können *in vitro* Tumorzellen abtöten: NK-Zellen (siehe 1.4), LAK-Zellen, Makrophagen (siehe 1.6) und tumorinfiltrierende Lymphozyten (TIL, siehe 1.3) (18). Sämtliche Abläufe der T-Zell-Antwort weisen Kontaktpunkte auf, die ein Wechselspiel der einzelnen Zelltypen ermöglichen (1).

### 3. Tumorimmunität

Aufgrund klinischer Ergebnisse gilt die Beteiligung des Immunsystems an der Bekämpfung von Tumoren als erwiesen. Diese Annahme wird nicht nur durch bessere Prognosen bei Tumoren mit starken lymphoretikulären Infiltrationen, sondern auch durch die spontane Regression von manchen Tumoren (z. B. Melanom) gestützt. Darüber hinaus leiden immunsupprimierte Patienten deutlich häufiger an Neoplasien (2).

#### 3.1 Tumorantigene

Die Karzinogenese erfolgt in Form eines sog. „Multistep-Prozesses“, dessen Verlauf durch Mutation mehrerer Gene geprägt ist.

Obgleich die meisten Tumoren im „eigenen“ Gewebe entstehen, ist es möglich, dass diese neoplastischen Zellen vom Immunsystem als „fremd“ erkannt werden können. Dies wird durch Moleküle, welche auf der Tumorzelloberfläche exprimiert werden und deren maligne Transformation, ermöglicht.

Mutationen in Tumorsuppressor-Genen, Regulator-Genen und Proto-Onkogenen führen zu Dysregulationen der Zellproliferation. Dabei wird auch die Expression zellulärer Proteine verändert (44). Diese Proteine können demnach nun in einer völlig neuen Form, einer nur leicht veränderten oder auch in der normalen Form, jedoch in einer deutlich gesteigerten Menge, vorhanden sein (122). Als Antigene können Zellmembranantigene, zytoplasmatische oder nukleäre Proteine fungieren (67). Das ideale Tumorantigen wird als stark immunogen und vom Tumor selbst synthetisiert charakterisiert.

### **3.1.1 Onkofetale Antigene**

Onkofetale Antigene (Ag) werden bereits vor dem Einsetzen einer Immunkompetenz im Verlauf der frühen embryonalen Entwicklung exprimiert. Diese Antigene werden von gesunden adulten Zellen kaum mehr synthetisiert (122, 11). Zu ihnen zählt z. B. das karzinoembryonale Antigen (CEA) und das  $\alpha$ -Fetoprotein (11).

### **3.1.2 Differenzierungs-Antigene**

Ein Großteil dieser Antigene wird im Zusammenhang mit Melanomen beschrieben. Differenzieren sich Zellen des Neuroektoderms zu Melanozyten aus, beginnt die Synthese neuer Proteine, deren Produktion in reifen Zellen unterdrückt wird. Im Falle der Entartung von Melanozyten wird diese Synthesehemmung aufgehoben und resultiert in einer gesteigerten oder abnormen Expression dieser Gene (25, 122, 11). Derartige Antigene, die für ein bestimmtes Gewebe spezifisch sind (z. B. prostata-spezifisches Antigen), können diagnostisch in Form eines Antigen-Screenings oder im Rahmen einer Verlaufskontrolle genutzt werden.

### **3.1.3 Produkte mutierter Gene**

Bei *p53*-Tumorsuppressor-Gen-Mutationen oder dem *ras*-Proto-Onkogen handelt es sich um Gene, die im Verlauf der Tumorgenese eine wichtige Rolle spielen. Zu Beginn der Tumorgenese wird auf diese Weise das Immunsystem erstmalig mit den Proteinen dieser veränderten Gene konfrontiert. Diese Proteine wirken als Antigene und können sowohl eine zelluläre, aber auch eine humorale Immunantwort induzieren (25, 122, 11).

### **3.1.4 Viren-assoziierte Tumorantigene**

Man weiß, dass auch manche Viren fähig sind, das Wachstum von Neoplasien zu induzieren. Diese Art von Tumoren exprimiert Oberflächenantigene, die für das tumor-induzierende Virus charakteristisch sind, sich aber von denen des Virions unterscheiden. Der Gewebeansprung des Tumors oder der Organismus in dem er induziert wird, spielt dabei keine Rolle. Diese Antigene, virale

Proteine, können sowohl eine zell-vermittelte als auch eine antikörper-vermittelte Immunreaktion hervorrufen (122, 11).

### **3.1.5 Idiotypische Epitope**

B-Zellen exprimieren Oberflächenimmunglobuline. Am Beispiel von B-Zell-Lymphomen wird sichtbar, dass infolge der klonalen Proliferation maligne Zellen entstehen, die alle das Tragen der gleichen variablen Region des Immunglobulins gemeinsam haben. In diesen Regionen sind verschiedene Epitope zu finden, welche nun als Antigen bzw. Idiotyp erkannt werden (Beispiele: MAGE-Familie, MART-1/Melan A, gp100, Tyrosinase) (11).

## **3.2 Tumor escape**

Obwohl der Großteil von Tumorzellen antigen ist, wird nur von wenigen eine effektive T-Zell-vermittelte Immunantwort ausgelöst. Durch diese fehlende Immunogenität können sich Tumorzellen der Erkennung und der folgenden Zerstörung durch T-Zellen entziehen. Der Begriff „*tumor escape*“ beschreibt unterschiedliche Mechanismen des Tumors, welche es dem Tumor ermöglichen, die Kontrolle des Immunsystems zu umgehen (1).

### **3.2.1 Reduktion oder Verlust der MHC-I-Expression**

Das MHC-I-Molekül besteht aus einer membrangebundenen  $\alpha$ -Kette, die mit einer löslichen  $\beta$ -Kette, dem  $\beta$ -2-Mikroglobulin, verbunden ist. Kommt es aufgrund einer Mutation zum Verlust der  $\beta$ -Kette, kann kein MHC-I-Molekül und damit auch kein Tumorantigen den zytotoxischen T-Lymphozyten präsentiert werden (39, 17). Dies kann des Öfteren bei metastasierten Tumorzellen beobachtet werden, da das Immunsystem hier eine Selektion MHC-I-negativer Klone betreibt (76).

### **3.2.2 Fehlende MHC-II-Expression**

Aufgrund der Tatsache, dass die meisten Tumorzellen keine MHC-II-Moleküle auf ihrer Oberfläche exprimieren, unterbleibt in diesem Falle eine Aktivierung der  $CD4^+$ -T-Zellen und somit auch die der  $CD8^+$ -T-Zellen. Werden darüber hinaus auch keine APC durch „*danger signals*“ angelockt und zur Antigen-

aufnahme aktiviert, unterbleibt auch die zweite Möglichkeit zur Induktion einer zell-vermittelten Immunität (2).

### **3.2.3 Fehlende Expression von Kostimulations- und Adhäsionsmolekülen**

Tumorzellen exprimieren auf ihrer Oberfläche häufig keine Kostimulationsmoleküle, wie B7-1 oder B7-2, was in dem Unterbleiben des zweiten Signals für die T-Lymphozytenaktivierung resultiert. Dies kann zur peripheren Toleranz („klonale Anergie“, „*immunological ignorance*“) der T-Zellen, welche sogar als antigenspezifische Suppressor-Zellen wirken können, führen (29, 33, 141). V. a. solide Tumoren weisen einen Defekt in der Expression von B7-Molekülen auf (60).

### **3.2.4 Produktion immunsuppressiver Faktoren**

Zur Hemmung einer Immunantwort werden von einigen Tumortypen lösliche Substanzen, wie z. B. Zytokine, produziert. Hierzu zählt der „*transforming-growth-factor-beta*“ (TGF- $\beta$ ). Dieses Zytokin gilt als potentester Faktor hinsichtlich der Hemmung der CTL-Differenzierung und der Produktion immunstimulatorischer Zytokine (52, 42). Eine lokale IL-10-Sekretion bewirkt eine Resistenz neoplastischer Zellen gegenüber der CTL-vermittelten Lyse (15). Der „*vascular-endothelial-growth-factor*“ (VEGF) verhindert hingegen die Differenzierung von CD34-Progenitorzellen zu Dendritischen Zellen (57).

### **3.2.5 Antigenmodulation**

Unter dem Begriff „Antigenmodulation“ versteht man den Expressionsverlust von Tumorantigenen auf der Zelloberfläche, der durch Bindung spezifischer Antikörper (AK) zustande kommt. Werden AK gebunden, die kein Komplement fixieren, sind Tumorzellen vor immunologischen Effektormechanismen geschützt. Auch dieser Sachverhalt begründet oftmals das Scheitern der passiven Immuntherapie mit spezifischen antitumoralen Antikörpern (2).

### **3.2.6 Fas-Ligand (FasL) induzierte Apoptose**

Der sog. Fas-Ligand (CD95L, APO-1L) wird auf der Oberfläche einiger nicht-lymphoider Zellen, aber auch von mehreren Tumoren exprimiert. Der sog. Fas (CD95) ein Vertreter der TNFR-Familie („*tumor-necrosis-factor-receptor-family*“) (139, 146). Reagiert dieser mit dem entsprechenden Fas-Rezeptor auf T-Lymphozyten, erfolgt die Induktion der Apoptose dieser Effektorzellen (62, 114). Manche Tumorzellen sind allerdings gegen eine Fas-abhängige Apoptose resistent (120).

### **3.2.7 Defektes *antigen-processing***

Damit eine Präsentation von Antigenen über den MHC-I-Weg möglich wird, müssen zuvor zytosolische Proteine in Proteosomen zerlegt und die entstandenen Peptide in das Endoplasmatische Retikulum transportiert werden. Dies wird durch TAP-Moleküle („*transport-associated-with-antigen-processing-molecules*“) bewerkstelligt (105). Diese Moleküle bestehen aus einer TAP-1- und TAP-2-Untereinheit. Kommt es nun in den Tumorzellen zur Mutation entsprechender Gene, wird die TAP-Funktion blockiert. Das tumor-assoziierte Antigen kann somit nicht mehr auf der Tumorzelloberfläche präsentiert werden (97, 72).

### **3.2.8 Antigenmaskierung**

Tumorzellen vermögen auf erstaunliche Weise, die auf ihrer Zelloberfläche präsentierten Antigene durch Produktion einer Schicht aus Glykokalymolekülen (z. B. neuraminsäurehaltige Mukopolysaccharide) vor dem Immunsystem geheim zu halten (2). Sogar eine gesamte Neoplasie kann sich hinter einem Mantel aus Fibrin und polymerisiertem Serum-Albumin (SA) verstecken. Diese aus „körpereigenem“ Protein bestehende Schicht ermöglicht es dem Tumor, sich der Erkennung durch T-Lymphozyten und NK-Zellen zu entziehen (110).

#### **4. Immunstimulation als Krebstherapie**

Bereits vor mehr als 100 Jahren gelang dem New Yorker Arzt Dr. William Coley der erste erfolgreiche Einsatz einer Immuntherapie in der Behandlung von Krebs. Er verwendete Bakterienextrakte in der Hoffnung, eine nicht-spezifische Aktivierung des Immunsystems und einen daraus resultierenden antitumoralen Effekt zu erzielen (30, 150). Auch Paul Ehrlich postulierte einige Jahre später zum ersten Mal das Konzept einer zellulären antineoplastischen Immunität und entwickelte am Tiermodell erfolgreich eine Vakzinierung mit Tumorantigenen (40). V. a. in den letzten 20 Jahren wurde auf diesem Gebiet mit großem Interesse geforscht und eine Reihe von immuntherapeutischen Strategien entwickelt.

##### **4.1 Aktive und passive Immunstimulation**

###### **4.1.1 Nicht-spezifische aktive Immunstimulation**

Zu dieser Art von Stimulantien („*biological-response-modifiers*“ (BRMs)) werden Substanzen gezählt, die allein oder in adjuvanter Form innerhalb anderweitiger Krebstherapien zur Immunstimulation Anwendung finden. In diesem Zusammenhang sind v. a. Substanzen, wie z. B. Bacillus Calmette-Guérin (BCG, siehe **8.1.1**), Levamisol (siehe **8.1.5.1**), Picibanil/OK-432 und bestimmte Zytokine (siehe **7.**) zu nennen. Der Einsatz von BCG hat sich bei der Behandlung des superfiziellen Harnblasenkarzinom als wirksam erwiesen (90, 87). Sein antitumoraler Effekt wird v. a. auf die Induktion einer Zytokin-Sekretion sowie auf eine Aktivierung von DC zurückgeführt (25). Levamisol wird v. a. zur Unterstützung von Chemotherapien verwendet (104). Picibanil/OK-432 wird aus *Streptococcus pyogenes* gewonnen und weist durch Aktivierung von CTL und LAK-Zellen sowie durch eine gesteigerte Zytokin-Sekretion einen antitumoralen Effekt auf (83, 138). Auch der Einsatz verschiedener Zytokine mit dem Ziel einer nicht-spezifischen Immunstimulation war erfolgreich. Aufgrund der Tatsache, dass ihre Herstellung in rekombinanter Form etabliert und die Forschung und Entwicklung auf Gebieten des Gentransfers im Vormarsch ist, werden sie immer häufiger im Rahmen der Bekämpfung von Tumoren verwendet (Tab. 1).

**Tab. 1: „biological response modifiers“ (BRMs)**

BRM-Typ	Beispiele	Hauptwirkung
Zytokin-Gene	IFN- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$ , IL-2, TNF	Aktivierung von Makrophagen und NK-Zellen
bakterielle Produkte	BCG, <i>C. parvum</i> , Levamisol, MDP, Picibanil/OK-432, etc.	Aktivierung von Makrophagen und NK-Zellen (via Zytokine)

**Legende:**

IFN = Interferon; IL-2 = Interleukin-2; TNF = Tumor-Nekrose-Faktor; BCG = Bacillus Calmette-Guérin; *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*; MDP = Muramyl-dipeptid; NK-Zellen = Natürliche Killer-Zellen

**4.1.2 Spezifische aktive Immunstimulation („cancer vaccines“)**

Unter dem Begriff „cancer vaccines“ wird die Verabreichung reiner Antigene in Form von Proteinen, Peptiden, nackter DNA oder ganzen Zellen verstanden. Diese „Vakzinen“ haben therapeutischen Charakter und sind nicht mit Vakzinen gleichzusetzen, welche zur Prophylaxe von Krankheiten eingesetzt werden. Patienten, bei denen diese Form der aktiven spezifischen Immunstimulation eingesetzt wird, sind bereits an Krebs erkrankt. Diese „Vakzinen“ lösen keine generalisierte Immunantwort aus. Ihre Aufgabe besteht darin, das Immunsystem zu veranlassen, Antikörper zu produzieren. Die Vakzinen aktivieren zudem insbesondere zytotoxische T-Lymphozyten, welche wiederum neoplastische Zellen anhand der Präsentation ihrer spezifischen Antigene zu bekämpfen vermögen. Diese Tumorimpfstoffe werden häufig mit Adjuvanzen kombiniert. Im Laufe der letzten Jahre wurden folgende Vakzinierungsmöglichkeiten entwickelt (123):

- 1) Immunisierung mit reinen Antigenen;
  - Immunisierung mit immundominanten Peptiden (nativ oder modifiziert);
  - Immunisierung mit „nackter“, für das Antigen kodierender DNA;
  - Immunisierung mit rekombinanten, für das Antigen kodierenden Viren;

Immunisierung mit antigen-präsentierenden Zellen (APC), die mit einem Protein oder Peptid gepulst wurden (oder APC, die mit Genen, welche für das Antigen kodieren, transfiziert wurden).

- 2) Immunisierung mittels Zytokin-Adjuvanzen (z. B. IL-2 oder IL-12), verabreicht in systemischer Form oder kodiert durch einen immunisierenden Vektor (lokale Form).

#### **4.1.2.1 Peptid-Vakzine**

Seit der Entschlüsselung der Sequenz zahlreicher tumor-assoziiertes Antigene (TAA) ist es möglich, diese synthetisch zu produzieren. Man beabsichtigt mit diesem Verfahren, MHC-I-Moleküle antigen-präsentierender Zellen *in vivo* mit diesen Peptiden zu beladen und dadurch eine Immunreaktion hervorzurufen. Dazu müssen allerdings diese Oligopeptid-Epitope der TAA von dem jeweiligen HLA-Typ (humanes Leukozyten-Antigen-Typ) des Patienten gebunden werden können. Aus diesem Grund müssen die verwendeten Vakzinen entweder aus HLA-kompatiblen Peptiden bestehen oder eine Mischung verschiedener Epitope für verschiedene HLA-Allele enthalten (11). Peptid-Vakzinen finden v. a. bei der Behandlung viral induzierter Tumoren (47) und bei Melanomen ihre Anwendung (31, 99).

Ein Nachteil der Peptid-Vakzinen wird in der möglichen Induktion einer Toleranz und folglich einem gesteigerten Tumorwachstum gesehen. Dies ist der Fall, wenn diese Peptide T-Zellen in Kombination mit einer falschen Kostimulation präsentiert werden (3, 142).

#### **4.1.2.2 DNA-Vakzine**

Werden Antigen-Gene in Form nackter DNA (z. B. in ein Plasmid eingebaut) direkt in Muskelgewebe oder Haut injiziert, dringen sie passiv in Myoblasten oder Fibroblasten ein und transfizieren diese. Ab diesem Zeitpunkt übernimmt die Wirtszelle die Produktion des Proteins, das von dem nun eingebrachten Gen kodiert wird (56). Auf diese Weise kann nun sowohl eine zelluläre als auch eine humorale Immunantwort ausgelöst werden (88). Es besteht nun auch die

Möglichkeit, dass das Protein von APC aufgenommen wird. Dies könnte in Form eines „*cross priming*“ eine Aktivierung von T-Zellen bewirken (32, 91). Die Induktion einer starken spezifischen zellulären Immunantwort wird durch die Erkennung von „*pathogen-associated-molecular-patterns*“ (PAMP) durch „*Toll-like-receptors*“ (TLR) bewerkstelligt, welche auf bzw. in Zellen des angeborenen Immunsystems exprimiert werden. Zu diesen PAMP wird auch die immunstimulatorische DNA, das sog. CpG-Motiv (Cytosin-Guanin), gezählt. Diese CpG-Motive reagieren spezifisch mit TLR9, welcher von plasmazytoiden Dendritischen Zellen (pDC), „Schlüsselzellen“ für die Aktivierung des angeborenen und erworbenen Immunsystems, exprimiert wird. Der Einbau eines derartigen CpG-Motivs in die DNA hat sich als nützliches Adjuvans hinsichtlich der Bekämpfung des Melanoms mittels Plasmid-DNA erwiesen (126). Bakterielle DNA vermag die Aktivierung von B-Zellen, NK-Zellen und von Monozyten, aber auch die Produktion proinflammatorischer Zytokine zu induzieren. Die immunogene Wirkung des „*plasmid-backbone*“ (Bakterien-DNA) bewirkt eine Anlockung von APC (148). Sie kann durch das Einfügen von Zytokin-Genen (z. B. von GM-CSF) verstärkt werden.

#### **4.1.2.3 Tumorzell-Vakzine**

Im Rahmen der Verabreichung dieser Vakzineart werden Tumorzellen (autolog oder allogene) meist durch Bestrahlung abgetötet und dem Patienten anschließend in Form ganzer Zellen oder als Lysat reinjiziert. Sämtliche Tumorantigene des entsprechenden Tumors können so dem Immunsystem präsentiert werden. Die injizierten Tumorzellen besitzen im Körper kein neoplastisches Potential und gehen zu Grunde. Dieses antigene Material wird wiederum von APC aufgenommen (25) und eine Immunantwort eingeleitet. Leider besitzen diese Tumorzellen meist nur eine schwache Immunogenität, wodurch oftmals eine zusätzliche unspezifische Immunstimulation benötigt wird. In letzter Zeit werden auch genetisch modifizierte Tumorzell-Vakzinen klinisch getestet, wobei Tumorzellen mit verschiedenen Zytokin-Genen (z. B. GM-CSF, IL-2, IL-4), Kostimulationsgenen wie B7-1 oder MHC-Genen transduziert bzw. transfiziert werden und somit ihre Immunogenität gesteigert wird (133, 130, 9, 98).

#### **4.1.2.4 DC-Vakzine**

Patienten mit Tumoren leiden häufig an einer Reifungs- oder Funktionsstörung Dendritischer Zellen. Diese kann durch lösliche Wachstumsfaktoren (VEGF) verursacht werden (57). Dies liefert die Grundlage zur Idee, Dendritische Zellen bereits *ex vivo* zur Antigenpräsentation anzuregen. Um dies zu erreichen, werden unreife DC aus dem peripheren Blut separiert (51). Es ist u. a. aber auch möglich CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen *in vitro* ausdifferenzieren zu lassen (13). Eine Stimulation Dendritischer Zellen mit dem Ziel einer Antigenpräsentation, erfolgt via Konfrontation mit Tumorzelllysaten, Tumorproteinextrakten, Integration von Antigen-DNA oder durch Tumorantigene, welche an spezifische DC-Antikörper gebunden sind (115, 112, 68, 24). Des Weiteren kann anhand Dendritischer Zellen eine gute antitumorale Wirkung erzielt werden, deren Erbmateriale durch Transfer von Zytokin-Genen oder B7-Genen genetisch verändert wurde (5).

#### **4.1.3 passive Immuntherapie**

- 1) Transfer von Zellen, welche zuvor *in vitro* gegenüber einem bestimmten Antigen sensibilisiert wurden (ursprüngliche oder geklonte Populationen).
- 2) Transduktion von Effektorzellen (oder Dendritischen Zellen) mit Genen, welche für T-Zell-Rezeptoren, die das spezifische Antigen erkennen, kodieren (123).

##### **4.1.3.1 Zelltherapie**

Bei dieser adoptiven Immuntherapie steht die Isolierung, *In-vitro*-Expansion und Rückübertragung von spezifisch antitumoral wirkenden Immunzellen im Vordergrund. Hierzu müssen periphere mononukleäre Zellen (PMBC) aus dem Blut oder tumor-infiltrierende Lymphozyten (TIL) aus Tumorresektaten gewonnen und anschließend *in vitro* unter dem Einfluss hoher Dosen an IL-2 kultiviert werden. Im Anschluss daran werden diese Zellen wiederum, unter gleichzeitiger Gabe von IL-2, systemisch oder lokal in den Tumor reinjiziert (2,

25). Seit neuestem wird versucht, eine Steigerung der antitumoralen Aktivität von LAK-Zellen durch gemeinsame Kultivierung mit antigen-spezifischen DC zu erzielen (55, 155).

#### **4.1.3.2 Antikörper-Therapie**

Häufig werden radioaktive oder zytotoxische Substanzen (Toxine oder Chemotherapeutika) an spezifische Antikörper gebunden, welche somit direkt in die Nähe von Tumorzellen gelangen, ohne dabei gesundes Gewebe zu beschädigen. Auch Effektorzellen, wie z. B. CTL und NK-Zellen, können durch den Einsatz von Antikörpern enger an Tumorzellen gebunden werden. Dies geschieht durch die kovalente Bindung von Antikörpern, welche gegen ein Tumorantigen gerichtet sind, an Antikörper, welche gegen ein Membranprotein der Effektorzellen gerichtet sind (2, 25). Häufig werden monoklonale Antikörper nicht-humanen Ursprungs verwendet. Auf diese Weise wird eine rasche Reaktion des Immunsystems des Patienten erreicht, indem diese Fremdproteine sehr schnell abgefangen und phagozytiert werden.

Ein hinderlicher Aspekt dieser Therapieform ist allerdings die Tatsache, dass durch eine mehrmalige Behandlung, aufgrund der bereits erreichten Aktivierung des Immunsystems gegenüber diesen Antikörpern, keine weitere Steigerung erzielt werden kann. Doch auch hier gibt es mittlerweile die Möglichkeit, mit Hilfe rekombinanter DNA-Technologie sog. chimäre Antikörper zu produzieren, welche vom Immunsystem nicht mehr abgefangen werden können (67).

## **4.2 Modulierung der Immunabwehr gegenüber Krebszellen**

### **4.2.1 Inaktivierung von Onkogenen**

Dieses sehr effektive gentherapeutische Prinzip basiert auf der Hemmung häufig in neoplastischen Zellen vorkommender Aktivierungs- und Amplifizierungsvorgänge. Dies erfolgt in Form einer punktgenauen Unterbrechung der DNA-Sequenzen, welche für diese kodieren. Demzufolge kann eine Hemmung der DNA-Transkription der entsprechenden Gene durch Verwendung von Oligonukleotiden, welche spezifisch an Promotorregionen der Onkogene binden, erzielt werden. Durch den Einsatz von Antisense-Oligonukleotiden ist es z. B. möglich, eine Störung der mRNA-Translation zu

bewirken. Diese Oligonukleotide binden komplementär an die entsprechenden Sequenzen der mRNA und bilden über bestimmte Abschnitte einen Doppelstrang. Auf diese Weise können sie von intrazellulären Enzymen erkannt und zerstört werden. Darüber hinaus ist es aber auch möglich, die Funktion oder den Transport von Onkoproteinen derart zu beeinflussen, dass essentielle Zellabläufe nicht mehr möglich sind. Dies ist z. B. durch die intrazelluläre Expression sog. „*intrabodies*“ (spezifischer Antikörper) möglich, da diese Antikörper eine Neutralisierung der Onkoproteine bewirken (71).

#### **4.2.2 Hemmung der Tumorangiogenese**

Jedes Gewebe im Körper und somit auch eine neoplastische Umfangsvermehrung ist auf eine ausreichende Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen angewiesen. Findet eine „Ernährung“ des Tumorgewebes statt, ist es in der Lage zu wachsen. Um dies sicher zu stellen, muss bei jeder Größenzunahme eine adäquate Neovaskularisation erfolgen, damit angereichertes Blut den Tumor versorgen kann.

Aus diesem Grund werden von Tumoren Angiogenese-Mediatoren, wie der VEGF („*vascular-endothelial-growth-factor*“) oder der bFGF („*basic-fibroblast-growth-factor*“), sezerniert. Der VEGF wirkt spezifisch auf endotheliale Zellen, indem er eine Neovaskularisation mediiert und ein Tumorwachstum und eine Metastasierung initiiert. Obgleich in der Humanmedizin eine hohe VEGF-Konzentration mit einer schlechten Prognose behaftet ist, liegen diesbezüglich beim Hund nur wenige Informationen über Plasma-VEGF vor.

Beim oralen malignen Melanom des Hundes wurden allerdings im Vergleich zu anderen Tumortypen verhältnismäßig hohe Konzentrationen gemessen. Man geht davon aus, dass das Ausmaß der caninen Plasma-VEGF-Konzentration von dem Histologietyp des Tumors abhängig ist, wobei bei aggressiveren Tumoren höhere Konzentrationen messbar waren (149).

Hier liegt der Angriffspunkt. Hemmt man die Wirkung dieser Faktoren (die hier verwendeten Methoden wurden bereits unter **4.2.1** genannt), verhungert der Tumor. Dies kann auch auf natürliche Weise, also durch das Einbringen von Genen erreicht werden, welche für natürliche Angiogenese-Inhibitoren

(z. B. Angiostatin und Endostatin) kodieren. Gesundes Gewebe bleibt bei dieser Verfahrensweise unbeeinflusst (49, 128).

Auch der Einsatz von IL-12 (siehe **7.1.1.11**) zeigte Erfolge bei der Behandlung von Hämangiosarkomen (*in vitro*: an einer caninen Hämangiosarkom-Zelllinie, *in vivo*: am SB-Hämangiosarkom bei Mäusen). Da es sich bei IL-12 um ein Zytokin mit immunstimulierender und antiangiogenetischer Wirkung handelt, konnte hier sogar bei einer Art von Tumor, der sich durch eine starke Vaskularisation auszeichnet, eine Unterdrückung der Neovaskularisation und des Tumorwachstums erreicht werden (4).

#### **4.2.3 Ersatz defekter Tumorsuppressor-Gene**

Tumorsuppressor-Gene kodieren für Proteine, die in den Zellzyklus einwirken und DNA-Reparaturen durchführen. Zu diesen Tumorsuppressor-Genen zählt man z. B. das *p53*-Gen. Dieses Gen fungiert als Regulator bei Zellzyklus-Vorgängen und beim Ablauf einer Apoptose. Auch das Retinoblastom-Gen (*Rb*-Gen), welches in Zellzyklus und Zelldifferenzierung involviert ist, das *p16INK/CDKN2*, welches am Zellzyklus beteiligt ist, und das *PTEN*-Gen („*phosphatase-and-tensin-homolog-gene*“), welches sich regulierend auf das Überleben der Zellen auswirkt, sind in diesem Zusammenhang zu nennen (71). In klinischen Studien konnte auch durch Einschleusung sog. „Wild-Typ-Kopien“ (Genkopien mit normaler Sequenz), bezüglich einer effektiven Wachstumshemmung oder der Herbeiführung eines Zelltodes neoplastischer Zellen, gute Ergebnisse erzielt werden (12, 129, 102).

#### **4.2.4 Einschleusen von „Suizid-Genen“ in die Tumorzelle**

Bei dieser Therapieform werden Gene, welche für bestimmte Enzyme kodieren, direkt in den Tumor eingebracht. Diese Enzyme sollen in den nun transfizierten Tumorzellen ungiftige, systemisch verabreichte „*pro-drugs*“ in ihre aktive Form überführen. Da beim Einsatz von Chemotherapeutika nicht nur maligne, sondern auch gesunde Körperzellen geschädigt werden, ist es auf diese Weise möglich, gesunde Zellen zu schützen und somit die z. T. sehr heftigen Nebenwirkungen einer chemotherapeutischen Behandlung zu umgehen (160). Der Umwandlungsprozess in die zytotoxische Form findet also nur in der

Tumorzelle statt. Als vorteilhaft erweist sich hierbei die Tatsache, dass bei diesem Verfahren nicht nur transfizierte, sondern auch genetisch unveränderte Tumorzellen der Substanzwirkung ausgeliefert sind. Begründet wird dies durch den sog. „*bystander effect*“, welcher auch eine Übertragung (via „*gap junctions*“) dieser zelltoxischen Substanzen auf direkt angrenzende Tumorzellen erlaubt. Beide Tumorzelltypen werden allerdings erst nach Erreichen einer ausreichenden Konzentrationsmenge abgetötet. Der Einsatz der Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase, die Behandlung mit Ganciclovir und das Einschleusen des Cytosin-Deaminase-Gens mit folgender systemischer Verabreichung von 5-Fluorocytosinen basieren auf diesem Verfahren (106, 111, 54).

#### **4.2.5 Transfer von „*drug-resistance-Genen*“**

Der Transfer von sog. „*drug-resistance-Genen*“ bewirkt einen Schutz von Knochenmarksstammzellen und Vorläuferzellen, welche im Rahmen einer Chemotherapie oft sehr stark in Mitleidenschaft gezogen werden, was klinisch in einer Myelosuppression resultiert. Diese Zellen sollen durch dieses Verfahren gegenüber den toxischen Substanzen unempfindlich gemacht werden. Anwendung findet z. B. das MDR-Gen-1 („*multi-drug-resistance-gene-1*“), welches in Knochenmarkszellen eingeschleust wird und mögliche Nebenwirkungen einer Chemotherapie (auch in effektiveren Dosierungen) abfängt (23, 69).

Auch der Transfer des Gens für Aldehyd-Dehydrogenase-1 und mutierte Dihydrofolat-Reduktase in hämatopoetische Vorläuferzellen resultiert in einer Resistenz dieser Zellen gegenüber den chemotherapeutischen Wirkstoffen Cyclophosphamid bzw. Methotrexate (140).

### **4.3 Vektoren des Gentransfers**

Vektoren (Genfähren) dienen der Einschleusung von therapeutischen Genen in entsprechende Zielzellen. Dabei kann die Wahl des Vektors für den Erfolg der Gentherapie ausschlaggebend sein. Außerdem muss beim Einsatz des jeweiligen Vektors beachtet werden, ob es sich bei der Tumorbehandlung um eine *Ex-vivo*- oder *In-vivo*-Therapie handelt und welche Zielzellen man zu transduzieren bzw. transfizieren beabsichtigt.

Ein hierfür verwendeter Vektor sollte folgende Anforderungen erfüllen: hohe Effizienz, hohe Selektivität und fehlende Immunogenität. Abgesehen davon sollte auch ein Gentransfer in postmitotische Zellen möglich und eine ausreichend lange Genexpression gewährleistet sein. Zudem sollte eine hohe Aufnahmekapazität von Transgenen vorhanden sein und der Vektor darf nur eine möglichst geringe pathogene Wirkung auf Zellen des Wirtsorganismus haben. Je nach Vektoreinsatz wird zwischen einem viralen und non-viralem Gentransfer unterschieden (63).

#### **4.3.1 Viraler Gentransfer**

Viren sind Organismen, die ihre Gene in infizierte Zellen integrieren können. Beim viralen Gentransfer macht man sich genau diese Fähigkeit zunutze. Allerdings finden in der Gentherapie gewöhnlich replikationsdefekte Viren als Vektoren Anwendung. Diese Umwandlung erfolgt durch Herausschneiden der entsprechenden Gensequenzen aus dem Virusgenom, welche danach mit denen des therapeutischen Gens ersetzt werden. Demnach wird eine Bildung funktionsfähiger Viruspartikel unmöglich. Aus diesem Grund werden sog. Helfer- oder Verpackungszelllinien verwendet, welche genetisch so verändert wurden, dass sie weiterhin in der Lage sind, die fehlenden Wildtyp-Gene zu exprimieren. Diese Helferzelle, nun infiziert mit dem replikationsdefekten Virus, stellt dem Virus alle fehlenden Replikationsproteine zur Verfügung. Das Ergebnis ist ein komplettes Viruspartikel. Dieses kann sich zwar nicht mehr in Zellen vermehren, ist aber sehr wohl in der Lage, eine Zielzelle zu infizieren. Vor dem klinischen Einsatz muss mit Hilfe sensitiver biologischer Tests die Anwesenheit replikationsfähiger Viren (hervorgerufen durch Mutationen) ausgeschlossen werden (41, 10).

Biologisch inaktive virale Vektoren können im Patientenorganismus sowohl eine zell-vermittelte, als auch eine humorale Immunantwort induzieren (75). Die zelluläre Immunität ist v. a. durch die Anwesenheit von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen geprägt, welche durch virale Proteine des Vektors aktiviert wurden. Die Dauer der Genexpression ist von der Immunkompetenz des Patienten abhängig. Daher zeigten sich in vergleichenden Untersuchungen hinsichtlich der Dauer der Genexpression in immunkompetenten sowie immunsupprimierten Tieren deut-

liche Unterschiede. Ist das Immunsystem intakt, kommt es in kürzester Zeit zu einer CTL-vermittelten Lyse der transduzierten Zellen.

Bei der Verwendung viraler Vektoren, die keine Integration des Transgens in das zelluläre Genom bewirken, ist es von Nachteil, dass nach Lyse der transduzierten Zellen, was folglich zum Stillstand der therapeutischen Genexpression führt, häufig ein Gentransfer wiederholt werden muss. Eine weitere Einschränkung ergibt sich auch aus der Bildung neutralisierender Antikörper seitens einer humoralen Immunantwort. Demzufolge führt die wiederholte Applikation viraler Vektoren des gleichen Serotyps zu keinem therapeutischen Erfolg, da oft keine weitere Genexpression stattfindet (34).

Darüber hinaus muss beachtet werden, dass vom Gesetzgeber besondere Auflagen erhoben wurden (Gentechnikgesetz), da es sich bei viralen Vektoren um potentielle Pathogene handelt. Diese Auflagen gestalten den Einsatz viraler Vektoren in der Tierarztpraxis als schwierig.

#### **4.3.1.1 Retroviren**

Um dieses Virus nutzbar zu machen, entnimmt man ihm die für ihn charakteristischen *gag*-, *pol*- und *env*-Gene, welche für die Kodierung für Strukturproteine, die reverse Transkriptase und Kapsidproteine stehen. Auf diese Weise wird eine Steigerung der Transgen-Aufnahmekapazität um bis zu 10 kbp erzielt. Er zeichnet sich aus durch seine hohe Transduktionseffizienz und durch die Fähigkeit einer stabilen und lang andauernden Expression eines Transgens, die durch dessen Integration in das Wirtszellgenom mit folgender Weitergabe an neue Zellgenerationen erreicht wird. Allerdings ist dieser Integrationsvorgang von zufälliger Natur. Dabei kann es geschehen, dass Regulatorsequenzen der Wirtszelle unterbrochen und folglich funktionsunfähig oder gar aktiviert werden. Kommt es durch derartige Vorgänge zu einer krebsartigen Entartung der Zelle so wird dies als Insertionsmutagenese bezeichnet (61). Der Gebrauch von Retroviren, mit Ausnahme der Lentiviren, wird allerdings durch die Tatsache limitiert, dass sie ausschließlich sich teilende Zellen zu transduzieren vermögen (41).

#### **4.3.1.2 Adenoviren**

Bei Adenoviren handelt es sich um unbehüllte Einzelstrang-DNA-Viren, welche sowohl sich teilende, als auch ruhende Zellen infizieren können. Eine Vermehrungsunfähigkeit wird bei diesen Viren durch Entfernung der E1-Region („*early-region-1*“) erreicht. Eine Transgen-Aufnahmekapazität von bis zu 30 kBp kann durch Entfernung der E2-, E3- und E4-Region erzielt werden (131).

Im Gegensatz zu Retroviren kann bei Adenoviren nur eine relativ kurze Gen-Expression (1 - 2 Monate) nach Durchführung des Gentransfers bewirkt werden, da sich ihr Virusgenom nicht in das der Wirtszellen integriert (41). Der Einsatz von Adenoviren als Vektoren ist allerdings beschränkt, da sie eine hohe Immunogenität aufweisen und somit wiederholte Applikationen nach einer erfolgten Sensibilisierung zu keiner oder einer zumindest eingeschränkten Transgenexpression führen (158).

#### **4.3.1.3 Adeno-assoziierte Viren**

Diese zur Familie der Parvoviren zählenden Viren sind, um sich vermehren zu können, auf ein Helfervirus (meist ein Adenovirus) angewiesen. Dennoch können auch sie sowohl ruhende, als auch sich in Mitose befindende Zellen infizieren. Ähnlich den Retroviren kommt es auch hier zur Integration in das Genom der Wirtszelle, so dass durch ihren Gebrauch als Vektoren eine lange Transgenexpression erreicht werden kann (86).

Im Gegensatz zu Adenoviren, wird durch den Einsatz dieser Viren keine gesteigerte Immunreaktion im Wirtsorganismus ausgelöst (162). Dennoch ist ihre geringe Transgen-Transportkapazität (<4,7 kBp) im Rahmen einer Vektorenfunktion als durchaus nachteilig zu bewerten (131).

#### **4.3.1.4 Andere virale Vektoren**

Interessant gestaltet sich der Einsatz von Herpes-simplex-Viren, da diese Viren Nervenzellen zu transduzieren und darüber hinaus sehr große Transgene (bis zu 50 kBp) zu transportieren vermögen (80).

Auch das zu den Poxviren zählende Vaccinia-Virus ist in der Lage, Transgene von einer Größe bis zu 25 kBp zu transportieren. In der Humanmedizin wird es wegen seiner starken Immunogenität und dem Vorhandensein impfbedingter Antikörper nur begrenzt als Vektor eingesetzt (118, 74).

Des Weiteren werden als virale Vektoren Epstein-Barr-Viren, Baculoviren,  $\alpha$ -Viren oder Polioviren eingesetzt (21, 70, 10, 94).

#### **4.3.2 Non-viraler Gentransfer**

Bisher fanden im Rahmen der Gentherapie v. a. virale Vektoren ihren Einsatz. Die erzielbaren Transduktionsraten und die doch relativ lange andauernde Genexpression sprachen für sich. In diesen Punkten besteht eine klare Überlegenheit gegenüber dem Einsatz non-viraler Vektoren.

Doch der Gebrauch von Viren als Genfähren brachte auch Nachteile, welche sich maßgeblich auf den Erfolg einer Gentherapie auswirkten. Wie bereits erwähnt (siehe **4.3.1.1**), können manche Viren eine Insertionsmutagenese hervorrufen, welche zur Schädigung des Patienten führen kann. Als limitierend wirkte sich auch der hohe organisatorische (Gewinnung und Lagerung) und finanzielle Aufwand aus, welcher mit der Herstellung und Anwendung viraler Vektoren verbunden ist. Ihr Einsatz in der Tiermedizin ist daher auch problematisch. Aus diesem Grund wurden in den letzten 15 Jahren neue Verfahren (non-virale Vektoren) entwickelt und eingesetzt, welche den Transfer neuer Gene oder den Ersatz defekter Gene ermöglichen und eine therapeutische Wirkung über eine gewisse Zeitspanne hinweg sicherstellen. Zu diesem Zweck wurde nun ein ringförmiges doppelsträngiges DNA-Molekül bakteriellen Ursprungs (Plasmid) verwendet, in welchem das therapeutische Gen in Form einer Ligation verankert wird. Formen dieser non-viralen Gentransfersysteme haben sich bis heute in der molekularen Medizin bewährt.

##### **4.3.2.1 In-vivo-Gentransfer nackter DNA**

Anfang der 90er Jahre gelang erstmals mit Hilfe der Durchführung eines Gentransfers mittels direkter Verabreichung von Plasmid-DNA (pDNA) die Induktion einer Genexpression im Muskelgewebe von Mäusen (152).

Infolgedessen fand in verschiedenen Studien auch die intratumorale oder systemische Applikation nackter DNA Anwendung (157, 95).

Als Grundlage wird ein aktiver, rezeptor-vermittelter Prozess diskutiert, welcher *in vivo* eine zelluläre Aufnahme nackter pDNA ermöglicht (26). Diese Art des Gentransfers zur Einschleusung eines Transgens in die Wirtszelle wird als ungefährlich eingestuft. Bei dieser Methode ist nur ein geringes Expressionslevel zu erwarten. Dies ist bedingt durch die Tatsache, dass die ungeschützte DNA einer Vielzahl von Nukleasen und dem mononukleären Phagozytensystem ausgesetzt ist (35).

Zur Erzielung einer höheren Transfektionsrate und längerer Genexpression wird der Gentransfer in der Regel mit verschiedenen physikalischen Manipulationsverfahren (Elektroporation, Ultraschall, partikel-mediierter Gentransfer, „*high-pressure*-Injektion“) kombiniert.

Die Elektroporation ist ein Verfahren, welches nach Injektion der DNA auf der Erzeugung eines kontrollierten elektrischen Feldes mit Hilfe von Elektroden basiert. Auf diese Weise sollen eine Erhöhung der Zellpermeabilität und somit auch eine gesteigerte Aufnahme genetischen Materials in die Zelle erzielt werden (134). Der Einsatz von Ultraschall basiert auf einem ähnlichen Prinzip, da in diesem Fall Ultraschallwellen einen vermehrten Durchlass von Makromolekülen (z. B. pDNA) bewirken und dadurch eine Genexpression gesteigert werden kann (8, 113). Eine weitere attraktive Methode ist der partikel-medierte Gentransfer („*gene gun*“). Bei diesem System werden ca. 1 - 3 µm große Goldpartikel verwendet, welche mit DNA ummantelt sind. Diese Partikel werden nun, angetrieben durch eine Heliumschockwelle, auf das Gewebe geschossen. Die mikroskopisch kleine Größe dieser Goldpartikel verursacht eine Verletzung der Geweboberfläche (78). Die Eindringtiefe ist dabei von der Partikelgeschwindigkeit und von der Schussentfernung abhängig. Je nachdem können verschiedene Hautschichten, aber auch Muskelschichten (allerdings erst nach chirurgischer Vorbereitung) erreicht werden. Die DNA wird somit also direkt in die Zelle „geschossen“ und eine Genexpression induziert (156, 78, 144). Die „*high-pressure*-Injektion“ hingegen basiert, wie der Name schon sagt, auf einer schnell erfolgenden intratumoralen Applikation einer großvolumigen DNA-Lösung. Durch den entstehenden Druck sollen Gefäß-

endothelschranken durchbrochen und die DNA im Gewebe platziert werden (95).

#### **4.3.2.2 Lipid-vermittelte Gentransfersysteme**

Der lipid-vermittelte Gentransfer, auch Lipofektion genannt, beruht auf einer Ummantelung von DNA mit Lipiden. Obgleich neutrale und anionische Lipide eine geringere Toxizität zeigen und sich biologisch als besser kompatibel erweisen, eignen sie sich nur bedingt als Vektoren, da sie nur schlecht mit der negativ geladenen DNA interagieren. Daher finden v. a. kationische Lipide in dieser Gentransfermethode Anwendung (45). Die positiv geladenen Lipide bilden mit der negativ geladenen DNA einen Komplex (Lipoplex). Auf diese Weise wird die DNA auch vor physikalischen und enzymatischen Einflüssen geschützt. Man versucht bei der Bildung von Liposom/DNA-Komplexen, einen positiven Ladungsüberschuss zu erreichen, damit die Komplexe besser an die negativ geladene Zellmembran binden können (93). Häufig wird zur Komplexstabilisierung und Toxizitätsreduktion ein neutrales Kolipid wie DOPE (Dioleoylphosphatidylethanolamin) eingesetzt, welches mit DOTMA (1,2-Dioleoyloxypropyl-3-Trimethylammoniumchlorid; Lipofektin<sup>®</sup>), DOSPA (2,3-dioleoyloxy-N-[2-(spermin-carboxoamido)ethyl]-NNdimethyl-propanaminium trifluoroacetat; Lipofektamin<sup>®</sup>), DOTAP (1,2-Dioleoyloxy-3-Trimethylammoniumpropan), DMRIE (2-Dimyristyloxypropyl-3-Dimethylhydroxyethylammoniumbromid) oder DC-Cholesterol vermischt wird (46).

Das Grundgerüst aller verwendeten kationischen Lipide ist aus vier verschiedenen Teilen zusammengesetzt: einer positiv geladenen Kopfgruppe, einer unterschiedlich langen Lipidkette, einem Verbindungsstück und einem hydrophoben Anker. Dies ermöglicht die Bindung der Lipid/DNA-Komplexe an die Zellmembran, wobei vermutlich v. a. Proteoglykane, welche auf der Zellmembranoberfläche lokalisiert sind, von Bedeutung sind (109). Man nimmt an, dass die endgültige Aufnahme der Komplexe ins Zellinnere via Endozytose bewerkstelligt wird (161). Daraufhin wird die DNA aus dem Endosom freigesetzt. Es kommt zur Diffusion negativ geladener Lipide der Endosommembran in den Lipoplex und gleichzeitig auch zu einer Destabilisierung des Lipid/DNA-Komplexes, bedingt durch die Tatsache, dass im Inneren des Endosoms ein alkalischer pH-Wert vorherrscht. Die negativ geladenen Lipide konkurrieren mit

der ebenfalls negativ geladenen DNA um die positiven Ladungen. Dies bewirkt die Destabilisierung der Endosommembran, aber auch die Freisetzung der DNA aus dem Lipidmantel (154). Damit nun ein Einbau der Fremd-DNA in die Wirts-DNA mit anschließender Transkription des therapeutischen Gens erfolgen kann, muss die nun freigelegte Plasmid-DNA in den Zellkern aufgenommen werden. Dies geschieht über „Kernporen“, welche Moleküle von einer Größe bis zu 40 kD problemlos passieren lassen. Größere Moleküle, wie die pDNA, benötigen hierfür ein Transportprotein (Kernporen-Komplex) (38, 161).

#### **4.3.2.3 Polymer-Gentransfersysteme**

Bei diesen Systemen werden kationische Polymere verwendet, deren positiv geladene Aminogruppen mit den negativ geladenen Phosphatgruppen der DNA reagieren. Die dabei entstehenden elektrostatischen Kräfte bewirken eine spontane Polymer-DNA-Komplexbildung (Polyplex). Diese Komplexe weisen nur eine Molekülgröße von 50 - 100 nm auf, da es bei diesem Vorgang zu einer Reduktion der DNA-Größe kommen kann (20, 151).

Seit Ende der 80er Jahre wurde ein ganzes Repertoire von Polymeren, wie z. B. Poly(L-)Lysin (PLL), Polyethylenimin (PEI), Chitosan (Polysaccharid aus D-Glucosamin und N-acetyl-DGlucosamin) und verschiedene Dendrimere als Hüllstoffe für Genvektoren entwickelt (153, 64). Manche Polymere (z. B. PLL) können nach Aufnahme des Polyplexes in die Zelle die DNA nicht aus dem Endosom freisetzen. Daher werden in diesen Fällen inaktivierte Adenoviren oder das fusogene Peptid  $\text{INF } 7$  (Derivat des HA-2 Peptid des Influenzavirus) zugefügt und somit ein endosomolytischer Effekt erzielt (119, 149). Dies kann auch durch den Einsatz des lysosomotropen Medikaments Chloroquin (Chininderivat) erreicht werden (103), da es die DNA-Passage durch die Lysosommembran fördert. PEI und die Dendrimere verfügen über einen endosomolytischen Mechanismus. Dieser basiert auf der Entstehung eines Ionenungleichgewichts im Endosominneren, wodurch es zur Schwellung (Einstrom von Wasser) und folglich zur osmotischen Lyse des Endosoms kommt (81).

Allerdings kann auch hier der Überschuss an positiver Ladung zu Problemen führen, welche durch die Entwicklung einer Toxizität und einer Transfektions-

ineffizienz gekennzeichnet sind. Obgleich dieser Überschuss zu einer effektiveren Bindung an die Zellmembran beiträgt, kann es auch zum Ausfällen der DNA-Komplexe kommen, da diese positiv geladenen Polyplexe unter physiologischen Salzkonzentrationen sowie bei Kontakt zu Blutbestandteilen (z. B. Albumin) zur Aggregatbildung neigen (82). Daher werden die Polyplexe in der Regel mit einem schützenden Hüllpolymer (aus Polyethylenglycol) ummantelt und somit eine neutrale Nettoladung erzielt (50).

#### **4.4      *Drug-targeting***

Unter dem Begriff „*drug-targeting*“ versteht man die zielgerichtete Applikation eines Medikaments. Auf diese Weise sollen systemische Nebenwirkungen reduziert werden. Im Rahmen der Gentherapie ist eine möglichst hohe Vektorkonzentration im Zielgewebe erwünscht, da nur so eine Genexpression effektiv erfolgen und ein therapeutischer Erfolg erzielt werden kann (147).

##### **4.4.1      *Zellspezifisches drug-targeting***

Zur Beschränkung der Transgenexpression auf bestimmte Zielzellen können gewebespezifische Promotoren in non-virale und virale Vektoren integriert werden. Dabei handelt es sich um DNA-Sequenzen, die zwar von zellspezifischen Faktoren abhängig sind, aber die Fähigkeit besitzen, die Ablesehäufigkeit durch die RNA-Polymerase zu bestimmen (147). Darüber hinaus ist es möglich, die Affinität des Vektors gegenüber der Zielzelle zu beeinflussen.

Bei der Verwendung viraler Vektoren ist die Transduktion der Zielzelle vom natürlichen Tropismus des Virus abhängig. Bei non-viralen Vektoren allerdings kann der Transfektionsvorgang durch den Einbau zellspezifischer Liganden (z. B. Transferrin) deutlich gesteigert werden (65).

##### **4.4.2      *Lokoregionäres drug-targeting***

Soll ein Gentransfer erfolgen, der nicht nur auf bestimmte Zellen, sondern auf ein bestimmtes Gebiet im Patientenkörper beschränkt werden soll, finden Verfahren wie die Magnetofektion Anwendung. Hierbei erfolgt *in vitro* eine Assoziation der Genvektoren mit magnetischen Nanopartikeln. Diese werden

lokal oder systemisch appliziert und einem von außen einwirkenden Magnetfeld ausgesetzt. Auf diesem Wege können Vektoren in einem bestimmten Körperkompartiment angereichert und somit der lokale Gentransfer gesteigert werden (124).

In einer ähnlichen Weise können auch Biomaterialien (z. B. Kollagenschwämme, siehe unter **7.2.2**) als Arzneistoffträger oder Träger von Genvektoren eingesetzt werden (136). Abgesehen von nackter Plasmid-DNA können Polyplexe, Lipoplexe und Adenoviren auf Kollagenschwämme verbracht werden (116). Dabei wurden *in vitro* und *in vivo* die besten Gentransfer-Ergebnisse mit Kollagenschwämmen erzielt, die mit Kopolymer umhüllten Genvektoren beladen sind (125).

Der gentherapeutische Einsatz von Kollagenschwämmen in der Onkologie zeichnet sich v. a. durch eine protrahierte DNA-Freisetzung aus. Nach der chirurgischen Exzision des Tumors, wird der mit Genvektoren beladene Kollagenschwamm in die Operationswunde eingesetzt. In den folgenden Tagen beginnen v. a. neutrophile Granulozyten und Fibroblasten sich im Randbereich des Kollagenschwamms anzusiedeln. Im weiteren Verlauf kommt es zu einer Vermehrung dieser Zellen und zur Einwanderung entlang der Kollagenfasern in das Schwamminnere. Über einen Zeitraum von ca. einem Monat ist der Großteil des Kollagenschwammes resorbiert und die DNA steht in dieser Zeit der Transfektion zur Verfügung (79).

## **Zusammenfassung**

In der molekularen Medizin konnten wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, wodurch die Entstehung von Neoplasien erklärbar und die Behandlung möglich wurde. In einem gesunden Organismus unterliegen die Zellen einer Wachstumskontrolle. Die sog. „*immunosurveillance-theory*“ liefert wichtige Ansätze zur Beschreibung der Wechselwirkungen zwischen Tumor und Immunsystem. Tatsächlich können manche Tumorzellen vom Immunsystem eliminiert werden, es kann sich aber auch ein Gleichgewicht (*equilibrium*) zwischen dem Tumor und dem Immunsystem entwickeln. Wächst der Tumor, so nennt man dies „*tumour escape*“ (19, 141). Im Zuge einer Elimination reagieren NK-Zellen auf sog. „*danger signals*“. Diese Signale zeigen eine Zelltransformation an, induzieren eine lokale Entzündung und aktivieren antitumoral wirksame Effektorzellen (19).

Die eigentlichen Effektorzellen der Tumorimmunität sind CD4<sup>+</sup>-T-Lymphozyten, CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten und Natürliche Killerzellen (NK-Zellen). CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten sind auf die Aktivierung durch antigen-präsentierende Zellen (z. B. B-Zellen, Makrophagen und Dendritische Zellen) angewiesen. B-Zellen, Antikörper, neutrophile Granulozyten und der Tumor-Nekrose-Faktor spielen hierbei meist nur eine untergeordnete Rolle (41).

Im Laufe der Zeit wurden ausgefeilte Strategien entwickelt, welche eine nicht-spezifische aktive Immunstimulation („*biological response modifiers*“), eine spezifische aktive Immunstimulation („*cancer vaccines*“) und eine passive Immunstimulation (in Form einer Zell- oder Antikörper-Therapie) ermöglichten. Hierbei werden Vektoren verwendet, welche viraler (u. a. Adenoviren, Adeno-assoziierte Viren, Retroviren und Poxviren) und non-viraler (z. B. In-vivo-Gentransfer nackter DNA, lipid-vermittelte Gentransfersysteme) Natur sind.

# Quellenverzeichnis

## Grundlagen der Immuntherapie

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Abbas, A.K.;** In: Abbas, A.K., A.H. Lichtman, J.S. Pober (Hrsg.); Cellular and molekular immunology. Chapter 17, WB Saunders, Philadelphia, 2005, pp. 391-410.
- 2 **Abbas, A.K.;** In Abbas, A.K., A.H. Lichtman, J.S. Pober (Hrsg.); Tumorimmunität. Immunologie; Verlag Hans Huber; Bern; 1996, pp. 428-451.
- 3 **Aichele, P., K. Brduscha-Riem, R.M. Zinkernagel, H. Hengartner, H. Pircher;** T cell priming versus T cell tolerance induced by synthetic peptides. J. Exp. Med., 1995, 182(1): 261-266.
- 4 **Akhtar, N., M.L. Padilla, E.B. Dickerson, H. Steinberg, M. Breen, R. Auerbach, S.C. Helfand;** Interleukin-12 inhibits tumor growth in a novel angiogenesis canine hemangiosarcoma xenograft model. Neoplasia, March/April 2004, 6(2): 106-116.
- 5 **Akiyama, Y., M. Watanabe, K. Maruyama, F.W. Ruscetti, R.H. Wiltrout, K. Yamaguchi;** Enhancement of antitumor immunity against B16 melanoma tumor using genetically modified dendritic cells to produce cytokines. Gene Ther., 2000, 7(24): 2113-2121.
- 6 **Albert, M.L., S.F. Pearce, L.M. Francisco, B. Sauter, P. Roy, R.L. Silverstein, N. Bhardwaj;** Immature dendritic cells phagocytose apoptotic cells via alphavbeta5 and CD36, and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. J. Exp. Med., 1998, 188(7): 1359-1368.
- 7 **Albert, M.L., B. Sauter, J.N. Bhardwa;** Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. Nature, 1998, 392: 86-89.
- 8 **Amabile, P.G., J.M. Waugh, T.N. Lewis, C.J. Elkins, W. Janas, M.D. Dake;** High-efficiency endovascular gene delivery via therapeutic ultrasound. J. Am. Coll. Cardiol., 2001, 37(7): 1975-1980.
- 9 **Antonia, S.J., J. Seigne, J. Diaz, C. Muro-Cacho, M. Extermann, M.J. Farmelo, M. Friberg, M. Alsarraj, J.J. Mahany, J. Pow-Sang, A. Cantor, W. Janssen;** Phase I trial of a B7-1 (CD80) gene modified autologous tumor cell vaccine in combination with systemic interleukin-2 in patients with metastatic renal cell carcinoma. J. Urol., 2002, 167(5): 1995-2000.
- 10 **Argyle, D.J.;** Gene therapy in veterinary medicine. Vet. Rec., 1999, 144(14): 369-376.
- 11 **Armstrong, A.C., R.E. Hawkins;** Vaccines in oncology: background and clinical potential. Br. J. Radiol., 2001, 74(887): 991-1002.
- 12 **Baker, S.J., S. Markowitz, E.R. Fearon, J.K. Willson, B. Vogelstein;** Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. Science, 1990, 249(4971): 912-915.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 13 **Banchereau, J., A.K. Palucka, M. Dhodapkar, S. Burkeholder, N. Taquet, A. Rolland, S. Taquet, S. Coquery, K.M. Wittkowski, N. Bhardwaj, L. Pineiro, R. Steinman, J. Fay;** Immune and clinical responses in patients with metastatic melanoma to CD34(+) progenitor-derived dendritic cell vaccine. *Cancer Res.*, 2001, 61(17): 6451-6458.
- 14 **Banchereau J., R.M. Steinman;** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, 392(6673): 245-252.
- 15 **Becker, J.C., C. Czerny, E.B. Brocker;** Maintenance of clonal anergy by endogenously produced IL-10. *Int. Immunol.*, 1994, 6(10): 1605-1612.
- 16 **Bennett, S.R., F.R. Carbone, F. Karamalis, R.A. Flavell, J.F. Miller, W.R. Heath;** Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD40 signaling. *Nature*, 1998, 393(6684): 478-480.
- 17 **Bicknell, D.C., A. Rowan, W.F. Bodmer;** Beta 2-microglobulin gene mutations: a study of established colorectal cell lines and fresh tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1994, 91(11): 4751-4755.
- 18 **Blaese, M., T. Blankenstein, M. Brenner, O. Cohen-Haguenuer, B. Gänzbacher, B. Sorrentino, T. Velu;** European School of Oncology position paper. Gene therapy for the medical oncologist. *Eur. J. Cancer*, 1995, 31 A: 1531-1537.
- 19 **Blattman, J.N., P.D. Greenberg;** Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. *Science*, 2004, 305: 200-205.
- 20 **Bloomfield, V.A.;** DNA condensation. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 1996, 6(3): 334-341.
- 21 **Bloss, T.A., B. Sugden;** Optimal lengths for DNAs encapsidated by Epstein-Barr virus. *J. Virol.*, 1994, 68(12): 8217-8222.
- 22 **Bluestone, J.A.;** Is CTLA-4 a master switch for peripheral T cell tolerance? *J. Immunol.*, 1997, 158(5): 1989-1993.
- 23 **Boesen, J.J., K. Nooter, D. Valerio;** Circumvention of chemotherapy-induced myelosuppression by transfer of the *mdr1* gene. *Biotherapy*, 1993, 6(4): 291-302.
- 24 **Bonifaz, L., D. Bonnyay, K. Mahnke, M. Rivera, M.C. Nussenzweig, R.M. Steinman;** Efficient targeting of protein antigen to the dendritic cell receptor DEC-205 in the steady state leads to antigen presentation on major histocompatibility complex class I products and peripheral CD8+ T cell tolerance. *J. Exp. Med.*, 2002, 196(12): 1627-1638.
- 25 **Bremers, A.J., G. Parmiani;** Immunology and immunotherapy of human cancer: present concepts and clinical developments. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2000, 34(1): 1-25.
- 26 **Budker, V., T. Budker, G. Zhang, V. Subbotin, A. Loomis, J.A. Wolff;** Hypothesis: naked plasmid DNA is taken up by cells in vivo by a receptor-mediated process. *J. Gene Med.*, 2000, 2(2): 76-88.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 27 **Catros-Quemener, V., F. Bouet, N. Genetet;** Immunité anti-tumorale et thérapies cellulaires du cancer. *Médecine/Sciences*, 2003, 19(1): 43-53.
- 28 **Cella, M., D. Scheidegger, K. Palmer-Lehmann, P. Lane, A. Lanzavecchia, G. Alber;** Ligation of CD40 on dendritic cells triggers production of high levels of interleukin-12 and enhances T cell stimulatory capacity: T-T help via APC activation. *J. Exp. Med.*, 1996, 184(2): 747-752.
- 29 **Chai, J.G., I. Bartok, P. Chandler, S. Vendetti, A. Antoniou, J. Dyson, R. Lechler;** Anergic T cells act as suppressor cells in vitro and in vivo. *Eur. J. Immunol.*, 1999, 29: 686-692.
- 30 **Coley, W.;** Further observations upon the treatment of malignant tumors with the toxins of erysipelas and *Bacillus prodigiosus* with a report of 160 cases. *Bull Johns Hopkins Hospital*, 1896, 7: 157.
- 31 **Cormier, J.N., M.L. Salgaller, T. Prevet, K.C. Barracchini, L. Rivoltini, N.P. Restifo, S.A. Rosenberg, F.M. Marincola;** Enhancement of cellular immunity in melanoma patients immunized with a peptide from MAR-1/Melan A. *Cancer J. Sci. Am.*, 1997, 3(1): 37-44.
- 32 **Corr, M., D.J. Lee, D.A. Carson, H. Tighe;** Gene vaccination with naked plasmid DNA: mechanism of CTL priming. *J. Exp. Med.*, 1996, 184(4): 1555-1560.
- 33 **Costello, R.T., J.A. Gastaut, D. Olive;** Tumor escape from immune surveillance. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, 1999, 47(2): 83-88.
- 34 **Dai, Y., E.M. Schwarz, D. Gu, W.W. Zhang, N. Sarvetnick, I.M. Verma;** Cellular and humoral immune responses to adenoviral vectors containing factor IX gene: tolerization of factor IX and vector antigens allows for long-term expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1995, 92(5): 1401-1405.
- 35 **Danko, I., J.A. Wolff;** Direct gene transfer into muscle. *Vaccine*, 1994, 12(16): 1499-1502.
- 36 **Davis, M.M., J.J. Boniface, Z. Reich, D. Lyons, J. Hampl, B. Arden, Y. Chien;** Ligand recognition by alpha beta T cell receptors. *Annu. Rev. Immunol.*, 1998, 16: 523-544.
- 37 **Delon, J., N. Bercovici, G. Raposo, R. Liblau, A. Trautmann;** Antigen-dependent and -independent Ca<sup>2+</sup> responses triggered in T cells by dendritic cells compared with B cells. *J. Exp. Med.*, 1998, 188(8): 1473-1484.
- 38 **Dowty, M.E., P. Williams, G. Zhang, J.E. Hagstrom, J.A. Wolff;** Plasmid DNA entry into postmitotic nuclei of primary rat myotubes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1995, 92(10): 4572-4576.
- 39 **D'Urso, C.M., Z.G. Wang, Y. Cao, R. Tatake, R.A. Zeff, S. Ferrone;** Lack of HLA class I antigen expression by cultured melanoma cells FO-1 due to a defect in B2m gene expression. *J. Clin. Invest.*, 1991, 87(1): 284-292.
- 40 **Ehrlich, P.;** Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 1909, 53: 273-290.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 41 **Elmslie, R.E.;** Genetic immunotherapy for cancer. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*, Aug. 1997, 12(3): 193-205.
- 42 **Espinoza-Delgado, I., M.C. Bosco, T. Musso, K. Mood, F.W. Ruscetti, D.L. Longo, L. Varesio;** Inhibitory cytokine circuits involving transforming growth factor-beta, interferon gamma, and interleukin-2 in human monocyte activation. *Blood*, 1994, 83(11): 3332-3338.
- 43 **Fanger, N.A., C.R. Maliszewski, K. Schooley, T.S. Griffith;** Human dendritic cells mediate cellular apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL). *J. Exp. Med.*, 1999, 190(8): 1155-1164.
- 44 **Fearon, E.R., B. Vogelstein;** A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*, 1990, 61(5): 759-767.
- 45 **Felgner, P.L., T.R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H.W. Chan, M. Wenz, J.P. Northrop, G.M. Ringold, M. Danielsen;** Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1987, 84(21): 7413-7417.
- 46 **Felgner, P.L., R.H. Zaugg, J.A. Norman;** Synthetic recombinant DNA delivery for cancer therapeutics. *Cancer Gene Ther.*, 1995, 2(1): 61-65.
- 47 **Feltkamp, M.C., H.L. Smits, M.P. Vierboom, R.P. Minnaar, B.M. de Jongh, J.W. Drijfhout, J. ter Schegget, C.J. Melief, W.M. Kast;** Vaccination with cytotoxic T lymphocyte epitope-containing peptide protects against a tumor induced by human papillomavirus type 16-transformed cells. *Eur. J. Immunol.*, 1993, 23(9): 2242-2249.
- 48 **Fernandez, N.C., A. Lozier, C. Flament, P. Ricciardi-Castagnoli, D. Bellet, M. Suter, M. Perricaudet, T. Tursz, E. Maraskovsky, L. Zitvogel;** Dendritic cells directly trigger NK cell functions: cross-talk relevant in innate antitumor immune responses in vivo. *Nat. Med.*, 1999, 5(4): 405-411.
- 49 **Fey, M.F.;** Molekulare Therapien bei malignen Tumoren. *Schweiz Med. Wochenschr.*, 1999, 129: 1758-1763.
- 50 **Finsinger, D., J.S. Remy, P. Erbacher, C. Koch, C. Plank;** Protective copolymers for nonviral gene vectors: synthesis, vector characterization and application in gene delivery. *Gene Ther.*, 2000, 7(14): 1183-1192.
- 51 **Fong, L., E.G. Engleman;** Dendritic cells in cancer immunotherapy. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000, 18: 245-273.
- 52 **Fontana, A., K. Frei, S. Bodmer, E. Hofer, M.H. Schreier, M.A. Palladino Jr, R.M. Zinkernagel;** Transforming growth factor-beta inhibits the generation of cytotoxic T cells in virusinfected mice. *J. Immunol.*, 1989, 143(10): 3230-4.
- 53 **Foss, F.M.;** Immunologic mechanisms of antitumor activity. *Semin. Oncol.*, 2002, 29 (3 Suppl. 7): 5-11.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 54 **Freytag, S.O., M. Khil, H. Stricker, J. Peabody, M. Menon, M. DePeralta-Venturina, D. Nafziger, J. Pegg, D. Paielli, S. Brown, K. Barton, M. Lu, E. Aguilar Cordova, J.H. Kim;** Phase I study of replication-competent adenovirus-mediated double suicide gene therapy for the treatment of locally recurrent prostate cancer. *Cancer Res.*, 2002, 62(17): 4968-4976.
- 55 **Friedl, J., A. Stift, P. Paolini, E. Roth, G.G. Steger, R. Mader, R. Jakesz, M.F. Gnant;** Tumor antigen pulsed dendritic cells enhance the cytolytic activity of tumor infiltrating lymphocytes in human hepatocellular cancer. *Cancer Biother. Radiopharm.*, 2000, 15(5): 477-486.
- 56 **Fu, T.M., J.B. Ulmer, M.J. Caulfield, R.R. Deck, A. Friedman, S. Wang, X. Liu, J.J. Donnelly, M.A. Liu;** Priming of cytotoxic T lymphocytes by DNA vaccines: requirement for professional antigen presenting cells and evidence for antigen transfer from myocytes. *Mol. Med.*, 1997, 3(6): 362-371.
- 57 **Gabrilovich, D.I., H.L. Chen, K.R. Girgis, H.T. Cunningham, G.M. Meny, S. Nadaf, D. Kavanaugh, D.P. Carbone;** Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nat. Med.*, 1996, 2(10): 1096-1103.
- 58 **Godfrey, D.I., K.J. Hammond, L.D. Poulton, M.J. Smyth, A.G. Baxter;** NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol. Today*, 2000, 21(11): 573-583.
- 59 **Green, S.J., T.Y. Chen, R.M. Crawford, C.A. Nacy, D.C. Morrison, M.S. Meltzer;** Cytotoxic activity and production of toxic nitrogen oxides by macrophages treated with IFN-gamma and monoclonal antibodies against the 73-kDa lipopolysaccharide receptor. *J. Immunol.*, 1992, 149(6): 2069-2075.
- 60 **Guinan, E.C., J.G. Gribben, V.A. Boussiotis, G.J. Freeman, L.M. Nadler;** Pivotal role of the B7:CD28 pathway in transplantation tolerance and tumor immunity. *Blood*, 1994, 84(10): 3261-3282.
- 61 **Gunter, K.C., A.S. Khan, P.D. Noguchi;** The safety of retroviral vectors. *Hum. Gene Ther.*, 1993, 4(5): 643-645.
- 62 **Hahne, M., D. Rimoldi, M. Schroter, P. Romero, M. Schreier, L.E. French, P. Schneider, T. Bornand, A. Fontana, D. Lienard, J. Cerottini, J. Tschopp;** Melanoma cell expression of Fas(Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science*, 1996, 274(5291): 1363-1366.
- 63 **Hallek, M., H. Buening, M. Ried, U. Hacker, C. Kurzeder, C.M. Wendtner;** Grundlagen der Gentherapie – Prinzip und Stand der Entwicklung. *Internist.*, 2001, 42(10): 1306-1313.
- 64 **Han, S., R.I. Mahato, Y.K. Sung, S.W. Kim;** Development of biomaterials for gene therapy. *Mol. Ther.*, 2000, 2(4): 302-317.
- 65 **Harris, C.E., S. Agarwal, P. Hu, E. Wagner, D.T. Curiel;** Receptor-mediated gene transfer to airway epithelial cells in primary culture. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 1993, 9(4): 441-447.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 66 **Hart, D.N.;** Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*, 1997, 90(9): 3245-3287.
- 67 **Heiss, M.M., R. Lamerz, C. Lersch, G. Schlimok, B. Weber;** Tumorimmunologie und Tumorendokrinologie. Manual Gastrointestinale Tumoren - Tumorzentrum München, 2001, S. 58-63.
- 68 **Henry, F., O. Boisteau, L. Bretaudeau, B. Lieubeau, K. Meflah, M. Grégoire;** Antigen-presenting cells that phagocytose apoptotic tumor-derived cells are potent tumor vaccines. *Cancer Res.*, July 1999, 59: 3329-3332.
- 69 **Hesdorffer, C., J. Ayello, M. Ward, A. Kaubisch, L. Vahdat, C. Balmaceda, T. Garrett, M. Fetell, R. Reiss, A. Bank, K. Antman;** Phase I trial of retroviral-mediated transfer of the human MDR1 gene as marrow chemoprotection in patients undergoing high-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation. *J. Clin. Oncol.*, 1998, 16(1): 165-172.
- 70 **Hofmann, C., M. Strauss;** Baculovirus-mediated gene transfer in the presence of human serum or blood facilitated by inhibition of the complement system. *Gene Ther.*, 1998, 5(4): 531-536.
- 71 **Hughes, M.R.;** Strategies for cancer gene therapy. *J. Surg. Oncol.*, 2004, 85: 28-35.
- 72 **Johnsen, A.K., D.J. Templeton, M. Sy, C.V. Harding;** Deficiency of transporter for antigen presentation (TAP) in tumor cells allows evasion of immune surveillance and increases tumorigenesis. *J. Immunol.*, 1999, 163(8): 4224-4231.
- 73 **Jonuleit, H., U. Kuhn, G. Muller, K. Steinbrink, L. Paragnik, E. Schmitt, J. Knop, A.H. Enk;** Proinflammatory cytokines and prostaglandins induce maturation of potent immunostimulatory dendritic cells under fetal calf serum-free conditions. *Eur. J. Immunol.*, 1997 Dec, 27(12): 3135-3142.
- 74 **Jourdier, T.-M., C. Moste, M.-C. Bonnet, F. Delisle, J.-P. Tafani, P. Devauchelle, J. Tartaglia, P. Moingeon;** Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Ther.*, 2003, 10: 2126-2132.
- 75 **Kafri, T., D. Morgan, T. Krahl, N. Sarvetnick, L. Sherman, I. Verma;** Cellular immune response to adenoviral vector infected cells does not require de novo viral gene expression: implications for gene therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1998, 95(19): 11377-11382.
- 76 **Kaklamanis, L., R. Leek, M. Koukourakis, K.C. Gatter, A.L. Harris;** Loss of transporter in antigen processing 1 transport protein and major histocompatibility complex class I molecules in metastatic versus primary breast cancer. *Cancer Res.*, 1995, 55(22): 5191-5194.
- 77 **Kato, T., H. Yamane, H. Nariuchi;** Differential effects of LPS and CD40 ligand stimulations on the induction of IL-12 production by dendritic cells and macrophages. *Cell. Immunol.*, 1997, 181(1): 59-67.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 78 **Keller, E.T., J.K. Burkholder, F. Shi, T.D. Pugh, D. McCabe, J.S. Malter, E.G. MacEwen, N.-S. Yang, W.B. Ershler;** *In vivo* particle-mediated cytokine gene transfer into canine oral mucosa and epidermis. *Cancer Gene Ther.*, May-June 1996, 3(3): 186-191.
- 79 **Kempf, C.;** Nonviraler Gentransfer der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze - eine klinische Phase I-Studie. *Vet. Med. Diss.*, 2005.
- 80 **Kennedy, P.G.;** Potential use of herpes simplex virus (HSV) vectors for gene therapy of neurological disorders. *Brain*, 1997, 120(7): 1245-1259.
- 81 **Kichler, A., C. Leborgne, E. Coeytaux, O. Danos;** Polyethylenimine-mediated gene delivery: a mechanistic study. *J. Gene Med.*, 2001, 3(2): 135-144.
- 82 **Kircheis, R., S. Schuller, S. Brunner, M. Ogris, K.H. Heider, W. Zauner, E. Wagner;** Polycation-based DNA complexes for tumor-targeted gene delivery in vivo. *J. Gene Med.*, 1999, 1(2): 111-120.
- 83 **Kirkwood, J.M., J. Wilson, T.L. Whiteside, S. Donnelly, R.B. Herberman;** Phase IB trial of picibanil (OK-432) as an immunomodulator in patients with resected high-risk melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1997, 44(3): 137-149.
- 84 **Klimp, A.H., E.G. de Vries, G.L. Scherphof, T. Daemen;** A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2002, 44(2): 143-161.
- 85 **Kos, F.J.;** Regulation of adaptive immunity by natural killer cells. *Immunol. Res.* 1998; 17(3): 303-312.
- 86 **Kotin, R.M., M. Siniscalco, R.J. Samulski, X.D. Zhu, L. Hunter, C.A. Laughlin, S. McLaughlin, N. Muzyczka, M. Rocchi, Kl. Berns;** Site-specific integration by adeno-associated virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1990, 87(6): 2211-2215.
- 87 **Krege, S., G. Giani, R. Meyer, T. Otto, H. Rubben;** A randomized multicenter trial of adjuvant therapy in superficial bladder cancer: transurethral resection only versus transurethral resection plus mitomycin C versus transurethral resection plus bacillus Calmette-Guerin. *Participating Clinics. J. Urol.*, 1996. 156(3): 962-966.
- 88 **Kumar, V., E. Sercarz;** Genetic vaccination: the advantages of going naked. *Nat. Med.*, 1996, 2(8): 857-859.
- 89 **Labeur, M.S., B. Roters, B. Pers, A. Mehling, T.A. Luger, T. Schwarz, S. Grabbe;** Generation of tumor immunity by bone marrow-derived dendritic cells correlates with dendritic cell maturation stage. *J. Immunol.*, 1999, 162(1): 168-175.
- 90 **Lamm, D.L., B.A. Blumenstein, E.D. Crawford, J.E. Montie, P. Scardino, H.B. Grossman, T.H. Staniscic, J.A. Smith Jr, J. Sullivan, M.F. Sarosdy;** A randomized trial of intravesical doxorubicin and immunotherapy with bacillus Calmette-Guerin for transitional-cell carcinoma of the bladder. *N. Engl. J. Med.*, 1991, 325(17): 1205-1209.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 91 **Leitner, W.W., H. Ying, N.P. Restifo;** DNA and RNA-based vaccines: principles, progress and prospects. *Vaccine*, 1999, 18(9-10): 765-777.
- 92 **Lenardo, M., K.M. Chan, F. Hornung, H. McFarland, R. Siegel, J. Wang, L. Zheng;** Mature T lymphocyte apoptosis - immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999, 17: 221-253.
- 93 **Li, S., Z. Ma;** Nonviral gene therapy. *Curr. Gene Ther.*, 2001, 1(2): 201-226.
- 94 **Liu, G., K.J. Ashbourne Excoffon, J.E. Wilson, B.M. McManus, Q.R. Rogers, L. Miao, J.J. Kastelein, M.E. Lewis, M.R. Hayden;** Phenotypic correction of feline lipoprotein lipase deficiency by adenoviral gene transfer. *Hum. Gene Ther.*, 2000, 11(1): 21-32.
- 95 **Liu, F., Y. Song, D. Liu;** Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA. *Gene Ther.*, 1999, 6(7): 1258-1266.
- 96 **Lynch, D.H., F. Ramsdell, M.R. Alderson;** Fas and FasL in the homeostatic regulation of immune responses. *Immunol. Today*, 1995, 16(12): 569-574.
- 97 **Maeurer, M.J., S.M. Gollin, D. Martin, W. Swaney, J. Bryant, C. Castelli, P. Robbins, G. Parmiani, W.J. Storkus, M.T. Lotze;** Tumor escape from immune recognition: lethal recurrent melanoma in a patient associated with downregulation of the peptide transporter protein TAP-1 and loss of expression of the immunodominant MART-1/Melan-A antigen. *J. Clin. Invest.*, 1996, 98(7): 1633-1641.
- 98 **Maio, M., E. Fonsatti, E. Lamaj, M. Altomonte, I. Cattarossi, C. Santantonio, C. Melani, F. Belli, F. Arienti, M.P. Colombo, G. Permiani;** Vaccination of stage IV patients with allogeneic IL-4- or IL-2-gene-transduced melanoma cells generates functional antibodies against vaccinating and autologous melanoma cells. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2002, 51(1): 9-14.
- 99 **Marchand, M., N. van Baren, P. Weynants, V. Brichard, B. Dreno, M.H. Tessier, E. Rankin, G. Parmiani, F. Arienti, Y. Humblet, A. Boursin, R. Vanwijck, D. Lienard, M. Beauduin, P.Y. Dietrich, V. Russo, J. Kerger, G. Masucci, E. Jager, J. De Greve, J. Atzpodien, F. Brasseur, P.G. Coulie, P. van der Bruggen, T. Boon;** Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1. *Int. J. Cancer.*, 1999, 80(2): 219-230.
- 100 **Matzinger, P.;** Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.*, 1994, 12: 991-1045.
- 101 **Metcalf, D., C.G. Begley, D.J. Williamson, E.C. Nice, J. De Lamarter, J.J. Mermod, D. Thatcher, A. Schmidt;** Hemopoietic responses in mice injected with purified recombinant murine GM-CSF. *Exp. Hematol.*, 1987, 15(1): 1-9.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 102**      **Minaguchi, T., T. Mori, Y. Kanamori, M. Matsushima, H. Yoshikawa, Y. Taketani, Y. Nakamura;** Growth suppression of human ovarian cancer cells by adenovirus-mediated transfer of the PTEN gene. *Cancer Res.*, 1999, 59(24): 6063-6067.
- 103**      **Mislick, K.A., J.D. Baldeschwieler, J.F. Kayyem, T.J. Meade;** Transfection of folate-polylysine DNA complexes: evidence for lysosomal delivery. *Bioconjug. Chem.*, 1995, 6(5): 512-515.
- 104**      **Moertel, C.G., T.R. Fleming, J.S. Macdonald, D.G. Haller, J.A. Laurie, P.J. Goodman, J.S. Ungerleider, W.A. Emerson, D.C. Tormey, J.H. Glick;** Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 1990, 322(6): 352-358.
- 105**      **Momburg, F., G.J. Hammerling;** Generation and TAP-mediated transport of peptides for major histocompatibility complex class I molecules. *Adv. Immunol.*, 1998, 68: 191-256.
- 106**      **Moolten, F.L., J.M. Wells;** Curability of tumors bearing herpes thymidine kinase genes transferred by retroviral vectors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, 82(4): 297-300.
- 107**      **Moretta, A., C. Bottino, M. Vitale, D. Pende, R. Biassoni, M.C. Mingari, L. Moretta;** Receptors for HLA class-I molecules in human natural killer cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 1996, 14: 619-648.
- 108**      **Mosmann, T.R., R.L. Coffman;** TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.*, 1989, 7: 145-173.
- 109**      **Mounkes, L.C., W. Zhong, G. Cipres-Palacin, T.D. Heath, R.J. Debs;** Proteoglycans mediate cationic liposome-DNA complex-based gene delivery in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273(40): 26164-26170.
- 110**      **Mukherjee, A.B., K. Laki, A.K. Agrawal;** Possible mechanism of success of an allotransplantation in nature: mammalian pregnancy. *Med. Hypotheses.*, 1980, 6(10): 1043-1055.
- 111**      **Mullen, C.A., M. Kilstrup, R.M. Blaese;** Transfer of the bacterial gene for cytosine deaminase to mammalian cells confers lethal sensitivity to 5-fluorocytosine: a negative selection system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, 89(1): 33-37.
- 112**      **Nair, S.K., D. Snyder, B.T. Rouse, E. Gilboa;** Regression of tumors in mice vaccinated with professional antigen-presenting cells pulsed with tumor extracts. *Int. J. Cancer.*, 1997, 70(6): 706-715.
- 113**      **Newman, C.M., A. Lawrie, A.F. Briskin, D.C. Cumberland;** Ultrasound gene therapy: on the road from concept to reality. *Echocardiography*, 2001, 18(4): 339-347.
- 114**      **O'Connell, J., M.W. Bennett, G.C. O'Sullivan, J.K. Collins, F. Shanahan;** The Fas counterattack: cancer as a site of immune privilege. *Immunol. Today*, 1999, 20(1): 46-52.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 115 **Paglia, P., C. Chiodoni, M. Rodolfo, M.P. Colombo;** Murine dendritic cells loaded in vitro with soluble protein prime cytotoxic T lymphocytes against tumor antigen in vivo. *J. Exp. Med.*, 1996, 183(1): 317-322.
- 116 **Pakkanen, T.M., M. Laitinen, M. Hippelainen, M.O. Hiltunen, E. Alhava, S. Yla-Herttuala;** Periadventitial lacZ gene transfer to pig carotid arteries using a biodegradable collagen collar or a wrap of collagen sheet with adenoviruses and plasmid-liposome complexes. *J. Gene Med.*, 2000, 2(1): 52-60.
- 117 **Pardoll, D.M., S.L. Topalian;** The role of CD4+ T cell responses in antitumor immunity. *Curr. Opin. Immunol.*, 1998, 10: 588-594.
- 118 **Peplinski, G.R., K. Tsung, J.A. Norton;** Vaccinia virus for human gene therapy. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.*, 1998, 7(3): 575-588.
- 119 **Plank, C., B. Oberhauser, K. Mechtler, C. Koch, E. Wagner;** The influence of endosome-disruptive peptides on gene transfer using synthetic virus-like gene transfer systems. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269 (17): 12918-12924.
- 120 **Plumas, J., M.C. Jacob, L. Chaperot, J.P. Molens, J.J. Sotto, J.C. Bensa;** Tumor B cells from non-Hodgkin's lymphoma are resistant to CD95 (Fas/Apo-1)-mediated apoptosis. *Blood*, 1998, 91(8): 2875-2885.
- 121 **Porcelli, S.A., R.L. Modlin;** The CD1 system: antigen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids. *Annu. Rev. Immunol.*, 1999, 17: 297-329.
- 122 **Ribas, A., L.H. Butterfield, J.S. Economou;** Genetic immunotherapy for cancer. *Oncologist*, 2000, 5(2): 87-98.
- 123 **Rosenberg, S.A.;** A new era of cancer immunotherapy: converting theory to performance; *CA Cancer J. Clin.*, March/April 1999, 49(2): 70-73.
- 124 **Scherer, F., M. Anton, U. Schillinger, J. Henke, C. Bergemann, A. Krüger, B. Gänsbacher, C. Plank;** Magnetofection: enhancing and targeting gene delivery by magnetic force in vitro and in vivo. *Gene Ther.*, 2002, 9(2): 102-109.
- 125 **Scherer, F., U. Schillinger, U. Putz, A. Stemberger, C. Plank;** Nonviral vector loaded collagen sponges for sustained gene delivery in vitro and in vivo. *J. Gene Med.*, 2002, 4(6): 634-643.
- 126 **Schneeberger, A., C. Wagner, A. Zemann, P. Lührs, R. Kutil, M. Goos, G. Stingl, S.N. Wagner;** CpG Motifs are efficient adjuvants for DNA cancer vaccines. *J. Invest. Dermatol.*, 2004, 123: 371-379.
- 127 **Schoenberger, S.P., R.E. Toes, E.I. van der Voort, R. Offringa, C.J. Melief;** T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature*, 1998, 393 (6684): 480-483.
- 128 **Shi, W., C. Teschendorf, N. Muzyczka, D.W. Siemann;** Adeno-associated virus-mediated gene transfer of endostatin inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo. *Cancer Gene Ther.*, 2002, 9(6): 513-521.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 129 **Simeone, D.M., A. Cascarelli, C.D. Logsdon;** Adenoviral-mediated gene transfer of a constitutively active retinoblastoma gene inhibits human pancreatic tumor cell proliferation. *Surgery*, 1997, 122(2): 428-433.
- 130 **Simons, J.W., B. Mikhak, J.F. Chang, A.M. DeMarzo, M.A. Carducci, M. Lim, C.E. Weber, A.A. Baccala, M.A. Goemann, S.M. Clift, D.G. Ando, H.I. Levitsky, L.K. Cohen, M.G. Sanda, R.C. Mulligan, A.W. Partin, H.B. Carter, S. Piantadosi, F.F. Marshall, W.G. Nelson;** Induction of immunity to prostate cancer antigens: results of a clinical trial of vaccination with irradiated autologous prostate tumor cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor using ex vivo gene transfer. *Cancer Res.*, 1999, 59(20): 5160-5168.
- 131 **Smith, A.E.;** Viral vectors in gene therapy. *Annu. Rev. Microbiol.*, 1995, 49: 807-838.
- 132 **Smyth, M.J., D.I. Godfrey;** NKT cells and tumor immunity - a double-edged sword. *Nat. Immunol.*, 2000, 1(6): 459-460.
- 133 **Soiffer, R., T. Lynch, M. Mihm, K. Jung, C. Rhuda, J.C. Schmollinger, F.S. Hodi, L. Liebster, P. Lam, S. Mentzer, S. Singer, K.K. Tanabe, A.B. Cosimi, R. Duda, A. Sober, A. Bhan, J. Daley, D. Neuberger, G. Parry, J. Rokovich, L. Richards, J. Drayer, A. Berns, S. Clift, G. Dranoff, et al.;** Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1998, 95(22): 13141-13146.
- 134 **Somiari, S., J. Glasspool-Malone, J.J. Drabick, R.A. Gilbert, R. Heller, M.J. Jaroszeski, R.W. Malone;** Theory and in vivo application of electroporative gene delivery. *Mol. Ther.*, 2000, 2(3): 178-187.
- 135 **Steinman, R.M.;** The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9: 271-296.
- 136 **Stemberger, A., H. Grimm, F. Bader, H.D. Rahn, R. Ascherl;** Local treatment of bone and soft tissue infections with the collagen-gentamicin sponge. *Eur. J. Surg. Suppl.*, 1997, 578: 17-26.
- 137 **Sunderkotter, C., K. Steinbrink, M. Goebeler, R. Bhardwaj, C. Sorg;** Macrophages and angiogenesis. *J. Leukoc. Biol.*, 1994, 55(3): 410-422.
- 138 **Takahashi, K., D. Harauchi, S. Kimura, S. Saito, Y. Monden;** OK-432 develops CTL and LAK activity in mononuclear cells from regional lymph nodes of lung cancer patients. *Int. J. Immunopharmacol.*, 1998, 20(8): 375-388.
- 139 **Takahashi, T., M. Tanaka, J. Inazawa, T. Abe, T. Suda, S. Nagata;** Human Fas ligand: gene structure, chromosomal location and species specificity. *Int. Immunol.*, 1994, 6: 1567.
- 140 **Takebe, N., S.C. Zhao, D. Adhikari, S. Mineishi, M. Sadelain, J. Hilton, M. Colvin, D. Banerjee, J.R. Bertino;** Generation of dual resistance to 4 hydroperoxycyclophosphamide and methotrexate by retroviral transfer of the human aldehyde dehydrogenase class 1 gene and a mutated dihydrofolate reductase gene. *Mol. Ther.*, 2001, 3(1): 88-96.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 141 **Tizard, I.R.;** In Tizard, I.R., R.M. Schubot (Hrsg.); *Veterinary Immunology: An introduction*. Chapter 31, WB Saunders, Philadelphia, 2004, pp. 364-377.
- 142 **Toes, R.E., E.I. van der Voort, S.P. Schoenberger, J.W. Drijfhout, L. van Bloois, G. Storm, W.M. Kast, R. Offringa, C.J. Melief;** Enhancement of tumor outgrowth through CTL tolerization after peptide vaccination is avoided by peptide presentation on dendritic cells. *J. Immunol.*, 1998, 160(9): 4449-4456.
- 143 **Van Seventer, G.A., Y. Shimizu, S. Shaw;** Roles of multiple accessory molecules in T-cell activation. *Curr. Opin. Immunol.*, 1991; 3(3): 294-303.
- 144 **Vogel, J.C.;** Nonviral skin gene therapy. *Hum. Gene Ther.*, 2000, 11(16): 2253-2259.
- 145 **Wagner, E., K. Zatloukal, M. Cotten, H. Kirlappos, K. Mechtler, D.T. Curiel, M.L. Birnstiel;** Coupling of adenovirus to transferrin-polylysine/DNA complexes greatly enhances receptor-mediated gene delivery and expression of transfected genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, 89(13): 6099-6103.
- 146 **Walker, P.R., P. Saas, P.Y. Dietrich;** Tumor expression of Fas ligand (CD95L) and the consequences. *Curr. Opin. Immunol.* 1998, 10: 564.
- 147 **Walther, W., U. Stein;** Cell type specific and inducible promoters for vectors in gene therapy as an approach for cell targeting. *J. Mol. Med.*, 1996, 74(7): 379-392.
- 148 **Weiner, G.J., H.-M. Liu, J.E. Wooldridge, C.E. Dahle, A.M. Krieg;** Immunostimulatory oligodeoxynucleotides containing the CpG motif are effective as immune adjuvants in tumor antigen immunization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1997, 94(20): 10833-10837.
- 149 **Wergin, M.C., B. Kaser-Hotz;** Plasma vascular endothelial growth factor (VEGF) measured in seventy dogs with spontaneous occurring tumours. *In Vivo*, Jan.-Feb. 2004, 18(1): 15-19.
- 150 **Wiemann, B., C.O. Starnes;** Coley's toxins, tumor necrosis factor and cancer research: a historical perspective. *Pharmacol. Ther.*, 1994, 64(3): 529-564.
- 151 **Wolfert, M.A., E.H. Schacht, V. Toncheva, K. Ulbrich, O. Nazarova, L.W. Seymour;** Characterization of vectors for gene therapy formed by self-assembly of DNA with synthetic block co-polymers. *Hum. Gene Ther.*, 1996, 7(17): 2123-2133.
- 152 **Wolff, J.A., R.W. Malone, P. Williams, W. Chong, G. Acsadi, A. Jani, P.L. Felgner;** Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science*, 1990, 247(4949 Pt 1): 1465-1468.
- 153 **Wu, G.Y., C.H. Wu;** Receptor-mediated gene delivery and expression in vivo. *J. Biol. Chem.*, 1988, 263(29): 14621-14624.
- 154 **Xu, Y., F.C. Szoka, Jr.;** Mechanism of DNA release from cationic liposome/DNA complexes used in cell transfection. *Biochemistry*, 1996, 35(18): 5616-5623.

## Quellenverzeichnis

### Grundlagen der Immuntherapie

---

- 155** Yamaguchi, Y., A. Ohshita, Y. Kawabuchi, K. Ohta, K. Shimizu, K. Minami, J. Hihara, E. Miyahara, T. Toge; Adoptive immunotherapy of cancer using activated autologous lymphocytes - current status and new strategies. *Hum. Cell*, 2003, 16(4): 183-189.
- 156** Yang, N.S., J. Burkholder, B. Roberts, B. Martinell, D. McCabe; In vivo and in vitro gene transfer to mammalian somatic cells by particle bombardment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1990, 87(24): 9568-9572.
- 157** Yang, J.P., L. Huang; Direct gene transfer to mouse melanoma by intratumor injection of free DNA. *Gene Ther.*, 1996, 3(6): 542-548.
- 158** Yang, Y., J.M. Wilson; Clearance of adenovirus-infected hepatocytes by MHC class I-restricted CD4+ CTLs in vivo. *J. Immunol.*, 1995, 155(5): 2564-2570.
- 159** Yasumura, S., W.C. Lin, H. Hirabayashi, N.L. Vujanovic, R.B. Herberman, T.L. Whiteside; Immunotherapy of liver metastases of human gastric carcinoma with interleukin 2-activated natural killer cells. *Cancer Res.*, 1994, 54(14): 3808-3816.
- 160** Yazawa, K., W.E. Fisher, F.C. Brunnicardi; Current progress in suicide gene therapy for cancer. *World J. Surg.*, 2002, 26(7): 783-789.
- 161** Zabner, J., A.J. Fasbender, T. Moninger, K.A. Poellinger, M.J. Welsh; Cellular and molecular barriers to gene transfer by a cationic lipid. *J. Biol. Chem.*, 1995, 270(32): 18997-19007.
- 162** Zaiss, A.K., Q. Liu, G.P. Bowen, N.C. Wong, J.S. Bartlett, D.A. Muruve; Differential activation of innate immune responses by adenovirus and adenoassociated virus vectors. *J. Virol.*, 2002, 76(9): 4580-4590.
- 163** Zhang, L., A. Khayat, H. Cheng, D.T. Graves; The pattern of monocyte recruitment in tumors is modulated by MCP-1 expression and influences the rate of tumor growth. *Lab. Invest.*, 1997, 76(4): 579-590.

## **5. Kanon zur Beurteilung klinischer Studien**

Ziel der klinischen Forschung ist die Entwicklung einer verbesserten Methode der Diagnostik und der Behandlung von Krankheiten.

Eine klinische Forschungsstudie hat die Aufgabe eine neu entwickelte Methode zu erproben und ihre Effektivität zu bewerten. Dies erfordert eine sorgfältige Planung, eine ordnungsgemäße Durchführung, eine gewissenhafte Dokumentation sowie die Rechtfertigung von Vorteil und Nutzen der zu testenden Methode (2). Die genaue Protokollführung (anhand einheitlicher Protokoll-Vordrucke) ist ein wichtiger Bestandteil jeder klinischen Studie. Eine tierärztliche Protokollierung hat nach jeder Untersuchung zu erfolgen (4).

Einen Leitfaden hierfür stellt die Organisation „*The European Agency for the Evaluation of Medical Products - Veterinary Medicines and Information Technology Unit*“. Es handelt sich hierbei um ein trilaterales Programm (EU-Japan-USA), das u. a. eine Richtlinie über die Grundsätze der sog. „*good clinical practice*“ (GCP) stellt (CVMP/VICH/595/98-FINAL; London, 4 July 2000; VICH Topic GL9 (GCP); Internetadresse: [www.vich.eudra.org](http://www.vich.eudra.org)).

Ein neuartiges Behandlungsverfahren erfordert, dass eine Studie Antworten zu folgenden Punkten findet:

- 1) Wirksamkeit, Dosierung, Verträglichkeit und Unbedenklichkeit;
- 2) Nebenwirkungen (z. B. lokale Reaktionen, Reaktionen des Gesamtorganismus, allergische Reaktionen).

Das Erfassen und Bewerten von Nebenwirkungen mit Hilfe der CTC-Tabelle (*Common Toxicity Criteria*) des „National Cancer Institute“ ist in der Humanmedizin mittlerweile ein wissenschaftliches Standardverfahren. Auch in der Tiermedizin ist ein solches Standardverfahren verfügbar (VCOG-CTCAE; „*veterinary co-operative oncology group – common terminology criteria for adverse events*“) (3). Die Auswertung sollte anhand standardisierter Vergleichsparameter (z. B. Hämatologie, Serologie) erfolgen (4).

## Schrifttum

### Kanon zur Beurteilung klinischer Studien

---

Nicht jedes Studienergebnis ist eine zuverlässige Entscheidungsgrundlage, da das Ergebnis das Resultat einer vorher festgelegten Studienmethode ist. Daher ist die wissenschaftliche Beschreibung der Vorgehensweise zur Beurteilung und Bewertung der Studie ausschlaggebend.

Eine Studie sollte demnach folgenden wissenschaftlichen Kriterien gerecht werden:

- 1) auf statistischer Basis getroffene Fallzahlfestlegung in der Planungsphase;
- 2) Definition geeigneter Zielkriterien;
- 3) statistische Modellbildung und Hypothesenformulierung;
- 4) Planung und Durchführung der Randomisierung (inkl. Beschreibung von Material und Methoden);
- 5) Strategien für Zwischenauswertungen;
- 6) Endauswertungen (der gesamten Materialmenge).

Es sollte darauf geachtet werden, dass eine Phase-II-Studie in Form einer „Doppelblind-Studie“ durchgeführt wird. Involviertes Personal (und Tierbesitzer) „erwarten“ je nach Behandlungsmodus (Therapiegruppe, Kontrollgruppe) einen bestimmten Studienverlauf. Die jeweilige Erwartung kann die Objektivität des Betrachters hinsichtlich seiner Beurteilung und Bewertung hochgradig beeinflussen (1).

Des Weiteren sollten zu Beginn der Studie gleichwertige Gruppen gebildet werden (z. B. vorbehandelte Tiere, Prognose). In tiermedizinischen Studien kann eine Ausgewogenheit der Gruppen aufgrund der oft zu geringen Teilnehmerzahlen meist nicht hergestellt werden. Diese Tatsache beeinflusst die Aussagekraft der Ergebnisse erheblich, da ein direkter Vergleich der Ergebnisse, aufgrund der unterschiedlichen Ausgangssituationen, nur bedingt möglich ist (1).

Eine Studie sollte „anwendungsorientiert“ (d. h. das Verfahren sollte in der Praxis reproduzierbar sein) sein und wissenschaftliche Ergebnisse liefern, auf die sich die tierärztliche Praxis stützen kann (1, 2).

## Schrifttum

### Kanon zur Beurteilung klinischer Studien

---

Statistische Auswertungsverfahren sind notwendig, damit eine intuitive Abgrenzung zwischen Zufallseffekt und echtem Therapieeffekt bei der Beurteilung des Ergebnisses einer klinischen Studie ausgeschlossen wird (1, 2). Die Ausgangsfrage kann nur durch statistische Auswertungsverfahren mit quantitativ vorgegebener Sicherheit bzw. Zuverlässigkeit beantwortet werden. Basis einer zuverlässigen Studie sollte das sog. „VICH“ (siehe oben) sein. Die im Anschluss angeführten Studien werden nach dem genannten Kanon beurteilt.

# Quellenverzeichnis

## Kanon zur Beurteilung klinischer Studien

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Polzin, D.J., E. Lund, P. Walter, J. Klausner; In: Bonagura, J.D. (Hrsg.);** Kirk's current veterinary therapy XIII small animal practice. WB Saunders, Philadelphia, 2000, pp. 2-8.
- 2 **Universität Rostock - Institut für Medizinische Informatik und Biometrie;** Kooperative Planung, Durchführung und Auswertung klinischer Studien. [www.imib.med.uni-rostock.de](http://www.imib.med.uni-rostock.de) (Fassung 30.11.2005).
- 3 **Veterinary Co-Operative Oncology Group;** Veterinary co-operative oncology group – common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.0. Vet. Compar. Oncol., 2004, 2: 194-213.
- 4 **Wieland S.;** Klinische Phase I-Studie zur genterapeutischen Immunstimulation durch Interleukin-2 und Interferon gamma als adjuvante Behandlung des feline Fibrosarkoms. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.

## **B Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind**

Im Folgenden soll ein Überblick über Therapieansätze gegen solide Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind gegeben werden. Obgleich es sich beim malignen Lymphom des Hundes nicht um einen soliden Tumor handelt, wird dieser Tumortyp genannt, da er in der tierärztlichen Kleintierpraxis sehr häufig vorkommt.

### **6. Ein Gesamtüberblick der Tumoren, an welchen ein immuntherapeutischer Ansatz angewandt wurde**

#### **Hund:**

**Tab. 2: Therapieansätze bei soliden Tumoren des Hundes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes Melanom</b>	Vero-IL-2-Zellen;	66, 67
	rhTNF und rhIL-2;	60
	L-SEB/cIL-2 (oder GM-CSF);	17, 35
	C. parvum;	55, 48
	L-MTP-PE (plus GM-CSF);	54
	Piroxicam/Cisplatin;	6
	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF;	29
	humane oder murine Tyrosinase,	
	murine Tyrosinase in Kombination mit hGM-CSF;	4
	humanes gp100;	21, 1
	hgp100-ATCV;	1
	FasL;	5
VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium	81	

**Schrifttum**  
**Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	rhTNF und rhIL-2; Piroxicam (plus Cisplatin)	60 45, 71, 6
<b>maligner Nervenscheidentumor</b>	L-SEA/cIL-2	80
<b>anaplastisches/ undifferenziertes Sarkom</b>	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium); L-SEA/cIL-2	81 80
<b>Osteosarkom</b>	IL-2 kodierende LDC-Infusion; hIL-2-Liposom-Inhalation; L-MTP-PE (plus Amputation der Gliedmaße und Cisplatin); BCG; TALL-104-Zellen; VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium); Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	16 37 53, 48, 42, 52, 47, 83 63 86 81 12
<b>Hämangiosarkom der Milz</b>	L-MTP-PE (plus Splenektomie und Chemotherapie); Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	7, 52, 84, 83 12
<b>Hämangioperizytom</b>	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium)	81
<b>Rhabdomyosarkom</b>	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium)	81
<b>Myxosarkom</b>	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium)	81
<b>Mastzelltumor</b>	rhTNF und rhIL-2	60
<b>Sticker-Sarkom</b>	IL-2; Piroxicam; BCG	13 45 25

**Schrifttum**  
**Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>Fibrosarkom</b>	L-SEA/cIL-2;	80
	hIL-2-Liposom-Inhalation;	37
	Acemannan;	38
	C. parvum, bakterielle Mischvakzine, alleine oder in Kombination mit einer Chemotherapie;	48
	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF;	12
	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium)	81
<b>Übergangsepithelkarzinom der Harnblase</b>	Piroxicam;	45, 46
	Piroxicam/Cisplatin;	44
	Piroxicam/Mitoxantron	24, 58, 65
<b>maligner Mammatumor</b>	rhTNF und rhIL-2;	60
	L-MTP-PE;	79
	BCG, C. parvum, Levamisol,	64, 49, 48,
	PIND-ORF;	70, 2
	Tumorzell-Vakzine plus Neuraminidase	73
<b>Adenokarzinom des Magens</b>	Ad.CAGHSV-TK/GCV	56
<b>Lungentumor (plus Metastasen)</b>	hIL-2-Liposom-Inhalation;	37
	TALL-104-Zellen	10
<b>Synovialzellsarkom</b>	rhTNF und rhIL-2	60
<b>diverse Karzinome (siehe 13.1.2)</b>	VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium)	81

## Schrifttum

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>(malignes Lymphom</b>	rhTNF und rhIL-2;	60
	bakterielle Mischvakzine, Levamisol;	51, 48
	Piroxicam/Doxorubicin;	61
	Tumorzell-Vakzine (plus Chemotherapie);	32, 33
	chimärer mAK 231;	31
	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	81)

**Legende:**

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhTNF = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; L-SEA = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-A; L-SEB = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-B; hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin; BCG = Bazillus Calmette-Guérin; FasL = Fas ligand; chimärer mAK 231 = chimärer monoklonaler Antikörper 231; hgp100-ATCV = allogene Tumorzell-Vakzine, welche xenogenes gp100 exprimiert und ein Adenovirus als Vektor dient; AdCAGHSV-TK/GCV = Komposition aus einem adenoviralen Vektor, welcher das HSV-TK-Gen trägt und einem CAG-Promotor; *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*; *S. typhimurium* = *Salmonella typhimurium*; ( ) = kein solider Tumortyp

**Katze:**

**Tab. 3: Therapieansätze bei soliden Tumoren der Katze**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>Fibrosarkom</b>	Vero-hIL-2-Zellen; ALVAC-felL-2; NYVAC-huIL-2; AdV-hIL-2 und AdV-felFN-γ; felL-2, felFN-γ und feGM-CSF (mittels Plasmid-KS oder Plasmid-Inj.); feGM-CSF (mittels Plasmid-Inj.); Acemannan	66 34 82, 8, 88, 87 36, 72, siehe 7.2.2 siehe 7.2.2 38
<b>Mamma-Adenokarzinom</b>	L-MTP-PE (Stadium-II vs. Stadium-III); BCG, Levamisol, <i>C. parvum</i> , bakterielle Mischvakzine	20 50, 57

**Legende:**

hIL-2 = humanes Interleukin-2; felL-2 = felines Interleukin-2; felFN-γ = felines Interferon-γ;  
 feGM-CSF = feliner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor;  
 AdV = adenoviraler Vektor; ALVAC-felL-2 = für felines Interleukin-2 kodierendes rekombinantes Kanariepoxvirus; NYVAC-huIL-2 = für humanes IL-2 kodierendes rekombinantes Vacciniavirus;  
 KS = Kollagenschwamm; Inj. = Injektion; LPS = Lipopolysaccharid; L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid Phosphatidylethanolamin; BCG = Bazillus Calmette-Guérin;  
*C. parvum* = *Corynebacterium parvum*

## Schrifttum

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

#### **Pferd:**

**Tab. 4: Therapieansätze bei soliden Tumoren des Pferdes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes Melanom</b>	IL-12;	23
	IL-12 plus IL-18;	18
	Cimetidin	20
<b>mukokutanes Plattenepithelkarzinom</b>	Piroxicam	59
<b>Myxom</b>	Levamisol	30
<b>equines Sarkoid</b>	IL-2/Cisplatin;	74
	D609, KC <sub>12</sub> und rhTNF- $\alpha$ ;	62
	BCG (Lebendvaccine, inaktiviert, Zellwandfraktion);	40, 85
	Baypamun P;	78
	Bio-Immuntherapie plus autogene Tumorzell-Vaccine	22

*Legende:*

IL-12 = Interleukin-12; IL-18 = Interleukin-18; IL-2 = Interleukin-2;  
D609 = Tricyclodecan-9-yl-xanthogenate; KC<sub>12</sub> = Kalisalz der Laurinsäure;  
rhTNF- $\alpha$  = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; BCG = Bazillus Calmette-Guérin

## Schrifttum

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

#### Rind:

**Tab. 5: Therapieansätze bei soliden Tumoren des Rindes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>okuläres Plattenepithelkarzinom</b>	rhIL-2; rhIL-2/rhIL-12; BCG-Lebendvakzine; BCG-Zellwand-Vakzine; autologe saline Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine; allogene saline Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine	68, 14, 15 77 41, 69 43, 41, 69 75 28
<b>Vulva-Papillom- Karzinom-Komplex</b>	rhIL-2; BCG-Lebendvakzine	26 27
<b>kutane Papillomatose</b>	autologe saline Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine	76, 9, 39
<b>Hornkrebs (Plattenepithelkarzinom)</b>	autologe saline Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine (plus BCG)	11

*Legende:*

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhIL-12 = rekombinantes humanes Interleukin-12; BCG = Bazillus Calmette-Guérin

# Quellenverzeichnis

## Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Alexander, A.N., M.K. Huelsmeyer, A. Mitzey, R.R. Dubielzig, I.D. Kurzman, E.G. MacEwen, D.M. Vail;** Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2006, 55: 433-442.
- 2 **Berg, G.;** Der Einsatz von Baypamun HK in der Mammatumorbehandlung der Hündin. *Vet. Med. Diss.*, München, 1994.
- 3 **Bergman, P.J., M.A. Camps-Palau, J.A. McKnight, N.F. Leibman, D.M. Craft, C. Leung, J. Liao, I. Riviere, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, P. Gregor, A.N. Houghton, M.A. Perales, J.D. Wolchok;** Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, May 2006, 24(21): 4582-4585.
- 4 **Bergman, P.J., J. McKnight, A. Novosad, S. Charney, J. Farrelly, D. Craft, M. Wulderk, Y. Jeffers, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, N. Segal, P. Gregor, M. Engelhorn, I. Riviere, A.N. Houghton, J.D. Wolchok;** Long-Term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with Xenogeneic Human Tyrosinase: A phase I trial. *Clin. Cancer Res.*, April 2003, 9: 1284-1290.
- 5 **Bianco, S.R., J. Sun, S.P. Fosmire, K. Hance, M.L. Padilla, M.G. Ritt, D.M. Getzy, R.C. Duke, S.J. Withrow, S. Lana, D.T. Matthiesen, D.T. Dow, D. Bellgrau, G.R. Cutter, S.C. Helfand, J.F. Modiano;** Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10: 726-736.
- 6 **Boria, P.A., D.J. Murry, P.F. Bennett, N.W. Glickman, P.W. Snyder, B.L. Merkel, D.L. Schlittler, A.J. Mutsaers, R.M. Thomas, D.W. Knapp;** Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 2004, 224(3): 388-394.
- 7 **Brown, N.O., A.K. Patnaik, E.G. MacEwen;** Canine hemangiosarcoma: Retrospective analysis of 104 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 186: 56-58.
- 8 **Buscher, U., T. Brill, W. Erhardt, J. Hirschberger;** Gentherapie in der Kleintiermedizin. *Tierärztl. Prax.*, 1999, 27(K): 288-290.
- 9 **Campo, M.S., G.J. Grindlay, B.W. O'Neil, L.M. Chandrachud, G.M. McGarvie, W.F.H. Jarrett;** Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus. *J. Gen Virol.*, June 1993, 74(9): 945-953.
- 10 **Cesano, A., S. Visonneau, K.A. Jeglum, J. Owen, K. Wilkinson, K. Carner, L. Reese, D. Santoli;** Phase I clinical trial with a human major histocompatibility complex nonrestricted cytotoxic T-cell line (TALL-104) in dogs with advanced tumors. *Cancer Res.*, July 1996, 56(13): 3021-3029.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 11 **Chauhan, H.V.S., D.S. Kalra, S.K. Mahajan;** letters to the editor: studies on horn cancer preliminary trials of immunotherapy. *Aust. Vet. J.*, Oct. 1980, 56: 509-510.
- 12 **Chauvet, A.E., G.S. Hogge, J.A. Sandin, D. Lipsitz;** Vertebrectomy, bone allograft fusion, and antitumor vaccination for the treatment of vertebral fibrosarcoma in a dog. *Vet. Surg.*, 1999, 28: 480-488.
- 13 **Den Otter, W., J. Cadée, R. Gavhumende, C.J. De Groot, W.E. Hennink, R. Stewart;** Effective cancer therapy with a single injection of interleukin-2 at the site of the tumour. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1999, 48: 419-420.
- 14 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, V.P.M.G. Rutten, E.J. Ruitenber;** Low doses of interleukin-2 can cure large bovine ocular squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.*, Nov.-Dec. 1993, 13(6B):2453-2455.
- 15 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, C. Rhode, R. Stewart, J.A.J. Faber, E.J. Ruitenber, V.P.M.G. Rutten;** Therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma with local doses of interleukin-2: 67 % complete regression after 20 month of follow-up. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1995, 41(1):10-14.
- 16 **Dow, S.W., R.E. Elmslie, I. Kurzman, G. MacEwen, F. Pericle, D. Liggitt;** Phase I study of liposome DNA complexes encoding the interleukin 2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. *Hum. Gene Ther.*, Aug. 2005, 16: 110.
- 17 **Dow, S.W., R.E. Elmslie, A.P. Willson, L. Roche, C. Gorman, T.A. Potter;** *In vivo* tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. *J. Clin. Invest.*, June 1998, 101, (11): 2406-2414.
- 18 **Feige, K., P. Stähli, C. Schelling, L. Heinzerling, M. Seltenhammer, J.-M. Müller, L. Nicolson;** Einsatz von Interleukin-12 und Interleukin-18 kodierender Plasmid DNA zur Therapie von Melanomen beim Schimmel. *Pferdeheilkunde Forum 2005 Berliner Fortbildungstage* (16.-19. Juni 2005).
- 19 **Fox, L.E., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, D.M. Vail, W. Kisseberth, C. London, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., K.A. Jeglum, M. Rosenberg, R.C. Rosenthal;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine for the treatment of feline mammary adenocarcinoma - a multcenter randomized double-blind study. *Cancer Biother.*, 1995, 10(2): 125-130.
- 20 **Goetz, T.E., G.K. Oglivie, K.G. Keegan, P.J. Johnson;** Cimetidine for treatment of melanomas in three horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 1990, 196(3): 449-452.
- 21 **Gyorffy, S., J.C. Rodriguez-Lecompte, J.P. Woods, R. Foley, S. Kruth, P.C.Y. Liaw, J. Gauldie;** Bone marrow-derived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 Antigen. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005, 19: 56-63.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 22        **Hallamaa, R.E., E. Saario, T. Tallberg;** Macroscopical and histopathological changes in regressing and recurrent equine sarcoids during active specific bio-immunotherapy. *In Vivo*, July-Aug. 2005, 19(4): 761-767.
- 23        **Heinzerling, L.M., K. Feige, S. Rieder, M.K. Akens, R. Dummer, G. Stranzinger, K. Moelling;** Tumor regression induced by intratumoral injection of DNA coding for human interleukin 12 into melanoma metastases in gray horses. *J. Mol. Med.*, 2001, 78(12): 692-702.
- 24        **Henry, C.J., D.L. McCaw, S.E. Turnquist, J.W. Tyler, L. Bravo, S. Sheafor, R.C. Straw, W.S. Dernell, B.R. Madewell, L. Jorgensen, M.A. Scott, M.L. Higginbotham, R. Chun;** Clinical evaluation of mitoxantron and piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder carcinoma. *Clinical Cancer Res.*, Feb. 2003, 9: 906-911.
- 25        **Hess, A.D., R. Catchatourian, A.R. Zander, R.B. Ebstein;** Intralesional *Bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy of canine venereal tumors. *Cancer Res.*, Nov. 1977, 37: 3990-3994.
- 26        **Hill, F.W.G, W.R. Klein, M.J. Hoyer, V.P.M.G. Rutten, N. Kock, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenberg, W. Den Otter;** Antitumor effect of locally injected low doses of recombinant human interleukin-2 in bovine vulval papilloma and carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.* May 1994, 41(1-2):19-29.
- 27        **Hill, F.W., V.P.M.G. Rutten, M.H. Hoyer, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenberg;** Local bacillus Calmette-Guerin therapy for bovine vulval papilloma and carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1994, 39(1): 49-52.
- 28        **Hoffmann, D.;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas with phenol-saline extracts of allogeneic carcinomas. *Aust. Vet. J.*, April 1981, 57: 159-162.
- 29        **Hogge, G.S., J.K. Burkholder, J. Culp, M.R. Albertini, R.R. Dubielzig, E.T. Keller, N.S. Yang, E.G. MacEwen;** Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum. Gene Ther.*, Sept. 1998, 9(13): 1851-1861.
- 30        **House, P.D., R.K. Farrell, B.D. Grant, B.C. Ward;** Cryogenic and immunotherapeutic treatment of myxoma in the horse. *Can. Vet. J.*, Aug. 1976, 17(8): 216-219.
- 31        **Jeglum, K.A.;** Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, Jan. 1996, 26(1): 73-85.
- 32        **Jeglum, K.A., Young K.M., K. Barnsley, B.A. Whereat;** Chemotherapy versus chemotherapy with intralymphatic tumor cell vaccine in canine lymphoma. *Cancer*, 1988, 61: 2042-2050.
- 33        **Jeglum, K.A., W.D. Winters, Young K.M.;** In vitro immune monitoring of antibody response in dogs given chemoimmunotherapy for lymphoma. *Am. J. Vet. Res.*, April 1989, 50(4): 488-492.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 34 **Jourdir, T.-M., C. Moste, M.-C. Bonnet, F. Delisle, J.-P. Tafani, P. Devauchelle, J. Tartaglia, P. Moingeon;** Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Ther.*, 2003, 10: 2126-2132.
- 35 **Kamstock, D., A. Guth, R. Elmslie, I. Kurzman, D. Liggitt, L. Coro, J. Fairman, S. Dow;** Liposome-DNA complexes infused intravenously inhibit tumor angiogenesis and elicit antitumor activity in dogs with soft tissue sarcoma. *Cancer Gene Ther.*, March 2006, 13(3): 306-317.
- 36 **Kempf, C.;** Nonviraler Gentransfer der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze - eine klinische Phase I-Studie. *Vet. Med. Diss.*; Ludwig-Maximilians-Universität München; 2005.
- 37 **Khanna, C., P.M. Anderson, D.E. Hasz, E. Katsanis, M. Neville, J.S. Klausner;** Interleukin-2 liposome inhalation therapy is safe and effective for dogs with spontaneous pulmonary metastases. *Cancer*, April 1997, 79(7): 1409-1421.
- 38 **King, G.K., K.M. Yates, P.G. Greenlee, K.R. Pierce, C.R. Ford, B.H. McAnalley, I.R. Tizard;** The effect of Acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcoma; *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, Sept./Oct. 1995, 31: 439-447.
- 39 **Kirnbauer, R., L.M. Chandrachud, B.W. O'Neil, E.R. Wagner, G.J. Grindlay, A. Armstrong, G.M. McGarvie, J.T. Schiller, D.R. Lowy, M.S. Campo;** Virus-like particles of bovine papillomavirus Type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. *Virology*, 1996, 219: 37-44.
- 40 **Klein, W.R., G.E. Bras, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. de Jong, R.H. Tiesjema, A.W. Kersjes, E.J. Ruitenber;** Equine sarcoid: BCG immunotherapy compared to cryosurgery in a prospective randomised clinical trial. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 21(2): 133-140.
- 41 **Klein, W.R., P.A. Steerenberg, F. Poelma, E. v.d. Wiel, V.P.M.G. Rutten, W. Misdorp, W.H. de Jong, E.J. Ruitenber;** Immune reactivity in cattle with ocular squamous cell carcinoma after intralesional BCG immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 22(2): 87-94.
- 42 **Kleinerman, E.S., A.K. Raymond, C.D. Bucana, N. Jaffe, M.B. Harris, I.H. Krakoff, R. Benjamin, I.J. Fidler;** Unique histological changes in lung metastases of osteosarcoma patients following therapy with liposomal muramyl tripeptide (CPG 19835 A lipid). *Cancer Immunol. Immunother.*, 1992, 34: 211-220.
- 43 **Kleinschuster, S.J., J. Bier, H.J. Rapp, R.A. Smart, K.R. Van Kampen, J.L. Walters;** Intratumoral BCG cell wall preparation therapy and surgery in bovine ocular carcinoma. *Head Neck Surg.*, May-June 1983, 5(5): 401-409.
- 44 **Knapp, D.W., N.W. Glickman, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, L.G. Adams, T. Kuczek, P.L. Bonney, A.E. DeGortari, C. Han, L.T. Glickman;** Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2000, 46(3): 221-226.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 45 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, G.D. Bottoms, R. Teclaw, T.C. Chan;** Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1992, 29(3): 214-218.
- 46 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, T.C.K. Chan, G.D. Bottoms, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, R. Teclaw, P.L. Bonney, T. Kuczek;** Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, 8(4): 273-278.
- 47 **Kurzman, I.D., E.G. MacEwen, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, S.C. Helfand, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Obradovich, J. Fidel, M. Rosenberg;** Adjuvant therapy for osteosarcoma in dogs: results of randomized clinical trials using combined liposome-encapsulated muramyl tripeptide and cisplatin. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1995, 1(12): 1595-1601.
- 48 **MacEwen, E.G.;** Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer and Metastasis Reviews*, 1990, 9: 125-136.
- 49 **MacEwen, E.G., H.J. Harvey, A.K. Patnaik, S. Mooney, A. Hayes, I. Kurzman, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 418-426.
- 50 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, H.J. Harvey, S. Passe, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effect of levamisole on feline mammary cancer. *J. Biol. Response Modif.*, Oct. 1984, 3(5): 541-546.
- 51 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, I.D. Kurzman;** Levamisole as adjuvant to chemotherapy for canine lymphosarcoma. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 427-433.
- 52 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, S. Helfand, D. Vail, C. London, W. Kisseberth, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, J. Obradovich, B. Madewell, C. Rodriguez, B. Kitchell, J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Current studies of liposome muramyl tripeptide (CGP 19835A lipid) therapy for metastasis in spontaneous tumors: a progress review. *J. Drug Target.*, 1994, 2(5): 391-396.
- 53 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, R.C. Rosenthal, B.W. Smith, P.A. Manley, J.K. Roush, P.E. Howard;** Therapy for osteosarcoma in dogs with intravenous injection of liposome-encapsulated muramyl tripeptide. *J. Natl. Cancer Inst.*, June 1989, 81(12): 935-938.
- 54 **MacEwen, E. G., I.D. Kurzman, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, K. Everlith, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., B. Phillips, C.H. Zwahlen, J. Obradovich, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, M. Rosenberg, C. Henry, J. Fidel;** Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1999, 5: 4249-4258,
- 55 **MacEwen, E.G., A.K. Patnaik, H.J. Harvey, A.A. Hayes, R. Matus;** Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.*, 1986, 4(5):397-402.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 56 **Matsukura, N., A. Hoshino, T. Igarashi, H. Hasegawa, T. Okino, M. Onda, O. Iijima, K. Akiyama, T. Goto, K. Takubo, S. Suzuki, T. Shimada;** *In situ* gene transfer and suicide gene therapy of gastric cancer induced by N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in dogs. *Jpn. J. Cancer Res.*, Sept. 1999, 90: 1039-1049.
- 57 **Misdorp, W.;** Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumor types in dogs and cats. *Vet. Q.*, July 1987, 9(3): 279-286.
- 58 **Mohammed, S.I., B.A. Craig, A.J. Mutsaers, N.W. Glickman, P.W. Snyder, A.E. deGortari, D.L. Schlittler, K.T. Coffman, P.L. Bonney, D.W. Knapp;** Effects of the cyclooxygenase inhibitor, Piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Mol. Cancer Ther.*, Feb. 2003, 2: 183-188.
- 59 **Moore, A.S., S.L. Beam, K.M. Rassnick, P. Provost;** Long-term control of mucocutaneous squamous cell carcinoma and metastases in a horse using piroxicam. *Equine Vet. J.*, 2003, 35(7): 715-718.
- 60 **Moore, A.S., G.T. Theilen, A.D. Newell, B.R. Madewell, A.R. Rudolf;** Preclinical study of sequential tumor necrosis factor and interleukin 2 in the treatment of spontaneous canine neoplasms. *Cancer Res.*, Jan. 1991, 51: 233-238.
- 61 **Mutsaers, A.J., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, W.R. Widmer, R.L. Bonney, K.A. Hahn, D.W. Knapp;** Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2002, 220(12): 1813-1817.
- 62 **Otten, N., E. Marti, C. Soderstrom, E. Amtmann, D. Burger, H. Gerber, S. Lazary;** Experimental treatment of equine sarcoid using a xanthate compound and recombinant human tumour necrosis factor alpha. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, Dec. 1994; 41(10): 757-765.
- 63 **Owen, L.N., D.E. Bostock;** Effects of intravenous BCG in normal dogs and in dogs with spontaneous osteosarcoma. *Eur. J. Cancer*, 1974, 10: 775.
- 64 **Parodi, A.L., W. Misdorp, J.P. Mialot, M. Mialot, A.A.M. Hart, M. Hurtrel, J.C. Salomon;** Intratumoral BCG and *Corynebacterium parvum* therapy of canine mammary tumors before radical mastectomy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1983, 15(3):172-177.
- 65 **Poirier, V.J., L.J. Forrest, W.M. Adams, D.M. Vail;** Piroxicam, mitoxantron, and coarse fraction radiotherapy for the treatment of transitional cell carcinoma of the bladder in 10 dogs: a pilot study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, March-April 2004, 40(2): 131-136.
- 66 **Quintin-Colonna, F., P. Devauchelle, D. Fradelizi, B. Mourot, T. Faure, P. Kourilsky, C. Roth, M. Mehtali;** Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Ther.*, Dec. 1996, 3(12): 1104-1112.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 67 **Rochlitz, C., P. Jantscheff, G. Bongartz, P.-Y. Dietrich, A.L. Quiquerez, C. Schatz, M. Mehtali, M. Courtney, E. Tartour, T. Dorval, W.H. Fridman, R. Herrmann;** Gene therapy study of cytokine-transfected xenogeneic cells (Vero-interleukin-2) in patients with metastatic solid tumors. *Cancer Gene Ther.*, 1999, 6(3): 271-281.
- 68 **Rutten, V.P., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, W. Den Otter, P.A. Steerenberg, W.A.C. De Jong, E.J. Ruitenber;** Local interleukin-2 therapy in bovine ocular squamous cell carcinoma. A pilot study. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1989, 30(3):165-169.
- 69 **Rutten, V.P.M.G., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. De Jong, W. Den Otter, E.J. Ruitenber;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma by repeated intralesional injections of live bacillus Calmette-Guerin (BCG) or BCG cell walls. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1991, 34(3): 186-190.
- 70 **Rutten, V.P., W. Misdorp, A. Gauthier, M. Estrada, J.P. Mialot, A.L. Parodi, G.R. Rutteman, K. Weyer;** Immunological aspects of mammary tumors in dogs and cats: a survey including own studies and pertinent literature. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Nov. 1990, 26(3): 211-225.
- 71 **Schmidt, B.R., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, A.E. de Gortari, D.W. Knapp;** Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2001, 218(11): 1783-1786.
- 72 **Schwarz, B.;** Klonieren der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF zum adjuvanten nonviralen, gentherapeutischen Einsatz beim Fibrosarkom der Katze. *Vet. Med. Diss.*; Ludwig-Maximilians-Universität München; 2005.
- 73 **Sedlacek, H.H., G. Hagemeyer, F.R. Seiler;** Tumor therapy of neoplastic diseases with tumor cells and neuraminidases. Further experimental studies on chessboard vaccination in canine mammary tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 23(3): 192-199.
- 74 **Spoormakers, T.J., W.R. Klein, J.J.L. Jacobs, Th.S.G.A.M. Van Den Ingh, J.W. Koten, W. Den Otter;** Comparison of the efficacy of local treatment of equine sarcoids with IL-2 or cisplatin/IL-2. *Cancer Immunol. Immunther.*, March 2003, 52(3):179-184.
- 75 **Spradbrow, P.B., B.E. Wilson, D. Hoffmann, W.R. Kelly, J. Francis;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas. *Vet. Rec.*, April 1977, 100: 376-378.
- 76 **Ssenyonga, G.S.Z., J.S. Onapito, J. Nakasala-Situma, A.L. Omara-Opyene;** Therapeutic value of partial excision of lesions combined with administration of an autogenous vaccine during an episode of cutaneous papillomatosis in cattle of Uganda. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Sept. 1990, 197(6): 739-740.
- 77 **Stewart, R.J.E., A. Masztalerz, J.J.L. Jacobs, W. Den Otter;** Local interleukin-2 and interleukin-12 therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, July 2005, 106(3-4): 277-284.

## Quellenverzeichnis

### Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind

---

- 78        **Studer, U., E. Marti, D. Stornetta, S. Lazary, H. Gerber;** Zur Therapie des Equinen Sarkoids mit einem unspezifischen Immunstimulator – Beitrag zur Epidemiologie und zur spontanen Regression des Sarkoids. Schweiz. Arch. Tierheilk., 1997, 139(9): 385-391.
- 79        **Teske, E., G.R. Rutteman, T.S.G.A.M.v.d. Ingh, R. Van Noort, W. Misdorp;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine (L-MTP-PE): a randomized clinical trial in dogs with mammary carcinoma. Anticancer Res., March-April 1998, 18(2A): 1015-1019.
- 80        **Thamm, D.H.;** Intralesional lipid-complexed cytokine/superantigen immunogene therapy for spontaneous canine tumors. Cancer Immunol. Immunother., Aug. 2003, 52(8):473-480.
- 81        **Thamm, D.H.;** Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: Phase I evaluation. Clin. Cancer Res., July 2005; 11(13): 4827-4834.
- 82        **Transgene, Strasbourg & Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität, München;** Adenovirus-mediated delivery of the interleukin-2 and the interferon  $\gamma$  genes into tumors of domestic carnivores (vectors AdTG6624 & AdTG13273).
- 83        **Vail, D.M., E.G. MacEwen;** Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. Cancer Invest., 2000, 18(8): 781-792.
- 84        **Vail, D.M., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, W.C. Kisseberth, C.A. London, J.E. Obradovich, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. Clin. Cancer Res., Oct. 1995, 1(10): 1165-1170.
- 85        **Vanselow, B.A., I. Abetz, A.R. Jackson;** BCG emulsion immunotherapy of equine sarcoid. Equine Vet. J., Nov. 1988, 20(6): 444-447.
- 86        **Visionneau, S., A. Cesano, K.A. Jeglum, D. Santoli;** Adjuvant treatment of canine osteosarcoma with the human cytotoxic T-cell line TALL-104. Clinical Cancer Res., July 1999, 5: 1868-1875.
- 87        **Wiedmann K.;** Klinische Phase I-Studie zur neoadjuvanten immunstimulierenden Therapie des felinen Fibrosarkoms mit Interleukin-2 und Interferon  $\gamma$ . Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität München, 2005.
- 88        **Wieland S.;** Klinische Phase I-Studie zur genterapeutischen Immunstimulation durch Interleukin-2 und Interferon gamma als adjuvante Behandlung des felinen Fibrosarkoms. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.

## **7. Immuntherapien unter Verwendung von Zytokinen**

### **7.1 Allgemeiner Teil**

In jedem Individuum, das ein gesundes Immunsystem aufweist, sind alle zellulären Komponenten vorhanden, die für eine effektive Immunantwort gegen Tumoren notwendig sind (30).

Eine effektive Immunantwort ist von dem Zusammenspiel von Makrophagen, B-Lymphozyten und T-Lymphozyten abhängig (67). Zytokine sind die Boten des Immunsystems. Dabei handelt es sich um Substanzen, Proteine oder Glykoproteine, welche von Immunzellen freigesetzt werden (217). Zytokine regulieren sowohl das angeborene Immunsystem (NK-Zellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten) als auch das erworbene Immunsystem, die T- und B-Zell-Antwort. Sie fördern durch ihre Vermittlerfunktion die Kommunikation zwischen Makrophagen, NK-Zellen, APC und Lymphozyten (16). Innerhalb des Immunsystems funktionieren Zytokine in Form von Kaskaden. Aus diesem Grund erwiesen sich die Ergebnisse vieler klinischer Studien, in denen die Wirkungsweise einzelner Zytokine untersucht worden sind, eher als frustrierend, da Zytokine meist nicht einzeln agieren. Als Wachstumsfaktoren vermögen Zytokine Zellen zu aktivieren oder zu deaktivieren und sind in der Lage, vor Gewebeschädigungen zu schützen (16).

Die Funktion von T-Helfer-Zellen (CD4<sup>+</sup>-T-Zellen) wird durch die Produktion bestimmter aktivierender (Typ 1) oder inhibitorischer (Typ 2) Zytokine geprägt. *Typ 1-Zytokine* werden mit der Erzeugung einer zytotoxischen Immunantwort assoziiert. Zu ihnen gehören IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\alpha$ , wenn sie von T-Helfer-Zellen produziert werden, aber auch IL-12, wenn sie von antigen-präsentierenden Zellen (APC) freigesetzt werden.

*Typ 2-Zytokine* erfüllen den gegensätzlichen Effekt, da sie zytotoxische Immunantworten herunter regulieren und folglich eine zelluläre Immuntoleranz induzieren. Abgesehen davon, können sie humorale Immunantworten steigern. Zu ihnen werden IL-4, IL-5, IL-10 und „*transforming growth factor beta*“ (TGF- $\beta$ ) gezählt (150).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

T-Lymphozyten sind für die Koordination und Stimulation der unterschiedlichsten Komponenten des Immunsystems essentiell wichtig. Werden T-Lymphozyten durch Antigen-MHC-Moleküle oder andere geeignete kostimulatorische Signale aktiviert, setzen sie eine Vielzahl biologisch aktiver Substanzen frei, welche kollektiv auch als „*Lymphokine*“ bezeichnet werden. Der Begriff „*Zytokine*“ bezieht sich auf biologisch aktive Zellprodukte und beschreibt sowohl die sog. „*Monokine*“ (von Makrophagen freigesetzt), als auch die „*Lymphokine*“.

Lymphokine sind Glykoproteine, die an Ort und Stelle ihre Wirkung zeigen. Entweder wirken sie hemmend oder stimulierend direkt auf diejenigen Zellen, aus welchen sie freigesetzt worden sind (autokrine Wirkung), oder auf direkt benachbarte Zellen (parakrine Wirkung). Lymphokine gelangen aber auch in den Blutkreislauf und üben systemische Wirkungen aus (endokrine Wirkung). Im Gegensatz zur Struktur von Antikörpern ist die dreidimensionale Struktur der Lymphokine nicht an die des stimulierenden Antigens gebunden (67).

Zytokine wirken pleiotrop, da sie auf eine Vielzahl von Zellen einwirken, aber auf die individuelle Zelle sehr unterschiedliche Effekte haben können (1). In der Behandlung von Tumoren wird gewöhnlich die das Immunsystem steigernde Wirkung genutzt (217).

Sowohl die Epidermis, als auch die orale Mukosa enthalten Immuneffektorzellen, deren Lokalisation hier einzigartig ist. Daher wird häufig an diesen Stellen eine Vakzinierung durchgeführt. Die Tatsache, dass Zytokine auf diese Zellen stimulierend einwirken, lässt eine gesteigerte Immunantwort gegenüber Tumoren erwarten.

Die Immuntherapie zeigte sowohl bei immunogenen, als auch bei nicht-immunogenen Tumoren Wirkung. Interessant ist, dass besondere Erfolge v. a. bei Tumoren (z. B. malignes Melanom, Nierenkarzinom) verzeichnet werden konnten, welche sich im Rahmen einer Chemotherapie als refraktär erwiesen hatten (119).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### 7.1.1 Interleukine

Der Begriff „*Interleukin*“ wurde eingeführt, um Lymphokine und Monokine zu beschreiben, welche auf Leukozyten einwirken. Das Klassifikationsschema ist im Laufe der Zeit immer willkürlicher geworden, da man festgestellt hat, dass Interleukine unterschiedlichste Wirkungen auch auf andere Zellen haben und dass es andere immunregulatorische Lymphokine gibt, die aus verschiedensten Gründen nicht zu den Interleukinen gezählt werden (67).

**Tab. 6: Interleukine, ihr Entstehungsort und ihre Hauptwirkungsweisen (67, 22, 138, 72, 155, 178, 217)**

Interleukin	Größe (kD)	primärer Entstehungsort	biologische Hauptwirkungsweise
<b>Interleukin-1</b> ( $\alpha$ und $\beta$ )	17	Makrophagen	T-Zell-Aktivierung; B-Zell-Proliferation und -Maturation; Entzündungsmediator
<b>Interleukin-2</b>	15	aktivierte T-Lymphozyten	T-Zell-Proliferation; B-Zell-Wachstum; Makrophagen-Zytotoxizität; NK-und LAK-Zell-Proliferation
<b>Interleukin-3</b>	28	aktivierte T-Lymphozyten	Wachstum von pluripotenten Knochenmarkstammzellen; Mastzell-Wachstums-Faktor
<b>Interleukin-4</b>	15-20	aktivierte T-Lymphozyten Knochenmarkstammzellen	B-Zell-Wachstum und Differenzierung; regulierende Wirkung auf IL-2; Fibroblasten-Differenzierung; Aktivierung von T-Helfer-Zellen; Förderung der Maturation und Steigerung der Antigenpräsentation Dendritische Zellen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

<b>Interleukin</b>	<b>Größe (kD)</b>	<b>primärer Entstehungsort</b>	<b>biologische Hauptwirkungsweise</b>
<b>Interleukin-5</b>	40-50	aktivierte T-Lymphozyten	B-Zell-Wachstum und -Differenzierung; Differenzierung der eosinophilen Granulozyten
<b>Interleukin-6</b>	26	Makrophagen	B-Zell-Maturation; Induktion der hepatischen akuten Phasen-Antwort
<b>Interleukin-7</b>	25	Knochenmarkstammzellen	B-Zell-Wachstum und -Differenzierung; Stimulation von T-Zellen; Suppression des Tumorstwachstums
<b>Interleukin-8</b>	10	Makrophagen	Neutrophilen-chemotaktischer-Faktor
<b>Interleukin-9</b>	40	aktivierte T-Lymphozyten	Stimulation der Entwicklung von erythroiden Zellen und Mastzellen
<b>Interleukin-10</b>	16-20	Th2-Lymphozyten	Hemmung der Th1-Zytokin-Synthese; Unterstützung des B-Zellen-Überlebens; Stimulation der Mastzell-Proliferation
<b>Interleukin-12</b>	70	Makrophagen	Promotor für NK-Zellen und T-Zellen; Wachstumsfaktor für B-Zellen; Aktivierung von CD8 <sup>+</sup> -T-Zellen; Stimulation der Produktion von IFN- $\gamma$ ; Hemmung der Angiogenese
<b>Interleukin-15</b>	13	Monozyten/Makrophagen, Dendritische Zellen, Knochenmarkbindegewebszellen, Epithelzellen	T-Zell-Wachstumsfaktor; Unterstützung der homöostatischen Aufrechterhaltung und Proliferation von Memory-CD8 <sup>+</sup> -T-Zellen; Kostimulator bei der Produktion proinflammatorischer Zytokine; Förderung der Maturation von APC

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

Interleukin	Größe (kD)	primärer Entstehungsort	biologische Hauptwirkungsweise
<b>Interleukin-18</b>	18	Makrophagen, Kupffersche Sternzellen, Dendritische Zellen, Langerhanssche Zellen, B-Zellen, Keratinozyten, Epithelzellen des Darmes und der Lunge, osteoblastische Bindegewebszellen	Aktivierung von NK-Zellen (und somit Stimulation einer unspezifischen Immunantwort); Hemmung der Angiogenese

*Legende:*

APC = antigen-präsentierende Zellen; IFN- $\gamma$  = Interferon- $\gamma$ ; NK-Zellen = Natürliche-Killer-Zellen; LAK-Zellen = lymphokin-aktivierte Killerzelle; Th2-Lymphozyten = Polarisation von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen

#### 7.1.1.1 Interleukin-1

Interleukin-1 (IL-1) ist ein 17-KiloDalton (kD) Glykoprotein und wird v. a. von mononukleären Phagozyten, einschließlich Blutmonozyten und Gewebemakrophagen (aus Lunge, Peritoneum, Synovia, Osteoklasten, Leber, Milz, Niere, Knochenmark, Gehirn) und spezialisierten Dendritischen Zellen, die in vielen Organen anzutreffen sind, freigesetzt (56, 158). IL-1 wird auch von nicht-phagozytären Zellen (z. B. Keratinozyten, Langerhans'sche Zellen, epitheliale Zellen der Kornea, endotheliale Zellen und Astrozyten) produziert (158).

IL-1 unterstützt nicht nur die Maturation und Differenzierung von B-Lymphozyten, sondern ist auch bei der Aktivierung von T-Lymphozyten während der Antigenpräsentation von großer Bedeutung. Die antigen-spezifische Aktivierung von T-Lymphozyten ist von zwei unterschiedlichen, aber zusammenspielenden Signalen abhängig, welche von Makrophagen „gesendet“ werden. Das erste Signal veranlasst Makrophagen, das Antigen aufzunehmen, zu verarbeiten und gebunden an ein MHC-Molekül auf ihrer Zelloberfläche zu präsentieren. Das zweite Signal ist von der IL-1- (und IL-6-) Produktion der Makrophagen abhängig. Bei Erreichen einer bestimmten Interleukin-Konzentration erfolgt die antigen-spezifische Aktivierung von T-Lymphozyten (57).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

IL-1 hat zwei Wirkungen auf T-Lymphozyten: Zum einen stimuliert IL-1 die Synthese und Sekretion von IL-2 in T-Zellen und zum anderen induziert es die Synthese von IL-2-Rezeptoren, wodurch es wiederum T-Zellen ermöglicht wird, auf IL-2 zu antworten, indem sie eine klonale Expansion durchmachen (146). Abgesehen von IL-2 produzieren T-Lymphozyten auch IL-3, IL-4, IL-5 und IL-6 (57).

IL-1, auch als endogenes Pyrogen bekannt, ist funktionell an TNF (Tumor-Nekrose-Faktor) und IL-6 gebunden. Diese drei Substanzen sind wichtige Mediatoren in der lokalen oder generalisierten Entzündungsantwort (56, 57). Die IL-1-Produktion von mononukleären Phagozyten wird durch Bakterien, andere Mikroorganismen, Endotoxine, inflammatorische Substanzen (z. B. Gallensalze, Uratkristalle, Pflanzenlektine) und einige Lymphokine angeregt (56).

IL-1 kann die Synthese von Phospholipasen induzieren, was eine Freisetzung der Arachidonsäure aus Membran-Phospholipiden bewirkt. Eine ansteigende Prostaglandin-E-Konzentration löst im thermoregulatorischen Zentrum des Hypothalamus eine Fieber-Antwort aus. Antipyretische Substanzen, welche die Cyclooxygenase hemmen, dämpfen das Fieber, indem die Synthese von Prostaglandin E im Hypothalamus gehemmt wird (56, 158, 67). Während einer Entzündungsantwort bewirken IL-1, TNF und IL-6 in der akuten Phase die Synthese und Freisetzung von Leberproteinen.

Darüber hinaus stimuliert IL-1 eine endotheliale Zellproliferation und ruft prokoagulatorische Aktivitäten hervor, steigert die durch Osteoklasten medierte Knochenresorption und unterstützt die Freisetzung von Proteasen und Prostaglandin E<sub>2</sub> aus Chondrozyten und Synovialzellen (56).

Man nimmt an, dass der oftmals sichtbare antiinflammatorische Effekt bestimmter ungesättigter Fettsäuren auf der Hemmung der IL-1-Produktion basiert (67).

Es wurden zwei unterschiedliche IL-1-Gene,  $\alpha$  und  $\beta$ , identifiziert. Obwohl IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  nur zu 26 % eine homologe Struktur besitzen, interagieren beide mit dem gleichen Rezeptor und scheinen eine ähnliche biologische Wirkung zu haben (57, 158). In der Krebstherapie hat sich IL-1 $\beta$  jedoch als unwirksam

erwiesen. Dennoch könnte es bei der Abschwächung schwerer toxischer Nebenwirkungen des IL-2 hilfreich sein (217).

#### **7.1.1.2 Interleukin-2**

Interleukin-2 (IL-2) ist ein 15 kD-Glykoprotein (80). Ruhende T-Zellen produzieren kein IL-2 und sind für dieses Zytokin nicht ansprechbar, da im Ruhezustand auf T-Zellen nur extrem wenige IL-2-Rezeptoren ausgebildet sind (173). Werden sie allerdings durch Antigene oder Mitogene in Kombination mit IL-1 aktiviert, steigt die IL-2-Rezeptor-Konzentration deutlich an. Bindet IL-2 nun an den neu entstandenen IL-2-Rezeptor (zusammengesetzt aus zwei Untereinheiten: RIL-2 $\alpha$  und RIL-2 $\beta$  mit einer  $\gamma$ -Kette), wird die T-Zell-Proliferation in Gang gesetzt (126). IL-2 wird vornehmlich von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen synthetisiert, wobei aber auch CD8<sup>+</sup>-T-Zellen in geringem Maße beteiligt sind. IL-2 wird allerdings unter physiologischen Bedingungen nur über einen kurzen Zeitraum nach Zellaktivierung sezerniert (71, 67).

IL-2 werden immunregulatorische Funktionen zugeschrieben, wie z. B. die Ankurbelung der Proliferation von B-Zellen und Produktion von Immunglobulinen, die Steigerung der Makrophagen-Zytotoxizität und die Unterstützung des Wachstums von B-Lymphozyten, zytotoxischen T-Lymphozyten (CD8<sup>+</sup>) und der Natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und NK-Zellen haben die Fähigkeit, virus-infizierte Zellen oder bestimmte Tumorzellen abzutöten und sogar einer Metastasierung vorzubeugen (67).

Eine der wichtigsten Funktionen des IL-2 ist jedoch die Induktion einer klonalen Expansion aktivierter T-Lymphozyten (67). Für das Erreichen einer kompletten Tumorregression und zur Vorbeugung einer Überhandnahme von IL-2-Verlusten sind jedoch zytotoxische CD8<sup>+</sup>-T-Zellen nötig (71, 104).

IL-2 hat, wenn es im Rahmen einer Krebstherapie verabreicht wird, ein erstaunliches Potential. Es steigert die funktionellen Fähigkeiten von NK-Zellen und ist für Induktion und Wachstum von „*lymphokine-activated-killer-cells*“ (LAK-Zellen) von essentieller Bedeutung. LAK-Zellen können NK-resistente Tumorzellen lysieren, während sie gegenüber normalen Zellen eine nur geringe Toxizität zeigen (219). Außerdem steigert IL-2 die antitumorale Zytotoxizität von tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TIL) (3).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

IL-2 stimuliert in peripheren Leukozyten die Synthese von IFN- $\gamma$  und induziert die Sekretion von IL-1, GM-CSF, TNF- $\alpha$  und TNF- $\beta$ , welche wiederum Makrophagen aktivieren. Es ist auch für die Freisetzung von löslichem Fas-L verantwortlich (143).

Im Hinblick auf seine antineoplastische Wirkung ist IL-2 eines der am meisten untersuchten Zytokine (138). In zahlreichen klinischen Studien wurde die Wirksamkeit von systemisch verabreichtem IL-2 erforscht. Dabei zeigten sich objektive Erfolge, welche allerdings in der Regel von schwerwiegenden Nebenwirkungen begleitet waren. Demzufolge entschloss man sich, die Wirkung und Nebenwirkung einer lokal applizierten ansteigenden IL-2-Konzentration zu untersuchen. Die IL-2-Applikation erfolgte nun nicht mehr ausschließlich auf systemischem Wege, sondern auch intra- und peritumoral (51, 78).

IL-2-sezernierende Zellen unterdrücken das Wachstum von gleichzeitig parenteral injizierten Tumorzellen. Hierbei sind T-Zell-abhängige und -unabhängige Effektormechanismen für die Tumorremission verantwortlich. Man erkannte aber auch, dass eine IL-2-Sekretion eine verminderte oder, abhängig vom Level der IL-2-Produktion, einen Verlust der Immunogenität des Tumors bewirken kann (85, 22).

Eine direkte intratumorale Applikation ruft eine Infiltration einer Vielzahl verschiedener immun-assoziiertes Zelltypen zu unterschiedlichen Zeitpunkten des Tumorwachstums hervor. Bei diesen infiltrierenden Zellen handelt es sich um Zellen mit antitumoral-zytolytischer Aktivität. Hierzu zählen z. B. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, NK-Zellen und andere Zellen (z. B. Dendritische Zellen), welche CD8<sup>+</sup>-T-Zellen und NK-Zellen aktivieren können. Darüber hinaus ist es denkbar, dass die lokale Anwesenheit von IL-2 zu einer Aktivierung von NK-Zellen, Makrophagen, B-Zellen und CD4<sup>+</sup>-T-Zellen führt. Diese intratumoralen Zellpopulationen sind ideale Zielscheiben für lokal-immuntherapeutische Interventionen. Tumor-infiltrierende DC und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen sind somit perfekt in ihrer Rolle als APC und zugleich, im Sinne eines Effektors, als tumorantigen-spezifische zytotoxische T-Zellen positioniert. Intratumoral appliziertes IL-2 ist demnach möglicherweise in der Lage, eine antitumorale T-Zell-Antwort anzukurbeln, entweder indem es als kostimulatorisches Signal

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

bei der Aktivierung von CTL fungiert oder indem es Dendritische Zellen antreibt, IL-2-Rezeptoren zu exprimieren (112, 113).

Für den Erfolg einer Therapie sind die Größe und Vaskularisation des Tumors ausschlaggebend. Ist der Tumor zu groß, sind CTL nicht mehr in der Lage, alle Tumorzellen zu erreichen und zu kontrollieren (58, 94). Zusätzlich sezernieren Tumoren Suppressor-Moleküle, z. B. TGF- $\beta$  („*transforming-growth-factor- $\beta$* “) und VEGF („*vascular-endothelial-growth-factor*“). Nimmt die Konzentration dieser Moleküle ein bestimmtes Ausmaß an, wird der IL-2-Effekt auf eine tumor-spezifische CTL-Antwort nachteilig beeinflusst. TGF- $\beta$  hemmt die Aktivität zytotoxischer T-Zellen (224). Man nahm an, dass hohe VEGF-Konzentrationen im Blut prognostisch auf eine Therapieresistenz hinweisen würden und DC-Funktionen hemmen könnten (83). Diese können auch durch intratumoral appliziertes IL-2 nicht beeinflusst werden, was eine Erklärung liefern würde, warum IL-2 nur in Tumoren bis zu einer bestimmten Größe mit entsprechender Vaskularisation erfolgreich agieren kann. Bei adäquater Tumorgroße vermag IL-2 das intratumorale Gefäßsystem durch Zerstörung endothelialer Zellen (unter Beteiligung von FasL und Perforin) und nachfolgender Nekrose zu vernichten, sodass dem Tumor keine Ernährungsmöglichkeit mehr gegeben wird (93, 171, 154, 159). Des Weiteren ist bekannt, dass aktivierte CD8<sup>+</sup>-T-Zellen Moleküle (z. B. IFN- $\gamma$ ) sezernieren, die eine Zerstörung von Blutgefäßen bewirken können (108).

Wie bereits erwähnt, können bei der systemischen, aber auch lokalen Anwendung von IL-2, je nach Wahl der Dosierung und Applikationsform, Nebenwirkungen, wie z. B. Fieber, Übelkeit, Erbrechen und Durchfall, v. a. das „*vascular-leak-syndrome*“ auftreten (67, 186, 13). Das „*vascular-leak-syndrome*“ zeichnet sich durch eine gesteigerte Gefäßpermeabilität aus, durch die nun vermehrt intravasale Flüssigkeit und Proteine in das umliegende interstitielle Gewebe austreten können. Die Folgen sind Ödeme, Pleura- und Perikardergüsse, Aszites und eine hochgradige Flüssigkeitsretention. Herz-Kreislauf-Probleme sind Folgen der nun auftretenden intravaskulären Hypovolämie. Generalisierte interstitielle Ödeme bedingen eine zusätzliche Störung in der Mikrozirkulation, was eine Gewebhypoxie, wenn nicht sogar in einem Multiorganversagen resultiert (12). Es besteht die Möglichkeit, dass IL-2

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

selbst einen direkten Einfluss auf Gefäßendothelzellen hat. Es kann aber auch sein, dass die Aktivierung weiterer Zytokine, wie z. B. TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ , oder andere Entzündungsmediatoren zu der Steigerung der Endothelzell-Permeabilität führt (213). Auch im Gehirn kann es durch den Integritätsverlust des Endothels der Hirngefäße zur Schädigung der Blut-Hirn-Schranke kommen. Beim Menschen können aufgrund dieser Auswirkungen Symptome, wie z. B. Desorientierung mit Depression, Somnolenz und Koma beobachtet werden. Abgesehen davon weiß man, dass IL-2 auch das elektrophysiologische Verhalten von Neuronen verändert (65, 47). Nach der Behandlung mit IL-2 wird oftmals die Entwicklung einer Eosinophilie beobachtet. Diese wird, in Zusammenhang mit einer erhöhten Degranulation eosinophiler Granulozyten, als mögliche Triebkraft für die Entstehung des „*vascular-leak-syndrome*“ in Betracht gezogen (213). IL-2 ist nicht nur an der Tumorüberwachung, sondern auch bei antiinflammatorischen Reaktionen und bei der Hämatopoese beteiligt (216). Bei Hund und Katze zeigte sich nach intravenöser Gabe von rhIL-2 in einigen Fällen sowohl eine Bluteosinophilie, als auch eine transiente Hyperplasie der eosinophilen Vorläuferzellen im Knochenmark (207, 48, 99).

Humanes rekombinantes IL-2 bindet und aktiviert canine Lymphozyten und steigert ihre Fähigkeit Tumorzellen zu bekämpfen. Humanes rIL-2 wurde Hunden auf unterschiedlichen Wegen appliziert: intravenös (i.v.), subkutan (s.c.) und per Inhalation von Liposomen. Liposome setzen das IL-2 direkt im Bronchialbaum frei. Man injizierte Hunden für IL-2 kodierende DNA (cDNA) i.v. und intratumoral (i.t.). Die anschließende Transfektion vieler Zellen durch die cDNA, bewirkt - durch Produktion von IL-2 - eine Aktivierung des Immunsystems *in situ* (97).

#### 7.1.1.3 Interleukin-3

Interleukin-3 (IL-3), auch bekannt als „*multi-colony-stimulating-factor*“, ist einer der vier wichtigsten hämopoetischen Wachstumsfaktoren (67). Die weiteren drei Faktoren werden „*macrophage-colony-stimulating-factor*“ (M-CSF), „*granulocyte-colony-stimulating-factor*“ (G-CSF) und „*granulocyte-macrophage-colony-stimulating-factor*“ (GM-CSF) genannt (38). Der Name „*colony-stimulating-factor*“ beruht auf der Tatsache, dass es Faktoren gibt, welche

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

notwendig sind, die Formation und das Wachstum von Zellkolonien sicher zu stellen (149).

Einzelne Knochenmarkstammzelllinien scheinen bevorzugt oder ausschließlich, je nach Differenzierungsweg, auf bestimmte Wachstumsfaktoren zu reagieren. G-CSF leitet die Ausdifferenzierung von Granulozyten ein, wohingegen M-CSF die Ausdifferenzierung von Makrophagen sicherstellt (110).

IL-3 ist ein 28 kD Glykoprotein. Es stammt von aktivierten T-Zellen, welche im Vorfeld durch Antigene oder Mitogene aktiviert worden sind (67). GM-CSF, ähnlich dem IL-3, hat eine große Bandbreite von biologischen Aktivitäten. Es vermag jedoch nicht, eine komplette Differenzierung von erythroiden und megakaryozytären Zelllinien einzuleiten und das Wachstum von Mastzellen zu unterstützen (145, 149).

IL-3 könnte sich hinsichtlich der Prophylaxe und Behandlung von Infektionen als nützlich erweisen, da es in der Lage ist, die Zahl von Granulozyten und Makrophagen an Ort und Stelle zu erhöhen, falls die notwendige Konzentration an G-CSF oder M-CSF nicht bereitgestellt werden kann (67).

#### **7.1.1.4 Interleukin-4**

Interleukin-4 ist ein 15-20 kD Glykoprotein, das von aktivierten T-Lymphozyten, Mastzellen und Knochenmarkbindegewebszellen freigesetzt wird (67).

IL-4 ist nicht nur ein wichtiger Promotor für B-Zell-Wachstum und B-Zell-Differenzierung, sondern steigert sowohl das T-Zell-Wachstum, als auch die Formation myeloischer Kolonien, das Wachstum und die Ausdifferenzierung der eosinophilen Granulozyten, das Wachstum der Mastzellen, die Differenzierung von Fibroblasten sowie die Produktion von IgG<sub>1</sub> und IgE (147). IL-4 fördert die Maturation und steigert die Antigenpräsentation Dendritischer Zellen, unterstützt die MHC-II-Antigenexpression und wirkt regulierend auf die Aktivität IL-2-stimulierter NK-Zellen und LAK-Zellen (153, 7). Inkubiert man NK-Zellen mit rIL-2, kann eine Aktivierung, Proliferation und ansteigende Tumor-Zytotoxizität beobachtet werden (144). Inkubiert man allerdings NK-Zellen mit IL-2 und IL-4, kann eine Abnahme der zytotoxischen Aktivität registriert werden (153). IL-4 kann weder die zytotoxische Aktivität von ruhenden NK-Zellen, noch von frisch aktivierten LAK-Zellen verändern. Da IL-2 und IL-4 aus verschied-

enen Untereinheiten aktivierter T-Helfer-Zellen freigesetzt werden, könnte IL-4 eine wichtige physiologische Rolle hinsichtlich einer Reduktion der durch IL-2 induzierten Proliferation und zytotoxischen Aktivität von NK-Zellen spielen. Interleukin-4 blockt die IL-2 abhängige Proliferation von sowohl leukämischen als auch von normalen B-Zellen. Daher erwartete man, dass die Verabreichung von rekombinantem IL-4 bei der Behandlung von IL-2-abhängigen B-Zell-Tumoren nützlich sein könnte (67).

Darüber hinaus scheint IL-4 einen stimulierenden aber auch inhibitorischen Effekt auf die Funktion von Monozyten/Makrophagen zu haben (67). Studien haben gezeigt, dass IL-4 nicht nur die H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Produktion von Monozyten, die Freisetzung von Entzündungsmediatoren (TNF, IL-1, PGE<sub>2</sub>) aus Monozyten, sondern auch die IL-8-Expression von aktivierten Monozyten hemmt (95, 131, 195).

Die Wirkung von IL-4 könnte z. T. durch Antikörper, die gegen eosinophile Granulozyten gerichtet sind, umgekehrt werden (67). Es ist möglich, dass eosinophile Granulozyten, im Zusammenspiel mit IFN- $\gamma$ -induzierenden Makrophagen, eine durch IL-4 induzierte T-Zell-unabhängige Tumorsuppression medieren (202).

Im Vergleich zu anderen Interleukinen zeigt IL-4 eine minimale antitumorale Wirksamkeit und ist toxisch (217).

#### **7.1.1.5 Interleukin-5**

Interleukin-5 (auch genannt: B-Zell-Wachstumsfaktor 2, „*T-cell-replacing-factor*“, eosinophiler Granulozyten-Differenzierungsfaktor) ist ein 40 - 50 kD Glykoprotein und wird von aktivierten T-Lymphozyten produziert.

Es unterstützt das Wachstum und die Differenzierung von B-Zellen und ist an der Differenzierung von eosinophilen Granulozyten beteiligt (67).

#### **7.1.1.6 Interleukin-6**

Interleukin-6 (IL-6) ist ein 26 kD Glykoprotein, das von Monozyten, aktivierten T-Lymphozyten, Gewebemakrophagen und Fibroblasten freigesetzt wird. Makrophagen sind die Hauptquelle für IL-6 (67).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Im Verlauf von Entzündungsprozessen fördert IL-6 die Reifung der proliferierten B-Zellen in spezialisierte, Immunglobulin produzierende Plasmazellen (sog. Mottzellen). Es induziert, gemeinsam mit IL-1 und TNF, die „*hepatic-acute-phase-reaction*“ (APR) (67). Die APR ist eine herausragende systemische Reaktion des Organismus auf lokale oder systemische Störungen der Homöostase. Sie wird z. B. durch eine Infektion, eine Gewebsverletzung, ein Trauma, ein neoplastisches Wachstum oder eine immunologische Krankheit verursacht (92).

Interleukin-6 spielt *in vitro* und *in vivo* eine wichtige Rolle bei der Antikörper-Produktion. Als Folge exzessiver IL-6-Produktion neoplastischer Zellen, kann möglicherweise eine tumor-assoziierte Hypergammaglobulinämie beobachtet werden (67).

IL-6 weicht in seinem konträren Verhalten hinsichtlich seiner Wirkung auf das Tumorstadium gegenüber anderen Zytokinen deutlich ab, da IL-6 das Wachstum mancher Tumoren eher unterstützt (22).

#### **7.1.1.7 Interleukin-7**

Interleukin-7 (IL-7) ist ein 25 kD Protein. IL-7 wird eine wichtige Rolle bei der Proliferation und Differenzierung von B-Zell-Vorläuferzellen zugeschrieben. Zudem scheint es unerlässlich für die weitere B-Zell-Entwicklung zu sein. IL-7 hat vermutlich einen direkten, von anderen Zytokinen unabhängigen, stimulierenden Effekt auf Thymuszellen, da die Aktivität von IL-7 nicht durch Antikörper gegen IL-2, IL-4, IL-6 oder IL-2-Rezeptoren gehemmt werden kann. Im Thymus wurden hohe Konzentrationen von IL-7-mRNA gefunden, da es dort an der Entwicklung von B- und T-Zellen beteiligt ist. Rekombinantes IL-7 ist ein potenter T-Zell-Stimulator und induziert die Expression von IL-2-Rezeptoren (67).

IL-7 ist ein sehr effektiver Tumorstadium-Suppressor. Diese Tatsache wurde in einigen Studien, per Gen-Transfer und IL-7-Expression, in verschiedenen Tumorzelllinien nachgewiesen. Die Ergebnisse zeigten durchweg einen Verlust oder - abhängig von der Menge des freigesetzten IL-7 - eine Reduktion der Tumorgenität. Dieser Effekt resultiert aus einer komplexen immunologischen Reaktion. CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen reichern sich unabhängig voneinander in

IL-7-produzierenden Tumoren an (103). Darüber hinaus rufen CD4<sup>+</sup>-T-Zellen eine Infiltration eosinophiler Granulozyten und Makrophagen hervor, wobei möglicherweise aber auch weitere Zytokine beteiligt sein können. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen sind an der frühen Phase der Tumor-Suppression nicht beteiligt, sind aber auf lange Sicht für die Tumorvernichtung bestimmend. In dieser Hinsicht unterscheidet sich IL-7 nicht von IL-2, IL-4, TNF und IFN- $\gamma$  (104). Obwohl IL-7 auf einige transfizierte Tumoren suppressiv wirkt, kann die durch IL-7 induzierte Tumorabwehr durch den einzelnen Tumor beeinflusst werden (22).

#### **7.1.1.8 Interleukin-8**

Interleukin-8 (IL-8) ist ein 10 kD Glykoprotein. Das IL-8-Gen wurde geklont und seine Schlüsselrolle, bezüglich der Induktion einer Migration und Aktivierung neutrophiler Granulozyten, erkannt (67).

Ursprünglich wurde monozytäres IL-1 und TNF für die, während einer Entzündung anzutreffende, neutrophile Granulozyten-Chemotaxis verantwortlich gemacht. Heute wird IL-1 und TNF eine stimulierende Wirkung auf Makrophagen, welche IL-8 freisetzen, zugeschrieben (182). Das könnte die Fähigkeit von IL-1 und TNF, die Infiltration von neutrophilen Granulozyten induzieren zu können, erklären. Die chemotaktische Aktivität von IL-8 ist für neutrophile Granulozyten spezifisch (67).

#### **7.1.1.9 Interleukin-9**

Interleukin-9 (IL-9) ist ein Zytokin, das von T-Zellen freigesetzt wird. Es wurde nachgewiesen, dass IL-9 selektiv die Entwicklung von erythroiden Zellen und von Mastzellen im hämatopoetischen System stimuliert (67).

#### **7.1.1.10 Interleukin-10**

Folgt aufgrund starker Immunogene eine Immunantwort, beseht sie im Allgemeinen einerseits in einer „*delayed-type-hypersensitivity*“ (DTH) und andererseits in einer Antikörper-Produktion. Beide Antworten scheinen ausschließlich gemeinsam aufzutreten (151).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Zwei funktionell verschiedene Untereinheiten von T-Helferzellen (Th, CD4<sup>+</sup>-T-Zellen), Th1 und Th2, rufen diese unterschiedlichen Immunantworten hervor. Aktivierte *Th1-Lymphozyten* produzieren IFN- $\gamma$ , Lymphotoxin und IL-2. Daher sind sie sehr effektive zell-medierte Immunstimulatoren (auch DTH). Aktivierte *Th2-Lymphozyten* produzieren hingegen IL-4, IL-5, IL-6 und IL-10. Sie sind ein effektiverer Promotor hinsichtlich der Antikörper-Sekretion durch B-Lymphozyten (151).

Von Th1-Zellen produziertes IFN- $\gamma$  zeigt *in vitro*, dass es die Proliferation von Th2-Zellen hemmt (67). Des Weiteren wurde entdeckt, dass ein neues Zytokin, das von Th2-Zellen produziert wird, die Zytokin-Synthese von Th1-Zellen hemmt („*cytokine-synthesis-inhibitory-factor*“ (CSIF)) (76). CSIF wurde untersucht, das Gen geklont und IL-10 genannt. Abgesehen von seiner antiproliferativen Wirkung auf Th1-Zellen ist IL-10 ein stimulierender Faktor für die Proliferation von Mastzellen und für unreife Thymuszellen (139, 205). Interleukin-10 steigert die Lebensfähigkeit von B-Zellen *in vitro* und spielt eine Rolle in der Proliferation von B-Zellen (90).

Im Gegensatz zu anderen Zytokinen, die eine Tumor-Suppression durch Immunstimulation induzieren, scheint IL-10 bei einigen Tumoren anti-neoplastisch zu wirken, indem es lokal die Immunfunktion unterdrückt (22).

#### **7.1.1.11 Interleukin-12**

Interleukin-12 (IL-12) ist ein heterodimeres Protein, das aus einer 35 kD und einer 40 kD Untereinheit zusammengesetzt ist. IL-12 weist eine große Zahl an Aktivitäten auf, die potentiell sehr wichtig für eine Krebstherapie sind (97).

IL-12 wird v. a. von aktivierten Makrophagen produziert. Es steigert die zytolytische Aktivität von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, fördert die Th1-Immunantwort und hemmt das Wachstum von Endothelzellen (138).

IL-12 ist der potenteste Stimulator der NK-Zellen-Aktivität (Chemotaxis und Zytotoxizität), ist wichtig für die Freisetzung von IFN- $\gamma$  aus NK-Zellen und T-Lymphozyten und wirkt es als Wachstumsfaktor für B-Zellen (138, 97, 165, 217).

Außerdem steigert IL-12 die Abtötung von Tumorzellen durch Immunzellen, die durch antitumorale Antikörper auf den Tumor gerichtet wurden. IL-12 stimuliert

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

die Stickoxid-Produktion. In Studien konnte dokumentiert werden, dass sich die endogene IL-12-Produktion verringert, wenn der Tumor an Größe gewinnt. Dies kann hinsichtlich einer Substitution von Krebspatienten mit IL-12 als Grundlage dienen, um auf diese Weise wieder eine zell-vermittelte antitumorale Antwort zu ermöglichen (97).

Darüber hinaus übt IL-12 zwei wichtige Effekte auf die Tumorumgebung aus. Zum einen aktiviert es, wie bereits erwähnt, Killerzellen, welche den Tumor direkt bekämpfen, zum anderen löst es einen Zelluntergang aus, indem es die Angiogenese hemmt (210). Der wachsende Tumor kann somit nicht mehr mit nötigen Nährstoffen versorgt werden (97). Allerdings treten auch hier bei systemischer Anwendung schwere toxische Nebenwirkungen auf (16).

#### Effekte auf das angeborene Immunsystem:

Da IL-12 sehr proinflammatorisch wirkt, induziert es auch die Produktion von vielen anderen Zytokinen (IFN- $\gamma$ , GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-6, IL-15, IL-18) (167). Interessant ist, dass INF- $\gamma$  in Form eines positiven Feedbacks die IL-12-Synthese in Phagozyten stimuliert (37).

IL-12 bindet *in vitro* an Rezeptoren von neutrophilen Granulozyten, was eine Aktivierung von Ca<sup>2+</sup> und eines Tyrosin-Signalweges zur Folge hat (40). Dies könnte eine hervorragende adjuvante Eigenschaft von IL-12 sein, da neutrophile Granulozyten als Vermittler zwischen dem angeborenen und erworbenen Immunsystem fungieren können. Denn neutrophile Granulozyten antworten nicht nur auf Zytokine, sondern synthetisieren auch Zytokine und Chemokine, die wiederum in der Lage sind, andere Immuneffektor-Zellen anzulocken (41, 69).

Abgesehen davon wurde beobachtet, dass die Konzentration sezernierter Phospholipase A<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>) im Serum ansteigt (166). Es besteht die Annahme, dass sPLA<sub>2</sub> aus Endothelzellen als Antwort auf IL-12-medierte TNF- $\alpha$ - und IL-6-Synthese freigesetzt wird. Dieses lipolytische Enzym setzt Fettsäuren, in der Regel die Arachidonsäure, aus Membranphospholipiden frei (46). Sie werden als sehr starke Mediatoren der Entzündungsantwort gesehen. Zusammenfassend gesagt, sind die proinflammatorischen Eigenschaften des IL-12 insofern von großer Bedeutung, da sie eine Aktivierung und Chemotaxis

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

eigener Immunzellen und somit eine Rekrutierung von spezifischen Immunzellen bewirken (165).

IL-12 könnte auch die Effektivität des Immunsystems gegenüber Tumor-Antigenen fördern, da die Aktivierung multipler Entzündungssysteme in einem „*danger signal*“ resultiert (142).

Eine weitere wichtige Eigenschaft des IL-12 ist die Unterstützung der Funktion Dendritischer Zellen (DC). IL-12 fördert auch indirekt, via Induktion proinflammatorischer Zytokine (TNF- $\alpha$ , IL-6 und GM-CSF), die Differenzierung und Reifung Dendritischer Zellen (165).

#### Effekte auf das erworbene Immunsystem:

MHC-beschränkte, antigen-spezifische T-Lymphozyten gelten als wichtige Effektor-Mechanismen gegen Tumoren. Zytokine, die im mikroskopischen Umfeld zum Zeitpunkt einer initialen Antigenstimulation anwesend sind, steuern die Differenzierung naiver T-Zellen in effektive T-Zell-Untereinheiten (Th1, siehe **7.1.1.10**) (106, 165). In Anwesenheit von IL-12 differenzieren sich T-Zellen in funktional definierte Th1-Untereinheiten aus, die an der zellulären Immunantwort beteiligt sind. Zudem ist IL-12 ein wichtiger Kostimulator für die Proliferation und letztendlich auch für die Aktivierung der vollständig ausdifferenzierten Th1-Zellen und deren IFN- $\gamma$ -Sekretion (88).

T-Lymphozyten besitzen eine hohe Rezeptorenaffinität gegenüber IL-12. Diese Rezeptoren sind aus zwei Untereinheiten, IL-12R $\beta_1$  und IL-12R $\beta_2$ , zusammengesetzt (168). Th1-Zellen weisen beide Untereinheiten auf (165). Wenn sich allerdings T-Helfer-Zellen (CD4<sup>+</sup>-T-Zellen) entlang dem Th2-Pfad differenzieren und die humorale Immunantwort unterstützen, verlieren sie selektiv IL-12R $\beta_2$  und sind somit für IL-12 nicht mehr ansprechbar (199). Der Th1-Einsatz wird durch IFN- $\gamma$  gesteigert, was zur Folge hat, dass die Anzahl der IL-12-Rezeptoren steigt (209). Ist diese Th1-Antwort *in vivo* einmal induziert, ist IL-12 in den meisten Fällen nicht mehr nötig, um diese Immunantwort aufrechtzuerhalten (87). Diese Beobachtung ist für die Entwicklung von Vakzinierungsstrategien sehr wichtig, da dies streng genommen bedeutet, dass die Substitution von Vakzinen mit IL-12 nur sinnvoll ist, wenn eine Induzierung und Stabilisierung erreicht werden soll (165).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Einige vorklinische Studien zeigten, dass hrIL-12 im caninen Immunsystem biologisch aktiv ist. Da es relativ unwahrscheinlich ist, dass canines rekombinantes IL-12 jemals kommerziell erhältlich sein wird, könnte rhIL-12 für Hunde eine viel versprechende alternative Behandlungsmöglichkeit sein, sobald es für die Behandlung von Menschen auf dem Markt bezogen werden kann. Denn es wurde festgestellt, dass rhIL-12 *in vitro* die zytotoxische Immunantwort von Effektor-Lymphozyten (CD8<sup>+</sup>-T-Zellen) kranker Hunde gegenüber dem eigenen Tumor signifikant steigern kann (97).

#### **7.1.1.12 Interleukin-15**

Interleukin-15 (IL-15) ist ein pleiotropes Zytokin, das sowohl für die angeborene, als auch für die erworbene Immunität wichtige Funktionen erfüllt (136, 121).

Bei IL-15 handelt es sich um einen T-Zell-Wachstumsfaktor, der T-Zellen vor ihrem Zelltod schützt, deren Homöostase und die Proliferation von Memory-CD8<sup>+</sup>-T-Zellen fördert (227, 73, 215).

Die Aufrechterhaltung von Memory-CD8<sup>+</sup>-T-Zellen wird durch zwei Mechanismen bewerkstelligt. Zum einen geschieht dies durch Stimulation einer langsam ablaufenden homöostatischen Proliferation, zum anderen unterstützt es Faktoren (z. B. das antiapoptotische Protein Bcl-2), die das Überleben von T-Zellen fördern (17).

Darüber hinaus fungiert IL-15 als Kostimulator bei der Produktion proinflammatorischer Zytokine durch NK-Zellen. Mittlerweile nimmt man auch an, dass es die Reifung von antigen-präsentierenden Zellen begünstigt. Diese Tatsache könnte natürlich für eine auf T-Zellen basierenden Immuntherapie gegen Tumoren von großem Vorteil sein (136, 121).

#### **7.1.1.13 Interleukin-18**

Interleukin-18 (IL-18) ist ein Zytokin, das von einer Vielzahl von Zellen freigesetzt wird: von Makrophagen, Kupfferschen Sternzellen, Dendritischen Zellen, Langerhansschen Zellen, B-Zellen, Keratinozyten, Epithelzellen des Darmes und der Lunge und von osteoblastischen Bindegewebszellen.

Seine antitumorale Wirkung beruht auf der Fähigkeit, die Th1-Differenzierung aus antigen-stimulierten T-Zellen zu steigern und die zytotoxische Aktivität von

NK-Zellen und von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen anzukurbeln. Darüber hinaus bewirkt es eine Hemmung der Angiogenese (155).

### **7.1.2 Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor (GM-CSF)**

Endogene „*colony-stimulating-factors*“ (CSF) wurden nach ihrer Fähigkeit benannt, bestimmte Blutzellen in Kultur stimulieren zu können. CSF stellen eine Glykoprotein-Klasse dar, die auf hämatopoetische Zellen wirkt, indem sie an spezielle Rezeptoren an der Zelloberfläche bindet und somit deren Proliferation, Differenzierung, Einsatz und Zellfunktion stimuliert (55).

Es existieren vier Hauptvertreter der CSF (67):

- GM-CSF (*granulocyte-macrophage-colony-stimulating-factor*),
- G-CSF (*granulocyte-colony-stimulating-factor*),
- M-CSF (*macrophage-colony-stimulating-factor*)
- und multi-CSF (identisch mit IL-3, siehe **7.1.1.3**)

GM-CSF ist ein 14 - 35 kD schweres, monomeres Protein, das aus 127 Aminosäuren mit zwei Glykosylationsstellen besteht, wobei vollständig glykosyliertes GM-CSF *in vivo* biologisch aktiver ist als nicht-glykosyliertes GM-CSF (109). GM-CSF wird von einer Vielzahl von Zellen produziert. Dabei handelt es sich in erster Linie um T-Zellen, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen (107).

Es konnten - nach Produktionsart - drei Typen von rekombinantem GM-CSF gewonnen werden (6):

- aus Hefekulturen gewonnenes rhGM-CSF (*Saccharomyces cerevisiae*; *sargramostim*),
- aus Bakterien gewonnenes rh-GM-CSF
- und aus Säugetierzellkulturen gewonnenes rh-GM-CSF (aus Ovarzellen des Chinesischen Hamsters; *regramostim*).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

**Tab. 7: Funktionen von GM-CSF**

1. Produktion, Proliferation und Differenzierung myeloischer Vorläuferstammzellen von neutrophilen Granulozyten, eosinophilen Granulozyten, Monozyten und DC;
2. Stimulation von DC;
3. Aktivierung von T-Lymphozyten und Steigerung der CD4<sup>+</sup>-T-Zell-Aktivität;
4. Unterstützung der Expression von MHC-I und -II und von kostimulatorischen Molekülen;
5. Hemmung der durch den Tumor induzierten Immunsuppression von DC;
6. Stimulation der Hämatopoese;
7. Bildung von LAK-Zellen und Unterstützung ihrer Funktion;
8. Hemmung der Angiogenese im Tumor

*Legende:*

DC = Dendritische Zellen; MHC = *major-histocompatibility-complex*;

LAK-Zellen = lymphokin-aktivierte Killer-Zellen

Wie aus Tabelle 7 hervorgeht, erfüllt GM-CSF zahlreiche Funktionen:

- GM-CSF kurbelt das Immunsystem an, indem es die Produktion, Proliferation und Differenzierung myeloischer Vorläuferstammzellen von neutrophilen Granulozyten, eosinophilen Granulozyten, Monozyten und Dendritischen Zellen stimuliert. G-CSF hingegen wirkt selektiv auf Zellen der granulozytären Zelllinie ein (32). Die antitumoralen Effekte von GM-CSF beruhen v. a. auf der gesteigerten Zytotoxizität der peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) und der verstärkten Immunogenität der Tumorzellen durch eine verbesserte Antigenpräsentation (77).
- GM-CSF hat die Fähigkeit, zusammen mit Erythropoetin, die Proliferation von erythroiden und megakaryozytären Progenitorzellen zu stimulieren. Dadurch greift es wirkungsvoll in die Hämatopoese ein (145, 47).
- GM-CSF spielt eine wichtige Rolle bei der Aktivierung von T-Lymphozyten und kann Dendritische Zellen (DC), die die Hauptvertreter der antigen-präsentierenden Zellen (APC) sind, stimulieren. GM-CSF beeinflusst die Expression von MHC-II-Molekülen auf Makrophagen und DC positiv. GM-CSF stimuliert zum einen die T-Zell-

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

vermittelte Immunantwort und zum anderen, über eine gesteigerte Antigenpräsentation durch DC, die Immunogenität von Tumoren (77, 116, 32). GM-CSF ist für das Überleben und die Differenzierung von DC sehr wichtig (7). Dendritische Zellen sind imstande, neoplastische Zellen, die aus körpereigenen Zellen entstanden sind, zu erkennen, zu verschlingen und deren Antigenstruktur an ihre Zelloberfläche zu bringen. Diese ausgereiften DC wandern nun zu Lymphknoten, wo das derartig präsentierte Antigen von  $CD4^+$ -T-Zellen erkannt wird.  $CD4^+$ -T-Zellen leiten nun die Entwicklung einer humoralen (B-Zellen, Antikörper) oder einer zellulären Immunantwort ( $CD8^+$ -T-Zellen) ein (6). Diese Zellaktivitäten können durch GM-CSF-Stimulation deutlich gesteigert werden, indem es sowohl die Expression von MHC-I und -II als auch die Expression von Kostimulations- und Adhäsionsmolekülen sowie die Produktion anderer Zytokine (z. B. IL-1, TNF, IL-6) (die wiederum das Wachstum und die Differenzierung von T- und B-Lymphozyten fördern) intensiviert (6, 7). Da GM-CSF auch die Differenzierung von DC beeinflusst, wird es in zunehmendem Maße auch für den Einsatz als Vakzine-Adjuvans interessant. Da die meisten Tumorpatienten eine defekte T-Zellfunktion und eine verminderte Anzahl und Funktion Dendritischer Zellen aufweisen, könnte GM-CSF ein großes Potential im Kampf gegen Tumoren bereitstellen (32).

- Abgesehen davon unterstützt GM-CSF die IL-2-vermittelte T-Zell-Proliferation und steigert, gemeinsam mit IL-2, die Bildung von LAK-Zellen und deren Funktion und fördert die antikörper-vermittelte Zytotoxizität von Lymphozyten und Monozyten (141, 15).
- In tumor-infiltrierenden Makrophagen wird zusätzlich die Sekretion einer Metalloelastase, mit nachfolgender Bildung von Angiostatin, gefördert, welches die Angiogenese von Tumor und Metastasen hemmen kann (59).

In der Tiermedizin wurde die Wirkung von humanem GM-CSF an Katzen erprobt, die an FIV (felines Immundefizienzvirus) erkrankt waren. Man erhoffte sich die gleiche Wirkung wie beim Menschen, also einen Effekt auf zirkulierende Leukozyten. Man stellte fest, dass dies nicht der Fall ist, da sich

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

die Kreuz-Aktivität der Zytokine zwischen den beiden Spezies als limitierend darstellt (86, 197).

Das feline GM-CSF zählt 127 Aminosäuren und weist eine 69 %ige und 73 %ige Homologie mit dem jeweiligen humanen bzw. caninen Protein auf (64). Verglichen mit der Wirkung auf humane Zellen, zeigt huGM-CSF bei Katzenzellen nur eine eingeschränkte Wirkung und erzielt weder bei murinen noch bei ovinen Zellen einen biologischen Effekt (86, 197, 4).

Dies zeigt, dass bei GM-CSF eine gewisse Spezies-Spezifität vorliegt. Der Wirkungsverlust dieses Wachstumsfaktors auf speziesfremde Zellen wird zusätzlich durch die Bildung von Antikörpern verstärkt, was sich in der Anwendung bei Katzen bestätigte (91). Rekombinantes felines GM-CSF (rfeGM-CSF) eignet sich als Vakzine-Adjuvans und zur Kultivierung von feline DC (64).

Beim Einsatz von GM-CSF bestimmt die Dosis das Auftreten und die Intensität von Nebenwirkungen. Bei angepasster Dosis werden beim Menschen nur milde bis moderate Nebenwirkungen beobachtet. Diese „*flu-like-symptoms*“ äußern sich in Fieber, Myalgien, Osteoneuralgien, Ekzemen, Müdigkeit, Vomitus und Diarrhö. Auch Reaktionen an der Injektionsstelle werden beobachtet (196, 32). Bei Überdosierung kann es zur „*first-dose-reaction*“ kommen, einem Syndrom aus Hypoxie und Hypotension, aber es werden auch Thrombosen und Perikarditiden beobachtet (196). Viele Nebenwirkungen werden jedoch nicht durch GM-CSF verursacht, sondern durch die GM-CSF-induzierte Sekretion anderer Zytokine, wie TNF- $\alpha$  (47).

Bei Katzen, die mit rhGM-CSF behandelt werden, treten v. a. Irritationen an der Injektionsstelle und Fieber auf (4).

Bei der Behandlung von Rindern wird nach subkutaner (s.c.) Injektion ebenfalls Fieber beobachtet (102). Nach Injektion (s.c.) von cGM-CSF kann bei Hunden eine gesteigerte Zirkulation von Neutrophilen, Lymphozyten und Monozyten registriert werden sowie eine dosisabhängige Thrombozytopenie, welche aus einer gesteigerten Zerstörung der Thrombozyten resultiert, die aber nach Absetzen der Behandlung wieder verschwindet (156, 157).

### **7.1.3 Interferone (IFN)**

Interferone (IFN) sind eine komplexe Gruppe natürlich vorkommender Proteine und Glykoproteine (10). Auch sie verhalten sich pleiotrop. Sie werden von Leukozyten, Fibroblasten, Epithelzellen und verschiedenen Immunzellen sezerniert. Interferone bestehen, je nach Typ, aus 143 - 174 Aminosäuren und ihr Molekulargewicht beträgt zwischen 15 und 27 kD (132). Man unterscheidet dabei: IFN- $\alpha$  (*leukocyte-interferon*), IFN- $\beta$  (*fibroblast-interferon*), IFN- $\gamma$  (*immune-interferon*) und IFN- $\omega$  (10, 132).

Man unterteilt diese Proteine in zwei Klassen (einerseits hinsichtlich ihrer strukturellen und funktionellen Kriterien und andererseits nach Stimuli, welche ihre Expression induzieren):

- 1) *Typ-I-Interferone* werden von nahezu allen somatischen Körperzellen produziert und primär bei der Immunantwort gegen virale Infektionen induziert. Sie werden aufgrund ihrer zellulären Herkunft in drei weitere Untergruppen unterteilt (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  (wird auch durch bestimmte Lipopolysaccharide induziert (132)) und IFN- $\omega$ ).
- 2) *Typ-II-Interferone* werden hauptsächlich von T-Lymphozyten (CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>), NKT-Zellen (exprimieren sowohl aktivierende und inhibitorische NK-Zell-Rezeptoren als auch T-Zell-Rezeptoren) und NK-Zellen produziert, die zuvor durch Mitogene oder Antigene aktiviert wurden. Der Hauptvertreter dieser Klasse ist das IFN- $\gamma$  (111, 132).

Interferone wirken hemmend auf die Proliferation von Zellen, sie fördern die Differenzierung von T-Zellen (IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$ ) und von myeloischen Zellen (IFN- $\gamma$ ). Die Typ-I-Interferone IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$  wirken eher antiinflammatorisch, da sie die Bildung antiinflammatorischer Zytokine (z. B. IL-10) anregen. Das Typ-II-Interferon IFN- $\gamma$  führt u. a. zu einem Anstieg des TNF- $\alpha$ , der zu den proinflammatorischen Zytokinen gerechnet wird (Tab. 8).

Interferone agieren über einen kaskadenartigen Mechanismus, der sowohl extra- als auch intrazellulär stattfindet. Ihre Zielzellen tragen auf der Zelloberfläche Rezeptoren, welche aus zwei Untereinheiten bestehen. Findet eine Bindung mit einem Interferon statt, werden spezielle Kinasen aktiviert, wodurch zytoplasmatische Moleküle phosphoryliert und die Transkriptasen der

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

interferon-stimulierten Gene getriggert werden. Auf diese Weise erfolgt eine Übertragung auf die mRNA. Das Ende der Kaskade, hier stark vereinfacht dargestellt, besteht in der Synthese bestimmter Proteine, z. B. der 2'-5'-Oligo-Adenylat-Synthetase (OAS) und des Interferon-Regulationsfaktors-1 (IRF-1). Die OAS ist an antiviralen und antiproliferativen Vorgängen beteiligt, die durch Interferone mediiert werden. IRF-1 ist in der Lage, die Wirkungen der Interferone zu verstärken, indem es eine weitere Expressionswelle induzierter Gene auslöst. IRF-1 kann jedoch im Falle einer überschießenden Reaktion durch bestimmte Interferone wieder gehemmt werden (132).

**Tab. 8: biologische Wirkungen der Interferone (111, 132)**

Funktion	Effekt
Proliferation von Zellen	↓
Differenzierung von T-Zellen (IFN- $\alpha$ , $\beta$ ) & myeloischen Zellen (IFN- $\gamma$ )	↑
Phagozytose	↑
Aktivierung von Effektorzellen	↑
Produktion von TNF- $\alpha$	↑
Produktion Interleukin-10	↑
Zellanheftung	↓
Tumorvaskularisation	↓

*Legende:*

IFN = Interferon; TNF- $\alpha$  = Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$

Die biologischen Aktivitäten der einzelnen Interferone, sei es ihre antivirale, antitumorale oder immunmodulierende Wirkung, werden durch ihre individuellen Unterschiede im Erkennen von Rezeptoren und ihrem Bindungsverhalten geprägt (132).

CD4<sup>+</sup>-T-Zellen können sich in zwei Untereinheiten (Th1 und Th2) polarisieren, deren Funktion von der Zytokin-Produktion der jeweiligen Untereinheit bestimmt wird. Th1-Zellen setzen IFN- $\gamma$ , IL-2 und TNF- $\beta$  frei und rufen sowohl eine zelluläre Immunität als auch eine phagozytäre Entzündung hervor, indem sie die Entwicklung aktivierter Makrophagen und zytotoxischer CD8<sup>+</sup>-T-Zellen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

antreiben (Tab. 8). Diese zelluläre Untereinheit stellt einen kritischen Punkt in der Entwicklung einer zellulären Immunantwort dar. Im Kontrast dazu, setzen Th2-Zellen Zytokine (z. B. IL-4 und IL-5) frei, die die Entstehung einer Antikörper-Antwort begünstigen. Sie sind somit für das Zustandekommen von humoralen Immuneffektor-Funktionen entscheidend. IFN- $\gamma$  und IL-12 sind diejenigen Zytokine, welche hauptsächlich die Ausbildung von Th1-Zellen prägen, wohingegen IL-4 für die Entwicklung von Th2-Zellen unerlässlich ist. Interessant ist, dass IFN- $\gamma$  während der Th1-Zell-Entwicklung zwei Funktionen erfüllt. Während CD4<sup>+</sup>-Entwicklung steigert es einerseits die IL-12-Produktion und die Ansprechbarkeit der geeigneten Zelltypen und blockiert andererseits die Entstehung von Th2-Untereinheiten. Diese Blockade wird durch zwei Mechanismen bewerkstelligt. Erstens wird die Synthese von IL-4 aus undifferenzierten antigen-stimulierten T-Zellen gehemmt und somit auch die Produktion von Zytokinen, die für die Th2-Entwicklung essentiell sind. Zweitens wird die Proliferation von Th2-Zellen direkt gehemmt (111).

IFN- $\gamma$  ist ein Zytokin, das in frühen (angeborenen) und späten (erworbenen) Stadien der Immunantwort von NK-Zellen und aktivierten T-Zellen freigesetzt wird und fungiert, wie oben beschrieben, in vielerlei Hinsicht als Regulator des Immunsystems (26).

Die Synthese von IFN- $\gamma$  wird durch verschiedene Auslöser, wie z. B. Nukleinsäuren oder bakterielle Lipopolysaccharide, induziert. Die IFN- $\gamma$ -Synthese kann in Abhängigkeit von der Stärke des Stimulus entweder lokal oder systemisch erfolgen. IL-2, ein Th1-Zytokin, induziert die Produktion von IFN- $\gamma$ , das als Hauptzytokin der Typ-1-Lymphozytenantwort (durch Th1-Zellen) gilt (Tab. 9) (70, 75).

IFN- $\gamma$  ist ein potenter Makrophagen-Aktivator und agiert hauptsächlich in initialen Phasen der Monozyten-Differenzierung (Tab. 9). Monozyten (bzw. Makrophagen) unterliegen nach IFN- $\gamma$ -Kontakt biochemischen und morphologischen Modifikationen, welche es ihnen ermöglichen, ihre Funktionen zu erfüllen (187). Partiiell geschieht dies auch via autokriner Aktivierung von IL-6 und M-CSF, was allerdings durch IL-4 antagonisiert werden kann. DC und Makrophagen erfüllen bei der Immunantwort verschiedene Aufgaben.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Ihr antiproliferativer Effekt auf Tumorzellen setzt sich einerseits aus einer direkten Wirkung auf maligne Zellen und andererseits aus einer Stimulation der Abwehrzellen zusammen (14). Während DC spezifische Immunantworten in Gang setzen, offenbaren insbesondere durch IFN- $\gamma$  aktivierte Makrophagen ein großes Potential hinsichtlich ihrer bakteriziden und antitumoralen Aktivität (50).

**Tab. 9: biologische Effekte von IFN- $\gamma$  auf Makrophagen** (89, 200, 111, 125, 179)

Funktion	Effekt
Makrophagen-Aktivierung	↑
Zytokin-und Chemokin-Produktion	↑↓
MHC-I und -II-Antigen-Expression	↑
Angiogenese	↓
Antigenerkennung	↑
Zelldifferenzierung	↑
antivirale Aktivität	↑
Th1-Entwicklung	↑

Legende:

MHC = *major-histocompatibility-complex*; Th1 = CD4<sup>+</sup>-T-Zell-Polarisation

Abgesehen von seiner antiviralen Aktivität (Tab. 9), dirigiert IFN- $\gamma$  das Leukozyt-Endothel-Zusammenspiel und spielt *in vivo* eine entscheidende Rolle in der Tumorüberwachung durch das Immunsystem (190). Interferone wirken auf die extrazelluläre Matrix insofern, als dass sie die Zellanheftung stören und die Proliferation der Endothelzellen und die Produktion bestimmter Membranantigene (HLA-Klasse-I und -II, VLA-4, ICAM-1, E- und P-Selektine) fördern (Tab. 8) (132).

IFN- $\gamma$  bewirkt auf verschiedenen Tumorzelllinien *in vitro* eine Hochregulierung von MHC-I- und MHC-II-Molekülen (220, 8, 225). Canine Tumorzellen zeigen nach Stimulation mit cIFN- $\gamma$  eine erhöhte Expression von MHC-I- und MHC-II-Molekülen, wodurch die Präsentation tumor-assoziiertes Antigens (TAA)

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

verstärkt wird. Die Antigenerkennung wird somit erleichtert und es kommt, nach Einwanderung der Entzündungszellen ins Tumorgebiet, zur zell-vermittelten Lyse der Tumorzellen durch CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (Tab. 9). CD8<sup>+</sup>-T-Zellen werden ebenfalls durch IFN- $\gamma$  aktiviert und weisen eine verlängerte Lebensdauer auf (Tab. 8) (220). Es werden auch andere Moleküle, die der Antigenpräsentation dienen, verstärkt exprimiert. Zu ihnen zählen z. B. der Fc-Rezeptor und der IL-2-Rezeptor auf der Zelloberfläche von T-Lymphozyten (47). Die Tumorumgebung wird auch von Makrophagen, auf deren Oberfläche ebenfalls vermehrt MHC-Moleküle exprimiert werden, infiltriert und so die Erkennung von Tumorzellen auch auf diesem Wege unterstützt (137, 81).

Über eine weitere tumorizide Wirkungsweise von IFN- $\gamma$  wird derzeit noch diskutiert. Es besteht die Möglichkeit, dass IFN- $\gamma$  anhand einer TRAIL-Modulierung („*TNF-related-apoptosis-inducing-ligand*“) eine Apoptose bei unterschiedlichen Zell- und Tumorzelltypen hervorrufen kann (200, 125, 179). Jedoch steigert IFN- $\gamma$ , entsprechend einem antiapoptotischen Effekt, auch die Sekretion von Immunglobulinen (47).

IFN- $\gamma$  induziert u. a. die Sekretion von TNF- $\alpha$  und die Transkription der Gene G-CSF und M-CSF in Monozyten/Makrophagen. Es wirkt außerdem synergistisch mit IL-2. Durch die Kombination der beiden Th1-Zytokine können aktivierten B-Zellen Signale zur Differenzierung übermittelt werden (Tab. 9). Ergebnisse deuten darauf hin, dass zumindest einige der antitumoralen Effekte von IFN- $\gamma$  durch Mechanismen veranlasst werden, die eine Hemmung der Angiogenese innerhalb des Tumors bewirken (Tab. 9). Tumoren, die sich im Wachstum befinden, benötigen die Ausbildung neuer Blutgefäße zu Ernährungszwecken. Der angiogenetische Status eines Tumors spiegelt die Balance zwischen proangiogenetischen und antiangiogenetischen Molekülen wieder, die im Tumor synthetisiert werden. Bei dem VEGF („*vascular-endothelial-growth-factor*“) und dem bFGF („*basic-fibroblast-growth-factor*“) handelt es sich um solche proangiogenetischen Moleküle. Fragmente von Plasminogen und Kollagen-XVIII (z. B. Angiostatin und Endostatin) scheinen ein Potential an antiangiogenetischer Aktivität zu besitzen. Die Synthese dieser angiostatisch wirkenden Moleküle scheint nicht direkt von der Präsenz oder Abwesenheit von IFN- $\gamma$  abhängig zu sein. Es wurde eine Familie interferon-

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

induzierter Chemokine identifiziert, die potente angiostatische Fähigkeiten aufzeigt. IP-10 war das erste dieser Familie angehörende Chemokin, das entdeckt wurde. Es handelt sich hierbei um ein Protein, das bereits nach sehr kurzer Zeit von durch IFN- $\gamma$  beeinflussten Zellen induziert und sezerniert wird. Dieses Protein scheint nicht nur eine chemotaktische Aktivität bezüglich T-Zellen zu haben, sondern ist auch in der Lage, eine Neovaskularisierung zu blockieren und somit ein Tumorwachstum zu hemmen (Tab. 9) (111).

Bei der Behandlung mit IFN- $\gamma$  können Nebenwirkungen in Form einer Erhöhung der Körpertemperatur um bis zu 2°C (ausgelöst durch direktes oder indirektes Einwirken auf das Thermoregulationszentrum des Hypothalamus) (24), oder Symptome, wie z. B. Müdigkeit, Erbrechen und Anorexie (als Folge einer Beeinträchtigung der Gehirnventrikel) in Erscheinung treten. Darüber hinaus ist es möglich, dass sich im Verlauf einer Behandlung mit IFN- $\gamma$  eine Myelosuppression entwickelt. Bei einer längerfristigen Verabreichung von IFN- $\gamma$  besteht die Gefahr, dass Autoimmunkrankheiten ausgelöst oder verstärkt werden können (25).

Das feline IFN- $\gamma$  besteht aus 167 Aminosäuren und weist auf Proteinebene nur eine 63 %ige bzw. 43 %ige Homologie mit dem menschlichen bzw. murinen IFN- $\gamma$  auf (5, 185).

Das Aktivitätsspektrum des für die Veterinärmedizin zur Verfügung stehenden rekombinanten feline IFN- $\omega$  entspricht in etwa demjenigen von IFN- $\alpha$  und IFN- $\beta$ , da es wie diese als Typ-I-Interferon klassifiziert wurde (132). Diese sich stark unterscheidenden Aminosäuresequenzen sind für die ausgeprägte Spezies-Spezifität dieses Zytokins ausschlaggebend.

Rekombinantes feline IFN- $\omega$  ist als Virbagen Omega<sup>®</sup> (Laboratoire Virbac, Carros Cedex, Frankreich) oder Intercat<sup>®</sup> (Toray Industries, Tokyo, Japan) zum klinischen Einsatz bei Hund und Katze in Deutschland und in verschiedenen anderen Ländern zugelassen. In der Humanmedizin ist derzeit IFN- $\gamma$  als rekombinantes Protein (Imunkin<sup>®</sup> von Boehringer Ingelheim) zur Behandlung der chronischen Granulomatose und mehrere Interferon- $\alpha$ -Präparate (Roferon<sup>®</sup>-A von Roche; Intron A und PegIntron von Essex pharma) auf dem Markt erhältlich.

#### **7.1.4 Tumor-Nekrose-Faktor (TNF)**

Der Tumor-Nekrose-Faktor (TNF), aufgetrennt in TNF- $\alpha$  (*Cachectin*) und TNF- $\beta$  (*Lymphotoxin*), ist ein wichtiges proinflammatorisches, von Makrophagen stammendes Zytokin, das v. a. bei der durch Endotoxine hervorgerufenen Immunantwort freigesetzt wird (36).

Diesem Faktor werden aber auch eine antimikrobielle Wirkung und eine Wirksamkeit bei der Pathogenese von Krankheiten mit einer immun-medierten und/oder entzündlichen Komponente zugeschrieben (148, 11).

Der TNF wirkt zytotoxisch auf Tumorzellen *in vitro* und *in vivo*, da er eine hämorrhagische Nekrose in Tumoren hervorruft, normale Zellen aber unbeeinflusst lässt (36). Zudem unterstützt er Differenzierung, Funktionen und Antigen-Expression auf der Zelloberfläche von malignen und normalen Zellen (189, 164, 218).

Im Gegensatz zu Interferonen, scheint der TNF nicht artenspezifisch zu wirken (127). Man geht allerdings davon aus, dass die zytotoxische Wirkung nicht alleine auf der Anwesenheit von TNF, sondern auch auf der Dichte der tatsächlich vorhandenen Rezeptor-Ligand-Interaktionen basiert (163). Darüber hinaus wird ein Zusammenhang zwischen der Immunogenität des Tumors und einer TNF-induzierten Tumorregression vermutet, was darauf hindeutet, dass andere Immunkomponenten auch hier eine wichtige Rolle spielen (9).

In diesem Zusammenhang ist der „*tumor-necrosis-factor-related-apoptosis-inducing-ligand*“ (*TRAIL*) zu nennen. Der TRAIL wird zur Familie der Tumor-Nekrose-Faktoren gezählt und wurde als Typ-II-Transmembran-Zytokin-Molekül klassifiziert. *In vitro* wurde ihm eine apoptose-induzierende Wirkung anhand einer Vielzahl verschiedener Tumorzelllinien nachgewiesen. *In vivo* wurde bei der Anwesenheit von TRAIL eine spezifische Wachstumsunterdrückung von Tumoren festgestellt, ohne dass dabei normale Zellen oder gesundes Gewebe geschädigt werden (123).

Im Rahmen der Genterapie könnte der TRAIL in Form eines sezernierbaren trimerischen TRAIL (stTRAIL), kodiert und freigesetzt durch attenuierte Adenoviren (Ad-stTRAIL), welche hierbei als Vektoren dienen sollen, eine weitere Therapiemöglichkeit darstellen. Im Tiermodell wurde bereits nach intramuskulärer Applikation eine hochgradige Unterdrückung des Tumor-

wachstums beobachtet, ohne dass dabei irgendwelche Nebenwirkungen registriert werden konnten (123).

## **7.2 Spezieller Teil**

Zytokine werden auch in der Tiermedizin zur Behandlung solider Tumoren angewendet (174). In zahlreichen Studien wurden die Wirkungsweise und der eventuell damit verbundene therapeutische Erfolg an verschiedenen Tumoren bei Haustieren (Hund, Katze, Pferd und Rind) untersucht. Zytokine fanden ihre Anwendung in solitärer Form oder als Zytokin-Kombination, aber meist in Verbindung mit anderen Therapieformen (chirurgische Exzision, Chemotherapie und Bestrahlungstherapie) (170).

Im Rahmen einer immunologischen Tumor-Gentherapie steht das Einbringen eines therapeutischen Gens in eine Zielzellpopulation im Mittelpunkt des Geschehens. Als mögliche Zielzellen gelten Tumorzellen oder spezifische Effektorzellen des Immunsystems.

Innerhalb der Bekämpfungsmöglichkeiten von Tumoren stellen sich zwei Kategorien zur Wahl:

- 1) Ziel: Es soll eine genetische Korrektur der abnormalen Tumorzellen erfolgen.

Beurteilung: Es ist unmöglich, das therapeutische Gen in jede Zielzelle zu verbringen, was aber notwendig ist, da bekanntlich nur ein einziges mutiertes Onkogen Auslöser für Tumorwachstum sein kann.

- 2) Ziel: Die abnormale Tumorzelle soll zerstört werden, was durch das Immunsystem per se oder durch direkte toxische Einwirkung auf die Tumorzelle erfolgen kann (214).

Beurteilung: Das Immunsystem ist nicht immer in der Lage, eine angemessene antitumorale Immunantwort zu entwickeln. Mit Hilfe immuntherapeutischer Interventionen kann aber diese Entwicklung unterstützt und die Anzahl effektiver Immunzellen gesteigert werden (66, 211).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Um dies erreichen zu können, besteht die Möglichkeit, dass man immunologische Effektorzellen derart modifiziert, dass diese in der Lage sind, Tumorzellen besser zu erkennen und demzufolge weitere unterstützende Zytokine zu exprimieren. Man kann aber auch Tumorzellen einer Alteration unterziehen, um eine Steigerung der Immunogenität zu erreichen (21).

Es gibt verschiedene Strategien, eine Freisetzung von Zytokinen zu bewirken. *In vivo* kann dies durch Applikation von Zytokinen per se oder in Kombination mit einem immunogenen Stoff induziert werden. Es können aber auch Tumorzellen, die zuvor mit Zytokin-Genen modifiziert wurden, in Form eines Impfstoffes, verabreicht werden. Das Wort „Impfstoff“ bezieht sich in diesem Zusammenhang auf eine modifizierte Antigen-Quelle (Tumorzellen), die zur Aktivierung einer Immunantwort gegenüber einem bereits vorhandenen Tumor oder dessen Metastasen dienen soll. Dies sollte nicht mit einer gewöhnlichen passiven Impfung verwechselt werden, da diese als Prophylaxe gegen Krankheiten Anwendung findet (105).

Im Rahmen der Immuntherapie wurden unter diesen Gesichtspunkten unterschiedliche Strategien entwickelt. Bei der Verwendung von Tumorzellen werden Tumorzellen *ex vivo* mit Zytokin-Genen, Antigenen oder allogenen MHC-Molekülen genetisch modifiziert und nach Bestrahlung wieder reinjiziert. Dieses Verfahren soll die Immunogenität der Tumorzellen verstärken (66, 211, 129, 125). Des Weiteren besteht die Möglichkeit, gegen spezifische klonierte tumor-assoziierte Antigene (TAA) zu immunisieren (214, 211). Man kann *ex vivo* Effektorzellen (z. B. tumor-infiltrierende Lymphozyten (177), Dendritische Zellen (211)) mit Hilfe von „*biological-response-modifiers*“ (BRMs) derart modifizieren und expandieren lassen, dass *in vivo* nach Reinjektion eine Optimierung der TAA-Präsentation erzielt werden kann (172).

Die Verwendung autologer Tumorzellvakzinen hat unter anderem den Nachteil, dass für jeden einzelnen Patienten eine Tumorzelllinie hergestellt und deren Modifizierung *in vitro* durchgeführt werden muss (66). Im Falle einer antigenspezifischen Immunisierung ist die Identifikation des spezifischen Tumorantigens unerlässlich, so dass auch in dieser Hinsicht ein weiterer Arbeitsaufwand erforderlich ist (siehe **9.1**).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Eine alternative Strategie hierzu ist die direkte *In-vivo*-Transfektion von Tumorzellen (211, 62). Bei dieser Methode werden Bestandteile von Mikroorganismen und Zytokin-Gene, welche direkt in den Tumor injiziert werden, benutzt (66, 62, 125). Bakterienwandprodukte (z. B. Lipopolysaccharide oder Muramyldipeptide) und Zytokine (IFN- $\gamma$  oder GM-CSF) werden hierbei zur Entfaltung der zytotoxischen Funktion von Makrophagen verwendet (125). Zweck der Zytokin-Gentherapie ist es, die antitumorale Immunantwort zu verstärken, indem die genetische Information für die Produktion bestimmter Zytokine direkt in normale Zellen und/oder Tumorzellen eingebracht wird (105). Der Vorteil dieses Verfahrens zeigt sich in der Tatsache, dass immun-stimulatorische Proteine lokal produziert werden können und somit an Ort und Stelle eine Immunantwort gegenüber Tumorzellen erfolgen kann. Mögliche Nebenwirkungen, welche v. a. bei systemischer Applikation zum Vorschein kommen, können dadurch weitgehend vermieden werden (79, 66).

Bei der lokalen Immuntherapie soll also folgendes erreicht werden (66):

- 1) Immunzellen sollen an den Ort des Tumorgeschehens gelockt werden.
- 2) Diese Zellen sollen nun die Tumorantigene erkennen und daraufhin in einen aktivierten Zustand übergehen und die Tumorzellen abtöten.
- 3) Diese antitumorale Antwort soll im immunologischen Gedächtnis gespeichert werden, sodass ein Schutz vor Rezidiven oder Metastasen ermöglicht wird.

Eine lokale IL-2-Therapie ist bei einigen Tumortypen definitiv effektiver als die Anwendung einer systemisch applizierten IL-2-Therapie (18).

Die Infiltration von Leukozyten am Entzündungsort erfordert eine koordinierte und in definierten Zeitsequenzen ablaufende lokale Aktivierung von Leukozyten und Endothelzellen. Im Falle einer systemischen IL-2-Anwendung wird vermutet, dass die Leukozyten-Infiltration im Tumorgewebe suboptimal ist und aufgrund dessen eine Koordinationsstörung der lokal ablaufenden Ereignisse entsteht (35). Häufig wird dabei allerdings beobachtet, dass der Einsatz eines einzelnen Zytokins oder einer Zytokin-Kombination (z. B. IL-2, IFN- $\gamma$  und GM-CSF) nicht immer die erhoffte Wirkung zeigt. Grund dafür ist, dass noch weitere Faktoren,

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

wie z. B. Tumortyp und Immunitätslage des Patienten, für das Gelingen einer Zytokin-Therapie ausschlaggebend sind (22).

Trotz alledem hat sich die Kombination von Zytokinen als sinnvoll erwiesen, da daraus resultierende Effekte, seien sie additiv oder synergistisch, von großem Nutzen sein können. Die Zytokin-Kombination aus IL-2, IFN- $\gamma$  und GM-CSF zeichnet sich durch folgende Wirkungen aus:

Kombiniert man IL-2 und IFN- $\gamma$  - es handelt sich bei beiden um Th1-Zytokine - werden immunkompetente Effektorzellen durch IL-2 zur Proliferation und Differenzierung angeregt. Zudem wird durch IFN- $\gamma$  eine gesteigerte MHC-Expression auf Tumorzellen und eine Steigerung der Antigenpräsentation hervorgerufen (84, 228). Außerdem stimulieren IL-2 und IFN- $\gamma$  das Wachstum von NK-Zellen, wobei IFN- $\gamma$  obendrein deren Aktivität zu steigern vermag (206). GM-CSF ist als Komponente attraktiv, da es chemotaktisch auf T-Zellen, tumorinfiltrierende Makrophagen und andere antigen-präsentierende Zellen (APC) wirkt und diese auch aktivieren kann (21, 66, 125, 161). Die T-Zellen sind nun aufgrund der MHC-I-TAA-Komplex-Erkennung in der Lage, die Tumorzellen direkt zu erkennen und abzutöten. Im gleichen Moment findet eine T-Zell-Aktivierung durch Präsentation der TAA über MHC-II-Rezeptoren der APC statt, denn diese nehmen die Antigene der sterbenden Tumorzellen auf und präsentieren sie, im Sinne eines „*cross-primings*“, den T-Helfer-Zellen des Immunsystems (66, 172). Man nimmt an, dass APC nach Antigen-Aufnahme auch in die Milz wandern und dort erneut antigen-spezifische T-Zellen stimulieren, was auch die Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses zur Folge hat (211, 42, 161). GM-CSF und IL-2 ergänzen sich optimal, da beide Zytokine das Tumorwachstum hemmen und eine protektive Immunität gegenüber Metastasen bei manchen Tumorarten erzeugen können (31).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

#### 7.2.1 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes

**Tab. 10: die Anwendung von Zytokinen bei soliden Tumoren des Hundes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes Melanom</b>	Vero-hIL-2-Zellen; L-SEB/cIL-2 (GM-CSF); rhTNF und rhIL-2	170 62, 118 148
<b>Mastzelltumor</b>	rhTNF und rhIL-2	148
<b>Sticker-Sarkom</b>	IL-2	52
<b>Osteosarkom</b>	IL-2-kodierende LDC-Infusion; hIL-2-Liposom-Inhalation	61 122
<b>primäres Lungenkarzinom</b>	hIL-2-Liposom-Inhalation	122
<b>Fibrosarkom</b>	L-SEA/cIL-2; hIL-2-Liposom-Inhalation	203 122
<b>anaplastisches Sarkom</b>	L-SEA/cIL-2	203
<b>maligner Nervenscheidentumor</b>	L-SEA/cIL-2	203
<b>Plattenepithelkarzinom</b>	rhTNF und rhIL-2	148
<b>Mammakarzinom</b>	rhTNF und rhIL-2	148
<b>Synovialzellsarkom</b>	rhTNF und rhIL-2	148
<b>(malignes Lymphom</b>	rhTNF und rhIL-2	148)

*Legende:*

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhTNF = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; LDC = Liposom-DNA-Komplex; L-SEA = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-A; L-SEB = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-B; hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; ( ) = kein solider Tumortyp

Hunde werden häufig in Studien verwendet, da ihr Körper in vielerlei Hinsicht ähnlich dem des Menschen reagiert. In der Tumorforschung sind natürlich entstandene Tumoren des Hundes bessere Modelle als durch Noxen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

(z. B. Bestrahlung) induzierte Tumoren von Versuchsmäusen. Entstehung, Verlauf und mögliches Ansprechen des jeweiligen Tumorgewebes auf eine Therapie sind bei natürlich vorkommenden Tumoren „unverfälscht“.

Diese Studien sind auch für die Tiermedizin von großem Interesse, da auf diese Weise gewonnene Erkenntnisse vielleicht schon in naher Zukunft, eine Grundlage für neue Therapieformen zur Behandlung von Hunden mit Tumoren in der Praxis bieten.

#### *Canines malignes Melanom:*

Das maligne Melanom des Hundes ist ein sehr aggressiver und frühzeitig metastasierender Tumor. Gewöhnliche Behandlungsformen (chirurgische Exzision und <sup>60</sup>Co-Radiotherapie) erwiesen sich als relativ ineffektiv, da sich nach 6 Monaten bei 80 % und nach 18 Monaten bei 100 % der behandelten Hunde ein Rezidiv zeigte (meist Metastasen in Lunge und Lymphknoten). Deshalb versuchte man in Studien, diese Behandlungsverfahren mit gentherapeutischen Maßnahmen zu kombinieren (170).

#### *Behandlung mit Vero-hIL-2-Zellen:*

Durch die adjuvante Gabe von Zytokinen (Vero-hIL-2-Zellen) sollte eine Steigerung der antitumoralen Aktivität und damit eine verlängerte Überlebenszeit der Hunde erzielt werden. Die Lebensqualität der Hunde war oberste Priorität (170).

Man wählte die Vero-Zelllinie (histoinkompatible Zellen) als zellulären Vektor, da sich diese Zelllinie bereits z. B. bei der pharmazeutischen Produktion des humanen Poliovirus-Impfstoffes als sehr effektiv erwiesen hatte (28).

Im Rahmen einer prospektiven randomisierten Studie wurden 32 Hunde mit histologisch nachgewiesenem malignem Melanom diesem Verfahren unterzogen. Dabei dienten 16 der 32 Hunde (50 %) als Kontrollgruppe. 16 der 32 Tiere (50 %) erhielten zweimal pro Woche, über einen Zeitraum von

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

4 Wochen, eine peritumorale (p.t.) Injektion der 1-ml-Lösung, welche eine Konzentration von  $3 \times 10^7$  Vero-hIL-2-Zellen enthielt. Alle 32 Hunde waren im Vorfeld einer chirurgischen Exzision und lokalen Bestrahlung ( $^{60}\text{Co}$ -Radiotherapie) des Tumors unterzogen worden.

Ergebnisse:

- Nach 6 Monaten waren 12 von 16 Hunden (75 %) der Kontrollgruppe, aber nur 5 von 16 Hunden (31 %) der mit Vero-hIL-2-Zellen behandelten Gruppe nach der Entwicklung eines Rezidivs gestorben.
- Nach 12 Monaten lag die Sterberate in der Kontrollgruppe bei 94 % (15 von 16 Hunden) und in der Vero-Gruppe bei 63 % (10 von 16 Hunden). Aufgrund dieser Daten zeigte sich, dass anhand einer direkt peritumoral erfolgenden Vero-hIL-2-Injektion (plus vorhergehender chirurgischer Exzision und lokaler Bestrahlung ( $^{60}\text{Co}$ -Radiotherapie)) ein antitumoraler Effekt bei Hunden mit malignem Melanom bewirkt werden konnte.
- Die mediane Überlebenszeit verlängerte sich von 2,4 Monaten auf 9 Monate (170).

Die mediane Dauer der kompletten Tumorremission ist nicht bekannt. Ein Signifikanzniveau wurde nicht angegeben. Diese Ergebnisse sind im Vergleich zu konventionellen Therapiemethoden als durchaus positiv zu bewerten. Dennoch ist der Beobachtungszeitraum zu kurz gewählt, da hier nach 18 Monaten kein Vergleich der medianen Dauer der kompletten Tumorremission zu medianen Dauer der kompletten Tumorremission konventioneller Therapiemethoden ermöglicht wird.

Ein ähnlicher Erfolg konnte auch anhand einer intratumoralen (i.t.) Vero-hIL-2-Injektion verzeichnet werden (174). In einer prospektiven randomisierten Dosis-Findungs-Studie erhielten neun Tiere (1 Hund mit malignem Melanom, 8 Hunde mit anderen Tumoren) jeweils drei Injektionen von  $5 \times 10^5$  (Dosisstufe 1),  $5 \times 10^6$  (Dosisstufe 2) und  $5 \times 10^7$  Vero-hIL-2 Zellen, verdünnt in 1,0 ml (Dosisstufe 1 und 2) und in 1,4 ml (Dosisstufe 3) eines

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Mediums. Dieser Hund lebte noch nach 24 Monaten und zeigte einen stabilen Krankheitsverlauf.

Ein Wirkungsnachweis konnte unter Verwendung von einem Hund mit malignem Melanom natürlich nicht geliefert werden. Dennoch ist die erreichte Überlebenszeit von mehr als 2 Jahren als sehr gut zu beurteilen.

Es wurden, wie bereits erwähnt, auch Hunde mit anderen Tumoren (z. B. Nierenzellkarzinom, Leiomyosarkom, Synovialzellsarkom) verwendet, da in dieser Studie die Untersuchung serologischer Veränderungen im peripheren Blut im Vordergrund stand.

Hierbei beobachtete man am 5. Tag p.i. einen deutlichen Anstieg der IL-2-Konzentration im Serum ( $p < 0,5$ ), welcher aber am 15. Tag wieder seinen Ausgangswert erreichte.

Als interessant erwies sich die Tatsache, dass lokale Single-Injektionen von IL-2 oder unmodifizierten Vero-Zellen eher zu einer verringerten Überlebenszeit führten. Man vermutete, dass die Kombination von stimulierenden Zytokinen mit den unspezifischen Wirkungen von xenogenen Zellen (Vero-Zellen) unerlässlich sei, wenn eine therapeutische Wirkung erzielt werden soll (170). Denn IL-2 ist in der Lage Natural-Killer-Zellen zu aktivieren, was in einer starken Immunantwort resultiert. Körperfremde Vero-Zellen induzieren einen unspezifischen Reiz, welcher zusätzlich zu einer Hemmung des Tumorwachstums oder eventuell auch zur Abwehr des Tumors beiträgt (34).

*Behandlung mit einer Kombination von IL-2 (oder GM-CSF) und einer für Staphylokokken-Enterotoxin-B (SEB) kodierenden Lipid-Plasmid-DNA-Komplex:*

Superantigene (SAg) sind bakterielle Proteine, die aufgrund ihrer einzigartigen Struktur eine Verbindung zwischen MHC-Molekülen und T-Zell-Rezeptoren herstellen können und somit eine Signal-Transduktion ermöglichen. Die Folge ist eine T-Zell-Proliferation, eine Zytokin-Sekretion (z. B. IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) und somit ein generell gesteigerter zytolytischer Effekt auf maligne Zellen (130, 194). Die lokale Applikation solcher immunmodulatorischer

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Substanzen kann nicht nur eine lokale, sondern auch eine systemische Immunität induzieren (191, 62).

Eine nur lokal erfolgende SAg-Expression ermöglicht eine effektive Aktivierung tumor-infiltrierender Immuneffektorzellen, ohne dass dabei diverse Nebenwirkungen einer systemischen Applikation hervorgerufen werden (62). Kationische Liposom-DNA-Komplexe (CLDC) weisen eine relativ schwache Immunogenität auf und eignen sich für die Freisetzung von Genen, da sie eine Gabe mehrerer Dosen über einen bestimmten Zeitraum erlauben (203).

Eine direkt *in vivo* erfolgende Transfektion von Tumoren (in diesem Falle mit Staphylokokken-Enterotoxin-A-Gen oder -B-Gen und IL-2 bzw. GM-CSF) ist eine Strategie, die viele Vorteile bietet. Unter Verwendung von immunstimulatorischen Genen ist es möglich, eine Immunantwort gegenüber einer größeren Bandbreite von Tumorantigenen zu induzieren, als man dies *in vitro* mit kultivierten Tumorzellen oder mit Dendritischen Zellen erreichen kann. Die Hauptaufgabe des koinjizierten Zytokin-Gens ist möglicherweise, die durch SAg-Gene induzierte Wirkung zu modifizieren und/oder zu steigern. Das IL-2-Gen kann, wenn es lokal zusammen mit SAg exprimiert wird, das lokale Überleben und die Funktion von tumor-infiltrierenden Lymphozyten (TIL) steigern, die *in situ* durch das lokal exprimierte SAg angelockt und aktiviert worden sind (62). Wird statt IL-2 das GM-CSF-Gen eingesetzt, macht man sich dessen Fähigkeit zunutze, Makrophagen und Dendritische Zellen stimulieren und die Antigenpräsentation gegenüber von T-Zellen steigern zu können (162). Die Regression des Tumors und die Entwicklung einer ausgeprägten Infiltration von T-Zellen und Makrophagen sprechen für die Entwicklung einer lokalen und systemischen Immunität (62, 212).

Die Kombination von IL-2 (oder GM-CSF) und einer für Staphylokokken-Enterotoxin-B (SEB) kodierenden Lipid-Plasmid-DNA Komplex erwies sich bei Hunden mit malignen Melanomen unterschiedlicher Stadien als erfolgversprechend.

In einer prospektiven Studie (Dauer: 12 Wochen) injizierte man 26 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignem Melanom jede zweite Woche eine für Staphylokokken-Enterotoxin-B (SEB) kodierende Lipid-Komplex-Plasmid-DNA und IL-2 (bzw. GM-CSF) direkt in den Tumor (62).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Das Präparat enthielt SEB- und IL-2-Plasmid-DNA (oder GM-CSF-Plasmid-DNA) zu gleichen Teilen. Nach Möglichkeit wurde die Substanz auch in den regionalen Lymphknoten appliziert. Die Tiere wurden während der Studie weder chirurgisch, radiotherapeutisch noch chemotherapeutisch behandelt.

Es wurden, je nach Tumorgröße, zwei verschiedene Dosierungen verwendet:

- Bei einer Tumorgröße von  $<18 \text{ cm}^3$  wurden  $400 \mu\text{g}$  Plasmid-DNA injiziert.
- Bei einer Tumorgröße von  $>18 \text{ cm}^3$  wurden  $800 \mu\text{g}$  Plasmid-DNA injiziert.

Die Tiere, deren Tumoren innerhalb dieser 12 Wochen eine PR, oder zumindest eine SD aufzeigten, erhielten die gleiche Dosis, nun aber im Intervall von einem Monat. Die Behandlung wurde solange durchgeführt bis sich eine komplette Remission einstellte.

Gruppenzusammensetzung:

- 2 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-IV (mit Metastasen in der Lunge)
- 16 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-III (Tumorgröße:  $>4 \text{ cm}^2$  mit Metastasen im regionalen Lymphknoten)
- 5 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-II (Tumorgröße:  $2 - 4 \text{ cm}^2$  ohne Lymphknotenbeteiligung)
- 3 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-I (Tumorgröße:  $<2 \text{ cm}^2$ ).

#### SEB- und IL-2-Plasmid-DNA:

Vier der 26 Hunde (malignes Melanom Stadium-III; Tumorgröße:  $>4 \text{ cm}^2$  mit Metastasen im regionalen Lymphknoten) wurden mit SEB in Kombination mit cIL-2-Plasmid-DNA behandelt.

Ergebnisse:

- Drei der 4 Hunde (75 %) zeigten nach der Therapie (12. Woche) eine CR.
- Der 4. Hund sprach auf die Therapie nicht an und wurde in der 5. Woche euthanasiert.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- Einer der 3 Hunde mit CR entwickelte Metastasen in der Lunge und wurde nach 6 Monaten euthanasiert.
- Ein weiterer Hund mit CR starb nach 15 Monaten aus anderen Gründen (zeigte aber zum Zeitpunkt des Todes keine Anzeichen eines Rezidivs).
- Der 4. Hund blieb über einen Zeitraum von 18 Monaten rezidivfrei.

#### SEB- und GM-CSF-Plasmid-DNA:

22 der 26 Hunde wurden mit SEB in Kombination mit GM-CSF-Plasmid-DNA behandelt (20 Hunde hatten ein primäres orales malignes Melanom und 2 Hunde hatten ein malignes Melanom an den Zehen mit Metastasen im regionalen Lymphknoten).

#### Ergebnisse:

- 16 von 22 Hunden (73 %) vollendeten die 12-wöchige Therapie.
- Die gesamte Remissionsrate (partielle Remission (PR) oder komplette Remission (CR) des Tumors) betrug 41 %.
- Alle 3 Hunde mit Stadium-I sprachen auf die Therapie an (PR oder CR).
- 3 von 5 Hunden (60 %) mit Stadium-II kamen in Remission.
- 4 von 12 Hunden (33 %) mit Stadium-III kamen in Remission. 9 der 12 Hunde mit Stadium-III (75 %) überlebten das Therapieintervall von 12 Wochen. 5 dieser 9 Hunde (56 %) überlebten 14 Monate und 4 dieser 9 Hunde (44 %) überlebten 22,5 Monate. Die mediane Überlebenszeit der Hunde mit malignem Melanom Stadium-III betrug 16,5 Monate. Die Hunde mit malignem Melanom Stadium-III zeigten nach der Behandlung mit SEB in Kombination mit GM-CSF eine signifikant verlängerte mediane Überlebenszeit ( $p < 0,02$ ) gegenüber der Kontrollgruppe. Bei der Kontrollgruppe handelte es sich um Tiere aus einer verwandten Studie, die ein malignes Melanom Stadium-III aufwiesen und deren Tumoren ausschließlich operativ entfernt wurde (mediane Überlebenszeit: 3,75 Monate). Über die Anzahl und Zusammensetzung der Kontrollgruppe ist nichts bekannt.
- Keiner der beiden Hunde mit Stadium-IV sprach auf die Therapie an.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 5 Hunde wurden initial mit einer Single-Gentherapie behandelt (3 Hunde nur mit SEB, 2 Hunde nur mit GM-CSF). Keiner dieser Hunde sprach auf die Therapie an. Alle 5 Hunde wurden danach der Kombinationstherapie unterzogen.
- Die auf die Therapie ansprechenden 10 Hunde zeigten in den ersten 10 Wochen nach Therapiebeginn eine Reduktion der TumorgroÙe. Einer dieser Hunde zeigte dies jedoch erst nach 2 Monaten.
- Auffallend war bei einigen Hunden im Blut eine hohe zytotoxische T-Zell-Aktivität. Diese Hunde sprachen auf die Therapie an.

Die TumorgroÙe erwies sich im Rahmen dieser Therapie als ausschlaggebend:

- Die Remissionsrate der Tiere mit Stadium-I betrug 100 %.
- Die Remissionsrate der Tiere mit Stadium-II betrug 60 %.
- Die Remissionsrate der Tiere mit Stadium-III betrug 33 %.
- Die Remissionsrate der Tiere mit Stadium-IV betrug 0 %.

Ernste systemische oder chronische Nebenwirkungen (z. B. in Form einer Immunkrankheit) konnten hier auch nach dem Zeitraum von zwei Jahren nicht beobachtet werden, da die im Tumor produzierte SAg-Konzentration als zu gering betrachtet wurde. Tiere mit einem progressiven Tumorstadium wurden euthanasiert.

Diese Studie kann als durchaus sehr erfolgreich gewertet werden. Leider wurde keine Kontrollgruppe verwendet. Darüber hinaus wurden weder rezidivfreie Zeiten noch bei dem Stadium-I und Stadium-II Überlebenszeiten angegeben, was bei einer Remissionsrate von 100 % bzw. 60 % von großem Interesse gewesen wäre, um die Erfolge dieser Therapie besser einschätzen zu können.

Eine neue prospektive randomisierte Doppelblind-Studie ergab, dass eine intravenöse LDC-Infusion (Liposom-DNA-Komplex-Infusion) nicht in einer messbaren Genexpression im Tumorgewebe resultiert. In dieser Studie wurde ein LDC verwendet, der eine für canines Endostatin kodierende DNA aufwies. Als Placebo wurde eine Luciferase-Plasmid-DNA verwendet.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Dabei wurden 13 Hunde 1x wöchentlich in einem Zeitraum von 6 Wochen mit einer intravenösen LDC-Infusion behandelt, welche entweder die Endostatin- oder Luciferase-Plasmid-DNA trug. Drei Tage nach der letzten Infusion wurden die Tumoren für histologische und immunhistochemische Untersuchungen chirurgisch entfernt. Während der 6-wöchigen Therapie wurden dreimal Biopsien entnommen.

In die Studie wurden keine Hunde aufgenommen, die im Vorfeld einer Radiotherapie unterzogen worden waren.

#### Ergebnisse:

- 2 von 13 Hunden (15 %) mit kutanen Weichteilsarkomen zeigten eine deutliche Regression des Tumors.
- 8 von 13 Hunden (61 %) wiesen einen stabilen Krankheitsverlauf während des Behandlungszeitraumes von 6 Wochen auf.
- Die hier behandelten Tumoren konnten mit Hilfe der LDC-Infusion nicht transfiziert werden. Eine transgene Expression konnte nicht nachgewiesen werden. Man überlegte, dass kutane Weichteilsarkome möglicherweise weniger leicht transfiziert werden können, als dies bei anderen Tumorarten möglich ist. Es könnte auch sein, dass bei dieser Applikationsroute hauptsächlich endotheliale Zellen transfiziert werden und nicht die Tumorzellen an sich. Die hier verwendeten LDC wurden für die Gen-Freisetzung im Lungengewebe optimiert. Für ein optimales Ergebnis müsste eventuell im Vorfeld eine LDC-Modifizierung vorgenommen werden.
- Bei 12 der 13 Hunde wurde die Mikrovaskularisationsdichte (MVD) untersucht. Bei 6 von 12 Hunden (50 %) wurde nach Vollendung der 6 Behandlungen eine signifikante Senkung der MVD festgestellt. Dies wurde sowohl nach der Endostatin-Gabe, als auch nach der Luciferase-Gabe dokumentiert. Demnach ging man auch hier davon aus, dass intravenöse LDC-Infusionen möglicherweise eine nicht-spezifische antitumorale Aktivität aufweisen und die Tumorangio-genese hemmen (118).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit rhTNF und rhIL-2:*

Interleukin-2, auch bekannt als T-Zell-Wachstumsfaktor, induziert bei systemischer Applikation die Produktion von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen und Autoantikörpern. Darüber hinaus steigert es die antitumorale Wirkung von IL-2-abhängigen „*lymphokine-activated-killer-cells*“ (LAK-Zellen) (148).

Der rekombinante Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) und IL-2 wirken im Hinblick auf eine Tumorregression ebenfalls synergistisch (223). In dieser Kombination ist es möglich, die IL-2-Dosis deutlich zu reduzieren (bis zu 90 %). Ein besonderer Vorteil dabei ist, dass starke Nebenwirkungen, die bei einer systemischen Applikation auftreten, vermieden werden können. Man nimmt an, dass eine Regulation der Rezeptorexpression stattfindet. Tatsächlich ist es wohl so, dass daraus nicht nur eine funktionale, sondern auch proliferative Expansion von LAK-Zellen resultiert (infolge der Induktion von IL-2-Rezeptoren, welche durch TNF eine hohe Affinität entwickeln) (23). Dies kann v. a. bei Verwendung der Kombination IL-2 und TNF - nicht aber bei IL-2 alleine - beobachtet werden (148).

Innerhalb einer klinischen Phase-I-Studie wurde an 30 Hunden die Kombination rhTNF und rhIL-2 getestet. Bei 22 der 30 Hunde hatte sich im Vorfeld eine Behandlung mit konventionellen Therapiemethoden als wirkungslos erwiesen und es war eine weitere Überlebenszeit von maximal 6 Wochen zu erwarten. Dreizehn von diesen 30 Hunden hatten ein orales malignes Melanom.

#### Gruppenzusammensetzung:

- 7 der 13 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-II (6x malignes Melanom an den Gingiven, 1x malignes Melanom an der Zunge).
- 3 der 13 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-III (2x malignes Melanom an den Gingiven, 1x malignes Melanom an der Zunge).
- 3 der 13 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-IV (3x malignes Melanom an den Gingiven).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Ziel dieser Studie war einerseits, eine maximal tolerierbare Dosis zu finden und andererseits, anhand dieser Dosis, einen möglichst hohen Wirkungseffekt zu erreichen. Demnach wurde eine maximal tolerierte rhTNF-Dosis von 125 mg/m<sup>2</sup> ausgewählt, welche einmal täglich über einen Zeitraum von 3 Tagen, in Form einer Infusion (verdünnt mit 100 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung) intravenös verabreicht wurde. Danach wurden 1,5x10<sup>6</sup> Einheiten/m<sup>2</sup> rhIL-2 über einen Zeitraum von 9 Tagen subkutan verabreicht. Eine behandlungsfreie Zeit von 9 Tagen folgte.

Nach dieser Therapie wurden folgende Ergebnisse dokumentiert:

- 5 von 13 Hunden (38 %) mit oralem malignem Melanom zeigten eine Tumorregression.
- 1 der 5 Hunde wies eine komplette Remission (CR) des Tumors auf. Dieser Hund blieb 3 Jahre in CR.
- 1 der 5 Hunde zeigte eine partielle Remission (PR) des Tumors. Bei diesem Hund wurde auf histologischer Ebene eine Nekrose und Größenreduktion der oralen Läsion und einer Lymphknoten-Metastase festgestellt.
- Nebenwirkungen zeigten sich bei den Hunden in Form von Vomitus, Diarrhö, Fieber und Schwäche. Allerdings waren diese meist vorhersehbar und reversibel.
- Auf hämatologischer Ebene wurde eine Hypalbuminämie, eine transiente asymptomatische Hypoglykämie, eine leichte Monozytose (bedingt durch die Behandlung mit rhTNF) und eine Leukozytose (Eosinophilie, Neutrophilie), welche mit rhIL-2 in Korrelation gesetzt wurde, beobachtet. Es wurden keine Lymphozyten-Funktionstests durchgeführt.

Weitere Überlebenszeiten sind nicht bekannt (148).

Vor kurzem wurde in *In-vitro*-Studien herausgefunden, dass nach Stimulation mit rhIL-2 bei verschiedenen caninen Tumorzellen im Vergleich zu Zellen gesunder Hunde eine deutlich geringere Aktivität von LAK-Zellen ( $p < 0,01$ ) registrierbar ist. Es wird vermutet, dass die reduzierte zytotoxische Aktivität auf einer herabgesetzten Proliferationsfähigkeit der rhIL-2-aktivierten NK-Zellen und

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

auf einer verminderten Fähigkeit der LAK-Zellen, Zielzellen abtöten zu können, fundiert (82). Dies könnte den begrenzten Erfolg der Studie begründen.

#### Caniner Mastzelltumor:

##### *Behandlung mit rhTNF und rhIL-2:*

In einer Anwendungsbeobachtung wurde anhand von 2 Hunden mit Mastzelltumoren (Stadium-IV) die Wirksamkeit von rhTNF und rhIL-2 erprobt. Sie erhielten am 1., 2. und 3. Tag der Therapie 130 µg/m<sup>2</sup> rhTNF (i.v.) und vom 4. bis zum 17. Tag täglich 1,2x10<sup>6</sup> U/m<sup>2</sup> rhIL-2 (in Form einer subkutan implantierten osmotischen Pumpe, welche das rhIL-2 kontinuierlich über den Zeitraum von 14 Tagen abgibt).

In dieser Anwendungsbeobachtung wurde gezielt der Effekt dieser Zytokine auf periphere Blutlymphozyten (PBL) untersucht. Man kam zu dem Ergebnis, dass eine Aktivierung von Zellen kranker Hunde anhand dieser Zytokine nur in einem deutlich geringeren Ausmaß erreicht werden kann, als dies bei gesunden Hunden möglich ist (98).

Die Wirkung von rhTNF und rhIL-2 wurde auch im Rahmen einer klinischen Phase-I-Studie an 30 Hunden mit Tumoren getestet (siehe 7.1.2 „*canines malignes Melanom*“). Bei 22 der 30 Hunde hatte sich im Vorfeld eine Behandlung mit konventionellen Therapiemethoden als wirkungslos erwiesen und es war eine weitere Überlebenszeit von maximal 6 Wochen zu erwarten. Sechs dieser 30 Hunde hatten einen histologisch nachgewiesenen Mastzelltumor.

##### Gruppenzusammensetzung:

- 3 Hunde hatten einen Mastzelltumor Stadium-IIIa.
- 1 Hund hatte einen Mastzelltumor Stadium-IVa.
- 1 Hund hatte einen Mastzelltumor Stadium-IVb.
- 1 Hund hatte einen Mastzelltumor Stadium-V.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Die Hunde erhielten eine rhTNF-Dosis von 125 mg/m<sup>2</sup>, welche intravenös einmal täglich über einen Zeitraum von 3 Tagen in Form einer Infusion (verdünnt mit 100 ml einer 0,9 %igen NaCl-Lösung) verabreicht wurde. Dann wurden 1,5x10<sup>6</sup> Einheiten/m<sup>2</sup> rhIL-2 subkutan über einen Zeitraum von 9 Tagen appliziert. Eine behandlungsfreie Zeit von 9 Tagen folgte.

Ergebnisse:

- Bei einem der 6 Hunde (16 %) wurde histologisch eine partielle Tumornekrose (<50 %) dokumentiert.
- Bei 3 der 6 Hunde (50 %) wurde histologisch eine partielle Tumornekrose (>50 %) dokumentiert.
- Bei 2 der 6 Hunde (33 %) wurde eine komplette Tumornekrose dokumentiert. Einer der beiden Hunde verstarb an einem durchgebrochenen Dünndarm-Ulkus mit Peritonitis. Bei dem 2. Hund wurde im Primärtumor eine komplette Tumornekrose nachgewiesen. Die Lymphknoten-Metastasen blieben jedoch unbeeinflusst. Dieser Hund verstarb plötzlich am Ende des ersten Therapiezyklus.

Auf hämatologischer Ebene wurde eine Hypalbuminämie, eine transiente asymptotische Hypoglykämie, eine leichte Monozytose (bedingt durch die Behandlung mit rhTNF) und eine Leukozytose (Eosinophilie, Neutrophilie), welche mit rhIL-2 in Korrelation gesetzt wurde, beobachtet.

Es wurde vermutet, dass die Eosinophilie bei diesem Tumortyp möglicherweise auf einer Produktion des Eosinophilen-Wachstum-stimulierenden Faktors durch T-Lymphozyten und auf der Degranulation der Mastzellen, welche die Eosinopoese und Chemotaxis stimuliert, basiert (68). Leider konnte man den Auswirkungen des freigesetzten Histamins durch die Gabe von H<sub>2</sub>-Rezeptor-Blockern (Cimetidin) nicht entgegenwirken (148).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### Canines Sticker-Sarkom:

##### *Behandlung mit IL-2:*

In einer Studie wurde die Wirksamkeit einer einmalig lokal applizierten IL-2-Dosis ( $1 \times 10^6$  U in 1 ml) an 19 Hunden mit dem Sticker-Sarkom („*transmissible venereal Tumor*“) getestet. Dabei zeigten 6 der 19 Hunde (32 %) eine komplette Remission des Tumors (52). Dieses Ergebnis ist aufgrund fehlender Studiendaten nicht beurteilbar.

#### Canines Osteosarkom:

Das Osteosarkom des Hundes ist ein relativ häufig vorkommender Tumor, der hochgradig zur Metastasenbildung in der Lunge neigt. Ist ein Osteosarkom erstmal in die Lunge metastasiert (Stadium-IV), gibt es keine konventionelle Therapiemöglichkeit (Chemotherapie, Bestrahlung), mit der betroffene Hunde behandelt werden können (212).

Man versuchte *in vivo* eine direkte Tumor-Transfektion mit Hilfe viraler und non-viraler Vektoren zu erreichen. Wiederholte systemische Verabreichungen viraler Vektoren erwiesen sich als problematisch, da der Therapieverlauf meist von ernststen Nebenwirkungen begleitet war, welche mit der Entwicklung einer Immunität gegen die viralen Vektoren begründet wurden (63).

Man weiß, dass durch die intravenöse Freisetzung von Genen aus Liposom-DNA-Komplexen eine antitumorale Aktivität hervorgerufen wird (60, 29). Die Entwicklung einer Immunität gegen den Vektor konnte allerdings nicht beobachtet werden (133). In diesen Studien wurden Zytokin-Gene (z. B. IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ ), angiogenese-hemmende Gene (z. B. Endostatin) und apoptose-induzierende Gene verwendet (60, 134, 20).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit IL-2-kodierenden Liposom-DNA-Komplexen (LDC):*

In folgender prospektiven Studie wurde versucht, die geeignete Dosis unter Verwendung von IL-2-kodierender Liposom-DNA-Komplexen (LDC) unter dem Aspekt einer optimalen Wirksamkeit zu finden (61).

Behandelt wurden hierbei 20 Hunde mit Osteosarkom-Metastasen (nachgewiesen durch röntgenologische Verfahren), welche nach vorhergehender Amputation der betroffenen Gliedmaße und konventioneller adjuvanter Chemotherapie mit Doxorubicin, Cisplatin oder Carboplatin (212), resistente Tumormetastasen aufwiesen.

Man war der Meinung, dass nach intravenöser Applikation von LDC ein Großteil der transgenen Expression vorwiegend in der Lunge und im Gefäßendothel erfolgt (128). Diese Tatsache bietet eine neue Perspektive in der Behandlung von primären oder sekundären Lungentumoren.

Man entschied sich für eine Behandlungsdauer von 12 Wochen mit einem 7-tägigen Behandlungsintervall (d. h. insgesamt 12 Infusionen/Hund). Nach Ablauf der 12-wöchigen Therapie wurde durch Röntgen (Thorax) die Metastasenentwicklung begutachtet. Diejenigen Tiere, deren Lungenmetastasen eine partielle Regression zeigten, wurden weiterhin in einem 1-monatigen Behandlungsintervall mit der IL-2-kodierenden LDC-Infusion behandelt.

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

- Dosis:  
Bei Hunden mit einem Gewicht von 25 kg liegt die tolerierte Höchstdosis bei 20 µg/kg Plasmid-DNA (Gesamt-DNA-Dosis: 500 µg), wenn sie langsam über 90 Minuten infundiert wird (Infusionsrate: 55 µl/min).
  
- Tumorantwort:  
Fünf der 20 Hunde (25 %) zeigten innerhalb des ersten Behandlungsmonates ein progressives Tumorwachstum. Diese Hunde wurden euthanasiert. Einer der 20 Hunde (5 %) erlangte eine komplette Remission innerhalb der 12-wöchigen Therapie. Dieser Hund verblieb

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

über einen Zeitraum von 16,6 Monaten in Remission, zeigte dann aber erneut Osteosarkom-Metastasen in der Lunge. Zwei der 20 Hunde (10 %) überlebten in einer stabilen Krankheitslage fast 30 und 33,3 Monate. Es bestand der Verdacht, dass diese Ergebnisse auf einer anhaltenden Hemmung der Angiogenese basierten.

Von 14 Hunden, die den ersten Behandlungsmonat überlebten, zeigten 3 Hunde (21 %) eine Tumorremission (partiell oder vollständig) und 4 Hunde (28 %) blieben hinsichtlich der Metastasengröße während der 12 Wochen stabil.

- Nebenwirkungen:

Die meisten Hunde reagierten mit vorübergehendem Fieber und deutlichen Leukogramm-Veränderungen (Lymphopenie, Thrombozytopenie). Die Lymphopenie wurde als Konsequenz einer schnellen Aktivierung des Immunsystems und Lymphozyten-Margination interpretiert. Die Thrombozytopenie wurde durch die Aktivierung des Immunsystems und folgender Aggregation der Thrombozyten an das Endothel, welches durch LDC aktiviert wurde, erklärt. Die Hunde zeigten dabei ein lethargisches Verhalten und Anorexie. Nach Ende der Therapie erholten sich die Hunde und die Blutparameter waren nach einem gewissen Zeitraum wieder im Referenzbereich. Behandlungswiederholungen wurden von den Hunden gut vertragen und es zeigten sich keine Anzeichen einer kumulativen Toxizität.

Drei Hunde erhielten 20 für IL-2 kodierende LDC-Infusionen in einem Zeitraum von 1,5 bis 3 Jahren, ohne dabei Anzeichen einer kumulativen Toxizität oder sonstiger Nebenwirkungen zu zeigen.

- Immunohistochemische Untersuchungen:

Im Lungengewebe der Hunde konnte eine geringe hIL-2-Genexpression nachgewiesen werden. Interessant war, dass dies in keinem anderen Gewebe beobachtet werden konnte. Nichtsdestotrotz interpretierte man die erzielte Wirkung als Effekt einer starken Aktivierung des angeborenen Immunsystems. Man nahm an, dass dies durch das lokal

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

produzierte IL-2 unterstützt wurde und die intravenöse LDC-Infusion in einer schnellen Immunsystem-Aktivierung resultierte, welche über 24 - 48 Stunden aufrechterhalten wurde.

In den ersten 24 Stunden nach einer LDC-Infusion fand eine deutlich verstärkte B7.2- und MHC-II-Expression auf der Zelloberfläche der caninen Monozyten statt, die mit Aktivierung der Monozyten und der Produktion von IFN- $\gamma$  einherging. 24 Stunden nach der Infusion zeigten mononukleäre Zellen der Osteosarkom-Hunde eine spontane, gegen MHC-unpassende Zielzellen gerichtete, ansteigende zytolytische Aktivität. Dennoch erreichte die NK-Zell-Aktivität, die möglicherweise durch die LDC-induzierte IL-12-Freisetzung vermittelt wurde (63), keinen signifikanten Level ( $p=0,07$ ).

Aufgrund dieser Daten konnte davon ausgegangen werden, dass es möglich sei, mit Hilfe einer für IL-2 kodierenden LDC-Infusion die angeborene Immunität der Hunde zu triggern.

Zur Ermittlung der Überlebensrate wurden die Daten der 20 Hunde mit den Daten einer historischen Kontrollgruppe, bestehend aus 40 Hunden gleichen Alters und Osteosarkom Stadium-IV (inkl. Lungenmetastasen), verglichen. Eine eigenständige Placebo-Kontrollgruppe wurde im Rahmen dieser Studie nicht eingerichtet.

- Die mittlere Überlebenszeit der unbehandelten Hunde (d. h. nur behandelt mit Amputation und Chemotherapie) betrug 2,7 Monate, die mediane Überlebenszeit 1,9 Monate.
- Die mittlere Überlebenszeit der Hunde, die mit einer für IL-2 kodierenden LDC-Infusion behandelt wurden, lag bei 7,6 Monaten und die mediane Überlebenszeit bei 2,7 Monaten.
- Im statistischen Vergleich (Kaplan-Meier-Analyse) konnte eine statistisch signifikante Steigerung ( $p<0,026$ ) der Gesamtüberlebenszeit behandelter Hunde im Vergleich zu unbehandelten Hunden aufgezeigt werden (61).

Ogleich nur 3 der 20 Hunde (15 %) eine deutlich verlängerte Überlebenszeit zeigten, könnte diese Therapie einen sehr guten Ansatz zur Behandlung von Hunden mit Osteosarkom-Lungenmetastasen liefern.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit einer hIL-2-Liposom-Inhalationstherapie:*

In einer prospektiven Anwendungsbeobachtung wurde die Wirkung einer hIL-2-Liposom-Inhalationstherapie an 9 Hunden getestet. Darunter befanden sich 4 Hunde mit Osteosarkom-Lungenmetastasen, die bereits unterschiedlichen konventionellen Behandlungsverfahren unterzogen worden waren.

Bei diesem Präparat handelte es sich um folgende Stoffzusammensetzung: humanes rekombinantes IL-2 ( $1 \times 10^6$  IU), synthetisches Lipid-Dimyristoyl-Phosphatidyl-Cholin (DMPC) (20 mg) in 3,5 ml Natrium-Chlorid-Lösung und humanes Serum-Albumin (hSA).

Die Hunde erhielten zweimal täglich eine Inhalationstherapie mit hIL-2-Liposomen (4,0 ml über 20 min). Die Tiere wurden 30 Tage lang behandelt. Bei keinem der Hunde wurden toxische oder allergische Nebenwirkungen festgestellt.

Man dokumentierte folgende Ergebnisse:

- 2 von 4 Hunden (50 %) mit Osteosarkom zeigten eine komplette Remission (CR) aller Metastasen, wobei einer der beiden Hunde zusätzlich eine CR der Metastasen im Ln. praescapularis aufwies. Dieser Hund wurde im Vorfeld der Studie konventionell therapiert (Amputation der betroffenen Gliedmaße und adjuvante Chemotherapie mit Cisplatin). Diese 8-jährige Labrador-Hündin wurde 60 Tage behandelt. Die CR blieb ca. 20 Monate stabil.
- Der zweite Osteosarkom-Hund mit CR, ein 9-jähriger Golden Retriever, wurde vor Studienbeginn einer Radiotherapie unterzogen. Dieser Hund wurde 30 Tage lang mit der hIL-2-Liposom-Inhalationstherapie behandelt. In diesem Fall konnte eine CR über einen Zeitraum von ca. 12 Monaten dokumentiert werden.

Auf zellulärer Ebene wurde folgendes festgestellt:

Mittels broncho-alveolärer Lavage (BAL) wurde festgestellt, dass die Anzahl der Zellen deutlich anstieg ( $p=0,01$ ) und durch signifikant erhöhte Anteile von eosinophilen Granulozyten ( $p=0,006$ ), Makrophagen und Lymphozyten

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

( $p=0,008$ ) charakterisiert war. Die Eosinophilie wurde in Korrelation mit der Applikationsform gesetzt. Man vermutete, dass die Lymphozytose und der registrierte Anstieg von  $CD4^+$ - und  $CD8^+$ -T-Zellen auf der spezifischen zellvermittelten Immunantwort gegenüber Metastasen (nach Stimulation durch IL-2) basierten.

Die mediane zytolytische Aktivität der BAL-Effektorzellen war im Vergleich zu Beginn der Therapie nach 15 Tagen signifikant erhöht ( $p=0,01$ ). Die Kombination aus der angestiegenen Anzahl von BAL-Effektorzellen und ihrer individuellen zytolytischen Aktivität deutete auf eine biologisch wirksame Steigerung einer antitumoralen Immunaktivität in der Lunge. Nach dem Zeitraum von 30 Tagen wurde eine Abnahme der zytolytischen Aktivität von BAL-Effektorzellen registriert, welche dann der zytolytischen Aktivität zu Beginn der Studie ungefähr gleichkam.

Alle behandelten Hunde entwickelten Antikörper gegen hIL-2 und hSA. Dabei zeigten sich allerdings keine klinischen Symptome (122).

Da in dieser Anwendungsbeobachtung vier unterschiedlich vorbehandelte Hunde verwendet wurden und das Behandlungsregime Variationen unterlag, kann aus den Ergebnissen keine allgemeingültige Therapiebeurteilung abgeleitet werden.

#### *Caniner primärer Lungentumor und Lungenmetastasen:*

##### *Behandlung mit einer hIL-2-Liposom-Inhalationstherapie:*

In einer prospektiven Anwendungsbeobachtung wurde die Wirkung einer hIL-2-Liposom-Inhalationstherapie an 9 Hunden getestet (122). Darunter befanden sich 2 Hunde mit primärem Lungenkarzinom und 7 Hunde mit Lungenmetastasen (4 Hunde hatten ein Osteosarkom an der Gliedmaße (siehe **7.2.1 „canines Osteosarkom“**), 1 Hund ein Mammakarzinom, 1 Hund ein Melanom an den Zehen und 1 Hund ein Fibrosarkom).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Ergebnis:

Ein 13-jähriger Labrador mit primärem Lungenkarzinom zeigte eine Regression des Lungentumors (Tumorgöße zu Beginn der Therapie: 17,8 cm<sup>3</sup>; Tumorgöße nach Therapie: 14,1 cm<sup>3</sup>), welche über einen Zeitraum von ca. 8 Monaten stabil blieb. In dieser Zeit wurden keine weiteren Läsionen registriert.

Der Therapieverlauf der restlichen Hunde ist nicht bekannt. Es wird nur angegeben, dass 4 der 7 behandelten Hunde ein progressives Tumorwachstum zeigten und euthanasiert wurden. Eine Kontrollgruppe wurde nicht aufgeführt.

*Canine Weichteiltumoren (caniner maligner Nervenscheidentumor, canines Fibrosarkom, canines anaplastisches Sarkom):*

*Behandlung mit einer in Lipiden eingebetteten Zusammensetzung aus dem Staphylokokkus-aureus-Enterotoxin-A und caninem IL-2 (L-SEA/cIL-2):*

Im Rahmen einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die intratumorale Applikation einer in Lipiden eingebetteten Zusammensetzung aus dem Staphylokokkus-aureus-Enterotoxin-A und caninem Interleukin-2 (L-SEA/cIL-2) an 16 Hunden mit Weichteiltumoren (9 maligne Nervenscheidentumoren („*malignant peripheral nerve sheath tumor*“ (MPNST)), 6 Fibrosarkomen, 1 anaplastisches Sarkom) in den Stadien-I bis Stadium-III getestet.

Die 16 Hunde erhielten wöchentlich eine intratumorale Injektion der L-SEA/cIL-2-Kombination in einer initialen Dosis von 240 µg oder 480 µg Plasmid-DNA in einem Medienvolumen von 0,8 ml (je nach Tumorgöße). Bei kleineren Tumoren wurde versucht, die Injektion möglichst diffus und peritumoral zu applizieren. Bei sehr großen Tumoren wurde v. a. in die Tumorbasis injiziert.

Die Dosis wurde bei den Hunden, bei welchen eine partielle Remission (PR), eine Minimalremission (MR) oder einen stabilen Krankheitszustand (SD) zu erwarten war, zum ersten Mal in den Wochen 5 - 8 und ein zweites Mal in den Wochen 9 - 12 verdoppelt (maximale Dosis: 1.920 µg Plasmid-DNA).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Nach der Entfernung des Tumors erhielten die Hunde vier weitere Injektionen (einmal wöchentlich für einen Zeitraum von 4 Wochen) direkt in das Tumorbett, wobei jeweils dieselbe Dosierung beibehalten wurde. Hunde, die ein progressives Tumorwachstum aufwiesen, wurden nicht weiter immuntherapeutisch behandelt.

Nach der 12-wöchigen Therapie wurden die Tumoren histologisch und immunohistochemisch untersucht.

Ergebnisse:

- 3 Hunde der 16 Hunde (18 %) zeigten eine CR.
- Ein Hund der 16 Hunde (6 %) zeigte eine PR.
- Ein Hund der 16 Hunde (6 %) zeigte eine SD über den Behandlungszeitraum von 12 Wochen.
- Bei 11 von 16 Hunden (69 %) wurde ein progressives Tumorwachstum festgestellt.
- Bis zum Erreichen der individuellen maximalen Tumorantwort verstrichen median 53 Tage.
- Auf hämatologischer und biochemischer Ebene konnten keine Parameter-Abweichungen festgestellt werden.
- Die 4 Hunde mit CR oder PR zeigten auf histologischer Ebene eine Infiltration von Immunzellen (CD3<sup>+</sup>-T-Zellen, CD79a<sup>+</sup>-Zellen).

Nach mehreren Injektionswiederholungen mit L-SEA/cIL-2 traten Nebenwirkungen in Form von Diarrhö, Lethargie und Vomitus auf, wobei aber keine dieser Nebenwirkungen als schwerwiegend und somit als dosis-limitierend eingestuft wurde. Diese Tiere bedurften zur Beseitigung der Nebenwirkungen keiner Behandlung (203).

Es soll darauf hingewiesen werden, dass in der genannten Studie die Sicherheit und die Effektivität einer intratumoralen Gabe von L-SEA/cIL-2 ermittelt werden sollte. Eine mögliche Steigerung der medianen Überlebenszeit galt nicht als Ziel der Studie. Aus den veröffentlichten Studiendaten geht nicht hervor welcher Tumortyp in Remission kam. Dennoch konnten offensichtlich bei Hunden mit kleinen Tumoren (Volumen vs. Injektionsmenge) und niedrigem Tumorstadium

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

(Phänotyp) ein Therapieerfolg erzielt werden. Eine Kontrollgruppe wurde jedoch nicht aufgeführt.

#### Canines Plattenepithelkarzinom:

##### *Behandlung mit rhTNF und rhIL-2:*

Im Rahmen einer klinischen Phase-I-Studie wurde an 30 Hunden mit Tumoren die Kombination rhTNF und rhIL-2 getestet (siehe **7.2.1** „*canines malignes Melanom*“). Bei 22 der 30 Hunde hatte sich im Vorfeld eine Behandlung mit konventionellen Therapiemethoden als wirkungslos erwiesen und es war eine weitere Überlebenszeit von maximal 6 Wochen zu erwarten. Von diesen 30 Hunden hatten 4 Hunde ein histologisch nachgewiesenes Plattenepithelkarzinom.

##### Gruppenzusammensetzung:

- 1 Hund hatte ein orales Plattenepithelkarzinom Stadium-II (Lokalisation: harter Gaumen und Gingiven).
- 1 Hund hatte ein pharyngeales Plattenepithelkarzinom Stadium-III.
- 1 Hund hatte ein nasales Plattenepithelkarzinom Stadium-III.
- 1 Hund hatte ein orales Plattenepithelkarzinom Stadium-IV.

##### Ergebnisse:

- Bei 3 der 4 Hunde (75 %) konnte eine partielle Regression (PR) des Tumors erreicht werden.
- Einer dieser 3 Hunde wies ein großflächiges orales Plattenepithelkarzinom Stadium-IV auf und zeigte nach der Behandlung mit rhTNF die deutlichste PR des Tumors. Dieser Hund war jedoch während der rhTNF-Therapie mit einer Radiotherapie (insgesamt 10 Gy über einen Zeitraum von 7 Tagen) und einer intraläsionalen radiofrequenten Hyperthermie-Therapie behandelt worden.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- Bei 2 der 4 Hunde (50 %) war die (PR) nur geringgradig. Diese Hunde hatten ein pharyngeales und nasales Plattenepithelkarzinom Stadium-III.
- Der 4. Hund (orales Plattenepithelkarzinom Stadium-II) sprach auf die rhTNF-Therapie nicht an.

Nebenwirkungen zeigten sich bei den Hunden in Form von Vomitus, Diarrhö, Fieber und Schwäche. Allerdings waren diese meist vorhersehbar und reversibel.

Auf hämatologischer Ebene wurde eine Hypalbuminämie, eine transiente asymptomatische Hypoglykämie, eine leichte Monozytose (bedingt durch die Behandlung mit rhTNF) und eine Leukozytose (Eosinophilie, Neutrophilie), welche mit rhIL-2 in Korrelation gesetzt wurde, beobachtet.

Die Überlebenszeiten sind nicht bekannt (148).

#### *Canines Mamma-Adenokarzinom und canines Synovialzellsarkom*

##### *Behandlung mit rhTNF und rhIL-2:*

Im Rahmen einer klinischen Phase-I-Studie wurde an 30 Hunden mit Tumoren die Kombination rhTNF und rhIL-2 getestet (siehe **7.2.1** „*canines malignes Melanom*“). Von diesen 30 Hunden hatten 2 Hunde ein Mamma-Adenokarzinom (Stadium-IV) und ein Hund ein Synovialzellsarkom.

Bei beiden Hunden mit Mamma-Adenokarzinom und dem Hund mit Synovialzellsarkom konnte keine Regression des Tumors dokumentiert werden. Auf hämatologischer Ebene wurde eine Hypalbuminämie, eine transiente asymptomatische Hypoglykämie, eine leichte Monozytose (bedingt durch die Behandlung mit rhTNF) und eine Leukozytose (Eosinophilie, Neutrophilie), welche mit rhIL-2 in Korrelation gesetzt wurde, beobachtet (148).

*Canines malignes Lymphom*

*Behandlung mit rhTNF und rhIL-2:*

Obgleich es sich beim „malignen Lymphom“ nicht um einen soliden Tumor handelt, wird dieser Tumortyp wegen seines häufigen Vorkommens in der tierärztlichen Praxis erwähnt.

Innerhalb einer klinischen Phase-I-Studie wurde an 30 Hunden die Kombination rhTNF und rhIL-2 getestet (siehe **7.2.1** „*canines malignes Melanom*“). Vier der 30 Hunde hatten ein histologisch nachgewiesenes malignes Lymphom (Stadium-Vb).

Bei 1 der 4 Hunde (25 %) konnte eine Lymphknotenverkleinerung um ca. 25 % registriert werden, wohingegen sich bei den restlichen 3 der 4 Hunde (75 %) keine Regression des Tumors einstellte. Überlebenszeiten sind nicht bekannt (148).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

#### 7.2.2 Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze

**Tab. 11: die Anwendung von Zytokinen bei soliden Tumoren der Katze**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>felines Fibrosarkom</b>	Vero-hIL-2-Zellen;	170
	ALVAC-felL-2; NYVAC-huIL-2;	117
	AdV-hIL-2 und AdV-felFN- $\gamma$ ;	208, 34, 222, 221
	felL-2, felFN- $\gamma$ und feGM-CSF (mittels Plasmid-KS oder Plasmid-Inj.);	120, 188 siehe 7.2.2
	feGM-CSF (mittels Plasmid-Inj.)	siehe 7.2.2

*Legende:*

hIL-2 = humanes Interleukin-2; felL-2 = felines Interleukin-2; felFN- $\gamma$  = felines Interferon- $\gamma$ ;  
 feGM-CSF = feliner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor;  
 AdV = adenoviraler Vektor; ALVAC-felL-2 = für felines IL-2 kodierendes rekombinantes  
 Kanariepoxvirus; NYVAC-huIL-2 = für humanes IL-2 kodierendes rekombinantes Vacciniavirus;  
 KS = Kollagenschwamm; Inj. = Injektion

*Felines Fibrosarkom (FSA):*

Das Fibrosarkom (FSA) ist eine häufig vorkommende und als bösartig einzustufende Neoplasie der Katze (100). Obgleich dieser Tumor nur in geringem Ausmaß zur Metastasierung neigt (<15 %), wird die Prognose im Allgemeinen als ungünstig eingestuft (28, 27).

Betroffene Katzen können mit einer chirurgische Exzision des Tumors und einer lokalen Radiotherapie (mit <sup>192</sup>Ir, Gesamtdosis 60 Gy) behandelt werden. Hinsichtlich der Überlebensdauer zeigten diese Therapieverfahren leider nur geringe Erfolge, da ca. 50 % der so behandelten Katzen bereits innerhalb von sechs Monaten ein Rezidiv aufwiesen (28, 27).

Die hohe Rezidivrate spricht in diesem Falle für ein nicht vorhandenes immunologisches Gedächtnis gegenüber diesem Tumortypen (170).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit Vero-hIL-2-Zellen:*

Daher untersuchte man die Wirksamkeit einer adjuvanten Therapie mit Vero-hIL-2-Zellen. Dabei handelt es sich um histoinkompatible Zellen, die ein Plasmid (pTG5324) beinhalten, welches hIL-2 exprimiert (siehe **7.2.1**).

Im Rahmen dieser prospektiven randomisierten Studie erhielten Katzen nach einer Tumor-Operation und Radiotherapie jeweils 7 peritumorale Injektionen von  $3 \times 10^7$  Vero-hIL-2-Zellen (in einer gebrauchsfertigen 1 ml-Lösung bestehend aus DMEM („*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*“), DMSO („*dimethyl sulfoxide*“) und humanem Serum-Albumin).

Es wurden 4 Katzensgruppen gebildet:

1. Gruppe (16 Katzen): nach Tumor-Operation und Radiotherapie jeweils 7 peritumorale Injektionen von  $3 \times 10^7$  Vero-hIL-2-Zellen;
2. Gruppe (Kontrollgruppe; 16 Katzen): Tumor-Operation und Radiotherapie;
3. Gruppe (Kontrollgruppe; 4 Katzen): nach Tumor-Operation und Radiotherapie jeweils 7 peritumorale Injektionen von  $3 \times 10^7$  unmodifizierten Vero-Zellen;
4. Gruppe (Kontrollgruppe; 2 Katzen): nach Tumor-Operation und Radiotherapie jeweils 7 peritumorale Injektionen von 1,2 µg rhIL-2.

Der Tumor wurde eine Woche vor Beginn der Radiotherapie operativ entfernt. Die ersten beiden Injektionen wurden den Katzen zu Beginn und am Ende der 5-tägigen Radiotherapie appliziert. Die 5 weiteren Injektionen wurden zuerst im wöchentlichen (ab Woche 2) und dann im Abstand von 2 Wochen verabreicht (Gruppe 1, 3 und 4).

Ergebnisse:

- Es konnte bei den mit Vero-hIL-2-Zellen behandelten Katzen, eine Steigerung der medianen Überlebenszeit von 8 auf über 16 Monate erzielt werden ( $p < 0,02$ ), wobei sich die Rezidivrate auf 31 % senkte ( $p < 0,007$ ). Dies wurde auch durch Ergebnisse einer anderen Studie bestätigt, da hier nach intratumoraler Applikation von Vero-hIL-2-Zellen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

eine Steigerung der Überlebensrate auf 70 %, verglichen zu den 30 % der Kontrollkatzen, dokumentiert werden konnte (174).

- In dieser Studie entwickelte nur eine Katze Nebenwirkungen in Form einer anaphylaktischen Reaktion. Bei den anderen Katzen wurden nur lokale Entzündungsreaktionen registriert.
- In der 1. Gruppe (Vero-IL-2-Zellen) wurden keine signifikanten Veränderungen bezüglich der CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-Lymphozyten beobachtet. In Gewebsbiopsien konnte nur innerhalb der ersten Stunde post injectionem (p.i.) ein positives transgenes DNA-Signal nachgewiesen werden.
- Die Analyse mononukleärer Zellen (mittels PCR) ergab zu keinem Zeitpunkt ein positives Ergebnis. Im Plasma der Katzen konnte hIL-2 nur über einen Zeitraum von 48 Stunden p.i. nachgewiesen werden. Dabei muss beachtet werden, dass zwischen Katze und Mensch eine IL-2-Sequenzhomologie von nur 77 % besteht (43, 44). Daher ist eine Entwicklung von Anti-hIL-2-Antikörpern im Katzenorganismus nicht ausgeschlossen. Folglich ist es möglich, dass im Körper eine größere Menge an hIL-2-Molekülen zirkuliert als tatsächlich nachgewiesen werden kann.

Man war der Meinung, dass die Anwendung von hIL-2 nur in Kombination mit einer starken lokalen Entzündungsreaktion, wie sie durch die wiederholt durchgeführte Injektion mit xenogenen Zellen verursacht wird, zu dem gewünschten Erfolg führt. Eine derartig starke Immunantwort, ausgelöst durch hIL-2 (inkl. Aktivierung der NK-Zellen) und dem unspezifischen Reiz (bedingt durch die körperfremden Vero-Zellen) bewirke eine Hemmung des Tumorwachstums oder sogar eine Tumorablehr (170).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit ALVAC-felL-2 oder NYVAC-huIL-2:*

In einer weiteren prospektiven randomisierten Fibrosarkom-Studie dienten rfeIL-2-exprimierende Poxviren (das rekombinante Kanariepockenvirus ALVAC und das rekombinante Vacciniavirus NYVAC) als Vektoren. Hierbei wurden 18 Katzen einer Behandlung mit ALVAC-felL-2 und 18 Katzen einer Behandlung mit NYVAC-huIL-2 unterzogen. Weitere 18 Katzen dienten als Kontrollgruppe, deren Tumor operativ entfernt und eine adjuvante Brachytherapie (mit Iridium) angewandt wurde.

Die genterapeutisch behandelten Katzen erhielten jeweils 7 Injektionen der Poxvirus-IL-2-Rekombinanten in einer Dosisgröße von entweder  $5 \times 10^6$  DICC<sub>50</sub> ALVAC-felL-2 (18 Katzen) oder  $5 \times 10^{6,7}$  PFU NYVAC-huIL-2 (18 Katzen) in 0,5 ml Puffer subkutan in das Tumorbett. Die Injektionen wurden am 1. und 5. Tag der ersten Woche, dann jeweils am ersten Tag der Woche 2, 3, 4, 6 und 8 durchgeführt. Ziel dieser Abstände war das Erreichen einer Expression über einen Zeitraum von 8 Wochen. Der Expressionshöhepunkt wurde am 4. Tag p.i. erwartet.

Die Behandlung wurde von den Katzen gut toleriert. Manche Tiere zeigten lokale Entzündungsreaktionen, die allerdings keiner weiteren Behandlung bedurften.

Die Katzen wurden im darauf folgenden Jahr im 6-monatigen Abstand kontrolliert. Als Rezidivrate ergab sich

- bei den Kontrollkatzen: 61 %
- bei den mit ALVAC-felL-2 behandelten Katzen: 28 %
- bei den mit NYVAC-huIL-2 behandelten Katzen: 39 %

Die Rezidivraten der einzelnen Behandlungsgruppen erwiesen sich, verglichen mit der Kontrollgruppe, als statistisch signifikant verringert ( $p < 0,01$ ). Dennoch zeigten sich innerhalb der drei Gruppen keine Unterschiede in der Überlebenszeit (mediane Überlebenszeit: 6 - 7 Monate) (117).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit Ad-hIL-2 und Ad-feIFN- $\gamma$ :*

Darüber hinaus wurde im Rahmen einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten, doppelblinden Phase-I-Studie (Dosisfindungsstudie) ein Therapiekonzept erprobt, welches die Ergebnisse der Vero-IL-2-Studien erweitern sollte.

Dabei wurde an Katzen postoperativ ein adenoviraler Gentransfer in das Tumorbett durchgeführt. Die replikationsdefekten, rekombinanten Adenoviren stimulieren die von ihnen transfizierten Zellen zur Produktion von hIL-2 (Ad-hIL-2/AdTG6624) und feIFN- $\gamma$  (Ad-feIFN- $\gamma$ /AdTG13273) (siehe 4.3.1.2). Die Injektion erfolgte an 5 Tagen (Tag 1, 2, 3, 6 und 7) (222, 208, 34).

Insgesamt 27 Katzen gingen in diese Studie ein. Acht der 27 Katzen dienten als Kontrolltiere und wurden ausschließlich einer chirurgischen Exzision des Tumors unterzogen.

19 Katzen wurden in vier Gruppen unterteilt und erhielten folgende Dosierungen:

- Gruppe 1 (4 Tiere):  $2 \times 10^7$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 2 (4 Tiere):  $1 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 3 (2 Tiere):  $2,5 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 4 (9 Tiere):  $5 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$

In dieser Studie wollte man, im Hinblick auf die Aktivierung von NK-Zellen, die additiven Wirkungsweisen beider Stoffe nützen. Des Weiteren sollte durch IFN- $\gamma$  eine Hemmung des Zellwachstums erreicht werden. Somit sollten eventuell im Operationsgebiet verbliebene Tumorzellen abgetötet und damit ein Rezidiv verhindert werden. Als maximal tolerierbare Dosis (MTD) wurde die Dosis  $5 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und  $5 \times 10^8$  IU AdV-feIFN- $\gamma$  ermittelt.

Im Rahmen einer weiteren prospektiven randomisierten kontrollierten Phase-I-Studie wurden 20 Katzen mit histologisch nachgewiesenem felinem Fibrosarkom einer chirurgischen Therapie in Kombination mit einer präoperativen intratumoral erfolgenden adenoviralen Genterapie mit AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$  unterzogen. Zu beachten ist, dass in dieser Studie die Erfassung und Auswertung wichtiger klinischer, hämatologischer und

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

labordiagnostischer Parameter (mit auftretenden Toxizitäten) im Vordergrund stand.

Die 20 Katzen wurden in vier Gruppen unterteilt und erhielten folgende Dosierungen:

- Gruppe 1 (3 Tiere):  $1 \times 10^7$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 2 (3 Tiere):  $5 \times 10^7$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 3 (3 Tiere):  $1 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$
- Gruppe 4 (11 Tiere):  $5 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$

Weitere 8 Katzen dienten als Kontrolltiere. Die Tumoren dieser Tiere wurden ausschließlich chirurgisch behandelt.

Die insgesamt 28 Katzen wurden nach der Operation in regelmäßigen Intervallen auf Metastasen oder Rezidive kontrolliert.

Es konnte folgendes dokumentiert werden:

- Als maximal tolerierbare Dosis (MTD) wurde die Dosis  $1 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und  $1 \times 10^8$  IU AdV-feIFN- $\gamma$  ermittelt.
- Von den insgesamt 28 Tieren waren 10 Katzen am Tag 365 rezidivfrei (5 Kontrolltiere, 5 gentherapeutisch behandelte Katzen), 13 Katzen zeigten eine Rezidiv (Zeitraum: 42 - 357 Tage), 2 Katzen entwickelten Lungenmetastasen und wurden euthanasiert, 1 Katze verstarb aus anderen Gründen und 2 Kontrolltiere schieden aus der Studie aus.
- Die mittlere rezidivfreie Zeit lag bei 262 Tagen (Kontrollgruppe: 280 Tage). Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen allen therapierten Katzen und den Kontrolltieren festgestellt werden ( $p=0,170$ ).
- Sowohl bei Katzen mit Immunstimulation als auch bei Kontrolltieren wurde ein reduziertes Allgemeinbefinden beobachtet, welches als Folge des Therapie-Stresses gewertet wurde. Zwei Katzen (Gruppe 4) reagierten jedoch auf die 1. Injektion mit einer Reduktion des Allgemeinbefindens. Diese Reaktionen wurden aufgrund der engen zeitlichen Korrelation mit der Gentherapie und der Unverträglichkeit dieser Dosisstufe in Verbindung gesetzt. Diese beiden Katzen verstarben im Anschluss an die verabreichte Therapie. Bei den anderen Tieren wurden

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

postoperativ z. T. eine verzögerte kapilläre Füllungszeit oder blasse Schleimhäute beobachtet, was mit einem Blutverlust durch den operativen Eingriff erklärt wurde. Eine Katze wies nach der 1. Injektion petechiale Blutungen auf Haut und Schleimhäuten auf (es wurde vermutet, dass die Veränderung der Permeabilitätsverhältnisse durch die Zytokintherapie bedingt sein könnte). Des Weiteren wurde bei einigen Tieren ein Anstieg der Körpertemperatur und eine Leukozytose beobachtet.

- Weder bei der Dosis  $5 \times 10^7$  IU AdV-hIL-2 und  $5 \times 10^7$  IU AdV-feIFN- $\gamma$  noch bei der Dosis  $1 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und  $1 \times 10^8$  IU AdV-feIFN- $\gamma$  konnten hIL-2-Konzentrationen im Serum gemessen werden. Bei der klinisch schlecht tolerierten Dosis  $5 \times 10^8$  IU AdV-hIL-2 und  $5 \times 10^8$  IU AdV-feIFN- $\gamma$  konnte eine Transgenexpression mit Abschwemmung von IL-2 in den Blutkreislauf durch messbare Serum-Interleukin-2-Konzentrationen nachgewiesen werden. Hinsichtlich der Steigerung der IL-2-Expression wurde die intratumorale Injektion von AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$  im Vergleich zu einer postoperativen Gabe als effektiver bewertet.
- Drei Katzen wiesen bereits vor der 1. Injektion neutralisierende Antikörper gegen humane Adenoviren (Vektor: Virussubtyp 5) auf. Man ging davon aus, dass bei diesen Katzen eine Immunantwort gegen den Vektor bereits mit der Sekretion von Immunglobulinen (Ig) vom Typ IgG durch Gedächtniszellen (B-Zellen) stattfindet (sonst: Bildung von IgM, welches erst später von IgG unterstützt wird).
- Man überlegte aber, ob sich spezieseigene Gene nicht besser eignen würden, da sich gebildete Antikörper auch gegen körpereigenes IL-2 richten könnten (221).

#### *Behandlung mit feIL-2, feIFN- $\gamma$ und feGM-CSF:*

Des Weiteren wurde auch der non-virale Gentransfer der felines Zytokin-Gene feIL-2, feIFN- $\gamma$  und feGM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze untersucht (klinische Phase-I-Studie) und auf ihre Wirksamkeit

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

getestet. Im Rahmen dieser Dosisfindungsstudie wurden die Zytokine zu gleichen Anteilen kombiniert. Dabei wurde die Dosierungen 75 µg/Plasmid, 150 µg/Plasmid, 300 µg/Plasmid und 600 µg/Plasmid verwendet.

Die Verwendung einer derartigen Zytokin-Kombination bietet die Möglichkeit, synergistische oder additive Effekte der Zytokine untereinander auszunützen. Man erhofft sich, eine gegen den Tumor gerichtete Immunität zu erreichen, gegebenenfalls auch unter der Verwendung geringerer Dosen (226, 176, 124). Durch den Einsatz ausschließlich feliner Zytokin-Gene soll die Entstehung von Abwehrmechanismen verhindert werden, die gegen das xenogene Transgen gerichtet sind und durch welche transgen-tragende Zellen lysiert werden. Zudem soll die Bildung von Antikörpern abgewendet werden, wenn nicht gar die Inangsetzung autoimmuner Prozesse, da dies möglicherweise eine verringerte Genexpression zur Folge hätte (135, 169). Bei der Verwendung feliner Gene hofft man zusätzlich eine effektivere Zytokin-Wirkung zu erzielen, was in einer verbesserten antitumoralen Immunantwort resultieren würde.

Zur Gewährleistung eines repräsentativen Ergebnisses, wurden in dieser Studie nur Katzen aufgenommen, deren Tumoren (Primärtumor oder Rezidiv) am Rumpf lokalisiert waren. Darüber hinaus wurden nur Katzen behandelt, die zuvor keinerlei adjuvanter Therapie (Chemo-, Strahlen- oder Genterapie) unterzogen worden waren.

Im Verlauf dieser Studie wurde Katzen direkt nach der Tumorexstirpation (*en-bloc*-Resektion) ein Kollagenschwamm (KS) in das Tumorbett implantiert. Der KS fungierte als Träger für Plasmide, die jeweils für feIL-2, feIFN-γ und feGM-CSF kodierten. Die verwendete Plasmid-DNA wurde an Polyethylenimin (PEI) assoziiert und mit einem Hüllpolymer (P6YE5C) ummantelt.

Die Verwendung eines Kollagenschwammes als Trägermaterial hat sich zur Bewerkstelligung eines Gentransfers als sehr geeignet erwiesen, da sich seine Herstellung sowie sein Einsatz *in vivo* als problemlos gestalteten. Im Tumorbett eingesetzt, trägt er zu einer optimalen Wundheilung bei, da sein Material blutstillend ist und als Leitschiene für einsprossendes Granulationsgewebe dient. Das Kollagen selbst weist nur eine sehr geringe Immunogenität auf (201). Dieses Material kann vom Organismus ohne weiteres im Laufe der Zeit lysiert werden. Der Entwicklung eines potentiellen Rezidivs könnte somit entgegen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

gewirkt werden, da verbliebene Fibrosarkomzellen in den Kollagenschwamm einwachsen und durch Aufnahme der Zytokin-Gene, eine gesteigerte Immunogenität (durch evtl. vermehrte Expression von MHC-I- und MHC-II-Molekülen im Tumorgebiet (188)) bewirkt würde.

Ergebnisse:

- 600 µg/Plasmid wurde als maximal tolerierte Dosis festgesetzt, da hier ein Abfall der Lymphozytenpopulation als Ausdruck einer Reaktion auf das Transgen bzw. auf dessen Expressionsprodukt beobachtet wurde.
- Postoperativ stellte man in manchen Fällen die Bildung eines Seroms fest, welches aber nicht therapiebedürftig war. Das Allgemeinbefinden der behandelten Katzen wurde durch die Therapie nicht beeinträchtigt.
- Nach der Behandlung mit feIL-2, feIFN-γ und feGM-CSF konnte bei den Katzen eine Rezidivfreiheit von 46 % (6 von 13 Tieren) nach Ablauf eines Jahres dokumentiert werden. Für Katzen, deren Tumoren allein durch chirurgische Exstirpation behandelt worden waren, ermittelten andere Autoren nach einem Jahr eine Rezidivfreiheit von 11 - 54 % (49, 117).
- Zwei von 13 Katzen (15 %) entwickelten innerhalb des Untersuchungs-jahres Metastasen. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen Daten überein, welche eine Metastasierungsrate von 10 - 24 % angeben (45, 39).
- Weitere Beobachtungen ließen vermuten, dass Tumoren mit einem geringen Durchmesser zu einer geringeren Rezidivrate neigen würden, als Tumoren von erheblicher Größe (120).
- Diese Therapiestrategie biete, so war man der Meinung, einen praxisrelevanten Modus für die Bekämpfung dieses aggressiven Tumors.

*Behandlung mit feGM-CSF oder feIL-2, feIFN-γ und feGM-CSF:*

An der Medizinischen Kleintierklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München läuft derzeit eine FSA-Studie, in welcher die Wirksamkeit von intra-

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

tumoral injizierten Plasmiden, welche die Gene für feGM-CSF oder für feIL-2, feIFN- $\gamma$  und feGM-CSF enthalten, untersucht wird.

Die Injektion erfolgt 14 Tage und 7 Tage vor der *en-block*-Resektion des Tumors. Hierbei wurde das Zytokinplasmid an Eisenmoleküle assoziiert und mittels Magnetofektion am Ort des Tumors zentriert.

Die Tiere werden ein Jahr lang in regelmäßigen Abständen auf die Entwicklung eines Rezidivs kontrolliert und dabei Blutproben entnommen. Ergebnisse sind Ende des Jahres 2006 zu erwarten (Dissertation von Anika Jahnke und Cornelia Fischer, in Vorbereitung zur Einreichung, Ludwig-Maximilians-Universität München).

Die Verwendung von Zytokinen zur Behandlung des feline Fibrosarkoms könnte in Zukunft eine gute Therapiemöglichkeit bieten. Der Ersatz humaner Zytokine durch feline Zytokine scheint ein wichtiger Ansatzpunkt zu sein, um die Effektivität dieser Therapieart zu steigern. Weitere Studien müssen noch durchgeführt werden, um die beste Zytokin-Kombination, Dosierung und Applikationsart zu ergründen.

### 7.2.3 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Pferdes

**Tab. 12: die Anwendung von Zytokinen bei soliden Tumoren des Pferdes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>equines Sarkoid</b>	IL-2/Cisplatin;	193
	D609, KC <sub>12</sub> und rhTNF- $\alpha$	160
<b>malignes Melanom</b>	IL-12;	96
	IL-12 plus IL-18	74

*Legende:*

IL-2 = Interleukin-2; D609 = Tricyclodecan-9-yl-xanthogenate;  
KC<sub>12</sub> = Kalisalz der Laurinsäure; rhTNF- $\alpha$  = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor;  
IL-12 = Interleukin-12; IL-18 = Interleukin-18

#### Equines Sarkoid:

Das equine Sarkoid ist ein aggressiver Hauttumor des Pferdes, Esels und Maultieres. Die Entstehung dieses Tumors basiert auf der Mutation von Fibrozyten und wird in unterschiedliche Kategorien (warzig, fibroblastisch, gemischt warzig-fibroblastisch, nodulär, etc.) klassifiziert.

Bei 20 % aller equinen Neoplasien handelt es sich um equine Sarkoide, wobei sie 90 % aller Hauttumoren beim Pferd repräsentieren.

Es wurde bereits auf verschiedenen Wegen versucht, sei es durch chirurgische Exzision, Kryotherapie, Exzision mittels CO<sub>2</sub>-Laser, Immuntherapie (mittels Baypamun P oder BCG (140)), Brachytherapie, Hyperthermie, autologe Tumorzell-Vakzinen oder Chemotherapie, diesen Tumor zu behandeln. Bisläng konnte allerdings noch keine sicher kurative Therapie entwickelt werden (19).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

*Behandlung mit einer Kombination aus einem Chemotherapeutikum (Cisplatin) und IL-2:*

Daher versuchte man durch Kombination eines Chemotherapeutikums (Cisplatin) mit einem Zytokin (IL-2) einen besseren Erfolg zu erzielen, als es bei der Verwendung einer Monotherapie möglich ist. Die Wahl dieser Kombination beruht auf der Annahme, dass sich Cisplatin und IL-2 in ihren Wirkungsweisen optimal ergänzen (19).

An 35 Pferden unterschiedlicher Rassen und einem Esel (insgesamt 46 Sarkoide unterschiedlicher Klassifikation und Lokalisation) wurde diese Therapie in einer prospektiven Studie erprobt. Man wollte herausfinden, inwiefern sich die Wirkung einer einmalig erfolgenden hoch dosierten IL-2-Injektion (in Kombination mit Cisplatin) von der einer sich öfter wiederholenden (5 - 10x) niedrig dosierten IL-2-Injektion (ohne Cisplatin) unterscheidet. Die Tumoren wurden im Vorfeld nicht chirurgisch entfernt (mit Ausnahme des Esels, da er ein periokuläres Sarkoid mit Ulzerationen aufwies, die dem Tier Beschwerden bereiteten).

Demnach wurden die 36 Tiere in drei Gruppen unterteilt.

1. Gruppe (11 Pferde, 12 Sarkoide):

intratumorale Injektion von 200.000 IU IL-2, einmal täglich an 5 aufeinander folgenden Tagen;

2. Gruppe (10 Pferde, 12 Sarkoide):

intratumorale Injektion von 200.000 IU IL-2, einmal täglich an 2x5 aufeinander folgenden Tagen (Zwischenintervall: 2 Tage, insgesamt 10 Behandlungstage);

3. Gruppe (14 Pferde und 1 Esel, 22 Sarkoide):

Tag 0: intratumorale Injektion von Cisplatin (1 mg/m<sup>2</sup> Tumoroberfläche)

Tag 10: intratumorale Injektion von 4,5x10<sup>6</sup> IU/ml IL-2.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Es konnten folgendene Ergebnisse dokumentiert werden (3. Gruppe):

Nach 3 Monaten:

- 6 von 15 Tieren (40 %) zeigten eine partielle Remission (PR).
- 3 von 15 Tieren (20 %) zeigten eine komplette Remission (CR).

Nach 6 Monaten:

- 3 von 15 Tieren (20 %) zeigten eine PR.
- 6 von 15 Tieren (40 %) zeigten eine CR.

Nach 9 Monaten:

- 4 von 15 Tieren (27 %) zeigten eine PR.
- 8 von 15 Tieren (53 %) zeigten eine CR.

Nach 12 Monaten:

- 4 von 15 Tieren (27 %) zeigten eine PR.
- 8 von 15 Tieren (53 %) zeigten eine CR.

Therapieerfolg (PR und CR) nach einem Beobachtungszeitraum von 12 Monaten:

1. Gruppe: bei 36 % der Tiere (PR: 2 Tiere (18 %); CR: 2 Tiere (18 %))
2. Gruppe: bei 50 % der Tiere (PR: 4 Tiere (40 %); CR: 1 Tier (10 %))
3. Gruppe: bei 80 % der Tiere (PR: 4 Tiere (27 %); CR: 8 Tiere (53 %))

In der 3. Gruppe konnten demnach die besten Effekte erzielt werden (3. Gruppe vs. 1. Gruppe:  $p=0,03$ ; 3. Gruppe vs. 2. Gruppe:  $p=0,001$ ).

Bei Vorhandensein mehrerer Sarkoide konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der CR-Rate dokumentiert werden. Die Tumorremission wurde durch die Entwicklung einer systemischen Immunität nach IL-2-Gabe erklärt.

Nebenwirkungen traten in Form von Hautrötungen und Ödemen auf, welche bei manchen Tieren über einen Zeitraum von bis zu zwei Monaten bestehen blieben. Deren Entstehung wurde auf die Wirkung von IL-2 zurückgeführt, da auf histologischer Ebene eine deutliche Infiltration eosinophiler Granulozyten und Lymphozyten, v. a. in der Nähe von Blutgefäßen, registriert wurde. Apoptotische Vorgänge wurden ebenfalls beobachtet (193).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Im Vergleich zu anderen Therapieformen konnte auch durch diese Kombinationstherapie kein signifikant besseres Ergebnis erzielt werden. Dennoch zeichnet sich diese Anwendung durch folgende Aspekte aus (193):

- 1) Es konnten Nebenwirkungen, wie sie bei der Behandlung mit BCG und nach wiederholter lokaler Cisplatin-Injektion auftreten (204), vermieden werden.
- 2) Tumoren, die einer chirurgischen Exzision unzugänglich sind, können behandelt werden.
- 3) Der Therapieerfolg zeigte sich unabhängig von der TumorgroÙe.

#### *Behandlung mit D609, KC<sub>12</sub> und rhTNF- $\alpha$ :*

D609 wird eine antivirale und antitumorale Wirkung nachgesagt, da es angeblich die Replikation und die Translation viraler DNA und RNA hemmt (183). Es wurde berichtet, dass die Wirkung von rhTNF- $\alpha$  durch die beiden anderen Komponenten gesteigert wird (2).

Anfang der 90er Jahre wurde an einer kleinen Gruppe von Pferden (5 Tiere; 9 nicht-histologisch nachgewiesene Sarkoide), die Wirksamkeit von D609 (Tricyclodecan-9-yl-xanthogenate; 5 mg/ml Lösung) in Kombination mit KC<sub>12</sub> (Kalisalzt der Laurinsäure, 5 mg/ml Lösung) und rhTNF- $\alpha$  (50  $\mu$ g/ml; 1 mg =  $5,74 \times 10^7$  IU) getestet. Dabei variierte die applizierte Dosis zwischen 0,1 bis 10 ml/Injektion. Die Injektion wurde subkutan (an der Stelle des Tumors) im Abstand von drei Wochen verabreicht (1. Gruppe). Im Vergleich dazu wurden 5 weitere Pferde (6 Sarkoide) nur mit D609 und KC<sub>12</sub> behandelt (2. Gruppe).

#### Ergebnisse:

1. Gruppe (nach einem Beobachtungszeitraum von 13 Monaten):
  - 1 von 5 Pferden (20 %) zeigte eine komplette Remission des behandelten Tumors.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 3 von 5 Pferden (60 %) zeigten eine partielle Remission (50 % der ursprünglichen Tumorgroße) der behandelten 4 Sarkoide. Eines dieser drei Tiere wies eine komplette Remission mehrerer unbehandelter kleinerer Sarkoide auf.
  - 2 von 5 Pferden (40 %) zeigten nach der Therapie keine Veränderungen (2 Sarkoide). Bei einem der beiden Pferde zeigten 2 weitere behandelte Sarkoide ein progressives Tumorwachstum.
2. Gruppe (nach einem Beobachtungszeitraum von 18 Monaten):
- 3 von 5 Pferden (60 %) zeigten eine komplette Remission der behandelten Tumoren. Eines der 3 Pferde wies 4 Sarkoide auf, wovon 1 Sarkoid eine partielle Remission zeigte.
  - 2 von 5 Pferden (40 %) zeigten nach der Therapie keine Veränderungen.

Die Ergebnisse resultierten in der Meinung, dass durch zusätzliche Gabe von TNF- $\alpha$  die Effektivität dieser Therapie nicht gesteigert werden könne (160).

#### *Equines malignes Melanom:*

Das equine maligne Melanom weist eine hohe Metastasierungsrate auf, wobei das Erreichen großer Metastasengrößen (z. B. in der Parotis) als Todesursache gesehen wird. Pferde mit grauer Fellfarbe neigen zu einer spontanen Entwicklung dieser Tumoren (durch Änderung des Melaninmetabolismus und der darauf folgenden Entstehung neuer Melanoblasten, welche dann das Risiko bergen, zu entarten) (175).

#### *Behandlung mit einer für hIL-12 kodierenden Plasmid-DNA (VR1012-huIL-12):*

In einer prospektiven Studie wurden 7 Pferde unterschiedlicher Rassen einer Behandlung mit einer für hIL-12 kodierenden Plasmid-DNA (VR1012-huIL-12) (Dosierung: 250  $\mu$ g i.t.) unterzogen (96). Die Pferde wiesen jeweils mehrere

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Melanome (oder Metastasen) auf. Die Injektionen erfolgten intratumoral im Abstand von ca. einem Monat (maximal 4 Behandlungen). Die insgesamt 30 Tumoren (oder Metastasen) wurden entweder mit VR1012-hIL-12, VR1012-revIL-12 (dabei handelt es sich um einen Kontrollvektor, wobei das Plasmid in einer reversen Orientierung für hIL-12 kodiert) behandelt oder sie wurden nur beobachtet. Demnach handelt es sich bei der 2. und 3. Gruppe um Kontrollgruppen.

#### Behandlungsgruppen:

1. Gruppe (12 Tumoren): Behandlung mit VR1012-hIL-12
2. Gruppe (7 Tumoren): Behandlung mit VR1012-revIL-12
3. Gruppe (11 Tumoren): keine Behandlung

Nach der Therapie wurden die Tumorguppen hinsichtlich einer Größenreduktion miteinander verglichen. Kein Tumor wurde chirurgisch entfernt. Die Tiere wurden über einen Zeitraum von 4 - 12 Monaten beobachtet.

#### Ergebnisse:

- Nach der VR1012-hIL-12-Therapie konnte eine signifikante Tumoregression registriert werden. Obgleich andere Zytokine eine hohe Spezies-Spezifität aufweisen (197, 184), zeigt sich humanes IL-12 bei der Anwendung an Pferden als vollkommen funktionsfähig.
- In der 1. Gruppe zeigte ein Tumor eine komplette Remission und 11 Tumoren eine partielle Remission.
- Ein Tumor wurde dreimal behandelt und kam in eine komplette Remission (CR). Die CR wurde histologisch bestätigt.
- Ein Tumor wurde in 3 Zyklen behandelt. Dieser Tumor wurde nach jedem Zyklus immer kleiner. Ein unbehandelter Tumor am gleichen Pferd veränderte sich dabei nicht.
- Ein Tumor wurde mit dem Kontrollvektor (VR1012-revIL-12) behandelt. Dieser Tumor zeigte keine Größenreduktion. Nach 30 Tagen wurde dieser Tumor mit VR1012-hIL-12 behandelt und wurde daraufhin kleiner.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- Die Tumoren der 1. Gruppe zeigten durchschnittlich eine Größenreduktion von 59 % (d. h. Resttumorvolumen: 41 % der ursprünglichen Tumormasse).
- Die Tumoren der 2. Gruppe zeigten durchschnittlich eine Größenreduktion von 12 % (d. h. Resttumorvolumen: 88 % der ursprünglichen Tumormasse).
- Die Tumoren der 3. Gruppe zeigten durchschnittlich eine Größenzunahme von 7 % (d. h. Endtumorvolumen: 107 % der ursprünglichen Tumormasse).
- Kleine Tumoren sprachen am besten auf die Therapie mit VR1012-hIL-12 an. Diese Tumoren zeigten durchschnittlich nach 30 Tagen eine Größenreduktion. Nach Erreichen der jeweils maximalen Größenreduktion wuchsen die Tumoren langsam wieder, sprachen aber erneut auf Therapiezyklen mit VR1012-hIL-12 an.
- Histologische Untersuchungen zeigten nach der Behandlung mit VR1012-hIL-12 eine hochgradige peri- und intratumorale Infiltration von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen. Auch tumor-infiltrierende Lymphozyten (TIL, siehe 1.3) wurden in behandelten Tumoren gefunden. Unbehandelte Tumoren zeigten diese Infiltrationen nicht.
- Weitere Untersuchungen zeigten, dass 14 Tage nach der ersten VR1012-hIL-12-Behandlung die Expression von IFN- $\gamma$  (siehe 7.1.1.11) einsetzte. Vor der Behandlung waren alle Biopsieproben der Tumoren, hinsichtlich einer IFN- $\gamma$ -mRNA, negativ.
- Im Rahmen der Behandlung mit IL-12 konnten keine nennenswerten Nebenwirkungen registriert werden (96).

Die Behandlung mit VR1012-hIL-12 scheint eine gute Behandlungsmöglichkeit für das equine maligne Melanom zu bieten. Dennoch sollten noch weitere Studien durchgeführt werden, deren Ziel eine eventuelle Optimierung des Behandlungsschemas und der Dosierung sein sollte.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### *Behandlung mit einer für equines IL-12- oder IL-18-kodierenden Plasmid-DNA:*

In einer verwandten Studie wurde die Wirkung von für equines IL-12- oder IL-18-kodierender Plasmid-DNA am malignen Melanom des Pferdes getestet. Im Rahmen einer prospektiven Doppelblindstudie wurden Pferde mit insgesamt 26 histologisch nachgewiesenen malignen Melanomen in 3 Gruppen aufgeteilt:

1. Gruppe: Behandlung mit equinem IL-12
2. Gruppe: Behandlung mit equinem IL-18
3. Gruppe: Kontrollgruppe (Behandlung mit einem Plasmid, das für keines der Interleukine kodiert)

Den Pferden wurden dreimal im Abstand von 2 Tagen 250 µg Plasmid-DNA intratumoral injiziert. Dies wurde nach 2 Wochen wiederholt.

Als Ergebnis konnte nach der Behandlung mit IL-12 (siehe **7.1.1.11**), ein Rückgang der ursprünglichen Tumorgröße um 80 % ( $p < 0,2$ ) und nach der Behandlung mit IL-18 (siehe **7.1.1.13**) sogar eine Reduktion des ursprünglichen Tumolvolumens von 88 % ( $p < 0,01$ ) dokumentiert werden. Die Tumoren der Kontrollgruppe nahmen hingegen an Größe zu ( $p > 0,05$ ) (74). Diese Zytokine scheinen einen sehr guten Therapieansatz zu liefern. Es sind keine Daten der rezidivfreien Zeit und der medianen Überlebenszeit bekannt. Dennoch könnte sich daraus eine praxisfreundliche Therapiemöglichkeit entwickeln, da sich ihr Einsatz am Pferd als weitaus einfacher gestalten würde als eine chirurgische Behandlung kutaner Melanome.

#### 7.2.4 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes

**Tab. 13: die Anwendung von Zytokinen bei soliden Tumoren des Rindes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>okuläres Plattenepithelkarzinom</b>	rhIL-2 (plus BCG); rhIL-2/rhIL-12	181, 54, 53, 198
<b>Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex</b>	rhIL-2	101

*Legende:*

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhIL-12 = rekombinantes humanes Interleukin-12; BCG = Bazillus Calmette-Guérin

*Bovines okuläres Plattenepithelkarzinom (BOSCC):*

Bei dem okulären Plattenepithelkarzinom des Rindes (engl. BOSCC; „*bovine ocular squamous cell carcinoma*“) handelt es sich um einen relativ häufig vorkommenden Tumor, der hauptsächlich bei Rindern mit „weißen Gesichtern“ auftritt. Als Ursache wird eine intensive UV-Licht-Exposition gesehen. Lokalisiert ist dieser Tumor meist am dritten Augenlid, auf der Sklera in Nähe des lateralen Augenwinkels und am unteren Lidrand. Dieser Tumor neigt zur Metastasierung in Lymphknoten und Lunge (54).

*Behandlung mit rhIL-2:*

Aufgrund seiner Häufigkeit und der damit verbundenen wirtschaftlichen Einbußen (198), wurden Studien durchgeführt, in deren Rahmen die Wirksamkeit von niedrig dosiertem rhIL-2 getestet wurde.

In einer Anwendungsbeobachtung wurden 5 Rinder unterschiedlicher Rassen und einer Tumorgröße < 4 cm<sup>2</sup> diesem Verfahren unterzogen. Diesen Tieren wurde in 2 Zyklen, bestehend aus jeweils 5 Tagen und einem Therapieintervall von 2 Tagen, 2.500 Einheiten/Injektion rhIL-2 (verdünnt mit 1 ml Salzlösung) intratumoral und dieselbe Menge in den regionalen Lymphknoten injiziert.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Ergebnisse:

- 3 von 5 Tieren (60 %) zeigten eine komplette Tumorregression.
- 1 von 5 Tieren (20 %) zeigte eine geringgradige Tumorregression (um 20 % der ursprünglichen Tumorgröße).
- 1 von 5 Tieren (20 %) zeigte ein verlangsamtes Tumorwachstum.
- Nach 12 Monaten waren 3 der 5 Rinder (60 %) noch am Leben.
- Bei Verwendung dieser Dosierung konnten keine Nebenwirkungen beobachtet werden.
- Histologische Untersuchungen ergaben eine vermehrte Anwesenheit von Lymphozyten. In diesem Zusammenhang vermutete man eine Stimulierung von NK-Zellen, welche aufgrunddessen eine LAK-Aktivität entwickeln. Eine Aktivität tumor-spezifischer zytotoxischer T-Lymphozyten wurde auch in Betracht gezogen.

Infolge dieser Ergebnisse diskutierte man, ob eine höhere Anzahl an Zyklen vielleicht sogar zu einem noch besseren Therapieerfolg hätte führen können (181).

In einer ähnlichen Anwendungsbeobachtung wurde Rindern (4 Tiere mit Tumoren in einer Größe > 4 cm<sup>2</sup>) rhIL-2 in einer Dosierung von 200.000 Einheiten/Tag zweimal 5 Tage in Folge, mit einer Pause von 2 Tagen, intratumoral injiziert.

Im Verlauf von 12 Monaten zeigte sich bei einem Rind bereits nach 2 Monaten eine komplette Tumorregression, welche auch im weiteren Verlauf bestehen blieb. Bei einem anderen Tier konnte nach einem Zeitraum von 3 Monaten eine partielle Regression um 99 % der ursprünglichen Tumorgröße dokumentiert werden. Bei diesem Tier wurde allerdings 9 Monate nach Ende der Therapie ein neuer Tumor festgestellt. Der Tumor des dritten Rindes wies bereits nach 15 Tagen eine Reduktion des Tumolvolumens um 50 % auf, begann aber ab Tag 60 wieder an Größe zu gewinnen. Bei dem vierten Tier konnte kein therapeutischer Effekt erzielt werden (54).

Diese Beobachtungen gaben Anlass, eine prospektive randomisierte Studie mit einer größeren Anzahl von Rindern (insgesamt 70 Tumoren, ≤ 4 cm<sup>2</sup>) und

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

unterschiedlichen rhIL-2-Dosen (5.000, 20.000 und 200.000 Einheiten) durchzuführen, da bisher nicht explizit geklärt werden konnte, anhand welcher rhIL-2-Dosis die beste therapeutische Wirkung erzielt werden kann. Die Tiere dieser Studie waren nicht chirurgisch vorbehandelt.

- Tumorlokalisation:

Bei 40 Rindern war ein Auge, bei 15 Rindern beide Augen betroffen (der Tumor war in 66 % der Fälle am dritten Augenlid, in 28 % der Fälle auf der Sklera und in 6 % der Fälle am unteren Augenlid lokalisiert). Die Tumoren wurden histologisch nachgewiesen.

- Gruppenzusammensetzung zu Beginn der Studie:

1. Gruppe (19 Tumoren): 5000 U IL-2
2. Gruppe (20 Tumoren): 20.000 U IL-2
3. Gruppe (18 Tumoren): 200.000 U IL-2
4. Gruppe (14 Tumoren): Placebo (Salzlösung mit 0,1 % bovinem Serum-Albumin)

- Gruppenzusammensetzung bei der Endevaluierung (nach 20 Monaten):

1. Gruppe: 17 Tumoren
2. Gruppe: 16 Tumoren
3. Gruppe: 18 Tumoren
4. Gruppe: 14 Tumoren

#### Ergebnisse:

- Nach einem Beobachtungszeitraum von 20 Monaten konnte in der 1. Gruppe bei 6 von 17 Tumoren (35 %) eine komplette Remission (CR) des Tumors erreicht werden. 1 von 17 Tumoren (6 %) zeigten eine partielle Remission (PR) des Tumors.
- In der 2. Gruppe zeigten 5 von 16 Tumoren (31 %) eine CR und 2 von 16 Tumoren (13 %) eine PR.
- In der 3. Gruppe zeigten 12 von 18 Tumoren (67 %) eine CR des Tumors und 2 von 18 Tumoren (11 %) eine PR.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- In der Placebogruppe zeigten nach 9 Monaten 1 von 14 Tumoren (7 %) und nach 12 Monaten 0 von 14 Tumoren (0 %) eine CR. Nach 9 und 12 Monaten wurden keine PR dokumentiert.
- Im Vergleich zur 1. und 2. Gruppe zusammen konnten in der 3. Gruppe deutlich bessere Ergebnisse erzielt werden ( $p=0,02$ ).
- Es wurden keine nennenswerten Nebenwirkungen beobachtet (53).

Die Verabreichung von 200.000 U IL-2 (10 Injektionen) scheint eine gute Therapiemöglichkeit zur Behandlung des BOSCC zu sein. Zu beachten ist allerdings, dass dieser Tumor nur sehr langsam in Remission tritt und demnach generell erst sehr spät repräsentative Ergebnisse zu erwarten sind.

Der präzise Mechanismus der IL-2-Immuntherapie ist bei diesem Tumor noch nicht vollends verstanden. Man vermutet, dass durch eine IL-2-Injektion eine Ödembildung induziert wird, dann Granulome gebildet werden und es zur Regression des Tumors kommt (13). Es ist bekannt, dass IL-2 eine Gefäßdurchlässigkeit und eine Stimulation von neutrophilen Granulozyten und von Makrophagen induzieren kann, aber auch an Vorgängen der Antigenpräsentation und der T-Zell-Proliferation beteiligt ist (114).

Im Rahmen dieser Therapie wird von einer chirurgischen Exzision (die in der Humanmedizin in 95 % der Fälle durchgeführt wird) abgeraten, da man annimmt, dass durch dieses Vorgehen, der Großteil der mit dem Tumorantigen reagierenden Lymphozyten entfernt und demzufolge die Entwicklung einer effektiven antitumoralen Immunantwort verhindert wird (53).

#### *Behandlung mit rhIL-2 in Kombination mit BCG:*

Zur gleichen Zeit wurde auch die Effizienz von rhIL-2 in Kombination mit BCG (Bacillus Calmette-Guérin) auf histologischer Ebene untersucht. Auf die Wirkungsweise von BCG wird in Kapitel 8.1.1 näher eingegangen.

Acht Rindern unterschiedlicher Rassen wurde intraläsional ein Lebend-BCG-Präparat an Tag 0, 14, 35 und 56 injiziert. In Kombination dazu erhielten die Tiere eine intraläsionale Injektion mit 2.500 Einheiten rhIL-2 an

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Tag 0 - 4, 7 - 11, 15 - 17, 36 - 38 und 57 - 59. Die gleiche rhIL-2-Dosis wurde auch in den regionalen Lymphknoten appliziert.

Die Untersuchung der Tumorbiopsien ergab, dass in den ersten 7 Tagen die tumor-infiltrierende Lymphozytenpopulation von CD4<sup>+</sup>-T-Zellen dominiert wird, in den Tagen 7 - 14 allerdings der Anteil dieser Zellen abnimmt, und nun CD8<sup>+</sup>-T-Zellen in dominierender Anzahl anzutreffen sind. Während der Dauer dieser Anwendungsbeobachtung konnte bei den Tieren (noch) keine Tumorregression erkannt werden (180).

#### *Behandlung mit IL-2 und/oder IL-12:*

In einer anderen prospektiven randomisierten Studie sollten die Wirkungen der Interleukine IL-2 und/oder IL-12 am BOSCC (25 Tumoren) untersucht werden.

Es wurden 3 Gruppen gebildet:

- 1. Gruppe (8 Tumoren): Behandlung mit IL-2 (200.000 Einheiten/Tag)
- 2. Gruppe (9 Tumoren): Behandlung mit IL-12 (0,5 µg/Tag)
- 3. Gruppe (8 Tumoren): Behandlung mit IL-2 und IL-12 (200.000 Einheiten/Tag und 0,5 µg/Tag)

Als Kontrolltiere dienten 25 Rinder, die ausschließlich mit löslichem PBS („phosphate-buffered-saline“) behandelt wurden, das mit 0,1 % BSA (bovines Serum-Albumin, Faktion V) angereichert wurde.

Die 25 Tumoren wurden folgendermaßen charakterisiert:

- 16 von 25 Tumoren (56 %): < 100 mm<sup>2</sup>;
- 9 von 25 Tumoren (36 %): 101 mm<sup>2</sup> - 1000 mm<sup>2</sup>;
- 2 von 25 Tumoren (8 %): > 1000 mm<sup>2</sup>;
- 16 von 25 Tumoren (64 %) waren am dritten Augenlid lokalisiert.
- 8 von 25 Tumoren (32 %) waren am unteren Lidrand lokalisiert.
- 1 von 25 Tumoren (4 %) war am Kanthus lokalisiert.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Ergebnisse:

1. Gruppe (rhIL-2):

- Nach 12 Monaten wurde bei 4 von 8 Tumoren (50 %) eine komplette Remission (CR) dokumentiert.
- Nach 20 Monaten zeigten 5 der 8 Tumoren (63 %) eine CR und keiner der 8 Tumoren (0 %) zeigte ein progressives Tumorwachstum (PD).

2. Gruppe (rhIL-12):

- Nach 12 Monaten wurde bei 4 von 9 Tumoren (44 %) eine CR dokumentiert.
- Nach 20 Monaten zeigten 5 von 9 Tumoren (56 %) eine PD und keiner der 9 Tumoren eine CR.
- In dieser Gruppe waren die meisten stabilen Krankheitsverläufe (SD), eine hohe PD-Anzahl und, wie bereits aufgezeigt wurde, keine CR nach einem Zeitraum von 20 Monaten zu verzeichnen.

3. Gruppe (rhIL-2 plus rhIL-12):

- Nach 12 Monaten wurde bei 3 von 8 Tumoren (38%) eine CR dokumentiert.
- Nach 20 Monaten zeigte(n) 1 von 8 Tumoren (13 %) eine partielle Remission (PR), 3 von 8 Tumoren (38 %) eine CR und 3 von 8 Tumoren (38 %) eine PD.

Die Ergebnisse der 1. Gruppe waren deutlich besser als die der 2. Gruppe und der Kontrollgruppe. Gegenüber der 3. Gruppe konnten kaum Unterschiede dokumentiert werden. Die Tumorgröße erwies sich, hinsichtlich einer Tumorantwort, als nicht ausschlaggebend.

Man erhoffte sich allerdings von dem Einsatz von IL-12 weitaus mehr, da im Vorfeld durch andere Studien aufgezeigt werden konnte, dass IL-2 und IL-12 synergistisch hinsichtlich einer Steigerung einer T-Zell- und/oder NK-Zell-Proliferation, einer Zytokinproduktion und einer zytolytischen Aktivität infiltrierender Lymphozyten interagieren.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

Das Fehlschlagen der IL-12-Therapie könnte durch die Tatsache bedingt sein, dass das bovine okuläre Plattenepithelkarzinom relativ unempfindlich gegenüber der Wirkung von zugeführtem IL-12 ist. Dennoch wurde hier anhand von IL-12 bei manchen Tumoren ein stabiler Krankheitsverlauf erzielt, so dass IL-12 eine, wenn auch eingeschränkte, Wirksamkeit zugesprochen werden muss. Es könnte aber auch sein, dass sich IL-12 und IL-2 in manchen Aspekten ihrer Wirkungsweise sehr ähneln, aber durch IL-12 keine komplette Remission des Tumors erzielt werden kann (198).

Zu überlegen wäre, ob diese Interleukin-Kombination (IL-2/IL-12) nicht auch an anderen Tumortypen getestet werden sollte. Sollte es zutreffen, dass das BOSCC gegenüber zugeführtem IL-12 relativ unempfindlich ist, gibt es vielleicht andere Tumortypen, die besser auf zugeführtes IL-12 reagieren und somit die Wirkung von IL-2 eventuell steigerbar wäre.

#### *Boviner Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex:*

Der bovine Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex ist ebenfalls ein Tumor, dessen Entstehung in Beziehung zu einer intensiven UV-Licht-Einstrahlung auf wenig- oder unpigmentierte Hautareale, wie sie an der Vulva anzutreffen sind, gesetzt wird (33). Zudem wurden genetische Faktoren und eine Beteiligung von Viren diskutiert (152, 115).

In Anbetracht der Kosten und dem Einsatz als landwirtschaftliche Nutztiere wurde bisher von einer radio- und chemotherapeutischen Behandlung abgesehen. Bedingt durch die Lokalisation des Tumors erwies sich auch die chirurgische Behandlung nicht als Verfahren der Wahl.

#### *Behandlung mit rhIL-2:*

In einer randomisierten Dosisfindungsstudie untersuchte man anhand von 54 Tieren, deren Tumoren aufgrund des klinischen Bildes diagnostiziert und in 6 Stadien eingeteilt wurden, die Wirkung von niedrig dosiertem rhIL-2 (2500 U

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

oder 5000 U IL-2; in einer Gesamtdosis von 25.000 U und 50.000 U, intratumoral appliziert).

Es wurden 3 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (insgesamt 30 Rinder):

13 Rindern wurden 2500 U rhIL-2, gelöst in 1 ml „*phosphate-buffered-saline*“ und 0,1 % bovines Serum-Albumin (PBS/BSA), intratumoral oder in die Basis des Tumors, 1x täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen, injiziert. Als Kontrolltiere dienten weitere 17 Rinder. Sieben dieser 17 Kontrolltiere wurden nicht behandelt. Von 2 Kontrolltieren wurden Biopsien entnommen und 2 Kontroll-Rinder erhielten 1x täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen eine Placebo-Injektion (PBS/BSA).

2. Gruppe (insgesamt 18 Rinder):

7 Rindern wurden 5000 U rhIL-2, gelöst in 2 ml PBS/BSA, intratumoral oder in die Basis des Tumors, 1x täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen, injiziert. Von 4 der 7 Rinder wurden Biopsien entnommen.

Als Kontrolltiere dienten weitere 11 Rinder. Vier Kontrolltiere wurden nicht behandelt. Von 5 Kontrolltieren wurde aus jeweils einem Papillom eine Biopsie entnommen. Zwei Kontrolltieren wurden 1x täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen jeweils insgesamt 2 ml des Placebos (PBS/BSA) intratumoral in 4 Papillome injiziert.

3. Gruppe (insgesamt 6 Rinder):

3 Rinder wurden 5000 U rhIL-2, gelöst in 2 ml PBS/BSA, intratumoral oder in die Basis des Tumors, 1x täglich über einen Zeitraum von 10 Tagen, injiziert. In dieser Gruppe wurden auch Vulva-Karzinome behandelt.

Als Kontrollgruppe dienten weitere 3 Rinder. Von allen 6 Rindern wurden Biopsien entnommen und histopathologisch untersucht.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

#### Ergebnisse:

- In der 1. Gruppe wiesen 7 der 13 behandelten Rinder (54 %) eine Größenreduktion der Tumoren auf (Gesamtdosis: 25.000 U IL-2). Bis Tag 50 nahm die Gesamtzahl der an den Tieren befindlichen Tumoren ab. An Tag 104 wurde bei 11 der 13 Tiere der Höhepunkt der Größenreduktion dokumentiert. Danach wurde wieder ein Tumorstadium registriert. An Tag 329 hatten 10 der 13 Rinder (77 %) größere Tumoren als sie zu Beginn der Therapie aufgezeigt hatten. Bei 2 der 13 Rinder (15 %) nahm die Tumorstadium weiterhin ab.  
In der Kontrollgruppe (behandelte und unbehandelte Tiere) konnte keine Größenreduktion der Tumoren dokumentiert werden. Die Tumoren nahmen eher an Größe zu.
- In der 2. Gruppe wurde an Tag 50 bei 6 von 7 behandelten Rinder (85 %) eine Größenreduktion der Tumoren auf (Gesamtdosis: 50.000 U IL-2). An Tag 329 wies nur noch 1 der 7 Rinder (14 %) eine Größenreduktion der Tumoren auf. Die restlichen 6 Rinder zeigten dann ein progressives Tumorstadium.  
In der Kontrollgruppe (behandelte und unbehandelte Tiere) konnte keine Größenreduktion der Tumoren dokumentiert werden. Die Tumoren nahmen eher an Größe zu.
- In der 3. Gruppe zeigten 2 von 3 behandelten Rinder (67 %) zeitweise eine partielle oder komplette Remission der Tumoren (Gesamtdosis: 50.000 U IL-2). Die Tumoren der Kontrollgruppe zeigten ein gesteigertes Tumorstadium.
- Bei 19 von 23 Rindern (83 %) konnte eine temporäre Reduktion des Tumorstadiums beobachtet werden. Bei 3 dieser 19 Rinder (15,8 %) konnte zeitweise eine CR dokumentiert werden.
- In den Anfangsstadien der Tumorentwicklung, die von einer Ödembildung geprägt sind, beobachtete man eine hochgradige lymphoplasmazelluläre Infiltration und fibrosierende Vorgänge. Dies gab Grund zur Annahme, dass IL-2 die Entwicklung einer antitumoralen Aktivität der lymphatischen Zellen induziert, aber auch eine Anlockung und Aktivierung anderer Immunzellen bewirkt. Darüber hinaus erwartete man

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

auch die Entwicklung einer systemischen Immunität, da auch Tumoren, welche keiner direkten Behandlung unterzogen worden waren, in Regression traten (101).

Es wurde vermutet, dass auch hier durch eine Dosiserhöhung von rIL-2 auf 200.000 Einheiten/Tag ein weitaus besserer therapeutischer Effekt erzielt werden könnte. Demnach sollten in dieser Hinsicht noch weitere prospektive randomisierte Studien durchgeführt werden, da in dieser Studie eine Wirksamkeit nur in einer meist zeitlich begrenzten Größenreduktion der Tumoren sichtbar wurde.

## **Zusammenfassung**

In den letzten 15 Jahren wurden neue Verfahren entwickelt, durch welche der Transfer neuer Gene oder der Ersatz defekter Gene ermöglicht wird und ein therapeutischer Effekt bewirkt werden kann. Zu diesem Zweck wird ein viraler Vektor oder ein ringförmiges doppelsträngiges DNA-Molekül bakteriellen Ursprungs (Plasmid) verwendet, in dem das therapeutische Gen verankert wird. Durch die Immuntherapie kann die Produktion immunstimulierender Proteine unterstützt werden. Mit dem Einbringen eines therapeutischen Gens in die Zielzellpopulation (z. B. Tumorzellen, spezifische Effektorzellen des Immunsystems) wird eine Immunantwort direkt auf das Tumorgewebe gelenkt, wobei gesunde Zellen in ihrem Zellzyklus nicht gestört werden (66).

In diesem Zusammenhang fanden auch Zytokine bzw. Zytokingene in der Tiermedizin zur Behandlung solider Tumoren Anwendung. In zahlreichen Studien wurde ihre Wirkungsweise und ihr therapeutischer Effekt an verschiedenen Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind untersucht und erprobt. Dabei werden Zytokine einzeln, aber auch als Zytokin(-gen)-Kombination (z. B. IL-2, IFN- $\gamma$  und GM-CSF) in (neo-)adjuvanter Form, d. h. in Verbindung mit anderen Therapieformen (chirurgische Exzision, Chemotherapie und Bestrahlungstherapie) eingesetzt (174).

Im Kampf gegen neoplastische Zellen besteht einerseits die Möglichkeit, dass man immunologische Effektorzellen derart modifiziert, dass diese in der Lage sind, Tumorzellen besser zu erkennen und demzufolge weitere unterstützende Zytokine exprimieren. Zum anderen können Tumorzellen einer Alteration unterzogen werden, was eine Steigerung der Immunogenität zur Folge hat (21). Dabei hat sich die lokal applizierte Therapie gegenüber der systemischen durchgesetzt (18), da auf diese Weise Nebenwirkungen (z. B. *Vomitus*, *Diarrhö*, „*flu-like-syndrom*“ und das „*vaskular-leak-syndrom*“) weitgehend vermieden werden können.

Oftmals blieb allerdings der erhoffte therapeutische Effekt aus, da in der Regel die Immunitätslage des Patienten und der Typ des Tumors für das Gelingen einer Zytokin-Therapie ausschlaggebend sind (22). Dennoch hat sich die

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen - Zusammenfassung

Kombination von Zytokinen als sinnvoll erwiesen, weil sich ihre Wirkungsweisen in manchen Fällen additiv oder synergistisch zeigen.

Beim **Hund** konnte unter Verwendung von Zytokinen ein, wenn auch zum Teil nicht statistisch signifikanter, therapeutischer Effekt erzielt werden.

**Tab. 14: Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Hundes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
malignes Melanom	Vero-hIL-2-Zellen; rhTNF und rhIL-2; L-SEB/cIL-2 (GM-CSF);	170 148 62, 118
Mastzelltumor	rhTNF und rhIL-2	148
Sticker-Sarkom	IL-2	52
Osteosarkom	IL-2-kodierende LDC-Infusion; hIL-2-Liposom-Inhalation	61 122
primäres Lungenkarzinom	hIL-2-Liposom-Inhalation	122
Fibrosarkom	L-SEA/cIL-2; hIL-2-Liposom-Inhalation	203 122
anaplastisches Sarkom	L-SEA/cIL-2	203
maligner Nervenscheidentumor	L-SEA/cIL-2	203
Plattenepithelkarzinom	rhTNF und rhIL-2	148
Mammakarzinom	rhTNF und rhIL-2	148
Synovialzellsarkom	rhTNF und rhIL-2	148
(malignes Lymphom	rhTNF und rhIL-2	148)

**Legende:**

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhTNF = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; LDC = Liposom-DNA-Komplex; L-SEA = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-A; L-SEB = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-B; hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; ( ) = kein solider Tumortyp

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen - Zusammenfassung

Hinsichtlich einer adjuvanten Therapie zur Behandlung des Fibrosarkoms der **Katze** erprobte man Folgendes:

**Tab. 15: Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren der Katze**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>felines Fibrosarkom</b>	Vero-hIL-2-Zellen;	170
	ALVAC-feIL-2; NYVAC-huIL-2;	117
	AdV-hIL-2 und AdV-feIFN- $\gamma$ ;	208, 34, 222, 221
	feIL-2, feIFN- $\gamma$ und feGM-CSF (mittels Plasmid-KS oder Plasmid-Inj.);	120, 188 siehe 7.2.2
	feGM-CSF (mittels Plasmid-Inj.)	siehe 7.2.2

*Legende:*

hIL-2 = humanes Interleukin-2; feIL-2 = felines Interleukin-2; feIFN- $\gamma$  = felines Interferon- $\gamma$ ;  
 feGM-CSF = feliner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor;  
 AdV = adenoviraler Vektor; ALVAC-feIL-2 = für felines IL-2 kodierendes rekombinantes  
 Kanariepoxvirus; NYVAC-huIL-2 = für humanes IL-2 kodierendes rekombinantes Vacciniavirus;  
 KS = Kollagenschwamm; Inj. = Injektion

Beim **Pferd** kamen für eine Behandlung mit Zytokinen folgende Tumoren in Betracht:

**Tab. 16: Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Pferdes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>equines Sarkoid</b>	IL-2/Cisplatin;	193
	D609, KC <sub>12</sub> und rhTNF- $\alpha$	160
<b>malignes Melanom</b>	IL-12;	96
	IL-12 plus IL-18	74

*Legende:*

IL-2 = Interleukin-2; D609 = Tricyclodecan-9-yl-xanthogenate; KC<sub>12</sub> = Kalisalz der Laurinsäure;  
 rhTNF- $\alpha$  = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; IL-12 = Interleukin-12;  
 IL-18 = Interleukin-18

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Zytokinen - Zusammenfassung

---

Zudem versuchte man beim **Rind** auch aus wirtschaftlichen Gründen, anhand von Zytokinen folgende Tumoren zu behandeln:

**Tab. 17: Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Rindes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
okuläres Plattenepithelkarzinom	rhIL-2; rhIL-2/rhIL-12	181, 54, 53, 198
Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex	rhIL-2	101

*Legende:*

rhIL-2 = rekombinantes humanes Interleukin-2; rhIL-12 = rekombinantes humanes Interleukin-12; BCG = Bazillus Calmette-Guérin

# Quellenverzeichnis

## Unter Verwendung von Zytokinen

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Abbas, A.K.;** In: Abbas, A.K., A.H. Lichtman, J.S. Pober (Hrsg.); Cellular and molekular immunology. Chapter 17, WB Saunders, Philadelphia, 2005, pp. 391-410.
- 2 **Amtmann, E., G. Sauer;** Tumor necrosis factor induces necrosis of human carcinoma xenografts in the presence of tricyclodecan-9-yl-xanthogenate and lauric acid. *Int. J. Cancer*, 1990, 15: 1113-1118.
- 3 **Anderson, T.M., Y. Ibayashi, Y. Tokuda, S.D. Colquhoun, E.C. Holmes, S.H. Golub;** Effects of systemic recombinant interleukin-2 on natural killer and lymphokine activated killer activity of human tumor infiltrating lymphokines. *Cancer Res.*, March 1988, 48(5): 1180-1183.
- 4 **Arai M., J. Darman, A. Lewis, J.K. Yamamoto, J. Darnen;** The use of human hematopoietic growth factors (rhGM-CSF and rhEPO) as a supportive therapy for FIV-infected cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2000, 77: 71-92.
- 5 **Argyle D.J., K. Smith, K. McBride, R. Fulton, D.E. Onions;** Nucleotide and predicted peptide sequence of feline interferon-gamma (IFN-gamma). *DNA Seq.*, 1995, 5(3): 169-171.
- 6 **Armitage, J.O.;** Emerging applications of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, Dec. 1998, 92(12): 4491-4508.
- 7 **Armstrong, A.C., R.E. Hawkins;** Vaccines in oncology: background and clinical potential. *Br. J. Radiol.*, Nov. 2001, 74: 991-1002.
- 8 **Arosarena, O.A., S. Baranwal, S. Strome, G.T. Wolf, J.C. Krauss, C.R. Bradford, T.E. Carey;** Expression of major histocompatibility complex antigens in squamous cell carcinomas of the head and neck: effects of interferon gene transfer. *Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1999, 120: 665-671.
- 9 **Asher, A., J.J. Mole, C.M. Reichert, E. Shiloni, S.A. Rosenberg;** Studies on the anti-tumor efficacy of systemically administered tumor necrosis factor against several murine tumors in vivo. *J. Immunol.*, 1987, 138: 963-974.
- 10 **Aul, C., N. Gattermann, U. Germing, A. Heyll;** In: Aul, C., W. Schneider (Hrsg.); Interferons – Biological activities and clinical efficacy, Chapter 15, Springer-Verlag, © 1997, S. 250-266.
- 11 **Baggio, V., F. Ott, R.W. Fischer, H. Gram, J. Peele, D. Spreng, H. Schmokel, T.W. Jungi;** Production of antibodies to canine IL-1beta and canine TNF to assess the role of proinflammatory cytokines. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Aug. 2005, 107(1-2): 27-39.
- 12 **Baluna R., E.S. Vitetta;** Vascular leak syndrome: a side effect of immunotherapy. *Immunopharmacology.*, 1997, 37(2-3): 117-132.
- 13 **Baselmans, A.H., J.W. Koten, J.J. Battermann, J.E. Van Dijk, W. Den Otter;** The mechanism of regression of solid SL2 lymphosarcoma after local IL-2 therapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2002, 51, 492-498.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 14 **Bauvois, B., J. Wietzerbien;** Interferone: Biologische Aktivitäten und klinische Anwendungen. In: Virbac (Hrsg.): Interferone in der Kleintiermedizin, 2002, 1. Ausgabe: S. 8-27.
- 15 **Baxevanis C.N., G.V. Dedoussis, N.G. Papadopoulos, I. Missitzis, C. Beroukas, G.P. Stathopoulos, M. Papamichail;** Enhanced human lymphokine-activated killer cell function after brief exposure to granulocyte-macrophage-colony stimulating factor. *Cancer*, 1995, 76(7): 1253-1260.
- 16 **Belardelli, F., M. Ferrantini;** Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. *TRENDS in Immunology*, April 2002, 23 (4): 201-208.
- 17 **Berard, M., K. Brandt, S.B. Paus, D.F. Tough;** IL-15 promotes the survival of naïve and memory phenotype CD8+ T cells. *J. Immunol.*, 2003, 170: 5018-5026.
- 18 **Bernsen, M.R., J.W. Tang, L.A. Everse, J.W. Koten, W. Den Otter;** Interleukin 2 (IL-2) therapy: potential advantages of locoregional versus systemic administration. *Cancer Treat. Rev.*, 1999, 25: 73.
- 19 **Bernsen, M.R., A.W. Van der Velden, L.A. Everse, H.F.J. Dullens, W. Den Otter, A.P.M. Heintz;** Interleukin-2: hope in cases of cisplatin-resistant tumours. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1998, 46: 41.
- 20 **Bianco, S.R., J. Sun, S.P. Fosmire, K. Hance, M.L. Padilla, M.G. Ritt, D.M. Getzy, R.C. Duke, S.J. Withrow, S. Lana, D.T. Matthiesen, D.T. Dow, D. Bellgrau, G.R. Cutter, S.C. Helfand, J.F. Modiano;** Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10: 726-736.
- 21 **Blaese, M., T. Blankenstein, M. Brenner, O. Cohen-Haguener, B. Gänzbacher, B. Sorrentino, T. Velu;** European School of Oncology position paper. Gene therapy for the medical oncologist. *Eur. J. Cancer*, 1995, 31A: 1531-1537.
- 22 **Blankenstein, T.;** Increasing tumor immunogenicity by genetic modification. *Eur. J. Cancer*, 1994, 30A(8): 1182-1187.
- 23 **Blay, J.Y., J. Bertoglio, D. Frandelizi, S. Chouaib;** Functional interactions of IL-2 and TNF in the differentiation of LGL into LAK effectors. *Int. J. Cancer*, 1989, 44: 598-604.
- 24 **Bocci, V.U.;** Possible causes of fever after interferon administration. *Biomedicine*, 1980, 32(4): 159-162.
- 25 **Bocci, V.U.;** Pharmacology and side-effects of interferons. *Antiviral Res.*, 1994, 24(2-3): 111-119.
- 26 **Boehm, U., T. Klamp, M. Groot, J.C. Howard;** Cellular responses to interferon-gamma. *Annu. Rev. Immunol.*, 1997, 15: 749-95.
- 27 **Bostock, D.E.;** Neoplasms of the skin and subcutaneous tissues in dogs and cats. *Br. Vet. J.*, 1986, 142: 1-19.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 28 **Bostock, D.E., M.T. Dye;** Prognosis after surgical excision of fibrosarcomas in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, 175: 727-728.
- 29 **Bramson, J.L., C.A. Bodner, R.W. Graham;** Activation of host antitumoral responses by cationic lipid/DNA complexes. *Cancer Gene Ther.*, 2000, 7: 353-359.
- 30 **Bremers, A.J., G. Parmiani;** Immunology and immunotherapy of human cancer: present concepts and clinical developments; *Crit Rev. Oncol. Hematol.*, 2000, 34: 1-25.
- 31 **Brockstedt, D.G., M. Diagana, Y. Zhang, K. Tran, N. Belmar, M. Meier, A. Yang, F. Boissiere, A. Lin, Y. Chiang;** Development of anti-tumor immunity against a non-immunogenic mammary carcinoma through in vivo somatic GM-CSF, IL-2, and HSVtk combination gene therapy. *Mol. Ther.*, 2002, 6: 627-636.
- 32 **Buchsel, P.C., A. Forgey, F. Browning Grape, S.S. Hamann;** Granulocyte macrophage colony-stimulating factor: current practice and novel approaches. *Clin. J. Oncol. Nurs.*, July/Aug. 2002, 6(4): 198-205.
- 33 **Burdin, M.L.;** Squamous-cell carcinomas of the vulva of cattle in Kenya. *Res. Vet. Sci.*, 1964, 5: 497-505.
- 34 **Buscher, U., T. Brill, W. Erhardt, J. Hirschberger;** Gentherapie in der Kleintiermedizin. *Tierärztl. Prax.*, 1999, 27(K): 288-290.
- 35 **Carlos, T.M.;** Leukocyte recruitment at sites of tumour: dissonant orchestration. *J. Leukoc. Biol.*, 2001, 70: 171.
- 36 **Carswell, E.A., S. Green, T.C. Everson, T. Nathanson, J.L. Biedler, L. Helson, B.A. Spengler;** Effect of tumor necrosis factor on cultured human melanoma cells. *Nature (Lond.)*, 1975, 258: 731-732.
- 37 **Cassatella, M.A., L. Meda, S. Gasperini, A. D'Andrea, X. Ma, G. Trinchieri;** Interleukin-12 production by human polymorphonuclear leukocytes. *Eur. J. Immunol.*, Jan. 1995, 25(1): 1-5.
- 38 **Clark, S.C., R. Kamen;** The human hemopoietic colony-stimulating factors. *Science*, 1987, 236: 1229-1237.
- 39 **Cohen, M., J.C. Wright, W.R. Brawner, A.N. Smith, R. Henderson, E.N. Behrend;** Use of surgery and electron beam irradiation, with or without chemotherapy, for treatment of vaccine-associated sarcomas in cats: 78 cases (1996-2000). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2001, 219(11): 1582-1589.
- 40 **Collison, K., S. Saleh, R. Parhar, B. Meyer, A. Kwaasi, K. Al-Hussein, S. Al-Sedairy, F. Al-Mohanna;** Evidence for IL-12-activated Ca<sup>2+</sup> and tyrosine signaling pathways in human neutrophils. *J. Immunol.*, Oct. 1998, 161(7): 3737-3745.
- 41 **Colombo, M.P., A. Modesti, G. Parmiani, G. Forni;** Local cytokine availability elicits tumor rejection and systemic immunity through granulocyte-T-lymphocyte cross-talk. *Cancer Res.*, Sept. 1992, 52(18): 4853-7.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 42 **Correale, P., G. Campoccia, K.Y. Tsang, L. Micheli, M.G. Cusi, M. Sabatino, G. Bruni, S. Sestini, R. Petrioli, D. Pozzessere, S. Marsili, G. Fanetti, G. Giorgi, G. Francini;** Recruitment of dendritic cells and enhanced antigen-specific immune reactivity in cancer patients treated with hr-GM-CSF (Molgramostim) and hr-IL-2. Results from a phase Ib clinical trial. *Eur. J. Cancer*, 2001; 37: 892-902.
- 43 **Cozzi P.J., P.A. Padrid, J. Takeda, M.L. Alegre, N. Yuhki, A.R. Leff;** Sequence and functional characterization of feline interleukin 2. *Biochem Biophys. Res. Commun.* , 1993, 194(3): 1038-1043.
- 44 **Cozzi P.J., P.A. Padrid, M.B. Tompkins, M.L. Alegre, J. Takeda, A.R. Leff;** Bioactivity of recombinant feline interleukin-2 on human and feline leukocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1995, 48(1-2): 27-33.
- 45 **Cronin, K., R.L. Page, G. Spodnick, R. Dodge, E.N. Hardie, G.S. Price, D. Ruslander, D.E. Thrall;** Radiation therapy and surgery for fibrosarcoma in 33 cats. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, 1998, 39(1): 51-56.
- 46 **Crowl, R.M., T.J. Stoller, R.R. Conroy, C.R. Stoner;** Induction of phospholipase A2 gene expression in human hepatoma cells by mediators of the acute phase response. *J. Biol. Chem.*, Feb. 1991, 266(4): 2647-2651.
- 47 **Cytokines Online Pathfinder Encyclopaedia**, 2003, Version 10.3, [www.copewithcytokines.de](http://www.copewithcytokines.de)
- 48 **Da Pozzo L.F., K.L. Hough, W.D. Holder, Jr.;** Toxicity and immunologic effects of continuous infusion of recombinant human interleukin-2 administered by selective hepatic perfusion in dogs. *Surgery*, 1992, 111: 326-334.
- 49 **Davidson, E.B., C.R. Gregory, P.H. Kass;** Surgical excision of soft tissue fibrosarcomas in cats. *Vet. Surg.*, 1997, 26(4): 265-269.
- 50 **Delneste, Y., P. Charbonnier, N. Herbault, G. Magistrelli, G. Caron, J.-Y. Bonnefoy, P. Jeannin;** Interferon- $\gamma$  switches monocyte differentiation from dendritic cells to macrophages. *Blood*, Jan. 2003, 101(1): 143-150.
- 51 **Den Otter, W., L. Balemans, J.J. Battermann, M.R. Bernsen, J.A. Cadee, Z. Dobrowolski, L.A. Everse, L. Fiszer-Maliszewska, R. Gavhumende, J.W. De Groot, et al.;** Local low-dose IL-2 therapy. *Hepato-Gastroenterology*, 1999, 46 (Suppl. 1): 1280.
- 52 **Den Otter, W., J. Cadée, R. Gavhumende, C.J. De Groot, W.E. Hennink, R. Stewart;** Effective cancer therapy with a single injection of interleukin-2 at the site of the tumour. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1999, 48: 419-420.
- 53 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, C. Rhode, R. Stewart, J.A.J. Faber, E.J. Ruitenber, V.P.M.G. Rutten;** Therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma with local doses of interleukin-2: 67 % complete regression after 20 month of follow-up. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1995, 41(1):10-14.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 54            **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, V.P.M.G. Rutten, E.J. Ruitenber**; Low doses of interleukin-2 can cure large bovine ocular squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.*, Nov.-Dec. 1993, 13(6B):2453-2455.
- 55            **Dereskinski, S.C, C.A. Kemper**; The potential role of GM-CSF and G-CSF in infections. *Infectious Medicine*, 1998, 15: 328-340.
- 56            **Dinarell**, C.A.; Interleukin-1. *Rev. Infect. Dis.*, 1984, 6: 51-95.
- 57            **Dinarell**, C.A., **J.W. Mier**; Lymphokines. *N. Engl. J. Med.*, 1987, 317: 940-945.
- 58            **Dobrzanski, M.J., J.B. Reome, R.W. Dutton**; Type 1 and type 2 CD8+ effector T cell subpopulations promote long-term tumor immunity and protection to progressively growing tumor. *J. Immunol.*, 2000, 164: 916.
- 59            **Dong, Z., R. Kumar, X. Yang, I.J. Fidler**; Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma. *Cell*, 1997, 88(6): 801-10.
- 60            **Dow, S.W., R.E. Elmslie, L.G. Fradkin, D.H. Liggitt, T.D. Heath, A.P. Willson, T.A. Potter**; Intravenous cytokine gene delivery by lipid-DNA complexes controls the growth of established lung metastases. *Hum. Gene Ther.*, 1999, 10: 2961-2972.
- 61            **Dow, S.W., R.E. Elmslie, I. Kurzman, G. MacEwen, F. Pericle, D. Liggitt**; Phase I study of liposome DNA complexes encoding the interleukin 2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. *Hum. Gene Ther.*, Aug. 2005, 16: 110.
- 62            **Dow, S.W., R.E. Elmslie, A.P. Willson, L. Roche, C. Gorman, T.A. Potter**; *In vivo* tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. *J. Clin. Invest.*, June 1998, 101, (11): 2406-2414.
- 63            **Dow, S.W., L.G Fradkin, D.H Liggitt, A.P Willson, T.D. Heath, T.A. Potter**; Lipid-DNA complexes induce potent activation of innate immune responses and antitumor activity when administered intravenously. *J. Immunol.*, 1999, 163: 1552-1561.
- 64            **Dunham, S.P., J. Bruce**; Isolation, expression and bioactivity of feline granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Gene*, 2004, 332: 97-106.
- 65            **Ellison M.D., J.T. Powlshock, R.E. Merchant**; Blood-brain barrier dysfunction in cats following recombinant interleukin-2 infusion. *Cancer Res.*, 1987, 47: 5765-5770.
- 66            **Elmslie, R.E.**; Genetic immunotherapy for cancer. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*, Aug. 1997, 12(3): 193-205.
- 67            **Elmslie, R.E., S.W. Dow, G.K. Ogilvie**; Interleukins: Biological properties and therapeutic potential. *J. Vet. Intern. Med.*, Sept.-Oct. 1991, 5(5): 283-293.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 68 **Enokihara, H., S. Furusawa, H. Kajitani, H. Hamaguche, K. Saito, S. Fukuda, H. Shishido;** Interleukin 2 stimulates the T-cells from patients with eosinophilia to produce CFU-Eo growth stimulating factor. *Br. J. Haematol.*, 1988, 69: 431-436.
- 69 **Ethuin, F., C. Delarche, S. Benslama, M.A. Gougerot-Pocidallo, L. Jacob, S. Chollet-Martin;** Interleukin-12 increases interleukin 8 production and release by human polymorphonuclear neutrophils. *J. Leukoc. Biol.*, Sept. 2001, 70(3): 439-446.
- 70 **Farrar, W.L., H.M. Johnson, J.J. Farrar;** Regulation of the production of immune interferon and cytotoxic T lymphocytes by interleukin 2. *J. Immunol.*, 1981, 126: 1120-1125.
- 71 **Fearon E.R., D.M. Pardoll, T. Itaya, P. Golumbek, H.I. Levitsky, J.W. Simons, H. Karasuyama, B. Vogelstein, P. Frost;** Interleukin-2 production by tumor cells bypasses T helper function in the generation of an antitumor response. *Cell*, 1990, 60(3): 397-403.
- 72 **Fehniger, T.A., M.A. Caligiuri;** Interleukin-15: biology and relevance to human disease. *Blood*, 2001, 97: 14-32.
- 73 **Fehniger, T.A., M.A. Cooper, M.A. Caligiuri;** Interleukin-2 and interleukin-15: immunotherapy for cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2002, 13: 169-183.
- 74 **Feige, K., P. Stähli, C. Schelling, L. Heinzerling, M. Seltenhammer, J.-M. Müller, L. Nicolson;** Einsatz von Interleukin-12 und Interleukin-18 kodierender Plasmid DNA zur Therapie von Melanomen beim Schimmel. *Pferdeheilkunde Forum 2005 Berliner Fortbildungstage* (16.-19. Juni 2005).
- 75 **Fenwick, B.W., C.E. Schore, B.I. Osburn;** Human recombinant interleukin-2 (125) induced in vitro proliferation of equine, caprine, ovine, canine and feline peripheral blood lymphocytes. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 1988, 11: 51-60.
- 76 **Fiorentino, D.F., M.W. Bond, T.R. Mosman;** Two types of mouse T helper cell IV.Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.*, 1989, 170: 2081-2095.
- 77 **Fischer, H.G., S. Frosch, K. Reske, A.B. Reske-Kunz;** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activates macrophages derived from bone marrow cultures to synthesis of MHC class II molecules and to augmented antigen presentation function. *J. Immunol.*, 1988, 141(11): 3882-3888.
- 78 **Fiszer-Maliszewska, L., W. Den Otter, M. Mordarski;** Effect of local interleukin-2 treatment on spontaneous tumors of different immunogenic strength. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1999, 47: 307.
- 79 **Foa, R., A. Guarini, B. Gänsbacher;** IL2 treatment for cancer: from biology to gene therapy. *Br. J. Cancer*, 1992, 66: 992-998.
- 80 **Foon, A.;** Biological response modifiers: The new immunotherapy. *Cancer Res.*, 1989, 49: 1621-1639.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 81 **Frewert, S., F. Stockhammer, G. Warschewske, A.C. Zenclussen, S. Rupprecht, H.D. Volk, C. Woiciechowsky;** Intratumoral infusion of interleukin-1beta and interferon-gamma induces invasion with macrophages and lymphocytes in a rat glioma model. *Neurosci. Lett.*, 2004, 364: 145-148.
- 82 **Funk, J.;** Natural killer (NK) and lymphokine-activated killer (LAK) cell functions from healthy dogs and 29 dogs with a variety of spontaneous neoplasms. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2005, 54: 87-92.
- 83 **Gabrilovich, D.I., H.L. Chen, K.R. Girgis, H.T. Cunningham, G.M. Meny, S. Nadaf, D. Kavanaugh, D.P. Carbone;** Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. (Published erratum appears in 1996 *Nat. Med.* 2: 1267) *Nat. Med.*, 1996, 2: 1096.
- 84 **Gansbacher, B.;** Cytokine gene therapy. *Mt. Sinai J. Med.*, 1994, 61: 301-309.
- 85 **Gansbacher, B., K. Zier, B. Daniels, K. Cronin, R. Bannerjy, E. Gilboa;** Interleukin 2 gene transfer into tumor cells abrogates tumorigenicity and induces protective immunity. *J. Exp. Med.*, 1990, 172: 1217-1224.
- 86 **Gascan, H., J.F. Moreau, Y. Jacques, J.P. Soullillou;** Response of murine IL 3-sensitive cell lines to cytokines of human and murine origin. *Lymphokine Res.*, 1989, 8: 79-84.
- 87 **Gazzinelli, R.T., M. Wysocka, S. Hayashi, E.Y. Denkers, S. Hieny, P. Caspar, G. Trinchieri, A. Sher;** Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.*, Sept. 1994, 153(6): 2533-2543.
- 88 **Germann, T., M.K. Gately, D.S. Schoenhaut, M. Lohoff, F. Mattner, S. Fischer, S.C. Jin, E. Schmitt, E. Rude;** Interleukin-12/T cell stimulating factor, a cytokine with multiple effects on T helper type 1 (Th1) but not on Th2 cells. *Eur. J. Immunol.*, Aug. 1993, 23(8): 1762-70.
- 89 **Gessani, S., F. Belardelli;** IFN- $\gamma$  expression in macrophages and its possible biological significance. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 1998, 9(2): 117-123.
- 90 **Go, N.F., B.E. Castle, R. Barrett, R. Kastelein, W. Dang, T.R. Mosmann, K.W. Moore, M. Howard;** Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells. *J. Exp. Med.*, Dec. 1990, 172(6): 1625-1631.
- 91 **Grant, S.E.;** Studies on haemopoiesis in early feline immunodeficiency virus infection. PhD Thesis., 1995, University of Glasgow.
- 92 **Gruys, E., M.J.M. Toussaint, W.J.M. Landman, M. Tivapasi, R. Chamanzy, L. van Veen;** Infection, inflammation and stress inhibit growth. Mechanism and non-specific assessment of the processes by acute phase proteins. In: Wensing, T. (Ed.), *Production Diseases in Farm Animals. 10<sup>th</sup> International Conference, 1998*, Wageningen Press, Wageningen, pp. 72-87. ISBN: 90-74134-60-2.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 93 **Hammond-McKippen, D.M., A. Seth, P.S. Nagarkatti, M. Nagarkatti;** Charakterization of factors regulating successful immunotherapy using a tumor-specific cytotoxic T lymphocyte clone: role of interleukin-2, cycling pattern of lytic activity and adhesion molecules. *Int. J. Cancer*, 1995, 60: 828.
- 94 **Hanson, H., D. Donermeyer, H.Ikeda, M. White, V. Shankaran, L.J. Old, H. Shiku, R.D. Schreiber, P.M. Allen;** Eradication of established tumors by CD8+ T cell adoptive immunotherapy. *Immunity*, 2000, 13: 265.
- 95 **Hart, P.H., G.F. Vitti, D.R. Burgess, G.A. Whitty, D.S. Piccoli, J.A. Hamilton;** Potential anti-inflammatory effects of interleukin 4: Suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E<sub>2</sub>. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, May 1989, 86(10): 3803-3807.
- 96 **Heinzerling, L.M., K. Feige, S. Rieder, M.K. Akens, R. Dummer, G. Stranzinger, K. Moelling;** Tumor regression induced by intratumoral injection of DNA coding for human interleukin 12 into melanoma metastases in gray horses. *J. Mol. Med.*, 2001, 78(12): 692-702.
- 97 **Helfand, S.C.;** Immunomodulation as adjunctive anticancer therapy; Congress Proceedings, The European Society of Veterinary Internal Medicine, 10<sup>th</sup> Congress, 14-16 Sept. 2000, Neuchatel, Switzerland.
- 98 **Helfand, S.C., J.F. Modiano, P.C. Nowell;** Immunophysiological studies of interleukin-2 and canine lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1992, 33: 1-16.
- 99 **Helfand S.C., S.A. Soergel, P.S. MacWilliams, J.A. Hank, P.M. Sondel;** Clinical and immunological effects of human recombinant interleukin-2 given by repetitive weekly infusion to normal dogs. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1994, 39: 84-92.
- 100 **Hershey, A.E., K.U. Sorenmo, M.J. Hendrick, F.S. Shofer, D.M. Vail;** Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision: 61 cases (1986-1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2000, 216(1): 58-61.
- 101 **Hill, F.W.G, W.R. Klein, M.J. Hoyer, V.P.M.G. Rutten, N. Kock, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber, W. Den Otter;** Antitumor effect of locally injected low doses of recombinant human interleukin-2 in bovine vulval papilloma and carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, May 1994, 41(1-2):19-29.
- 102 **Hirai T., M. Oikawa, S. Inumaru, Y. Yokomizo, N. Kusakari, K. Mori;** Effects of recombinant bovine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on bovine peripheral blood neutrophil functions in vitro and in vivo. *J. Vet. Med. Sci.*, 1999, 61: 1249-1251.
- 103 **Hock, H., M. Dorsch, T. Diamantstein, T. Blankenstein;** Interleukin-7 induces CD4+ T cell-dependent tumor rejection. *J. Exp. Med.*, 1991, 174: 1291-1298.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 104 **Hock, H., M. Dorsch, U. Kunzendorf, Z. Qin, T. Diamantstein, T. Blankenstein;** Mechanisms of rejection induced by tumor cell targeted gene transfer of interleukin-2, interleukin-4, interleukin-7, tumor necrosis factor or interferon-gamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90: 2774-2778.
- 105 **Hogge, G.S., J.K. Burkholder, J. Culp, M.R. Albertini, R.R. Dubielzig, E.T. Keller, N.S. Yang, E.G. MacEwen;** Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum. Gene Ther.*, Sept. 1998, 9(13): 1851-1861.
- 106 **Hsieh, C.S., S.E. Macatonia, C.S. Tripp, S.F. Wolf, A. O'Garra, K.M. Murphy;** Development of TH1 CD4+ T cells through IL-12 produced by *Listeria*-induced macrophages. *Science*, April 1993, 260(5107): 547-549.
- 107 **Hubel, K., D.C. Dale, W.C. Liles;** Therapeutic use of cytokines to modulate phagocyte function for the treatment of infectious diseases: current status of granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, macrophage colony-stimulating factor, and interferon-gamma. *J. Infect. Dis.*, 2002, 185: 1490-1501.
- 108 **Ibe, S., Z. Qin, T. Schuler, S. Preiss, T. Blankenstein;** Tumor rejection by disturbing tumor stroma cell interactions. *J. Exp. Med.*, 2001, 194: 1549.
- 109 **Ibelgaufts, H.;** GM-CSF. cope.cgi version 0.014, revision April 2002. © JI. Powered by Perl 5.006001.
- 110 **Ihle, J.N.;** Interleukin-3 regulation of the growth and differentiation of hematopoietic lymphoid stem cells. *Year Immunol.*, 1986, 2: 106-133.
- 111 **Ikeda, H., L.J. Old, R.D. Schreiber;** The roles of IFN $\gamma$  in protection against tumor development and cancer immunoediting; *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2002, 13: 95-109.
- 112 **Jackaman, C., C.S. Bundell, B.F. Kinnear, A.M. Smith, P. Fillion, D. van Hagen, B.W.S. Robinson, D.J. Nelson;** IL-2 intratumoral immunotherapy enhances CD8+ T cells that mediate destruction of tumor cells and tumor-associated vasculature: a novel mechanism for IL-2. *J. Immunol.*, 2003, 171: 5051-5063.
- 113 **Jacobs, J.J., D. Sparendam, W. Den Otter;** Local interleukin 2 therapy is most effective against cancer when injected intratumorally. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 2005, 54(7): 647-654.
- 114 **Janeway, C.A., P. Travers, M. Walport, J.D. Capra;** *Immunobiology: The immune system in health and disease.* Elsevier Science, London, 1999.
- 115 **Jarrett, W.F.H.;** The natural history of bovine papillomavirus infections. In: George Klein (Editor); *Advances in Viral Oncology.* 5<sup>th</sup> Edn. Raven Press, New York, 1985, pp.83-101.
- 116 **Jones T., A. Stern, R. Lin;** Potential role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as vaccine adjuvant. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 1994, 13(Suppl 2): 47-53.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 117 **Jourdiar, T.-M., C. Moste, M.-C. Bonnet, F. Delisle, J.-P. Tafani, P. Devauchelle, J. Tartaglia, P. Moingeon;** Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Ther.*, 2003, 10: 2126-2132.
- 118 **Kamstock, D., A. Guth, R. Elmslie, I. Kurzman, D. Liggitt, L. Coro, J. Fairman, S. Dow;** Liposome-DNA complexes infused intravenously inhibit tumor angiogenesis and elicit antitumor activity in dogs with soft tissue sarcoma. *Cancer Gene Ther.*, March 2006, 13(3): 306-317.
- 119 **Keller, E.T., J.K. Burkholder, F. Shi, T.D. Pugh, D. McCabe, J.S. Malter, E.G. MacEwen, N.-S. Yang, W.B. Ershler;** *In vivo* particle-mediated cytokine gene transfer into canine oral mucosa and epidermis. *Cancer Gene Ther.*, May-June 1996, 3(3): 186-191.
- 120 **Kempf, C.;** Nonviraler Gentransfer der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze - eine klinische Phase-I-Studie. *Vet. Med. Diss.*, 2005.
- 121 **Kennedy, M.K., M. Glaccum, S.N. Brown, E.A. Butz, J.L. Viney, M. Embers, N. Matsuki, K. Charrier, L. Sedger, C.R. Willis, K. Brasel, P.J. Morrissey, K. Stocking, J.C. Schuh, S. Joyce, J.J. Peschon;** Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15-deficient mice. *J. Exp. Med.*, March 2000, 191(5): 771-780.
- 122 **Khanna, C., P.M. Anderson, D.E. Hasz, E. Katsanis, M. Neville, J.S. Klausner;** Interleukin-2 liposome inhalation therapy is safe and effective for dogs with spontaneous pulmonary metastases. *Cancer*, April 1997, 79(7): 1409-1421.
- 123 **Kim, C.Y., M. Jeong, H. Mushiake, B.M. Kim, W.B. Kim, J.P. Ko, M.H. Kim, M. Kim, T.H. Kim, P.D. Robbins, T.R. Billiar, D.W. Seol;** Cancer gene therapy using a novel secretable trimeric TRAIL. *Gene Ther.*, 2005, (in press)
- 124 **Kircheis, R., Z. Kupcu, G. Wallner, E. Wagner;** Cytokine gene-modified tumor cells for prophylactic and therapeutic vaccination: IL-2, IFN-gamma, or combination IL-2 + IFN-gamma. *Cytokines Cell. Mol. Ther.*, 1998, 4(2): 95-103.
- 125 **Klimp, A.H., E.G. deVries, G.L. Scherphof, T. Daemen;** A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2002, 44: 143-161.
- 126 **Kouttab, N.M., A.L. Maizel;** Interleukin-2 – Its role in the regulation of T-cell proliferation. *Cancer Bull.*, 1987, 39: 51-60.
- 127 **Kramer, S.M., B.B. Aggerwal, T.E. Eessalu, S.M. McCabe, B.L. Ferriole, I.S. Figari, M.A. Palladine, Jr.;** Characterization of the *in vitro* and *in vivo* species preference of human and murine tumor necrosis factor-X. *Cancer Res.*, 1988, 48: 920-925.
- 128 **Krasnici, S., A. Werner, M.E. Eichhorn, M. Schmitt Sody, S.A. Pahernik, B. Sauer, B. Schulze, M. Teifel, U. Michaelis, K. Naujoks, M. Dellian;** Effect of the surface charge of liposomes on their uptake by angiogenic tumor vessels; *Int. J. Cancer*, 2003, 105: 561-567.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 129            **Kuball, J., C. Huber, M. Schuler;** Genterapie solider Tumoren. Internist (Berl), 2001, 42: 1321-1327.
- 130            **Lando, P.A., G. Hedlund, M. Dohlsten, T. Kalland;** Bacterial superantigens as anti-tumour agents: induction of tumour cytotoxicity in human lymphocytes by staphylococcal enterotoxin A. Cancer Immunol. Immunother., 1991, 33(4): 231-237.
- 131            **Lehn, M., W.Y. Weisner, S. Engelhorn, S. Gillis, H.G. Remold;** IL-4 inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and antileishmanial capacity of human cultured monocytes mediated by IFN-gamma. J. Immunol., Nov. 1989, 143(9): 3020-3024.
- 132            **Leopold-Temmler, B.;** Klinische Anwendungsmöglichkeiten von Interferonen.
- 133            **Li, S., L. Huang;** *In vivo* gene transfer via intravenous administration of cationic lipid protamine DNA (LPD) complexes; Gene Ther., 1997, 4: 891-900.
- 134            **Li, S., Z. Ma;** Nonviral gene therapy. Curr. Gene Ther., 2001, 1: 201-226.
- 135            **Liu, G., K.J. Ashbourne Excoffon, J.E. Wilson, B.M. McManus, Q.R. Rogers, L. Miao, J.J. Kastelein, M.E. Lewis, M.R. Hayden;** Phenotypic correction of feline lipoprotein lipase deficiency by adenoviral gene transfer. Hum. Gene Ther., 2000, 11(1): 21-32.
- 136            **Lodolce, J.P., D.L. Boone, S. Chai, R.E. Swain, T. Dassopoulos, S. Trettin, A. Ma;** IL-15 receptor maintains lymphoid homeostasis by supporting lymphocyte homing and proliferation. Immunity, Nov. 1998, 9(5): 669-676.
- 137            **Lollini, P.L., M.C. Bosco, F. Cavallo, C. De Giovanni, M. Giovarelli, L. Landuzzi, P. Musiani, A. Modesti, G. Nicoletti, G. Palmieri;** Inhibition of tumor growth and enhancement of metastasis after transfection of the gamma-interferon gene. Int. J. Cancer, Sept. 1993, 55(2): 320-329.
- 138            **Mackensen, A., A. Lindemann , R. Mertelsmann;** Immunostimulatory Cytokines in somatic cells and gene therapy of cancer; Cytokine Growth Factor Rev., 1997, 8(2): 119-128.
- 139            **MacNeil, I.A., T. Suda, K.W. Moore, T.R. Mosmann, A. Zlotnik;** IL-10, a novel growth factor for mature and immature T cells. J. Immunol., Dec. 1990, 145(12): 4167-4173.
- 140            **Martens, A., A. De Moor, L. Vlamincx, F. Pille, M. Steenhaut;** Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. Vet. Rec., Dec. 2001, pp. 665-669.
- 141            **Masucci G., P. Wersall, P. Ragnhammar, H. Mellstedt;** Granulocyte-monocyte-colony-stimulating factor augments the cytotoxic capacity of lymphocytes and monocytes in antibody-dependent cellular cytotoxicity. Cancer Immunol. Immunother., 1989, 29(4): 288-292.
- 142            **Matzinger, P.;** Essay 1: the Danger model in its historical context. Scand. J. Immunol., July-Aug. 2001, 54(1-2): 4-9.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 143 **Mauz-Korholz C., U. Banning, D. Korholz;** Regulation of interleukin-2 induces soluble Fas ligand release from human peripheral blood mononuclear cells. *Immunol. Invest.*, 2004, 33: 251-260.
- 144 **Mertelsmann R., K. Welte;** Human interleukin-2: molecular biology, physiology and clinical possibilities. *Immunobiology*, Sept. 1986, 172(3-5): 400-419.
- 145 **Metcalf, D., G.R. Johnson, A.W. Burgess;** Direct stimulation by purified GM-CSF of the proliferation of multipotential and erythroid precursor cells. *Blood*, Jan. 1980, 55(1): 138-147.
- 146 **Mizel, S.B.;** Interleukin 1 and T cell activation. *Immunol. Rev.*, 1982, 63: 52-72.
- 147 **Monroe, J.G., S. Haldar, M.B. Prystowsky, P. Lammie;** Lymphokine regulation of inflammatory processes: Interleukin-4 stimulates fibroblast proliferation. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, Nov. 1988, 49(2): 292-298.
- 148 **Moore, A.S., G.T. Theilen, A.D. Newell, B.R. Madewell, A.R. Rudolf;** Preclinical study of sequential tumor necrosis factor and interleukin 2 in the treatment of spontaneous canine neoplasms. *Cancer Res.*, Jan. 1991, 51: 233-238.
- 149 **Morstyn, G., A.W. Burgess;** Hematopoietic growth factors. A review. *Cancer Res.*, 1988, 48: 5624-5637.
- 150 **Mosmann, T.R., R.L. Coffman;** Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.*, 1989, 7: 145-173.
- 151 **Mosman, T.R., K.W. Moore;** The role of IL-10 in crossregulation of Th1 and Th2 responses. *Immunol. Today.*, 1991, 12: A49-A53.
- 152 **Mugera, G.M.;** A study of bovine neoplasms in Kenya. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.*, 1968, 16: 513-515.
- 153 **Nagler, A., L.L. Lanier, J.H. Phillips;** The effects of IL-4 on human natural killer cells. *J. Immunol.*, 1988, 141: 2349-2351.
- 154 **Nakajima, T., S. Schulte, K.J. Warrington, S.L. Kopecky, R.L. Frye, J.J. Goronzy, C.M. Weyand;** T-cell-mediated lysis of endothelial cells in acute coronary syndromes. *Circulation*, 2002, 105: 570.
- 155 **Nakanishi, K, T. Yoshimoto, H. Tsutsui, H. Okamura;** Interleukin-18 is a unique cytokine that stimulates both Th1 and Th2 responses depending on its cytokine milieu. *Cytokine Growth Factor Rev.*, March 2001, 12(1): 53-72.
- 156 **Nash R.A., F. Schuening, F. Appelbaum, W.P. Hammond, T. Boone, C.F. Morris, S.J. Slichter, R. Storb;** Molecular cloning and in vivo evaluation of canine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 1991, 78: 930-937.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 157 **Nash R.A., F.G. Schuening, K. Seidel, F.R. Appelbaum, T. Boone, H.J. Deeg, T.C. Graham, R. Hackman, M. Sullivan-Pepe, R. Storb;** Effect of recombinant canine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic recovery after otherwise lethal total body irradiation. *Blood*, 1994, 83: 1963-1970.
- 158 **Neta, R., J.J. Oppenheim;** Why should internists be interested in interleukin-1? *Ann. Intern. Med.*, 1988, 109: 1-3.
- 159 **Niethammer, A.G., R. Xiang, J.C. Becker, H. Wodrich, U. Pertl, G. Karsten, B.P. Eliceiri, R.A. Reisfeld;** A DNA vaccine against VEGF receptor 2 prevents effective angiogenesis and inhibits tumor growth. *Nat. Med.*, 2002, 8: 1369.
- 160 **Otten, N., E. Marti, C. Soderstrom, E. Amtmann, D. Burger, H. Gerber, S. Lazary;** Experimental treatment of equine sarcoid using a xanthate compound and recombinant human tumour necrosis factor alpha. *Zentralbl. Veterinarmed. A*, Dec. 1994; 41(10): 757-765.
- 161 **Pan, P.Y., Y. Li, Q. Li, P. Gu, O. Martinet, S. Thung, S.H. Chen;** In situ recruitment of antigen-presenting cells by intratumoral GM-CSF gene delivery. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2004, 53: 17-25.
- 162 **Pardoll, D.M.;** New strategies for enhancing the immunogenicity of tumors. *Curr. Opin. Immunol.*, 1993, 5: 719-725.
- 163 **Pfizenmaier, K., M. Kronke, P. Scheurich, G.A. Nagel;** Tumor necrosis factor (TNF) alpha: control of TNF-sensitivity and molecular mechanisms for TNF-mediated growth inhibition. *Blut*, July 1987, 55(1): 1-10.
- 164 **Pfizenmaier, K., P. Scheurich, C. Schluter, M. Kronke;** Tumor necrosis factor enhances HLA-A, B, C and HLA-DR gene expression in human tumor cells. *J. Immunol.*, 1987, 138: 975-980.
- 165 **Portielje, J.E.A., J.W. Gratama, H.H. van Ojik, G. Stoter, W.H.J. Kruit;** IL-12: a promising adjuvant for cancer vaccination. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2003, 52: 133-144.
- 166 **Portielje, J.E.A., W.H.J. Kruit, A.J.M. Eerenberg, M. Schuler, A. Sparreboom, C.H.J. Lamers, J.W. Gratama, G. Stoter, C. Huber, C.E. Hack;** Subcutaneous injection of interleukin-12 induces systemic inflammatory responses in humans: implications for the use of IL-12 as vaccine adjuvant. *Cancer Immunol. Immunother.*, Jan. 2005, 54(1): 37-43.
- 167 **Portielje, J.E.A., C.H.J. Lamers, W.H.J. Kruit, A. Sparreboom, R.L.H. Bolhuis, G. Stoter, C. Huber, J.W. Gratama;** Repeated administration of IL-12 are associated with persistently elevated serum levels of IL-10 and declining IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-8 responses. *Clin. Cancer Res.*, Jan. 2003, 9(1): 76-83.
- 168 **Presky, D.H., H. Yang, L.J. Minetti, A.O. Chua, N. Nabavi, C.Y. Wu, M.K. Gately, U. Gubler;** A functional interleukin 12 receptor complex is composed of two beta-type cytokine receptor subunits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Nov. 1996, 93(24): 14002-14007.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 169 **Puppi, J., C. Guillonneau, V. Pichard, M. Bellodi-Privato, M.C. Cuturi, I. Anegon, N. Ferry;** Long term transgene expression by hepatocytes transduced with retroviral vectors requires induction of immune tolerance to the transgene. *J. Hepatol.*, 2004, 41(2): 222-228.
- 170 **Quintin-Colonna, F., P. Devauchelle, D. Fradelizi, B. Mourot, T. Faure, P. Kourilsky, C. Roth, M. Mehtali;** Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Ther.*, Dec. 1996, 3(12): 1104-1112.
- 171 **Rafi, A.Q., A. Zeytun, M.J. Bradley, D.P. Sponenberg, R.L. Grayson, M. Nagarkatti, P.S. Nagarkatti;** Evidence for the involvement of Fas ligand and perforin in the induction of vascular leak syndrome. *J. Immunol.*, 1998, 166: 5557.
- 172 **Ribas, A., L.H. Butterfield, J.S. Economou;** Genetic immunotherapy for cancer. *Oncologist*, 2000, 5: 87-98.
- 173 **Robb, R.J., A. Munck, K.A. Smith;** T cell growth factor receptors: Quantitation, specificity and biological relevance. *J. Exp. Med.*, 1981, 154: 1455-1474.
- 174 **Rochlitz, C., P. Jantscheff, G. Bongartz, P.-Y. Dietrich, A.L. Quiquerez, C. Schatz, M. Mehtali, M. Courtney, E. Tartour, T. Dorval, W.H. Fridman, R. Herrmann;** Gene therapy study of cytokine-transfected xenogeneic cells (Vero-interleukin-2) in patients with metastatic solid tumors. *Cancer Gene Ther.*, 1999, 6(3): 271-281.
- 175 **Rodríguez, M., V. García-Barona, L. Peña, M. Castaño, A. Rodríguez;** Grey horse melanotic condition: a pigmentary disorder. *J. Equine Vet. Sci.*, 1997, 17: 677-681.
- 176 **Rosenthal, F.M., K. Cronin, R. Bannerji, D.W. Golde, B. Gänsbacher;** Augmentation of antitumor immunity by tumor cells transduced with a retroviral vector carrying the interleukin-2 and interferon-gamma cDNAs. *Blood*, 1994, 83(5): 1289-1298.
- 177 **Roth, J.A., R.J. Cristiano;** Gene therapy for cancer: what have we done and where are we going? *J. Natl. Cancer Inst.*, 1997, 89: 21-39.
- 178 **Roychowdhury, S., K.F. May, Jr., K.S. Tzou, T. Lin, D. Bhatt, A.G. Freud, M. Guimond, A.K. Ferketich, Y. Liu, M.A. Caligiuri;** Failed adoptive immunotherapy with tumor-specific T cells: reversal with low-dose interleukin 15 but not low-dose interleukin 2. *Cancer Res.*, Nov. 2004, 64: 8062-8067.
- 179 **Ruiz de Almodovar, D., A. Lopez-Rivas, C. Ruiz-Ruiz;** Interferon-gamma and TRAIL in human breast tumor cells. *Vitam. Horm.*, 2004, 67: 291-318.
- 180 **Rutten, V.P.M.G., W.A.C. De Jong, W.R. Klein, W. Den Otter, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma: isolation, culture and characterization of lymphocytes present in the tumor. *Anticancer Res.*, 1991 May-June, 11(3): 1259-1264.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 181 **Rutten, V.P., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, W. Den Otter, P.A. Steerenberg, W.A.C. De Jong, E.J. Ruitenber**g; Local interleukin-2 therapy in bovine ocular squamous cell carcinoma. A pilot study. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1989, 30(3):165-169.
- 182 **Sauder, D.N., N.L. Mounessa, S.I. Katz, et al**; Chemotatic cytokines: the role of leukocyte pyrogens and epidermal cell thymocyte-activating factor in neutrophil chemotaxis. *J. Immunol.*, 1984, 132: 828-832.
- 183 **Sauer, G., E. Amtmann, K. Melber, A. Knapp, K. Müller, K. Hummel, A. Scherm**; DNA und RNA virus species are inhibited by xanthates, a class of antiviral compounds with unique properties. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 81, 3263-3267.
- 184 **Scheerlinck, J.Y.**; Functional and struktural comparison of cytokines in different species. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1999, 72: 39-44.
- 185 **Schijns, V.E., C.M. Wierda, T.W. Vahlenkamp, M.C. Horzinek, R.J. de Groot**; Molecular cloning and expression of cat interferon-gamma. *Immunogenetics.*, 1995, 42(5): 440-441.
- 186 **Schmidt W., T. Schweighoffer, E. Herbst, G. Maass, M. Berger, F. Schilcher, G. Schaffner, M.L. Birnstiel**; Cancer vaccines: the interleukin 2 dosage effect. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1995, 92(10): 4711-4714.
- 187 **Schreiber, R.D., A. Celada**; Molekular characterization of interferon-gamma as a macrophage activating factor. *Lymphokines*, 1985, 11: 87-118.
- 188 **Schwarz, B.**; Klonieren der felinen Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF zum adjuvanten nonviralen, gentherapeutischen Einsatz beim Fibrosarkom der Katze. *Vet. Med. Diss.*; Ludwig-Maximilians-Universität München; 2005.
- 189 **Shalaby, M.R., B.B. Aggerwal, E. Rinderknecht, L.P. Svedersky, B.S. Finkle, M.A. Palladine**; Aktivation of human polymorphonuclear neutrophil functions by interferon-gamma and tumor necrosis factors. *J. Immunol.*, 1985, 135: 2069-2073.
- 190 **Shankaran, V., H. Ikeda, A.T. Bruce, J.M. White, P.E. Swanson, L.J. Old, R.D. Schreiber**; IFN-gamma and lymphocytes prevent primary tumor development and shape tumor immunogenicity. *Nature.*, April 2001, 410(6832): 1107-1111.
- 191 **Shu, S., R.A. Krinock, T. Matsumura, J.L. Sussman, B.A. Fox, A.E. Chang, D.S. Terman**; Stimulating of tumor-draining lymph node cells with superantigenic staphylococcal toxins leads to the generation of tumor-specific effector cells. *J. Immunol.*, 1994, 152: 1277-1288.
- 192 **Simuzu, B., T. Terasima (Hrsg.)**; VERO cells: origin, properties and biomedical applications. The twenty-fifth anniversary of the establishment. Department of Microbiology, School of Medicine, Chiba University: Chiba, 1987.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 193 **Spormakers, T.J., W.R. Klein, J.J.L. Jacobs, Th.S.G.A.M. Van Den Ingh, J.W. Koten, W. Den Otter;** Comparison of the efficacy of local treatment of equine sarcoids with IL-2 or cisplatin/IL-2. *Cancer Immunol. Immunother.*, March 2003, 52(3):179-184.
- 194 **Sriskandan, S., T.J. Evans, J. Cohen;** Bacterial superantigen-induced human lymphocyte responses are nitric oxide dependent and mediated by IL-12 and IFN-gamma. *J. Immunol.*, April 1996, 156(7): 2430-2435.
- 195 **Standiford, T.J., R.M. Streiter, S.W. Chensue, J. Westwick, K. Kasahara, S.L. Kunkel;** IL-4 inhibits the expression of IL-8 from stimulated human monocytes. *J. Immunol.*, Sept. 1990, 145(5): 1435-1439.
- 196 **Stern A.C., T.C. Jones;** The side-effect profile of GM-CSF. *Infection*, 1992, 20: 124-127.
- 197 **Stevenson, L.M., D.G. Jones;** Cross-reactivity amongst recombinant haematopoietic cytokines from different species for sheep bone-marrow eosinophils. *J. Comp. Pathol.*, 1994, 111: 99-106.
- 198 **Stewart, R.J.E., A. Masztalerz, J.J.L. Jacobs, W. Den Otter;** Local interleukin-2 and interleukin-12 therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopath.*, July 2005, 106(3-4): 277-284.
- 199 **Szabo, S., A.S. Dighe, U. Gubler, K.M. Murphy;** Regulation of the interleukin (IL)-12R beta 2 subunit expression in developing T helper 1 (Th1) and Th2 cells. *J. Exp. Med.*, March 1997, 185(5): 817-24.
- 200 **Takeda K., K. Okumura;** Current advances and expectations in tumor immunology. *Hum. Cell*, 2001, 14: 159-163.
- 201 **Takeda, U., M. Odaki, M. Yokota, H. Sasaki, T. Niizato, H. Kawaoto, H. Watanabe, T. Ito, N. Ishiwatari, H. Hayasaka, M. Seki, T. Koeda;** Acute and subacute toxicity studies on collagen wound dressing (CAS) in mice and rats. *J. Toxicol. Sci.*, 1982, 7(Suppl. 2): 63-91.
- 202 **Tepper, R.I., R.L. Coffman, P. Leder;** An eosinophil-dependent mechanism for the anti-tumor effect of interleukin-4. *Science*, 1992, 257: 548-551.
- 203 **Thamm, D.H.;** Intralesional lipid-complexed cytokine/superantigen immunogene therapy for spontaneous canine tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, Aug. 2003, 52(8): 473-480.
- 204 **Théon, A.P., J.R. Pascoe, G.P. Carlson, D.N. Krag;** Intratumoral chemotherapy with cisplatin in oily emulsion in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993, 202: 261.
- 205 **Thompson-Snipes, L., V. Dhar, M.W. Bond, T.R. Mosmann, K.W. Moore, D.M. Rennick;** Interleukin-10: a novel stimulatory factor for mast cells and their progenitors. *J. Exp. Med.*, Feb. 1991, 173(2): 507-510.
- 206 **Tizard, I.R.;** In: Tizard, I.R., R.M. Schubot (Hrsg.); *Veterinary Immunology: An introduction*. Chapter 31, WB Saunders, Philadelphia, 2004, pp. 364-377.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 207 **Tompkins M.B., C. Novotney, C.B. Grindem, R. Page, R. English, P. Nelson, W.A. Tompkins;** Human recombinant interleukin-2 induces maturation and activation signals for feline eosinophils in vivo. *J. Leukoc. Biol.*, 1990, 48: 531-540.
- 208 **Transgene, Strasbourg & Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität, München;** Adenovirus-mediated delivery of the interleukin-2 and the interferon  $\gamma$  genes into tumors of domestic carnivores (vectors AdTG6624 & AdTG13273).
- 209 **Trinchieri, G.;** Interleukin-12: a cytokine at the interface of inflammation and immunity. *Adv. Immunol.*, 1998, 70: 83-243.
- 210 **Trinchieri, G., P. Scott;** Interleukin-12: basic principles and clinical applications. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1999, 238: 57-78.
- 211 **Tüting, T., W.J. Storkus, M.T. Lotze;** Gene-based strategies for the immunotherapy of cancer. *J. Mol. Med.*, 1997, 5: 478-491.
- 212 **Vail, D.M., E.G. MacEwen;** Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Invest.*, 2000, 18(8): 781-792.
- 213 **van Haelst Pisani C., J.S. Kovach, H. Kita, K.M. Leiferman, G.J. Gleich, J.E. Silver, R. Dennin, J.S. Abrams;** Administration of interleukin-2 (IL-2) results in increased plasma concentrations of IL-5 and eosinophilia in patients with cancer. *Blood*, Sept. 1991, 78(6): 1538-1544.
- 214 **Vile, R., S.J. Russell;** Gene transfer technologies for the gene therapy of cancer. *Gene Ther.*, 1994, 1: 88-98.
- 215 **Waldmann, T.A.;** Immunotherapy: past, present and future. *Nat. Med.*, 2003, 9: 269-277.
- 216 **Wang Y., G. Pei, Y.C. Cai, Z.Q. Zhao, J.B. Wanf, C.L. Jiang, Z.C. Zheng, X.Y. Liu;** Human interleukin-2 could bind to opioid receptor and induce corresponding signal transduction. *Neuroreport*, 1996, 20: 11-14.
- 217 **Weber, J., MD, PhD;** Cytokines and Cancer Therapy.
- 218 **Weinberg, J.B., J.W. Larrick;** Receptor-mediated monocytoid differentiation of human promyelocytic cells by tumor necrosis factor: synergistic actions with interferon-gamma and 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Blood*, 1987, 70: 994-1002.
- 219 **Whiteside, T.L., R.B. Herberman;** The role of natural killer cells in human disease. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1989, 53: 1-23.
- 220 **Whitley, E.M., A.C. Bird, K.E. Zucker, L.G. Wolfe;** Modulation by canine interferon-gamma of major histocompatibility complex and tumor-associated antigen expression in canine mammary tumor and melanoma cell lines. *Anticancer Res.*, 1995, 15: 923-929.
- 221 **Wiedmann K.;** Klinische Phase I-Studie zur neoadjuvanten immunstimulierenden Therapie des felinen Fibrosarkoms mit Interleukin-2 und Interferon  $\gamma$ . Diss. Vet. Med, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2005.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Zytokinen

---

- 222**      **Wieland S.;** Klinische Phase I-Studie zur gentherapeutischen Immunstimulation durch Interleukin-2 und Interferon gamma als adjuvante Behandlung des felinen Fibrosarkoms. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.
- 223**      **Winkelhake, J.L., S. Stampfl, R.J. Zimmerman;** Synergistic effects of combination therapy with human recombinant interleukin-2 and tumor necrose factor in murine tumor models. Cancer Res., 1987, 47: 3948-3953.
- 224**      **Xie, J., G. Gallagher;** The ability of transforming growth factor- $\beta$ 1 to preferentially inhibit the induction of cytotoxicity in human T cells is determined by nature of the activating signals. Anticancer Res., 1994, 14: 1595.
- 225**      **Yang, I., T.J. Kremen, A.J. Giovannone, E. Paik, S.K. Odesa, R.M. Prins, L.M. Liao;** Modulation of major histocompatibility complex Class I molecules and major histocompatibility complex-bound immunogenic peptides induces by interferon-alpha andinterferon-gamma treatment of human glioblastoma multiforme. J. Neurosurg., 2004, 100: 310-319.
- 226**      **Yoon, S.J., D.S. Heo, J.O. Kang, S.G. Lee, C.D. Kim, M.W. Sung, N.K. Kim;** Synergistic anti-tumor effects with co-expression of GM-CSF and IFN-gamma in murine tumors. Int. J. Cancer., 1998, 77(6): 907-912.
- 227**      **Zhang, X., S. Sun, I. Hwang, D.F. Tough, J. Sprent;** Potent and selective stimulation of memory-phenotype CD8+ T cells in vivo by IL-15. Immunity, 1998, 8: 591-599.
- 228**      **Zier, K.S., B. Gänsbacher;** Tumour cell vaccines that secrete interleukin-2 (IL-2) and interferon gamma (IFN gamma) are recognised by T cells while resisting destruction by natural killer (NK) cells. Eur. J. Cancer, 1996, 32 A: 1408-1412.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

## 8. Immuntherapien unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

### 8.1 Allgemeiner Teil

Hier sind Substanzen zu nennen, welche aufgrund ihrer Fähigkeit, eine Immunantwort entfachen zu können, in der Immuntherapie Anwendung finden (siehe 4.1.1).

**Tab. 18: Stoffe unterschiedlichen Ursprungs, welche im Rahmen einer nicht-spezifischen aktiven Immuntherapie Anwendung finden (54)**

Substanzen mit immunmodulatorischer Wirkung:	Beispiele:
Intakte Organismen	Bazillus Calmette-Guérin (BCG); <i>Corynebacterium parvum</i> ; <i>Serratia marescens</i> ; <i>Streptococcus pyogenes</i>
Mikrobielle Zellwände	BCG-Zellwand; Methanolextrakt; Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )
Galaktomannan	Acemannan
Synthetische Produkte	Muramyldipeptid (MDP), Muramyltripeptid (MTP), Lipopolysaccharid (LPS)
Natürliche Hormone	Thymushormonextrakt
Medikamente	Levamisol; Piroxicam/Meloxicam/Deracoxib; Cimetidin; PIND-ORF (Wirkstoff: inaktiviertes <i>Parapox-ovis</i> -Virus)
Vitamine/Mineralstoffe	Vitamin C, Vitamin E, Folsäure, Retinoide, Zink, Selen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Im Folgenden sollen v. a. Paramunitätsinducer besprochen werden, welche auch in der Tiermedizin zum Einsatz gelangen.

#### 8.1.1 **Bazillus Calmette-Guérin (BCG)**

Das *Mycobacterium bovis* ist ein intrazellulärer Parasit, welcher in mononukleären Zellen (v. a. in Dendritischen Zellen (50)) vorzufinden ist. Auf diese Weise kann sich dieser kleine Organismus effektiv dem Immunsystem des Wirtes entziehen. Um das Mykobakterium bekämpfen zu können, ist eine koordinierte zelluläre Immunantwort (Th1-Typ) erforderlich (21).

Beim Bazillus Calmette-Guérin, benannt nach den Wissenschaftlern Dr. Calmette und Dr. Guérin, handelt es sich um ein attenuiertes, avirulentes *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), welches, abgesehen von der eigenen Antigenantwort, in unspezifischer Weise sowohl eine humorale, als auch eine zelluläre Immunantwort (CD8<sup>+</sup>-T-Zellen (18)) induziert (141). Auch die virulente Form kann von den Effektorzellen des Immunsystems wirksam kontrolliert und bekämpft werden. Problematisch gestaltet sich allerdings die Situation, wenn genau diese Effektorzellen eher das Gegenteil bewirken, da die Möglichkeit besteht, dass sie das Überleben des Pathogens fördern, die Wirtszellen schädigen und sogar zum Wirtstod führen können (122). Demzufolge ist es im höchsten Grade erforderlich, Komponenten des BCG zu entfernen, die das Überleben des Pathogens unterstützen und diejenigen Elemente, welche sich bei einer Vakzinierung als schützend erweisen, zu isolieren und zu nützen (45).

In BCG dienen v. a. die aktiven Substanzen Muramyldipeptid (MDP), ein potenter Makrophagenaktivator (siehe **8.1.4**) und Trehalose-6,6'-Dimycolat, wobei es sich bei beiden Substanzen um Bestandteile der Zellwand handelt, als Motor des Geschehens (141, 123). Diese beiden Zellwandbestandteile werden zusammen in eine Öl-Emulsion gegeben und sind unter dem Namen „*Freund's complete adjuvant*“ bekannt (33).

Darüber hinaus konnte auch ein 27 kD-Lipoprotein aus BCG isoliert werden, welches in rekombinanter Antigenform eine starke Antikörperproduktion (IgG1 und IgG2a) zu provozieren vermag. Obgleich es sich bei IgG1 um einen Th2-Isotyp-Marker handelt, geht man davon aus, dass dieses Lipoprotein

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

vorwiegend eine Th1-Typ-Antwort induziert (45). Mithilfe derartiger Komponenten (u. a. dem 27 kD-Lipoprotein und dem *M. tuberculosis* 30 kD-Protein (38)) soll die Wirksamkeit des konventionellen BCG hinsichtlich der Bekämpfung der Lungentuberkulose oder von Tumoren gesteigert werden. Bei der Vakzinierung haben sich *Escherichia-coli*-Plasmide als Vehikel des Gentransfers bewährt (48).

In der Humanmedizin wird BCG in erster Linie zur Behandlung von Tumoren der Harnblase eingesetzt. In diesem Zusammenhang wurde eine Vielzahl von Studien durchgeführt und die Wirkungsweise des BCG, auch in Kombination mit Zytokinen (z. B. IL-12 (71)), erforscht.

Obgleich noch einige Aspekte Klärungsbedarf zeigen, ist bekannt, dass BCG in der Lage ist, die Produktion einiger Zytokine (z. B. IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, TNF- $\alpha$ , GM-CSF und IFN- $\gamma$ ; siehe 7.1) zu induzieren (103, 148). Es konnte auch eine stimulierende Wirkung auf mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMC) nachgewiesen werden, welche in der Produktion zytotoxischer BCG-aktivierter-Killer-Zellen (BAK-Zellen) resultiert. Man nimmt an, dass sowohl diese BAK-Zellen, aber auch lymphokin-aktivierte Killerzellen (LAK-Zellen), die Rolle wichtiger Effektorzellen einnehmen. Obgleich beide Zelltypen im Rahmen einer Therapie mit BCG eine gesteigerte Expression von Perforin- und Fas-ligand-Molekülen aufweisen, erfolgt die Abtötung der Zielzellen via Perforin (13). Die Wirkung von BCG auf immunogene Tumoren ist umstritten, da in einem Ratten- und Meerschweinchenmodell weder hoch immunogene, noch nicht-immunogene Tumortypen optimal auf eine BCG-Therapie ansprachen (113, 160).

Dennoch handelt es sich bei dieser Substanz um ein sehr erfolgversprechendes Therapeutikum (früher: Equimune IV<sup>®</sup>, Regressin-V<sup>®</sup>; Vetrepharm, Athens, GA).

### **8.1.2 *Corynebacterium parvum* (*C. parvum*)**

Das *Corynebacterium parvum* (*Propionibacterium acnes*; Immunoregulin<sup>®</sup>, Immunovet, USA) zeichnet sich aus durch seine Fähigkeit, eine Steigerung der Antikörperproduktion gegen T-Zell-abhängige und T-Zell-unabhängige Antigene bewirken zu können (54).

Die Effektivität einer *C. parvum*-Therapie hängt allerdings von einigen Faktoren ab:

- der Immunitätslage des Patienten,
- der Tumorummunogenität,
- der Tumorlokalisierung und -größe,
- der Menge des verabreichten *C. parvum*
- sowie der Art der Applikation (intravenös, intraläsional).

Je nach Applikationsweg konnte die Entwicklung unspezifischer Wirkungsmechanismen beobachtet werden, welche durch aktivierte Makrophagen oder NK-Zellen geprägt sind. Es wurde aber auch die Entwicklung einer T-Zell-medierten antitumoralen Immunität erfasst (133, 4, 145, 25, 92). Bei systemischer Verabreichung konnte bereits *in vitro* und *in vitro* eine Aktivierung von Makrophagen, eine Stimulation der Produktion von Makrophagenvorläuferzellen im Knochenmark (154, 8, 20) und eine Steigerung einer Antikörper-Antwort auf T-Zell-unabhängige Antigene (134) nachgewiesen werden. Nach intraläsionaler Verabreichung wurde sogar eine Resistenzsteigerung gegenüber implantierten Tumorzellen beobachtet (133). Auch nach intravenöser Gabe von *C. parvum* konnte bei Tieren, welchen experimentell Tumoren implantiert worden waren, weniger Metastasen aufgefunden werden. Dieser Effekt wurde der Aktivität einer spezifischen Subpopulation von T-Lymphozyten zugeschrieben (129).

In manchen Fällen wurde allerdings auch eine Steigerung des Tumorwachstums beobachtet, was der Fähigkeit des *C. parvum*, die Entwicklung suppressorischer Mechanismen induzieren zu können, zu Lasten gelegt wird (7).

In der Literatur werden als Dosierung 1 - 2 mg/kg subkutan oder intravenös alle 1 - 2 Wochen angegeben (141).

### **8.1.3 Acemannan**

Bei dem Immunstimulans „Acemannan“ (Carrisyn<sup>®</sup>, Carrington Laboratories, Irving, TX, USA) handelt es sich um ein Galaktomannan (Carbohydrat-Fraktion), das aus Aloe vera gewonnen wird (83, 72). Acemannan ist auf chemischer Ebene ein langkettiges, verzweigtes  $\beta$ -1,4-Mannan-Molekül. Dieser Immunmodulator ist in der Lage, die Sekretion von IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  durch Makrophagen zu steigern (83).

Nach der Gabe von Acemannan und IFN- $\gamma$  konnten bei einer Maus-Zelllinie Prozesse induziert werden, die für eine Apoptose charakteristisch sind. Da dies nur bei Anwesenheit beider Komponenten gelang, nahm man an, dass Acemannan in der Aktivierung des sog. „*interferon-regulatory-factor-1*“ involviert ist. Letzterem werden als Transkriptionsaktivator wichtige Funktionen hinsichtlich der Induktion einer Apoptose zugeschrieben.

Eine zweite Fähigkeit von Acemannan ist (bei Anwesenheit von IFN- $\gamma$ ) in dieser Zelllinie die Induktion der Synthese der sog. „*nitric-oxide-synthase*“. Auch wenn die dadurch entstandenen Stickoxide fähig sind, eine Apoptose dieser Zellen hervorzurufen, glaubte man nicht, dass sie hier die Ursache der Apoptose sind (119).

*In vitro* konnte eine Erhöhung der NK-Zell-Aktivität, eine Förderung der T-Zell-Funktion (als Sekundäreffekt einer gesteigerten IL-1-Sekretion) (155, 82), aber auch eine deutliche Steigerung der Phagozytose durch Makrophagen und die Entwicklung einer nicht-spezifischen Zytotoxizität (als Folge einer geförderten T-Zell-Aktivität) beobachtet werden (89).

Nach der Gabe von Acemannan zeigten Phänotyp-Analysen Dendritischer Zellen auf ihrer Oberfläche eine Expression von MHC-II-Molekülen und von kostimulatorischen Molekülen (z. B. B7-1, B7-2, CD40 und CD54). Dies führte zu der Annahme, dass Acemannan die Fähigkeit besitze, die Maturation unreifer Dendritischer Zellen effektiv zu fördern (72).

Studien zeigten, dass Acemannan als Antigen-Adjuvans wirkte, auch wenn es an einer anderen Körperstelle als das Antigen verabreicht wurde (19).

Die sog. Aloeride sind Polysaccharide, die aus Aloe vera (*Aloe barbadensis*) gewonnen werden. Aloeriden konnte nachgewiesen werden, dass sie die Expression einer für IL-1 $\beta$  und TNF- $\alpha$  kodierenden mRNA induzieren, wie es

durch Lipopolysaccharide (LPS) erreicht werden kann. Man nimmt an, dass die Wirkung (Makrophagen-Aktivierung) von Acemannan auf Spuren, der im Cocktail vorhandenen Aloeride zurückzuführen ist (116).

#### **8.1.4 Muramyl-dipeptid (MDP), Muramyl-tripeptid (MTP), Lipopolysaccharid (LPS)**

Das Muramyl-dipeptid (MDP) ist eine anteilig minimal vorkommende strukturelle Einheit der Mykobakterium-Zellwand.

*In vitro* zeigt sich eine durch MDP induzierte, gesteigerte Aktivität von Monozyten und Makrophagen (149, 130, 153). Leider ist MDP *in vivo* nur beschränkt einsetzbar, da es eine sehr kurze Halbwertszeit aufweist. MDP wird nach ca. 60 Minuten vollständig metabolisiert und renal ausgeschieden (110). Zusätzlich ist sein Einsatz wegen seiner stark nephrotoxischen Wirkung und der Erzeugung starker Vaskulitiden äußerst limitiert (54).

Stattdessen findet das Muramyl-tripeptid-Phosphatidylethanolamin (MTP-PE), das lipophile Derivat von MTP, in der Medizin Anwendung (54). MTP-PE wird zur besseren Verträglichkeit in multilamelläre Phospholipidvesikel (Liposome) eingeschlossen. Nach intravenöser Verabreichung wird es von Monozyten/Makrophagen aufgenommen, wobei die Effektivität der Phagozytose stark von der Größe und Phospholipid-Zusammensetzung bestimmt wird (132). Die Verwendung von Trägerstoffen zur Einbringung von Makrophagen-aktivierenden Verbindungen (intravenös, intraperitoneal) bewährte sich, da diese zusammen mit dem Trägerstoff von Makrophagen aufgenommen werden. Zudem kann dadurch die Verweilzeit von Muramyl-dipeptiden und von MTP-PE im Körper signifikant verlängert werden (30). Diese sehr bekannte Komposition „in Liposomen eingeschlossenes Muramyl-tripeptid-Phosphatidylethanolamin“ (L-MTP-PE) wirkt auf nicht-spezifische Weise stimulierend auf Monozyten/Makrophagen, weshalb dieser Substanz eine antitumorale Wirkung zugeschrieben wird. Eine systemische Aktivierung von Makrophagen kann eine Hemmung der Proliferation, wenn nicht sogar Zerstörung vieler syngener, allogener und xenogener Tumoren bewirken (77). Die Effektivität der Behandlung mit L-MTP-PE kann durch eine vorhergehende Reduktion der Tumormasse deutlich gesteigert werden (28).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

L-MTP-PE wird von Hunden in der Regel gut vertragen. Nebenwirkungen zeigen sich in Form einer Temperaturerhöhung um 1 - 2 °C (2 - 4 Stunden nach Applikation). Als Dosis werden 2 mg/m<sup>2</sup>, langsam intravenös und zweimal wöchentlich (Therapiedauer: 8 Wochen) verabreicht, empfohlen (79, 78). L-MTP-PE ist als stabiles Präparat (CPG-19835A lipid, Novartis, Basel, CH) nur für klinische Studien erhältlich (124).

Auch Lipopolysaccharide (LPS), welche als Bestandteil der Außenmembran gram-negativer Bakterien vorzufinden sind, sind fähig, Monozyten/Makrophagen zu aktivieren. *In vivo* verabreicht zeigen sich schwere Nebenwirkungen (Fieber, Hypotension, disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC) und letaler Schock) (124). Man vermutet, dass ein Plasmaprotein an LPS bindet (LPS-Bindungsprotein). Dieser LPS-LPS-Bindungsprotein-Komplex kann an CD14 binden, das auf der Oberfläche von Makrophagen exprimiert wird (156). Die Bindung an CD14 ruft eine Signaltransduktion hervor, welche möglicherweise in der Aktivierung von LPS-abhängigen Genen resultiert (156, 52). Des Weiteren konnte man nachweisen, dass Mitglieder der „*toll-like-receptor-family*“ (wozu auch die IL-1-Rezeptorfamilie gehört) dabei wichtige Funktionen übernehmen. Besonders der „*toll-like-receptor-2*“ scheint eine wichtige Rolle in der auf bakterielles LPS gerichteten Makrophagenantwort zu spielen (57, 157). Muramyldipeptide und Lipopolysaccharide (und deren Derivate) wirken auf Makrophagen, indem sie eine Steigerung der Zytokin-Produktion (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und IL-1), der Stickoxid-Sekretion und die Hochregulierung der Adhäsionsmolekülanzahl hervorrufen (62).

Lipid-A-Analoga, wie z. B. Monophosphoryl-Lipid-A, erweisen sich als weniger toxisch, haben allerdings eine Reihe unterschiedlicher Wirkungen auf Makrophagen (z. B. die Produktion von TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$  und die Induktion der Stickoxid-Synthase (NOS)). Lipid-A-Analoga haben sich aber als weniger potent im Vergleich zu der ersten LPS-Generation erwiesen (55).

### **8.1.5 Medikamente mit immunstimulatorischer Wirkung**

#### **8.1.5.1 Levamisol**

Das Phenylimidazol Levamisol (CP-Pharma) wirkt anthelmintisch, indem es als Agonist des nikotinergeren Rezeptors der Nematodenmuskulatur fungiert (108). Es hat aber auch immunstimulierende Eigenschaften (54). Es beeinflusst die zellvermittelte Immunfunktion peripherer T-Lymphozyten und stimuliert die Phagozytenaktivität von Monozyten. Seine Wirkungen sind v. a. bei Tieren mit geschwächtem Immunsystem ausgeprägt (114).

Zur Verhinderung eines Rezidivs des Dickdarmkarzinoms beim Menschen (Stadium-III) nach einer chirurgischen Darmresektion, bewährte sich Levamisol als Adjuvans in Kombination mit 5-Fluorouracil (5FU) (150). Levamisol induziert alleine (49), aber auch in Kombination mit 5FU, auf der Zelloberfläche eine gesteigerte Expression von IL-2-Rezeptoren (CD25) und erhöht im Serum die lösliche IL-2-Rezeptor-Konzentration (sIL2R) (43).

*In vitro* potenziert Levamisol die Induktion einer T-Zell-Aktivierung durch IL-2 (121). *In vivo* ist Levamisol in Verbindung mit IL-2 problemlos einsetzbar. Hierbei fördert es die Entwicklung einer zytotoxischen Aktivität und steigert den Anteil zirkulierender NK-Zellen (16).

#### **8.1.5.2 Piroxicam/Meloxicam/Deracoxib**

Durch Piroxicam (Felden<sup>®</sup>; Pfizer) und Meloxicam (Metacam<sup>®</sup>, Mobec<sup>®</sup>; Boehringer Ingelheim) kann die Wirkung der Zyklooxygenase-2 (COX-2) reversibel unterdrückt werden (Piroxicam: 0,3 mg/kg; Meloxicam: 0,1 mg/kg). Bei Deracoxib (1 - 2 mg/kg/d) handelt es sich um einen selektiven COX-2-Inhibitor. Deracoxib ist aber derzeit in Deutschland nicht zugelassen. Diese Medikamente werden zu den NSAIDs („*nonsteroidal antiinflammatory drugs*“) gezählt. Sie vermindern die Konversion der Arachidonsäure zu Eicosanoiden (Prostaglandine, Prostazyklin, Thromboxan) (54).

Prostaglandine (PG) erfüllen wichtige Aufgaben bei der Regulation inter- und intrazellulärer Prozesse. Als Beispiel ist das PGE<sub>2</sub> zu nennen, welches verschiedene Lymphozytenfunktionen, u. a. die Proliferation, die Synthese von Zytokinen (z. B. IL-2) und die zytotoxische Aktivitäten von NK-Zellen,

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

LAK-Zellen und Makrophagen (15, 46, 108) unterdrückt und so zur Entwicklung und Progression von Tumoren beiträgt (54).

Studien zeigten, dass durch COX-2 entstandene Prostaglandine folgendes bewirken:

- 1) einer Resistenzentwicklung neoplastischer Zellen gegenüber apoptotischen Vorgängen;
- 2) eine Gefäßneubildung;
- 3) eine Proliferation der Tumorzellen;
- 4) eine Alteration der zellulären Adhäsion, welche eine Metastasenbildung fördert;
- 5) vermutlich auch eine Aktivierung von Xenobiotika (zur Reaktivierung von kanzerogenen Substanzen).

Der Mechanismus, durch welchen COX-2-Inhibitoren ihre antitumorale Wirkung entfalten, ist noch nicht vollständig geklärt (31, 88, 142, 94).

Die COX-2-Synthese findet bei einigen Tumortypen (z. B. Karzinom der Lunge, der Brust, des Kolons, der Prostata und der Harnblase bei Mensch und Tier) vermehrt statt (95, 53, 136, 159). Eine COX-2-Expression konnte bei dem caninen Übergangsepithelkarzinom der Harnblase (TCC), dem kutanen Plattenepithelkarzinom, dem Prostatakarzinom, dem Mammatumor, dem Adenom des Dickdarmes und dem Osteosarkom identifiziert werden (144, 53, 112, 88, 22, 98). Bei der Katze konnte die Expression dieses Enzyms bei dem felines TCC und bei einzelnen Vertretern des Plattenepithelkarzinoms festgestellt werden (5).

Einige Studien bestätigten eine antitumorale und chemopräventive Wirkung von COX-2- oder COX-1/COX-2-Inhibitoren (Piroxicam) sowie eine potenzierende Wirkung auf die Effekte einer Chemotherapie (z. B. Cisplatin, Mitoxantron) (64, 17, 135). Durch die Gabe von COX-2-Inhibitoren kann die Wirkung von Chemotherapeutika besser ausgenutzt werden, da letztere, nach Bewirken einer DNA-Schädigung zur Erreichung eines Zelltodes, von der Induktion einer Apoptose abhängig sind (94). Eine Plausibilität der antitumoralen Wirkung der COX-Inhibitoren ist hiermit gegeben.

Nebenwirkungen äußern sich in einer gastrointestinalen und renalen Toxizität, welche durch die Hemmung der COX-1/COX-2 hervorgerufen wird, da diese die

gastrointestinale Mucosa schützen und den renalen Blutfluss sicherstellen (131). Daher sollten weniger selektive NSAIDs nicht unmittelbar in Kombination mit COX-2-Inhibitoren (wie z. B. Deracoxib) verabreicht werden (70).

#### **8.1.5.3 Cimetidin**

Cimetidin (Tagamet<sup>®</sup>, GlaxoSmithKline Consumer Healthcare GmbH & Co. KG) ist ein klassischer H<sub>2</sub>-Rezeptor-Antagonist und wird v. a. als präventive Maßnahme oder zur Behandlung des peptischen Ulkus angewendet (54). Darüber hinaus wird Cimetidin eine immunmodulierende Wirkung bei Mensch und Tier zugeschrieben, welche sich u. a. in einer verstärkten zell-vermittelten Immunität *in vitro* und *in vivo* äußert. Als Wirkmechanismus wird eine Hemmung der suppressiven Wirksamkeit von T-Lymphozyten mit der Folge einer erhöhten Aktivität von zytotoxischen T-Lymphozyten vermutet (51).

Des Weiteren konnte Cimetidin in Tiermodellen mit induzierten Tumoren sowie beim malignen Melanom des Menschen ein positiver synergistischer Effekt mit anderen Immuntherapeutika nachgewiesen werden (34, 104, 9).

Derzeit sind in Deutschland keine Tierarzneimittel verfügbar, die Cimetidin als wirksamen Bestandteil enthalten. Im Notfall ist eine Umwidmung von humanmedizinischen Fertigarzneimitteln, die Cimetidin enthalten, möglich.

Zu beachten ist § 56a Abs. 2 Nr. 2 bzw. Nr. 3 AMG. Bei Lebensmittel liefernden Tieren ist die Anwendung nur möglich, wenn der Stoff in Anhang I, II oder III der VO 2377/90 (EWG) enthalten ist. Cimetidin ist in keinem Anhang zu dieser Verordnung aufgeführt.

#### **8.1.5.4 PIND-ORF**

Der Wirkstoff des PIND-ORF (Baypamun-HK<sup>®</sup>; Bayer, Leverkusen, Deutschland, derzeit in Deutschland nicht zugelassen) ist ein inaktiviertes *Parapox ovis*-Virus, das besonders in der Behandlung von FeLV-positiven Katzen großes wissenschaftliches Interesse erweckte (39).

PIND-ORF soll als Antigen die Freisetzung von IL-1, TNF und IFN aus Makrophagen steigern (6). Kontrollierte Studien über die antineoplastischen Effekte dieses Paramunitätsinducers an soliden Tumoren der Haustiere liegen nicht vor. Dies gilt ebenso für das Präparat Zylexis<sup>®</sup> (Pfizer; Animal Health

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

s.a.,Rue Laid Burniat, 11348 Louvain-la-neuve, BELGIEN). Dieses Medikament wird bei Hund und Katze subkutan (1 ml/Tier), und bei Pferd und Rind intramuskulär (2 ml/Tier) verabreicht. (Indikation: Zur Unterstützung bei der Vorbeugung und Behandlung von infektiösen und/oder Stress induzierten Erkrankungen - durch Stimulierung der Proliferation von Lymphozyten bei Hund, Katze, Pferd, Rind und Schwein - sowie der Induktion von antiviralen Interferonen und Interleukinen (z. B. IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ ) in den Lymphozyten bei Hund, Pferd, Rind und Schwein.

Des Weiteren ist derzeit bei Hund, Katze, Pferd und Rind das Präparat Duphamun N<sup>®</sup> (Fort Dodge Veterinär GmbH) und nur für Hund, Katze und Pferd das Präparat Duphapind H/K/P<sup>®</sup> (Fort Dodge Veterinär GmbH) zur Paramunisierung zugelassen (47).

**Schrifttum**  
 Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

**8.2 Spezieller Teil**

**8.2.1 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes**

**Tab. 19: die Anwendung von Paramunitätsinducer bei soliden Tumoren des Hundes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes orales Melanom</b>	<i>C. parvum</i> ; L-MTP-PE (plus GM-CSF); Piroxicam/Cisplatin	81, 73 80 10
<b>orales Plattenepithelkarzinom</b>	Piroxicam; Piroxicam/Cisplatin	10, 131
<b>Fibrosarkom</b>	Acemannan; <i>C. parvum</i> ; bakterielle Mischvakzine, evtl. plus Chemotherapie	56 93 14
<b>Mammatumor</b>	L-MTP-PE; BCG, <i>C. parvum</i> , Levamisol, PIND-ORF, Piroxicam	140 109, 74, 6 64
<b>Mastzelltumor</b>	<i>C. parvum</i>	93
<b>malignes Hämangioperizytom</b>	<i>C. parvum</i>	93
<b>Hämangiosarkom der Milz</b>	L-MTP-PE (plus Splenektomie und Cisplatin)	14, 78, 146
<b>Osteosarkom der Gliedmaße</b>	L-MTP-PE (plus Amputation und Cisplatin); BCG	79, 60, 69, 73, 78 106
<b>Harnblaseneptihelkarzinom</b>	Piroxicam; Piroxicam/Cisplatin; Piroxicam/Mitoxantron	64, 66 63, 94 40, 115
<b>Sticker-Sarkom</b>	BCG; Piroxicam	41, 64
<b>(malignes Lymphom</b>	Levamisol; Piroxicam/Doxorubicin; bakterielle Mischvakzine	99 75 73)

*Legende:*

*C. parvum* = *Corynebacterium parvum*; L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin; GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; BCG = Bazillus Calmette-Guérin; PIND-ORF = Wirkstoff: inaktiviertes *Parapox ovis*-Virus; ( ) = kein solider Tumortyp

*Canines malignes orales Melanom (COM):*

*Behandlung mit C. parvum:*

Am malignen oralen Melanom des Hundes (COM) wurde die Wirkung von *C. parvum* erforscht. Im Rahmen einer prospektiven nicht-randomisierten Studie wurden 89 Hunde mit histologisch nachgewiesenem malignem oralem Melanom mit *C. parvum* und/oder chirurgischer Exzision therapiert. Hunde, deren regionaler Lymphknoten Metastasen aufwies, wurden einer Lymphadenektomie unterzogen.

Es wurden 2 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (42 Hunde): chirurgische Exzision des Tumors plus *C. parvum*;
  - 17 von 42 Hunden (40 %) hatten ein COM Stadium-I.
  - 19 von 42 Hunden (45 %) hatten ein COM Stadium-II.
  - 6 von 42 Hunden (14 %) hatten ein COM Stadium-III.

Davon waren

- bei 27 von 42 Hunden (64 %) der Tumor am Zahnfleisch lokalisiert.
- bei 14 von 42 Hunden (33 %) der Tumor an der Lefze lokalisiert.
- bei 1 von 42 Hunden (2 %) der Tumor an der Zunge lokalisiert.
- 4 der 42 Hunde (9 %) bereits chirurgisch vorbehandelt.

2. Gruppe (47 Hunde): ausschließlich chirurgische Exzision des Tumors

- 21 von 47 Hunden (45 %) hatten ein COM Stadium-I.
- 20 von 47 Hunden (42 %) hatten ein COM Stadium-II.
- 6 von 47 Hunden (13 %) hatten ein COM Stadium-III.

Davon waren

- bei 34 von 47 Hunden (73 %) der Tumor am Zahnfleisch lokalisiert.
- bei 8 von 47 Hunden (17 %) der Tumor an der Lefze lokalisiert.
- bei 5 von 47 Hunden (10 %) der Tumor an der Zunge lokalisiert.
- 3 der 47 Hunde (6 %) bereits chirurgisch vorbehandelt.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die *C. parvum*-Therapie wurde spätestens einen Monat nach dem operativen Eingriff begonnen. Die Tiere erhielten inaktiviertes *C. parvum* in einer Initial-Dosierung von 0,1 mg/kg i.v., welche wöchentlich bis zu einer Dosis von 0,5 mg/kg i.v. gesteigert wurde. Diese Dosierung wurde anschließend wöchentlich über einen Zeitraum von 3 Monaten verabreicht. Danach erhielten die Hunde diese Dosis alle 2 Wochen über 3 Monate, dann alle 3 Wochen über 3 Monate und schließlich einmal pro Monat.

Bei Erkennen irgendeiner Form von Toxizität, welche sich v. a. in Form von Nausea, Vomitus und Diarrhö zeigten (meist innerhalb der ersten 12 Stunden nach Injektion), wurde die Dosis reduziert. Sechs Hunde wiesen nach der Injektion Entzündungsreaktionen (perivaskuläre Infiltrationen) auf. In der Regel wurde die Therapie gut vertragen.

#### Ergebnisse:

##### 1. Gruppe (mediane Überlebenszeit: ca. 12 Monate):

- 24 von 42 Hunden (57 %) starben an den Folgen des Tumors oder wurden euthanasiert.
- 6 von 42 Hunden (15 %) starben aus anderen Gründen.
- 1 von 42 Hunden (2 %) stand nicht weiter zur Beobachtung.
- 11 von 42 Hunden (26 %) überlebten (weitere Daten sind nicht bekannt).
- Durch die adjuvante Gabe von *C. parvum* konnte bei Hunden mit COM Stadium-I keine bessere Wirkung erzielt werden.
- Durch die adjuvante Gabe von *C. parvum* konnte bei Hunden mit COM Stadium-II und Stadium-III zeigte eine statistisch signifikant längere Überlebenszeit gegenüber den Hunden der 2. Gruppe ( $p=0,01$ ).

##### 2. Gruppe (mediane Überlebenszeit: ca. 7,5 Monate):

- 35 von 47 Hunden (75 %) starben an den Tumorfolgen.
- 4 von 47 Hunden (8 %) starben aus anderen Gründen.
- 8 von 47 Hunden (17 %) blieben am Leben (weitere Daten sind nicht bekannt).

Die mediane Überlebenszeit der 1. Gruppe war im Vergleich zur 2. Gruppe nicht signifikant länger ( $p=0,55$ ).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die Tumorgröße gilt für den Erfolg einer Therapie mit *C. parvum* als mit ausschlaggebend (91). Die Hunde mit Stadium-I (Tumordurchmesser: <2 cm) hatten eine deutlich bessere Prognose (mediane Überlebenszeit: 17 Monate) als die Hunde mit Stadium-II (Tumordurchmesser: 2 - 4 cm) und Stadium-III (Tumordurchmesser: ≥4 cm oder Lymphknotenbeteiligung). Die Hunde mit Stadium-II und -III wiesen eine mediane Überlebenszeit von 5,3 Monaten bzw. 5,6 Monaten. Diese Studie resultierte in der Annahme, dass eine adjuvante Therapie mit *C. parvum* zu einer verlängerten Überlebenszeit bei Hunden mit COM im fortgeschrittenen Stadium führe (81).

Diese günstigen Ergebnisse konnten in einer anderen Anwendungsbeobachtung bestätigt werden, in welcher die Wirkung einer *C. parvum*-Vakzine anhand von 8 Hunden untersucht worden war. Die Tumoren dieser Hunde waren im Vorfeld nur unvollständig exstirpiert worden. Hier wurde beobachtet, dass bei diesem Tumor auch im Falle einer partiellen Remission nicht immer ein erneutes Tumorwachstum zu erwarten ist. Man folgerte, dass dies durch immunologische Mechanismen der Tumorunterdrückung bedingt sei (93).

#### *Behandlung mit rcGM-CSF und/oder L-MTP-PE:*

In folgenden prospektiven randomisierten kontrollierten Doppelblind-Studien wurden 98 Hunde mit oralem malignem Melanom (COM) (mit und ohne Lymphknotenbeteiligung) nach chirurgischer Exstirpation (auch der betroffenen regionalen Lymphknoten) mit L-MTP-PE oder einem Placebo (multilamelläre Vesikel) oder mit rekombinantem caninem (rc) GM-CSF und/oder L-MTP-PE behandelt (80).

Die Hunde wurden vor Behandlungsbeginn nach dem WHO-Gradifizierungssystem den Stadien-I, -II und -III zugeordnet (Stadium-I: Tumordurchmesser <2 cm, ohne Lymphknotenbeteiligung; Stadium-II: Tumordurchmesser 2 - 5 cm, ohne Lymphknotenbeteiligung; Stadium-III: Tumordurchmesser >5 cm und/oder Lymphknotenbeteiligung).

**Schrifttum**  
 Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Von den genannten 98 Hunden gingen insgesamt 50 Hunde in die reine L-MTP-PE-Studie (Studie A) ein.

**Tab. 20 : Gruppenzusammensetzung in der Studie A:**

Studie A	1. Gruppe (L-MTP-PE):	2. Gruppe (Liposome):
Stadium-I:	11 Hunde	9 Hunde
Stadium-II:	8 Hunde	11 Hunde
Stadium-III:	6 Hunde	5 Hunde
insgesamt:	25 Hunde	25 Hunde

*Legende:*

L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin

Von den genannten 98 Hunden wurden insgesamt 48 Hunde mit der Kombinationstherapie behandelt (Studie B).

**Tab. 21 : Gruppenzusammensetzung in der Studie B:**

Studie B	1. Gruppe (L-MTP-PE plus GM-CSF):	2. Gruppe (L-MTP-PE plus saline Lösung):
Stadium-I:	13 Hunde	12 Hunde
Stadium-II:	7 Hunde	8 Hunde
Stadium-III:	4 Hunde	4 Hunde
insgesamt:	24 Hunde	24 Hunde

*Legende:*

L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin;  
 GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### Studie A:

Nachdem die Hunde operiert worden waren, erhielten die Tiere in einem Doppelblind-Verfahren 1x wöchentlich L-MTP-PE oder das Placebo (multilamelläre Vesikel (MLV)) über einen Zeitraum von 8 Wochen.

- Das L-MTP-PE wurde in folgender Dosierung verabreicht:  
Initialdosis: 1 mg/m<sup>2</sup> intravenös per Infusion in einem Zeitraum von 5 - 8 min;  
dann: 1 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von <5 kg, 1,5 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von 5 - 10 kg, 2 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von >10 kg.
- Die Liposome wurden per Infusion in einem Zeitraum von 5 - 8 min verabreicht.

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

- Nach Zusammenfassung aller drei Stadien-Gruppen konnte kein Wirkungsunterschied zwischen der 1. und 2. Gruppe festgestellt werden.
- Hunde mit COM Stadium-I zeigten jedoch nach L-MTP-PE-Gabe eine signifikant verlängerte Überlebenszeit gegenüber den Hunden mit COM Stadium-I, die das Placebo erhalten hatten (p<0,05).
- In der 1. Gruppe waren 20 von 25 Hunden (80 %) nach 2 Jahren noch am Leben.
- In der 2. Gruppe waren hingegen nur 6 von 25 Hunden (25 %) nach 2 Jahren noch am Leben.
- Hunde mit COM Stadium-I (L-MTP-PE oder Placebo) zeigten eine signifikant verlängerte tumorfreie Zeit und Gesamtüberlebenszeit gegenüber den Hunden mit COM Stadium-II und -III (L-MTP-PE oder Placebo) (p<0,022). Demnach wurde das Stadium des Tumors für den Erfolg der Therapie als ausschlaggebend beurteilt.
- Weder die Lokalisation des Primärtumors, das Operationsverfahren, das Geschlecht, noch das Alter hatten Einfluss auf das Ergebnis.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### Studie B:

Nachdem die Hunde operiert worden waren, erhielten die Tiere täglich rcGM-CSF über einen Zeitraum von 9 Wochen (Dosis: 5 µg/kg KG subkutan; bei dieser Dosierung wurden keine Nebenwirkungen registriert).

Ab der 2. Woche wurde den Hunden zusätzlich zweimal wöchentlich L-MTP-PE (Dosis: 1 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von <5 kg, 1.5 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von 5 - 10 kg, 2 mg/m<sup>2</sup> bei Hunden mit einem KG von >10 kg) intravenös (per Infusion in einem Zeitraum von 5 - 8 min) verabreicht.

GM-CSF wurde aus drei Gründen mit L-MTP-PE kombiniert:

- 1) zur Steigerung der Monozyten/Makrophagen-Population;
- 2) zur Steigerung der antitumoralen Wirkung von Monozyten/Makrophagen;
- 3) zur Steigerung der Antigen-Präsentation durch Dendritische Zellen.

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

- Beim Vergleich der Kombinationstherapien, L-MTP-PE plus rcGM-CSF und L-MTP-PE plus saline Lösung, konnte weder eine Steigerung hinsichtlich der Dauer des Remissionzeitraumes, noch der Gesamtüberlebenszeit festgestellt werden.
- Weder die Lokalisation des Primärtumors, das Operationsverfahren, das Geschlecht, noch das Alter hatten Einfluss auf das Ergebnis.

#### *Behandlung mit Piroxicam und Cisplatin:*

In einer prospektiven nicht-randomisierten Studie wurde die Kombination Piroxicam (0,3 mg/kg, per os alle 24 Stunden verabreicht) mit Cisplatin (50 mg/m<sup>2</sup> intravenös alle 3 Wochen verabreicht; in Kombination mit einer salinen Diurese (0,9 %ige NaCl-Lösung)) am oralen malignen Melanom (COM) und am oralen Plattenepithelkarzinom (siehe **8.2.1** „*canines orales Plattenepithelkarzinom*“) des Hundes untersucht (10). Obwohl die Anwendung

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

einer Chemotherapie bei oralen Tumoren als wenig wirksam beurteilt wurde, wählte man hier Cisplatin, da man mit diesem Chemotherapeutikum beim COM des Hundes im Vergleich zu anderen chemotherapeutischen Substanzen (Bleomycin, Mitoxantron, Doxorubicin) eine etwas bessere antitumorale Wirkung erzielte (65).

Für diese Studie wurden 11 Hunde mit histologisch nachgewiesenem COM ausgesucht, deren Tumoren als nicht resezierbar eingestuft wurden. Die Behandlung mit Piroxicam wurde 5 Tage vor der ersten Cisplatin-Gabe begonnen.

Tumorlokalisation:

- 5 Tumoren waren an der Maxilla lokalisiert.
- 5 Tumoren waren an der Mandibula lokalisiert.
- 1 Tumor war oropharyngeal lokalisiert.

Es konnten folgende Ergebnisse dokumentiert werden (10):

- 2 von 11 Hunden (18 %) mit COM zeigten eine komplette Remission des Tumors.
- Keiner der 11 Hunde (0 %) zeigte eine partielle Remission des Tumors.
- 1 von 11 Hunden (9 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf.
- 8 von 11 Hunden (73 %) wiesen ein progressives Tumorwachstum auf.
- Als mediane Überlebenszeit konnte bei den COM-Hunden 3,9 Monate dokumentiert werden.

In dieser Studie werden keine Therapie-Kontrollgruppen aufgeführt. Somit ist ein direkter Vergleich der Wirksamkeit zwischen der Kombinationstherapie (Piroxicam/Cisplatin) und der alleinigen Gabe von Piroxicam bzw. Cisplatin nicht möglich. Dies wäre jedoch von großem Interesse, da nur auf diese Weise herausgefunden werden kann, ob es möglich ist, die Wirksamkeit einer Chemotherapie mit Cisplatin zu steigern oder ob bei alleiniger Gabe von Piroxicam ähnliche Erfolge erzielt werden können.

*Canines orales Plattenepithelkarzinom:*

Das orale Plattenepithelkarzinom (orales PEK) des Hundes ist ein Tumor, welcher nur mäßig zur Metastasierung neigt. Die Prognose wird durch die Möglichkeit chirurgischer und/oder radiotherapeutischer Interventionen, d. h. durch Größe und Lokalisation des Tumors in der Maulhöhle, bestimmt. Manchen Hunden kann durch Resektion der Zunge gut geholfen werden. Sind allerdings die Tonsillen befallen, ist die Metastasierungsrate deutlich höher (152). Die alleinige Anwendung einer Chemotherapie (Bleomycin, Cisplatin, Mitoxantron, Doxorubicin) hatte sich als wenig wirksam erwiesen (131).

*Behandlung mit Piroxicam:*

Die systemische Bekämpfung von Metastasen stellte ein Gebiet, in dem die Wirkung des Immunmodulators Piroxicam zu erproben war.

In der folgenden prospektiven Studie wurde anhand von 17 Hunden mit histologisch nachgewiesenem oralem PEK, die Wirkung von Piroxicam untersucht (1 Hund erhielt im Vorfeld zweimalig Cisplatin. Ein anderer Hund wurde 8 Monate zuvor einer Zungenresektion unterzogen) (131).

Den Tieren wurden 0,3 mg/kg Piroxicam per os alle 24 Stunden verabreicht. Beim Auftreten von Nebenwirkungen (in Form von Meläna, Vomitus oder Anorexie) wurde die Therapie unterbrochen bis die Nebenwirkungen klinisch nicht mehr feststellbar waren.

Nach dieser Behandlung wurden folgende Ergebnisse dokumentiert:

- 1 von 17 Hunden (6 %) zeigte eine komplette Tumorremission (CR). Der Tumor des Hundes mit CR war an der Maxilla lokalisiert und im Vorfeld keinerlei Behandlung unterzogen worden.
- 2 von 17 Hunden (12 %) zeigten eine partielle Tumorremission (PR). Einer der Hunde mit PR hatte ein orales PEK an der Zunge und wies Metastasen im regionalen Lymphknoten auf. Der zweite Hund mit PR

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

hatte ein Tonsillen-PEK. Bei diesem Hund konnten keine Metastasen gefunden werden.

- Das ergibt insgesamt eine Remissionsrate von 18 %.
- Die mediane Überlebenszeit war 6 Monate.
- Die mittlere Überlebenszeit war 7,4 Monate.
- 5 von 17 Hunden (29 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf (SD). Bei einem Hund war der Tumor an der Maxilla, bei 2 Hunden an der Mandibula und bei 2 Hunden an den Tonsillen lokalisiert. Die mediane Überlebenszeit war 3,4 Monate. Die mittlere Überlebenszeit war 7,4 Monate.

Leider verbietet in dieser Studie das Fehlen einer Vergleichsgruppe einen wissenschaftlich gesicherten Nachweis der Wirksamkeit von Piroxicam.

Anfang der 90er Jahre erzielte man im Verlauf einer Dosisfindungsstudie (Phase-I-Studie) unter Verwendung von Piroxicam auch eine partielle Remission bei 3 von 5 Hunden (60 %) mit Plattenepithelkarzinom (64). Diese „Studie“ ist jedoch als Anwendungsbeobachtung zu interpretieren.

#### *Behandlung mit Piroxicam und Cisplatin:*

In einer prospektiven nicht-randomisierten Studie wurde die Kombination Piroxicam (0,3 mg/kg, per os alle 24 Stunden verabreicht) mit Cisplatin (jede 3. Woche 50 mg/m<sup>2</sup> intravenös in Kombination mit einer salinen Diurese (0,9 %ige NaCl-Lösung) verabreicht) am oralen malignen Melanom (COM) und am oralen Plattenepithelkarzinom (PEK) des Hundes untersucht (10).

Obwohl die Anwendung einer Chemotherapie bei oralen Tumoren als wenig wirksam beurteilt wurde, wählte man hier Cisplatin, da man mit diesem Chemotherapeutikum beim PEK des Hundes im Vergleich zu anderen chemotherapeutischen Substanzen (Bleomycin, Mitoxantron, Doxorubicin) eine etwas bessere antitumorale Wirkung erzielte (65).

Für diese Studie wurden 9 Hunde mit histologisch nachgewiesenem oralem PEK ausgesucht, deren Tumoren als nicht resezierbar eingestuft wurden.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die Behandlung mit Piroxicam wurde 5 Tage vor der ersten Cisplatin-Gabe begonnen.

Es konnten folgende Ergebnisse verzeichnet werden:

- 5 von 9 Hunden (56 %) mit PEK zeigten eine Tumorremission.
- 2 der 5 Hunden (40 %) mit PEK wiesen eine komplette Remission es Tumors auf.
- 3 der 5 Hunde (60 %) wiesen eine partielle Remission des Tumors auf.  
Bei den Hunden mit PR befand sich der Tumor bei 2 Tieren mit PEK an den Tonsillen und bei 1 Tier mit PEK an der Mandibula.
- 3 der 9 Hunde (33 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf.
- 1 der 9 Tiere (11 %) wiesen ein progressives Tumorwachstum auf.
- Als mediane Überlebenszeit konnte bei den PEK-Hunden 7,9 Monate dokumentiert werden.

In dieser Studie werden keine Therapie-Kontrollgruppen aufgeführt. Somit ist ein direkter Vergleich der Wirksamkeit zwischen der Kombinationstherapie (Piroxicam/Cisplatin) und der alleinigen Gabe von Piroxicam bzw. Cisplatin nicht möglich. Dies wäre jedoch von großem Interesse, da nur auf diese Weise herausgefunden werden kann, ob es möglich ist, die Wirksamkeit einer Chemotherapie mit Cisplatin zu steigern oder ob bei alleiniger Gabe von Piroxicam ähnliche Erfolge erzielt werden können.

#### Canines Fibrosarkom:

Das Fibrosarkom des Hundes ist ein relativ häufig vorkommender Tumor. Dieser Tumor ist meist in der Haut, in der Maulhöhle oder in der Nasenhöhle lokalisiert (143). Da sich die Chemotherapie als Behandlungsform als nicht effizient zeigte, gilt als konventionelle Standardtherapie die chirurgische Exzision (*en-block*-Resektion) mit oder ohne nachfolgende Bestrahlung (101). Leider ist es nicht immer möglich, sämtliche Tumorzellen zu entfernen, was

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

häufig die Entwicklung eines Rezidivs nach sich zieht (11). Aus diesem Grund wird im Anschluss einer Tumorexzision die Radiotherapie empfohlen (87).

#### *Behandlung mit Acemannan:*

Aufgrund der unbefriedigenden Ergebnisse, erprobte man neben der chirurgischen Exzision und der Radiotherapie als adjuvante Fibrosarkom-Therapie die Gabe von Acemannan (56). In einer prospektiven nicht-randomisierten Studie wurde 8 Hunden mit histologisch nachgewiesenen Fibrosarkomen 1 mg/kg Acemannan intraperitoneal (zu Beginn einmal wöchentlich über einen Zeitraum von 6 Wochen, dann einmal im Monat über einen Zeitraum von einem Jahr) injiziert. Dazu wurde den Tieren ca. 6 Wochen vor der chirurgischen Entfernung des Tumors einmal wöchentlich 2 mg/kg Acemannan intratumoral (in jeden erreichbaren Tumor) verabreicht.

#### Ergebnisse:

- 4 von 8 (50 %) behandelten Hunden blieben nach Ablauf der 12 Monate tumorfrei.
- 1 von 8 Hunden (12,5 %) entwickelte ein neues Fibrosarkom außerhalb des Bestrahlungsfeldes und starb. Dieser Hund zeigte allerdings zum Zeitpunkt der Operation eine vollständige Remission des behandelten Tumors.
- Bei einem Hund der 8 Hunde (12,5 %) konnte zum Zeitpunkt der Operation keine Umfangsvermehrung palpirt werden.
- 1 von 8 Hunden (12,5 %) verstarb in der 11. Woche an den Folgen des Tumors.
- 1 von 8 Hunden (12,5 %) verstarb nach der Operation.

In dieser Studie wurden auch 5 Katzen (siehe **8.2.2**) diesem Verfahren unterzogen. Beide Tierarten wurden in die Berechnung der medianen Überlebenszeit (12 Monate) herangezogen. Hervorzuheben ist, dass das Verfahren dieser Evaluierung keine statistisch signifikante Aussage zulässt, da

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

eine Vereinheitlichung von Hund und Katze hinsichtlich der Ermittlung einer medianen Überlebenszeit nicht möglich ist.

Histologisch konnte intratumoral die Entstehung einer Entzündungsantwort, welche durch eine lymphoplasmazelluläre Infiltration, eine Nekrose und eine Ödembildung charakterisiert war, nachgewiesen werden. Diese Effekte wurden einer Makrophagenaktivierung mit folgender Freisetzung des Zytokins TNF- $\alpha$  zugeschrieben (56).

Das häufig beobachtete Tumorstadium reflektiert möglicherweise nach Meinung des Autors Änderungen in der Gefäßpermeabilität, aber auch entstehende Flüssigkeitsansammlungen innerhalb des Tumors (1). Dieses Phänomen konnte auch bei der Behandlung des equinen Sarkoids nach intratumoraler Injektion von Acemannan beobachtet werden (unveröffentlichte Daten) (56).

#### *Behandlung mit C. parvum:*

Bei einer Behandlung mit *C. parvum* konnten beim Fibrosarkom des Hundes (5 Tiere) keine signifikanten Erfolge erzielt werden (93).

#### *Behandlung mit einer bakteriellen Mischvakzine mit/ohne Chemotherapie:*

Auch die Verwendung einer Vakzine, bestehend aus einer Mischung von Bakterien (*Serratia marcescens* und *Streptococcus pyogenes*), alleine oder in Kombination mit einer Chemotherapie (Vincristin, Cyclophosphamid, Methotrexate), erbrachte keine statistisch signifikante Verlängerung der Überlebenszeit bei Hunden mit Fibrosarkom (14).

Caniner Mammatumor:

Die Forschung auf dem Gebiet der Behandlungsmöglichkeiten von Mammatumoren des Hundes ist von großem wissenschaftlichem Interesse, das schon allein durch die Tatsache bedingt ist, da die Mammatumoren des Hundes dem Brustkrebs des Menschen in ihrer Histologie und Progression sehr ähnlich sind (105).

*Behandlung mit L-MTP-PE:*

Da die Zerstörung von Krebszellen durch aktivierte Makrophagen unabhängig von der Zellantigenität, Invasivität und dem metastatischen Potential des Tumors erfolgt, erhoffte man, einen ähnlichen zytostatischen Effekt von L-MTP-PE auch in der Behandlung von caninen Mammakarzinom-Mikrometastasen zu bewirken (29, 140).

Im Rahmen einer Doppelblindstudie wurde die Wirkung von L-MTP-PE an 27 Hunden unterschiedlicher Rassen mit histologisch nachgewiesenem Mammakarzinom (einfaches Karzinom) getestet. Als Ausschlusskriterium galten u. a. Fernmetastasen.

Die Tiere wurden in 2 Gruppen aufgeteilt:

1. Gruppe: 13 Hunde wurden mit L-MTP-PE behandelt.  
(Dosis: 2 mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE intravenös, zweimal pro Woche über einen Zeitraum von 8 Wochen)  
Die L-MTP-PE-Therapie wurde innerhalb von 3 Wochen nach chirurgischer Exzision des Tumors begonnen.
2. Gruppe: 14 Hunde erhielten als Kontrollgruppe eine Behandlung mit leeren Liposomen.

Die Tiere wurden im Abstand von höchstens 3 Monaten mindestens ein Jahr lang auf Metastasen untersucht.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

In den ersten 8 Wochen konnte bei 6 Hunden der 1. Gruppe Nebenwirkungen in Form von Fieber, Zittern und Vomitus innerhalb weniger Stunden post injectionem (p.i.) registriert werden. Bei 4 von 6 Hunden (67 %) traten Nebenwirkungen nur nach der ersten Injektion auf.

Leider konnte zwischen beiden Gruppen weder

- beim krankheitsfreien Intervall (1. Gruppe: median 5,5 Monate; 2. Gruppe: median 4,4 Monate),
- noch bei der medianen Gesamtüberlebenszeit (1. Gruppe: median 7,4 Monate; 2. Gruppe: median 6 Monate) ein signifikanter Unterschied verzeichnet werden.

Man vermutete, dass das enttäuschende Ergebnis auf einer zu kurz gewählten Therapiedauer basiere. Man wusste zwar, dass durch L-MTP-PE aktivierte Makrophagen histologische Veränderungen in Form einer Fibrose und einer Infiltration von Entzündungszellen bis hin zu einer Nekrose und einer Neovaskularisation hervorrufen, nahm aber an, dass durch L-MTP-PE aktivierte Makrophagen zur Abtötung neoplastischer Zellen eine deutlich längere Zeit benötigen (60, 140).

#### *Behandlung mit BCG und/oder C. parvum:*

Die Behandlung mit BCG und *C. parvum* (intratumorale Injektion) resultierte in enttäuschenden Ergebnissen. In prospektiven randomisierten und kontrollierten Studien mit 53 Hunden und 129 Hunden konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Ergebnissen einer Behandlung mit der Kombination BCG und/oder *C. parvum* und denjenigen, welche nur auf der Durchführung einer radikalen Mastektomie basierten festgestellt werden (109, 128).

In einer anderen Studie wurde Hunden mit einem Mammakarzinom nach erfolgter Mastektomie BCG intravenös verabreicht. Hier erzielte man eine Steigerung der medianen Überlebenszeit auf ca. 23 Monate. In der Kontrollgruppe (Tiere, welche ausschließlich mit Hilfe einer Mastektomie

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

behandelt wurden) lag die mediane Überlebenszeit bei ca. 8 Monaten. Diese Tiere erhielten die Mastektomie und BCG-Therapie bevor Metastasen diagnostiziert werden konnten. Man beobachtete, dass durch Gabe von BCG (i.v.) die Entwicklung von Metastasen verzögert wurde (12). Es ist jedoch anzunehmen, dass dieses Ergebnis auf der sehr frühzeitig durchgeführten Mastektomie basiert.

#### *Behandlung mit Levamisol:*

In einer groß angelegten Studie wurde anhand von 144 Hunden mit unbehandelten malignen Mammatumoren (136 Adenokarzinome, 5 maligne Mischtumoren, 3 Sarkome) die Wirkung von Levamisol in Kombination mit einer radikalen Mastektomie oder einer einfachen Mastektomie mit der Wirkung eines Placebos in Kombination mit einer radikalen Mastektomie oder einer einfachen Mastektomie verglichen. Diese Studie ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen diesen Gruppen im Hinblick auf die Verlängerung des krankheitsfreien Intervalls oder der Gesamtüberlebenszeit.

Als prognostisch wertvoll erwies sich das Tumolvolumen der Hunde. Hunde zeigten eine deutlich gesteigerte Gesamtüberlebenszeit ( $p=0,0007$ ) und tumorfreie Zeit ( $p=0,0005$ ), deren Tumoren kleiner als  $41 \text{ cm}^3$  waren (74).

#### *Behandlung mit PIND-ORF:*

In einer Anwendungsbeobachtung wurden 5 Hündinnen mit Knoten in der Milchleiste (Verdacht auf Mammatumor, ohne Zytologie und Histologie) mit PIND-ORF behandelt. Nur bei einem Tier konnte ein Verschwinden der Knoten festgestellt werden, während bei den anderen 4 Hündinnen die Tumoren nach Abschluss der Therapie ein unverändertes Bild zeigten (6). Diese Studie entbehrt leider jede wissenschaftliche Qualifikation.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### *Behandlung mit Piroxicam:*

Anfang der 90er Jahre erzielte man im Verlauf einer Anwendungsbeobachtung unter Verwendung von Piroxicam eine partielle Remission bei 1 von 3 Hunden (33 %) mit Mamma-Adenokarzinom (64).

#### Caniner Mastzelltumor:

##### *Behandlung mit C. parvum:*

Im Rahmen einer prospektiven Studie untersuchte man die Wirkung einer *C. parvum*-Vakzine in Verbindung mit einer unvollständigen Tumorexzision am caninen Mastzelltumor (26 Tiere; Grad I - III) (93). Dabei dienten 17 Hunde mit Mastzelltumor Grad I - III als Kontrolltiere.

Bei den 26 Hunden mit Mastzelltumor konnte nach *C. parvum*-Gabe im Vergleich zur Kontrollgruppe keine geringere Rezidivrate ermittelt werden ( $p=0,59$ ).

#### Canines Hämangioperizyotom:

##### *Behandlung mit C. parvum:*

Im Rahmen einer prospektiven Studie untersuchte man die Wirkung einer *C. parvum*-Vakzine in Verbindung mit einer unvollständigen Tumorexzision am caninen Hämangioperizyotom (22 Tiere; Grad I - III) (93). Dabei dienten 20 Hunde mit Hämangioperizyotom Grad I - III als Kontrolltiere.

Bei den 22 Hunden mit Hämangioperizyotom konnte nach *C. parvum*-Gabe im Vergleich zur Kontrollgruppe keine geringere Rezidivrate ermittelt werden ( $p=0,75$ ).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### Canines Hämangiosarkom der Milz (HSA):

Das canine Hämangiosarkom der Milz (HSA; „splenic hemangiosarcoma“) ist ein spontan auftretender Tumor, welcher eine hohe Metastasierungsrate aufweist. Die chirurgische Entfernung des Tumors erwies sich als nur wenig erfolgreich, da die meisten Hunde innerhalb von 2 Monaten nach Stellung der Diagnose an den Folgen des Tumors (Metastasen in Lunge und Leber (78)) verstarben (37) (mediane Überlebenszeit nach Splenektomie 2 - 4 Monate (73)).

#### *Behandlung mit L-MTP-PE (plus Splenektomie und Chemotherapie):*

Im Rahmen einer randomisierten multizentrischen Doppelblind-Studie untersuchte man anhand von insgesamt 32 Hunden mit HSA Stadium-I (nicht rupturiert) und Stadium-II (rupturiert, kein Hinweis auf Metastasen) die Wirkung von L-MTP-PE (MTP-PE: CGP 19835A) in Kombination mit einer Splenektomie und Chemotherapie (Doxorubicin 30 mg/m<sup>2</sup> i.v. und Cyclophosphamid 100 mg/m<sup>2</sup> i.v., gleichzeitig jede 3. Woche verabreicht; Chemotherapie-Beginn: innerhalb von 2 Wochen nach Milzentnahme). Die Liposomtherapie wurde am Tag der ersten Chemotherapie begonnen. Keines der Tiere war vorbehandelt (146).

Diese Kombination wurde gewählt, da man der Meinung war, dass bei Hunden die Zytotoxizität von Monozyten durch Doxorubicin gesteigert werde und es nach ca. 3 - 7 Tagen zu einer Freisetzung von TNF- $\alpha$  durch Monozyten komme, was die Wirksamkeit einer Immuntherapie mit L-MTP-PE deutlich fördere (78).

Es wurden 2 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (16 Hunde): Therapie mit L-MTP-PE  
(Initial-Dosis: 1 mg/m<sup>2</sup> i.v. L-MTP-PE, ab der zweiten Sitzung: 2 mg/m<sup>2</sup> i.v. L-MTP-PE);
2. Gruppe (16 Hunde): Therapie mit dem Liposom-Placebo-Präparat.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die Hunde erhielten die Präparate zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen in Form einer intravenös erfolgenden Infusion (langsam über 5 - 8 Minuten).

Die Tiere wurden alle 2 Wochen einer Kontrolle unterzogen (Allgemeinuntersuchung, hämatologische Untersuchungen, Sonographie des Abdomens, Röntgen des Thorax). Darüber hinaus wurde von je 4 Hunden aus der 1. und 2. Gruppe Serum gewonnen, welches für die Untersuchung der Aktivitäten von TNF- $\alpha$  und IL-6 benötigt wurde.

Folgende Ergebnisse wurden dokumentiert:

- 29 von 32 Hunden (91 %) starben während der Therapie (Todesursache: Tumorprogression, Folgen der Chemotherapie, therapieunabhängige Ursache).
- 3 von 32 Hunden (9 %) waren zum Zeitpunkt der Evaluierung am Leben.
- Insgesamt konnte eine mediane tumorfreie Zeit von 4,9 Monaten und eine mediane Überlebenszeit von 5,4 Monaten errechnet werden.
- Dabei zeigte sich in der L-MTP-PE-Gruppe ein signifikanter Unterschied bezüglich der medianen tumorfreien Zeit ( $p=0,037$ ) und der medianen Gesamtüberlebenszeit ( $p=0,029$ ) gegenüber der Placebogruppe.
- Im Endergebnis waren Hunde mit HSA Stadium-I weitaus länger tumorfrei ( $p=0,026$ ) und hatten eine längere Überlebenszeit ( $p=0,017$ ), als Hunde mit HSA Stadium-II.
- Dennoch konnte zwischen Hunden mit Stadium-I aus der 1. und 2. Gruppe hinsichtlich dieser Parameter kein signifikanter Unterschied verzeichnet werden.
- Bei Tieren mit klinischem Stadium-II konnte allerdings ein deutlicher Unterschied bezüglich tumorfreier Zeit ( $p=0,031$ ) und Gesamtüberlebenszeit ( $p=0,037$ ) zugunsten der L-MTP-PE-Gruppe dokumentiert werden.
- Sektionen ergaben, dass Hunde mit HSA Stadium-II nach der Behandlung mit L-MTP-PE, im Vergleich zu Hunden der Placebogruppe, eher Metastasen in näher liegenden Organen und erst sehr spät in der Leber ausbildeten.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- Die serologischen Untersuchungen ergaben eine gesteigerte TNF- $\alpha$ -Aktivität (2 h p.i.) bei den L-MTP-PE-Hunden. In der Placebo-gruppe konnte hingegen keine Veränderung der TNF- $\alpha$ -Aktivität festgestellt werden ( $p < 0,001$ ).  
Dementsprechend konnte auch eine gesteigerte IL-6-Aktivität (2 h p.i.:  $p = 0,007$ ; 3 h p.i.:  $p = 0,013$ ) bei den Hunden der 1. Gruppe gemessen werden.

Diese Erkenntnisse untermauerten die Annahme, dass L-MTP-PE als Immunmodulator agiere und auch bei Hunden mit HSA eine Immunantwort hervorrufe (146). Die Wirksamkeit einer L-MTP-PE-Therapie konnte anhand dieser Studie jedoch nicht wissenschaftlich korrekt bewiesen werden, da eine Randomisierung nur an einem Studienort durchgeführt wurde.

In einer anderen prospektiven randomisierten Studie wurden dieselben Dosierungen verwendet und die Chemotherapie (Doxorubicin, Cyclophosphamid) ebenfalls im Abstand von 3 Wochen und in 4 Zyklen durchgeführt. Auch hier wurde mit der Chemotherapie 2 Wochen nach der Splenektomie begonnen. Es wurden insgesamt 27 Hunde mit HSA der Milz in die Studie aufgenommen. 15 der 27 Hunde dienten als Kontrollgruppe und erhielten ein Placebopräparat anstelle von L-MTP-PE.

Man erzielte folgende Ergebnisse:

- Bei den 12 L-MTP-PE-Hunden mit HSA der Milz konnte eine mediane Überlebenszeit von 9,1 Monaten erzielt werden, wobei 6 der 12 L-MTP-PE-Hunde (50 %) an ihren Metastasen starben.
- 5 der 12 L-MTP-PE-Hunde (42 %) lebten noch 1 Jahr oder länger.
- Die Daten der 15 Tiere der Kontrollgruppe ergaben eine mediane Überlebenszeit von 4 Monaten, wobei 11 der 15 Placebo-Hunde (73 %) an ihren Metastasen starben ( $p < 0,03$ ).
- Nur 1 der 15 Placebo-Hunde (7 %) lebte länger als 1 Jahr.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Diese Ergebnisse gaben Grund zur Annahme, dass sich eine Kombinationstherapie (L-MTP-PE, Chemotherapie) zur Behandlung des HSA des Hundes besser eigne als die alleinige Verabreichung einer Chemotherapie (in Kombination mit einer Splenektomie) (78).

#### Canines Osteosarkom der Gliedmaße:

Das canine Osteosarkom ist ein Tumor, welcher spontan auftreten kann und hochgradig zur Metastasierung in die Lunge neigt (69). Man geht davon aus, dass die meisten Hunde zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits Mikrometastasen aufweisen (73). Die mediane Überlebenszeit beträgt 3 - 6 Monate. Nur 10 % der Hunde leben nach Amputation länger als ein Jahr (137).

#### *Behandlung mit L-MTP-PE und Cisplatin:*

Im Rahmen von zwei randomisierten Doppelblind-Studien wurde die Wirksamkeit einer Chemoimmuntherapie mit L-MTP-PE und Cisplatin am Osteosarkom des Hundes untersucht. Die Amputation der betroffenen Gliedmaße wurde im Vorfeld durchgeführt. Man wollte herausfinden, mit welcher Behandlungsmodalität (d. h. die „zeitgleiche“ Verabreichung von Cisplatin und L-MTP-PE oder die „zeitlich versetzte“ Verabreichung von Cisplatin, gefolgt von der Behandlung mit L-MTP-PE) das beste Therapieergebnis erzielt werden könne (69).

Im Falle der „zeitgleichen“ Applikation wurde Cisplatin (70 mg/m<sup>2</sup> i.v.) alle 3 Wochen insgesamt 4x verabreicht. 24 Stunden nach Erhalt der ersten Chemotherapie verabreichte man den Tieren 2 mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE i.v. in Form einer Infusion (langsam über 5 - 8 Minuten). Dann wurden die Tiere in 2 weitere Gruppen aufgeteilt und entweder einmal oder zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen mit L-MTP-PE behandelt. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten das Liposom-Placebo 1x wöchentlich.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Im Rahmen der „zeitgleichen“ Applikation wurden demnach 3 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (21 Hunde): Verabreichung von L-MTP-PE 1x wöchentlich
2. Gruppe (21 Hunde): Verabreichung von L-MTP-PE 2x wöchentlich
3. Gruppe (22 Hunde): Verabreichung des Placebos 1x wöchentlich

Bei der „zeitlich versetzten“ Applikation wurde Cisplatin alle 4 Wochen verabreicht. Nach Ende der Chemotherapie wurden die Hunde 4 Wochen später (also 4 Monate nach Beginn der Chemotherapie) auf Metastasen untersucht. Es wurden nur Hunde in die L-MTP-PE-Stude aufgenommen, die keine klinischen Anzeichen von Metastasen aufwiesen.

Man verabreichte diesen Hunden nun 2 mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE intravenös in Form einer Infusion (langsam über 5 - 8 Minuten) zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen. 14 Hunde dienten als Kontrolltiere. Diese Tiere erhielten ein Liposom-Placebo.

Im Rahmen der „zeitlich versetzten“ Applikation wurden demnach 2 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (11 Hunde): Verabreichung von L-MTP-PE
2. Gruppe (14 Hunde): Verabreichung des Placebos

Nach Studienende wurden alle Hunde noch einmal auf die Entwicklung von Metastasen kontrolliert.

Die L-MTP-PE-Therapie wurde von allen Hunden gut vertragen. Nebenwirkungen konnten nur in Form einer Erhöhung der Körpertemperatur um 1- 2°C innerhalb von 4 Stunden p.i. registriert werden, welche sich allerdings bereits nach 6 Stunden p.i. wieder normalisierte.

Ergebnisse der „zeitgleichen“ Applikation:

1. Gruppe (einmalige L-MTP-PE-Gabe pro Woche):
  - Die mediane metastasenfremde Zeit betrug 6,3 Monate (mediane Überlebenszeit: 10,5 Monate).
  - 18 der 21 Hunde (86 %) entwickelten Metastasen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 3 der 21 Hunde (14 %) starben aus anderen Gründen (Nierenversagen, Magenulzera, Magendrehung). Diese 3 Hunde hatten bereits Metastasen entwickelt.
  - 1 der 21 Hunde (5 %) entwickelte Metastasen, stand aber einer weiteren Beobachtung nicht zur Verfügung.
  - 3 der 21 Hunde (14 %) waren zum Zeitpunkt der Evaluierung metastasenfrei.
  - 7 der 21 Hunde (33 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 1 Jahr.
2. Gruppe (zweimalige L-MTP-PE-Gabe pro Woche):
- Die mediane metastasenfremie Zeit betrug 7,5 Monate (mediane Überlebenszeit: 10,3 Monate).
  - 19 der 21 Hunde (90 %) entwickelten Metastasen.
  - 1 der 21 Hunde (5 %) starb aus anderen Gründen (idiopathische hypertrophe Kardiomyopathie). Dieser Hund zeigte zum Zeitpunkt des Todes keine Metastasen.
  - 1 der 21 Hunde (5 %) war zum Zeitpunkt der Evaluierung am Leben und frei von Metastasen.
  - 7 der 21 Hunde (33 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 1 Jahr.
3. Gruppe (einmalige Liposom-Placebo-Gabe pro Woche):
- Die mediane metastasenfremie Zeit betrug 5,8 Monate (mediane Überlebenszeit: 7,6 Monate).
  - 17 der 22 Hunde (77 %) entwickelten Metastasen.
  - 2 der 22 Hunde (9 %) starben aus anderen Gründen (Nierenerkrankung). Diese beiden Hunde zeigten zum Zeitpunkt des Todes keine Metastasen.
  - 3 der 22 Hunde (14 %) waren zum Zeitpunkt der Evaluierung am Leben und frei von Metastasen.
  - 9 der 22 Hunde (41 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 1 Jahr.

Es bestand kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die Überlebenszeit zwischen diesen 3 Behandlungsmodalitäten.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Ergebnisse der „zeitlich versetzten“ Applikation:

1. Gruppe (mit L-MTP-PE behandelte Hunde):
  - 8 von 11 Hunden (73 %) entwickelten Metastasen.
  - 2 von 11 Hunden (18 %) wurden aus anderen Gründen (schwere Arthritis) vorzeitig euthanasiert.
  - 7 von 11 Hunden (64 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 1 Jahr.
  - Zum Zeitpunkt der Evaluierung war 1 der 14 Hunde (7 %) noch am Leben und zeigte keine Anzeichen von Metastasen.
  - 2 von 14 Hunden (14 %) wiesen zum Zeitpunkt der Evaluierung Metastasen auf. Einer der beiden Hunde war noch am Leben. Der zweite Hund stand der weiteren Beobachtung nicht zur Verfügung.
  - Die mediane metastasenfremie Zeit betrug 11,2 Monate (mediane Überlebenszeit: 14,4 Monate).
  - Es konnte eine signifikant verlängerte metastasenfremie Zeit ( $p < 0,035$ ) und Überlebenszeit ( $p < 0,01$ ) gegenüber der Placebo-Gruppe erzielt werden.
  - Als nicht ausschlaggebend erwiesen sich die Lokalisation des Primärtumors, das Geschlecht und das Alter der Hunde.
  
2. Gruppe (Placebogruppe):
  - 13 von 14 Hunden (93 %) starben an ihren Metastasen.
  - 1 der 14 Hunde (7 %) starb aus anderen Gründen (neurologische Erkrankung).
  - 4 der 14 Hunde (29 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 1 Jahr.
  - Die mediane metastasenfremie Zeit betrug 7,6 Monate (mediane Überlebenszeit: 9,8 Monate).

Der Vergleich dieser Applikationsmodalitäten ließ vermuten, dass sich eine „zeitlich versetzte“ Gabe, d. h. eine Chemotherapie mit Cisplatin, gefolgt von einer Immuntherapie mit L-MTP-PE, zur Erzielung einer Wirkung und somit für eine Behandlung des Osteosarkoms besser eigne, wenn nicht sogar notwendig sei. Die L-MTP-PE liefernde Substanz wird in der Schweiz hergestellt (Ciba-Geigy, Basel), ist jedoch auf dem Markt derzeit nicht erhältlich.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die Ergebnisse einer anderen prospektiven randomisierten Studie unterstützen diese Aussage (78). Im Rahmen dieser Studie wurden insgesamt 25 Hunde verwendet. Dabei wurden alle 25 Hunde einer Amputation der betroffenen Gliedmaße unterzogen und erhielten 24 Stunden nach der Operation die erste Chemotherapie mit Cisplatin (Dosis: 70 mg/m<sup>2</sup> i.v.; in Kombination mit einer Diurese). Die Chemotherapie wurde insgesamt viermal im Abstand von 4 Wochen durchgeführt. Diese 25 Hunde zeigten nach Ende der Chemotherapie keine Anzeichen auf Metastasen und wurden in 2 Gruppen aufgeteilt:

1. Gruppe (11 Hunde): Verabreichung von L-MTP-PE (2 mg/m<sup>2</sup> i.v., zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen)
2. Gruppe (14 Hunde): Verabreichung eines Placebos (L-saline i.v., zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen)

Ergebnisse:

- Die Hunde der L-MTP-PE-Gruppe zeigten eine statistisch signifikant längere mediane krankheitsfreie Zeit von 12 Monaten (Placebo-Gruppe: 7,6 Monate; p<0,04).
- Die Hunde der L-MTP-PE-Gruppe zeigten eine statistisch signifikant längere mediane Überlebenszeit von 14,4 Monaten (Placebo-Gruppe: 9,8 Monate; p<0,021).
- 3 der 11 L-MTP-PE-Hunde (27 %) lebten nach Therapiebeginn länger als 2 Jahre.
- 7 der 11 L-MTP-PE-Hunde (64 %) entwickelten Lungenmetastasen und 2 der 11 Hunde (18 %) Metastasen im Knochenmark.
- 11 der 14 Placebo-Hunde (78 %) entwickelten Lungenmetastasen, wobei 7 dieser 11 Tiere (63 %) zusätzlich viszerale Metastasen und Metastasen im Knochenmark zeigten.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### *Behandlung mit BCG:*

Auch BCG wurde an Hunden mit Osteosarkomen an der Gliedmaße getestet. In der folgenden prospektiven Studie wurde 20 Hunden im Vorfeld die betroffene Gliedmaße amputiert und danach BCG in einer Dosierung von  $50 - 250 \times 10^6$  lebensfähiger Organismen, gelöst in 5 ml saliner Lösung, intravenös appliziert (106). Die erste Injektion erfolgte direkt vor oder nach dem chirurgischen Eingriff. Die weiteren 6 Injektionen wurden in Intervallen von 1, 2 und 4 Wochen, dann im Abstand von 8 Wochen durchgeführt.

Zur Vermeidung einer anaphylaktischen Reaktion wurden den Tieren 20 - 30 Minuten vor BCG-Gabe intramuskulär ein Antihistaminikum verabreicht.

#### Ergebnisse:

- 11 von 20 Hunden (55 %) lebten ca. 6 Monate.
- 7 von 20 Hunden (35 %) blieben länger als 12 Monate und 1 Hund (5 %) sogar 21 Monate am Leben und frei von Metastasen.
- Die mediane Überlebenszeit betrug 6,25 Monate.
- Ein Hund entwickelte trotz Prämedikation eine Anaphylaxie, bei anderen Hunden wurden in erster Linie Nebenwirkungen in Form von Anorexie und leichter Pyrexie in den Tagen p.i. beobachtet.

Für eine Beurteilung dieser Ergebnisse fehlt eine Kontrollgruppe, welche ausschließlich einer Amputation der Gliedmaße unterzogen wird. Darüber hinaus hätte eine weitere Gruppe, die BCG in Kombination mit einer Amputation und Chemotherapie erhält, zur Einschätzung dieser Ergebnisse beigetragen.

#### *Behandlung mit Deracoxib in vitro:*

Im Rahmen einer *In vitro*-Studie konnte Deracoxib im Vergleich zu Piroxicam eine höhere zytotoxische Wirksamkeit in caninen Osteosarkom-Zelllinien nachgewiesen werden. Eine DNA-Fragmentierung konnte allerdings weder mit Piroxicam noch mit Deracoxib bewirkt werden (125).

Canines Übergangsepithelkarzinom der Harnblase (TCC):

*Behandlung mit Piroxicam:*

Der Einsatz von Piroxicam hat sich v. a. in der Behandlung des Übergangsepithelkarzinoms der Harnblase (TCC; „*transitional cell carcinoma*“) bewährt. Dieser Tumor des Hundes eignet sich hervorragend als Tiermodell für die Behandlung des humanen TCC (94).

In folgender prospektiven Studie wurden 34 Hunde mit einem histologisch nachgewiesenen nicht-resezierbarem TCC mit Piroxicam (0,3 mg/kg p.o.) therapiert. Sechs der 34 Hunde waren chemotherapeutisch mit Cisplatin, Doxorubicin/Cisplatin oder Vincristin vorbehandelt. Eine Kontrollgruppe wurde nicht eingerichtet.

Des Weiteren untersuchte man an 15 der 34 Hunde die Entwicklung einer monozytären Prostaglandin E<sub>2</sub>-Produktion (PEG<sub>2</sub>). Sechs der 34 Hunde wurden für die Untersuchung der Aktivität von NK-Zellen (Natürliche Killerzellen, siehe 1.4) verwendet.

Ergebnisse:

- 32 von 34 Hunden (94 %) vollendeten die Therapiedauer von 56 Tagen. Ein Hund zeigte ein progressives Tumorstadium und wurde euthanasiert, ein weiterer Hund wurde an Tag 50 aufgrund einer Wirbelsäulenerkrankung euthanasiert.
- Bei 5 der 34 Hunde (15 %) wurde ein progressives Tumorstadium diagnostiziert (Tag 56) und wurden nicht weiter mit Piroxicam behandelt. Diese Tiere erhielten im Anschluss eine chemotherapeutische Behandlung.
- 27 der 34 Hunde (79 %) lieferten eine mediane Überlebenszeit von ca. 6 Monaten.
- Zwei der 34 Hunde (6 %) zeigten eine komplette Remission (CR), welche allerdings erst an Tag 60 und 120 erreicht wurde.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- Einer der beiden Hunde mit CR wurde bis Tag 600 (20 Monate) mit Piroxicam weiterbehandelt (eine endgültige Überlebenszeit ist nicht bekannt).
- Der 2. Hund mit CR entwickelte nach 4 Monaten gastrointestinale Irritationen. Daraufhin wurde die Therapie abgebrochen (dieser Hund wurde nach ca. 6,6 Monaten aufgrund eines Rezidivs wieder vorgestellt und die Therapie mit Piroxicam fortgeführt. Danach erreichte der Tumor des Hundes wieder eine CR und der Hund wurde bis Tag 720 (24 Monate nach ursprünglichem Therapiebeginn, der weitere Verlauf ist nicht bekannt) mit Piroxicam weiterbehandelt.
- Vier der 34 Hunde (12 %) zeigten eine partielle Remission (PR) des Tumors, wobei diese bereits an Tag 28 registriert werden konnte.
- 18 von ursprünglich 34 Hunden (53 %) zeigten am Tag 56 einen stabilen Krankheitsverlauf (SD).
- 10 der 34 Tiere (29 %) zeigten ein progressives Tumorwachstum (PD).
- Von den 6 Hunden, welche im Vorfeld einer Chemotherapie unterzogen worden waren, zeigte ein Hund eine PR (Überlebenszeit: 2,6 Monate), 3 Hunde eine SD (Überlebenszeiten: 4,8 Monate, 8 Monate und 8,7 Monate) und 2 Hunde eine PD (Überlebenszeiten: 9 Monate und 17 Monate).

Nebenwirkungen:

Bei 6 Hunden konnten gastrointestinale Irritationen (Anorexie, Meläna und Vomitus) dokumentiert werden. Hämatologische und serologische Untersuchungen zeigten eine Anämie, eine gering- bis mittelgradige Leukozytose und eine geringgradige Erhöhung der Urea-Nitrogen-Konzentration.

Ergebnisse der PEG<sub>2</sub>- und NK-Zell-Untersuchungen:

- Vor und während der Studie wurde anhand von 15 Hunden die Entwicklung der monozytären Prostaglandin E<sub>2</sub>-Produktion untersucht. Bei den Hunden mit CR, PR und SD war eine verringerte PEG<sub>2</sub>-Synthese

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

und bei Hunden mit PD eine deutliche Steigerung der PEG<sub>2</sub>-Synthese messbar.

- Darüber hinaus wurde an 6 Hunden vor und während der Studie die Aktivität von NK-Zellen untersucht. Bei einem Hund konnte eine Steigerung der Aktivität beobachtet werden, die mit der Reduktion des Tumolvolumens um 22 % einherging. Im Vergleich dazu konnte bei einem weiteren Hund, dessen Tumor weiterhin an Größe zunahm, im Verlauf der Therapie nur eine geringe NK-Zell-Aktivität registriert werden (bei beiden Hunden wurde zu Beginn der Therapie eine NK-Zell-Aktivität unter dem Normalwert gemessen). Bei den anderen Hunden konnte keine Korrelation zwischen der NK-Zell-Aktivität und der Tumorantwort erkannt werden.

Man war der Meinung, dass Piroxicam beim TCC des Hundes wirksam sei (Remissionsrate von 17,6 % (CR und PR)) (66). Bereits anfang der 90er Jahre erzielte man im Verlauf einer Dosisfindungsstudie (Phase-I-Studie) unter Verwendung von Piroxicam eine partielle Remission bei 3 von 10 Hunden (30 %) mit Übergangsepithelkarzinom der Harnblase (64). Diese „Studie“ ist jedoch als Anwendungsbeobachtung zu interpretieren. Der Wirkungs-mechanismus von Piroxicam am TCC des Hundes konnte nicht erklärt werden (66).

Kürzlich stellte man allerdings fest, dass kein Zusammenhang zwischen der PEG<sub>2</sub>-Konzentration, der Expression von COX-2 und der Veränderung des Tumolvolumens besteht, obgleich in allen TCC-Proben eine COX-2-Immunreaktivität gemessen werden konnte. Demnach, so hieß es, würden diese Parameter (einzeln, oder in Kombination) keine prognostische Aussagekraft besitzen (100).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### *Behandlung mit Piroxicam und Cisplatin:*

Im Rahmen einer weiteren prospektiven Studie wurde die Wirkung des Cyclooxygenase-Inhibitors Piroxicam in Kombination mit einer Chemotherapie (Cisplatin) hinsichtlich einer Tumorantwort, einer Apoptose und einer Angiogenese am TCC des Hundes (14 Tiere) untersucht.

Da diese Kombinationstherapie häufig von einer bald eintretenden und dosis-limitierenden renalen Toxizität begleitet wird, wurde diese Studie mit Hilfe einer verlängerten salinen Diurese-Therapie (21 Stunden) durchgeführt. Zu Beginn wurde nur Piroxicam verabreicht (0,3 mg/kg p.o. 1x tägl. über 4 Wochen). Danach erfolgte die Kombinationstherapie Piroxicam/Cisplatin (Cisplatin: 60 mg/m<sup>2</sup> i.v. jede 3. Woche) über einen Zeitraum von 6 Wochen. Die Diurese (0,9 %ige NaCl-Lösung) wurde 4 Stunden vor und 2 Stunden nach der Cisplatin-Therapie (18 ml/kg/h) und dann über 15 Stunden (5 ml/kg/h) durchgeführt. Das Medikament Cisplatin wurde langsam (über 20 Minuten) in Form einer Infusion verabreicht (Standard-Cisplatin-Therapie).

Auf die Ausdehnung der Diurese-Therapie wurde besonders Wert gelegt, da man der Meinung war, dass zwischen der Dauer einer Diurese-Therapie und der Ausbildung einer Nephrotoxizität durch Cisplatin ein Zusammenhang bestünde (102).

30 Minuten vor Cisplatin-Gabe wurde den Tieren Butorphanol (Torbugestic<sup>TM</sup>, 0.4 mg/kg i.v.; Fort Dodge Laboratories, Fort Dodge, IA) zur Vorbeugung bzw. Verminderung von Erbrechen verabreicht.

Die Studie erzielte folgende Ergebnisse:

- 12 der 14 Hunde standen zur Ermittlung der Tumorantwort zur Verfügung. 14 Hunde wurden evaluiert.
- 6 von 12 Hunden (50 %) zeigten nach der Behandlung eine partielle Remission des Tumors.
- 2 von 12 Hunden (17 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf.
- 4 von 12 Hunden (33 %) zeigten ein progressives Tumorwachstum.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- Die mediane Überlebenszeit der 14 Hunde betrug ca. 11 Monate, wobei 1 der 14 Hunde (7 %) nach 32 Monaten und 7 der 14 Hunde (50 %) nach 12 Monaten noch lebten.
- Anhand von 12 Hunden wurde der „apoptotische Index“ vor und nach der Behandlung mit Piroxicam/Cisplatin bestimmt. Bei 11 von 12 Hunden (92 %) konnte eine Verdopplung des Ausgangswertes, bei 3 von 12 Hunden (25 %) sogar eine Verzehnfachung dieses Indexes beobachtet werden. Man stellte allerdings fest, dass keine Assoziation zwischen diesen Veränderungen und der Reduktion der Tumorgroße nachgewiesen werden konnte.
- Auch anhand des „proliferativen Indexes“, der „*basic-fibroblastic-growth-factor (bFGF)*-Konzentration“ im Urin, der „*vascular-endothelial-growth-factor (VEGF)*-Konzentration“ im Urin und der Microvaskularisationsdichte (MVD, „*microvessel density*“) konnte keine Korrelation zur Reduktion der Tumorgroße hergestellt werden.
- Es wurde auch in dieser Studie kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen den Veränderungen der PGE<sub>2</sub>-Konzentration und der Tumorantwort nach einer Piroxicam/Cisplatin-Therapie errechnet.

Diese Studie resultierte in der Meinung, dass die Kombination Piroxicam/Cisplatin eine Remission des caninen TCC induziere, aber ihr Einsatz durch eine sich rasch zeigende und dosis-limitierende renale Toxizität eingeschränkt werde. In manchen Fällen wurde die Induktion einer Apoptose, eine Proliferationshemmung und die Reduktion des angiogenetischen Faktors (im Urin) dokumentiert (94).

Zur Eruiierung der spezifischen zellulären und molekularen Prozesse und zur Vermeidung einer renalen Toxizität sind noch weitere Studien nötig.

Bereits in einer früheren prospektiven randomisierten Studie konnte anhand von 16 Hunden mit histologisch nachgewiesenem TCC ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Protokollen errechnet werden (*Fisher's Exact test*,  $p < 0,004$ ) (63).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Es wurden 2 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (8 Hunde): Verabreichung von Cisplatin
2. Gruppe (8 Hunde): Verabreichung von Piroxicam in Kombination mit Cisplatin (Piroxicam: 0,3 mg/kg p.o. 1x tägl. über 4 Wochen; Cisplatin: 60 mg/m<sup>2</sup> i.v. jede 3. Woche)

Ergebnisse:

1. Gruppe
  - Bei keinem der Tiere (0 %) konnte eine komplette (CR) oder partielle Remission (PR) des Tumors dokumentiert werden.
  - 4 der 8 Hunde (50 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf (SD).
  - 4 der 8 Hunde (50 %) zeigten ein progressives Tumorwachstum (PD).
2. Gruppe
  - 2 von 8 Tieren (25 %) wiesen eine CR auf.
  - 4 von 8 Tieren (50 %) wiesen eine PR auf.
  - 2 von 8 Tieren (25 %) wiesen eine SD auf.

#### *Behandlung mit Piroxicam und Mitoxantron:*

In einer anderen prospektiven nicht-randomisierten multizentrischen Studie wurde die Wirksamkeit von Piroxicam in Kombination mit dem Chemotherapeutikum Mitoxantron am caninen TCC untersucht. Dabei wurde den Tieren Mitoxantron (5 mg/m<sup>2</sup> i.v.) jede 3. Woche (insgesamt 4x) und Piroxicam (0,3 mg/kg p.o.) täglich während des gesamten Therapieintervalls verabreicht. Keines der Tiere war chemotherapeutisch vorbehandelt.

Die Daten der 48 Hunde ergaben folgende Ergebnisse:

- 1 von 48 Hunden (2 %) zeigte eine komplette Remission des Tumors.
- 16 von 48 Hunden (33 %) zeigten eine partielle Remission des Tumors.
- 22 von 48 Hunden (46 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf.
- 9 von 48 Hunden (19 %) zeigten ein progressives Tumorwachstum.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 36 von 48 Hunden (75 %) ging es nach der Therapie klinisch besser.
- 12 von 48 Hunden (25 %) zeigten nach der Therapie keine Verbesserung des klinischen Allgemeinbefindens.
- Zum Zeitpunkt des Todes konnte bei 18 von 48 Hunden (38 %) keine Metastasen diagnostiziert werden.
- Zum Zeitpunkt des Todes konnte bei 15 von 48 Hunden (31 %) Metastasen in der Lunge, Lymphknoten, Milz oder Knochen diagnostiziert werden.
- 15 von 48 Hunden (31 %) wurden nicht auf Metastasen untersucht.
- Die mediane Überlebenszeit der Hunde, welche mit dieser Kombination (Piroxicam/Mitoxantron) therapiert worden waren, betrug 9,7 Monate. Im Vergleich dazu konnte bei Hunden, welche ausschließlich einer Piroxicam-Therapie unterzogen worden waren, eine mediane Überlebenszeit von 6 Monaten erreicht werden (66).
- Nebenwirkungen traten hauptsächlich in Form von Diarrhö und einer Azotämie auf.

Die Evaluierung dieser Studie ergab, dass durch Anwendung der Kombination dieser Präparate eine frühere Remission der Tumoren ( $p=0,002$ ) erzielt werden konnte, als dies mit der Einzelanwendung der Medikamente bislang möglich war (40). Auch in Kombination mit einer Radiotherapie konnten keine besseren Ergebnisse erzielt werden (115). Dennoch konnte anhand dieser Studie kein Beweis für die Wirksamkeit der Therapie erbracht werden, da keine Kontrollgruppe angeführt wurde und die Studie keiner Randomisierung unterlag.

#### Canines Sticker-Sarkom:

##### *Behandlung mit BCG:*

Bereits in den 70er Jahren wurde die Wirksamkeit einer intraläsionalen BCG-Immuntherapie am implantieren caninen Sticker-Sarkom („*transmissible venereal tumor*“, TVT) des Hundes (12 Tiere) getestet.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Davon wurde 6 Hunden in die rechte Läsion BCG ( $2 - 8 \times 10^8$  lebensfähige Einheiten, gelöst in 2 ml steriler 0,9 %ige NaCl-Lösung) und in die linke Läsion ein Placebo (0,9 %ige NaCl-Lösung) verabreicht. Die restlichen 6 Hunde erhielten nur das Placebo.

Sowohl mit BCG behandelte Tumoren, als auch am selben Tier befindliche unbehandelte Tumoren traten innerhalb von ca. 2 Monaten in Regression. Daher wurde auch eine systemische Wirkung vermutet.

Demgegenüber wurde bei den Hunden der Kontrollgruppe ein bis zu 3,3 Monate anhaltendes Tumorwachstum beobachtet ( $p < 0,05$ ) (41).

Allerdings wird sowohl bei natürlich vorkommenden als auch bei experimentell implantierten caninen TVT-Zellen von einer spontanen Regression dieser Tumoren berichtet. Daher wurde die Immunitätslage des individuellen Patienten als ausschlaggebend gewertet, da canine TVT-Zellen eine Immunantwort auf humoraler und auf zellulärer Ebene hervorrufen (107, 27). In dieser Anwendungsbeobachtung wurde jedoch die Tumorremission als prompt empfunden, so dass man davon ausging, dass die Tumoren infolge der BCG-Therapie in Remission kamen.

#### *Behandlung mit Piroxicam:*

Anfang der 90er Jahre erzielte man unter Verwendung von Piroxicam eine partielle Remission bei einem Hund mit Sicker-Sarkom (64).

#### *Canines malignes Lymphom:*

Obgleich es sich beim caninen malignen Lymphom nicht um einen soliden Tumor handelt, wird er wegen seines häufigen Auftretens in der tierärztlichen Praxis angesprochen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### *Behandlung mit Piroxicam und Doxorubicin:*

In einer prospektiven nicht-randomisierten Studie untersuchte man an Hunden mit malignem multizentrischem Lymphom die Wirksamkeit von Piroxicam in Kombination mit Doxorubicin (33 Tiere) im Vergleich zur alleinigen Gabe von Doxorubicin (42 Tiere). Keines der Tiere war chemotherapeutisch vorbehandelt.

#### Zusammensetzung der Gruppen:

##### 1. Gruppe (Doxorubicin/Piroxicam):

- 7 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-IIIa.
- 1 Hund hatte ein malignes Lymphom Stadium-IIIb.
- 9 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-IVa.
- 2 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-IVb.
- 5 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-Va.
- 9 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-Vb.

##### 2. Gruppe (Doxorubicin):

- 11 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-IIIa.
- 1 Hund hatte ein malignes Lymphom Stadium-IIIb.
- 1 Hund hatte ein malignes Lymphom Stadium-IVa.
- 6 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-IVb.
- 13 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-Va.
- 10 Hunde hatten ein malignes Lymphom Stadium-Vb.

Das Piroxicam wurde in einer Dosis von 0,3 mg/kg p.o. 1x täglich und Doxorubicin in einer Dosis von 30 mg/m<sup>2</sup> streng intravenös dreimal im Abstand von 3 Wochen verabreicht. Die Piroxicam-Therapie wurde 7 - 10 Tage nach der ersten Chemotherapie begonnen.

#### Ergebnisse:

##### 1. Gruppe:

- 26 von 33 Hunden (79 %) zeigten eine partielle oder komplette Remission des Tumors (mediane Remissionsdauer: 4,3 Monate).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### 2. Gruppe:

- 31 von 42 Hunden (74 %) zeigten eine partielle oder komplette Remission des Tumors (mediane Remissionsdauer: 4,9 Monate).
- Im Vergleich stellte man keinen signifikanten Wirkungsunterschied fest.

Ein Teil der Hunde (v. a. in der Kontrollgruppe) hatte im Vorfeld Prednisolon über mindestens 4 Tage verabreicht bekommen, was sich jedoch weder signifikant auf die Remissionsrate ( $p=0,4$ ), auf die Remissionsdauer ( $p=0,7$ ) noch auf die Gesamtüberlebenszeit ( $p=0,7$ ) auswirkte.

Nebenwirkungen wurden in Form einer gastrointestinalen Toxikose (Anorexie, Vomitus, Diarrhö, Meläna) dokumentiert. Eine schwere Toxikose zeigten in der Piroxicam/Doxorubicin-Gruppe 7 von 33 Hunden (22 %) und in der Doxorubicin-Gruppe 6 von 42 Hunden (17 %).

Beide Therapieformen, so war man der Meinung, würden sich für die Behandlung des caninen malignen Lymphoms eignen. Der Erfolg einer Therapie mit Doxorubicin könne jedoch durch die zusätzliche Gabe von Piroxicam nicht gesteigert werden (99).

#### *Behandlung mit Levamisol:*

Hunde (insgesamt 98 Tiere) mit malignem Lymphom wurden auch mit Levamisol oder einem Placebo in Kombination mit einer Polychemotherapie (Vincristin, L-Asparaginase, Cyclophosphamid, Methotrexate) behandelt. Auch hier konnte kein Wirkungsunterschied festgestellt werden. Dennoch wurde beobachtet, dass Hündinnen eine gesteigertes Remissionsintervall ( $p=0,004$ ) und eine verlängerte Überlebenszeit ( $p<0,001$ ) aufzeigten (75).

#### *Behandlung mit einer bakteriellen Mischvakzine:*

Unter Verwendung einer bakteriellen Mischvakzine (*Serratia marcescens* und *Streptococcus pyogenes*) konnte ein verlängertes Zeitintervall bis zur

## Schrifttum

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Entwicklung eines Rezidivs bewirkt werden. Die Überlebenszeit konnte auf diesem Wege nicht verlängert werden (unveröffentlichten Daten) (73).

### 8.2.2 Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze

**Tab. 22: die Anwendung von Paramunitätsinducer bei soliden Tumoren der Katze**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
Fibrosarkom	Acemannan;	56
Mamma-Adenokarzinom	L-MTP-PE (Stadium-II vs. Stadium-III); Levamisol, BCG, <i>C. parvum</i> , bakterielle Mischvakzine	32  76, 93, 128, 32

*Legende:*

L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin;  
BCG = Bazillus Calmette-Guérin, *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*

*Felines Fibrosarkom:*

Beim Fibrosarkom der Katze konnten mittels chirurgischer und radiotherapeutischer Behandlung nur unbefriedigende Erfolge erzielt werden (101, 90).

*Behandlung mit Acemannan:*

In folgender prospektiven nicht-randomisierten Studie wurde die Wirkung von Acemannan als adjuvante Therapie zu Chirurgie und Radiotherapie getestet. Entsprechend der Therapie beim Fibrosarkom des Hundes (siehe 8.2.1), erhielten 5 Katzen mit histopathologisch nachgewiesenem Fibrosarkom Acemannan-Injektionen in einer Dosierung von 1 mg/kg KG intraperitoneal (zu

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Beginn 1x wöchentlich über einen Zeitraum von 6 Wochen, dann einmal im Monat über einen Zeitraum von einem Jahr). Auch diesen Tieren wurde ca. 6 Wochen vor chirurgischer Entfernung des Tumors, 1x wöchentlich 2 mg/kg KG Acemannan intratumoral (in jeden erreichbaren Tumor) verabreicht. Drei von 5 Katzen (60 %) blieben nach Ablauf eines Jahres rezidivfrei. Eine Katze starb an den Folgen der Operation, wies aber zum Zeitpunkt des chirurgischen Eingriffes eine nur noch sehr kleine Umfangsvermehrung auf. Eine weitere Katze verstarb an den Folgen des Tumors. In dieser Studie konnte eine mediane Überlebenszeit von ca. 12 Monaten erreicht werden (56).

#### *Felines Mamma-Adenokarzinom (MAK):*

Das feline Mamma-Adenokarzinom (MAK), ebenfalls ein Äquivalent des Brustkrebses des Menschen, ist ein Tumor, an dem schon einige Therapiestudien vorgenommen worden sind (128).

#### *Behandlung mit BCG, C. parvum, Levamisol oder einer bakteriellen Mischvakzine:*

Weder mit BCG, *C. parvum*, Levamisol noch mit einer bakteriellen Mischvakzine konnten signifikante Ergebnisse, bezüglich einer verlängerten Überlebensdauer oder einer tumorfreien Zeit, erzielt werden (128).

In einer Levamisol-Studie stellten sich die prognostischen Faktoren Größe und Rasse als signifikant dar. Katzen mit kleinen Tumoren wiesen eine deutlich gesteigerte Überlebenszeit ( $p=0,00006$ ) und geringere Rezidivrate ( $p=0,00004$ ) auf. Domestizierte Kurzhaarkatzen zeigten eine signifikant längere Überlebenszeit ( $p=0,038$ ) als Katzen anderer Rassen (76).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### *Behandlung mit L-MTP-PE:*

Auch anhand von L-MTP-PE konnte in einer prospektiven, randomisierten, kontrollierten Doppelblind-Studie anhand von 40 Katzen keine signifikante Steigerung der Überlebenszeit und tumorfreien Zeit erzielt werden. Als ausschlaggebend erwies sich allerdings bei der Gabe von L-MTP-PE (2,0 mg/kg KG i.v., wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen in Kombination mit einer radikalen Mastektomie) das Tumorstadium zum Zeitpunkt der Operation. Katzen mit Mamma-Adenokarzinom Stadium-II (Tumorgröße: 1 - 3 cm<sup>2</sup>, ohne Lymphknotenbeteiligung) zeigten statistisch eine signifikant längere Überlebenszeit ( $p < 0,005$ ) und tumorfreie Intervalle ( $p < 0,02$ ) als Katzen mit MAK Stadium-III (Tumorgröße:  $> 3$  cm<sup>2</sup>, ohne Lymphknotenbeteiligung, alle Tumorgrößen mit Lymphknotenbeteiligung) (32).

### 8.2.3 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Pferdes

**Tab. 23: die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Pferdes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>equines Sarkoid</b>	BCG; PIND-ORF	58, 147 139
<b>mukokutanes Plattenepithelkarzinom (inkl. Metastasen)</b>	BCG; Piroxicam	86 97
<b>Myxom</b>	Levamisol	44
<b>malignes Melanom</b>	Cimetidin	35

*Legende:*

BCG = Bazillus Calmette-Guérin ; PIND-ORF = Wirkstoff: inaktiviertes *Parapox ovis*-Virus

#### Equines Sarkoid:

Das equine Sarkoid neigt kaum zur Metastasierung, zeigt allerdings lokal eine sehr hohe Rezidivierungsrate mit aggressivem Tumorwachstumsverhalten (58). Obgleich mittels konventioneller chirurgischer Exzision nur eine Reduktion der Rezidivrate um 50 % erzielt werden konnte (117), gelang es mit Hilfe der Kryochirurgie und der Verwendung eines CO<sub>2</sub>-Lasers Therapieerfolge zu erzielen (58, 68). Auch wenn die Verwendung eines CO<sub>2</sub>-Lasers eine sehr präzise Tumorbehandlung erlaubt und im umliegenden Gewebe nur sehr geringe Gewebeschäden hervorruft (84), besteht eine Anwendungseinschränkung häufig in der Lokalisation (z. B. Auge) des Tumors. Bei einer Behandlung des okulären equinen Sarkoids besteht die Gefahr, Augenlidfunktionen zu schädigen. Bei dieser Lokalisation des Tumors hat sich die Gamma-Radiotherapie bewährt (85, 67).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Dennoch ist das Bestreben sehr groß, ein immuntherapeutisches Verfahren gegen diesen immunogenen Tumortyp zu entwickeln, durch das eine Rezidiventwicklung anhand einer adäquaten Immunantwort verhindert werden soll (118, 96).

#### *Behandlung mit BCG:*

In den letzten 20 Jahren wurde die Wirkung von BCG (als Lebendvakzine, als inaktivierte Vakzine und als Zellwand-Vakzine) an Tumoren von Mensch und Tier erforscht (36, 3, 58). Man nimmt an, dass Sarkoid-Zellen Antigene besitzen, welche sie von normalen Zellen unterscheiden (149). Untersuchungen zeigten, dass sich eine zell-vermittelte Immunität direkt gegen Sarkoid-Zellen (bei erkrankten Pferden) richtet (149, 147).

Equine Sarkoide (außer jenen, welche an Extremitäten lokalisiert sind) eignen sich sehr gut für eine Behandlung mit BCG. Die praktische Anwendung der BCG-Therapie scheint sich weitaus einfacher zu gestalten als kryotherapeutische Interventionen. In der heutigen Zeit werden vornehmlich Emulsionen von Zellwandfraktionen verwendet, welche eine hohe Immunogenität aufweisen. Diese wurden derart modifiziert, dass toxische und allergische Effekte reduziert, ihre antitumorale Wirkung aber beibehalten wurde (158, 23). Als Therapiemodus werden 3 - 9 Injektionen, jeweils im Abstand von 2 - 4 Wochen empfohlen (23, 26, 68).

In folgender prospektiven randomisierten Studie wurde anhand von 41 Tieren (40 Pferde und 1 Esel) unterschiedlicher Rassen (Alter: 1 - 12 Jahre) mit histologisch nachgewiesenem equinen Sarkoid die Wirksamkeit einer BCG-Lebendvakzine und einer BCG-Zellwand-Vakzine untersucht (58).

Die 41 Tiere wurden in vier Gruppen aufgeteilt:

1. Gruppe (10 Pferde, insgesamt 29 Tumoren): Intratumorale Verabreichung einer BCG-Lebendvakzine;
2. Gruppe (10 Pferde, insgesamt 16 Tumoren): Intratumorale Verabreichung einer BCG-Zellwand-Vakzine;

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

3. Gruppe (10 Pferde, 26 Tumoren): Durchführung einer Kryotherapie;
4. Gruppe (11 Tiere): Diejenigen Tiere, welche in oben genannte Gruppen aufgrund von Ausschlusskriterien (Gesamttumoroberfläche  $>100\text{ cm}^2$ ) nicht aufgenommen wurden, bildeten eine separate Gruppe. Sechs dieser 11 Tiere wurden mit der BCG-Zellwand-Vakzine, 1 Tier mit der BCG-Lebendvakzine und 4 Tiere mit einer Kombination aus einer BCG-Zellwand-Vakzine und chirurgischer Therapie behandelt.

#### Ergebnisse:

1. Gruppe (durchschnittliche Anzahl der durchgeführten Injektionen: 3,6):
  - 6 von 10 Pferden (60 %) zeigten eine komplette Remission (CR). Bei 2 Tieren stellte sich die CR bereits nach einer einmaligen intra-tumoralen BCG-Lebendvakzinierung ein.
  - 24 von 29 Tumoren (83 %) kamen in eine CR.
  - 1 von 10 Pferden (10 %) zeigte eine partielle Remission (PR) von 90 %.
  - 3 von 10 Pferden (30 %) sprachen auf die Therapie nicht an.
  - Die mediane tumorfreie Zeit betrug 18 Monate.
2. Gruppe (durchschnittliche Anzahl der durchgeführten Injektionen: 3,4):
  - 7 von 10 Pferden (70 %) zeigten eine CR.
  - 11 von 16 Tumoren (69 %) kamen in eine CR.
  - 2 von 10 Pferden (20 %) zeigten eine PR von  $>50\%$ .
  - 4 von 16 Tumoren (25 %) kamen in eine PR.
  - 1 von 10 Pferden (10 %) sprach auf die Therapie nicht an.
  - Die mediane tumorfreie Zeit betrug 19,5 Monate.
3. Gruppe (Kryotherapie):
  - Alle 26 Tumoren der 10 Pferde (100 %) zeigten nach der Behandlung eine CR.
  - Die CR wurde im Medianen nach 3,3 Monaten erreicht.
  - Bei 5 von 10 Pferden (50 %) wurde eine operative Tumorzellreduktion vorgenommen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### 4. Gruppe:

- 8 von 11 Tieren (72 %) zeigten eine CR (2 Tiere waren im Vorfeld chirurgisch behandelt worden).
- Die mediane tumorfreie Zeit betrug bei diesen 8 Tieren 7 Monate.

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Tieren mit einem Tumor und Tieren mit mehreren Tumoren hinsichtlich der Prognose festgestellt werden. Allerdings zeigte sich die Gesamtoberfläche des Tumors hinsichtlich einer Therapieantwort als ausschlaggebend, da nur bei 50 % der Tumoren, die größer als 50 cm<sup>2</sup> waren, ein Therapieerfolg verzeichnet werden konnte.

Auch bei den Pferden der 4. Gruppe, die eine komplette Tumorremission zeigten, schien die Gesamttumorgröße (<100 cm<sup>2</sup>) und die Lokalisation (Zugänglichkeit) von großer Bedeutung zu sein.

Bei keinem der 41 Tiere konnte eine Zunahme des Tumolvolumens dokumentiert werden.

#### Nebenwirkungen:

- Es traten lokal Schwellungen und Ulzerationen auf, welche v. a. nach der 2. Injektion zu beobachten waren und nach 4 - 7 Tagen wieder abheilten.
- Bei 6 von 31 Tieren (19 %) (Therapie mit der BCG-Lebendvakzine oder BCG-Zellwand-Vakzine) zeigten sich stärkere Reaktionen, welche nicht auf die Fläche des behandelten Tumors begrenzt waren. Bei 5 dieser 6 Tiere mit stärkeren Reaktionen (83 %) war der Tumor an einer Extremität lokalisiert. Bedingt durch die Schwellung (plus Ulzeration) wurde bei diesen Tieren auch eine Lymphangitis diagnostiziert, welche über 1 Woche bestehen blieb (bei 1 Tier sogar über einen Zeitraum von 10 Monaten).
- Bei 2 Tieren wurde eine Schmerztherapie (Phenylbutazon) durchgeführt.
- Im Allgemeinen konnte in den ersten Tagen p.i. eine Pyrexie dokumentiert werden.
- Darüber hinaus konnte generell eine geringe Anhebung der Körpertemperatur (durchschnittlich 0,5 °C nach der 1. Injektion; durchschnittlich

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

1,0 °C nach der 2. Injektion), welche mit Anorexie einherging, festgestellt werden.

In der Literatur wird auch vom Auftreten eines anaphylaktischen Schocks nach einer BCG-Injektion berichtet (151).

- Auf hämatologischer Ebene konnte bei einigen Tieren nur ein geringer Anstieg der Gesamtleukozytenzahl beobachtet werden.
- Immunologische Untersuchungen ergaben bei allen BCG-behandelten Tieren einen BCG-Antikörper-Titeranstieg, anfangs in der Höhe (Durchschnittswert) von 1:32, nach 2 Wochen in der Höhe von 1:64, nach 3 Monaten in der Höhe von 1:128. Dies hatte allerdings keine Auswirkungen auf die Prognose.
- Bei allen Tieren konnte eine starke „*delayed-type-hypersensitivity*“ registriert werden.

Ende der 80er Jahre wurden in einer ähnlichen Studie 61 Pferde mit einem inaktivierten BCG-Vakzin behandelt. Dabei zeigten 36 von 61 Pferden (59 %) eine CR, und 11 von 61 Pferden (18 %) eine PR des Tumors. Die meisten Pferde erhielten nur einmal eine intratumorale BCG-Injektion. Die Tumoren, die nicht auf die Therapie ansprachen, waren entweder sehr groß oder das betroffene Pferd wies mehrere equine Sarkoide auf (147).

BCG scheint eine gute Therapiemöglichkeit zur Behandlung des equinen Sarkoids zu liefern. Leider werden keine rezidivfreien Zeiten genannt, so dass die Effektivität dieser Therapie nur eingeschränkt beurteilt werden kann.

#### *Behandlung mit Baypamun P:*

In einer Doppelblindstudie wurde die Wirkung von Baypamun P an Pferden mit equinem Sarkoid untersucht. Insgesamt 20 Pferde unterschiedlicher Rassen und histologisch nachgewiesenem equinem Sarkoid wurden einer Behandlung mit Baypamun P oder einem Placebo unterzogen, wobei die Injektion ins Tumorbett appliziert wurde. Ein Pferd wurde mittels einer systemisch-intramuskulär erfolgenden Injektion therapiert, da dessen Tumor am

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Fesselgelenk lokalisiert war und sich das Pferd einer Lokalbehandlung widersetzte. Pro Pferd wurde nur jeweils ein Tumor zehnmal behandelt.

Die ersten 7 Injektionen wurden in der vom Hersteller empfohlenen Dosis im Abstand von 2 Tagen verabreicht. Die letzten 3 Dosen (nach Empfehlung des Herstellers) wurden im Abstand von einer Woche appliziert. Nach Ende der Therapie wurden die Tiere in einem 6-monatigen Intervall untersucht.

Ergebnisse:

- Bei 5 von 20 Pferden (25 %) (2 Pferde: Baypamun P; 3 Pferde: Placebo) wurde eine komplette Remission (CR) des Tumors dokumentiert. Die Tumoren dieser 3-jährigen Pferde wurden vor weniger als 6 Monaten zum ersten Mal entdeckt.
- Bei 4 von 20 Pferden (20 %) wurde eine partielle Remission (PR) des Tumors nach Baypamun P-Behandlung dokumentiert.
- Bei 3 von 20 Pferden (15 %), die ein Placebo erhalten hatten, wurde eine PR des Tumors vermerkt.
- Bei 8 von 20 Pferden (40 %), deren Tumoren eine PR oder CR aufwiesen, stellte man auch eine Regression aller anderen, an den Pferden befindlichen Sarkoide fest (eine spontane Regression dieser Tumoren konnte allerdings nicht ausgeschlossen werden).
- Acht der 20 Pferde (40 %) sprachen weder auf das Verum noch auf das Placebo an.
- Es konnte kein signifikanter Wirkungsunterschied zwischen Verum und Placebo errechnet werden ( $p=0,67$ ).
- Interessant war, dass die Tumoren, welche vor weniger als 3 Monaten das erste Mal in Erscheinung traten, häufiger eine Remission aufwiesen ( $p<0,05$ ) als ältere Tumoren.
- Als Nebenwirkung der Baypamun P-Behandlung konnte nur eine transient auftretende Schwellung im Bereich der Injektionsstelle beobachtet werden (139).

*Equines Plattenepithelkarzinom (PEK):*

Das Plattenepithelkarzinom (PEK) kommt beim Pferd relativ häufig vor und ist meist am Kopf, am Auge, an den Adnexen oder an den Genitalien lokalisiert. Die kutane Form des PEK wird vornehmlich an unpigmentierten Hautarealen vorgefunden (97). Dies resultierte in der Annahme, dass eine Exposition in ultraviolette Strahlung die Entstehung des Tumors begünstigt (24).

Das Tumorbild der kutanen Form ist geprägt von proliferativen oder erosiven Vorgängen. Histologisch ist es von einer lokal vorherrschenden Immunantwort gekennzeichnet, welche mit einer Infiltration von Entzündungszellen einhergeht (2, 138, 111).

*Behandlung mit BCG:*

Auch das periokuläre Plattenepithelkarzinom des Pferdes bietet sich für eine Immuntherapie mit BCG an. Obgleich die BCG-Immuntherapie zur Behandlung des Plattenepithelkarzinoms entwickelt worden ist, liegen beim Pferd keine Studien vor.

Anfang der 90er Jahre wurde ein Pony mit periokulärem Plattenepithelkarzinom und vorhergehender Kryochirurgie behandelt.

In diesem Fall wurde vom Besitzer ein zu hohes Maß an Geduld abverlangt, welcher nach einigen Injektionen und der sich als langwierig gestaltenden Rekonvaleszenz um Euthanasie des Tieres bat (dieses Pony wies auch Metastasen im regionalen Lymphknoten auf) (86).

*Behandlung mit Piroxicam:*

Bei einem Pferd mit PEK an der Unterlippe, wurde die Wirkung von Piroxicam (80 mg p.o.) nach fehlgeschlagener chirurgischer und chemotherapeutischer (Cisplatin) Behandlung erprobt. Daraufhin zeigten sich eine Abnahme der Schwellung der Lippe, eine deutlich verringerter Schmerzempfindlichkeit und eine Größenreduktion des regionalen Lymphknotens um ca. 50 %.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Dabei traten als Nebenwirkungen Koliken auf, die auf Piroxicam zurückgeführt wurden. Die Dosis wurde deshalb situationsabhängig reduziert. Die Behandlung dauerte von 1998 bis 2003 (80 mg Piroxicam p.o., verabreicht an jedem 2. oder 3. Tag). Während dieser Zeit war das Pferd gesund und zeigte keine Anzeichen eines Rezidivs (97). Der weitere Verlauf ist nicht bekannt.

Eine Aussage über die Effektivität einer Piroxicam-Behandlung beim PEK des Pferdes ist anhand des einzelnen Fallberichts nicht möglich.

#### Equines Myxom:

##### *Behandlung mit Levamisol:*

Mitte der 70er Jahre studierte man an 2 Pferden mit histologisch nachgewiesenem Myxom in der Maxillasinushöhle, die Wirkung von Levamisol in Kombination mit einer Kryotherapie (Nitrogen-Spray; Verabreichungsform: 4x im Abstand von 2 Tagen, 5 mg/kg).

Der Therapieverlauf war bei einem der beiden Pferde vom Auftreten bakterieller Sekundärinfektionen (*Pasteurella haemolytica* und *Pseudomonas sp.*) begleitet, die an Tag 170 nach der ersten Kryotherapie während einer Rhinolaryngoskopie festgestellt wurden. Diese Umstände erforderten eine zusätzliche antibiotische Versorgung.

Dennoch sprachen beide Pferde auf die Therapie an und waren nach 7 bzw. 8 Monaten wieder belastungsfähig und nutzbar (44).

#### Equines malignes Melanom:

##### *Behandlung mit Cimetidin:*

Drei Pferde mit histologisch nachgewiesenem Melanom wurden mit Cimetidin in einer Dosierung von 2,5 mg/kg (alle 8 Stunden p.o. verabreicht, über einen Zeitraum von mindestens 2 Monaten) behandelt (35).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### Historie:

- Das 1. Pferd wies 8 kleine Tumoren an der Unterseite der Schweifrübe auf. Die Tumoren hatten einen Durchmesser von 2 mm. Ein Tumor wurde chirurgisch entfernt. Nach 18 Monaten hatte das Pferd 10 Tumoren an der ventralen Schwanzwurzel, am Präputium, am Penis und am ventralen Abdomen. Die Tumoren hatten einen Durchmesser von 0,5 - 2,0 cm. Das Pferd wurde keiner Behandlung unterzogen. Nach 4 Jahren hatten sich die Tumoren kaum verändert. Jetzt wies das Pferd jedoch eine schmerzhafte, haarlose Stelle (Durchmesser: 2 cm) am Rücken auf. Nun wurde das Pferd mit Cimetidin behandelt.
- Das 2. Pferd wies zu Beginn der Behandlung 6 schwarze schnell wachsende Umfangsvermehrungen an der Unterseite der Schweifrübe auf. Diese Tumoren hatten einen Durchmesser von 0,4 - 2,0 cm. Des Weiteren wies das Pferd am Hals hunderte, diffus verteilte, kleine Tumoren auf, die einen Durchmesser von ca. 1 mm aufwiesen.
- Das 3. Pferd war bereits an 4 von 12 Tumoren (Lokalisation: linke Hinterhand) einer chirurgischen Exstirpation und einer kryotherapeutischen Behandlung unterzogen worden. Nach 1 Jahr wurden an der gleichen Lokalisation nun 32 Tumoren festgestellt. Des Weiteren hatte das Pferd nun 6 Tumoren am linken oberen Augenlid und einen Tumor auf dem Rücken. Daraufhin wurden alle Tumoren kryotherapeutisch behandelt. Nach weiteren 6 Monaten traten die Tumoren in der gleichen Anzahl und Lokalisation wieder auf. Nun wurde das Pferd mit Cimetidin behandelt.

#### Ergebnisse:

- 1. Pferd: 3 von 8 Tumoren (38 %) an der Schwanzwurzel waren nach 4 Wochen verschwunden. Die restlichen 5 Tumoren waren auf  $\frac{2}{3}$  der ursprünglichen Tumorgroße geschrumpft. Die ehemals haarlose Stelle am Rücken wies ein erneutes Haarwachstum auf und hatte sich auf  $\frac{2}{3}$  der ursprünglichen Fläche verkleinert. Nach weiteren 2 Monaten war die Stelle am Rücken restlos abgeheilt. Die Anzahl der Tumoren an der Schwanzwurzel war verringert und die Größe auf die Hälfte der

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

ursprünglichen Tumorgröße reduziert. Die restlichen Tumoren zeigten sich unverändert.

- 2. Pferd: Nach 8 Wochen waren die Tumoren am Hals nicht mehr erkennbar. Die 6 Tumoren an der Unterseite der Schweifrübe waren um 19 % der ursprünglichen Tumormasse verkleinert. Nach 4 Monaten hatten sich diese Tumoren auf  $\frac{1}{2}$  der ursprünglichen Tumormasse verkleinert. Nach der Therapie wies das Pferd über einen Zeitraum von 2,6 Jahren keine neuen Tumoren auf und die behandelten Tumoren veränderten sich nicht.
- 3. Pferd: Während der ersten beiden Behandlungswochen begannen die Tumoren langsam an Größe zu verlieren. In weiteren 2 Monaten gingen die Tumoren weiterhin zurück. Nach einem weiteren Monat wurde die Dosis auf 2x täglich und nach wieder 2 Monaten auf 1x täglich reduziert, da sich das Allgemeinbefinden während der Behandlung als reduziert zeigte. Diese Dosierung wurde 7 Monate lang beibehalten. Dann wurde auf Ranitidin (0,6 mg/kg, 1x täglich p.o.) umgestellt. In den nächsten 5 Monaten nahmen die Tumoren wieder an Größe zu. Demnach wurde wieder Cimetidin (1,6 mg/kg, 1x täglich p.o.) verabreicht und die Tumoren wurden wieder kleiner.

Eine Aussage über die Effektivität einer Cimetidin-Behandlung beim malignen Melanom des Pferdes ist anhand von drei einzelnen Fallberichten jedoch nicht möglich.

#### 8.2.4 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes

**Tab. 24: die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Rindes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>okuläres Plattenepithelkarzinom</b>	BCG (Lebendvakzine, Zellwand-Vakzine)	61, 59, 127
<b>Vulva-Papillom/Karzinom-Komplex</b>	BCG-Lebendvakzine	42

*Legende:*  
BCG = Bazillus Calmette-Guérin

##### *Bovines okuläres Plattenepithelkarzinom (BOSCC):*

Das bovine okuläre Plattenepithelkarzinom (BOSCC; „*bovine ocular squamous cell carcinoma*“) neigt zu lokal destruktivem Wachstum und zu einer Metastasierung in regionale Lymphknoten und Lunge (lymphogen und hämatogen) (126, 59).

##### *Behandlung mit BCG:*

In einer prospektiven randomisierten Studie wurden 30 Rinder unterschiedlicher Rassen und Alters mit histologisch nachgewiesenem BOSCC mit einer wiederholt intratumoral applizierten BCG-Lebendvakzine ( $5 \times 10^7$  Partikel/ml) oder BCG-Zellwand-Vakzine (3 mg BCG-Zellwand/ml) behandelt (127). Die viermalige intratumorale Injektion erfolgte an Tag 0, 14, 35 und 56. Je nach Tumorgöße wurde eine Menge von 2 - 4 ml injiziert.

Nach der Behandlung konnte nur eine leichte Schwellung des Tumors registriert werden. Körpertemperatur, Appetit und Blutparameter blieben unbeeinflusst.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

1. Gruppe (14 Rinder): Behandlung mit einer BCG-Lebendvakzine
  - 9 von 14 Rindern (64 %) zeigten eine komplette Remission (CR) des Tumors.
  - 1 von 9 Rindern (11 %) mit CR wies nach 17 Monaten Metastasen auf.
  - 8 von 14 Rindern (57 %) wurden nach Ablauf von 2 Jahren als tumorfrei eingestuft.
  - Die Tumoren von 3 Rindern (21 %) blieben über einen Zeitraum von 6 Monaten gleich groß, nahmen aber dann wieder deutlich an Größe zu.
  - 2 von 14 Rindern (14 %) sprachen auf die Therapie nicht an.
  
2. Gruppe (16 Kontroll-Rinder): Behandlung mit einer BCG-Zellwand-Vakzine
  - 9 von 16 Rindern (56 %) zeigten eine CR.
  - 1 von 9 Rindern (11 %) mit CR entwickelte nach 20 Monaten einen neuen Tumor am gleichen Auge, jedoch an einer anderen Stelle.
  - 6 von 16 Rindern (37 %) galten nach Ablauf von 2 Jahren als tumorfrei.
  - 4 von 16 Rindern (25 %) zeigten eine PR. Ein Rind mit PR zeigte nach 6 - 10 Monaten ein Tumorwachstum (dieses Tier wurde wieder behandelt, zeigte aber weiterhin ein progressives Tumorwachstum; die Therapie wurde nach einer Injektion eingestellt).
  - 3 von 16 Rindern (19 %) sprachen auf die Therapie nicht an.

Im Vorfeld der Behandlung wurden alle Rinder auf eine DTH („*delayed-type-hypersensitivity*“) gegenüber gereinigten Protein-Derivaten (PPD) getestet (Hautreaktion). Alle Tiere waren zu diesem Zeitpunkt negativ. Sechs Monate nach der Behandlung mit BCG wurden die Rinder noch einmal getestet. Bei den Tieren, welche ein progressives Tumorwachstum aufwiesen, dokumentierte man eine schnellere Abnahme der PDD-Antwort im Vergleich zu den Rindern mit CR (127).

Hinsichtlich der Effektivität beider Präparate konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Metastasen traten bei 10 der 30 Rinder (33 %) auf, wobei allerdings die Häufigkeit bei den Tieren, welche nicht auf die Therapie ansprachen, signifikant höher lag (18 % zu 54 %,  $p < 0,01$ ).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Aus dieser Studie resultierte die Annahme, dass eine einmalig erfolgende Therapie (hier 4 Injektionen) zur Behandlung von BOSCC genügt. Rinder mit günstiger Prognose zeigten eine positive PPD-Hautreaktion. Demnach wurde bei diesen Tieren eine lang anhaltende DTH gegenüber BCG vermutet (59, 127). Dennoch ist dies, so war man der Meinung, nicht als prognostischer Parameter verwendbar. Diskutiert wurde allerdings, dass dieses lang anhaltende immunologische Gedächtnis einen Indikator für eine gesteigerte Immunitätslage zum Zeitpunkt der BCG-Therapie darstellt, da vermutet wurde, dass die Verfassung des Immunsystems zum Zeitpunkt der Immunisierung ausschlaggebend für den Erfolg einer BCG-Therapie sei. Es könnte sich hierbei um eine Reaktion handeln, welche sich aus der Entwicklung eines immunologischen Gedächtnisses gegenüber BCG, aber auch gegenüber Tumorantigenen, ergibt. Man überlegte, dass dies anfangs durch die Abwehr des Immunsystems gegenüber BCG hervorgerufen wird. Anschließend veranlasst es, dass in der Nachbarschaft vorhandene Tumorzellen von nun sezernierten toxischen Molekülen (aus zytotoxischen T-Lymphozyten, zytotoxischen Makrophagen) abgetötet werden. Die abgetöteten Tumorzellen werden phagozytiert. Daher folgerte man, dass dies auf einer auf T-Zellen gerichteten Antigenpräsentation basiert, welche im Moment der BCG-Präsentation parallel dazu abläuft. So könnte die simultane Entwicklung einer Immunantwort gegenüber BCG und tumor-assoziierten Antigenen erklärbar sein (59).

Im Falle eines Rezidivs wurde eine weitere Therapie als nicht sinnvoll beurteilt, da danach eher eine Wachstumsprogression als eine Regression des Tumors beobachtet werden konnte.

Man war der Meinung, dass sich eine Therapie mit einer BCG-Lebendvakzine eventuell besser für die Behandlung des BOSCC eigne, da hier eine CR-Rate von 57 % erzielt wurde. Unter Verwendung der BCG-Zellwand-Vakzine wurde nur eine CR-Rate von 37 % verzeichnet. Als signifikant wurde dies jedoch nicht angesehen (127).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

In einer anderen prospektiven Studie wurde anhand von 50 Rindern mit histologisch nachgewiesenem BOSCC die Wirksamkeit einer BCG-Zellwand-Vakzine (1,5 mg/ml intratumoral; ca. 0,25 ml/cm<sup>2</sup> Tumorfäche) untersucht (61). Weitere 79 Rinder dienten als Kontrolltiere.

Es wurden 5 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (50 Rinder): Behandlung mit der BCG-Zellwand-Vakzine;
2. Gruppe (27 Rinder): lokale chirurgische Exzision des Primärtumors;
3. Gruppe (10 Rinder): radikale chirurgische Exzision des Primärtumors und des regionalen Lymphknotens;
4. Gruppe (22 Rinder): keine Behandlung;
5. Gruppe (20 Rinder): Behandlung mit einem Placebo (unsachgemäß hergestellte BCG-Zellwand-Vakzine) in einer Dosierung von 1,5 mg/ml intratumoral (ca. 0,25 ml/cm<sup>2</sup> Tumorfäche BCG-Dosierung).

Die Tiere wurden wöchentlich im Zeitraum von 2,5 Jahren kontrolliert.

Ergebnisse:

1. Gruppe:
  - 13 von 50 Rindern (26 %) zeigten auch nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren eine komplette Remission (CR) des Tumors.
  - Die CR wurde in einem Zeitraum von 10 - 25 Wochen erlangt.
  - 2 von 50 Rindern (4 %) zeigten einen stabilen Krankheitsverlauf (SD).
  - 35 von 50 Rindern (70 %) zeigten ein progressives Tumorwachstum (PD), Metastasen oder wurden euthanasiert.
2. Gruppe:
  - 14 von 27 Rindern (52 %) waren auch nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren tumorfrei.
  - 13 von 27 Rindern (48 %) entwickelten Rezidive oder Metastasen.
3. Gruppe:
  - 10 von 10 Rindern (100 %) waren auch nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren tumorfrei (keine Rezidive und Metastasen).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

#### 4. Gruppe:

- 3 von 22 Rindern (14 %) zeigten nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren eine SD.
- 19 von 22 Rindern (86 %) zeigten eine PD oder Metastasen und wurden euthanasiert.

#### 5. Gruppe:

- 1 von 20 Rindern (5 %) war auch nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren tumorfrei.
- 1 von 20 Rindern (5 %) zeigte nach einer Beobachtungszeit von 2,5 Jahren eine SD.
- 18 von 20 Rindern (90 %) zeigten eine PD oder Metastasen und wurden euthanasiert.

In dieser Studie wurden anhand einer chirurgischen Exzision des Tumors die besten Therapieerfolge erzielt. Nach einem Beobachtungszeitraum von 2,5 Jahren konnten jedoch im Vergleich zur 4. und 5. Gruppe anhand der BCG-Zellwand-Vakzine deutlich höhere Remissionsraten erzielt werden. Diese Studie unterlag jedoch keiner Randomisierung. Daher kann diesen Studienergebnissen keine wissenschaftlich korrekte Beweiskraft zugesprochen werden.

#### *Boviner Vulva-Papillom/Karzinom-Komplex (BVP-C):*

##### *Behandlung mit BCG:*

Auch bei Rindern mit bovinem Vulva-Papillom/Karzinom-Komplex (BVP-C, „*bovine vulval papilloma-carcinoma*“) wurde die Wirkung von BCG untersucht. Durch UV-Licht induzierte Papillome der unpigmentierten Haut haben die Tendenz zu Karzinomen zu transformieren (42).

In einer prospektiven Studie wurde anhand von 30 Rindern mit unterschiedlichen Tumorstadien (plus 6 Kontrolltieren) die Wirkung einer BCG-Lebendvakzine ( $5 \times 10^7$  Partikel/ml, Verabreichungsmenge: 2,5 ml) erprobt.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

Die Injektion erfolgte viermal entweder intratumoral oder subkutan unter das Papillom (Tag 0, 14, 35 und 56). Den Kontrolltieren wurden 2,5 ml einer sterilen Salzlösung ebenfalls viermal verabreicht.

Ergebnisse:

- 15 von 30 Rindern (50 %) zeigten nach der Therapie eine CR des Tumors, wobei dies in erster Linie bei Rindern mit Tumoren höheren Grades (Stadium-IV: 9 von 13 Tieren (69 %); Stadium-V: 6 von 6 Tieren (100 %)) zu beobachten war.
- In Frühstadien wurde hingegen nur ein geringer Effekt erzielt (Stadium-I: 1 von 14 Rindern (7 %); Stadium-II: 2 von 14 Rindern (14 %); Stadium-III: 4 von 15 Rindern (26 %)). Dies wurde durch die geringe Antigenität und/oder einer abweichenden Zusammensetzung der Entzündungszellinfiltrate der im Frühstadium vorhandenen Papillome begründet.
- In der Kontrollgruppe konnte bei keinem der 6 Tiere (0 %) eine Tumorregression dokumentiert werden (42).

Die Ergebnisse dieser Studie sprechen dafür, dass es sich bei diesem Verfahren um eine gute Behandlungsmöglichkeit fortgeschrittener Papillomen und zur Prävention vor Karzinomen handelt. Eine statistische Signifikanz wurde nicht angegeben. Eine Randomisierung wurde nicht durchgeführt.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“ - Zusammenfassung

---

#### Zusammenfassung

Seit Jahrzehnten wird verschiedenen Substanzen eine immunmodulatorische Wirksamkeit zugesprochen. Hierzu zählt man intakte Organismen (BCG; *C. parvum*; *S. marescens*; *S. pyogenes*), mikrobielle Zellwand-Fractionen (BCG-Zellwand), mikrobielle Substanzen (PIND-ORF), Galaktomannan (Acemannan), synthetische Produkte (Muramyl-dipeptid (MDP), Muramyl-tripeptid (MTP), Lipopolysaccharid (LPS)), aber auch bestimmte pharmakologische Wirkstoffe (Levamisol; Piroxicam/Meloxicam/Deracoxib; Cimetidin) (54).

Folgende solide Tumoren des **Hundes** versuchte man anhand dieser Präparate zu therapieren:

**Tab. 25: Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Hundes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes orales Melanom</b>	<i>C. parvum</i> ; L-MTP-PE (plus GM-CSF); Piroxicam/Cisplatin	81, 73 80 10
<b>orales Plattenepithelkarzinom</b>	Piroxicam; Piroxicam/Cisplatin	10, 131
<b>Fibrosarkom</b>	Acemannan; <i>C. parvum</i> , bakterielle Mischvakzine, evtl. plus Chemotherapie	56 93, 14
<b>Mammatumor</b>	L-MTP-PE; BCG, <i>C. parvum</i> , Levamisol, PIND-ORF, Piroxicam	141 109, 74, 6, 64
<b>Mastzelltumor</b>	<i>C. parvum</i>	93
<b>malignes Hämangioperizytom</b>	<i>C. parvum</i>	93
<b>Hämangiosarkom der Milz</b>	L-MTP-PE (plus Splenektomie und Cisplatin)	14, 78, 146

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“ - Zusammenfassung

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>Osteosarkom der Gliedmaße</b>	L-MTP-PE (plus Amputation und Cisplatin); BCG	79, 60, 69, 73, 78 106
<b>Harnblasenepithelkarzinom</b>	Piroxicam; Piroxicam/Cisplatin; Piroxicam/Mitoxantron	64, 66 63, 94 40, 115
<b>Sticker-Sarkom</b>	BCG; Piroxicam	41 64
<b>(malignes Lymphom</b>	Levamisol; Piroxicam/Doxorubicin; bakterielle Mischvakzine	99 75 73)

*Legende:*

L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin;  
GM-CSF = Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; *C. parvum* =  
*Corynebacterium parvum*; BCG = Bazillus Calmette-Guérin; ( ) = kein solider Tumortyp

Zudem wurde die Wirksamkeit dieser Substanzen an folgenden soliden Tumoren der **Katze** dem eingehend erforscht:

**Tab. 26: Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren der Katze**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>Fibrosarkom</b>	Acemannan	56
<b>Mamma-Adenokarzinom</b>	L-MTP-PE (Stadium-II vs. Stadium-III); Levamisol, BCG, <i>C. parvum</i> , bakterielle Mischvakzine	32 76, 93, 128, 32

*Legende:*

L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin;  
BCG = Bazillus Calmette-Guérin; *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*;

## Schrifttum

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“ - Zusammenfassung

---

Ein Therapieeffekt konnte auch beim **Pferd** an folgenden soliden Tumoren beobachtet werden:

**Tab. 27: Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Pferdes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
equines Sarkoid	BCG; PIND-ORF	58, 147 139
mukokutanes Plattenepithelkarzinom (inkl. Metastasen)	BCG; Piroxicam	86 97
Myxom	Levamisol	44
malignes Melanom	Cimetidin	35

*Legende:*

BCG = Bazillus Calmette-Guérin ; PIND-ORF = Wirkstoff: inaktiviertes *Parapox ovis*-Virus

Des Weiteren konnte auch bei soliden Tumoren des **Rindes** eine Wirksamkeit dieser Substanzen dokumentiert werden:

**Tab. 28: Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Rindes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
okuläres Plattenepithelkarzinom	BCG (Lebendvakzine, Zellwand-Vakzine)	61, 59, 127
Vulva-Papillom/Karzinom-Komplex	BCG-Lebendvakzine	42

*Legende:*

BCG = Bazillus Calmette-Guérin

# Quellenverzeichnis

## Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Abe, Y., S. Sekiya, T. Yamasita, F. Sendo;** Vascular hyperpermeability induced by tumor necrosis factor and its augmentation by IL-1 and IFN- $\gamma$  is inhibited by selective depletion of neutrophils with a monoclonal antibody. *J. Immunol.*, 1990, 145: 2902-2907.
- 2 **Baker, J.R., A. Leyland;** Histological survey of tumours of the horse, with particular references to those of the skin. *Vet. Rec.*, 1975, 96: 419-422.
- 3 **Baldwin, R.W.;** Mechanisms of immunity in cancer. *Pathobiol. Annu.*, 1981, 11: 155.
- 4 **Bast, R.C., B.S. Bast, H.J. Rapp;** Critical review of previously reported animal studies of tumor immunotherapy with non-specific immunostimulants. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1976, 277: 60.
- 5 **Beam, S.L., K.M. Rassnick, A.S. Moore, S.P. McDonough;** An immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 expression in various feline neoplasms. *Vet. Pathol.*, 2003, 40: 496-500.
- 6 **Berg, G.;** Der Einsatz von Baypamun HK in der Mammatumorbehandlung der Hündin. *Vet. Med. Diss.*, München, 1994.
- 7 **Bomford, R.;** An analysis of the factors allowing promotion rather than inhibition of tumor growth by *Corynebacterium parvum*. *Int. J. Cancer*, 1977, 19: 673.
- 8 **Bomford, R., G.H. Christie;** Mechanisms of macrophage activation by *Corynebacterium parvum*. II. In vivo experiments. *Cell. Immunol.*, 1975, 17: 150-155.
- 9 **Borgstrom, S., F.E. Eyben von, P. Flodgren, B. Axelsson, H.O. Sjogren;** Human leukocyte interferon and cimetidine for metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 1982, 307: 1080-1081.
- 10 **Boria, P.A., D.J. Murry, P.F. Bennett, N.W. Glickman, P.W. Snyder, B.L. Merkel, D.L. Schlittler, A.J. Mutsaers, R.M. Thomas, D.W. Knapp;** Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 2004, 224(3): 388-394.
- 11 **Bostock, D.E., M.T. Dye;** Prognosis after surgical excision of canine fibrous connective tissue sarcomas. *Vet. Pathol.*, 1980, 17: 581-588.
- 12 **Bostock, D.E., N. Gorman;** Intravenous BCG therapy on mammary carcinoma in bitches after surgical excision of the primary tumor. *Eur. J. Cancer*, 1978, 14: 879-883.
- 13 **Brandau, S., H. Suttman, J. Riemensberger, U. Seitzer, J. Arnold, C. Durek, D. Jocham, H.-D. Flad, A. Böhle;** Perforin-mediated lysis of tumor cells by *Mycobacterium bovis* *Bacillus Calmette-Guérin*-activated killer cells. *Clin. Cancer Res.*, Sept. 2000, 6: 3729-3738.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 14 **Brown, N.O., A.K. Patnaik, E.G. MacEwen;** Canine hemangiosarcoma: Retrospective analysis of 104 cases. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1985, 186: 56-58.
- 15 **Brunda, M.J., R.B. Herberman, H.T. Holden;** Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins. J. Immunol., 1980, 124: 2682-2687.
- 16 **Call, T.G., E.T. Creagan, S. Frytak, J.C. Buckner, C. van Haelst-Pisani, H.A. Homburger, J.A. Katzmann;** Phase I trial of combined recombinant interleukin-2 with levamisole in patients with advanced malignant disease. Am. J. Clin. Oncol., Aug. 1994, 17(4): 344-347.
- 17 **Castelao, J.E., J.M. Yuan, M. Gago-Dominguez, M.C. Yu, R.K. Ross;** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention. Br. J. Cancer, 1999, 82: 1364-1369.
- 18 **Cheadle, E.J., D. O'Donnell, P.J. Selby, A.M. Jackson;** Closely related mycobacterial strains demonstrate contrasting levels of efficacy as antitumor vaccines and are processed for major histocompatibility complex class I presentation by multiple routes in dendritic cells. Infect. Immun., Feb. 2005, 73(2): 784-794.
- 19 **Chinnah, A.D., M. Baig, I.R. Tizard, M.C. Kemp;** Antigen dependent adjuvant activity of a polydispersed b-(1,4)-linked acetylated mannan (acemannan). Vaccine, 1992, 10: 551-558.
- 20 **Christie, G.H., R. Bomford;** Mechanisms of macrophage activation by *Corynebacterium parvum*. I. In vitro experiments. Cell. Immunol., 1975, 17: 141-149.
- 21 **Cooper, A.M., J.L. Flynn;** The protective immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. Curr. Opin. Immunol., 1995, 7: 512-516.
- 22 **Dore, M., I. Lanthier, J. Sirois;** Cyclooxygenase-2 expression in canine mammary tumors. Vet. Pathol., 2003, 40: 207-212.
- 23 **Dugan, S.J.;** Ocular neoplasia. Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 1992, 8: 609.
- 24 **Dugan, S.J., C.R. Curtis, S.M. Roberts, G.A. Severin;** Epidemiologic study of ocular/adnexal squamous cell carcinoma in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1991, 198: 251-256.
- 25 **Dye, E.S., R.J. North, C.D. Mills;** Mechanisms of anti-tumor action of *Corynebacterium parvum*: I. potentiated tumor-specific immunity and its therapeutic limitations. J. Exp. Med., Sept. 1981, 154: 609-620.
- 26 **Fadok, V.A.;** Overview of equine papular and nodular dermatoses. Vet. Clin. North Am. Equine Pract., 1995, 11: 61.
- 27 **Fenton, M.A., T.J. Yang;** Role of humoral immunity in progressive and regressive and metastatic growth of the canine transmissible venereal sarcoma. Oncology, 1988, 45: 210-213.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 28 **Fidler, I.J.**; Optimization and limitations of systemic treatment of murine melanoma metastases with liposomes containing muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 21: 169-173.
- 29 **Fidler, I.J., S. Sone, W.E. Fogler, Z.L. Barnes**; Eradication of spontaneous metastases and activation of alveolar macrophages by intravenous injection of liposomes containing muramyl dipeptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78: 1680-1684.
- 30 **Fogler, W.E., R. Wade, D.E. Brundish, I.J. Fidler**; Distribution and fate of free and liposome-encapsulated (3H)nor-muramyl dipeptide and (3H)nor-muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine in mice. *J. Immunol.*, 1985, 135: 1372.
- 31 **Fosslien, E.**; Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2000, 30: 3-21.
- 32 **Fox, L.E., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, D.M. Vail, W. Kisseberth, C. London, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., K.A. Jeglum, M. Rosenberg, R.C. Rosenthal**; Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine for the treatment of feline mammary adenocarcinoma - a multicenter randomized double-blind study. *Cancer Biother.*, 1995, 10(2): 125-130.
- 33 **Freund, J.**; The mode of action of immunologic adjuvants. *Bibl. Tuberc.*, 1956, 5: 130-148.
- 34 **Gifford, R.R., R.M. Ferguson, B.V. Voes**; Cimetidine reduction of tumor formation in mice. *Lancet*, 1981, 1: 638-640.
- 35 **Goetz, T.E., G.K. Oglivie, K.G. Keegan, P.J. Johnson**; Cimetidine for treatment of melanomas in three horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 1990, 196(3): 449-452.
- 36 **Goodnight, J.E., L.M. Donald**; Immunotherapy for malignant disease. *Am. Rev. Med.*, 1978, 29: 231.
- 37 **Hammer, A.S., C.G. Couto, J. Filippi, D. Getzy, K. Shank**; Efficacy and toxicity of VAC chemotherapy in dogs with hemangiosarcoma. *J. Vet. Intern. Med.*, 1991, 5: 160-166.
- 38 **Harth, G., S. Masleša-Galić, M.A. Horwitz**; A two-plasmid system for stable, selective-pressure-independent expression of multiple extracellular proteins in mycobacteria. *Microbiology*, 2004, 150, 2143-2151.
- 39 **Hartmann, K., A. Block, G. Ferk, B. Beer, A. Vollmar, H. Lutz**; Treatment of feline leukemia virus (FeLV) infektion. *Vet. Microbiol.*, Sept. 1999, 69 (1- 2): 111-113.
- 40 **Henry, C.J., D.L. McCaw, S.E. Turnquist, J.W. Tyler, L. Bravo, S. Sheafor, R.C. Straw, W.S. Dernell, B.R. Madewell, L. Jorgensen, M.A. Scott, M.L. Higginbotham, R. Chun**; Clinical evaluation of mitoxantron and piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, Feb. 2003, 9: 960-911.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 41 **Hess, A.D., R. Catchatourian, A.R. Zander, R.B. Ebstein;** Intralesional *Bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy of canine venereal tumors. *Cancer Res.*, Nov. 1977, 37: 3990-3994.
- 42 **Hill, F.W., V.P.M.G. Rutten, M.H. Hoyer, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber;** Local bacillus Calmette-Guerin therapy for bovine vulval papilloma and carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1994, 39(1): 49-52.
- 43 **Holcombe, R.F., R.M. Stewart, K.W. Betzing, K. Kannan;** Alteration in lymphocyte phenotype associated with administration of adjuvant levamisole and 5-fluorouracil. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1994, 34: 394.
- 44 **House, P.D., R.K. Farrell, B.D. Grant, B.C. Ward;** Cryogenic and immunotherapeutic treatment of myxoma in the horse. *Can. Vet. J.*, Aug. 1976, 17(8): 216-219.
- 45 **Hovav, A.-H., J. Mullerad, L. Davidovitch, Y. Fishman, F. Bigi, A. Cataldi, H. Bercovier;** The *Mycobacterium tuberculosis* recombinant 27-Kilodalton lipoprotein induces a strong Th1-Type immune response deleterious to protection. *Infect. Immun.*, June 2003, 71(6): 3146-3154.
- 46 **Imir, T., W. Sibbit, A. Bankhurst;** The relative resistance of lymphokine activated killer cells to suppression by prostaglandins and glucocorticoids. *Prostaglandins Leukot. Med.*, 1987, 28: 111-118.
- 47 **Institut für Veterinärpharmakologie und -toxikologie;** Winterthurerstrasse 260, 8057 Zürich, Schweiz, ©2006.
- 48 **Jacobs, W.R., Jr., M. Tuckman, B.R. Bloom;** Introduction of foreign DNA into mycobacteria using a shuttle plasmid. *Nature*, 1987, 327: 532-535.
- 49 **Janik, J., W.C. Kopp, J.W. Smith, K.L. Longo, G. Alvord, W.H. Sharfman, R.G. Fenton, M. Sznol, R.G. Steis, S.P. Creekmore, C.H. Ewel, J. Hursey, W.J. Urba;** Dose-related immunologic effects of levamisole in patients with cancer. *J. Clin. Oncol.*, 1993, 11: 125.
- 50 **Jiao, X., R. Lo-Man, P. Guermonprez, L. Fiette, E. Deriaud, S. Burgaud, B. Gicquel, N. Winter, C. Leclerc;** Dendritic cells are host cells for mycobacteria in vivo that trigger innate and acquired immunity. *J. Immunol.*, 2002, 168: 1294-1301.
- 51 **Jin, Z., A. Kumar, R.P. Cleveland, D.L. Murray, D.B. Kaufman;** Inhibition of suppressor cell function by cimetidine in a murine model. *Clin. Immunol. Immunopath.*, March 1986, 38(3): 350-356.
- 52 **Jungi, T.W., M. Brcic, S. Peron;** Human macrophages respond to LPS in a serum-independent, CD14-dependent manner. *Immunol. Lett.*, 1996, 54: 37.
- 53 **Kahn, K.N., D.W. Knapp, D.B. DeNicola, R.K. Harris;** Expression of cyclooxygenase-2 in transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 2000, 61: 478-481.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 54 **Kessler, M.;** In: Kessler, M. (Hrsg.); Kleintieronkologie - Diagnose und Therapie von Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen, Prinzipien der Immunotherapie; 2. Auflage © 2005 Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co.KG., S. 163-172.
- 55 **Kiener, P.A., F. Marek, G. Rodgers, P.F. Lin, G. Warr, J. Desiderio;** Induction of tumor necrosis factor, IFN-gamma, and acute lethality in mice by toxic and non-toxic forms of lipid A. J. Immunol., 1988, 141: 870.
- 56 **King, G.K., K.M. Yates, P.G. Greenlee, K.R. Pierce, C.R. Ford, B.H. McAnalley, I.R. Tizard;** The effect of Acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcoma; J. Am. Anim. Hosp. Assoc., Sept./Oct. 1995, 31: 439-447.
- 57 **Kirschning, C.J., H. Wesche, T.M. Ayres, M. Rothe;** Human Toll-like Receptor 2 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharide. J. Exp. Med., 1998, 188: 2091.
- 58 **Klein, W.R., G.E. Bras, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. de Jong, R.H. Tiesjema, A.W. Kersjes, E.J. Ruitenber;** Equine sarcoid: BCG immunotherapy compared to cryosurgery in a prospective randomised clinical trial. Cancer Immunol. Immunother., 1986, 21(2): 133-140.
- 59 **Klein, W.R., P.A. Steerenberg, F. Poelma, E. v.d. Wiel, V.P.M.G. Rutten, W. Misdorp, W.H. de Jong, E.J. Ruitenber;** Immune reactivity in cattle with ocular squamous cell carcinoma after intralesional BCG immunotherapy. Cancer Immunol. Immunother., 1986, 22(2): 87-94.
- 60 **Kleinerman, E.S., A.K. Raymond, C.D. Bucana, N. Jaffe, M.B. Harris, I.H. Krakoff, R. Benjamin, I.J. Fidler;** Unique histological changes in lung metastases of osteosarcoma patients following therapy with liposomal muramyl tripeptide (CPG 19835 A lipid). Cancer Immunol. Immunother., 1992, 34: 211-220.
- 61 **Kleinschuster, S.J., J. Bier, H.J. Rapp, R.A. Smart, K.R. Van Kampen, J.L. Walters;** Intratumoral BCG cell wall preparation therapy and surgery in bovine ocular carcinoma. Head Neck Surg., May-June 1983, 5(5): 401-409.
- 62 **Klimp, A.H., E.G. de Vries, G.L. Scherphof, T. Daemen;** A potential role of macrophage activation in the treatment of cancer. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 2002; 44(2): 143-161.
- 63 **Knapp, D.W., N.W. Glickman, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, L.G. Adams, T. Kuczek, P.L. Bonney, A.E. DeGortari, C. Han, L.T. Glickman;** Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. Cancer Chemother. Pharmacol., 2000, 46(3): 221-226.
- 64 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, G.D. Bottoms, R. Teclaw, T.C. Chan;** Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. Cancer Chemother. Pharmacol., 1992, 29(3): 214-218.
- 65 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, P.L. Bonney, K. Hahn;** Cisplatin therapy in 41 dogs with malignant tumors. J. Vet. Intern. Med., 1988, 2: 41-46.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 66 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, T.C.K. Chan, G.D. Bottoms, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, R. Teclaw, P.L. Bonney, T. Kuczek;** Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, 8(4): 273-278.
- 67 **Knottenbelt, D.C., D.F. Kelly;** The diagnosis and treatment of periorbital sarcoid in the horse: 445 cases from 1974 to 1999. *Vet. Ophthalmol.*, 2000, 3: 169.
- 68 **Komáromy, A.M., S.E. Andrew, D.E. Brooks, C.J. Detrisac, K.N. Gelatt;** Periocular sarcoid in a horse. *Vet. Ophthalmol.*, May 2004, 7(3): 141.
- 69 **Kurzman, I.D., E.G. MacEwen, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, S.C. Helfand, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Obradovich, J. Fidel, M. Rosenberg;** Adjuvant therapy for osteosarcoma in dogs: results of randomized clinical trials using combined liposome-encapsulated muramyl tripeptide and cisplatin. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1995, 1(12): 1595-1601.
- 70 **Lascelles, B.D.X., A.T. Blikslager, S.M. Fox, D. Reece;** Gastrointestinal tract perforation in dogs treated with a selective cyclooxygenase-2 inhibitor: 29 cases (2002-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Oct. 2005, 227(7): 1112-1117.
- 71 **Lee, C.F., S.Y. Chang, D.S. Hsieh, D.S. Yu;** Immunotherapy for bladder cancer using recombinant bacillus Calmette-Guérin DNA vaccines and interleukin-12 DNA vaccine. *J. Urol.*, March 2004, 171(3): 1343-1347.
- 72 **Lee, J.K., M.K. Lee, Y.P. Yun, Y. Kim, J.S. Kim, Y.S. Kim, K. Kim, S.S. Han, C.K. Lee;** Acemannan purified from Aloe vera induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *Int. Immunopharmacol.*, July 2001; 1(7): 1275-1284.
- 73 **MacEwen, E.G.;** Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer Metastasis Rev.*, 1990, 9: 125-136.
- 74 **MacEwen, E.G., H.J. Harvey, A.K. Patnaik, S. Mooney, A. Hayes, I. Kurzman, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 418-426.
- 75 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, I.D. Kurzman;** Levamisole as adjuvant to chemotherapy for canine lymphosarcoma. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 427-433.
- 76 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, H.J. Harvey, S. Passe, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effect of levamisole on feline mammary cancer. *J. Biol. Response Modif.*, Oct. 1984, 3(5): 541-546.
- 77 **MacEwen, E.G., S.C. Helfand;** Immunology and biologic therapy of cancer. In: Withrow, S.J., E.G. MacEwen (Hrsg.): *Small Animal Clinical Oncology*. 2. Ausgabe, W.B. Saunders Co, Philadelphia 1996, pp. 99-116.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 78 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, S. Helfand, D. Vail, C. London, W. Kisseberth, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, J. Obradovich, B. Madewell, C. Rodriguez, B. Kitchell, J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Current studies of liposome muramyl tripeptide (CGP 19835A lipid) therapy for metastasis in spontaneous tumors: a progress review. *J. Drug Target*, 1994, 2(5): 391-396.
- 79 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, R.C. Rosenthal, B.W. Smith, P.A. Manley, J.K. Roush, P.E. Howard;** Therapy for osteosarcoma in dogs with intravenous injection of liposome-encapsulated muramyl tripeptide. *J. Natl. Cancer Inst.*, June 1989, 81(12): 935-938.
- 80 **MacEwen, E. G., I.D. Kurzman, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, K. Everlith, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., B. Phillips, C.H. Zwahlen, J. Obradovich, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, M. Rosenberg, C. Henry, J. Fidel;** Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1999, 5: 4249-4258.
- 81 **MacEwen, E.G., A.K. Patnaik, H.J. Harvey, A.A. Hayes, R. Matus;** Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.*, 1986, 4(5):397-402.
- 82 **Marshall, G.D., J.P. Druck;** *In vitro* stimulation of NK activity by acemannan (ACM). *J. Immunol.*, 1993, 150(8):1381.
- 83 **Marshall, G.D., A.S. Gibbone, L.S. Parnell;** Human cytokines induced by acemannan. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 91(1): 295.
- 84 **Martens, A., A. De Moor, L. Vlamincx, F. Pille, M. Steenhaut;** Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. *Vet. Rec.*, Dec. 2001, pp. 665-669.
- 85 **Marti, E., S. Lazary, D.F. Antczak, H. Gerber;** Report of the first international workshop on equine sarcoid. *Equine Vet. J.*, Sept. 1993, 25(5): 397-407.
- 86 **McCalla, T.L., C.P. Moore, L.L. Collier;** Immunotherapy of periocular squamous cell carcinoma with metastasis in a pony. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 1992, 200(11): 1678-1681.
- 87 **McChesney, S.L., E.L. Gillette, M.W. Dewhurst, S.J. Withrow, B.E. Powers;** Radiotherapy of soft tissue sarcomas in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1989, 194: 60-63.
- 88 **McEntee, M.F., J.M. Cates, N. Neilsen;** Cyclooxygenase-2 expression in spontaneous intestinal neoplasia of domestic dogs. *Vet. Pathol.*, 2002, 39: 428-436.
- 89 **Measel, J., D. Denham;** The effect of Carrisyn on the immune system. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J. 2: Abstract*, 1988; 2239.
- 90 **Meleo, K.A., G.N. Mauldin;** Post-operative radiotherapy for the treatment of fibrosarcomas in 9 cats. *Proceed. Vet. Can. Society*, 1994, pp. 127-128.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 91 **Milas, L., M.T. Scott;** Antitumor activity of *Corynebacterium parvum*. Adv. Cancer Res., 1978, 26: 257.
- 92 **Mills, C.D., R.J. North, E.S. Dye;** Mechanisms of anti-tumor action of *Corynebacterium parvum*: II. Potentiated cytolytic T cell response and its tumor-induced suppression. J. Exp. Med., Sept. 1981, 154: 621-630.
- 93 **Misdorp, W.;** Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumor types in dogs and cats. Vet. Q., July 1987, 9(3): 279-286.
- 94 **Mohammed, S.I., B.A. Craig, A.J. Mutsaers, N.W. Glickman, P.W. Snyder, A.E. deGortari, D.L. Schlittler, K.T. Coffman, P.L. Bonney, D.W. Knapp;** Effects of the cyclooxygenase inhibitor, Piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. Mol. Cancer Ther., Feb. 2003, 2: 183-188.
- 95 **Mohammed, S.I., D.W. Knapp, D.G. Bostwick, R.S. Foster, K.N. Kahn, J.L. Masferrer, P.M. Woerner, P.W. Snyder, A.T. Koki;** Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. Cancer Res., 1999, 59: 5647-5650.
- 96 **Moore, M.;** Antigens of experimentally induced neoplasms. A conspectus. In: Castro, J.E. (Hrsg.); Immunological aspects of cancer. MTP Press, Lancaster, England, 1978, pp. 15-20.
- 97 **Moore, A.S., S.L. Beam, K.M. Rassnick, P. Provost;** Long-term control of mucocutaneous squamous cell carcinoma and metastases in a horse using piroxicam. Equine Vet. J., 2003, 35(7): 715-718.
- 98 **Mullins, M.N., S.E. Lana, W.S. Dernell, G.K. Oglivie, S.J. Withrow, E.J. Ehrhart;** Cyclooxygenase-2 expression in canine appendicular osteosarcoma; J. Vet. Intern. Med., Nov.-Dec. 2004, 18(6): 859-865.
- 99 **Mutsaers, A.J., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, W.R. Widmer, R.L. Bonney, K.A. Hahn, D.W. Knapp;** Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., June 2002, 220(12): 1813-1817.
- 100 **Mutsaers, A.J., S.I. Mohammed, D.B. DeNicola, P.W. Snyder, N.W. Glickman, P.F. Bennett, A.E. de Gortari, P.L. Bonney, D.W. Knapp;** Pretreatment tumor prostaglandin E2 concentration and cyclooxygenase-2 expression are not associated with the response of canine naturally occurring invasive urinary bladder cancer to cyclooxygenase inhibitor therapy. Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, March 2005, 72(3): 181-186.
- 101 **Ogilvie, G.K., H.A. Reynolds, R.C. Richardson, S.J. Withrow, A.M. Norris, R.A. Henderson, J.S. Klausner, J.D. Fowler, D. McCaw;** Phase II evaluation of doxorubicin for treatment of various canine neoplasms. J. Am. Vet. Med. Assoc., Dec. 1989, 195(11): 1580-1583.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 102 **Ogilvie, G.K., R.C. Straw, V.J. Jameson, L.M. Walters, M. Lafferty, B.E. Powers, S.E. Henkel, S.J. Withrow;** Prevalence of nephrotoxicosis associated with a four-hour saline solution diuresis protocol for the administration of cisplatin to dogs with naturally developing neoplasms. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993, 202: 1845-1848.
- 103 **O'Donnell, M.A., Y. Luo, X. Chen, A. Szilvasi, S.E. Hunter, S.K. Clinton;** Role of IL-12 in the induction and potentiation of IFN- $\gamma$  in response to *Bacillus Calmette-Guérin*. *J. Immunol.*, 1999, 163: 4246-4252.
- 104 **Osband, M.E., D. Hamilton, J.J. Shen, E. Cohen, M. Shlesinger, P. Lavin, A. Brown, R. McCaffrey;** Successful tumor immunotherapy with cimetidine in mice. *Lancet*, March 1981, 1(8221): 636-638.
- 105 **Owen, L.N.;** A comparative study of canine and human breast cancer. *Invest. Cell. Pathol.*, 1979, 2: 257.
- 106 **Owen, L.N., D.E. Bostock;** Effects of intravenous BCG in normal dogs and in dogs with spontaneous osteosarcoma. *Eur. J. Cancer*, 1974, 10: 775.
- 107 **Palker, T.J., T.J. Yang;** Identification and physicochemical characterization of a tumor-associated antigen from canine transmissible venereal sarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.*; 1981; 66: 779-787.
- 108 **Parhar, R.S., P.K. Lala;** Prostaglandin E<sub>2</sub>-mediated inactivation of various killer lymphocytes by tumor-bearing host macrophages. *J. Leukoc. Biol.*, 1988, 44: 474-484.
- 109 **Parodi, A.L., W. Misdorp, J.P. Mialot, M. Mialot, A.A.M. Hart, M. Hurtrel, J.C. Salomon;** Intratumoral BCG and *Corynebacterium parvum* therapy of canine mammary tumors before radical mastectomy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1983, 15(3):172-177.
- 110 **Paste, G., R. Kirsh, I.J. Fidler;** Cell surface receptors for lymphokines. *Cell Immunol.*, 1979, 44: 71-88.
- 111 **Pérez, J., E. Mozos, M.P. Martin, M.J. Day;** Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with equine squamous cell carcinoma. *J. comp. Pathol.*, 1999, 121: 385-397.
- 112 **Pestili de Almeida, E.M., C. Piche, J. Sirois, M. Dore;** Expression of cyclooxygenase-2 in naturally occurring squamous cell carcinomas in dogs. *J. Histochem. Cytochem.*, 2001, 49: 867-875.
- 113 **Pimm, M.V., R.W. Baldwin;** BCG therapy of pleural and peritoneal growth of transplanted rat tumors. *Int. J. Cancer*, 1975, 15: 260.
- 114 **Plumb, D.C.;** *Veterinary Drug Handbook*. PharmaVet. Publishing, White Bear Lake, MN 1991.
- 115 **Poirier, V.J., L.J. Forrest, W.M. Adams, D.M. Vail;** Piroxicam, mitoxantron, and coarse fraction radiotherapy for the treatment of transitional cell carcinoma of the bladder in 10 dogs: a pilot study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, March-April 2004, 40(2): 131-136.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 116 **Pugh, N., S.A. Ross, M.A. ElSohly, D.S. Pasco;** Characterization of Aloeride, a new high-molecular-weight polysaccharide from Aloe vera with potent immunostimulatory activity. *J. Agric. Food Chem.*, Feb. 2001; 49(2): 1030-1034.
- 117 **Ragland, W.L., G.H. Keown, G.R. Spencer;** Equine sarcoid. *Equine Vet. J.*, 1980, 2: 2.
- 118 **Ragland, W.L., G.R. Spencer;** Attempts to relate bovine papilloma virus to the cause of equine sarcoid: equidae inoculated intradermally with bovine papilloma virus. *Am. J. Vet. Res.*, May 1969, 30(5): 743-752.
- 119 **Ramamoorthy, L., I.R. Tizard;** Induction of apoptosis in a macrophage cell line RAW 264.7 by Acemannan, a  $\beta$ -(1,4)-acetylated mannan. *Mol. Pharmacol.*, 1998; 53: 415-421.
- 120 **Rayes, D., M.J. De Rosa, M. Bartos, C. Bouzat;** Molecular basis of the differential sensitivity of nematode and mammalian muscle to the anthelmintic agent Levamisole. *J. Biol. Chem.*, Aug. 2004, 279 (35): 36372-36381.
- 121 **Redondo, J.M., J.A. Lopex-Guerrero, M. Fresno;** Potentiation of interleukin-2 activity by levamisole and imidazole. *Immunol. Lett.*, 1987, 14: 111.
- 122 **Reina-San-Martin, B., A. Cosson, P. Minoprio;** Lymphocyte polyclonal activation: a pitfall for vaccine design against infectious agents. *Parasitol. Today*, 2000, 16: 62-67.
- 123 **Retzinger, G.S., S.C. Meredith, K. Takayama, R.L. Hunter, F.J. Kezdy;** The role of surface in the biological activities of trehalose 6,6'-dimycolate. Surface properties and development of a model system. *J. Biol. Chem.*, 1981, 256: 8208-8216.
- 124 **Rietschel, E.T., H. Brade;** Bacterial endotoxins. *Sci. Am.*, 1992, 267:54.
- 125 **Royals, S.R., J.P. Farese, R.J. Milner, L. Lee-Ambrose, J. van Gilder;** Investigations of the effects of deracoxib and piroxicam on the in vitro viability of osteosarcoma cells from dogs. *Am. J. Vet. Res.*, Nov. 2005, 66(11): 1961-1967.
- 126 **Russel, W.O., E.S. Wynne, G.S. Loquvam, D.A. Mehl;** Studies on bovine ocular squamous cell carcinoma ("Cancer eye"). *Cancer*, 1956, 9: 1-52.
- 127 **Rutten, V.P.M.G., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. De Jong, W. Den Otter, E.J. Ruitenber;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma by repeated intralesional injections of live bacillus Calmette-Guerin (BCG) or BCG cell walls. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1991, 34(3): 186-190.
- 128 **Rutten, V.P., W. Misdorp, A. Gauthier, M. Estrada, J.P. Mialot, A.L. Parodi, G.R. Rutteman, K. Weyer;** Immunological aspects of mammary tumors in dogs and cats: a survey including own studies and pertinent literature. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, Nov. 1990, 26(3): 211-225.

## Quellenverzeichnis

Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 129        **Sadler, T.E., J.E. Castro;** Abrogation of the antimetastatic activity of *C. parvum* by antilymphocyte serum. *Br. J. Cancer*, 1976, 34: 291-295.
- 130        **Sane, S., I.J. Fidler;** *In vitro* activation of tumoricidal properties in rat alveolar macrophages by synthetic muramyl dipeptide encapsulated in liposomes. *Cell Immunol.*, 1981, 57: 42-50.
- 131        **Schmidt, B.R., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, A.E. de Gortari, D.W. Knapp;** Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2001, 218(11): 1783-1786.
- 132        **Schroit, A.J., I.J. Fidler;** Effects of liposome structure and lipid composition on the activation of the tumoricidal properties of macrophages by liposomes containing muramyl dipeptide. *Cancer Res.*, 1982, 42: 161.
- 133        **Scott, M.T.;** Potentiation of the tumor specific immune response by *Corynebacterium parvum*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1975, 55: 65.
- 134        **Sljivic, V.S., S.R. Watson;** The adjuvant effect of *C. parvum*: T-cell dependence of macrophage activation. *J. Exp. Med.*, 1977, 145: 45-57.
- 135        **Soriano, A.F., B. Helfrich, D.C. Chan, L.E. Heasley, P.A. Bunn, Jr., T.C. Chou;** Synergistic effects of new chemopreventive agents and conventional cytotoxic agents against human lung cancer cell lines. *Cancer Res.*, 1999, 59: 6178-6184.
- 136        **Soslow, R.A., A.J. Dannenberg, D. Rush, B.M. Woerner, K.N. Kahn, J. Masferrer, A.T. Koki;** Cox-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer (Phila.)*, 2000, 89: 2637-2645.
- 137        **Spodnick, G.J., J. Berg, W.M. Rand;** Prognosis for dogs with appendicular osteosarcoma treated by amputation alone. 162 cases (1978 - 1988). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1992, 200: 995-999.
- 138        **Strafuss, A.C.;** Squamous cell carcinomas in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1976, 168: 61-62.
- 139        **Studer, U., E. Marti, D. Stornetta, S. Lazary, H. Gerber;** Zur Therapie des Equinen Sarkoids mit einem unspezifischen Immunstimulator - Beitrag zur Epidemiologie und zur spontanen Regression des Sarkoids. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1997, 139(9): 385-391.
- 140        **Teske, E., G.R. Rutteman, T.S.G.A.M.v.d. Ingh, R. Van Noort, W. Misdorp;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine (L-MTP-PE): a randomized clinical trial in dogs with mammary carcinoma. *Anticancer Res.*, March-April 1998, 18(2A): 1015-1019.
- 141        **Theilen, G.H., B.R. Madewell;** Immunotherapy. In: Theilen, G.H., B.R. Madewell (Hrsg.): *Veterinary Cancer Medicine*. Lea & Febiger, Philadelphia, 1979; pp. 113-120.
- 142        **Thun, M.J., S.J. Henley, C. Patrono;** Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2002, 94: 252-266.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 143 **Todoroff, R.J., R.S. Brodey;** Oral and pharyngeal neoplasia in the dog: a retrospective survey of 361 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, 175: 567-571.
- 144 **Tremblay, C., M. Dore, P.N. Bochsler, J. Sirois;** Induction of prostaglandin G/H synthase-2 in a canine model of spontaneous prostatic adenocarcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1999, 91: 1398-1403.
- 145 **Tuttle, R.L., R.J. North;** Mechanisms of anti-tumor action of *Corynebacterium parvum*: replicating short-lived T cells as the mediators of potentiated tumor-specific immunity. *J. Reticuloendothel. Soc.*, 1976, 20: 209.
- 146 **Vail, D.M., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, W.C. Kisseberth, C.A. London, J.E. Obradovich, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. *Clin. Cancer Res.*, Oct. 1995, 1(10): 1165-1170.
- 147 **Vanselow, B.A., I. Abetz, A.R. Jackson;** BCG emulsion immunotherapy of equine sarcoid. *Equine Vet. J.*, Nov. 1988, 20(6): 444-447.
- 148 **Watanabe, E., H. Matsuyama, K. Matsuda, C. Ohmi, Y. Tei, S. Yoshihiro, Y. Ohmoto, K. Naito;** Urinary interleukin-2 may predict clinical outcome of intravesical bacillus Calmette-Guérin immunotherapy for carcinoma in situ of the bladder. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2003, 52: 481-486.
- 149 **Watson, R.E., K.A. Larson;** Detection of tumor specific antigens in an equine sarcoid cell line. *Infect. Immun.*, 1974, 9: 714.
- 150 **Windle, R., P.R.F. Bell, D. Shaw;** Five year results of a randomized trial of adjuvant 5-fluorouracil and levamisole in colorectal cancer. *Br. J. Surg.*, 1987, 74: 569.
- 151 **Winston, T., M. Rings, M. Wyman;** Treatment of Equine Sarcoids. *Am. Vet. Med. Assoc.*, 1979, 175: 775.
- 152 **Withrow, S.J.;** Tumors of the gastrointestinal system. Cancer of the oral cavity. In: Withrow, S.J., E.G. MacEwen (Hrsg.); *Small animal clinical oncology*. 2<sup>nd</sup> ed., WB Saunders Co., Philadelphia, 1996, pp. 227-235.
- 153 **Withworth, P.W., C.C. Pak, J. Esgro, E.S. Kleinerman, I.Z. Fidler;** Macrophages and cancer. *Cancer Metast. Rev.*, 1990, 8: 319-351.
- 154 **Wolmark, N., B. Fischer;** The effect of a single and repeated administration of *Corynebacterium parvum* on bone marrow macrophage colony production in syngeneic tumor bearing mice. *Cancer Res.*, 1974, 34: 2869-2872.
- 155 **Womble, D., J.H. Helderman;** Enhancement of allo-responsiveness of human lymphocytes by acemannan (Carrisyn®). *Int. J. Immunopharm.*, 1988, 10: 967-974.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von „Paramunitätsinducer“

---

- 156**      **Wright, S.D., R.A. Ramos, P.S. Tobias, R.J. Ulevitch, J.C. Mathison;** CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*, 1990, 249: 1431.
- 157**      **Yang, R.B., M.R. Mark, Gray A., A. Huang, M.H. Xie, M. Zhang, A. Goddard, W.I. Wood, A.L. Gurney, P.J. Godowski;** Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature*, Sept. 1998, 395(6699): 284.
- 158**      **Yerkoni, E., H.J. Rapp;** Influence of oil concentration on the efficacy of tumour regression by emulsified components of mycobacteria. *Cancer Res.*, 1979, 39: 535.
- 159**      **Yoshimura, R., H. Sano, C. Masuda, M. Kawamura, Y. Tsubouchi, J. Chargui, N. Yoshimura, T. Hla, S. Wada;** Expression of cyclooxygenase-2 in prostate carcinoma. *Cancer (Phila.)*, 2000, 89: 589-596.
- 160**      **Zbar, B., E. Ribí, M. Kelly, D. Granger, D. Evans, H.J. Rapp;** Immunological approaches to the treatment of human cancer on a guinea pig model. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1976, 1: 127.

## **9. Immuntherapien unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen**

### **9.1 Allgemeiner Teil**

Im Rahmen einer spezifischen Immunstimulation wurden Vakzinen entwickelt, welche patienteneigene abgetötete Tumorzellen oder Tumorantigene beinhalten, welche oftmals mit immunologisch wirksamen Adjuvanzen (z. B. hGM-CSF, IL-2 oder CpG-Motive (39, 20, 8, 27, 30)) modifiziert werden (2, 1).

Die Transduktion von Tumorzellen mit Zytokin-Genen, allogenen MHC-Molekülen, Chemokinen oder kostimulatorischen Molekülen (z. B. CD40-Ligand oder B7.1) hat sich hinsichtlich einer Steigerung der Immunogenität von Tumoren als effizient erwiesen (37, 34, 10, 11).

Auch durch Beimischen von nicht-spezifischen Adjuvanzen, wie z. B. BCG, Freundsches Adjuvans oder *C. parvum*, konnte ein derartiger Effekt erzielt werden (40, 18, 38).

Es werden zwei Arten von Tumorzell-Vakzinen unterschieden (wobei aber auch eine Mischform aus diesen beiden Tumorzell-Vakzinearten angewendet wird (12)):

#### 1) autologe Tumorzell-Vakzinen:

Hierbei werden Tumorzellen im Rahmen einer chirurgischen Exzision dem Patienten entnommen, modifiziert (oft per Bestrahlung) und dann wieder reinjiziert (siehe **4.1.2.3**) (1).

Diese Vakzinen werden speziell für die Behandlung eines Patienten und meist nur eines bestimmten Tumors hergestellt, da oft in einem Individuum selbst zwischen den Tumoren genetische Unterschiede bestehen, die z. B. durch Punktmutationen, Translokationen oder fehlerhaftes Splicing hervorgerufen wurden (4, 1). Tumorzellen neigen grundsätzlich zur Mutation, was zur Folge haben kann, dass die Vakzine sich als wirkungslos erweist, weil die weiterhin im Körper befindlichen Tumorzellen sich bereits wieder verändert haben.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Meist besitzen „eigene“ Tumorzellen nur eine geringe Immunogenität. Deshalb ist es häufig notwendig, sie mit Chemikalien zu behandeln, um eine Oberflächenveränderung zu erreichen. Des Weiteren ist es möglich, durch Einschleusen von Genen, eine Expression neuer Substanzen zu induzieren, welche körpereigene Immunzellen anlocken sollen.

Die Herstellung von individuellen Tumorzell-Vakzinen ist mit großem Arbeitsaufwand und hohen Kosten verbunden (1).

#### 2) allogene Tumorzell-Vakzinen:

Hierbei stammt die Tumorzell-Vakzine von einem fremden Individuum. Viele Tumoren weisen die gleichen tumor-assoziierten Antigene (z. B. MAGE, MART-1/Melan A, Tyrosinase, gp100, p53, Ras (4)) auf, so dass Vakzinen, welche auf der Übertragung eines identischen Antigens basieren, auch bei anderen Patienten mit dem jeweils gleichen Tumortypus anwendbar sind. Demzufolge veränderte sich auch die Impfmethode, da hierbei nun definierte Tumorantigene (rekombinante Tumorproteine, Tumorpeptide, Tumor-DNA in Form rekombinanter Impfviren, die für Tumorantigene kodiert, und Tumor-RNA) als Immungene dienen. Es werden hauptsächlich Tumorzell-Vakzinen verwendet, da noch nicht alle Tumorantigene identifiziert werden konnten. Auf diese Weise wird das Immunsystem mit einer Bandbreite wichtiger Tumorantigene konfrontiert, sogar mit solchen, die noch gar nicht näher beschrieben wurden (14, 1).

Leider kann durch diese Vakzinen zwar eine effektive, aber meist nur partielle Tumorregression und kein belastbares Langzeit-Gedächtnis erzielt werden (17).

In Studien wurde eine Immunisierung untersucht, wobei man antigen-präsentierende Zellen (APC) (z. B. gereinigte Dendritische Zellen (DC)) verwendete, welche mit Tumorantigenen inkubiert oder mit Genen, die für diese Antigene kodieren, transfiziert wurden. Diese DNA-Vakzinen (siehe **4.1.2.2** und **11.2.1**) sollen eine Antwort zytotoxischer T-Lymphozyten induzieren. Ihr Einsatz wird aber u. U. durch den Reifegrad und die Anzahl der verwendeten DC

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

limitiert (14, 1). In der therapeutischen Verwendung dieser Vakzinen ist es oft schwierig, eine adäquate Immunantwort zur Bekämpfung von Tumorzellen zu erzeugen (1).

Auch virale Vektoren (z. B. Retroviren, Adenoviren oder adeno-assoziierte Viren) werden zur Bewerkstelligung einer Gen-Freisetzung gerne genutzt (siehe 4.3). Eingeschleuste Viren können aufgrund ihrer natürlichen Replikationsmechanismen auch zur Zerstörung von Tumorzellen verwendet werden (29). Viren werden zur Bekämpfung von Tumoren in Form von Virus-Vakzinen seit geraumer Zeit eingesetzt. Meist hatten diese einen prophylaktischen Charakter. Dennoch wurde am Tiermodell auch eine therapeutische Wirkungsweise in der Behandlung der kutanen Papillomatose diskutiert (6, 28, 24).

## 9.2 Spezieller Teil

### 9.2.1 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes

**Tab. 29: Anwendung von Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Hundes**

<b>Tumor:</b>	<b>Therapieansatz:</b>	<b>Referenz:</b>
<b>malignes Melanom</b>	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
<b>Fibrosarkom</b>	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
<b>Hämangiosarkom</b>	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
<b>Osteosarkom</b>	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
<b>Mammatumor</b>	Tumorzell-Vakzine plus Neuraminidase	31
<b>(malignes Lymphom</b>	Tumorzell-Vakzine plus Chemotherapie	23, 22, 21)

*Legende:*

hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; ( ) = kein solider Tumortyp

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

#### Canines malignes Melanom:

##### *Behandlung mit einer Tumorzell-Vakzine und hGM-CSF:*

In der Humanmedizin hat sich hGM-CSF (siehe 7.1.2) bewährt, da es sich auf die Nebenwirkungen einer Chemotherapie (z. B. letale Neutropenien) mildernd auswirkt und nach Knochenmarkstransplantationen eine Steigerung der Aktivität hämatopoetischer Zellen hervorruft (15).

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirksamkeit eines autologen Tumorzell-Impfstoffes, welcher zuvor *ex vivo* mit Hilfe eines Plasmidvektors („*gene gun*“) mit hGM-CSF-cDNA transfiziert und danach bestrahlt wurde, an 10 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignen Melanom getestet.

Die Hunde wurden vor Beginn der Therapie konventionell mittels palliativer Chemotherapie oder Bestrahlungstherapie behandelt. Die Immuntherapie wurde 2 Wochen nach Chemotherapie oder Bestrahlungstherapie begonnen. Die Hunde erhielten zuerst 3 Injektionen im Abstand von 2 Wochen (Tag 0, Tag 14, Tag 28). Dann wurde das Injektionsintervall auf einen Monat ausgedehnt. Als Dosis wurden  $1 \times 10^7$  Tumorzellen/ml, gelöst in 100  $\mu$ l PBS („*phosphate-buffered-saline*“), verwendet. Die Injektion erfolgte intradermal.

Des Weiteren untersuchte man im Rahmen dieser *In-vivo*-Studie mittels ELISA („*enzyme-linked-immunosorbent-assay*“) die Expression vom hGM-CSF-Protein an der Stelle der Vakzinierung 24 Stunden, 7 Tage und 14 Tage post injectionem. Für diese Untersuchung wurde an Tag 0 Tumorgewebe chirurgisch entnommen und an Tag 1, 7 und 14 das Tumorgewebe biopsiert.

Man dokumentierte folgende Ergebnisse:

- 5 von 10 Hunden (50 %) zeigten einen progressiven Krankheitsverlauf. 1 der 5 Hunde hatte ein malignes Melanom Stadium-III und 4 der 5 Hunde hatten ein malignes Melanom Stadium-IV.
- 1 von 10 Hunden (10 %) zeigte einen stabilen Krankheitsverlauf über einen Zeitraum von ca. 4 Monaten. Dieser Hund hatte ein malignes Melanom Stadium-IV.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- 1 von 10 Hunden (10 %) zeigte eine partielle Remission des Tumors über einen Zeitraum von ca. 11 Monaten. Dieser Hund hatte ein malignes Melanom Stadium-III.
- 1 von 10 Hunden (10 %) zeigte eine komplette Remission des Tumors über einen Zeitraum von ca. 11 Monaten. Dieser Hund hatte ein malignes Melanom Stadium-IV.
- 1 von 10 Hunden (10 %) zeigte auch nach mehr als 12 Monaten keine Krankheitsanzeichen. Dieser Hund mit malignem Melanom Stadium-I erhielt weitere Injektionen im Abstand von jeweils einem Monat. Die Überlebenszeit ist nicht bekannt.
- 1 von 10 Hunden (10 %) starb aus anderen Gründen.

Die ELISA-Untersuchungen ergaben 24 Stunden nach hGM-CSF-Injektion peritumoral eine hGM-CSF-Proteinmenge je nach Tumortyp von 0,07 - 14,15 ng/Injektionsstelle (Mittelwert: 5,61 ng). Die hGM-CSF-Konzentration nahm kontinuierlich bis Tag 14 ab, was man durch die Degradation und der Halbwertszeit der hGM-CSF-cDNA, welche von dem Plasmid in die Tumorzelle übertragen wurde, begründete. Darüber hinaus konnten in histologischen Untersuchungen an Tag 7 kaum intakte Tumorzellen gefunden werden, was nach Meinung des Autors die Abnahme der hGM-CSF-Konzentration erklären würde, da die Tumorzellen nun nicht weiter in der Lage seien, das hGM-CSF-Protein zu produzieren.

Während und nach der Behandlung mit dem hGM-CSF-transfizierten Tumorzell-Impfstoffes konnten keine Nebenwirkungen in Form einer lokalen Toxizität oder Anaphylaxie beobachtet werden. Darüber hinaus konnten im Serum zu keinem Zeitpunkt Spuren von hGM-CSF nachgewiesen werden. Das ist insofern von großer Wichtigkeit, da aufgrund dessen keine lokalen Toxizitäten oder Einwirkungen auf hämatopoetische Zellen, sowie - bei höheren hGM-CSF-Dosierungen - keine sonstigen toxischen Nebenwirkungen zu erwarten sind (20).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

#### Canines Fibrosarkom:

##### *Behandlung mit einer Tumorzell-Vakzine und hGM-CSF:*

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirksamkeit eines autologen Tumorzell-Impfstoffes, welcher zuvor *ex vivo* mit Hilfe eines Plasmidvektors („*gene gun*“) mit hGM-CSF-cDNA transfiziert und danach bestrahlt wurde, an 3 Hunden mit histologisch nachgewiesenen Fibrosarkomen getestet (siehe **9.2.1** „*canines malignes Melanom*“) (20).

Man dokumentierte folgende Ergebnisse:

- 1 von 3 Fibrosarkom-Hunden (33 %) zeigte ein progressives Tumorstadium.
- 1 von 3 Fibrosarkom-Hunden (33 %) zeigte ein progressives Tumorstadium und verstarb an den Folgen der Krankheit.
- 1 von 3 Fibrosarkom-Hunden (33 %) wies über einen Zeitraum von ca. 6 Monaten keine Krankheitsanzeichen auf und wurde ebenfalls mit weiteren Injektionen behandelt. Die Überlebenszeit ist nicht bekannt.

Berichtet wurde auch von einem Hund mit vertebralem Fibrosarkom, an welchem die Wirksamkeit von hGM-CSF als Adjuvans für eine autologe Tumorzell-Vakzine (in Kombination mit einer Vertebrektomie und einer Knochen-Allograft-Fusion) getestet wurde (8).

Als Injektionsdosis wurde eine Konzentration von  $1 \times 10^7$  Tumorzellen/ml, gelöst in 100  $\mu$ l PBS gewählt. Die Tumorzellen wurden während der Operation entnommen. Die Vakzinierung erfolgte einen Monat nach der Operation intradermal (insgesamt 3x im Abstand von 2 Wochen) in die Region der Glutealmuskulatur. Anhand einer histologischen Untersuchung konnte eine deutliche Infiltration von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen 24 Stunden post injectionem beobachtet werden. In den darauf folgenden 7 Tagen wurden auch eine Ruptur kollagener Bündel, eine diffuse

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

inflammatorische Nekrose und eine ausgeprägte perivaskuläre lymphoplasmazelluläre Infiltration sichtbar.

Im weiteren Verlauf wurde das Tier im vierteljährlichen Abstand hinsichtlich eines Rezidivs kontrolliert. Nach 13 Monaten konnte noch kein Rezidiv erkannt werden.

In einer anderen retrospektiven Studie wurde bei 6 Hunden mit vertebralem Fibrosarkom trotz Operation, Radiotherapie und/oder Chemotherapie nur eine mediane Überlebenszeit von 3,3 Monaten erzielt (9).

#### Canines Hämangiosarkom, canines Osteosarkom:

##### *Behandlung mit einer Tumorzell-Vakzine und hGM-CSF:*

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirksamkeit eines autologen Tumorzell-Impfstoffes, welcher zuvor *ex vivo* mit Hilfe eines Plasmidvektors („gene gun“) mit hGM-CSF-cDNA transfiziert und danach bestrahlt wurde, an 1 Hund mit histologisch nachgewiesenen Hämangiosarkom und 2 Hunden mit histologisch nachgewiesenen Osteosarkom getestet (siehe **9.2.1** „*canines malignes Melanom*“) (20). Beide Hunde mit Osteosarkom und der Hund mit Hämangiosarkom zeigten ein progressives Tumorwachstum.

#### Caniner Mammatumor:

##### *Behandlung mit einer autologen Tumorzell-Vakzine und Vibrio-cholerae-Neuraminidase:*

Im Rahmen einer prospektiven randomisierten Studie wurde anhand von insgesamt 72 Hunden mit benignem (Dysplasie, Adenom, Mischttumor) oder malignem (Adenom, Karzinom, Mischttumor) Mammatumor die Wirksamkeit einer autologen Tumorzell-Vakzine (vorbehandelt mit Mitomycin: M-TC)

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

untersucht, welcher die enzymatisch aktive *Vibrio-cholerae*-Neuraminidase (VCN) (siehe 3.2.8) zugefügt worden war.

Die Hunde wiesen mindestens zwei palpierbare Mammatumoren auf, wovon jeweils ein Mammatumor für histologische Untersuchungen und für die Herstellung der autologen Tumorzell-Vakzine chirurgisch entnommen wurde.

Die 72 Hunde wurden nach Anamnese, Histopathologie-Ergebnis und klinischen Parametern in drei Gruppen aufgeteilt:

#### 1. Gruppe (23 Hunde):

- Diesen Hunden wurde eine autologe Tumorzell-Vakzine verabreicht, welcher die enzymatisch aktive *Vibrio-cholerae*-Neuraminidase (VCN) zugefügt worden war.
- Die Injektion erfolgte einmalig am Tag der Operation intradermal in die Regio umbilicalis („*chess-board-vaccination*“).
- Die Injektion wurde in den Dosierung  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  und  $10^8$  M-TC in Kombination mit 0.01, 0.05 und 0.1 ml VCN verabreicht.

#### 2. Gruppe (21 Hunde; 1. Kontrollgruppe):

- Diesen Hunden wurde eine autologe Tumorzell-Vakzine in Kombination mit einer hitze-inaktivierten VCN verabreicht.

#### 3. Gruppe (27 Hunde; 2. Kontrollgruppe):

- Diesen Hunden wurde eine autologe Erythrozyten-Vakzine in Kombination mit einer aktiven VCN verabreicht.

#### Ergebnisse:

##### 1. Gruppe:

- Bei 6 von 23 Hunden (26 %) wurde eine Regression des Tumors beobachtet.  
Dabei erwies sich die Tumorrogression bei 2 von 23 Hunden (9 %) als stabil und bei den restlichen 4 von 23 Hunden (17 %) als transient.
- Alle 23 Hunde der 1. Gruppe überlebten das erste Beobachtungsjahr.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Bei 17 von 23 Hunden (74 %) wurde ein progressives Tumorwachstum (PD) diagnostiziert.

Bei 6 von 17 Hunden (35 %) handelte es sich um maligne Tumoren.

Bei 11 von 17 Hunden (65 %) handelte es sich um benigne Tumoren.

- Die Vakzinierung wurde von allen Tieren gut vertragen.

#### 2. Gruppe (Kontrollgruppe):

- Es konnte keine Tumorregression (0 %) dokumentiert werden.

- Bei 21 von 21 Hunden (100 %) wurde eine PD diagnostiziert.

6 von 21 Hunden (29 %) wiesen einen malignen Tumor auf.

15 von 21 Hunden (71 %) wiesen einen benignen Tumor auf.

- 3 von 21 Hunden (14 %) starben im ersten Beobachtungsjahr an den Folgen des Tumors. Diese 3 Hunde wiesen maligne Tumoren auf.

- Die Vakzinierung wurde von allen Tieren gut vertragen.

#### 3. Gruppe (Kontrollgruppe):

- Es konnte keine Tumorregression (0 %) dokumentiert werden.

- Bei 27 von 27 Hunden (100 %) wurde eine PD diagnostiziert.

Bei 11 von 27 Hunden (41 %) handelte es sich um maligne Tumoren.

Bei 16 von 27 Hunden (59 %) handelte es sich um benigne Tumoren.

- 2 von 27 Hunden (7 %) starben im ersten Beobachtungsjahr an den Folgen des Tumors. Diese 2 Hunde wiesen maligne Tumoren auf.

- Die Vakzinierung wurde von allen Tieren gut vertragen.

Die Entwicklung einer DTH („*delayed type hypersensitivity*“) wurde prognostisch als nicht aussagekräftig bewertet, da sich diese im Vergleich der Gruppen als nicht signifikant verschieden darstellte.

Obgleich der Wirkungsmechanismus nicht erklärt werden konnte, führten diese Ergebnisse zu der Auffassung, dass anhand dieser Vakzine-Komposition eine therapeutische Wirkung bei Hunden mit Mammatumoren erzielt werden kann (31). Es ist jedoch nicht bekannt, mit welcher Konzentration der beste Effekt (CR) erzielt wurde.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

#### Canines orales Papillom:

##### *Behandlung mit einer Papillomvirus-Vakzine:*

Die Behandlung caniner oraler Papillome hat sich unter Verwendung einfacher caniner oraler Papillomvirus-Vakzinen (COP-Vakzinen) nicht bewährt, da es sich hierbei meist um benigne Tumoren junger Hunde handelt, die gewöhnlich nach einigen Wochen in Regression treten. In vielen Fällen konnte nach der Vakzinierung die Entstehung neuer, z. T. auch maligner Neoplasien beobachtet werden (5). Vor kurzem wurde allerdings die Meinung geäußert, dass anhand einer Vakzine (rekombinantes Adenovirus, welches kodon-optimierte E1- und E2-Gene des caninen oralen Papillomvirus trägt) eine Reduktion papillomviraler Läsionen bewirkt werden könnte (24).

#### Canines malignes Lymphom:

Ogleich es sich beim malignen Lymphom nicht um einen soliden Tumor handelt, wird dieser Tumor wegen seiner hohen Prävalenz und Inzidenz aufgeführt.

##### *Behandlung mit einer autochthonen Tumorzell-Vakzine:*

Das canine maligne Lymphom, welches als Pendant zum Non-Hodgkin's Lymphom des Menschen gesehen wird, gab Anlass zur Erprobung einer autochthonen Tumorzell-Vakzine (23, 21).

30 Hunde mit histologisch nachgewiesenem malignen Lymphom wurden in dieser prospektiven Studie verwendet. Keines der Tiere war chemotherapeutisch vorbehandelt.

Eine Remission wurde im Vorfeld anhand einer Polychemotherapie induziert (2 Zyklen eines Protokolls, welches die Medikamente L-Asparaginase (400 IU/kg intraperitoneal), Vincristin (0.03 mg/kg i.v.), Cyclophosphamid (10 mg/kg i.v.) und Doxorubicin (30 mg/m<sup>2</sup> i.v.) beinhaltet) induziert. Die 30 Hunde erhielten jedoch median 4 chemotherapeutische Behandlungszyklen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Infolgedessen wurden alle 30 Hunde nach Erlangen einer kompletten Remission der Tumorzelltherapie unterzogen ( $10^8$  Tumorzellen/Infusion). Die Infusionen erfolgten 2, 4 und 8 Wochen nach Ende der Chemotherapie (mind. 3 Infusionen). Die Applikation erfolgte hierbei intralymphatisch.

Ergebnisse:

- Die Therapie resultierte in einer medianen Überlebenszeit von 13 Monaten, wobei 11 der 30 Hunde (36 %) noch 2,4 Jahre lebten.
- Als mediane Erstremissionsdauer wurden 4 Monate angegeben.
- 18 von 30 Hunden (60 %) starben an den Folgen des Tumors.
- 1 von 30 Hunden (3 %) starb nach 14 Monaten an den Folgen eines Karzinoms.
- 4 von 30 Hunden (13 %) hatten initial nur 2 Chemotherapie-Zyklen erhalten und wurden weiterhin mit der Tumorzell-Vakzine behandelt. Diese Hunde erzielten eine mediane Überlebenszeit von 1,9 Jahren.
- 3 der 4 Hunde waren zum Zeitpunkt der Evaluierung am Leben und waren noch nach 12, 24 und 25 Monaten in Remission.
- Die Immuntherapie wurde von allen Hunden gut vertragen.
- Der Erfolg einer derartigen Therapie wird von der vorhandenen Tumormasse bestimmt. Im Vorfeld dieser Behandlung muss zur Reduktion der Tumormasse grundsätzlich eine Chemotherapie durchgeführt werden (21). Eine gleichzeitige Verabreichung von Chemotherapie und Vakzine könnte allerdings zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Wirksamkeit der Immuntherapie führen, da zur Erzielung einer adäquaten Immunantwort ein belastbares Immunsystem unerlässlich ist (25, 3).

In einer verwandten prospektiven Studie verglich man anhand von 88 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignem Lymphom die Wirksamkeit einer Polychemotherapie mit der einer Chemo-Immuntherapie (22). Es wurden die gleichen Dosierungen verwendet.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Es wurden 2 Gruppen gebildet:

1. Gruppe (30 Hunde): Verabreichung der Polychemotherapie;
  - 14 von 30 Hunden (46 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-III.
  - 8 von 30 Hunden (27 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-IV.
  - 8 von 30 Hunden (27 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-V.
  
2. Gruppe (58 Hunde): Verabreichung der Polychemotherapie mit folgender Immuntherapie (Tumorzell-Vakzine);
  - 1 von 58 Hunden (2 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-I.
  - 20 von 58 Hunden (34 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-III.
  - 27 von 58 Hunden (47 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-IV.
  - 10 von 58 Hunden (17 %) hatten ein malignes Lymphom Stadium-V.

Ergebnisse:

1. Gruppe:
  - 8 von 30 Hunden (26 %) starben in den ersten 10 Wochen der Therapie (mediane Überlebenszeit: 1,6 Monate). Einer der 8 Hunde wies eine komplette Remission (CR) des Tumors auf.
  - 22 von 30 Hunden (73 %) überlebten die ersten 10 Wochen. Die mediane Überlebenszeit betrug 6,8 Monate.
  - 15 der 22 Hunde (68 %) erreichten eine CR.
  - 1 von 30 Hunden (3 %) zeigte nach 4 Jahren noch eine Remission des Tumors.
  - 6 von 30 Hunden (20 %) standen zur weiteren Beobachtung nicht zur Verfügung.
  
2. Gruppe:
  - 11 von 58 Hunden (17 %) der Vakzinegruppe überlebten das Ende der Initial-Immuntherapie nicht. Keiner der 11 Hunde (0 %) erreichte eine komplette Remission (CR) des Tumors.
  - 41 von 47 Hunden (87 %) wiesen eine CR auf.
  - Die mediane Überlebenszeit betrug 10,2 Monate.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- Zum Zeitpunkt der Evaluierung zeigten 2 von 58 Hunden (3 %) eine Remission des Tumors (Überlebenszeiten: 2 und 2,5 Jahre).
- Die Hunde dieser Gruppe wiesen eine signifikant längere Remissionsdauer auf ( $p=0,024$ ).

Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied in der Gesamtüberlebenszeit errechnet werden ( $p=0,40$ ). Die Therapie wurde von allen Hunden gut vertragen.

Es bestand der Verdacht, dass die nicht signifikant verlängerte Überlebenszeit durch die immunstimulatorische Wirkung des „Freund-Adjuvans“ bedingt sei und nicht ausschließlich auf der Wirksamkeit der autologen Tumorzell-Vakzine beruhe (40). Dennoch kristallisierte sich heraus, dass Hunde, welche nur einer Chemotherapie unterzogen worden waren, öfter einer chemotherapeutischen Behandlung bedurften, als Hunde, welche zusätzlich die Tumorzell-Vakzine erhielten. Auch klinisch, so hatte man den Eindruck, ging es den Hunden mit der Kombinationstherapie deutlich besser. Hunde mit gutem Allgemeinbefinden überlebten signifikant länger ( $p=0,016$ ).

Beide Studien unterlagen keiner Randomisierung.

#### **9.2.2 Immuntherapie bei soliden Tumoren der Katze**

Es liegen keine Studien über die Behandlung von Tumoren der Katze anhand von autologen oder allogenen Tumorzell-Vakzinen vor.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

#### 9.2.3 Bei soliden Tumoren des Pferdes

**Tab. 30: die Anwendung von Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Pferdes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
equines Sarkoid	Bio-Immuntherapie plus autogene Tumorzell-Vakzine	16

#### Equines Sarkoid:

Das equine Sarkoid wurde in zahlreichen Studien zum Untersuchungsobjekt hinsichtlich der Wirksamkeit autologer Tumorzell-Vakzinen. Diese fanden v. a. Anwendung, da man davon ausging, dass Viren für die Entstehung des equinen Sarkoids verantwortlich sind. Dennoch konnten mit diesem Verfahren keine nachhaltigen Erfolge erzielt werden. Es kam des Öfteren sogar vor, dass nach einer Vakzinierung mit autologen Tumorzellen dramatische Neubildungen auch an anderen Körperstellen beobachtet wurden. Man ist heute der Meinung, dass die erwünschten Erfolge ausblieben, weil nach Verabreichung der Tumorzellen keine adäquate (oder gar keine) Immunantwort entfacht werden kann. Die Autoren vertreten die Meinung, dass eine autologe Tumorzell-Vakzinierung abzulehnen ist (13).

#### *Behandlung mit einer Bio-Immuntherapie in Kombination mit einer autogenen Tumorzell-Vakzine:*

Vor kurzem wurde jedoch von einem Verfahren berichtet, welches die Verabreichung einer Bio-Immuntherapie (orale Gabe von u. a. Zinnoxidchloriden und Folsäure) in Kombination mit einer Vakzinierung mit autogenem polymerisiertem Tumorgewebe (Intervall: 2 - 4 Wochen) beinhaltet. Die Tumormasse wurde bis auf die Tumorbasis operativ entfernt (unvollständige Exzision). Injiziert wurde subkutan in das den jeweiligen Tumor umgebende

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Gewebe. Die Therapie wurde bis zum Eintreten einer Tumorregression durchgeführt.

Es wurden drei Gruppen gebildet (insgesamt 20 Pferde):

1. Gruppe (11 Pferde): Diese Pferde wiesen einen unbehandelten Primärtumor auf.
2. Gruppe (7 Pferde): Diese Pferde waren bereits ein- oder mehrmals chirurgisch vorbehandelt.
3. Gruppe (2 Pferde): Diese Pferde waren gesund und dienten als Kontrolltiere.

Ergebnisse:

- 1. Gruppe: Keines der Tiere zeigte in den folgenden zwei Jahren ein erneutes Tumorwachstum. Die Tumoren dieser Pferde blieben entweder unverändert, gingen zurück oder fielen ab.
- 2. Gruppe: 5 von 7 Tieren (71 %) hatten nach 5 - 17 Monaten an der Stelle des Tumors ein Rezidiv. Drei dieser Tiere wurden wiederholt behandelt, wobei 2 Pferde im Zeitraum von 4 bzw. 7 Monaten nicht erneut erkrankten. Das dritte Pferd wies eine tumorfreie Zeit von 9 Monaten auf. Bei Rezidiventwicklung wurde auch eine Aktivierung der anderen, sich an den Tieren befindlichen Tumoren beobachtet. Über 2 Tiere liegen keine Daten vor.

Der Heilungsprozess wurde durch Entnahme von Biopsien aus der Tumorbasis untersucht und folgendes dokumentiert:

- Es wurde eine sichtbare Epithelialisierung (vom Rand der Tumorbasis zum Zentrum hin) festgestellt.
- Bei 12 Pferden wurde sowohl eine vollständige Pigmentierung der Haut, als auch ein normales Haarwachstum beobachtet.
- Bei einem weiteren Tier geschah beides nur partiell und bei 5 Pferden blieb die Stelle haarlos.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- Gleichzeitig verringerten sich die typischen histopathologischen Kennzeichen des equinen Sarkoids auffallend rasch. Dies ereignete sich v. a. bei Primärtumoren.
- Drei der 7 Pferde (43 %) der 2. Gruppe wiesen neben der noch abnormalen Dermis eine normale Epithelialisierung auf. Eine große Anzahl von Fibroblasten wurde hauptsächlich in der Nähe der dermo-epidermalen Verbindungen identifiziert, was von einer gleichzeitigen Bildung von Haarfollikeln und Talgdrüsen begleitet war. Zu diesem Zeitpunkt war die Basis des Tumors bei fast allen Tieren von einem normalen Epithel bedeckt.
- Während der Regression konnten weder eine Infiltration von Leukozyten, eine Lyse, noch eine Apoptose registriert werden. Nach der Heilung konnte zwischen den Hautproben der beiden gesunden und der kranken Tiere histologisch keine Unterschiede registriert werden.
- Per Elektronenmikroskop wurde während der Bio-Immuntherapie, im Verlauf der Tumorregression eine Transformation der Mitochondrien registriert. Diese transformierten Mitochondrien enthielten elektronendichte pleomorphe Körperchen, welche möglicherweise Metalloenzyme freisetzen (35). Ähnliche Körperchen wurden, v. a. während des Heilungsprozesses, auch im Umfeld des Zellkerns von Tumorzellen gefunden (36).

Diese Ereignisse resultierten in folgender Meinung:

- 1) Es könnte sein, dass die dermale Komponente, welche am längsten Tumorzellen aufweist, als Promotor für das Tumorwachstum equiner Sarkoide dient (die Tumorbasis zeigte auch nach unvollständiger Exzision eine normale Epithelialisierung).
- 2) Primärtumoren scheinen sich für diese Therapieform besser zu eignen (26).
- 3) Die Tumorregression könnte der mitochondriellen Kontrolle unterliegen (35, 26, 36).

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- 4) Eine derartige Bio-Immuntherapie scheint aufgrund der fehlenden histologischen Merkmale einer Leukozyteninfiltration, Lyse oder Apoptose, einen spontanen Heilungsprozess zu stimulieren (16).

Leider kann den Angaben keine exakte Stoffzusammensetzung entnommen werden, dass die Wirkungsweise dieser Therapie hätte eruiert werden können. Dieses Verfahren ist demnach nicht reproduzierbar. Auch die Wahl und Anzahl der Kontrolltiere lässt keinen Schluß auf die Effektivität dieser Therapie zu. Dennoch kommt die Mitochondrien-Hypothese einer Plausibilität dieser Therapieform entgegen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

#### 9.2.4 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Rindes

**Tab. 31: die Anwendung von Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Rindes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
okuläres Plattenepithelkarzinom	autologe saline	32, 33
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine; allogene saline	
Hornkrebs (Plattenepithelkarzinom)	autologe saline	7
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine (plus BCG)	
kutane Papillomatose	autologe saline	33, 6, 28
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine	

*Legende:*

BCG = Bazillus Calmette-Guérin

#### *Bovines okuläres Plattenepithelkarzinom:*

##### *Behandlung mit einer autologen salinen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine:*

Im Rahmen einer prospektiven Studie wurde die Wirksamkeit einer einmalig erfolgenden intramuskulären Injektion einer autologen salinen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine untersucht (32). 29 Rinder mit 37 Karzinomen (8 Rinder wiesen jeweils 2 Tumoren auf) wurden diesem Verfahren unterzogen. Bei 5 von 29 Tieren (17 %) basierte die Diagnose auf einer histologischen Untersuchung. Bei den restlichen 24 Tieren (83 %) wurde die Diagnose aufgrund von klinischen Daten gestellt. Zwei der 29 Rinder (7 %) wurden zweimal und 1 der 29 Rinder (3 %) wurde viermal behandelt. 18 Rinder, deren Tumoren aufgrund von klinischen Daten diagnostiziert worden waren, dienten

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

als Kontrolltiere und wurden nicht mit der Tumorzell-Vakzine behandelt. Zwei dieser Tiere wiesen 2 Tumoren (bilateral) auf (insgesamt 20 Karzinome).

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

- Bei 30 der 37 behandelten Tumoren wurde eine initiale Tumorregression dokumentiert. Dies konnte bei keinem Tumor der Kontrolltiere dokumentiert werden.
- Zum Zeitpunkt der Evaluierung zeigten 17 von 37 Tumoren (46 %) eine partielle Tumorremission und 5 von 37 Tumoren (14 %) eine komplette Remission des Tumors.
- In einem Zeitraum von 6 - 8 Monaten konnte bei keinem der Tiere ein erneutes Tumorwachstum beobachtet werden.
- Sogar bei unilateralen Tumoren in der Größe von 4x5 cm wurde eine komplette Tumorremission beobachtet.
- Bei Tieren, welche mehrmals geimpft wurden, wurde ein progressives Tumorwachstum festgestellt. Es ist aber denkbar, dass das angeblich progressive Tumorwachstum nach einer häufigeren Vakzinierung auf einer gesteigerten Gefäßpermeabilität basiert und demnach fehl interpretiert wurde.

Ein wissenschaftlich korrekter Nachweis für die Wirksamkeit dieser Behandlung konnte nicht erbracht werden, da die Studie keiner Randomisierung unterlag. Darüber hinaus werden wichtige Daten (z. B. Remissionszeiten) nicht geliefert.

#### *Behandlung mit einer allogenen salinen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine:*

In einer anderen prospektiven Studie konnte anhand saliner Phenol-Extrakte allogener Tumorzellen bei 33 von 44 Karzinomen (78 %) nach einer einzigen Injektion eine Tumorantwort dokumentiert werden. Dabei zeigten 15 Tumoren eine komplette Remission, 9 Tumoren eine partielle Remission und 9 Tumoren einen stabilen Krankheitsverlauf.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Darüber hinaus erkannte man, dass vornehmlich kleine Tumoren zu einer kompletten Remission und lang andauernder Remission neigten. Demnach vertrat man den Standpunkt, dass zur Behandlung größerer Tumoren die Kombination mit anderen konventionellen Behandlungsmethoden erforderlich sei (19).

Ein wissenschaftlich korrekter Nachweis für die Wirksamkeit dieser Behandlung konnte nicht erbracht werden, da die Studie keiner Randomisierung unterlag. Darüber hinaus werden wichtige Daten (z. B. mediane Remissionszeiten, mediane Überlebenszeiten) nicht geliefert.

#### *Boviner Hornkrebs (Plattenepithelkarzinom):*

##### *Behandlung mit einer autologen salinen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine (plus BCG):*

Auch an Rindern mit histologisch nachgewiesenem Hornkrebs (ein Plattenepithelkarzinom) wurde eine autologe saline Phenol-Tumorzell-Vakzine angewendet. Zwei der insgesamt 10 Tiere wurde zusätzlich peritumoral BCG (siehe 8.1.1) injiziert. Zur Herstellung der Tumorzelle und zur histologischen Untersuchung wurde Material chirurgisch entnommen. Sechs der 10 Tiere wiesen ein sehr progressives Tumorstadium auf. Daher wurde bei diesen 6 Tieren eine möglichst weitläufige Entfernung des Tumors durchgeführt.

##### Ergebnisse:

- Bei 6 der 10 Rinder (60 %) wurde eine komplette Remission des Tumors (CR) verzeichnet. Darunter befand sich allerdings nur eines der Tiere, das auch mit BCG behandelt wurde.
- Nach 1,5 - 2,5 Monaten waren die Tumoren, welche letztendlich eine CR aufwiesen, verschwunden. Das Horn wuchs allerdings nur sehr langsam nach. Dabei hatten das Alter des Patienten und die Anwesenheitsdauer des Tumors keinen prognostischen Wert. Die Tiere wurden über einen

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Zeitraum von 2,5 - 5 Monaten nach Ende der Therapie weiterhin kontrolliert.

- Nach 12 - 14 Tagen post injectionem konnten im verbliebenen Tumorbett erste Veränderungen registriert werden. Histologisch (Biopsie) konnte in der Umgebung des Tumors eine hochgradige Infiltration neutrophiler Granulozyten und einiger Makrophagen nachgewiesen werden. Die Tumorzellen zeigten Anzeichen einer Nekrose (Vakuolisierung). Auch Phagozytosen konnten eindeutig erkannt werden. Das nekrotische Gewebe wurde nach und nach durch frisches Granulationsgewebe ersetzt. Daraufhin bildete sich auf der Fläche neues Plattenepithel (7).

Die zu kurze Kontrolldauer nach Therapieende ist jedoch nicht geeignet, eine wissenschaftlich fundierte Aussage über eine mögliche tumorfreie Zeit zu treffen.

#### *Bovine kutane Papillomatose:*

##### *Behandlung mit einer autologen salinen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine:*

In einer prospektiven Studie untersuchte man die Wirkung einer autologen Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine an Rindern mit kutaner Papillomatose (33). Als ausschlaggebend erwies sich hierbei die Tumorgröße. Kleine Papillome sprachen weitaus besser auf die Therapie an. Darüber hinaus kam man auch hier zur Überzeugung, dass eine partielle Exzision des Tumors sinnvoll sei.

##### *Behandlung mit einer Papillomvirus-Vakzine:*

Anfang der 90er Jahre konnte man in einer Rindergruppe unter Verwendung einer Papillomvirus-Vakzine (BPV-4) eine Regression kutaner Papillome erzielen. In BPV-4 ist das Kapsidprotein L2 enthalten, von dem man annahm, eine potenzierende Wirkung auf das E7-Fusionsprotein zu besitzen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

Nach dieser Behandlung konnte bei 28 Tieren, welche zuvor an kutaner Papillomatose erkrankt waren, auch nach 6,3 Monaten keine Anzeichen einer Papillomatose mehr festgestellt werden. Demnach wurde diesem Präparat auch eine therapeutische Wirkung zugeschrieben (6). Dies konnte allerdings im Rahmen einer späteren Studie nicht bestätigt werden, obgleich hier beobachtet werden konnte, dass die Tumoren derjenigen Tiere, welche einer Vakzinierung (anhand virus-ähnlicher Partikel, welche das L1- und L2-Kapsidprotein des BPV-4 enthalten) unterzogen worden waren, rascher in Remission kamen, als die Tumoren unbehandelter Tiere (28). Dennoch sollten diese Präparate in erster Linie zur Prophylaxe genutzt werden.

# Schrifttum

## Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen - Zusammenfassung

---

### Zusammenfassung

Unter Verwendung autologer Tumorzell-Vakzinen werden patienteneigene Tumorzellen *in vitro* modifiziert und dann wieder dem Patienten reinjiziert (1). Wird jedoch eine allogene Tumorzell-Vakzine eingesetzt, so versteht man darunter, dass die Tumorzellen von einem fremden Individuum stammen. Dieses Verfahren basiert auf der Übertragung tumor-assoziiertes Antigene (TAA) und ist demnach auch bei anderen Patienten, die denselben Tumortypus aufweisen, anwendbar. Auf diese Weise soll eine adäquate Immunantwort gegenüber den Tumorzellen hervorgerufen werden, was aber leider nicht immer gelingt (1).

Beim **Hund** wurde die Effektivität einer Therapie unter Verwendung einer autologen Tumorzell-Vakzine an folgenden soliden Tumoren getestet:

**Tab. 32: Behandlungsansätze mit Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Hundes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
malignes Melanom	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
Fibrosarkom	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
Hämangiosarkom	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
Osteosarkom	Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	20
Mammatumor	Tumorzell-Vakzine plus Neuraminidase	31
(malignes Lymphom	Tumorzell-Vakzine plus Chemotherapie	23, 22, 21)

Legende:

hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; ( ) = kein solider Tumortyp

Es liegen keine Studien über die Behandlung von Tumoren der **Katze** anhand von autologen oder allogenen Tumorzell-Vakzinen vor.

## Schrifttum

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen - Zusammenfassung

---

Beim **Pferd** konnten unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen Erfolge verzeichnet werden:

**Tab. 33: Behandlungsansätze mit Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Pferdes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
equines Sarkoid	Bio-Immuntherapie plus autogene Tumorzell-Vakzine	16

Beim **Rind** wird seit geraumer Zeit die Wirksamkeit autologer oder allogener Tumorzell-Vakzinen an folgenden soliden Tumoren erprobt:

**Tab. 34: Behandlungsansätze mit Tumorzell-Vakzinen an soliden Tumoren des Rindes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
okuläres Plattenepithelkarzinom	autologe saline	32, 33
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine;	
Hornkrebs (Plattenepithelkarzinom)	allogene saline	19
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine	
kutane Papillomatose	autologe saline	7
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine (plus BCG)	
kutane Papillomatose	autologe saline	33, 6, 28
	Phenol-Tumorzell-Extrakt-Vakzine	

*Legende:*

BCG = Bazillus Calmette-Guérin

Auch virale Vakzinen finden seit geraumer Zeit in der Tiermedizin Anwendung. Obgleich diese eher einen prophylaktischen Charakter aufweisen, wird am Beispiel der *kutanen Papillomatose* auch eine therapeutische Wirkungsweise diskutiert (33, 6, 28).

# Quellenverzeichnis

## Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Abbas, A.K.**; In: Abbas, A.K., A.H. Lichtman, J.S. Pober (Hrsg.); Cellular and molekular immunology. Chapter 17, WB Saunders, Philadelphia, 2005, pp. 391-410.
- 2 **Armstrong, A.C., D. Eaton, J.C. Ewing**; Cellular immunotherapy for cancer. *BMJ*, Dec. 2001, 323: 1289-1293.
- 3 **Avdani, S.H., K.A. Dinshaw, C.N. Nair, R. Gopal, G.V. Talwalkar, Y.S. Iyyer, H.M. Bhatia, P.B. Desai**; Immune dysfunction in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer*, June 1980, 45(11): 2843-2848.
- 4 **Bocchia, M., V. Bronte, M.P. Colombo, A. De Vincentiis, M. Di Nicola, G. Forni, L. Lanata, R.M. Lemoli, M. Massaia, D. Rondelli, P. Zanon, S. Tura**; Antitumor vaccination: where we stand. *Haematologica*, 2000, 85: 1172-1206.
- 5 **Bregman, C.L., R.S. Hirth, J.P. Sundberg, E.F. Christensen**; Cutaneous neoplasms in dogs associated with canine oral papillomavirus vaccine. *Vet. Pathol.*, 1987, 24: 477-487.
- 6 **Campo, M.S., G.J. Grindlay, B.W. O'Neil, L.M. Chandrachud, G.M. McGarvie, W.F.H. Jarrett**; Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus. *J. Gen Virol.*, June 1993, 74(9): 945-953.
- 7 **Chauhan, H.V.S., D.S. Kalra, S.K. Mahajan**; letters to the editor: studies on horn cancer preliminary trials of immunotherapy. *Aust. Vet. J.*, Oct. 1980, 56: 509-510.
- 8 **Chauvet, A.E., G.S. Hogge, J.A. Sandin, D. Lipsitz**; Vertebrectomy, bone allograft fusion, and antitumor vaccination for the treatment of vertebral fibrosarcoma in a dog. *Vet. Surg.*, 1999, 28: 480-488.
- 9 **Dernell, W.S., B.J. Van Vechten, R.C. Straw, S.M. LaRue, B.E. Powers, S.J. Withrow**; Outcome following treatment of vertebral tumors in 20 dogs (1986-1995). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, May-June 2000, 36(3): 245-251.
- 10 **Dilloo, D., K. Bacon, W. Holder, W. Zhong, S. Burdach, A. Zlotnik, M. Brenner**; Combined chemokine and cytokine gene transfer enhances antitumor immunity. *Nature Med.*, 1996, 2(10): 1090-1095.
- 11 **Dilloo, D., M. Brown, M. Roskrow, W. Zhong, M. Holladay, W. Holden, M. Brenner**; CD40 ligand induces an antileukemia immune response in vivo. *Blood*, Sept. 1997, 90(5): 1927-33.
- 12 **Espinoza-Delgado, I.**; Cancer Vaccines. *Oncologist*, 2002, 7(3): 20-33.
- 13 **Feige, K., P. Stähli, C. Schelling, L. Heinzerling, M. Seltenhammer, J.-M. Müller, L. Nicolson**; Einsatz von Interleukin-12 und Interleukin-18 kodierender Plasmid DNA zur Therapie von Melanomen beim Schimmel. *Pferdeheilkunde Forum 2005 Berliner Fortbildungstage* (16.-19. Juni 2005).

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- 14 **Furumoto, K., L. Soares, E.G. Engleman, M. Merad;** Induction of potent antitumoral immunity by in situ targeting of intratumoral DCs. *J. Clin. Invest.*, March 2004, 113(5): 774-783.
- 15 **Groopman, J.E., J.-M. Molina, D.T. Scadden;** Hematopoietic growth factors: Biology and clinical applications. *N. Engl. J. Med.*, 1989, 321: 1449-1459.
- 16 **Hallamaa, R.E., E. Saario, T. Tallberg;** Macroscopical and histopathological changes in regressing and recurrent equine sarcoids during active specific bio-immunotherapy. *In Vivo*, July-Aug. 2005, 19(4): 761-767.
- 17 **Henry, F., O. Boisteau, L. Bretaudeau, B. Lieubeau, K. Meflah, M. Grégoire;** Antigen-presenting cells that phagocytose apoptotic tumor-derived cells are potent tumor vaccines. *Cancer Res.*, July 1999, 59: 3329-3332.
- 18 **Hock, H., M. Dorsch, U. Kunzendorf, K. Uberla, Z. Qin, T. Diamantstein, T. Blankenstein;** Vaccinations with tumor cells genetically modified to produce different cytokines: Effectivity not superior to a classical adjuvant. *Cancer Res.*, Feb. 1993, 53(4): 714-716.
- 19 **Hoffmann, D.;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas with phenol-saline extracts of allogeneic carcinomas. *Aust. Vet. J.*, April 1981, 57: 159-162.
- 20 **Hogge, G.S., J.K. Burkholder, J. Culp, M.R. Albertini, R.R. Dubielzig, E.T. Keller, N.S. Yang, E.G. MacEwen;** Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum. Gene Ther.*, Sept. 1998, 9(13): 1851-1861.
- 21 **Jeglum, K.A., W.D. Winters, K.M. Young;** In vitro immune monitoring of antibody response in dogs given chemimmunotherapy for lymphoma. *Am. J. Vet. Res.*, April 1989, 50(4): 488-492.
- 22 **Jeglum, K.A., Young K.M., K. Barnsley, B.A. Whereat;** Chemotherapy versus chemotherapy with intralymphatic tumor cell vaccine in canine lymphoma. *Cancer*, 1988, 61: 2042-2050.
- 23 **Jeglum, K.A., Young K.M., K. Barnsley, B.A. Whereat, D. McGrath, C. Hutson;** Intralymphatic autochthonous tumor cell vaccine in canine lymphoma. *J. Biol. Response Mod.*, April. 1986, 5(2): 168-175.
- 24 **Johnston, K.B., J.M. Monteiro, L.D. Schultz, L. Chen, F. Wang, V.A. Ausensi, E.C. Dell, E.B. Santos, R.A. Moore, T.J. Palker, M.A. Stanley, K.U. Jansen;** Protection of beagle dogs from mucosal challenge with recombinant adenoviruses expressing codon-optimized early genes. *Virology*, 2005, 336: 208-218.
- 25 **Jones, S.E., K. Griffith, P. Dombrowski, J.A. Gaines;** Immunodeficiency in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*, March 1977, 49(3): 335-344.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- 26 **Kinnunen, R.E., Th. Tallberg, H. Stenbäck, S. Sarna;** Equine sarcoid tumour treated by autogenous tumour vaccine. *Anticancer Res.*, 1999, 19: 3367-3374.
- 27 **Kircheis, R., Z. Küpcü, G. Wallner, V. Rössler, T. Schweighoffer, E. Wagner;** Interleukin-2 gene-modified allogeneic melanoma cell vaccines can induce cross-protection against syngeneic tumors in mice. *Cancer Gene Ther.*, 2000, 7: 870-878.
- 28 **Kirnbauer, R., L.M. Chandrachud, B.W. O'Neil, E.R. Wagner, G.J. Grindlay, A. Armstrong, G.M. McGarvie, J.T. Schiller, D.R. Lowy, M.S. Campo;** Virus-like particles of bovine papillomavirus Type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. *Virology*, 1996, 219: 37-44.
- 29 **LeCouteur, R.A.;** Current concepts in the diagnosis and treatment of brain tumors in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.*, Sept. 1999, 40: 411-416.
- 30 **Schneeberger, A., C. Wagner, A. Zemann, P. Lühns, R. Kutil, M. Goos, G. Stingl, S.N. Wagner;** CpG Motifs are efficient adjuvants for DNA cancer vaccines. *J. Invest. Dermatol.*, 2004, 123: 371-379.
- 31 **Sedlacek, H.H., G. Hagmeyer, F.R. Seiler;** Tumor therapy of neoplastic diseases with tumor cells and neuraminidases. Further experimental studies on chessboard vaccination in canine mammary tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 23(3): 192-199.
- 32 **Spradbrow, P.B., B.E. Wilson, D. Hoffmann, W.R. Kelly, J. Francis;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas. *Vet. Rec.*, April 1977, 100: 376-378.
- 33 **Ssenyonga, G.S.Z., J.S. Onapito, J. Nakasala-Situma, A.L. Omara-Opyene;** Therapeutic value of partial excision of lesions combined with administration of an autogenous vaccine during an episode of cutaneous papillomatosis in cattle of Uganda. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Sept. 1990, 197(6): 739-740.
- 34 **Tahara, H., M.T. Lotze;** Gene therapy for adult cancers; advances in immunologic approaches using cytokines. In: Cang, P.L. (Editor). *Somatic Gene Ther.* Ann. Arbor: CRC Press, 1994: 263-86.
- 35 **Tallberg, Th, R.E. Kinnunen, A. Palkama, E.M.K. Saario, G. Borgström;** Equine sarcoid successfully treated by bioimmunotherapy. *Dtsch. Zschr. Onkol.*, 1994, 26: 34-40.
- 36 **Tallberg, Th., H. Stenbäck, R. Hallamaa, J. Dabek, E. Johansson, E. Kallio;** Studies on mitochondrial regulation of the genome. *Dtsch. Zschr. Onkol.*, 2002, 34: 128-139.
- 37 **Townsend, S.E., J.P. Allison;** Tumor rejection after direct costimulation of CD8+ T cells by B7-transfected melanoma cells. *Science*, 1993, 259: 368-370.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung von Tumorzell-Vakzinen

---

- 38**      **Vermorken, J.B., A.M. Claessen, H. van Tinteren, H.E. Gall, R. Ezinga, S. Meijer, R.J. Scheper, C.J. Meijer, E. Bloemena, J.H. Ransom, M.G. Hanna, Jr., H.M. Pinedo;** Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. *Lancet*, Jan. 1999, 353(9150): 345-350.
- 39**      **Weiner, G.J., H.-M. Liu, J.E. Wooldridge, C.E. Dahle, A.M. Krieg;** Immunostimulatory oligodeoxynucleotides containing the CpG motif are effective as immune adjuvants in tumor antigen immunization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1997, 94(20): 10833-10837.
- 40**      **Weller, R.E., G.H. Theilan, B.R. Madewell, S.E. Crow, E. Benjamini, A. Villalobos;** Chemoimmunotherapy for canine lymphosarcoma: a perspective evaluation of specific and non-specific immunomodulation. *Am. J. Vet. Res.*, April 1980, 41(4): 516-521.

## **10. Immuntherapien unter Verwendung monoklonaler Antikörper (mAK)**

### **10.1 Allgemeiner Teil**

Antikörper und Immunglobuline sind wichtige Elemente des Immunsystems und zirkulieren im Blutkreislauf und im lymphatischen System. Ihre Aufgabe ist es, an fremde Antigene zu binden, die auf den infizierten Zellen exprimiert werden. Die nun „markierten“ Zellen können durch Fresszellen beseitigt werden (1). Die Verwendung von Antikörpern galt als risikoreich, da durch sie eine Wachstumssteigerung des Tumors bewirkt werden kann. Dennoch wurden anhand von monoklonalen Antikörpern (siehe **4.1.3.2**) in Krebstherapien einige Erfolge verzeichnet (13).

Die Entwicklung von Hybridzelltechniken ermöglichte die Herstellung monoklonaler Antikörper (mAK) gegen bestimmte Determinanten. Man erhoffte sich eine große Bandbreite von Anwendungsmöglichkeiten im Kampf gegen den Krebs. In der Humanmedizin haben sich mAK zu wichtigen diagnostischen Werkzeugen etabliert, ihr therapeutischer Gebrauch konnte sich jedoch lange nicht durchsetzen (8). In den letzten Jahren gelang es durch technische Verbesserungen (DNA-Rekombination, Humanisierung muriner Antikörper, Kopplung der Antikörper an Toxine oder Radionukleide), sie auch therapeutisch nutzbar zu machen. In der Humanmedizin finden drei monoklonale Antikörper therapeutische Anwendung: *Rituximab* (Zielantigen: CD20, mAK 231), *Trastuzumab* (Zielantigen: HER-2) und *Gemtuzumab* (Zielantigen: CD33) (6). Antikörper, die gegen tumor-assoziierte Antigene (TAA) gerichtet sind, werden in der Regel vor Verabreichung mit einer Reihe von Medikamenten (Radioisotopen oder Toxinen) konjugiert.

Die Wirksamkeit monoklonaler Antikörper wird durch mehrere Mechanismen bewerkstelligt. Sie können einen direkten Effekt durch Induktion einer Apoptose oder eines programmierten Zelltodes erzielen. Darüber hinaus sind sie in der Lage, Rezeptoren von Wachstumsfaktoren zu blockieren, was zum Stillstand der Tumorzellproliferation (auch durch Hemmung der Tumolvaskularisation (5)) führt. Indirekt rufen sie eine Rekrutierung zytotoxischer Zellen (Monozyten/Makrophagen) hervor. Dieser Typ einer antikörper-vermittelten

## Schrifttum

### Unter Verwendung monoklonaler Antikörper

---

Zelltötung ist auch unter dem Begriff „*antibody-dependent-cell-mediated-cytotoxicity*“ (ADCC) bekannt. Monoklonale Antikörper gehen aber auch Bindungen mit Komplement ein, was eine direkte Zelltoxizität zur Folge hat (Perforation der Tumorzellmembran und Tumorzelllyse (3)) und man „*complement-dependent-cytotoxicity*“ (CDC) nennt. Zielzellen von *Rituximab* sind, wie bereits erwähnt, CD20-Antigene. Dieses Antigen wird von vielen malignen B-Zell-Tumortypen exprimiert. Bei *Rituximab* handelt es sich um ein IgG-mAK, welcher einen Fc-Rezeptor besitzt. Dieses Fragment bindet an Fc-Rezeptoren, welche sich auf Monozyten/Makrophagen und NK-Zellen befinden, was zur Erkennung und Abtötung der Tumorzelle führt (1).

Die Effektivität einer Therapie mit mAK wird von verschiedenen Faktoren bestimmt (Anzahl der Antigen-Moleküle pro Zelloberfläche; Anzahl der Zellen, welche das Antigen (AG) exprimieren; Tumormasse; Tumorkavolisierung; Vorhandensein von AG auf nicht-neoplastischen Zellen; Ausscheidung der mAK aus dem Blut; Dosis und Route der Verabreichung, Auftreten einer gegen die Antikörper gerichteten Immunantwort) (8).

Diese Therapieform zeichnet sich aus, da gesundes Gewebe nicht geschädigt wird (2).

## **10.2 Spezieller Teil**

### **10.2.1 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes**

Es wurden zahlreiche monoklonale Antikörper (mAK) zur Bekämpfung von Tumoren des Menschen (malignes Melanom, Osteosarkom) entwickelt. Diese mAK erkennen auch canine Melanom- und Osteosarkomzellen. Sie triggern eine ADCC und CDC mit Elementen des caninen Immunsystems (3).

#### *Canines malignes Lymphom*

Ogleich es sich beim caninen malignen Lymphom nicht um einen soliden Tumor handelt, wird dieser Tumor wegen seines häufigen Vorkommens aufgeführt.

## Schrifttum

### Unter Verwendung monoklonaler Antikörper

---

#### *Behandlung mit dem chimären mAK 231:*

Speziell der chimäre mAK 231, ein IgG2a Isotyp, zeigt *in vivo* ein selektives Bindungsverhalten gegenüber malignen caninen Lymphozyten in über 86 % der evaluierten Fallbeispiele. *In vitro* konnte die Veranlassung einer Antikörper-abhängigen zell-medierten Zytotoxizität nachgewiesen werden (12). Darüber hinaus konnte murinen mAK *in vitro* eine selektive Aktivität gegen canine Lymphomzellen nachgewiesen werden (10).

In Kombination mit Chemotherapeutika zeigte sich *in vivo* eine signifikant verlängerte mediane Remissionszeit und Überlebenszeit im Vergleich zu einer historischen Kontrollgruppe (7, 9). In diesem Zusammenhang wurde die Verabreichung von zwei Chemotherapie-Zyklen (L-Asparaginase/Vincristin/Cyclophosphamid/Doxorubicin) in Kombination mit mAK 231, welcher über 5 Tage verabreicht wird (3 Wochen nach Ende der Chemotherapie), empfohlen (13). Darüber hinaus existieren Studien, die *in vitro* nachweisen konnten, dass ein von Liposomen ummanteltes Doxorubicin, gebunden an mAK 231, eine verstärkte tumor-zerstörende Wirksamkeit hat (14).

#### *Canines malignes Melanom (in vitro):*

#### *Behandlung mit mAK 14.G2a in Kombination mit rhIL-2:*

Anhand des mAK 14.G2a, bei welchem es sich um einen Antigangliosid-mAK handelt, konnte in Kombination mit rhIL-2 *in vitro* eine Potenzierung der Lyse caniner maligner oraler Melanomzelllinien durch canine PBL („periphere-blood-lymphocytes“) erreicht werden. Dabei beobachtete man die Entwicklung einer ADCC durch canine neutrophile Granulozyten (4).

Da das canine maligne Melanom zur Metastasierung in die Lunge neigt, wurde nach einer Möglichkeit gesucht, die Kapazität von alveolären Makrophagen der Lunge (PAM, „pulmonary alveolar macrophages“) hinsichtlich der Abtötung von Tumorzellen zu steigern. Der mAK 14.G2a und der mAK R24 erkennen die GD2- und GD3-Gangliosid-Antigene, welche auf frischen Melanomzellen bei

## Schrifttum

### Unter Verwendung monoklonaler Antikörper - Zusammenfassung

---

Mensch und Hund exprimiert werden. Es gelang durch IFN- $\gamma$  aktivierte PAM gesunder Hunde *in vitro* das zytotoxische Potential dieser Zellen gegenüber caninen malignen Melanomzellen, unter Einbeziehung dieser Antigangliosid-mAKs, deutlich zu steigern (11).

#### **Zusammenfassung**

Man wies nach, dass bestimmte monoklonale Antikörper canine Melanom- und Osteosarkomzellen erkennen und eine ADCC und CDC mit Elementen des caninen Immunsystems triggern (4, 11, 3).

Speziell der chimäre mAK 231, ein IgG2a Isotyp, zeigt *in vivo* ein selektives Bindungsverhalten gegenüber malignen caninen Lymphozyten (12, 9, 7, 14, 13). Anhand des mAK 14.G2a, bei welchem es sich um einen Antigangliosid-mAK handelt, konnte in Kombination mit rIL-2 *in vitro* eine Potenzierung der Lyse caniner maligner oraler Melanomzelllinien durch canine PBL („peripherer blood-lymphocytes“) erreicht werden (4).

# Quellenverzeichnis

## Unter Verwendung monoklonaler Antikörper

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Bishop, R.B.;** Monoclonal Antibodies.
- 2 **Blattman, J.N., P.D. Greenberg;** Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. *Science*, 2004, 305: 200-205.
- 3 **Helfand, S.C.;** Immunomodulation as adjunctive anticancer therapy; Congress Proceedings, The European Society of Veterinary Internal Medicine, 10<sup>th</sup> Congress, 14-16 Sept. 2000, Neuchatel, Switzerland.
- 4 **Helfand, S.C., S.A. Soergel, R.L. Donner, J. Gan, J.A. Hank, M.J. Lindstrom, P.M. Sondel;** Potential to involve multiple effector cells with human recombinant interleukin-2 and antiganglioside monoclonal antibodies in a canine malignant melanoma immunotherapy model. *J. Immunother. Emphasis. Tumor Immunol.*, Oct. 1994, 16(3): 188-197.
- 5 **Huang, X., G. Molema, S. King, L. Watkins, T.S. Edgington, P.E. Thorpe;** Tumor infarction in mice by antibody-directed targeting of tissue factor to tumor vasculature. *Science*, 1997, 275: 547.
- 6 **Huber, C.H.;** Immuntherapie maligner Erkrankungen: Tumorbehandlung jenseits von Chemotherapie.
- 7 **Jeglum, K.A.;** Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, Jan. 1996, 26(1): 73-85.
- 8 **MacEwen, E.G., S.C. Helfand;** In: MacEwen, E.G., S.C. Helfand; Immunology and biologic therapy of cancer. In: Withrow, S.J., E.G. MacEwen (Hrsg.): *Small Animal Clinical Oncology*. 2. Ausgabe, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1996, pp. 99-116.
- 9 **MacEwen, E.G., S.C. Helfand;** Recent advances in biologic therapy of cancer. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 1993, 15: 909-922.
- 10 **Rosales, C., K.A. Jeglum, M. Obrocka, Z. Steplewski;** Cytolytic activity of murine anti-dog lymphoma monoclonal antibodies with canine effector cells and complement. *Cell. Immunol.*, Sept. 1988, 115(2): 420-428.
- 11 **Soergel, S.A., E.G. MacEwen, D.M. Vail, D.M. Potter, P.M. Sondel, S.C. Helfand;** The immunotherapeutic potential of activated canine alveolar macrophages and antitumor monoclonal antibodies in metastatic canine melanoma. *J. Immunother.*, Sept. 1999, 22(5): 443-453.
- 12 **Steplewski, Z., C. Rosales, K.A. Jeglum, J. McDonald-Smith;** *In vivo* destruction of canine lymphoma mediated by murine monoclonal antibodies. *In Vivo*, July-Aug. 1990, 4(4): 231.
- 13 **Tizard, I.R.;** In: Tizard, I.R., R.M. Schubot (Hrsg.); *Veterinary Immunology: An introduction*. Chapter 31, WB Saunders, Philadelphia, 2004, pp. 364-377.
- 14 **Vail, D.M.;** *Liposomes: from the lab to the clinics*. 1996.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### 11. Immuntherapien unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

##### 11.1 Allgemeiner Teil

##### 11.1.1 Unter Verwendung von Tumorantigenen zur Behandlung von Tumoren

**Tab. 35: Übersicht über wichtige humane Tumorantigene/-Produkte (siehe 3.1) (1)**

Antigen-Typ:	Beispiele humaner Tumor-Antigene:
Produkte von Onkogenen	<i>Ras, Her-2/neu</i>
Tumorsuppressor-Gene	p53
Gen-Produkte, welche im normalen Gewebe in inaktiver Form vorliegen	MAGE, BAGE, GAGE
Produkte überexprimierter Gene	Tyrosinase, gp75, gp100, MART
onkofetale Antigene	karzinoembryonales Antigen (CEA), $\alpha$ -Fetoprotein
Glykolipide und Glykoproteine	GM <sub>2</sub> , GD <sub>2</sub>

Das Immunsystem ist in der Lage, eigene Antigene, welche von Tumorzellen exprimiert werden, zu erkennen. Bei den Differenzierungsantigenen handelt es sich um Prototypen eigener Antigene, die sowohl von entarteten, aber auch von gesunden Körperzellen exprimiert werden. Dies führt zum Stadium einer Immuntoleranz, da das Immunsystem nicht veranlasst wird, gegen diese „Eindringlinge“ vorzugehen, dies aber wohl könnte (durch B- und T-Lymphozyten). Würde das Immunsystem gegen diese Antigene agieren, bestünde die Gefahr, dass auch gesunde Zellen (und damit gesundes Gewebe) angegriffen und geschädigt werden. Die Entwicklung einer Autoimmunkrankheit wäre von

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

großer Wahrscheinlichkeit (51). So werden diese Differenzierungs-antigene bei einem an einem Melanom erkrankten Patienten, von den Melanomzellen und von normalen Melanozyten auf ihrer Oberfläche, in einem bestimmten Differenzierungsstadium, exprimiert (19).

Eine aktive Immuntherapie in Form von Vakzinen ist eine sehr gute Möglichkeit, das maligne Melanom bei Mensch und Tier zu behandeln. Durch die nun mögliche DNA-Vakzinierung konnten wichtige Hürden in der Entwicklung von „Tumorimpfstoffen“ überwunden werden (27).

DNA kann in großen Mengen relativ kostengünstig und einfach gewonnen werden. Dabei kann das infragekommende Antigen, in Form eines bakteriellen Plasmids, kloniert werden. Danach wird das Plasmid in die Haut oder in den Muskel eingebracht (intradermale oder intramuskuläre Injektion). Infolge dieser Positionierung sind nun professionelle antigen-präsentierende Zellen (Dendritische Zellen) in der Lage, das transkribierte und translatierte Antigen, im engen Verbund mit MHC- und kostimulatorischen Molekülen, auf ihrer Zelloberfläche zu exprimieren (5).

Darüber hinaus enthalten die Bakterien-DNA und die Plasmid-DNA immunstimulatorische CpG-Sequenzen, welche in adjuvanter Form ebenfalls auf sehr effektive Weise das Immunsystem zu aktivieren vermögen (9, 38).

Dennoch gestaltet sich eine Vakzinierung gegen gewebsspezifische Differenzierungsantigene als weitaus schwieriger, da es sich hier um körpereigene Proteine der Tumorzellen handelt. Aus diesem Grund werden xenogene Antigene oder xenogene DNA verwendet, die eine Homologie zu den Tumorantigenen aufweisen. Durch sie kann eine Immunantwort induziert werden, weil die Immuntoleranz gegenüber „eigenen“ Tumordifferenzierungsantigenen durchbrochen und eine humorale, aber auch zelluläre Immunantwort gegen den Tumor induziert werden kann (33, 5). Die am besten charakterisierten Melanom-Differenzierungsantigene sind melanosomale Membranglykoproteine, wie z. B. die Tyrosinase, das gp75/tyrosinase-related-protein-1 (TRP-1), das TRP-2 und das gp100/pMel17 (51). Diese Genprodukte spielen eine wichtige Rolle bei der Pigmentierung der Haut und der Bestimmung der Haarfarbe. An Mäusen konnte beobachtet werden, dass sich unter Einfluss der Tyrosinase pigmentlose (Albino), des gp75 braune, des

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

TRP-2 eine schieferfarbene und durch gp100 sich eine silberfarbene Fellfärbung entwickelte (17).

Diese Genprodukte können von Antikörpern und T-Zellen (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) erkannt werden (37, 26, 50). In einer Studie konnte anhand von Mäusen herausgefunden werden, dass durch das Erkennen des humanen gp75 aufseiten des Immunsystems direkt eine kreuzreaktive Immunität gegenüber dem gp75 der Mäuse induziert wurde. Als entscheidend erwies sich hierbei, dass die Erkennung des murinen gp75 durch humane gp75-Antikörper eine Durchbrechung der Immuntoleranz (B- und T-Zellen) hervorrief. Dabei erfolgte die Immunisierung mittels einer homologen DNA-Vakzinierung. Somit konnte ein Schutz gegen den Tumor ermöglicht werden, ohne dabei eine Autoimmunität zu entfachen. Dies zeigte, dass also eine Entkopplung möglich ist (51).

Auch in der Tiermedizin versuchte man entweder anhand einer Blockierung, Regenerierung (Signalwege) oder einer Regulierung mancher dieser Tumorantigene, einen therapeutischen Effekt bei Tumoren des Hundes zu erzielen. Im Vordergrund standen dabei auch hier die Proteine der Tyrosinase-Familie, das gp75 (*“tyrosinase-related-protein-1“*, *“brown-locus-protein“*) und das gp100 (*“silver-locus-protein“*) (16, 3).

Bei anderen Haustierarten liegen derzeit keine *In-vivo*-Studien vor.

#### **11.1.2 FasL als Agens zur Behandlung des malignen Melanoms**

Der sog. Fas-Ligand (FasL, CD95L, APO-1L) wird auf der Oberfläche einiger nicht-lymphoider Zellen, aber auch von mehreren Tumoren exprimiert (43, 49).

Mittels „Priming“ (nach Induktion einer Apoptose) können Immunantworten sowohl bei viralen Antigenen, als auch bei Tumorantigenen gesteigert werden (2, 18). Daten belegen, dass zahlreiche Signalwege, welche eine intrinsische Apoptose fördern, meist bei caninen Melanom-Zellen inaktiviert sind (22). Daher suchte man nach Genen, die diese Signalwege wieder zu reaktivieren vermögen. Man geht davon aus, dass am Primärtumor lokalisierte, starke Entzündungsreaktionen eine antitumorale Immunantwort fördern, durch welche eine Metastasierung verhindert werden kann.

Diese Kriterien werden anscheinend durch die forcierte Überexpression von Fas-ligand (FasL) (siehe **3.2.6**) erfüllt (42). Die Bindung von Fas durch FasL

oder anti-Fas-Antikörper, welche eine Fas-Rezeptor-Multimerisation steigern, bewirkt eine Formation des „*death-inducing-signaling-complex*“ (DISC). Dieser Komplex initiiert eine Kaskade von Ereignissen, welche zur Auslösung einer Apoptose führt. Manche Zellen verhalten sich gegenüber dieser DISC-Formation refraktär. Dennoch kann in diesen Zellen durch die Bindung von Fas ebenfalls eine Apoptose, durch Amplifizierung des Signals mittels einer mitochondrialen „Aktivierung“, induziert werden (23). Diese pro-apoptotischen Fähigkeiten machen FasL zu einem höchst interessanten gentherapeutischen Agens (6).

Tatsächlich sind an der Entstehung eines Tumors oft mehrere mutierte Gene beteiligt. Auch die Anwesenheit von FasL kann bei dem malignen Lymphom sehr heterogen sein, so dass es nicht grundsätzlich möglich ist, eine Apoptose zu bewirken. In einer humanmedizinischen Studie konnte z. B. eine Resistenz von B-Zellen des Non-Hodgkin´s Lymphom gegenüber einer CD95 (Fas/Apo-1)-vermittelten Apoptose aufgezeigt werden (35).

### **11.1.3 Suizid-Gentherapie anhand von Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase und Ganciclovir**

Wie bereits unter **4.2.4** beschrieben wurde, werden im Rahmen einer Suizid-Gentherapie Gene in die Tumorzelle eingeschleust, die für bestimmte Enzyme kodieren. Diese sollen wiederum systemisch verabreichte, ungiftige „*pro-drugs*“ in der transfizierten Tumorzelle in die aktive Form überführen. Somit ist es möglich, nur bestimmte maligne Zellen zu schädigen (52). Auf diese Weise werden allerdings nicht nur transfizierte Tumorzellen, sondern auch genetisch unveränderte Tumorzellen, welche sich in der direkten Nachbarschaft befinden, erreicht. Dieser „*bystander effect*“ wird durch Übertragung der nun toxischen Substanzen über „*gap junctions*“ bewerkstelligt. Zur Abtötung ist jedoch eine bestimmte Konzentration des Chemotherapeutikums nötig. Erst dann gehen beide Zellarten zugrunde. Als Beispiele hierfür sind die Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase (siehe **4.3.1.4**), die Ganciclovir-Behandlung und das Cytosin-Deaminase-Gen (plus systemischer 5-Fluorocytosin-Verabreichung) zu nennen (28, 30, 14). Eine auf diese Weise

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

abgetötete Tumorzelle kann nun vom Immunsystem des Patienten erkannt werden.

Für den klinischen Gebrauch müssen Suizid-Gene *in vivo* speziell in Tumorzellen freigesetzt werden. Retroviren infizieren z. B. nur sich teilende Zellen, so dass diese mit nur einem geringen Risiko bei Tumoren des Nervensystems angewendet werden können. Der Wirkungseffekt hängt dabei von der Aktivität des Zellzyklus zum Zeitpunkt des Gentransfers ab (41). Darüber hinaus können tumor-spezifische Promotoren zur direkten Induktion einer Suizid-Genexpression verwendet werden. Hierbei ist z. B. die Tyrosinase zu nennen, die nur von Melanozyten und Melanom-Zellen transkribiert wird (46).

#### **11.1.4 Unter Verwendung der humanen MHC-unabhängigen zytotoxischen T-Zell-Linie TALL-104**

Die klonalen humanen TALL-104 Zelllinien (TALL-104; CD3<sup>+</sup>, TCRαβ<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> und CD16<sup>-</sup>) sind mit einer einzigartig potenten und v. a. spezieübergreifenden, MHC-unabhängigen, antitumoralen Aktivität ausgestattet. Gesunde Zellen werden dabei kaum geschädigt. Diese Zelllinien werden vor dem klinischen Einsatz einer sich letal auswirkenden  $\gamma$ -Bestrahlung (40 Gy) ausgesetzt (7, 47). *In vitro* wird sowohl seine Zytotoxizität, aber auch das Wachstum der TALL-104-Zellen durch rhIL-2 unterstützt (8).

Unter Verwendung dieses Verfahrens möchte man limitierende Aspekte bewältigen, welche in der Behandlung mit patienteneigenen Effektorzellen oder bei der exogenen Zuführung von Zytokinen (hohe Dosen von rhIL-2) auftreten (8).

Am Mausmodell konnten unter Verwendung von TALL-104 partielle und komplette Langzeitremissionen bei implantierten humanen und syngen Tumoren aber auch bei spontan auftretenden Tumoren dieser Tiere beobachtet werden. Man fand heraus, dass der Transfer von TALL-104-Zellen eine protektive antitumorale Immunität induziert (7, 8, 47).

### **11.1.5 Unter Verwendung eines attenuierten *Salmonella typhimurium*-Präparates (VNP20009)**

Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts führte William Coley eine Krebstherapie durch, welche nicht von chirurgischer Natur war, sondern auf dem Einsatz lebender Bakterien (oder Fraktionen davon) basierte. Damals war dies von einer hochgradigen Toxizität und einem Mangel an Tumorspezifität begleitet. Dennoch wurde von Fällen berichtet, bei denen eine antitumorale Immunantwort deutlich sichtbar wurde (10, 11).

Das Interesse an Bakterien als antitumorale Agentien erlosch nicht. Man erkannte, dass bestimmte obligat, aber auch fakultativ (z. B. *Salmonella typhimurium*) anaerobe Organismen die Fähigkeit besitzen, in der Mikro-umgebung eines Tumors Kolonien zu bilden und sich zu vermehren (29, 32). Zahlreiche Mechanismen bewirken ihren antitumoralen Effekt. Zum einen zeigen anaerobe Organismen eine direkte Toxizität gegenüber Tumorzellen, welche über ein Typ-III-Sekretionssystem (in vielen gramnegativen Bakterien vorkommende hochkomplexe Multiproteinapparate) erfolgt. Dabei werden zytotoxische Peptide direkt in das Zytoplasma der Zielzelle injiziert (15). Zum anderen rufen sie eine nicht-spezifische Immunantwort, eine Unterdrückung essentieller Nährstoffe und eine Veränderung der Mikroumgebung des Tumors hervor, welche durch die Kolonisation der Bakterien verursacht wird (44). Man vermutet auch, dass hierbei immunmodulatorische Effekte, wie z. B. die Stimulation von Dendritischen Zellen oder die Veränderung der Polarisierung von T-Helferzellen (Th1- oder Th2-Zellen, siehe **7.1.3**), eine wichtige Rolle einnehmen (31).

Der Tropismus anaerober Bakterien für hypoxisches Tumorgewebe ermöglicht ihnen eine antitumorale Wirkung gegenüber Zellen zu entfachen, welche oft gegenüber konventionellen Therapieformen (Chemotherapie, Radiotherapie) eine Resistenz aufweisen. Ihre Beweglichkeit ermöglicht ihnen eine effektive Migration und Dispersion innerhalb des Tumorgewebes, aber auch zu weiter entfernten Orten (44). Dazu kommt, dass sich Bakterien exzellent als Vektoren zur Genfreisetzung eignen. Dies ist bedingt durch ihr großes Genom und durch die sich unkompliziert erweisende Manipulationsmöglichkeit. Auf diese Weise

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

können Transgene, welche für Zytokine, antiangiogene Faktoren, Enzyme und Immunogene kodieren, eingebracht werden (45).

Als vorteilhaft erwies sich auch, dass bei Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen, die bakterielle Infektion anhand von Antibiotika kontrolliert werden kann (44).

Die attenuierte Form von *S. typhimurium* (VNP20009) erlaubt eine auf die jeweilige Tierart (Maus, Hund) passende Dosierung und weist keine Tumorspezifität auf, wie sie bei manchen nativen Salmonellen beobachtet wurde (44). Dieses Präparat zeigte in verschiedenen murinen syngen und xenogenen Tumormodellen nach intraläsionaler und systemischer Verabreichung eine antitumorale Aktivität (39). Diese Wirkung kann durch Kombination mit einer Radiotherapie signifikant gesteigert werden (34).

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### 11.2 Spezieller Teil

##### 11.2.1 Immuntherapie bei soliden Tumoren des Hundes

**Tab. 36: die Anwendung gentherapeutischer Verfahren an soliden Tumoren des Hundes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
malignes Melanom	humane oder murine Tyrosinase	
	(evtl. plus hGM-CSF);	5, 4
	humanes gp100;	16
	FasL;	6
	hgp100-ATCV;	3
	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44
Adenokarzinom des Magens	Ad.CAGHSV-TK/GCV	25
Osteosarkom der Gliedmaße	TALL-104-Zellen;	8, 48, 47
	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44
(malignes Lymphom	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44)
diverse Weichteiltumoren	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44
diverse Karzinome	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44

**Legende:**

FasL = Fas ligand; hgp100-ATCV = allogene Tumorzell-Vakzine, welche xenogenes gp100 exprimiert und ein Adenovirus als Vektor dient; hGM-CSF = Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; AdCAGHSV-TK/GCV = Komposition aus einem adenoviralen Vektor, welcher das HSV-TK-Gen trägt und einem CAG-Promotor; *S. typhimurium* = *Salmonella typhimurium*; ( ) = kein solider Tumortyp

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### Canines malignes Melanom:

Anhand von gentherapeutischen Verfahren konnten bei Mäusen, bei Menschen und bei Hunden mit malignem Melanom Therapieerfolge verzeichnet werden (36, 12, 20, 21). Dennoch wurde weiterhin nach neuen immuntherapeutischen Verfahren geforscht.

#### *Behandlung mit xenogener humaner Tyrosinase-DNA:*

Wie bereits unter **11.1.1** beschrieben wurde, bietet die Vakzinierung mit xenogener humaner Tyrosinase-DNA eine neue spektakuläre Methode zur Behandlung des malignen Melanoms des Hundes (als Tumormodell des Menschen).

Im Rahmen einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Sicherheit und Wirksamkeit einer solchen Vakzinierung an 9 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignem Melanom Stadium-II bis -IV untersucht. Die Einschlusskriterien dieser Studie umfassten eine Lebenserwartung von mindestens 6 Wochen, keine diagnostizierbaren Gehirnmetastasen, keine Vorbehandlung (chirurgische Exzision, Radiotherapie und/oder Chemotherapie) in den letzten 3 Wochen vor Studienbeginn und kein Vorhandensein schwerer anderer Erkrankungen.

#### Demographie der Hunde:

- 7 von 9 Hunden (78 %) waren einmalig einer chirurgischen Exzision des Tumors unterzogen worden.
- 2 von 9 Hunden (22 %) waren mehrmalig einer chirurgischen Exzision des Tumors unterzogen worden.
- 3 von 9 Hunden (33 %) waren einer Radiotherapie unterzogen worden.
- 5 von 9 Hunden (56 %) hatten ein orales malignes Melanom.
- 3 von 9 Hunden (33 %) hatten ein malignes Melanom im Nagelbett oder an der Fußsohle.
- 1 von 9 Hunden (11 %) hatte ein intraokuläres malignes Melanom.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 3 von 9 Hunden (33 %) hatten ein malignes Melanom Stadium-II (Tumor: 2 - 4 cm Durchmesser, keine Lymphknotenbeteiligung).
- 2 von 9 Hunden (22 %) hatten ein malignes Melanom Stadium-III (Tumor >4 cm oder mit Lymphknotenbeteiligung).
- 4 von 9 Hunden (44 %) hatten ein malignes Melanom Stadium-IV (mit weiter entfernt liegenden Metastasen).

Jeweils 3 Hunden wurde die Vakzine in einer Dosierung von 100, 500 und 1500 µg/Injektion, 2x wöchentlich, für insgesamt 4 Vakzinierungen intramuskulär (Mm. semimembranosus und semitendinosus) injiziert (anhand des CO<sub>2</sub>-angetriebenen Biojectors 2000). Die 9 Hunde erhielten im Verlauf dieser Studie nur die Vakzinierung als Tumortherapie.

#### Ergebnisse:

- Zum Zeitpunkt des letzten Kontrolltermins (oder zum Zeitpunkt des Todes) wurde bei 7 von 9 Hunden (78 %) ein progressives Tumorstadium dokumentiert.
- Bei 2 von 9 Hunden (22 %) wurden keine diagnostizierbaren Anzeichen einer Krankheit (NED; „*no evidence of disease*“) dokumentiert.
- 2 Hunde mit malignem Melanom Stadium-II zeigten im Studienverlauf ein progressives Tumorstadium (PD) (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 1,9 und 3,2 Monate). Todesursache bei diesen Hunden war ein lokal-progressives Tumorstadium.
- 1 Hund mit malignem Melanom Stadium-II zeigte 2 Wochen nach der Therapie und beim letzten Kontrolltermin eine NED (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 16,5 Monate). Todesursache bei diesem Hund war ein Hyperadrenokortizismus.
- 1 Hund mit malignem Melanom Stadium-III wies 2 Wochen nach der Therapie und beim letzten Kontrolltermin eine PD auf (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 1,8 Monate). Todesursache bei diesem Hund war ein lokal-progressives Tumorstadium.
- 1 Hund mit malignem Melanom Stadium-III zeigte 2 Wochen nach der Therapie und beim letzten Kontrolltermin eine NED (Überlebenszeit nach

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

Therapiebeginn: 16,7 Monate). Dieser Hund verstarb an einem hepatozellulären Karzinom.

- 2 von 4 Hunden (50 %) mit malignem Melanom Stadium-IV hatten 2 Wochen nach der Therapie und beim letzten Kontrolltermin eine PD (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 4,2 und 14 Monate). Todesursache bei diesen Hunden war ein lokal-progressives Tumorwachstum und eine progressive Metastasenbildung.

Einer der 4 Hunde (25 %) kam 2 Wochen nach der Therapie in eine komplette Remission (CR) des Tumors, wies aber beim letzten Kontrolltermin eine PD auf (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 13 Monate).

Der 4. Hund zeigte 2 Wochen nach der Therapie einen stabilen Krankheitsverlauf (SD) und beim letzten Kontrolltermin eine PD (Überlebenszeit nach Therapiebeginn: 19,6 Monate). Zum Zeitpunkt der Evaluierung war dieser Hund noch am Leben.

- Anhand dieser Therapie wurde eine mediane Überlebenszeit von 12,9 Monaten erzielt.
- Abgesehen von minimalen lokalen Hautreaktionen, konnten bei den 9 Hunden keine systemischen Nebenwirkungen beobachtet werden.

Obgleich diese Studie keiner Randomisierung unterlag und keine Kontrollgruppe aufgeführt wurde, lassen diese Ergebnisse eine leise Hoffnung aufkommen. Die Effektivität einer Tyrosinase-Therapie könnte durchaus durch eine vorhergehende chirurgische, chemotherapeutische (Carboplatin) oder radiotherapeutische Behandlung gesteigert werden, da möglicherweise durch Kontrolle des Tumorwachstums, die Wirksamkeit (hinsichtlich der Tumorremissionsrate und medianen Überlebenszeit) dieser Therapie deutlich potenziert werden könnte (5).

Ein paar Jahre später untersuchte man in einer verwandten prospektiven Studie die Sicherheit und Wirksamkeit eine xenogenen Plasmid-DNA, welche entweder für

- humane Tyrosinase (huTyr, jeweils 3 Hunde: 100/500/1500 µg),
- für murines gp75 (mugp75; jeweils 3 Hunde: 100/500/1500 µg),

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- für murine Tyrosinase (muTyr, jeweils 5 Hunde: 100/500 µg),
- oder für muTyr und/oder huGM-CSF (9 Hunde: 50 µg muTyr; jeweils 3 Hunde: 100/400/800 µg huGM-CSF; jeweils 3 Hunde: 50 µg muTyr plus 100/400/800 µg huGM-CSF) kodiert.

Die Vakzinierung erfolgte zweimal wöchentlich (insgesamt 4 Vakzinierungen) intramuskulär. Ausschlusskriterium dieser Studie war u. a., dass die Tiere in den 3 Wochen vor Therapiebeginn keiner anderen Behandlung (Operation, Radiotherapie, Chemotherapie) unterzogen worden waren. Keiner der insgesamt 55 Hunde wurde im Verlauf der Studie einer weiteren Tumorthherapie unterzogen.

Abgesehen von lokalen Depigmentierungen bei zwei Tieren und minimalen Hautreizungen an der Injektionsstelle, konnten keine Nebenwirkungen registriert werden.

Nach Kaplan-Meier errechnete man für alle Hunde mit Stadium-II bis Stadium-IV folgendes:

- Diejenigen Hunde, welche 50 µg muTyr erhalten hatten, lieferten eine mediane Überlebenszeit von von 8,0 Monaten.
- Diejenigen Hunde, welche 100/400/800 µg huGM-CSF erhalten hatten, lieferten eine mediane Überlebenszeit von 4,9 Monaten.
- Diejenigen Hunde, welche muTyr/huGM-CSF erhalten hatten, lieferten eine mediane Überlebenszeit von >13,4 Monaten (zum Zeitpunkt der Evaluierung nicht feststellbar, da 7 der 9 Hunde (78 %) noch am Leben waren).
- Bei 33 Hunden (Stadium-II und Stadium-III), welche im Vorfeld einer lokoregionalen Tumorkontrolle unterzogen worden waren, konnte eine mediane Überlebenszeit von 18,9 Monaten erzielt werden.

Diese Studie resultierte in der Meinung, dass es sich hierbei um ungefährliche Verfahren handle. Als besonders effektiv erwies sich die Behandlung bei Hunden, welche einer lokalen Tumorkontrolle unterzogen worden waren (4). Die Ergebnisse der anderen Präparate werden nicht genannt. Zu beachten ist, dass diese Studie keiner Randomisierung unterlag. Des Weiteren wurden keine

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

Kontrollgruppen eingerichtet. Die Ergebnisse diese Studie können demnach nicht als wissenschaftlich beweisend gewertet werden.

#### *Behandlung mit Ad-2-hgp100:*

Eine weitere Behandlungsmöglichkeit stellt die Verwendung von humanem gp100, welches in Form einer DC-Vakzinierung verabreicht wird. Dabei werden Dendritische Zellen (DC, gewonnen aus dem Knochenmark) *ex vivo* maturiert und mit einem Vektor (Adenovirus) transduziert, der das humane Xenoantigen (Ad-2-hgp100) exprimiert.

Dieses Verfahren wurde an 3 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignen Melanom (Stadium-I; Tumordurchmesser: <2 cm) erprobt. Alle 3 Hunde waren im Vorfeld einer chirurgischen Exzision des Tumors und einer Radiotherapie unterzogen worden.

Als Injektionsintervall wurden 30 Tage gewählt. Die Tiere erhielten eine unterschiedliche Anzahl von Zellen. Dabei wurde als geringste Dosis  $5 \times 10^5$  DC/kg s.c. angegeben.

Obgleich ein Hund zum Zeitpunkt der Evaluierung bereits ganze vier Jahre überlebt hatte (exakte Überlebenszeit ist nicht bekannt, da dieser Hund auch weiterhin keine Anzeichen einer Krankheit aufwies), konnte bei dem zweiten Hund eine Überlebenszeit von 1,8 Jahren und beim dritten Hund eine Überlebenszeit von 7 Monaten erzielt werden.

Diese sehr unterschiedlichen Ergebnisse könnten möglicherweise auf einer mangelnden Kreuzreaktivität basieren, wobei antigenbestimmende Faktoren der Vakzine den antigenbestimmenden Faktoren des Wirtes ähneln. Spezifische CD8<sup>+</sup>-T-Zellen hätten daher gegen das hgp100-Antigen agieren sollen. Im Falle des 3. Hundes ist es jedoch, nach Meinung der Autoren, nicht zu einer ausreichenden Aktivierung des Immunsystems gekommen.

Bei dem Hund, welcher eine Überlebenszeit von 1,8 Jahren aufgewiesen hatte, hegte man den Verdacht, dass die radiotherapeutische Behandlung zur Induktion einer antitumoralen Antwort führte. Es ist bekannt, dass nekrotische

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

oder apoptotische neoplastische Zellen in der Lage sind, eine Immunreaktion gegen gp100 via „*cross-priming*“ zu stimulieren (6).

Statistisch ist dieser Versuch zwar nicht als relevant anzusehen, dennoch konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass es möglich ist, canine Dendritische Zellen aus Knochenmark-Vorläuferzellen zu gewinnen und anhand dieser Zellen, nach Transduktion mit einem Adenovirus, einen antitumoralen Effekt zu initiieren (16).

#### *Behandlung mit hgp100-ATCV:*

Vor kurzem wurde von der Entwicklung einer allogenen Tumorzell-Vakzine berichtet, wobei ein Adenovirus als Vektor dient, welcher für xenogenes gp100 kodiert (hgp100-ATCV). Dieses Verfahren zeichnet sich praktisch durch eine einfache Produktion und theoretisch durch die Möglichkeit der Präsentation einer unbekanntem Antigenzusammensetzung (in Kombination mit einem bekannten xenogenen Antigen) aus. Demnach könnte auf diese Weise eine Kreuzreaktion zwischen den xenogenen Homologa und Eigenproteinen hervorgerufen, die Immuntoleranz gebrochen und eine klinische antitumorale Immunantwort erzeugt werden.

Das Glykoprotein 100 (gp100) wird in 90 % der Fälle von melanozytären Zellen exprimiert. Diese Tatsache macht es zu einem wichtigen Agens hinsichtlich der Durchbrechung der Immuntoleranz und zur Induktion einer zytolytischen T-Zell-Aktivität (3).

Im Rahmen einer prospektiven Phase-II-Studie wurde an 34 Hunden mit histologisch nachgewiesenem malignem Melanom (13 Hunde mit Stadium-II, 7 Hunde mit Stadium-III und 14 Hunde mit Stadium-IV) die Wirksamkeit von hgp100-ATCV erprobt (3). Dabei wiesen 25 Hunde ein orales malignes Melanom, 8 Hunde ein subunguales malignes Melanom und 1 Hund ein kutanes malignes Melanom auf. Keines der Tiere war einer Chemotherapie oder chirurgischen Exzision des Tumors unterzogen worden. Die Hunde erhielten intradermal (seitlicher Thorax) 4 Injektionen im Abstand von 1 Woche und weitere 4 Injektionen im Abstand von 2 Wochen. Die Dosis betrug

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

$2 \times 10^7$  Zellen (hgp100-ATCV) verdünnt in 0,2 ml NaCl-Lösung. Die Vakzinierung wurde von allen Hunden gut vertragen.

Ergebnisse:

- Bei 6 der 34 Hunde (18 %) wurde eine objektive Tumorremission festgestellt.
- 1 von 34 Hunden (3 %) zeigte eine komplette Remission (CR) des Tumors. Der Hund mit CR war zum Zeitpunkt der Evaluierung noch am Leben und wies eine Gesamtüberlebenszeit von 28,1 Monaten auf. Dieser Hund hatte ein orales malignes Melanom Stadium-II.
- 5 von 34 Hunden (15 %) zeigten eine partielle Remission (PR) des Tumors.
- Ein Hund zeigte einen stabilen Krankheitsverlauf (SD) und war zum Zeitpunkt der Evaluierung ebenfalls noch am Leben und wies eine Gesamtüberlebenszeit von 28,5 Monaten auf. Dieser Hund hatte ein subunguales malignes Melanom Stadium-II.
- Es zeigte sich, dass der Hund mit CR, die 5 Hunde mit PR und der Hund mit SD eine weitaus bessere mediane Überlebenszeit und progressionsfreie Zeit lieferten als die Hunde, bei denen keine Tumorkontrolle erreicht werden konnte (11,2 Monate vs. 3,1 Monate;  $p=0,0014$ ).

Diese nicht-randomisierte Studie liefert keinen wissenschaftlich korrekten Beweis einer Wirksamkeit. Eine Kontrollgruppe wurde nicht aufgeführt.

*Behandlung mit FasL:*

Als äußerst interessant erwies sich der Einsatz von intratumoral injiziertem FasL in der Behandlung des malignen oralen Melanoms des Hundes als Pendant zu dem malignen Melanom des Menschen.

Ziel dieser Studie war es *in vitro*, anhand einer Überexpression von FasL in den Tumorzellen, eine extrinsische Apoptose der Tumorzellen zu induzieren.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

*In vivo* sollte im Rahmen einer prospektiven Phase-I-Studie die geeignete Dosis für die Verabreichung von FasL herausgefunden werden. 5 Hunde mit histologisch nachgewiesenem malignem Melanom (Stadium-III und -IV) wurden dieser Behandlung unterzogen. Die Hunde erhielten einmalig peri- und intratumoral eine Injektionsmenge von 600 µg hFasL-GFP (gelöst in 1 mg kationischer Liposome (Lipofectin<sup>®</sup>, Life Technologies, Bethesda, *In-vivo*-Lizenz bei Roche, Palo Alto, CA)) in einem Volumen von ca. 1 ml steriler Kochsalzlösung (0,9 % NaCl). Sieben Tage nach dieser Therapie wurden die Tiere untersucht und eine Standard-Tumorthherapie (chirurgische Exzision des Tumors und/oder Bestrahlungstherapie) oder palliative Behandlung mit Piroxicam begonnen.

Man kam zu folgenden Ergebnissen (*in vivo* und *in vitro*):

- 1) Die direkt peri- und intratumoral verabreichte FasL-DNA wurde als unproblematisch bewertet. Im Beobachtungszeitraum von 7 Tagen zeigten sich keine Nebenwirkungen.
- 2) 2 von 5 Hunden (40 %) wiesen eine komplette Remission des Tumors auf. Einer dieser Hund wurde zusätzlich radiotherapeutisch behandelt (Überlebenszeit: 11 Monate), der zweite Hund wurde einer Hemimandibulektomie und einer Radiotherapie unterzogen (Überlebenszeit: 6 Monate).
- 3) 2 von 5 Hunden (40 %) wiesen eine partielle Remission des Tumors auf. Einer dieser Hund wurde zusätzlich einer chirurgischen Exzision des Tumors unterzogen (Überlebenszeit: 3,3 Monate) behandelt, der zweite Hund wurde einer chirurgischen Exzision und einer Radiotherapie unterzogen (Überlebenszeit: 20,5 Monate).
- 4) Diese Überlebenszeiten wurden in Korrelation mit einer Expression von FasL der Tumorzellen gesetzt. Einer der 5 Hunde erwies sich als Fas-negativ, lebte aber nach dieser Behandlung 6 Monate.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 5) Der 5. Hund wurde zusätzlich mit Piroxicam behandelt und zeigte einen sehr bösartigen, wenig differenzierten und bereits weit fortgeschrittenen Tumor. Man war der Meinung, dass bei diesem Hund keine Therapie mehr möglich war. Er lebte noch 3 Wochen.
- 6) Es wurde vermutet, dass eine Expression von FasL an der Lokalisation des Tumors zu einer Sensitivität anderer, im Hundekörper befindlichen Tumorzellen gegenüber einer Radiotherapie führte. Es sei allerdings auch möglich, dass auf diese Weise eine nicht-spezifische Immun- oder Entzündungsantwort gefördert wird, welche die klinische Tumorantwort unterstützt. Dies konnte mit Hilfe histologischer Untersuchungen seinerzeit nicht eruiert werden.
- 7) Aufgrund der Tatsache, dass verschiedene Signalwege, die zur Induktion einer intrinsischen Apoptose nötig sind, beim caninen Melanom in inaktiver Form vorliegen (22), entschied man sich, eine extrinsische Apoptose unter Verwendung von FasL mittels einer Überexpression zu fördern. In allen 5 Fas-positiven caninen Melanom-Zelllinien konnte eine Apoptose induziert werden. Im Gegensatz hierzu zeigte sich eine Fas-negative Zelllinie gegenüber einer Apoptoseninduktion als resistent.

Dennoch resultierte diese Studie in der Meinung, dass durch „*priming*“ von Immunzellen mit apoptotischen Tumorzellen eine antitumorale Immunantwort gesteigert werden könne und dass sich eine FasL-Überexpression zur Förderung einer Apoptose Fas-positiver caniner Melanome eigne. *In vivo* wurde die peri- und intratumorale Applikation von FasL als gefahrlose Route zur therapeutischen Gen-Freisetzung beurteilt (6).

*Behandlung mit VNP20009 (attenuiertes S. typhimurium):*

In einer anderen prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirkung des VNP20009-Präparates (attenuiertes *Salmonella typhimurium*) an 41 Hunden mit

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

7 verschiedenen histologisch nachgewiesenen Tumortypen getestet. 11 der 41 Hunde hatten ein malignes Melanom.

Die 41 Tiere wiesen entweder ein sehr weit fortgeschrittenes Tumorstadium auf oder waren bereits einer Tumorthherapie unterzogen worden, welche sich jedoch in diesen Fällen als wirkungslos erwiesen hatte (24 Hunde: chirurgische Exstirpation des Tumors; 9 Hunde: Radiotherapie; 8 Hunde: Chemotherapie; 6 Hunde: Immuntherapie).

Man verabreichte diesen Hunden VNP20009 ein- bis zweimal wöchentlich in Form einer Infusion (Dosierung:  $1,5 \times 10^5$  CFU/kg -  $1 \times 10^8$  CFU/kg, über 30 Minuten bis zu 4 Stunden). Als Höchstdosis wurden  $3 \times 10^7$  CFU/kg festgelegt, da sich hierbei eine dosislimitierende Toxizität in Form von Fieber und Vomitus zeigte. Bei einigen Patienten wurde eine Linksverschiebung neutrophiler Granulozyten und eine erhöhte Aktivität der hepatischen Serum-Transaminase im peripheren Blut nachgewiesen. Diese wurden allerdings weder als dosislimitierend angesehen, noch als Krankheitssymptom gewertet.

Nach dieser Behandlung konnte bei 2 Hunden mit metastasierenden malignen Melanomen eine komplette Remission des Tumors dokumentiert werden. Ein weiterer Hund zeigte eine partielle Remission des Tumors.

Die mediane Überlebenszeit war bei den Hunden (von insgesamt 41 Hunden), welche einer CR, PR oder SD aufwiesen, gegenüber den Tieren mit progressivem Krankheitsverlauf signifikant verlängert (7,8 Monate vs. 1,7 Monate;  $p=0,0094$ ).

Dennoch schien die Kolonisationsrate weder mit der biologischen Aktivität, noch mit der verabreichten Dosis zu korrelieren.

Es ist denkbar, dass der attenuierte LPS-Anteil von VNP20009 zur Entwicklung einer nicht-spezifischen antitumoralen Wirkung (z. B. durch Induktion des TNF- $\alpha$ ) beiträgt (44).

Anhand dieser Studie konnte keine Wirksamkeit nachgewiesen werden. Die Studie unterlag weder einer Randomisierung, noch wurde eine Kontrollgruppe eingerichtet. Damit ein therapeutischer Einsatz möglich wird, müssen noch weitere Studien mit definierten Patientengruppen und festgelegter Dosis stattfinden.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### Canines Magen-Adenokarzinom (induziert):

##### *Behandlung mit Ad.CAGHSV-TK/GCV:*

Im Rahmen eines Tierversuchs wurde anhand einer Suizid-Gentherapie die Wirkung der Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase (HSV-TK) und des Ganciclovir (GCV) an Hunden mit Magentumoren (Adenokarzinome) erprobt. Die Adenokarzinome waren durch die Verabreichung von N-Ethyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidin (ENNG) induziert worden.

Ziel dieser Studie war es zum einen, die Effektivität von Retroviren und von Adenoviren als Vektoren im Rahmen dieses Gentransfers zu untersuchen. Dabei wurde ein *Escherichia coli* (*E. coli*)-*lacZ*-Markergen in Kombination mit einem CAG-Promotor verwendet. Dieses wurde in Verbindung mit dem jeweiligen viralen Vektor in den Tumor eingebracht (z. B. Ad.CAG/*lacZ*).

Zum anderen wollte man Informationen über die Effektivität dieser Suizid-Gentherapie *in situ* anhand eines adenoviralen Vektors, welcher das HSV-TK-Gen trägt (mit nachfolgender intravenöser Applikation von GCV; HSV-TK/GCV), bekommen.

Man kam zu folgenden Ergebnissen:

- 1) Nach intratumoraler Injektion des retroviralen Vektors konnte nur ein sehr geringer Gentransfer, der sich auf die Injektionsstelle beschränkte, beobachtet werden. Im restlichen Tumorgewebe konnte keine Aktivität registriert werden. Das Tumorgewebe veränderte sich weder in makroskopischer noch histologischer Hinsicht. Es entstand der Verdacht, dass das Fehlschlagen dieser Therapie auf der Natur des Tumors (fehlende Kapsel, hohe Replikationsrate der Mukosazellen) beruhe.
- 2) Unter Verwendung eines adenoviralen Vektors (Ad.CAG/*lacZ*) konnte auch in anderen Tumorarealen eine Aktivität erzielt werden. Dieser Vektor wurde auch in regionale Lymphknoten des Magens injiziert. Es konnten weder in den regionalen Lymphknoten des Magens, noch in anderen Organen (z. B. Leber, Niere, Hoden) makroskopische und histologische Veränderungen festgestellt werden.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 3) Nach Applikation von Ad.CAGHSV-TK ( $1,6 \times 10^9$  pfu/Tier) führte man eine Behandlung mit GCV (50 mg/kg/d; 2x täglich für 3 Tage) durch. Demzufolge konnte man eine Degeneration des Gewebes mit Vakuolisierung der Tumorzellen, welche einen pyknotischen Zellkern aufwiesen, und eine Hämorrhagie im Umfeld der Injektionsstelle beobachten.
  
- 4) Nach einer viertägigen Behandlung wurde zusätzlich eine Koagulation eosinophiler Zellen, eine massive Hämorrhagie und eine hochgradige Infiltration von Entzündungszellen im ganzen Tumor festgestellt. Diese Vorgänge konnten auch in allen regionalen Lymphknoten beobachtet werden. In Leber, Milz, Niere, Lunge und Hoden konnten histologisch weder Metastasen, noch anderweitige abnormale Veränderungen registriert werden. Nach dieser Behandlung (Ad.CAGHSV-TK/GCV) wurde eine deutliche Erhöhung der Leberwerte beobachtet. Eine signifikante renale Toxizität zeigte sich nicht (25).

Es ist bekannt, dass die Genexpression adenoviraler Vektoren in den ersten 12 Stunden post injectionem relativ gering ist. Das Maximum wird erst nach 24 - 36 Stunden erreicht (40). Die Halbwertszeit des phosphorylierten GCV (toxischer Metabolit) beträgt in der Zelle 18 - 24 Stunden (13). Demnach ist die Entwicklung einer akuten Toxizität nicht ausgeschlossen und sollte in der Erforschung dieses Therapieverfahrens bedacht werden. Als problematisch könnte sich auch die Entwicklung einer Immunität gegenüber adenoviralen Vektoren darstellen.

Tierversuche dieser Art sind in der Regel abzulehnen. Dennoch muss angemerkt werden, dass die Erforschung dieser Therapie zur Behandlung von Magen-Adenokarzinomen (Neigung zur Metastasierung in Lymphknoten, aber auch in Leber, Lunge und Knochen; Induktion einer karzinomatösen Peritonitis (24)), eventuell eine Möglichkeit darstellen wird, diesen Tumor bei Hund und Mensch zu besiegen.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### Canines Osteosarkom:

##### *Behandlung mit der Zelllinie TALL-104:*

Da auch das Osteosarkom des Hundes dem des Menschen sehr ähnlich ist, entschied man sich, die Wirksamkeit der Zelllinie TALL-104 am Hundemodell zu erproben (8, 47, 48). 23 Hunde gingen in diese Studie ein. Im Vorfeld wurden alle Hunde einer Amputation der betroffenen Gliedmaße (bzw. Gliedmaßenabschnittes) unterzogen. Daraufhin erhielten 22 der 23 Hunde innerhalb der nächsten 24 Stunden eine Chemotherapie (Cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup> i.v. plus saline Diurese). Die Chemotherapie wurde über 1 - 4 Zyklen in einem dreiwöchigen Intervall durchgeführt. Nach Beendigung der Chemotherapie wurden alle Hunde auf Metastasen untersucht. Konnten keine klinischen Anzeichen einer Metastasierung gefunden werden, wurden die Hunde für die Behandlung mit TALL-104-Zellen zugelassen. Die TALL-104-Injektionen erfolgten intravenös in einer Dosierung von 10<sup>8</sup> Zellen/kg (gelöst in einer salinen Lösung) in Form einer Infusion über 30 Minuten an 5 aufeinander folgenden Tagen. Danach wurden im monatlichen Abstand an 2 aufeinander folgenden Tagen TALL-104-Zellen in Form einer Boosterung (bei gleicher Dosierung) verabreicht. Insgesamt erhielten die Tiere jeweils 9 Injektionen.

Während und nach den Injektionen wurden bei manchen Hunden Nebenwirkungen in Form einer akuten Toxizität (Fieber, Schüttelfrost, Diarrhö, Vomitus und Hypotension) dokumentiert.

Diese Nebenwirkungen konnten allerdings durch eine ähnliche Studie nicht belegt werden, da hier keine signifikanten Nebenwirkungen weder auf klinischer, noch auf labordiagnostischer Ebene auftraten. Dabei ist allerdings zu bemerken, dass in dieser Studie die Hunde von Anfang an eine Immunsuppression (Cyclosporin A) erhielten (8).

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

Ergebnisse:

- 11 der 23 Hunde (47,8 %) entwickelten nach 4,1 bis 21,5 Monaten Metastasen.
- 2 der 23 Hunde (8,7 %) entwickelten nach 4 bzw. 5,9 Monaten eine schwere Discopathie (1 Hund) und eine progressive Neuropathie (1 Hund). Sie wurden auf Wunsch ihrer Besitzer euthanasiert.
- 10 der 23 Hunde (43,5 %) waren zum Zeitpunkt der Evaluierung am Leben, wobei 1 Hund ab dem 9. Monat Lungenmetastasen aufwies, aber insgesamt 13 Monate (nach Operation) überlebte.
- Die 9 restlichen Hunde wiesen keine Krankheitsanzeichen im Zeitraum von 12,1 bis 29,5 Monaten (nach Operation) auf.
- 1 der 23 Hunde (4,3 %) lebte noch 2,3 Jahre ohne Anzeichen einer Krankheit. Dieser Hund hatte nach der Amputation nur die ersten 5 Injektionen erhalten.
- Als mediane Überlebenszeit aller teilnehmenden Hunde konnten 11,5 Monate und als mediane tumorfreie Zeit 9,8 Monate erzielt werden.

Man war der Auffassung, dass als Parameter der Effektivität dieser Therapie, im Vergleich zu anderen Standardtherapieformen, nur die mediane tumorfreie Zeit in Betracht gezogen werden könne. Demnach konnte nur eine Steigerung von 7 - 7,5 Monaten auf 9,8 Monaten bewirkt werden.

Möglicherweise könnte sich die Applikation einer einzelnen hohen Dosis, anstelle von mehreren niedrig dosierten Injektionen, als effektiver erweisen.

Alle Hunde entwickelten Antikörper gegen die TALL-104-Zellen (im Zeitraum von 10 - 15 Tagen nach der ersten Injektion). Nach 30 Tagen wurde ein Plateau erreicht, welches auch noch nach 2 Jahren messbar war.

Auf zellulärer Ebene konnte ein signifikanter Anstieg der NK-Aktivität während und nach der Behandlung mit TALL-104 und vor einer Rezidiventwicklung beobachtet werden ( $p < 0,01$ ). Dieser Anstieg wurde bereits zu einem Zeitpunkt offensichtlich, an dem unter Verwendung einer Standarddiagnostik (z. B. Röntgen) keine klinischen Anzeichen einer Rezidiventwicklung (Metastasen) erkannt werden konnten. Dennoch sollte man dieser Beobachtung nur *in vitro* eine prognostische Bedeutung zu sprechen (48).

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### *Behandlung mit VNP20009 (attenuiertes *S. typhimurium*):*

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirkung des VNP20009-Präparates (attenuiertes *Salmonella typhimurium*) an 41 Hunden mit 7 verschiedenen histologisch nachgewiesenen Tumortypen getestet (siehe **11.2.1 „canines malignes Melanom“**). 4 der 41 Hunde hatten ein Osteosarkom. Nach dieser Behandlung konnte bei 1 von 4 Hunden mit metastasierendem Osteosarkom eine partielle Remission des Tumors erzielt werden (44).

#### *Canines Mamma-Adenokarzinom:*

##### *Behandlung mit der Zelllinie TALL-104:*

Bei einem Hund mit Mamma-Adenokarzinom konnte nach der Verabreichung von TALL-104-Zellen eine Reduktion der größten Lungenmetastasen um 50 % beobachtet werden. Der Hund verstarb innerhalb von 10 Wochen. Dennoch vertrat man die Meinung, dass diese Therapie bei Hunden mit einem kleineren Tumor effektiv sein könnte (47).

#### *Canines malignes Lymphom*

Beim malignen Lymphom handelt es sich nicht um einen soliden Tumor. Dennoch soll dieser Tumor an dieser Stelle erwähnt werden.

##### *Behandlung mit der Zelllinie TALL-104:*

Das canine maligne Lymphom wurde für eine Therapie mit TALL-104-Zellen als ungeeignet beurteilt, da hier keine signifikante antitumorale Immunantwort induziert werden konnte (8).

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

#### *Behandlung mit VNP20009 (attenuiertes *S. typhimurium*):*

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirkung des VNP20009-Präparates (attenuiertes *Salmonella typhimurium*) an 41 Hunden mit 7 verschiedenen histologisch nachgewiesenen Tumortypen getestet (siehe **11.2.1 „canines malignes Melanom“**). 2 von 41 Hunden hatten ein malignes Lymphom.

Nach dieser Behandlung konnte bei einem der beiden Lymphom-Hunde eine komplette Remission des Tumors dokumentiert werden (44). Eine Überlebenszeit und tumorfreie Zeit ist nicht bekannt.

#### *Canine Weichteiltumoren und Karzinome:*

#### *Behandlung mit VNP20009 (attenuiertes *S. typhimurium*):*

In einer prospektiven Phase-I-Studie wurde die Wirkung des VNP20009-Präparates (attenuiertes *Salmonella typhimurium*) an 41 Hunden mit 7 verschiedenen histologisch nachgewiesenen Tumortypen getestet (siehe **11.2.1 „canines malignes Melanom“**) (44).

24 von 41 Hunden hatten folgende Tumoren:

- 16 der 41 Hunde hatten einen Weichteiltumor (hier definiert als: 8 anaplastische/undifferenzierte Sarkome, 5 Fibrosarkome, 1 Rhabdomyosarkom, 1 Hämangioperizytom, 1 Myxosarkom),
- 5 der 41 Hunde hatten ein Karzinom (1 Schilddrüsenkarzinom, 1 Karzinom der Cerumendrüse im Gehörgang, 1 Adenokarzinom der Tonsillen),
- 2 der 41 Hunde hatten ein Hämangiosarkom,
- und 1 der 41 Hunde hatte einen Mastzelltumor.

Nach dieser Behandlung konnte bei:

- bei 1 von 16 Hunden (6 %) mit Weichteiltumoren eine komplette Remission des Tumors erzielt werden,

## **Schrifttum**

### **Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren**

---

- bei 3 von 16 Hunden (19 %) mit Weichteiltumoren ein stabiler Krankheitsverlauf (SD) dokumentiert werden,
- und bei 1 von 5 Hunden (20 %) mit Karzinomen ein SD dokumentiert werden.

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeut. Verfahren - Zusammenfassung

#### Zusammenfassung

**Tab. 37: Behandlungsansätze mit anderen gentherapeutischen Verfahren an soliden Tumoren des Hundes**

Tumor:	Therapieansatz:	Referenz:
<b>malignes Melanom</b>	humane oder murine Tyrosinase (evtl. plus hGM-CSF); humanes gp100; FasL; hgp100-ATCV; VNP20009 (atttenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	5, 4 16 6 3 44
<b>Adenokarzinom des Magens</b>	Ad.CAGHSV-TK/GCV	25
<b>Osteosarkom der Gliedmaße</b>	TALL-104-Zellen; VNP20009 (atttenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	8, 48, 47 44
<b>(malignes Lymphom</b>	VNP20009 (atttenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44)
<b>diverse Weichteiltumoren</b>	VNP20009 (atttenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44
<b>diverse Karzinome</b>	VNP20009 (atttenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	44

**Legende:**

FasL = Fas ligand; hgp100-ATCV = allogene Tumorzell-Vakzine, welche xenogenes gp100 exprimiert und ein Adenovirus als Vektor dient; hGM-CSF = Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; AdCAGHSV-TK/GCV = Komposition aus einem adenoviralen Vektor, welcher das HSV-TK-Gen trägt und einem CAG-Promotor; *S. typhimurium* = *Salmonella typhimurium*; ( ) = kein solider Tumortyp

Eine Vakzinierung gegen Differenzierungsantigene (z. B. die Tyrosinase, das gp75/tyrosinase-related-protein-1 (TRP-1), das TRP-2 und das gp100/pMel17 (51)) gestaltet sich als weitaus schwieriger, da es sich hier um körpereigene Proteine der Tumorzellen handelt. Aus diesem Grund werden xenogene Antigene oder xenogene DNA verwendet, die eine Homologie zu den Tumorantigenen aufweisen. Es kann dadurch eine Immunantwort hervorgerufen werden, da die Immuntoleranz gegenüber „eigenen“ Tumordifferenzierungs-

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer genterapeut. Verfahren - Zusammenfassung

---

antigenen durchbrochen und eine humorale, aber auch zelluläre Immunantwort gegen den Tumor induziert wird (33, 5).

Demnach versuchte man auch *in vivo* anhand dieser Verfahrensweisen (mittels *muriner Tyrosinase*; *muriner Tyrosinase in Kombination mit humanem GM-CSF*; *humanem gp100 und hgp100-ATCV*) einen Effekt am caninen malignen Melanom zu erzielen (5, 4, 16, 3).

Weitere Daten belegen, dass zahlreiche Signalwege, welche eine intrinsische Apoptose fördern, meist in den Tumorzellen des caninen malignen Melanoms inaktiviert sind. Auf der Induktion dieser Signalwege basiert die Anwendung von *FasL* als Agens zur Behandlung des caninen malignen Melanoms (6).

Im Rahmen einer Suizid-Gentherapie werden Gene in die Tumorzelle eingeschleust, welche für bestimmte Enzyme kodieren. Diese sollen wiederum systemisch verabreichte, ungiftige „*pro-drugs*“ in der transfizierten Tumorzelle in die aktive Form überführen. So ist es möglich, nur bestimmte maligne Zellen zu schädigen (52). Auf diese Weise werden nicht nur transfizierte Tumorzellen, sondern auch genetisch unveränderte Tumorzellen erreicht, die sich in der direkten Nachbarschaft befinden. Dieser „*bystander effect*“ wird durch Übertragung der nun toxischen Substanzen über „*gap junctions*“ bewerkstelligt (28, 30, 14).

Ein derartiges Verfahren zeigte Erfolge in der Behandlung eines induzierten caninen Adenokarzinoms des Magens. Hierbei wurde ein Präparat verwendet, welches aus der Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase und Ganciclovir besteht. Als Genfähre diente ein Adenovirus (*Ad.CAGHSV-TK/GCV*) (25).

Auch klonale *humane TALL-104-Zelllinien* (TALL-104; CD3<sup>+</sup>, TCRαβ<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup> und CD16<sup>-</sup>) sind mit einer potenten und v. a. spezies-übergreifenden MHC-unabhängigen antitumoralen Aktivität ausgestattet. Gesunde Zellen werden dabei kaum geschädigt. Am caninen Osteosarkom der Gliedmaße konnte bereits eine Wirksamkeit dieser Therapie beobachtet werden (8, 48, 47).

Im Kampf gegen den Krebs weisen auch anaerobe Bakterien ein hohes therapeutisches Potential auf, wobei zahlreiche Mechanismen ihren antitumo-

## Schrifttum

### Unter Verwendung anderer gentherapeut. Verfahren - Zusammenfassung

---

ralen Effekt bewirken. Zum einen zeigen sie eine direkte Toxizität gegenüber Tumorzellen, da zytotoxische Peptide direkt in das Zytoplasma der Zielzelle injiziert werden (15). Zum anderen rufen sie eine nicht-spezifische Immunantwort, eine Unterdrückung essentieller Nährstoffe und eine Veränderung der Mikroumgebung des Tumors hervor, welche durch die Kolonisation der Bakterien verursacht wird.

In diesem Zusammenhang konnte einem attenuierten *Salmonella typhimurium*-Präparat (attenuiertes VNP20009) eine Wirkung am Beispiel caniner Weichteiltumoren (Studiendefinition siehe 11.2.1), des caninen malignen Melanoms, des caninen Karzinoms, des caninen Osteosarkoms und des caninen malignen Lymphoms dokumentiert werden (44).

# Quellenverzeichnis

## Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Abbas, A.K.;** In: Abbas, A.K., A.H. Lichtman, J.S. Pober (Hrsg.); Cellular and molekular immunology. Chapter 17, WB Saunders, Philadelphia, 2005, pp. 391-410.
- 2 **Albert, M.L., B. Sauter, J.N. Bhardwa;** Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature*, 1998, 392: 86-89.
- 3 **Alexander, A.N., M.K. Huelsmeyer, A. Mitzey, R.R. Dubielzig, I.D. Kurzman, E.G. MacEwen, D.M. Vail;** Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2006, 55: 433-442.
- 4 **Bergman, P.J., M.A. Camps-Palau, J.A. McKnight, N.F. Leibman, D.M. Craft, C. Leung, J. Liao, I. Riviere, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, P. Gregor, A.N. Houghton, M.A. Perales, J.D. Wolchok;** Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, May 2006, 24(21): 4582-4585.
- 5 **Bergman, P.J., J. McKnight, A. Novosad, S. Charney, J. Farrelly, D. Craft, M. Wulderk, Y. Jeffers, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, N. Segal, P. Gregor, M. Engelhorn, I. Riviere, A.N. Houghton, J.D. Wolchok;** Long-Term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with Xenogeneic Human Tyrosinase: A phase I trial. *Clin. Cancer Res.*, April 2003, 9: 1284-1290.
- 6 **Bianco, S.R., J. Sun, S.P. Fosmire, K. Hance, M.L. Padilla, M.G. Ritt, D.M. Gethy, R.C. Duke, S.J. Withrow, S. Lana, D.T. Matthiesen, S.W. Dow, D. Bellgrau, G.R. Cutter, S.C. Helfand, J.F. Modiano;** Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10: 726-736.
- 7 **Cesano, A., S. Visonneau, S.C. Clark, D. Santoli;** Cellular and molekular mechanisms of activation of MHC non-restricted cytotoxic cells by IL-12. *J. Immunol.*, 1993, 151: 2943-2957.
- 8 **Cesano, A., S. Visonneau, K.A. Jeglum, J. Owen, K. Wilkinson, K. Carner, L. Reese, D. Santoli;** Phase I clinical trial with a human major histocompatibility complex nonrestricted cytotoxic T-cell line (TALL-104) in dogs with advanced tumors. *Cancer Res.*, July 1996, 56(13): 3021-3029.
- 9 **Chu, R.S., O.S. Targoni, A.M. Krieg, P.V. Lehmann, C.V. Harding;** CpG oligodeoxynucleotides act as adjuvants that switch on T helper 1 (Th1) immunity. *J. Exp. Med.*, 1997, 186: 1623-1631.
- 10 **Coley, W.B.;** Late results of the treatment of inoperable sarcoma by mixed toxins of *Erysipelas* and *Bacillus prodigosus*. *Am. J. Med. Sci.*, 1906, 131: 375-430.
- 11 **Coley, W.B.;** The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases (1893). *Clin. Orthop.* 1991, 262: 3-11.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 12            **Dow, S.W., R.E. Elmslie, A.P. Willson, L. Roche, C. Gorman, T.A. Potter;** *In vivo* tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. *J. Clin. Invest.*, June 1998, 101(11): 2406-2414.
- 13            **Freeman, S.M., K.A. Whartenby, J.L. Freeman, C.N. Abboud, A.J. Marrogi;** *In situ* use of suicide genes for cancer therapy. *Semin. Oncol.*, 1996, 23: 31-45.
- 14            **Freytag, S.O., M. Khil, H. Stricker, J. Peabody, M. Menon, M. DePeralta-Venturina, D. Nafziger, J. Pegg, D. Paielli, S. Brown, K. Barton, M. Lu, E. Aguilar Cordova, J.H. Kim;** Phase I study of replication-competent adenovirus-mediated double suicide gene therapy for the treatment of locally recurrent prostate cancer. *Cancer Res.*, 2002, 62(17): 4968-4976.
- 15            **Galan, J.E., A. Collmer;** Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. *Science*, 1999, 284: 132-138.
- 16            **Gyorffy, S., J.C. Rodriguez-Lecompte, J.P. Woods, R. Foley, S. Kruth, P.C.Y. Liaw, J. Gaudie;** Bone marrow-derived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 Antigen. *J. Vet. Intern. Med.*, 2005, 19: 56-63.
- 17            **Hearing, V.J., K. Tsukamoto;** Enzymatic control of pigmentation in mammals. *FASEB J.*, 1991, 5: 2902-2909.
- 18            **Henry, F., O. Boisteau, L. Bretaudeau, B. Lieubeau, K. Meflah, M. Gregoire;** Antigen-presenting cells that phagocytose apoptotic tumor-derived cells are potent tumor vaccines. *Cancer Res.*, 1999, 59: 3329-3332.
- 19            **Houghton, A.N., M. Eisinger , A.P. Albino, J.G. Cairncross, L.J. Old;** Surface antigens of melanocytes and melanomas. Markers of melanocyte differentiation and melanoma subsets. *J. Exp. Med.*, 1982, 156: 1755-1766.
- 20            **Houghton, A.N., J.S. Gold, N.E. Blanchere;** Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. *Curr. Opin. Immunol.*, 2001, 13: 134-140.
- 21            **Kim, C.J., S. Dessureault, D. Gabrilovich, D.S. Reintgen, C.L. Slingluff, Jr.;** Immunotherapy for melanoma. *Cancer Control.*, 2002, 9(1): 22-30.
- 22            **Koenig, A., S.R. Bianco, S. Fosmire, J. Wojcieszyn, J.F. Modiano;** Expression and significance of p53, rb, p21/waf-1, p16/ink-4°, and PTEN tumor suppressors in canine melanoma. *Vet. Pathol.*, 2002, 39(4): 458-472.
- 23            **Krammer, P.H.;** CD95's deadly mission in the immune system. *Nature*, 2000, 407: 789-795.
- 24            **Kurihara, M.;** Inducement of canine gastric cancer by N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (ENNG). *Gastric Cancer*, 1998, 1: 95-103.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 25        **Matsukura, N., A. Hoshino, T. Igarashi, H. Hasegawa, T. Okino, M. Onda, O. Iijima, K. Akiyama, T. Goto, K. Takubo, S. Suzuki, T. Shimada;** *In situ* gene transfer and suicide gene therapy of gastric cancer induced by N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in dogs. *Jpn. J. Cancer Res.*, Sept. 1999, 90: 1039-1049.
- 26        **Merimsky, O., E. Baharav, Y. Shoenfeld, S. Chaitchik, R. Tsigelman, D. Cohen-Aloro, P. Fishman;** Anti-tyrosinase antibodies in malignant melanoma, *Cancer Immunol. Immunother.*, 1996, 42: 297-302.
- 27        **Moelling, K.;** DNA for genetic vaccination and therapy. *Cytokines Cell. Mol. Ther.*, 1997, 3: 127-135.
- 28        **Moolten, F.L., J.M. Wells;** Curability of tumors bearing herpes thymidine kinase genes transferred by retroviral vectors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990, 82(4): 297-300.
- 29        **Mose, J.R., G. Mose;** Oncolysis by *Clostridia*. I. Activity of *Clostridium butyricum* (M-55) and other non-pathogenic *Clostridia* against the Ehrlich carcinoma. *Cancer Res.*, 1964, 24: 212-216.
- 30        **Mullen, C.A., M. Kilstrup, R.M. Blaese;** Transfer of the bacterial gene for cytosine deaminase to mammalian cells confers lethal sensitivity to 5-fluorocytosine: a negative selection system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1992, 89(1): 33-37.
- 31        **Norimatsu, M., V. Chance, G. Dougan, C.J. Howard, B. Villarreal-Ramos;** Live *Salmonella enterica serovar Typhimurium* (*S. Typhimurium*) elicit dendritic cell response that differ from those induced by killed *S. Typhimurium*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, April 2004, 98(3-4): 193-201.
- 32        **Pawelek, J.M., K.B. Low, D. Bermudes;** Tumor-targeted *Salmonella* as a novel anticancer vector. *Cancer Res.*, 1997, 57: 4537-4544.
- 33        **Perales, M.A., N.E. Blachere, M.E. Engelhorn, C.R. Ferrone, J.S. Gold, P.D. Gregor, G. Noffz, J.D. Wolchok, A.N. Houghton;** Strategies to overcome immune ignorance and tolerance. *Semin. Cancer Biol.*, 2002, 12: 63-71.
- 34        **Platt, J., S. Sodi, M. Kelley, S. Rockwell, D. Bermudes, K.B. Low, J. Pawelek;** Antitumor effects of genetically engineered *Salmonella* in combination with radiation. *Eur. J. Cancer*, Dec. 2000, 36(18): 2397-2402.
- 35        **Plumas, J., M.-C. Jacob, L. Chaperot, J.-P. Molens, J.-J. Sotto, J.-C. Bensa;** Tumor B cells from non-hodgkin's lymphoma are resistant to CD95 (Fas/Apo-1)-mediated apoptosis. *Blood*, April 1998, 91(8): 2875-2885.
- 36        **Quintin-Colonna, F., P. Devauchelle, D. Fradelizi, B. Mourrot, T. Faure, P. Kourilsky, C. Roth, M. Mehtali;** Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Ther.*, Dec. 1996, 3(12): 1104-1112.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 37            **Robbins, P.F., M. El-Gamil, Y. Kawakami, E. Stevens, J.R. Yannelli, S.A. Rosenberg;** Recognition of tyrosinase by tumor-infiltrating lymphocytes from a patient responding to immunotherapy. *Cancer Res.*, 1994, 54: 3124-3126.
- 38            **Roman, M., E. Martin-Orozco, J.S. Goodman, M.D. Nguyen, Y. Sato, A. Ronaghy, R.S. Kornbluth, D.D. Richman, D.A. Carson, E. Raz;** Immunostimulatory DNA sequences function as T helper-1-promoting adjuvants. *Nat. Med.*, 1997; 3: 849-854.
- 39            **Rosenberg, S.A., P.J. Spiess, D.E. Kleiner;** Antitumor effects in mice of the intravenous injection of attenuated *Salmonella typhimurium*. *J. Immunother.*, 2002, 25: 218-25.
- 40            **Roth, J.A., D. Nguyen, D.D. Lawrence, B.L. Kemp, C.H. Carrasco, D.Z. Ferson, W.K. Hong, R. Komaki, J.J. Lee, J.C. Nesbitt, K.M. Pisters, J.B. Putnam, R. Schea, D.M. Shin, G.L. Walsh, M.M. Dolormente, C.I. Han, F.D. Martin, N. Yen, K. Xu, L.C. Stephens, T.J. McDonnell, T. Mukhopadhyay, D. Cai;** Retrovirus-mediated wild-type *p53* gene transfer to tumors of patients with lung cancer. *Nat. Med.*, 1996, 2: 985-991.
- 41            **Schmidt-Wolf, G.D., I.G.H. Schmidt-Wolf;** Cancer and gene therapy. *Ann. Hematol.*, 1996, 73: 207-218.
- 42            **Simon, A.K., A. Gallimore, E. Jones, B. Sawitzki, V. Cerundolo, G.R. Screaton;** Fas ligand breaks tolerance to self-antigens and induces tumor immunity mediated by antibodies. *Cancer Cell.*, 2002, 2(4): 315-322.
- 43            **Takahashi, T., M. Tanaka, J. Inazawa, T. Abe, T. Suda, S. Nagata;** Human Fas ligand: gene structure, chromosomal location and species specificity. *Int. Immunol.*, 1994, 6: 1567.
- 44            **Thamm, D.H.;** Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: Phase I evaluation. *Clin. Cancer Res.*, July 2005; 11(13): 4827-4834.
- 45            **Tjuvajev, J., R. Blasberg, X. Luo, L.M. Zheng, I. King, D. Bermudes;** *Salmonella*-based tumor-targeted cancer therapy: tumor amplified protein expression therapy (TAPET) for diagnostic imaging. *J. Control Release*, July 2001, 74(1-3): 313-315.
- 46            **Vile, R.G., I.R. Hart;** Use of tissue-specific expression of the herpes simplex virus thymidine kinase gene to inhibit growth of established murine melanomas following direct intratumoral injection of DNA. *Cancer Res.*, 1993, 53: 3860-3864.
- 47            **Visionneau, S., A. Cesano, K.A. Jeglum, D. Santoli;** Adoptive therapy of canine metastatic mammary carcinoma with the human MHC non-restricted cytotoxic T-cell line TALL-104. *Oncol. Rep.*, Nov.-Dec. 1999, 6(6): 1181-1188.
- 48            **Visionneau, S., A. Cesano, K.A. Jeglum, D. Santoli;** Adjuvant treatment of canine osteosarcoma with the human cytotoxic T-cell line TALL-104. *Clinical Cancer Res.*, July 1999, 5: 1868-1875.

## Quellenverzeichnis

### Unter Verwendung anderer gentherapeutischer Verfahren

---

- 49            **Walker, P.R., P. Saas, P.Y. Dietrich;** Tumor expression of Fas ligand (CD95L) and the consequences. *Curr. Opin. Immunol.* 1998, 10: 564.
- 50            **Wang, R.-F., E. Appella, Y. Kawakami, X. Kang, S.A. Rosenberg;** Identification of TRP-2 as a human tumor antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 1996, 184: 2207-2216.
- 51            **Weber, L.W., W.B., Bowne, J.D. Wolchok, R. Srinivasan, J. Qin, Y. Moroi, R. Clynes, P. Song, J.J. Lewis, A.N. Houghton;** Tumor immunity and autoimmunity induced by immunization with homologous DNA. *J. Clin. Invest.*, 1998, 102: 1258-1264.
- 52            **Yazawa, K., W.E. Fisher, F.C. Brunicardi;** Current progress in suicide gene therapy for cancer. *World J. Surg.*, 2002, 26(7): 783-789.

12. Eine Gesamtübersicht über alle relevanten Behandlungsansätze in der Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind (Tab. 38). Die Referenzen sind dem nachfolgenden Quellenverzeichnis zu entnehmen.

Stoffgruppe	Substanz		Tierart	Tumor	Referenz
<b>Zytokine</b>	Interleukin-2	IL-2	Hund	Sticker-Sarkom	13
			Rind	bovines okuläres Plattenepithelkarzinom Vulvapapillom-Karzinom-Komplex	68, 14, 15 26
		Vero-hIL-2 Zellen	Hund	Melanom	65, 66
		Katze	felines Fibrosarkom	65	
		ALVAC-feIL-2	Katze	felines Fibrosarkom	34
		NYVAC-huIL-2	Katze	felines Fibrosarkom	34
	IL-12		Pferd	Melanom	23
	GM-CSF	fe GM-CSF (mittels Plasmid-Inj.)	Katze	felines Fibrosarkom	siehe 7.2.2
	Kombination mit einem Zytokin oder einer anderen Substanz	rhTNF und rhIL-2	Hund	Melanom	60
				Mammakarzinom	60
				Mastzelltumor (malignes Lymphom)	60
				Plattenepithelkarzinom	60
				Synoviazellsarkom	60
					60
		AdV-hIL-2 und AdV-feIFN-γ	Katze	felines Fibrosarkom	81, 8, 87, 86
		feIL-2, feIFN-γ und fe GM-CSF (mittels Plasmid-KS)	Katze	felines Fibrosarkom	36, 71
		feIL-2, feIFN-γ und fe GM-CSF (mittels Plasmid-Inj.)	Katze	felines Fibrosarkom	siehe 7.2.2
		rhIL-2/rhIL-12	Rind	bovines okuläres Plattenepithelkarzinom	76
		IL-12 plus IL-18	Pferd	Melanom	18
		rhIL-2 plus BCG	Rind	bovines okuläres Plattenepithelkarzinom	67
L-SEA/cIL-2		Hund	maligner Nervenscheidentumor	80	
			Fibrosarkom	80	
	anaplastisches Sarkom		80		
L-SEB/cIL-2 (oder GM-CSF)	Hund	Melanom	17, 35		
hIL-2-Liposom-Inhalation	Hund	Melanom	37		
		Fibrosarkom	37		
		Osteosarkom	37		
		primäres Lungenkarzinom	37		
IL-2-kodierende LDC-Infusion	Hund	Osteosarkom	16		
IL-2/Cisplatin	Pferd	equines Sarkoid	73		

Stoffgruppe	Substanz		Tierart	Tumor	Referenz
<b>Paramunitäts-inducer</b>	BCG (Zellwand-Präparat, inaktiviert, Lebendvakzine)	BCG	Hund	Osteosarkom der Gliedmaße Sticker-Sarkom Mammatumor	62 25 63
			Katze	Mamma-Adenokarzinom	57
			Pferd	equines Sarkoid	40, 84
			Rind	bovines okuläres Plattenepithelkarzinom Vulva-Papillom/Karzinom-Komplex	43, 41, 69 27
	<i>C. parvum</i>	<i>C. parvum</i>	Hund	malignes orales Melanom Mammatumor, Fibrosarkom	55, 48 63 57
			Katze	Mamma-Adenokarzinom	57
	Acemannan	Acemannan	Hund	Fibrosarkom	38
			Katze	felines Fibrosarkom	38
	L-MTP-PE	L-MTP-PE	Hund	Mammatumor	78
			Katze	Mamma-Adenokarzinom	19
			Hund	Osteosarkom der Gliedmaße	53,48,42,52,47,82
			Hund	Hämangiosarkom der Milz	7, 52, 83, 82
	Levamisol	Levamisol	Hund	Mammatumor, (malignes Lymphom)	49 50)
			Katze	Mamma-Adenokarzinom	51
			Pferd	Myxom	30
	Piroxicam/ Meloxicam/ Deracoxib	Piroxicam	Hund	orales Plattenepithelkarzinom Übergangsepithelkarzinom der Harnblase Sticker-Sarkom	70 45, 46 45
			Pferd	mukokutanes Plattenepithelkarzinom	59
		Piroxicam/Cisplatin	Hund	malignes orales Melanom orales Plattenepithelkarzinom Übergangsepithelkarzinom der Harnblase	6 45, 70, 6 45, 44
		Piroxicam/Mitoxantron	Hund	Übergangsepithelkarzinom der Harnblase	24, 58, 64
	Piroxicam/Doxorubicin	Hund	(malignes Lymphom)	61)	
	Cimetidin	Cimetidin	Pferd	Melanom	20
	PIND-ORF (Baypamun P)	Baypamun P	Hund	Mammatumor	2
			Pferd	equines Sarkoid	77
	bakterielle Mischvakzine	bakterielle Mischvakzine	Hund	(malignes Lymphom)	48)
			Katze	Mamma-Adenokarzinom	57
			Hund	Fibrosarkom	7
		bakterielle Mischvakzine plus Chemo.	Hund	Fibrosarkom	7

Stoffgruppe	Substanz		Tierart	Tumor	Referenz
<b>Tumorzell-Vakzinen</b>	autolog	Tumorzell-Vakzine	Rind	kutane Papillomatose okuläres Plattenepithelkarzinom	75, 9, 39 74
		Tumorzell-Vakzine plus Chemo.	Hund	(malignes Lymphom	32, 33)
		Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	Hund	malignes Melanom Fibrosarkom	29 12
		Tumorzell-Vakzine plus Neuraminidase	Hund	Mammatumor	72
		Bio-Immuntherapie plus Tumorzell-Vakzine	Pferd	equines Sarkoid	22
		Tumorzell-Vakzine plus BCG	Rind	Hornkrebs (Plattenepithelkarzinom)	11
	allogen	Tumorzell-Vakzine	Rind	bovines okuläres Plattenepithelkarzinom	28
<b>monoklonale Antikörper (mAK)</b>	mAK 231 (Rituximab)	allein oder in Kombination mit einer Chemotherapie	Hund	(malignes B-Zell-Lymphom	31)
<b>andere gentherapeut. Verfahren</b>	Tyrosinase	humane/murine Tyrosinase (auch in Kombination mit hu GM-CSF)	Hund	malignes Melanom	4, 3
	gp100	humanes gp100	Hund	malignes Melanom	21, 1
		hgp100-ATCV	Hund	malignes Melanom	1
	Ad.CAGHSV-TK/GCV	Ad.CAGHSV-TK/GCV	Hund	Adenokarzinom des Magens	56
	FasL	FasL	Hund	malignes Melanom	5
	TALL-104	TALL-104	Hund	Osteosarkom der Gliedmaße	10, 85
	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhi murium</i> )	VNP20009	Hund	diverse Weichteiltumoren (siehe <b>11.1.2</b> ) malignes Melanom diverse Karzinome (siehe <b>11.1.2</b> ) Osteosarkom, (malignes Lymphom	79 79 79 79)

**Legende:** IL = Interleukin; rhIL = rekombinantes humanes Interleukin; fe = feline; feIFN- $\gamma$  = felines Interferon- $\gamma$ ; rhTNF = rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor; AdV = adenoviraler Vektor; ALVAC-feIL-2 = für felines Interleukin-2 kodierendes rekombinantes Kanariepoxvirus; NYVAC-huIL-2 = für humanes IL-2 kodierendes rekombinantes Vacciniavirus; L-SEA = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus Enterotoxin A; L-SEB = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus Enterotoxin B; hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; LPS = Lipopolysaccharid; L-MTP-PE = in Liposomen eingeschlossenes Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin; BCG = Bazillus Calmette-Guérin; *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*; FasL = Fas ligand; hgp100-ATCV = xenogenes gp100 exprimierende allogene Tumorzell-Vakzine mit adenoviralem Vektor; AdCAGHSV-TK/GCV = adenoviralen Vektor, welcher das HSV-TK-Gen trägt plus CAG-Promotor; KS = Kollagenschwamm; Inj. = Injektion; ( ) = kein solider Tumortyp

# Quellenverzeichnis

## Gesamtübersicht

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Alexander, A.N., M.K. Huelsmeyer, A. Mitzey, R.R. Dubielzig, I.D. Kurzman, E.G. MacEwen, D.M. Vail;** Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2006, 55: 433-442.
- 2 **Berg, G.;** Der Einsatz von Baypamun HK in der Mammatumorbehandlung der Hündin. *Vet. Med. Diss.*, München, 1994.
- 3 **Bergman, P.J., M.A. Camps-Palau, J.A. McKnight, N.F. Leibman, D.M. Craft, C. Leung, J. Liao, I. Riviere, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, P. Gregor, A.N. Houghton, M.A. Perales, J.D. Wolchok;** Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, May 2006, 24(21): 4582-4585.
- 4 **Bergman, P.J., J. McKnight, A. Novosad, S. Charney, J. Farrelly, D. Craft, M. Wulderk, Y. Jeffers, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, N. Segal, P. Gregor, M. Engelhorn, I. Riviere, A.N. Houghton, J.D. Wolchok;** Long-Term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with Xenogeneic Human Tyrosinase: A phase I trial. *Clin. Cancer Res.*, April 2003, 9: 1284-1290.
- 5 **Bianco, S.R., J. Sun, S.P. Fosmire, K. Hance, M.L. Padilla, M.G. Ritt, D.M. Getzy, R.C. Duke, S.J. Withrow, S. Lana, D.T. Matthiesen, D.T. Dow, D. Bellgrau, G.R. Cutter, S.C. Helfand, J.F. Modiano;** Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10: 726-736.
- 6 **Boria, P.A., D.J. Murry, P.F. Bennett, N.W. Glickman, P.W. Snyder, B.L. Merkel, D.L. Schlittler, A.J. Mutsaers, R.M. Thomas, D.W. Knapp;** Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 2004, 224(3): 388-394.
- 7 **Brown, N.O., A.K. Patnaik, E.G. MacEwen;** Canine hemangiosarcoma: Retrospective analysis of 104 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1985, 186: 56-58.
- 8 **Buscher, U., T. Brill, W. Erhardt, J. Hirschberger;** Gentherapie in der Kleintiermedizin. *Tierärztl. Prax.*, 1999, 27(K): 288-290.
- 9 **Campo, M.S., G.J. Grindlay, B.W. O'Neil, L.M. Chandrachud, G.M. McGarvie, W.F.H. Jarrett;** Prophylactic and therapeutic vaccination against a mucosal papillomavirus. *J. Gen Virol.*, June 1993, 74(9): 945-953.
- 10 **Cesano, A., S. Visonneau, K.A. Jeglum, J. Owen, K. Wilkinson, K. Carner, L. Reese, D. Santoli;** Phase I clinical trial with a human major histocompatibility complex nonrestricted cytotoxic T-cell line (TALL-104) in dogs with advanced tumors. *Cancer Res.*, July 1996, 56(13): 3021-3029.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 11 **Chauhan, H.V.S., D.S. Kalra, S.K. Mahajan;** letters to the editor: studies on horn cancer preliminary trials of immunotherapy. Aust. Vet. J., Oct. 1980, 56: 509-510.
- 12 **Chauvet, A.E., G.S. Hogge, J.A. Sandin, D. Lipsitz;** Vertebrectomy, bone allograft fusion, and antitumor vaccination for the treatment of vertebral fibrosarcoma in a dog. Vet. Surg., 1999, 28: 480-488.
- 13 **Den Otter, W., J. Cadée, R. Gavhumende, C.J. De Groot, W.E. Hennink, R. Stewart;** Effective cancer therapy with a single injection of interleukin-2 at the site of the tumour. Cancer Immunol. Immunother., 1999, 48: 419-420.
- 14 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, V.P.M.G. Rutten, E.J. Ruitenber;** Low doses of interleukin-2 can cure large bovine ocular squamous cell carcinoma. Anticancer Res., Nov.-Dec. 1993, 13(6B):2453-2455.
- 15 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, C. Rhode, R. Stewart, J.A.J. Faber, E.J. Ruitenber, V.P.M.G. Rutten;** Therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma with local doses of interleukin-2: 67 % complete regression after 20 month of follow-up. Cancer Immunol. Immunother., July 1995, 41(1):10-14.
- 16 **Dow, S.W., R.E. Elmslie, I. Kurzman, G. MacEwen, F. Pericle, D. Liggitt;** Phase I study of liposome DNA complexes encoding the interleukin 2 gene in dogs with osteosarcoma lung metastases. Hum. Gene Ther., Aug. 2005, 16: 110.
- 17 **Dow, S.W., R.E. Elmslie, A.P. Willson, L. Roche, C. Gorman, T.A. Potter;** *In vivo* tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. J. Clin. Invest., June 1998, 101, (11): 2406-2414.
- 18 **Feige, K., P. Stähli, C. Schelling, L. Heinzerling, M. Seltenhammer, J.-M. Müller, L. Nicolson;** Einsatz von Interleukin-12 und Interleukin-18 kodierender Plasmid DNA zur Therapie von Melanomen beim Schimmel. Pferdeheilkunde Forum 2005 Berliner Fortbildungstage (16.-19. Juni 2005).
- 19 **Fox, L.E., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, D.M. Vail, W. Kisseberth, C. London, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., K.A. Jeglum, M. Rosenberg, R.C. Rosenthal;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine for the treatment of feline mammary adenocarcinoma - a multcenter randomized double-blind study. Cancer Biother., 1995, 10(2): 125-130.
- 20 **Goetz, T.E., G.K. Oglivie, K.G. Keegan, P.J. Johnson;** Cimetidine for treatment of melanomas in three horses. J. Am. Vet. Med. Assoc., Feb. 1990, 196(3): 449-452.
- 21 **Gyorffy, S., J.C. Rodriguez-Lecompte, J.P. Woods, R. Foley, S. Kruth, P.C.Y. Liaw, J. Gauldie;** Bone marrow-derived dendritic cell vaccination of dogs with naturally occurring melanoma by using human gp100 Antigen. J. Vet. Intern. Med., 2005, 19: 56-63.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 22 **Hallamaa, R.E., E. Saario, T. Tallberg;** Macroscopical and histopathological changes in regressing and recurrent equine sarcoids during active specific bio-immunotherapy. *In Vivo*, July-Aug. 2005, 19(4): 761-767.
- 23 **Heinzerling, L.M., K. Feige, S. Rieder, M.K. Akens, R. Dummer, G. Stranzinger, K. Moelling;** Tumor regression induced by intratumoral injection of DNA coding for human interleukin 12 into melanoma metastases in gray horses. *J. Mol. Med.*, 2001, 78(12): 692-702.
- 24 **Henry, C.J., D.L. McCaw, S.E. Turnquist, J.W. Tyler, L. Bravo, S. Sheafor, R.C. Straw, W.S. Dernell, B.R. Madewell, L. Jorgensen, M.A. Scott, M.L. Higginbotham, R. Chun;** Clinical evaluation of mitoxantron and piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, Feb. 2003, 9: 960-911.
- 25 **Hess, A.D., R. Catchatourian, A.R. Zander, R.B. Ebstein;** Intralesional *Bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy of canine venereal tumors. *Cancer Res.*, Nov. 1977, 37: 3990-3994.
- 26 **Hill, F.W.G, W.R. Klein, M.J. Hoyer, V.P.M.G. Rutten, N. Kock, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber, W. Den Otter;** Antitumor effect of locally injected low doses of recombinant human interleukin-2 in bovine vulval papilloma and carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.* May 1994, 41(1-2):19-29.
- 27 **Hill, F.W., V.P.M.G. Rutten, M.H. Hoyer, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber;** Local bacillus Calmette-Guerin therapy for bovine vulval papilloma and carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1994, 39(1): 49-52.
- 28 **Hoffmann, D.;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas with phenol-saline extracts of allogeneic carcinomas. *Aust. Vet. J.*, April 1981, 57: 159-162.
- 29 **Hogge, G.S., J.K. Burkholder, J. Culp, M.R. Albertini, R.R. Dubielzig, E.T. Keller, N.S. Yang, E.G. MacEwen;** Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum. Gene Ther.*, Sept. 1998, 9(13): 1851-1861.
- 30 **House, P.D., R.K. Farrell, B.D. Grant, B.C. Ward;** Cryogenic and immunotherapeutic treatment of myxoma in the horse. *Can. Vet. J.*, Aug. 1976, 17(8): 216-219.
- 31 **Jeglum, K.A.;** Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, Jan. 1996, 26(1): 73-85.
- 32 **Jeglum, K.A., Young K.M., K. Barnsley, B.A. Whereat;** Chemotherapy versus chemotherapy with intralymphatic tumor cell vaccine in canine lymphoma. *Cancer*, 1988, 61: 2042-2050.
- 33 **Jeglum, K.A., W.D. Winters, Young K.M.;** In vitro immune monitoring of antibody response in dogs given chemoimmunotherapy for lymphoma. *Am. J. Vet. Res.*, April 1989, 50(4): 488-492.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 34 **Jourdir, T.-M., C. Moste, M.-C. Bonnet, F. Delisle, J.-P. Tafani, P. Devauchelle, J. Tartaglia, P. Moingeon;** Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Ther.*, 2003, 10: 2126-2132.
- 35 **Kamstock, D., A. Guth, R. Elmslie, I. Kurzman, D. Liggitt, L. Coro, J. Fairman, S. Dow;** Liposome-DNA complexes infused intravenously inhibit tumor angiogenesis and elicit antitumor activity in dogs with soft tissue sarcoma. *Cancer Gene Ther.*, March 2006, 13(3): 306-317.
- 36 **Kempf, C.;** Nonviraler Gentransfer der felineen Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze - eine klinische Phase I-Studie. *Vet. Med. Diss.*, 2005.
- 37 **Khanna, C., P.M. Anderson, D.E. Hasz, E. Katsanis, M. Neville, J.S. Klausner;** Interleukin-2 liposome inhalation therapy is safe and effective for dogs with spontaneous pulmonary metastases. *Cancer*, April 1997, 79(7): 1409-1421.
- 38 **King, G.K., K.M. Yates, P.G. Greenlee, K.R. Pierce, C.R. Ford, B.H. McAnalley, I.R. Tizard;** The effect of Acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcoma; *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, Sept./Oct. 1995, 31: 439-447.
- 39 **Kirnbauer, R., L.M. Chandrachud, B.W. O'Neil, E.R. Wagner, G.J. Grindlay, A. Armstrong, G.M. McGarvie, J.T. Schiller, D.R. Lowy, M.S. Campo;** Virus-like particles of bovine papillomavirus Type 4 in prophylactic and therapeutic immunization. *Virology*, 1996, 219: 37-44.
- 40 **Klein, W.R., G.E. Bras, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. de Jong, R.H. Tiesjema, A.W. Kersjes, E.J. Ruitenber;** Equine sarcoid: BCG immunotherapy compared to cryosurgery in a prospective randomised clinical trial. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 21(2): 133-140.
- 41 **Klein, W.R., P.A. Steerenberg, F. Poelma, E. v.d. Wiel, V.P.M.G. Rutten, W. Misdorp, W.H. de Jong, E.J. Ruitenber;** Immune reactivity in cattle with ocular squamous cell carcinoma after intralesional BCG immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 22(2): 87-94.
- 42 **Kleinerman, E.S., A.K. Raymond, C.D. Bucana, N. Jaffe, M.B. Harris, I.H. Krakoff, R. Benjamin, I.J. Fidler;** Unique histological changes in lung metastases of osteosarcoma patients following therapy with liposomal muramyl tripeptide (CPG 19835 A lipid). *Cancer Immunol. Immunother.*, 1992, 34: 211-220.
- 43 **Kleinschuster, S.J., J. Bier, H.J. Rapp, R.A. Smart, K.R. Van Kampen, J.L. Walters;** Intratumoral BCG cell wall preparation therapy and surgery in bovine ocular carcinoma. *Head Neck Surg.*, May-June 1983, 5(5): 401-409.
- 44 **Knapp, D.W., N.W. Glickman, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, L.G. Adams, T. Kuczek, P.L. Bonney, A.E. DeGortari, C. Han, L.T. Glickman;** Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2000, 46(3): 221-226.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 45 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, G.D. Bottoms, R. Teclaw, T.C. Chan;** Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1992, 29(3): 214-218.
- 46 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, T.C.K. Chan, G.D. Bottoms, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, R. Teclaw, P.L. Bonney, T. Kuczek;** Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, 8(4): 273-278.
- 47 **Kurzman, I.D., E.G. MacEwen, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, S.C. Helfand, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Obradovich, J. Fidel, M. Rosenberg;** Adjuvant therapy for osteosarcoma in dogs: results of randomized clinical trials using combined liposome-encapsulated muramyl tripeptide and cisplatin. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1995, 1(12): 1595-1601.
- 48 **MacEwen, E.G.;** Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. *Cancer Metastasis Rev.*, 1990, 9: 125-136.
- 49 **MacEwen, E.G., H.J. Harvey, A.K. Patnaik, S. Mooney, A. Hayes, I. Kurzman, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 418-426.
- 50 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, I.D. Kurzman;** Levamisole as adjuvant to chemotherapy for canine lymphosarcoma. *J. Biol. Resp. Modif.*, Aug. 1985, 4(4): 427-433.
- 51 **MacEwen, E.G., A.A. Hayes, S. Mooney, A.K. Patnaik, H.J. Harvey, S. Passe, W.D. Hardy, Jr.;** Evaluation of effect of levamisole on feline mammary cancer. *J. Biol. Response Modif.*, Oct. 1984, 3(5): 541-546.
- 52 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, S. Helfand, D. Vail, C. London, W. Kisseberth, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, J. Obradovich, B. Madewell, C. Rodriguez, B. Kitchell, J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Current studies of liposome muramyl tripeptide (CGP 19835A lipid) therapy for metastasis in spontaneous tumors: a progress review. *J. Drug Target.*, 1994, 2(5): 391-396.
- 53 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, R.C. Rosenthal, B.W. Smith, P.A. Manley, J.K. Roush, P.E. Howard;** Therapy for osteosarcoma in dogs with intravenous injection of liposome-encapsulated muramyl tripeptide. *J. Natl. Cancer Inst.*, June 1989, 81(12): 935-938.
- 54 **MacEwen, E. G., I.D. Kurzman, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, K. Everlith, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., B. Phillips, C.H. Zwahlen, J. Obradovich, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, M. Rosenberg, C. Henry, J. Fidel;** Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1999, 5: 4249-4258.
- 55 **MacEwen, E.G., A.K. Patnaik, H.J. Harvey, A.A. Hayes, R. Matus;** Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.*, 1986, 4(5):397-402.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 56 **Matsukura, N., A. Hoshino, T. Igarashi, H. Hasegawa, T. Okino, M. Onda, O. Iijima, K. Akiyama, T. Goto, K. Takubo, S. Suzuki, T. Shimada;** *In situ* gene transfer and suicide gene therapy of gastric cancer induced by N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in dogs. *Jpn. J. Cancer Res.*, Sept. 1999, 90: 1039-1049.
- 57 **Misdorp, W.;** Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumor types in dogs and cats. *Vet. Q.*, July 1987, 9(3): 279-286.
- 58 **Mohammed, S.I., B.A. Craig, A.J. Mutsaers, N.W. Glickman, P.W. Snyder, A.E. deGortari, D.L. Schlittler, K.T. Coffman, P.L. Bonney, D.W. Knapp;** Effects of the cyclooxygenase inhibitor, Piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Mol. Cancer Ther.*, Feb. 2003, 2: 183-188.
- 59 **Moore, A.S., S.L. Beam, K.M. Rassnick, P. Provost;** Long-term control of mucocutaneous squamous cell carcinoma and metastases in a horse using piroxicam. *Equine Vet. J.*, 2003, 35(7): 715-718.
- 60 **Moore, A.S., G.T. Theilen, A.D. Newell, B.R. Madewell, A.R. Rudolf;** Preclinical study of sequential tumor necrosis factor and interleukin 2 in the treatment of spontaneous canine neoplasms. *Cancer Res.*, Jan. 1991, 51: 233-238.
- 61 **Mutsaers, A.J., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, W.R. Widmer, R.L. Bonney, K.A. Hahn, D.W. Knapp;** Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2002, 220(12): 1813-1817.
- 62 **Owen, L.N., D.E. Bostock;** Effects of intravenous BCG in normal dogs and in dogs with spontaneous osteosarcoma. *Eur. J. Cancer*, 1974, 10: 775.
- 63 **Parodi, A.L., W. Misdorp, J.P. Mialot, M. Mialot, A.A.M. Hart, M. Hurtrel, J.C. Salomon;** Intratumoral BCG and *Corynebacterium parvum* therapy of canine mammary tumors before radical mastectomy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1983, 15(3):172-177.
- 64 **Poirier, V.J., L.J. Forrest, W.M. Adams, D.M. Vail;** Piroxicam, mitoxantron, and coarse fraction radiotherapy for the treatment of transitional cell carcinoma of the bladder in 10 dogs: a pilot study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, March- April 2004, 40(2): 131-136.
- 65 **Quintin-Colonna, F., P. Devauchelle, D. Fradelizi, B. Mourot, T. Faure, P. Kourilsky, C. Roth, M. Mehtali;** Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Ther.*, Dec. 1996, 3(12): 1104-1112.
- 66 **Rochlitz, C., P. Jantscheff, G. Bongartz, P.-Y. Dietrich, A.L. Quiquerez, C. Schatz, M. Mehtali, M. Courtney, E. Tartour, T. Dorval, W.H. Fridman, R. Herrmann;** Gene therapy study of cytokine-transfected xenogeneic cells (Vero-interleukin-2) in patients with metastatic solid tumors. *Cancer Gene Ther.*, 1999, 6(3): 271-281.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 67 **Rutten, V.P.M.G., W.A.C. De Jong, W.R. Klein, W. Den Otter, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenberg;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma: isolation, culture and characterization of lymphocytes present in the tumor. *Anticancer Res.*, 1991 May-June, 11(3): 1259-1264.
- 68 **Rutten, V.P., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, W. Den Otter, P.A. Steerenberg, W.A.C. De Jong, E.J. Ruitenberg;** Local interleukin-2 therapy in bovine ocular squamous cell carcinoma. A pilot study. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1989, 30(3):165-169.
- 69 **Rutten, V.P.M.G., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. De Jong, W. Den Otter, E.J. Ruitenberg;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma by repeated intralesional injections of live bacillus Calmette-Guerin (BCG) or BCG cell walls. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1991, 34(3): 186-190.
- 70 **Schmidt, B.R., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, A.E. de Gortari, D.W. Knapp;** Evaluation of piroxicam for the treatment of oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2001, 218(11): 1783-1786.
- 71 **Schwarz, B.;** Klonieren der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN $\gamma$  und GM-CSF zum adjuvanten nonviralen, gentherapeutischen Einsatz beim Fibrosarkom der Katze. *Vet. Med. Diss.;* Ludwig-Maximilians-Universität München; 2005.
- 72 **Sedlacek, H.H., G. Hagmeyer, F.R. Seiler;** Tumor therapy of neoplastic diseases with tumor cells and neuraminidases. Further experimental studies on chessboard vaccination in canine mammary tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 23(3): 192-199.
- 73 **Spoormakers, T.J., W.R. Klein, J.J.L. Jacobs, Th.S.G.A.M. Van Den Ingh, J.W. Koten, W. Den Otter;** Comparison of the efficacy of local treatment of equine sarcoids with IL-2 or cisplatin/IL-2. *Cancer Immunol. Immunther.*, March 2003, 52(3):179-184.
- 74 **Spradbrow, P.B., B.E. Wilson, D. Hoffmann, W.R. Kelly, J. Francis;** Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas. *Vet. Rec.*, April 1977, 100: 376-378.
- 75 **Ssenyonga, G.S.Z., J.S. Onapito, J. Nakasala-Situma, A.L. Omara-Opyene;** Therapeutic value of partial excision of lesions combined with administration of an autogenous vaccine during an episode of cutaneous papillomatosis in cattle of Uganda. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Sept. 1990, 197(6): 739-740.
- 76 **Stewart, R.J.E., A. Masztalerz, J.J.L. Jacobs, W. Den Otter;** Local interleukin-2 and interleukin-12 therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopath.*, July 2005, 106(3-4): 277-284.
- 77 **Studer, U., E. Marti, D. Stornetta, S. Lazary, H. Gerber;** Zur Therapie des Equinen Sarkoids mit einem unspezifischen Immunstimulator - Beitrag zur Epidemiologie und zur spontanen Regression des Sarkoids. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1997, 139(9): 385-391.

## Quellenverzeichnis Gesamtübersicht

---

- 78 **Teske, E., G.R. Rutteman, T.S.G.A.M.v.d. Ingh, R. Van Noort, W. Misdorp;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine (L-MTP-PE): a randomized clinical trial in dogs with mammary carcinoma. *Anticancer Res.*, March-April 1998, 18(2A): 1015-1019.
- 79 **Thamm, D.H.;** Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: Phase I evaluation. *Clin. Cancer Res.*, July 2005; 11(13): 4827-4834.
- 80 **Thamm, D.H.;** Intralesional lipid-complexed cytokine/superantigen immunogene therapy for spontaneous canine tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, Aug. 2003, 52(8):473-480.
- 81 **Transgene, Strasbourg & Institut für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität, München;** Adenovirus-mediated delivery of the interleukin-2 and the interferon  $\gamma$  genes into tumors of domestic carnivores (vectors AdTG6624 & AdTG13273).
- 82 **Vail, D.M., E.G. MacEwen;** Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer. *Cancer Invest.*, 2000, 18(8): 781-792.
- 83 **Vail, D.M., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, W.C. Kisseberth, C.A. London, J.E. Obradovich, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. *Clin. Cancer Res.*, Oct. 1995, 1(10): 1165-1170.
- 84 **Vanselow, B.A., I. Abetz, A.R. Jackson;** BCG emulsion immunotherapy of equine sarcoid. *Equine Vet. J.*, Nov. 1988, 20(6): 444-447.
- 85 **Visionneau, S., A. Cesano, K.A. Jeglum, D. Santoli;** Adjuvant treatment of canine osteosarcoma with the human cytotoxic T-cell line TALL-104. *Clin. Cancer Res.*, July 1999, 5: 1868-1875.
- 86 **Wiedmann K.;** Klinische Phase I-Studie zur neoadjuvanten immunstimulierenden Therapie des felinen Fibrosarkoms mit Interleukin-2 und Interferon  $\gamma$ . Diss. Vet. Med, Ludwig-Maximilians-Universität München, 2005.
- 87 **Wieland S.;** Klinische Phase I-Studie zur genterapeutischen Immunstimulation durch Interleukin-2 und Interferon gamma als adjuvante Behandlung des felinen Fibrosarkoms. Vet. Med. Diss., Ludwig-Maximilians-Universität München, 2002.

**13. Ein Gesamtüberblick über alle wissenschaftlich relevanten Studien bei Hund, Katze, Pferd und Rind (Tab. 39).**

Die Referenzen sind dem nachfolgenden Quellenverzeichnis zu entnehmen.

**Hund:**

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	Vero-hIL-2-Zellen	malignes Melanom	p, (r), c	16 Hunde: 2x/Woche 1ml 3x10 <sup>6</sup> Zellen i.t. (vorbehandelt mit OP und lokaler Bestrahlung)	16 Hunde: keine weitere Therapie (vorbehandelt wie Therapie- Gruppe)	Steigerung der medianen UZ von 2,4 auf 9 Monate	k. A.	43
	IL-2	Sticker-Sarkom	p	19 Hunde: einmalige Inj. von 1x10 <sup>6</sup> U IL-2 (1 ml) i.t.	n. v.	6 von 19 Hunden (32 %) zeigten eine CR	k. A.	8
	hIL-2-Liposom-Inhalation	prim. Lungenkarzinom Osteosarkom- Metastasen	p	30 Tage: 1x10 <sup>6</sup> IU rhIL-2-Liposom- Inhalation	n. v.	1 Hund mit prim. LK zeigte Regression über 8 Monate. 2 von 4 Hunden mit Osteosarkom hatten eine CR mit UZ von 12 und 20 Monaten.	k. A.	24

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	rhTNF und rhIL-2	malignes Melanom (13) Mastzelltumor (6) Plattenepithekarzinom (4)	p	3-malige Gabe von rhTNF 125 mg/m <sup>2</sup> i.v., dann 9-malige Gabe von 1,5x10 <sup>6</sup> Einheiten/m <sup>2</sup> rhIL-2	n. v.	5 von 13 Hunden (38 %) mit malignem Melanom zeigten eine Tumorregression; alle 6 Hunde mit Mastzelltumor zeigten eine Tumornekrose (komplett oder partiell); 3 von 4 Hunden (75 %) mit PEK zeigten eine PR	k. A.	38
	L-SEA&IL-2	Fibrosarkom (6) anaplastisches Sarkom (1) maligner Nervenscheidentumor (9)	p	Initial-Dosis je nach TG: 240 µg oder 480 µg in 0,8 MV i.t. (Dosiserhöhungen erfolgten dreimalig) (Hunde waren nicht vorbehandelt)	n. v.	4 von 16 Hunden (25 %) zeigten eine Remission des Tumors	k. A.	49
	L-SEB&IL-2 (GM-CSF)	malignes Melanom	p	TG <18cm <sup>2</sup> : 400 µg Plasmid-DNA TG >18cm <sup>2</sup> : 800 µg Plasmid-DNA (Hunde waren nicht vorbehandelt)	historische Kontrollgruppe (Hunde mit malignem Melanom Stadium-III)	SEB/IL-2: 3 von 4 Hunden (75 %) zeigten eine CR; SEB/GM-CSF: die Remissionsrate (PR und CR) betrug 41 %; TG erwies sich als ausschlaggebend	mediane ÜZ: p<0,02	10

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	L-MTP-PE (+ rcGM-CSF)	malignes Melanom	p, r, c, db	<p><u>Studie A (1. Gruppe):</u> nach OP für 8 Wochen L-MTP-PE-Initialdosis: 1 mg/m<sup>2</sup> i.v. 1x/Woche dann: KG &lt;5 kg: 1 mg/m<sup>2</sup> i.v. 1x/Woche KG 5 - 10 kg: 1,5 mg/m<sup>2</sup> i.v. 1x/Woche KG &gt;10 kg: 2 mg/m<sup>2</sup> i.v. 1x/Woche</p> <p><u>Studie B (1. Gruppe):</u> nach OP für 9 Wochen rcGM-CSF: 5 µg/kg s.c. ab 2. Wochen: zusätzlich 1x/Woche L-MTP-PE (Dosis nach KG: siehe Studie A)</p>	<p><u>Studie A</u> (2. Gruppe): Liposom i.v.</p> <p><u>Studie B</u> (2. Gruppe): L-MTP-PE plus saline Lsg.</p>	<p><u>Studie A:</u> 1. Gruppe: 20 von 25 Hunden (80 %) waren nach 24 Monaten noch am Leben; 2. Gruppe: 6 von 25 Hunden (25 %) waren nach 24 Monaten noch am Leben; ausschlaggebend: Tumorstadium</p> <p><u>Studie B:</u> Im Vergleich der 1. Gruppe zur 2. Gruppe konnten keine Unter- schiede in der ÜZ und tumorfreen Zeiten dokumentiert werden</p>	<p>Stadium-I: UZ: p&lt;0,05 (L-MTP-PE vs. Liposom)</p> <p>Stadium-I vs. Stadium-II und -III: UZ: p&lt;0,022 (unabh. von Präparat)</p> <p>k. A.</p>	33

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasititäts-inducer	L-MTP-PE (plus Splenektomie und Chemotherapie)	Hämangiosarkom (Studie 1)	p, r, c, db	16 Hunde: L-MTP-PE (insg. 8 Wochen) Initialdosis: 1 mg/m <sup>2</sup> i.v. 2x/Woche ab 2. Sitzung: 2 mg/m <sup>2</sup> i.v. 2x/Woche (kein Tier war vorbehandelt)	16 Hunde: Therapie mit Liposomen 2x/Woche (insg. 8 Wochen) (kein Tier war vorbehandelt)	ausschlaggebend: Tumorstadium; Hunde mit Stadium-II lieferten eine signifikant längere medianen ÜZ und tumorfreie Zeit nach Verabreichung von L-MTP-PE. Diese Hunde bildeten v. a. Metastasen in näher liegenden Organen, aber erst sehr spät in der Leber.	L-MTP-PE vs. Liposom: mediane ÜZ: p=0,029 tumorfreie Zeit: p=0,037  Stadium-I vs. Stadium-II: mediane ÜZ: p=0,017 tumorfreie Zeit: p=0,026  Stadium-II mit L-MTP-PE: mediane ÜZ: p=0,037 tumorfreie Zeit: p=0,031	51
		Hämangiosarkom (Studie 2)	p, r, c	12 Hunde: L-MTP-PE (Dosis: siehe Studie 1)	15 Hunde: Liposome	Therapiegruppe: 6 von 12 Hunden (50 %) starben an Metastasen; Kontrollgruppe: 11 von 15 Hunden (73 %) starben an Metastasen;  mediane ÜZ: L-MTP-PE: 9,1 Monate Kontrolltiere: 4 Monate	p<0,03	32

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	L-MTP-PE (plus Chemo mit Cisplatin)	Osteosarkom	p, r, c, db	<p>"zeitgleiche" Applikation: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 3 Wochen (4x) 24 h nach 1. Chemo: 2 mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE i.v. 21 Hunde: L-MTP-PE 1x/Woche 21 Hunde: L-MTP-PE 2x/Woche</p> <p>"zeitlich versetzte" Applikation: 11 Hunde: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 4 Wochen (4x), nach weiteren 4 Wochen Gabe von 2mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE i.v. 2x/Woche</p>	<p>"zeitgleiche" Applikation: 22 Hunde: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 3 Wochen (4x); Placebo 1x/Woche</p> <p>"zeitlich versetzte" Applikation: 11 Hunde: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 4 Wochen (4x); 14 Hunde: Placebo 2x/Woche</p>	<p>"zeitgleiche" Applikation: Es bestand kein signifikanter Unterschied im Hinblick auf die ÜZ zwischen den 3 Behandlungsmodalitäten.</p> <p>"zeitlich versetzte" Applikation: Es konnte eine signifikant verlängerte metastasenfreie Zeit und ÜZ gegenüber der Kontrollgruppe dokumentiert werden. Dieser Applikationsmodus wurde als eindeutig besser beurteilt.</p>	metastasenfreie Zeit: p<0,035 ÜZ: p<0,01	31
			p, r, c	<p>11 Hunde: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 4 Wochen (4x) nach Chemo: 2 mg/m<sup>2</sup> L-MTP-PE 2x/Woche (8 Wochen)</p>	<p>14 Hunde: 70mg/m<sup>2</sup> Cisplatin i.v. alle 4 Wochen (4x) nach Chemo: L-saline i.v. 2x/Woche (8 Wochen)</p>	<p>L-MTP-PE-Gruppe: mediane krankheitsfreie Zeit: 12 Monate (Kontrolltiere: 7,6 Monate) mediane ÜZ: 14,4 Monate (Kontrolltiere: 9,8 Monate)</p>	p<0,04 p<0,021	32

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasmitäts-inducer	<i>C. parvum</i>	orales malignes Melanom	p,c	42 Hunde: chirurgische Exzision des Tumors plus <i>C. parvum</i> (Initial-Dosis: 0,1 mg/kg i.v.; wöchentliche Steigerung der Dosis auf 0,5 mg/kg i.v. (diese Dosis wurde wöchentl. 3 Monate verabreicht, dann alle 2 Wochen 3 Monate lang verabreicht, dann 1x/Monat verabreicht))	47 Hunde: chirurgische Exzision des Tumors	Bei Hunden mit Stadium-I konnte keine signifikant verlängerte ÜZ dokumentiert werden. Bei Hunden mit Stadium-II und -III konnte eine signifikant längere ÜZ gegenüber den Hunden der Kontrollgruppe dokumentiert werden. Die mediane ÜZ der Therapiegruppe betrug ca. 12 Monate. Die mediane ÜZ der Kontrollgruppe betrug ca. 7,5 Monate.	p=0,01  p=0,55	34
		Mastzelltumor	p,c	26 Hunde: <i>C. parvum</i> -Vakzine	17 Hunde	Es konnte keine geringere Rezidivrate dokumentiert werden.	p=0,59	36
		Hämangioperizytom	p,c, r	22 Hunde: <i>C. parvum</i> -Vakzine	20 Hunde	Es konnte keine geringere Rezidivrate dokumentiert werden.	p=0,75	36
	BCG	Osteosarkom	p	20 Hunde: Gliedmaßen-Amputation plus BCG (50 - 250x10 <sup>6</sup> lebensfähiger Organismen i.v.) 1. BCG-Inj. direkt nach OP, dann weitere 6 Inj. in 1, 2, 4 und 8 Wk	n. v.	11 von 20 Hunden (55 %) lebten ca. 6 Monate. 7 von 20 Hunden (35 %) lebten > 12 Monate. 1 von 20 Hunden (5 %) lebte metastasen-frei 21 Monate. mediane ÜZ: 6,25 Monate	k. A.	40

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasititäts-inducer	BCG	Sticker-Sarkom	p, c	6 Hunde: rechte Läsion: BCG ( $2 - 8 \times 10^8$ lebensfähige Einheiten) linke Läsion: Placebo (0,9 %ige NaCl-Lösung)	6 Hunde: Placebo	promte Regression von mit BCG behandelten Tumoren; In der Kontrollgruppe wurde ein bis zu 3,3 Monate anhaltendes Tumorwachstum beobachtet.	$p < 0,05$	16
	<i>C. parvum</i> und/oder BCG	Mammatumor	p, c, r	<i>C. parvum</i> und/oder BCG: 53 Hunde (Alfort) 129 Hunde (Amsterdam)	ausschließlich radikale Mastektomie: 51 Hunde (Alfort) 120 Hunde (Amsterdam)	Es konnte <u>kein</u> signifikanter Wirkungs-unterschied zwischen den Therapiegruppen und im Vergleich zu den Kontrollgruppen dokumentiert werden.	tumorfremie Zeit: $p = 0,55$ ÜZ: $p = 0,94$	41
	Acemannan	Fibrosarkom	p	8 Hunde: 2 mg/kg i.t. 6 Wochen vor OP; nach OP 6x 1x/Woche 1 mg/kg intraperitoneal, dann im Abstand von 4 Wochen für insg. 1 Jahr	historische Kontrollgruppe	4 von 8 Hunden waren nach 1 Jahr tumorfremie.	k. A.	25
	Piroxicam	orales Plattenepithelkarzinom	p	17 Hunde: 0,3 mg/kg Piroxicam per os 1x/tägl.	n. v.	1 von 17 Hunden (6 %) zeigte eine CR. 2 von 17 Hunden (12 %) zeigten eine PR. Gesamt-RR: 18 % mediane ÜZ: 6 Monate	k. A.	29

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasymptotik-inducer	Piroxicam	Übergangsepithelkarzinom der Harnblase	p	34 Hunde (6 der 34 Hunde waren chemotherapeutisch vorbehandelt) Piroxicam: 0,3 mg/kg per os 1x tägl.	n. v.	2 von 34 Hunden (6 %) zeigten eine CR. 4 von 34 Hunden (12 %) zeigten eine PR. 18 von 34 Hunden (53 %) zeigten eine SD. mediane ÜZ: ca. 6 Monate	k. A.	30
	Piroxicam plus Cisplatin	orales Plattenepithelkarzinom	p	9 Hunde Piroxicam: 0,3 mg/kg per os 1x tägl. Cisplatin: 50 mg/m <sup>2</sup> i.v. alle 3 Wochen Die Piroxicam-Therapie wurde 5 Tage vor Beginn der Chemotherapie begonnen.	n. v.	5 von 9 Hunden (56 %) zeigten eine Tumoremision. 2 der 5 Hunde (40 %) hatten eine CR. 3 der 5 Hunde (60 %) hatten eine PR. 3 von 9 Hunden (33 %) zeigten eine SD. mediane ÜZ: 7,9 Monate	k. A.	5
		Übergangsepithelkarzinom der Harnblase	p	14 Hunde (12 Hunde standen zur Ermittlung der Tumorantwort zur Verfügung) 4 Wochen: 0,3 mg/kg per os 1x tägl. Piroxicam dann 6 Wochen: Piroxicam/Cisplatin (Cisplatin: 60 mg/m <sup>2</sup> i.v. alle 3 Wochen)	n. v.	6 von 12 Hunden (50 %) hatten eine PR. 2 von 12 Hunden (17 %) zeigten eine SD.	k. A.	37

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	Piroxicam plus Cisplatin	Übergangsepithelkarzinom der Hamblase	p, r, c	8 Hunde: Cisplatin: 60 mg/m <sup>2</sup> i.v. alle 3 Wochen plus Piroxicam: 0,3 mg/kg per os 1x tägl.	8 Hunde: Cisplatin: 60 mg/m <sup>2</sup> i.v. alle 3 Wochen	Therapiegruppe: Remissionsrate von 75 % (CR, PR) 2 von 8 Hunden (25 %) zeigten eine SD. Kontrollgruppe: Remissionsrate von 0 % (CR, PR) 4 von 8 Hunden (50 %) zeigten eine SD.	p<0,004 (Cisplatin vs. Cisplatin/Piroxicam)	28
	Piroxicam plus Mitoxantron	Übergangsepithelkarzinom der Hamblase	p	48 Hunde: Piroxicam: 0,3 mg/kg per os 1x tägl. Mitoxantron: 5mg/m <sup>2</sup> i.v. alle 3 Wochen (4x) (Hunde waren nicht vorbehandelt)	n. v.	1 von 48 Hunden (2 %) hatten eine CR. 16 von 48 Hunden (33%) hatten eine PR. 22 von 48 Hunden (46 %) zeigten eine SD. 36 von 48 Hunden (75 %) ging es nach der Therapie klinisch besser. mediane UZ: 9,7 Monate Die Tumoren traten früher in Remission.	p=0,002	15
	(Piroxicam plus Doxorubicin	malignes Lymphom	p	33 Hunde Piroxicam: 0,3 mg/kg per os 1x tägl. (Beginn: 7 - 10 Tage vor Doxorubicin-Gabe (30 mg/m <sup>2</sup> i.v. 3x im Abstand von 3 Wochen)	historische Kontrollgruppe; 42 Hunde: Behandlung mit Doxo-rubicin	Therapiegruppe: 26 von 33 Hunden (79 %) kamen in Remission (PR und CR).  historische KG: 31 von 42 Hunden (74 %): PR und CR	Es konnte kein signifikanter Wirkungsunterschied dokumentiert werden.	39)

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Tumorzell-Vakzinen	autologe Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	malignes Melanom	p	10 Hunde (vorbehandelt mit Bestrahlungs- und Chemotherapie) Verabreichung der Tumorzell-Vakzine 3x im Abstand von 14 Tagen (Dosis: $1 \times 10^7$ Tumorzellen/ml) intradermal	n. v.	1 von 10 Hunden (10 %) hatte eine PR. 2 von 10 Hunden (20 %) hatte eine CR.	k. A.	19
	autologe Tumorzell-Vakzine plus hGM-CSF	Fibrosarkom	p	3 Hunde (vorbehandelt mit Bestrahlungs- und Chemotherapie, siehe oben)	n. v.	1 der 3 Hunde (33 %) wies über einen Zeitraum von 6 Monaten keine Krankheitsanzeichen auf und wurde mit weiteren Injektionen behandelt. Die ÜZ ist nicht bekannt.	k. A.	19
	autologe Tumorzell-Vakzine plus enzymatisch aktive <i>Vibrio-cholerae</i> -Neuraminidase (VCN)	Mammatumor (maligne und benigne)	p, r, c	23 Hunde (mind. 2 Tumoren): Einmalige Inj. am Tag der OP intradermal in die Regio umbilicalis ("chess-board-vaccination")	1. KG (21 Hunde): Tumorzell-Vakzine plus hitze-inaktivierte VCN  2. KG (27 Hunde): autologe Erythrozyten-Vakzine plus aktive VCN	Therapiegruppe: 6 von 23 Hunden (26 %) zeigten eine Tumor-regression.  Kontrollgruppen: Keiner der Hunde (0 %) zeigte eine Tumor-regression. Es ist nicht bekannt, anhand welcher Dosis die beste Wirkung erzielt werden konnte.	k. A.	44



Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
andere genthera- peutische Verfahren	Vakzinierung mit xenogener humaner Tyrosinase-DNA	malignes Melanom	p	9 Hunde (erhielten keine Behandlung 3 Wochen vor Studienbeginn) jeweils 3 Hunde: 100/500/1500 µg pro Inj. 2x/Woche (4x) i.m.	n. v.	mediane ÜZ: 12,9 Monate	k. A.	3
	Vakzinierung mit xenogener muriner Tyrosinase-DNA mit/ohne hGM-CSF	malignes Melanom	p	murine Tyrosinase (mu Tyr): je 5 Hunde: 100/500 µg 9 Hunde: 50 µg  je 3 Hunde: 50 µg plus 100/400/800 µg hGM- CSF  je 3 Hunde: 100/400/800 µg hGM-CSF  Die Vakzinierung erfolgte 2x/Woche i.m. (insg. 4x).	n. v.	mediane ÜZ nach 50 µg muTyr.: 8,0 Monate  mediane UZ nach 100/400/800 µg hGM-CSF: 4,9 Monate  mediane UZ nach muTyr/hGM-CSF: >13,4 Monate (7 der 9 Hunde (78 %) waren zum Zeitpunkt der Evaluierung noch am Leben.)	k. A.	2
	hgp100-ATCV	malignes Melanom	p	34 Hunde: 2x10 <sup>7</sup> Zellen/Inj. 4x im Abstand von 1 Woche, dann 4x im Abstand von 2 Wochen; Die Hunde waren nicht vorbehandelt.	n. v.	1 von 34 Hunden (3 %) hatte eine CR. 5 von 34 Hunden (15 %) hatte eine PR. 1 von 34 Hunden (3 %) zeigte eine SD.	p=0,0014 mediane UZ: 11,2 Monate (Hunde mit CR, PR und SD) vs. 3,1 Monate (Hunde ohne Tumor- kontrolle)	1

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
andere genthera- peutische Verfahren	FasL	malignes Melanom	p	5 Hunde: 1x peri- und intratumorale Inj. 600 µg hFasL-GFP nach 7 Tagen: Beginn einer Standard- Tumorthherapie	n. v.	2 von 5 Hunden (40 %) hatten eine CR. 2 von 5 Hunden (40 %) hatten eine PR.	k. A.	4
	VNP20009 (attenuiertes <i>S. typhimurium</i> )	malignes Melanom	p	11 Hunde: 1, 5x10 <sup>8</sup> CFU/kg - 1x10 <sup>8</sup> CFU/kg i.v. 1 - 2x/Woche Höchstdosis: 3x10 <sup>8</sup> CFU/kg	n. v.	2 von 11 Hunden (18 %) hatten eine CR. 1 von 11 Hunden (9 %) hatte eine PR.  Die Kolonisationsrate schien weder mit der biologischen Aktivität, noch mit der verabreichten Dosis zu korrelieren.	k. A.	50
	Ad.CAGHSV- TK/GCV	induziertes Magen-Adenokarzinom	p	Anzahl der Hunde: nicht bekannt; Ad.CAGHSV-TK-Dosis: 1,6x10 <sup>8</sup> pfu/Tier GCV-Dosis: 50 mg/kg/d 2x tägl. für 3 Tage (insgesamt 4 Behandlungstage)	n. v.	Nach Therapie: Koagulation eosinophiler Zellen, massive Hämorrhagie und hoch- gradige Infiltration von Entzündungszellen im ganzen Tumor plus regionalen Lymphknoten.	k. A.	35

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
andere gentherapeutische Verfahren	TALL-104	Osteosarkom	p	22 Hunde: Amputation der betroffenen Gliedmaße, Chemotherapie mit Cisplatin (60 mg/m <sup>2</sup> i.v.; 1 - 4 Zyklen), dann: 10 <sup>6</sup> TALL-104-Zellen/kg i.v. 1x tägl. 5 Tage lang, danach Boosterung alle 4 Wochen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen (insg. 9 Inj./Hund).	n. v.	mediane ÜZ: 11,5 Monate mediane tumorfreie Zeit: 9,8 Monate (dieser Ergebnis wurde als nicht signifikant länger beurteilt)	k. A.	6
mAK	(mAK 231 (Rituximab®))	malignes Lymphom	p	Polychemotherapie plus mAK 231 (1x tägl. 5 Tage, 3 Wochen nach Ende der Chemotherapie)	historische Kontrollgruppe: Polychemotherapie	signifikant verlängerte mediane Remissionszeit und ÜZ gegenüber historischen KG	k. A.	20)

**Katze:**

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	Vero-hIL-2-Zellen	felines Fibrosarkom	p, r, c	nach Tumor-OP und Radiotherapie: 16 Katzen erhielten jeweils 7 Inj. von $3 \times 10^7$ Vero-hIL-2-Zellen p.t.	1. KG (16 Katzen): Tumor-OP plus Radiotherapie  2. KG (4 Katzen): wie 1. KG plus jeweils 7 Inj. $3 \times 10^7$ unmodif. Vero-Zellen  3. KG (2 Katzen): wie 1. KG plus jeweils 7 Inj. $1,2 \mu\text{g}$ rhIL-2	ÜZ-Steigerung der Therapiegruppe von 8 auf 16 Monate  Senkung der Rezidivrate auf 31 %	$p < 0,02$  $p < 0,007$	43
	ALVAC-felL-2 NYVAC-hIL-2	felines Fibrosarkom	p, r, c	18 Katzen: $5 \times 10^6$ DICC <sub>50</sub> ALVAC-felL-2 18 Katzen: $5 \times 10^{6,7}$ PFU NYVAC-hIL-2 (7 Inj. i.t.)	18 Katzen mit Tumor-OP und Brachytherapie	Rezidivrate (nach 6 Monaten) KG: 61 % ALVAC-felL-2-Gruppe: 28 % NYVAC-hIL-2-Gruppe: 39 %	Rezidivrate: $p < 0,01$	23
Parasunitäts-inducer	Acemannan	felines Fibrosarkom	p	5 Katzen: 2 mg/kg i.t. 6 Wochen vor OP nach OP 6x 1x/Woche 1 mg/kg intraperitoneal, dann im Abstand von 4 Wochen für insg. 1 Jahr	historische Kontrollgruppe	3 von 5 Katzen (60 %) blieben nach 12 Monaten rezidivfrei; medinae ÜZ: 12 Monate	k. A.	25

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	L-MTP-PE	Mamma-Adenokarzinom	p, r, c, db	insg. 40 Katzen; radikale Mastektomie plus 1x/Woche 2,0 mg/kg i.v. (insg. 8 Wochen)	Verabreichung eines Lipid-Äquivalent: 2,0 mg/kg i.v.	ausschlaggebend: Tumorstadium zum Zeitpunkt der OP; Katzen mit Stadium-II (1 - 3 cm <sup>3</sup> , ohne LK-Beteilig.) zeigten eine signifikant längere ÜZ und tumorfreie Intervalle als Katzen mit Stadium-III (>3 cm <sup>3</sup> , ohne LK-Beteilig.); Eine L-MTP-PE-Wirksamkeit wurde nicht nachgewiesen.	bezügl.Tumorstadium zum Zeitpunkt der OP: ÜZ: p<0,005 tumorfreie Intervalle: p<0,02	12

**Pferd:**

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	IL-2/ Cisplatin	equines Sarkoid	p, c	14 Pferde und 1 Esel (22 Sarkoide):  Tag 0: 1 mg/m <sup>2</sup> TO i.t.  Tag 10: 2 ml IL-2 (4,5x10 <sup>6</sup> IU/ml) i.t.	1.KG (11 Pferde; 12 Sarkoide): 200.000 IU IL-2 i.t., 1x tägl. an 5 aufeinander folgenden Tagen  2. KG (10 Pferde; 12 Sarkoide): 200.000 IU IL-2 i.t., 1x tägl. an 2x5 aufeinander folgenden Tagen (ZI: 2 Tage; insg. 10 BT)	PR- und CR-Rate nach 12 Monaten: Therapie-Gruppe: 80 % 1. KG: 36 % 2. KG: 50 %  CR-Rate nach 12 Monaten: Therapie-Gruppe: 53 % 1. KG: 18 % 2. KG: 10 %	Therapie- Gruppe vs. 1. KG: p=0,03  Therapie- Gruppe vs. 2. KG: p=0,001	45
	hIL-12	malignes Melanom	p, c	12 Tumoren: 250 µg VR1012-hIL-12 i.t. 1x/Monat (max. 4 BZ); Tumoren wurden nicht chirurgisch entfernt	1. KG (7 Tumoren): 250 µg VR1012-revIL-12 i.t. 1x/Monat (max. 4 BZ)  2. KG (11 Tumoren): keine Behandlung  Tumoren wurden nicht chirurgisch entfernt	Therapie-Gruppe: 1 Tumor: CR 11 Tumoren: PR durchschnittliche Größenreduktion: 59 %  1. KG: durchschnittliche Größenreduktion: 12 %  2. KG: durchschnittliche Größenzunahme: 7 %  ausschlaggebend: Tumorgroße	k. A.	14

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	equines IL-12 oder equines IL-18	malignes Melanom	p, c, db	<p>1. Therapie-Gruppe: 3x im Abstand von 2 Tagen 250 µg für equines IL-12 kodierende Plasmid-DNA i.t.</p> <p>2. Therapie-Gruppe: 3x im Abstand von 2 Tagen 250 µg für equines IL-18 kodierende Plasmid-DNA i.t.</p>	<p>KG: 3x im Abstand von 2 Tagen Behandlung mit Plasmid, das für kein Zytokin kodiert</p>	<p>1. Therapie-Gruppe: Rückgang der ursprünglichen Tumormasse um 80 %</p> <p>2. Therapie-Gruppe: Rückgang der ursprünglichen Tumormasse um 88 %</p> <p>KG: Größenzunahme der Tumoren</p>	<p>p&lt;0,2</p> <p>p&lt;0,01</p> <p>p&gt;0,05</p>	11
Paramunitäts-inducer	BCG	equines Sarkoid	p, c, r	<p>1. Gruppe (10 Pferde; 29 Tumoren): BCG-Lebendvakzine</p> <p>2. Gruppe (10 Pferde; 16 Tumoren): BCG-Zellwand-Vakzine</p>	<p>KG (10 Pferde; 26 Tumoren): Durchführung einer Kryotherapie</p>	<p>1. Gruppe: 6 von 10 Pferden (60 %): CR. 24 von 29 Tumoren (83 %): CR. 1 von 10 Pferden (10 %): PR von 90 %. mediane tumorfreie Zeit: 18 Monate</p> <p>2. Gruppe: 7 von 10 Pferden (70 %): CR. 11 von 16 Tumoren (69 %): CR. 2 von 10 Pferden (20 %): PR. 4 von 16 Tumoren (25 %): PR. mediane tumorfreie Zeit: 19,5 Monate</p> <p>KG: Alle 26 Tumoren der 10 Pferde (100 %) kamen in eine CR. Die CR wurde im Medianen nach 3,3 Monaten erreicht.</p>	k. A.	26

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	Baypamun P	equines Sarkoid	p, db	Verabreichung der vom Hersteller empfohlenen Dosis 7x im Abstand von 2 Tagen, dann 3x im Abstand von 1 Woche	Verabreichung eines Placebos 7x im Abstand von 2 Tagen, dann 3x im Abstand von 1 Woche	Baypamun P: 2 Pferde zeigten eine CR und 4 Pferde zeigten eine PR. Placebo: 3 Pferde zeigten eine CR und 3 Pferde zeigten eine PR. Es konnte kein signifikanter Wirkungsunterschied zwischen Verum und Placebo errechnet werden. ausschlaggebend: Alter des Tumors	p=0,67 frisch vs. älter: p<0,05	48
Tumorzell-vakzinen	autogene Tumorzell-Vakzine plus Bio-Immuntherapie	equines Sarkoid	p, c	1. Gruppe (11 Pferde): un behandelter Primärtumor  2. Gruppe (7 Pferde): ein- oder mehrmals vorbehandelt  Therapie: Vakzinierung (s.c.) mit autogenem polymerisiertem Tumorgewebe (2 - 4 WI); Bio-Immuntherapie: orale Gabe von Zinnoxidchloriden und Folsäure; Tumoren wurden exkl. Tumorbasis chirurgisch entfernt.	KG: 2 gesunde Pferde	1. Gruppe: In den folgenden 2 Jahren konnte kein erneutes Tumorwachstum dokumentiert werden.  2. Gruppe: 5 von 7 Pferden (71 %) zeigten wiederholt ein Rezidiv.	k. A.	13

**Rind:**

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	rhIL-2	okuläres Plattenepithelkarzinom	p, r, c	1. Gruppe (19 Tumoren): 5000 U IL-2  2. Gruppe (20 Tumoren): 20.000 U IL-2  3. Gruppe (18 Tumoren): 200.000 U IL-2	KG (14 Tumoren): Placebo (Salz-Lösung mit 0,1 % bovinem Serum-Albumin)	nach 20 Monaten: 1. Gruppe: 17 Tumoren 2. Gruppe: 16 Tumoren 3. Gruppe: 18 Tumoren KG: 14 Tumoren  1. Gruppe: 35 % CR; 6 % PR 2. Gruppe: 31 % CR; 12,5 % PR 3. Gruppe: 67 % CR; 11 % PR KG: 0 % PR und CR	1. und 2. Gruppe vs. 3. Gruppe: p=0,02  Die Dosis der 3. Gruppe wurde demnach als am besten beurteilt.	9
		Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex	p, r, c	1. Gruppe (13 Rinder): 2500 U rhIL-2 i.t. 1xtägl. 10 Tage lang 2. Gruppe (7 Rinder): 5000 U rhIL-2 i.t. 1xtägl. 10 Tage lang 3. Gruppe (3 Rinder): 5000 U rhIL-2 i.t. 1xtägl. 10 Tage lang (hier: Vulva-Karzinome)	KG der 1. Gruppe (17 Rinder): davon 7 Rinder: keine Behandlung davon 2 Rinder: Placebo  KG der 2. Gruppe (11 Rinder): davon 4 Rinder: keine Behandlung davon 2 Rinder: Placebo  KG der 3. Gruppe (3 Rinder): keine Behandlung	1. Gruppe (Tag 329): 2 von 13 Rindern (15 %): PR; 10 von 13 Rindern (77 %): PD KG der 1. Gruppe: 100 % PD 2. Gruppe (Tag 329): 1 von 7 Rindern (15 %): PR; 6 von 7 Rindern (85 %): PD KG der 2. Gruppe: 100 % PD 3. Gruppe (Tag 329): 2 von 3 Rindern zeigten zeitweise eine CR und PR. KG der 3. Gruppe: 100 % PD	k. A.	17

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Zytokine	IL-2 und/oder IL-12	okuläres Plattenepithelkarzinom	p, r, c	<p>1. Gruppe (8 Tumoren): 200.000 IL-2 Einheiten/Tag</p> <p>2. Gruppe (9 Tumoren): 0,5 µg IL-12/Tag</p> <p>3. Gruppe (8 Tumoren): 200.000 IL-2 Einheiten/Tag plus 0,5 µg IL-12/Tag</p>	KG (25 Rinder): Placebo	<p>Nach 20 Monaten:</p> <p>1. Gruppe: 63 % CR</p> <p>2. Gruppe: 50 % PD; 0 % CR</p> <p>3. Gruppe: 37,5 % CR; 12,5 % PR; 37,5 % PD</p> <p>nicht ausschlaggebend: TG</p>	k. A.	47
Parasititäts-inducer	BCG	okuläres Plattenepithelkarzinom	p, r, c	<p>14 Rinder: BCG-Lebendvakzine (5x10<sup>7</sup> Partikel/ml); 4x Inj. i.t. im Abstand von 14 Tagen</p>	<p>16 Rinder: BCG-Zellwand-Vakzine (3 mg BCG- Zellwand/ml); 4x Inj. i.t. im Abstand von 14 Tagen</p>	<p>Therapie-Gruppe: 9 von 14 Rindern (64 %) zeigten eine CR. 8 von 14 Rindern (57 %) waren nach 2 Jahren tumorfrei.</p> <p>KG: 9 von 16 Rindern (56 %) zeigten eine CR. 6 von 16 Rindern (37 %) waren nach 2 Jahren tumorfrei.</p> <p>Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Effektivität der beiden Präparate festgestellt werden.</p>	k. A.	42

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Parasunitäts-inducer	BCG	okuläres Plattenepithelkarzinom	p, c	50 Rinder: BCG-Zellwand-Vakzine (1,5 mg/ml i.t.)  Die Rinder waren nicht vorbehandelt.	1. KG (27 Rinder): lokale Exzision des Primärtumors  2. KG (10 Rinder): radikale Exzision des Primärtumors plus reg. LK  3. KG (22 Rinder): keine Behandlung  4. KG (20 Rinder): Behandlung mit Placebo  Die Rinder waren nicht vorbehandelt.	nach 2,5 Jahren:  Therapie-Gruppe: 13 von 50 Rindern (26 %) zeigten eine CR. 2 von 50 Rindern (4 %) zeigten eine SD. 35 von 50 Rindern (70 %) zeigten eine PD.  1. KG: 14 von 27 Rindern (52 %) zeigten eine CR.  2. KG: 10 von 10 Rindern (100 %) zeigten eine CR.  3. KG: 3 von 22 Rindern (14 %) zeigten eine SD. 19 von 22 Rindern (86 %) zeigten eine PD.  4. KG: 1 von 20 Rindern (5 %) zeigte eine CR. 1 von 20 Rindern (5 %) zeigte eine SD. 18 von 20 Rindern (90 %) zeigte eine PD.	k. A.	27
	BCG	Vulva-Papillom-Karzinom-Komplex	p, c	30 Rinder: BCG-Lebendvakzine (5x10 <sup>7</sup> Partikel/ml, Verabreichungsmenge: 2,5 ml i.t. oder s.c.) an Tag 0, 14, 35 und 56	6 Rinder: sterile Salzlösung (2,5 ml i.t.) an Tag 0, 14, 35 und 56	Therapie-Gruppe: 15 von 30 Rindern (50 %) zeigten eine CR. Dies war v. a. bei Rindern mit Stadium-IV und -V zu beobachten.  KG: keine Tumorremission	k. A.	18

Stoffgruppe	Substanz	Tumor	Studien-Design	Therapie-Gruppe	Kontrollgruppe	Ergebnisse	Signifikanz-Niveau	Referenz
Tumorzell-Vakzinen	autologe Tumorzell-Vakzine	okuläres Plattenepithelkarzinom	p, c	29 Rinder (37 Karzinomen):	18 Rinder: keine Behandlung	Therapie-Gruppe: 17 von 37 Karzinomen (46 %) kamen in eine PR. 5 von 37 Karzinomen (14 %) kamen in eine CR.  KG: Es konnte keine TR dokumentiert werden.	k. A.	46
	autologe Tumorzell-Vakzine (plus BCG)	Hornkrebs (PEK)	p	8 Rinder: autologe Tumorzell-Vakzine 2 Rinder: autologe Tumorzell-Vakzine plus BCG	n. v.	6 von 10 Rindern (60 %) zeigten eine CR. 2 dieser Rinder waren zusätzlich mit BCG behandelt worden. nicht ausschlaggebend: Alter	k. A.	7

**Legende:** p = prospektiv; r = randomisiert; c = kontrolliert; db = doppelblind; k.A. = keine Angaben; ÜZ = Überlebenszeit; OP = Operation; hIL-2 = humanes Interleukin-2; i.t. = intratumoral; Inj. = Injektion; n.v. = nicht vorhanden; CR = komplette Remission; PR = partielle Remission; LK = Lungenkarzinom; PEK = Plattenepithelkarzinom; L-SEA = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-A; TG = Tumorgroße; MV = Mediumvolumen; L-SEB = in Liposomen eingebettetes Staphylokokkus-Enterotoxin-B; hGM-CSF = humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor; p.t. = peritumoral; WI = Wochenintervall; KG = Kontrollgruppe; fe = feline; Gesamt-RR = Gesamt-Remissionsrate; TZ = Tumorzellen; ALVAC = rekombinantes Kanariepockenvirus; NYVAC = rekombinates Vacciniavirus; SD = *stable disease* (stabiler Krankheitsverlauf); LK-Beteilig. = Lymphknoten-Beteiligung; s.c. = subkutan; Lsg. = Lösung; BCG = Bazillus Calmette-Guérin; *C. parvum* = *Corynebacterium parvum*; i.m. = intramuskulär; hgp100-ATCV = allogene Gesamt-Tumorzellvakzine, bei der ein Adenovirus als Vektor dient, welcher für xenogenes gp100 kodiert.; FasL = FasLigand; VNP20009 = attenuiertes *S. typhimurium*-Präparat; Ad.CAGHSV-TK/GCV = Komposition aus einem adenoviralen Vektor, welcher das HSV-TK-Gen trägt und einem CAG-Promotor; VCN = *Vibrio cholerae*-Neuraminidase; mAK = monoklonale Antikörper; TO = Tumoroberfläche; ZI = Zwischenintervall; BT = Behandlungstage; VR1012-hIL-12 = für hIL-12 kodierende Plasmid-DNA; BZ = Behandlungszyklen; VR1012-revIL-12 = Kontrollvektor, wobei das Plasmid in einer reversen Orientierung für hIL-12 kodiert; ( ) = kein solider Tumortyp

# Quellenverzeichnis

## Studienübersicht

---

### Quellenverzeichnis

- 1 **Alexander, A.N., M.K. Huelsmeyer, A. Mitzey, R.R. Dubielzig, I.D. Kurzman, E.G. MacEwen, D.M. Vail;** Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2006, 55: 433-442.
- 2 **Bergman, P.J., M.A. Camps-Palau, J.A. McKnight, N.F. Leibman, D.M. Craft, C. Leung, J. Liao, I. Riviere, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, P. Gregor, A.N. Houghton, M.A. Perales, J.D. Wolchok;** Development of a xenogeneic DNA vaccine program for canine malignant melanoma at the Animal Medical Center. *Vaccine*, May 2006, 24(21): 4582-4585.
- 3 **Bergman, P.J., J. McKnight, A. Novosad, S. Charney, J. Farrelly, D. Craft, M. Wulderk, Y. Jeffers, M. Sadelain, A.E. Hohenhaus, N. Segal, P. Gregor, M. Engelhorn, I. Riviere, A.N. Houghton, J.D. Wolchok;** Long-Term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with Xenogeneic Human Tyrosinase: A phase I trial. *Clin. Cancer Res.*, April 2003, 9: 1284-1290.
- 4 **Bianco, S.R., J. Sun, S.P. Fosmire, K. Hance, M.L. Padilla, M.G. Ritt, D.M. Gethy, R.C. Duke, S.J. Withrow, S. Lana, D.T. Matthiesen, S.W. Dow, D. Bellgrau, G.R. Cutter, S.C. Helfand, J.F. Modiano;** Enhancing antimelanoma immune responses through apoptosis. *Cancer Gene Ther.*, 2003, 10: 726-736.
- 5 **Boria, P.A., D.J. Murry, P.F. Bennett, N.W. Glickman, P.W. Snyder, B.L. Merkel, D.L. Schlittler, A.J. Mutsaers, R.M. Thomas, D.W. Knapp;** Evaluation of cisplatin combined with piroxicam for the treatment of oral malignant melanoma and oral squamous cell carcinoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Feb. 2004, 224(3): 388-394.
- 6 **Cesano, A., S. Visonneau, K.A. Jeglum, J. Owen, K. Wilkinson, K. Carner, L. Reese, D. Santoli;** Phase I clinical trial with a human major histocompatibility complex nonrestricted cytotoxic T-cell line (TALL-104) in dogs with advanced tumors. *Cancer Res.*, July 1996, 56(13): 3021-3029.
- 7 **Chauhan, H.V.S., D.S. Kalra, S.K. Mahajan;** letters to the editor: studies on horn cancer preliminary trials of immunotherapy. *Aust. Vet. J.*, Oct. 1980, 56: 509-510.
- 8 **Den Otter, W., J. Cadée, R. Gavhumende, C.J. De Groot, W.E. Hennink, R. Stewart;** Effective cancer therapy with a single injection of interleukin-2 at the site of the tumour. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1999, 48: 419-420.
- 9 **Den Otter, W., F.W. Graham Hill, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, P.H.M. De Mulder, C. Rhode, R. Stewart, J.A.J. Faber, E.J. Ruitenber, V.P.M.G. Rutten;** Therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma with local doses of interleukin-2: 67 % complete regression after 20 month of follow-up. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1995, 41(1):10-14.

## Quellenverzeichnis Studienübersicht

---

- 10 **Dow, S.W., R.E. Elmslie, A.P. Willson, L. Roche, C. Gorman, T.A. Potter;** *In vivo* tumor transfection with superantigen plus cytokine genes induces tumor regression and prolongs survival in dogs with malignant melanoma. *J. Clin. Invest.*, June 1998, 101, (11): 2406-2414.
- 11 **Feige, K., P. Stähli, C. Schelling, L. Heinzerling, M. Seltenhammer, J.-M. Müller, L. Nicolson;** Einsatz von Interleukin-12 und Interleukin-18 kodierender Plasmid DNA zur Therapie von Melanomen beim Schimmel. *Pferdeheilkunde Forum 2005 Berliner Fortbildungstage* (16.-19. Juni 2005).
- 12 **Fox, L.E., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, D.M. Vail, W. Kisseberth, C. London, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., K.A. Jeglum, M. Rosenberg, R.C. Rosenthal;** Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine for the treatment of feline mammary adenocarcinoma - a multicenter randomized double-blind study. *Cancer Biother.*, 1995, 10(2): 125-130.
- 13 **Hallamaa, R.E., E. Saario, T. Tallberg;** Macroscopical and histopathological changes in regressing and recurrent equine sarcoids during active specific bio-immunotherapy. *In Vivo*, July-Aug. 2005, 19(4): 761-767.
- 14 **Heinzerling, L.M., K. Feige, S. Rieder, M.K. Akens, R. Dummer, G. Stranzinger, K. Moelling;** Tumor regression induced by intratumoral injection of DNA coding for human interleukin 12 into melanoma metastases in gray horses. *J. Mol. Med.*, 2001, 78(12): 692-702.
- 15 **Henry, C.J., D.L. McCaw, S.E. Turnquist, J.W. Tyler, L. Bravo, S. Sheafor, R.C. Straw, W.S. Dernell, B.R. Madewell, L. Jorgensen, M.A. Scott, M.L. Higginbotham, R. Chun;** Clinical evaluation of mitoxantron and piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, Feb. 2003, 9: 906-911.
- 16 **Hess, A.D., R. Catchatourian, A.R. Zander, R.B. Ebstein;** Intralesional *Bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy of canine venereal tumors. *Cancer Res.*, Nov. 1977, 37: 3990-3994.
- 17 **Hill, F.W.G, W.R. Klein, M.J. Hoyer, V.P.M.G. Rutten, N. Kock, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber, W. Den Otter;** Antitumor effect of locally injected low doses of recombinant human interleukin-2 in bovine vulval papilloma and carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, May 1994, 41(1-2):19-29.
- 18 **Hill, F.W., V.P.M.G. Rutten, M.H. Hoyer, W.R. Klein, J.W. Koten, P.A. Steerenberg, E.J. Ruitenber;** Local bacillus Calmette-Guerin therapy for bovine vulval papilloma and carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, July 1994, 39(1): 49-52.
- 19 **Hogge, G.S., J.K. Burkholder, J. Culp, M.R. Albertini, R.R. Dubielzig, E.T. Keller, N.S. Yang, E.G. MacEwen;** Development of human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transfected tumor cell vaccines for the treatment of spontaneous canine cancer. *Hum. Gene Ther.*, Sept. 1998, 9(13): 1851-1861.
- 20 **Jeglum, K.A.;** Chemoimmunotherapy of canine lymphoma with adjuvant canine monoclonal antibody 231. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.*, Jan. 1996, 26(1): 73-85.

## Quellenverzeichnis Studienübersicht

---

- 21 **Jeglum, K.A., W.D. Winters, K.M. Young;** In vitro immune monitoring of antibody response in dogs given chemoimmunotherapy for lymphoma. *Am. J. Vet. Res.*, April 1989, 50(4): 488-492.
- 22 **Jeglum, K.A., Young K.M., K. Barnsley, B.A. Whereat;** Chemotherapy versus chemotherapy with intralymphatic tumor cell vaccine in canine lymphoma. *Cancer*, 1988, 61: 2042-2050.
- 23 **Jourdier, T.-M., C. Moste, M.-C. Bonnet, F. Delisle, J.-P. Tafani, P. Devauchelle, J. Tartaglia, P. Moingeon;** Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Therapy*, 2003, 10: 2126-2132.
- 24 **Khanna, C., P.M. Anderson, D.E. Hasz, E. Katsanis, M. Neville, J.S. Klausner;** Interleukin-2 liposome inhalation therapy is safe and effective for dogs with spontaneous pulmonary metastases. *Cancer*, April 1997, 79(7): 1409-1421.
- 25 **King, G.K., K.M. Yates, P.G. Greenlee, K.R. Pierce, C.R. Ford, B.H. McAnalley, I.R. Tizard;** The effect of Acemannan immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcoma; *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, Sept./Oct. 1995, 31: 439-447.
- 26 **Klein, W.R., G.E. Bras, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. de Jong, R.H. Tiesjema, A.W. Kersjes, E.J. Ruitenber;** Equine sarcoid: BCG immunotherapy compared to cryosurgery in a prospective randomised clinical trial. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 21(2): 133-140.
- 27 **Kleinschuster, S.J., J. Bier, H.J. Rapp, R.A. Smart, K.R. Van Kampen, J.L. Walters;** Intratumoral BCG cell wall preparation therapy and surgery in bovine ocular carcinoma. *Head Neck Surg.*, May-June 1983, 5(5): 401-409.
- 28 **Knapp, D.W., N.W. Glickman, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, L.G. Adams, T. Kuczek, P.L. Bonney, A.E. DeGortari, C. Han, L.T. Glickman;** Cisplatin versus cisplatin combined with piroxicam in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2000, 46(3): 221-226.
- 29 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, G.D. Bottoms, R. Teclaw, T.C. Chan;** Phase I trial of piroxicam in 62 dogs bearing naturally occurring tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1992, 29(3): 214-218.
- 30 **Knapp, D.W., R.C. Richardson, T.C.K. Chan, G.D. Bottoms, W.R. Widmer, D.B. DeNicola, R. Teclaw, P.L. Bonney, T. Kuczek;** Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *J. Vet. Intern. Med.*, 1994, 8(4): 273-278.
- 31 **Kurzman, I.D., E.G. MacEwen, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, S.C. Helfand, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Obradovich, J. Fidel, M. Rosenberg;** Adjuvant therapy for osteosarcoma in dogs: results of randomized clinical trials using combined liposome-encapsulated muramyl tripeptide and cisplatin. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1995, 1(12): 1595-1601.

## Quellenverzeichnis Studienübersicht

---

- 32 **MacEwen, E.G., I.D. Kurzman, S. Helfand, D. Vail, C. London, W. Kisseberth, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, E.T. Keller, J. Obradovich, B. Madewell, C. Rodriguez, B. Kitchell, J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg;** Current studies of liposome muramyl tripeptide (CGP 19835A lipid) therapy for metastasis in spontaneous tumors: a progress review. *J. Drug Target*, 1994, 2(5): 391-396.
- 33 **MacEwen, E. G., I.D. Kurzman, D.M. Vail, R.R. Dubielzig, K. Everlith, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., B. Phillips, C.H. Zwahlen, J. Obradovich, R.C. Rosenthal, L.E. Fox, M. Rosenberg, C. Henry, J. Fidel;** Adjuvant therapy for melanoma in dogs: Results of randomized clinical trials using surgery, liposome-encapsulated muramyl tripeptide, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin. Cancer Res.*, Dec. 1999, 5: 4249-4258.
- 34 **MacEwen, E.G., A.K. Patnaik, H.J. Harvey, A.A. Hayes, R. Matus;** Canine oral melanoma: comparison of surgery versus surgery plus *Corynebacterium parvum*. *Cancer Invest.*, 1986, 4(5):397-402.
- 35 **Matsukura, N., A. Hoshino, T. Igarashi, H. Hasegawa, T. Okino, M. Onda, O. Iijima, K. Akiyama, T. Goto, K. Takubo, S. Suzuki, T. Shimada;** *In situ* gene transfer and suicide gene therapy of gastric cancer induced by N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in dogs. *Jpn. J. Cancer Res.*, Sept. 1999, 90: 1039-1049.
- 36 **Misdorp, W.;** Incomplete surgery, local immunostimulation, and recurrence of some tumor types in dogs and cats. *Vet. Q.*, July 1987, 9(3): 279-286.
- 37 **Mohammed, S.I., B.A. Craig, A.J. Mutsaers, N.W. Glickman, P.W. Snyder, A.E. deGortari, D.L. Schlittler, K.T. Coffman, P.L. Bonney, D.W. Knapp;** Effects of the cyclooxygenase inhibitor, Piroxicam, in combination with chemotherapy on tumor response, apoptosis, and angiogenesis in a canine model of human invasive urinary bladder cancer. *Mol. Cancer Ther.*, Feb. 2003, 2: 183-188.
- 38 **Moore, A.S., G.T. Theilen, A.D. Newell, B.R. Madewell, A.R. Rudolf;** Preclinical study of sequential tumor necrosis factor and interleukin 2 in the treatment of spontaneous canine neoplasms. *Cancer Res.*, Jan. 1991, 51: 233-238.
- 39 **Mutsaers, A.J., N.W. Glickman, D.B. DeNicola, W.R. Widmer, R.L. Bonney, K.A. Hahn, D.W. Knapp;** Evaluation of treatment with doxorubicin and piroxicam or doxorubicin alone for multicentric lymphoma in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, June 2002, 220(12): 1813-1817.
- 40 **Owen, L.N., D.E. Bostock;** Effects of intravenous BCG in normal dogs and in dogs with spontaneous osteosarcoma. *Eur. J. Cancer*, 1974, 10: 775.
- 41 **Parodi, A.L., W. Misdorp, J.P. Mialot, M. Mialot, A.A.M. Hart, M. Hurtrel, J.C. Salomon;** Intratumoral BCG and *Corynebacterium parvum* therapy of canine mammary tumors before radical mastectomy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1983, 15(3):172-177.

## Quellenverzeichnis Studienübersicht

---

- 42 **Rutten, V.P.M.G., W.R. Klein, W.A.C. De Jong, W. Misdorp, P.A. Steerenberg, W.H. De Jong, W. Den Otter, E.J. Ruitenber**; Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinoma by repeated intralesional injections of live bacillus Calmette-Guerin (BCG) or BCG cell walls. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1991, 34(3): 186-190.
- 43 **Quintin-Colonna, F., P. Devauchelle, D. Fradelizi, B. Mourot, T. Faure, P. Kourilsky, C. Roth, M. Mehtali**; Gene therapy of spontaneous canine melanoma and feline fibrosarcoma by intratumoral administration of histoincompatible cells expressing human interleukin-2. *Gene Ther.*, Dec. 1996, 3(12): 1104-1112.
- 44 **Sedlacek, H.H., G. Hagemeyer, F.R. Seiler**; Tumor therapy of neoplastic diseases with tumor cells and neuraminidases. Further experimental studies on chessboard vaccination in canine mammary tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, 1986, 23(3): 192-199.
- 45 **Spoormakers, T.J., W.R. Klein, J.J.L. Jacobs, Th.S.G.A.M. Van Den Ingh, J.W. Koten, W. Den Otter**; Comparison of the efficacy of local treatment of equine sarcoids with IL-2 or cisplatin/IL-2. *Cancer Immunol. Immunther.*, March 2003, 52(3):179-184.
- 46 **Spradbrow, P.B., B.E. Wilson, D. Hoffmann, W.R. Kelly, J. Francis**; Immunotherapy of bovine ocular squamous cell carcinomas. *Vet. Rec.*, April 1977, 100: 376-378.
- 47 **Stewart, R.J.E., A. Masztalerz, J.J.L. Jacobs, W. Den Otter**; Local interleukin-2 and interleukin-12 therapy of bovine ocular squamous cell carcinoma. *Vet. Immunol. Immunopath.*, July 2005, 106(3-4): 277-284.
- 48 **Studer, U., E. Marti, D. Stornetta, S. Lazary, H. Gerber**; Zur Therapie des Equinen Sarkoids mit einem unspezifischen Immunstimulator – Beitrag zur Epidemiologie und zur spontanen Regression des Sarkoids. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 1997, 139(9): 385-391.
- 49 **Thamm, D.H.**; Intralesional lipid-complexed cytokine/superantigen immunogene therapy for spontaneous canine tumors. *Cancer Immunol. Immunother.*, Aug. 2003, 52(8): 473-480.
- 50 **Thamm, D.H.**; Systemic administration of an attenuated, tumor-targeting *Salmonella typhimurium* to dogs with spontaneous neoplasia: Phase I evaluation. *Clin. Cancer Res.*, July 2005; 11(13): 4827-4834.
- 51 **Vail, D.M., E.G. MacEwen, I.D. Kurzman, R.R. Dubielzig, S.C. Helfand, W.C. Kisseberth, C.A. London, J.E. Obradovich, B.R. Madewell, C.O. Rodriguez, Jr., J. Fidel, S. Susaneck, M. Rosenberg**; Liposome-encapsulated muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiosarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. *Clin. Cancer Res.*, Oct. 1995, 1(10): 1165-1170.

### **Immuntherapien solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind - eine Literaturübersicht -**

Bereits zu Beginn des letzten Jahrhunderts wurden erste Erkenntnisse in der Bekämpfung schlecht zugänglicher Tumoren anhand von Bakterienextrakten erlangt. Seit den 80er Jahren wurde in der Immunologie eine Reihe von Strategien entwickelt, anhand welcher eine Tumorrogression bewirkt werden sollte. Obgleich einige Neoplasien von den Zellen des Immunsystems erkannt und abgetötet werden können, sind manche Tumoren in der Lage, sich der Überwachung des Immunsystems entziehen. Daher versuchte man die Antigenität und Immungenität dieser Tumoren zu steigern.

Haustiere mit spontan auftretenden malignen Tumoren dienen als „Brücke“ zwischen Labortiermodellen und Studien am Patienten. In der Humanmedizin werden oftmals Hunde als „Tiermodell“ verwendet, da manche canine Tumoren ihrem menschlichen Pendant im Charakter und in prognostischer Hinsicht sehr ähnlich sind.

Die (neo-)adjuvante Immuntherapie erprobte man an Hunden unter Verwendung von Zytokinen (z. B. IL-2 oder GM-CSF beim caninen malignen Melanom), Paramunitätsinducern (z. B. Piroxicam beim caninen TCC, L-MTP-PE beim COM oder HSA), Tumorzell-Vakzinen (z. B. beim caninen malignen Lymphom), monoklonalen Antikörper (z. B. mAK 231 beim caninen malignen Lymphom) und anderen gentherapeutische Verfahren (z. B. unter Verwendung von gp75, gp100, FasL, TALL-104, Ad.CAGHSV-TK/GCV oder attenuiertes *S. typhimurium* beim caninen malignen Melanom, Osteosarkom, induziertem Magen-Adenokarzinom oder Weichteiltumoren). Derartige Verfahren wurden nicht nur für canine Tumoren, sondern u. a. auch für das feline Fibrosarkom, das equine Sarkoid und das bovine okuläre Plattenepithelkarzinom erforscht. In diesen Fällen zeigten sich Zytokine (z. B. IL-2, IL-12, IL-18, GM-CSF, IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$ ), Paramunitätsinducer (z. B. BCG, Cimetidin, Levamisol) oder Tumorzell-Vakzinen als viel versprechend. Einige dieser Immuntherapien werden bereits in der Tiermedizin praktiziert. Viele dieser immunmodulatorischen Substanzen befinden sich jedoch noch in der Testphase.

### **Immunotherapy in solid tumours of dog, cat, horse and cattle - a review -**

In the beginning of the last century first steps were made in obtaining knowledge in immunotherapy against cancer by using extracts of bacteria to treat inaccessible neoplasias. Since that time a variety of immunologic strategies has been developed to elicit antitumour response in a patient's immunosystem to cause regression of established tumours. Some neoplasias can be recognized and killed by immune effector cells, but many tumour cells are able to escape immunosurveillance. For this reason, attempts to increase the antigenicity and immunogenicity of tumours have been made particularly in the last two decades.

Outbred animals with spontaneously occurring malignancies serve as a translational bridge between standard inbred animal models and human clinical trials. In medical studies dogs are often used as large animal model, since their tumours show often equal characteristics in behaviour and prognosis in comparison to human neoplasias. (Neo-)adjuvant immunotherapy in combination with conventional oncological treatments offers great opportunities in dogs by using cytokines (e.g. IL-2 or GM-CSF in canine malignant melanoma), paramuninducers (e.g. piroxicam in canine TCC, L-MTP-PE in COM or HSA), tumour cell vaccines (e.g. in canine malignant lymphoma), monoclonal antibodies (e.g. mAk 231 in canine malignant lymphoma) and other gene therapy strategies (e.g. by using gp75, gp100, FasL, TALL-104, Ad.CAGHSV-TK/GCV or attenuated *S. typhimurium* in canine malignant melanoma, osteosarcoma, induced gastric cancer or STS). In veterinary medicine, strategies were not only established for dog's tumours, but also for the feline fibrosarcoma, the equine sarcoid, the BOSCC and other tumours in cat, horse and cattle. In these cases the use of cytokines (e.g. IL-2, IL-12, IL-18, GM-CSF, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ ), paramuninducers (e.g. BCG, cimetidine, levamisole) or tumour cell vaccines showed sometimes a great potential to improve oncological treatment. Some of these immunotherapies are already common in veterinary practice. A broad range of immune modulating substances is still being tested.

## Abkürzungsverzeichnis

---

$\alpha$	Alpha
Ag	Antigen
AK	Antikörper
ALVAC	rekombinantes Kanariepockenvirus
AP	Alkalische Phosphatase
APC	antigen-präsentierende Zelle
APR	hepatic-acute-phase-reaction
AST	Aspartat-Amino-Transferase
$\beta$	Beta
BAK-Zelle	BCG-aktivierter Killer-Zelle
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BCG	Bacillus Calmette-Guérin
bFGF	basic-fibroblast-growth-factor
BOSCC	bovine ocular squamous cell carcinoma
BRM	biological-response-modifier
bzw.	beziehungsweise
Ca	Calcium
cDNA	kodierte DNA
CEA	karzinoembryonales Antigen
cGM-CSF	caniner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor
Cl	Chlorid
cIFN- $\gamma$	canines Interferon- $\gamma$
CLDC	kationischer Liposom-DNA-Komplex
COM	canines orales Melanom
COX-1	Zyklooxygenase-1
COX-2	Zyklooxygenase-2
CR	komplette Remission
CSF	Kolonie-Stimulierender-Faktor
CSIF	cytokine-synthesis-inhibitory-factor
CTLA	cytototoxic T-cell antigen
CTLA-4	zytotoxischer T-Lymphnozyten-Antigen-Rezeptor 4
CTL	zytotoxische T-Lymphozyten

## Abkürzungsverzeichnis

---

CTVT	caniner transmissibler venerealer Tumor
DC	Dendritische Zellen
DC-Cholesterin	3 $\beta$ [N-(N',N'-Dimethylamminoethan)carbamoyl]Cholesterin
DIC	desiminierte intravasale Koagulopathie
DMEM	“Dulbecco's Modified Eagle's Medium”
DMRIE	2-Dimyristyloxypropyl-3-Dimethylhydroxyethylammonium-bromid
DMSO	dimethyl sulfoxide
DNA	desoxyribonuclein acid
DOPE	Dioleoylphosphatidylethanolamin
DOSPA	2,3-dioleyloxy-N-[2-(spermin-carboxoamido)ethyl]- NNDimethyl-1propanaminium trifluoroacetat
DOTAP	1,2-Dioleoyloxy-3-Trimethylammoniumpropan
DOTMA	1,2-Dioleoyloxypropyl-3-Trimethylammoniumchlorid
DTH	delayed-type-hypersensitivity
E1-Region	early-region-1
E1-Gen	early-gene-1
E2-Gen	early-gene-2
E7-Fusionsprotein	early-fusion-protein-7
E. coli	Escherichia coli
EGF	epidermal-growth-factor
ELISA	enzyme-linked-immunosorbent-assay
ENNG	N-Ethyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidin
fe	feline/-r /-s
FIV	felines Immundefizienzvirus
5FU	5-Fluorouracil
FSA	Fibrosarkom
$\gamma$	Gamma
GAM	gene-activated-matrix
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-Stimulierender-Faktor
GCV	Ganciclovir
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor
HLA	humanes Leukozyten-Antigen

## Abkürzungsverzeichnis

---

hSA	humanes Serum-Albumin
HSA	splenic hemangiosarcoma
HSP	heat-shock-protein
HSV-TK	Herpes-simplex-Virus-Thymidin-Kinase
h, hu	humane/-r/-s
ICAM	intracellular-adhesion-molecule
IFN	Interferon
IFN- $\gamma$	Interferon-gamma
Ig	Immunglobulin
IgG2a	Immunglobulin G2a
IL	Interleukin
i.l.	intraläsional
i.m.	intramuskulär
Inj.	Injektion
i.p.	intraperitoneal
IP-10	interferon-inducible-protein of 10 kDa
IRF 1	Interferon-Regulationsfaktor 1
i.t.	intratumoral
i.v.	intravenös
K	Kalium
KG	Körpergewicht
KS	Kollagenschwamm
LAK-Zelle	lymphokin-aktivierte Killerzelle
LDC	Liposom-DNA-Komplex
LFA	lymphocyte-function-antigen
L-MTP-PE	Liposomen-ingeschossenes Muramyltripeptid- Phosphatidylethanolamin
Ln.	Lymphonodus
LPS	Lipopolysaccharide
mAk	monoklonaler Antikörper
MCP-1	Monozyten-chemotaktisches-Protein-1
M-CSF	Makrophagen-Stimulierender-Faktor
MDP	Muramyl-dipeptid

## Abkürzungsverzeichnis

---

MDR1-Gen	multi-drug-resistance-gen-1
MHC	major histocompatibility complex
MPNST	malignant peripheral nerve sheath tumor
MR	Minimalremission, > 0-50 % Reduktion der Tumormasse
mRNA	messenger-ribonucleinacid
MTD	maximal tolerierte Dosis
MTP	Muramyltripeptid
MTP-PE	Muramyltripeptid-Phosphatidylethanolamin
Na	Natrium
NED	no evidence of disease
NK-Zelle	Natürliche Killerzelle
NKT-Zelle	Natürliche Killer-T-Zelle
NOS	Nitritoxid-Synthase
NSAID	nicht-steroidale Antiphlogistika
NYVAC	rekombinantes Vacciniavirus
OAS	2'-5' Óligo-Adenylat-Synthetase
p	Signifikanzniveau
P	Phosphat
PAM	pulmonary-alveolar-macrophages
PAMP	pathogen-associated-molecular-patterns
PBL	periphere-blood-lymphocytes
PBS	phosphate-buffered-saline
PCR	polymerase-chain-reaction
pDC	plasmacytoide Dendritische Zellen
PDGF	patlet-derived-growth-factor
pDNA	Plasmid-DNA
PEG	Polyethylenglycol
PEI	Polyetylenimin
PEK	Plattenepithelkarzinom
PG	Prostaglandine
PGE <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
p.i.	post injectionem
PLL	Poly(L-)Lysin

## Abkürzungsverzeichnis

---

PMBC	periphere-mononuclear-blood-cells
PR	partielle Remission, > 50 % Reduktion der Tumormasse
p.t.	peritumoral
PTEN-Gen	phosphatase-and-tensin-homolog-gene
PTH	Parathormon
<i>Rb</i> -Gen	Retinoblastom-Gen
rhIL-2	rekombinantes humanes Interleukin-2
rhTNF	rekombinanter humaner Tumor-Nekrose-Faktor
rh-GM-CSF	rekombinanter humaner Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor
RIL-2 $\alpha$	IL-2-Rezeptor- $\alpha$
RIL-2 $\beta$	IL-2-Rezeptor- $\beta$
RNA	ribonuclein-acid
RT	Reverse Transkriptase
SA	Serum-Albumin
SAg-Gen	Superantigen-Gen
s.c.	subkutan
SEA	Staphylokokkus-aureus-Enterotoxin-A
SEB	Staphylokokken-aureus-Enterotoxin-B
SD	stable disease; 0 - <50 % Zunahme der Tumormasse
sIL2R	löslicher IL-2-Rezeptor-Spiegel
sPLA <sub>2</sub>	sezernierte Phospholipase A <sub>2</sub>
T4	Thyroxin
TAA	tumor-assoziierte Antigene
TAP	transport-associated-with-antigen-processing
TCC	transitional-cell-carcinoma
TCGF	T-cell-growth-factor
TCR	T-Zell-Rezeptor
TGF- $\beta$	transforming-growth-factor- $\beta$
Th1	T-Helferzellen-Polarisation 1
Th2	T-Helferzellen-Polarisation 2
TIL	tumorinfiltrierende Lymphozyten
TLR	toll-like-receptor

## Abkürzungsverzeichnis

---

TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TNFR	tumor-necrosis-factor-receptor-family
TRAIL	TNF-related-apoptosis-inducing-ligand
u. U.	unter Umständen
v. a.	vor allem
VCN	<i>Vibrio-cholerae</i> -Neuraminidase
VEGF	vascular-endothelial-growth-factor
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel
WHO	world-health-organisation

### Einheiten

°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
CFU	colony-forming-units
d	Tag
dl	Deziliter
g	Gramm
Gy	Gray
h	Stunde
IU	International Unit
kBp	Kilobasenpaare
kD	kilo Dalton
kg	kilogramm
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
pfu	plaque-forming-unit

## Abkürzungsverzeichnis

---

pg	Pikogramm
sec.	Sekunde
%	Prozent

## Tabellenverzeichnis

---

Tab. 1	„biological response modifiers“ (BRMs)
Tab. 2	Therapieansätze bei soliden Tumoren des Hundes
Tab. 3	Therapieansätze bei soliden Tumoren der Katze
Tab. 4	Therapieansätze bei soliden Tumoren des Pferdes
Tab. 5	Therapieansätze bei soliden Tumoren des Rindes
Tab. 6	Interleukine, ihr Entstehungsort und ihre Hauptwirkungsweisen
Tab. 7	Funktionen von GM-CSF
Tab. 8	biologische Wirkungen der Interferone
Tab. 9	biologische Effekte von IFN- $\gamma$ auf Makrophagen
Tab. 10	die Anwendung von Zytokinen an soliden Tumoren des Hundes
Tab. 11	die Anwendung von Zytokinen an soliden Tumoren der Katze
Tab. 12	die Anwendung von Zytokinen an soliden Tumoren des Pferdes
Tab. 13	die Anwendung von Zytokinen an soliden Tumoren des Rindes
Tab. 14	Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Hundes
Tab. 15	Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren der Katze
Tab. 16	Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Pferdes
Tab. 17	Behandlungsansätze mit Zytokinen an soliden Tumoren des Rindes
Tab. 18	Stoffe unterschiedlichen Ursprungs, welche im Rahmen einer nicht-spezifischen aktiven Immuntherapie Anwendung finden
Tab. 19	die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Hundes
Tab. 20	Gruppenzusammensetzung in der Studie A
Tab. 21	Gruppenzusammensetzung in der Studie A
Tab. 22	die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren der Katze

## Tabellenverzeichnis

---

- Tab. 23** die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Pferdes
- Tab. 24** die Anwendung von Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Rindes
- Tab. 25** Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Hundes
- Tab. 26** Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren der Katze
- Tab. 27** Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Pferdes
- Tab. 28** Behandlungsansätze mit Paramunitätsinducer an soliden Tumoren des Rindes
- Tab. 29** die Anwendung von Tumorstoffen an soliden Tumoren des Hundes
- Tab. 30** die Anwendung von Tumorstoffen an soliden Tumoren des Pferdes
- Tab. 31** die Anwendung von Tumorstoffen an soliden Tumoren des Rindes
- Tab. 32** Behandlungsansätze mit Tumorstoffen an soliden Tumoren des Hundes
- Tab. 33** Behandlungsansätze mit Tumorstoffen an soliden Tumoren des Pferdes
- Tab. 34** Behandlungsansätze mit Tumorstoffen an soliden Tumoren des Rindes
- Tab. 35** Übersicht über wichtige humane Tumorstoffe/-Produkte
- Tab. 36** die Anwendung gentherapeutischer Verfahren an soliden Tumoren des Hundes
- Tab. 37** Behandlungsansätze mit anderen gentherapeutischen Verfahren an soliden Tumoren des Hundes
- Tab. 38** eine Gesamtübersicht über alle relevanten Behandlungsansätze in der Immuntherapie solider Tumoren bei Hund, Katze, Pferd und Rind
- Tab. 39** ein Gesamtüberblick über alle wissenschaftlich relevanten Studien bei Hund, Katze, Pferd und Rind

## Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei all denen bedanken, die einen großen Teil zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben:

Herrn Prof. Dr. Johannes Hirschberger gilt mein besonderer Dank für die Möglichkeit, dass ich durch meine Literaturarbeit und durch das Mitwirken in der onkologischen Sprechstunde der Medizinischen Kleintierklinik auf diesem Gebiet sehr viel habe lernen dürfen. Das Arbeitsklima empfand ich als überaus angenehm und vorbildlich. Prof. Dr. Johannes Hirschberger hat sich für mich als Doktorvater sehr viel Zeit genommen. Er war für mich der beste Doktorvater, den ich mir hätte wünschen können.

Bei Herrn Dr. Thomas Brill möchte ich mich für die Unterstützung bei der Planung und Anfertigung dieser Dissertation bedanken.

Bei Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann möchte ich mich bedanken, da sie mir eine Anstellung an der Medizinischen Kleintierklinik als Doktorandin ermöglicht und mir die Einrichtungen der Klinik zur Verfügung gestellt hat.

Auch möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München für die nette und kollegiale Arbeitsatmosphäre bedanken.

Dem gesamten Tierpflegerteam und unserer Anmeldung der Medizinischen Kleintierklinik der LMU München, besonders Frau Silvia Klose, sei hiermit mein Dank für die Unterstützung in der onkologischen Sprechstunde ausgesprochen.

Außerdem möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Catharina Kempf und Frau Bianka Schwarz für ihre sehr kollegiale Zusammenarbeit bedanken.

Abschließend möchte ich noch einmal ganz besonders meiner Mama danken, die mir durch ihre finanzielle Unterstützung nicht nur das Studium, sondern auch diese Promotion ermöglicht hat und mir immer zur Seite gestanden ist. Ohne sie wäre mein bisheriges Leben anders verlaufen. Danke.