

ABSCHLUSSBERICHT

Für die Hamburger Krebsgesellschaft e.V.
erstellt durch

Dr. med. Lara Bußmann

Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, Kopf-Hals-Chirurgie und Onkologie &
Labor für Strahlenbiologie & Experimentelle Radioonkologie
Universitäres Cancer Center (UCCH)
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

1.1 Thema

**Kinasen der Src-Familie als neue Targets bei der Behandlung von HNSCC:
Präklinische Analysen auf zellulärer und Tumorebene**

1.3 Tatsächlicher Beginn und geplante Projektdauer

Beginn: 01.01.2019

Projektdauer: 12 Monate

Projektende: 31.12.2019

ABSCHLUSSBERICHT

Jedes Jahr erkranken in Deutschland ca. 17.000 Personen an Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereichs (*head and neck squamous cell carcinoma*; HNSCC). Auf Grund der relativ schlechten Prognose bedarf es gerade für Patienten mit Humanen Papillomvirus (HPV)-negativen Tumoren neuer individualisierter Therapieansätze. In eigenen Arbeiten konnten wir Kinasen der Src-Familie (*Src-family kinases*; SFK) als vielversprechende Angriffspunkte in HPV-negativen HNSCC identifizieren. In dem geförderten Projekt sollte nun die Auswirkungen einer SFK-Inhibition bei HNSCC sowohl auf zellulärer Ebene als auch auf Tumorebene untersucht werden. Hierfür wurden sowohl HNSCC Zellkulturen als auch *patient-derived-xenografts* (PDX) verwendet werden. Dabei sollte sowohl die Wirkung einer alleinigen SFK-Inhibition als auch die Kombination einer SFK-Inhibition mit Röntgenbestrahlung und Chemotherapeutika analysiert werden.

Als eine große Herausforderung erwies sich, die Wahl eines geeigneten Inhibitors. Während klinisch zugelassene SFK-inhibitoren wie Dasatinib oder Bosutinib sehr unspezifisch sind und entsprechende Effekte eher auf eine Abl-Inhibition zurückzuführen sind, zeigen auch SFK-spezifische Inhibitoren sehr unterschiedliche Effekte. Dies liegt u.a. an dem unterschiedlichen Wirkspektrum, der Inhibitor PP2 z.B. inhibiert vor allem die SFK Lyn und LCK während der Inhibitor C4 auch weitere SFK wie Src und Fyn blockiert. Im Verlauf des Projektes wurden letztendlich insgesamt vier verschiedene SFK Inhibitoren verwendet (SU6656, PP2, C4 und Dasatinib).

Dabei konnte insgesamt eine effektive Inhibition des Zellwachstums (Proliferation) und eine deutliche Zellabtötung (Überleben) durch alle SFK-Inhibitoren in allen untersuchten Zellmodel-

len erreicht werden. Je nach Inhibitor und Modell wurden jedoch große Unterschiede beobachtet. Hierbei zeigte sich die Tendenz, dass die Zellen sensibler waren, die auch eine verstärkte SFK-Grundaktivität aufwiesen. Auch in den PDX-Versuchen, wurde eine Inhibition des Tumorstwachstums erreicht, je nach verwendetem Modell unterschiedlich ausgeprägt.

Es konnten keine synergistischen Effekte einer SFK-Inhibition und einer zusätzlichen Gabe von Chemotherapeutika (Cisplatin) beobachtet werden. Jedoch konnte eine deutliche Radiosensibilisierung einiger Zelllinien durch eine SFK-Inhibition erreicht werden. Das heißt, dass eine SFK z.B. durch C4 HNSCC-Zellen empfindlicher gegenüber Bestrahlung macht. Im Falle der Radiosensibilisierung konnte beobachtet werden, dass gerade die Zellen verstärkt sensibilisiert werden, die eine verstärkte SFK-Grundaktivität aufweisen; d.h.: gerade die Zellen, die von sich aus eine starke Aktivität von SFK haben, werden am stärksten radiosensibilisiert. Dies ist eine wichtige Erkenntnis, bietet sie doch die Option, die SFK-Grundaktivität eines Tumors als prädiktiven Biomarker für eine anti-SFK-Therapie zu nutzen. Die Radiosensibilisierung muss in zukünftigen Experimenten im Tiermodell bestätigt werden.

Als eine weitere Herausforderung erwies sich zudem die molekulare Analyse der Wirkung eines SFK-Inhibitors: während *in vitro* on-chip-Inhibitionsversuche eine klare Reduktion der Kinaseaktivität nach SFK-Inhibitorbehandlung zeigen (Zelllinien & PDX), führt eine *in-vivo*-Behandlung eher zu einer Zunahme der Gesamtkinaseaktivität. Hierfür können Feedback-Mechanismen verantwortlich gemacht werden, die im Detail aber noch untersucht werden müssen.

Zusammen mit dem Institut für Pathologie am UKE wurden zudem Analysen zur Src-Expression und SFK-Aktivität (SFK-Phosphorylierung) in HPV-negativen HNSCC-Patienten mittels *tissue-micro-array* (TMA) durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass die Aktivität (pSFK), nicht aber die reine Expression (Src) mit dem Überleben von HNSCC Patienten korreliert; Patienten mit fortgeschrittenem (UICC III-IV) HNSCC haben ein kürzeres Überleben (*overall survival*), wenn der Tumor eine verstärkte SFK-Aktivität aufweist. Somit ist die SFK-Aktivität auch ein prognostischer Marker.

Trotz der unerwarteten Herausforderungen sind wir mit dem Verlauf des Projektes sehr zufrieden. Gerade die generelle anti-proliferative Wirkung und die Zellabtötung, die im Prinzip in jedem Modell und bei jedem Inhibitor beobachtet werden konnte, zusammen mit der prognostischen Relevanz der SFK-Aktivität zeigen, dass SFK neue Ansatzpunkte für individualisierte Therapieoptionen von HNSCC-Patienten darstellen. Hierbei könnte gerade die Kombination mit Röntgenbestrahlung erfolgversprechend sein. Im Rahmen des geförderten Projektes wurden eine Bachelorarbeit (Frau Lara Akingunsade) und eine zahnmedizinische Doktorarbeit (Frau Anh Thu Vu) erfolgreich durchgeführt. Eine Publikation mit Daten aus dem Projekt ist bereits bei *Oncogene* eingereicht, zwei weitere Publikationen sind in der Vorbereitung.

Hamburg, den 08.05.2020


(Lara Bußmann)