

## PD Dr. Kerstin Cornils / Prof. Dr. Harriet Wikman-Kocher

### Kurzbericht zum Abschluss des Projektes:

Identifikation biologischer Mechanismen der Metastasierung und der Chemoresistenz bei Patienten mit kleinzelligen Lungenkarzinomen

*(Identification of biological mechanisms for metastatic spread and chemoresistance in small-cell lung cancer (SCLC) patients)*

Das kleinzellige Lungenkarzinom (SCLC) ist charakterisiert durch die frühe Streuung von Tumorzellen und einem damit einhergehenden aggressiven Verlauf. SCLC zeigt anfänglich ein gutes Ansprechen auf Chemo- und Radiotherapie, bis hin zu einer kompletten Remission, allerdings rezidivieren die meisten Patienten. Das Rezidiv ist meist chemoresistent und führt zum raschen Tode der Patienten. Ein Verständnis der molekularen Veränderungen, die zur Chemoresistenz und damit zur Entstehung eines Rezidivs führen, könnte neue Therapieoptionen bieten.

Ziel des in der translationalen Grundlagenforschung angesiedelten Projekts zur Biologie des kleinzelligen Lungenkarzinoms ist die klonale Markierung von SCLC-Zellen mit genetischen Barcodes, um mit Hilfe der Kodierung klinisch relevante Mechanismen, die zur Chemoresistenz und Metastasierung von SCLC beitragen, aufzuklären. Im Rahmen des von der Hamburger Krebsgesellschaft in der Zeit vom 01.06.2017 bis zum 31.08.2018 geförderten Projekts wurden sowohl eine Chemo-naïve als auch eine Chemo-resistente SCLC-Zelllinie mit Hilfe neuer viraler Vektoren mit genetischen Barcodes markiert. Das in diesem Projekt etablierte und optimierte System zur effizienten Ausstattung von SCLC-Zellen mit genetischen Barcodes sowie die bisher gewonnenen Ergebnisse stellen die essentielle Grundlage für unsere nächsten Untersuchungen zur klonalen Heterogenität im Kleinzelligen Lungenkarzinom dar.

Um die Zellen nur mit einem Barcode pro Zelle auszustatten, ist es erforderlich, die Zellen mit geringer Rate (max. 25%) zu transduzieren und anschließend die positiv markierten Zellen zu selektionieren. Während der Projektlaufzeit konnten wir drei verschiedene Selektionsmethoden für beide Zelllinien anwenden und hinsichtlich ihrer Eigenschaften für die Vitalität, Proliferation und Markierung der Zellen untersuchen: i) Fluoreszenz-Aktivierte Zellsortierung (FACS) auf Basis eines Fluoreszenzproteins, ii) Selektion auf Antibiotikaresistenz mit Hilfe einer Puromycinresistenzkassette und iii) Magnetisch-aktivierte Zellsortierung (MACS) über die Expression eines trunkierten *nerve growth factor receptors* (NGFR). Für Folge-Experimente sollte so die beste Selektionsmethode für eine stabile Markierung von SCLC-Zellen mit genetischen Barcodes etabliert werden. Nach der Herstellung der verschiedenen viralen Vektoren (inkl. genetischem Barcode) wurden die drei Selektionsmethoden für jede Zelllinie in Triplikaten durchgeführt und ihr Einfluss auf das zelluläre Wachstum, die Zellmarkierung sowie die Barcode-Komposition über einen Zeitraum von 16 Wochen bestimmt. Im Verlauf der Analysen wurden mehr als 130 Barcodeproben generiert. Auch wenn die Analysen aufgrund des hohen Probenumfangs noch nicht vollständig abgeschlossen sind, konnten wir bereits zeigen, dass die Auswahl der Selektionsmethode einen erheblichen Einfluss auf die initiale Markierung und die anschließende klonale Zusammensetzung der aufgereinigten Zellpopulationen ausübt.

So konnten wir zeigen, dass die Zell-Sortierung (Selektionsmethode i), obwohl sie in der Praxis für die Aufreinigung zahlreicher, unterschiedlicher Zelltypen gängige Anwendung findet, nicht geeignet ist, um eine homogene und im weiteren Verlauf stabile, genetische SCLC-Zellmarkierung zu erreichen. Im Gegensatz dazu waren die anderen beiden Selektionsmethoden gleichermaßen gut.

Unsere Untersuchungen haben auch bereits gezeigt, dass sich die klonale Dynamik der Chemo-naïven von der Chemo-resistenten Zelllinie unterscheidet. Weiterhin konnten wir mit Hilfe des geeigneten Vektorsystems erste Ergebnisse zur klonalen Evolution der SCLC-Zellen unter Chemotherapie erzielen.