



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Laboratory of Radiobiology &
Experimental Radiooncology
Prof. Dr. Kai Rothkamm
Head of Laboratory



Abschlussbericht zum medizinischen Doktorandenprojekt im Bereich der Krebsforschung

Understanding the interplay of BRCA1 mediated DNA damage response and intra cellular
immune signaling

Stipendiat

Luca Philipp Hebestreit
Thusneldastraße 13
22525 Hamburg
Tel.: 004915234772349
E-Mail: luca.hebestreit@stud.uke.uni-hamburg.de

AG Homologe Rekombination und Genomische Instabilität

Prof. Dr. Kerstin Borgmann (AG Leitung)
AG Homologe Rekombination und Genomische Instabilität
Labor für Strahlenbiologie & Experimentelle Radioonkologie
Campus Forschung, N27
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistraße 52
20246 Hamburg
Telefon: 040 74105 3596
Telefax: 040 74105 5139
E-mail: borgmann@uke.de

Brustkrebs stellt weltweit die häufigste krebsbedingte Todesursache der Frau dar. Neben Risikofaktoren wie Alter, Lebensstil und Hormonen sind insbesondere genetische Risikofaktoren zu nennen, welche in 10-30 % bei der Entstehung von Brustkrebs beteiligt sind. Die bekanntesten Brustkrebs Gene sind BRCA1 und BRCA2. Beide Gene sind wichtig für die Reparatur der DNA durch den DNA-Reparaturweg Homologe Rekombination (HR). Bei einem Ausfall dieses Reparaturmechanismus akkumulieren DNA-Schäden, die zur Entstehung von genomisch instabilem Brustkrebs führen. Genomisch instabile Tumore sprechen zu etwa 10% auf die Immuntherapie durch Checkpoint-Inhibitoren an. Unklar ist, wie gut BRCA1-defiziente Tumore auf die Immuntherapie ansprechen und ob durch spezifische Schädigung die immuntherapeutische Wirkung verstärkt werden könnte.

Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen BRCA1-Expression, genomischer Instabilität und intrazellulärem Immunsystem wurde in der AG ein Zellsystem der Brustkrebszelllinie MCF7 etabliert. MCF7-Zellen verfügen über drei funktionelle Allele des BRCA1-Gens. Es wurden drei genetisch modifizierte Subklone der Zelllinie hergestellt, die ein bzw. kein funktionelles BRCA1-Allel und eine geringere Kapazität aufweisen, die HR effizient auszuführen. Für diese Zelllinien wurde das zelluläre Überleben nach Behandlung untersucht. Hierfür wurden die Therapeutika Talazoparib (PARP1-Inhibitor), Sapacitabin (Nukleosid-Analogen) und Cisplatin (Platinum-basierte DNA-Vernetzung) genutzt, die unterschiedliche DNA-Schäden induzieren und verschiedene DNA-Reparaturmechanismen aktivieren. Dazu wurden je 200 Zellen in 6-Well Platten ausgesät, die Zellen mit dem entsprechenden Therapeutikum in unterschiedlichen Konzentrationen behandelt und nach einer definierten Wachstumszeit fixiert und gezählt. Die Überlebensdaten wurden in Abhängigkeit der Konzentration des Therapeutikums in Graphen zusammengestellt.

Es zeigte sich, dass der Subklon 9.2 nach Behandlung mit Cisplatin, Sapacitabin und Talazoparib trotz der niedrigen HR-Kapazität ein besseres Überleben im Vergleich zum Wildtyp aufwies. Der Subklon 14.3 zeigte bei der Behandlung von Talazoparib und Cisplatin das geringste Überleben, wohingegen bei der Behandlung mit Sapacitabin der Wildtyp am sensibelsten war.

Im nächsten Schritt erfolgte die Kombinationsbehandlung aus dem Therapeutikum und Bestrahlung. Das Überleben des Wildtyps und der Klone wurde in Abhängigkeit von der Dosis in Graphen aufgetragen. Hierbei wurde das Überleben nach Bestrahlung mit dem Überleben nach kombinierter Behandlung des Therapeutikums mit Bestrahlung verglichen.

Es ergab sich, dass die Kombination von Bestrahlung und Therapeutikum eine deutliche Sensibilisierung der Zellen zeigte, wobei die Sensibilisierung entsprechend der eingesetzten Therapeutika variierte. Insbesondere der resistente Subklon 9.2 zeigte eine deutliche Sensibilisierung durch die Talazoparib Behandlung. Bei der Kombination von Talazoparib mit 2 Gy zeigte sich ein vergleichbares zelluläres Überleben zur alleinigen Bestrahlung mit 4 Gy.

Die Daten zur Überlebensanalyse nach kombinierter Behandlung mit Talazoparib wurden unter dem Titel „Partial reduction in *BRCA1* gene dose modulates DNA replication stress level and thereby contributes to sensitivity or resistance“, Classen, S.; Rahlf, E.; Jungwirth, J.; Albers, N.; Hebestreit, L.P.; Zielinski, A.; Poole, L.; Groth, M.; Koch, P.; Liehr, T.; Kankel, S.; Cordes, N.; Petersen, C.; Rothkamm, K.; Pospiech, H.; Borgmann, K., *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 13363 (Impact Factor: 6.208) bereits publiziert.

Aktuell werden Untersuchungen zur Bedeutung der Unterschiede in der DNA-Reparatur und ihre Auswirkungen auf die Aktivierung der Immunantwort durchgeführt. Dazu wurden bereits vorbereitende Proben für den Nachweis extranukleärer DNA mittels PicoGreen Test und Zellextrakte für die Untersuchung Immun-relevanter Proteine im Western Blot hergestellt.