

Abschlussbericht

Kann die Therapie mit Retinsäure das Wachstum von NF1 assoziierten humanen malignen peripheren Nervenscheidentumoren (MPNST) im Mausmodel hemmen?

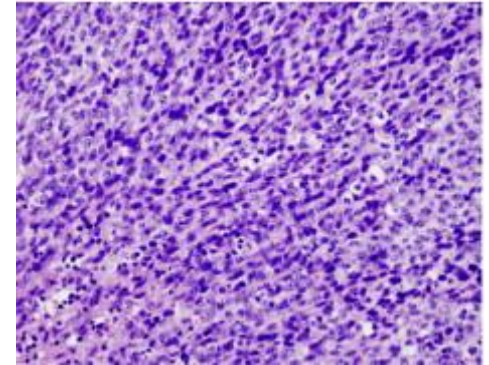
PD Dr. med. Anja Harder

Dr. rer. nat. Susan Fischer-Huchzermeyer



Maligner peripherer Nervenscheidentumor

- assoziiert mit NF1, erhöhtes Risiko bei NF1 (bis 13%)
- schlechte Prognose: 39-60% überleben 5 Jahre
- Therapien aktuell:
 - chirurgische Resektion
 - Chemotherapie (Doxorubicin, Ifosfamid)
 - Strahlentherapie
 - in Testung: Everolimus, Erlotinib, Rapamycin



Retinsäure / ATRA

- bei Hauterkrankungen und Krebserkrankungen erfolgreich (akute promyelozytische Leukämie, Neuroblastom, Akne, ...)

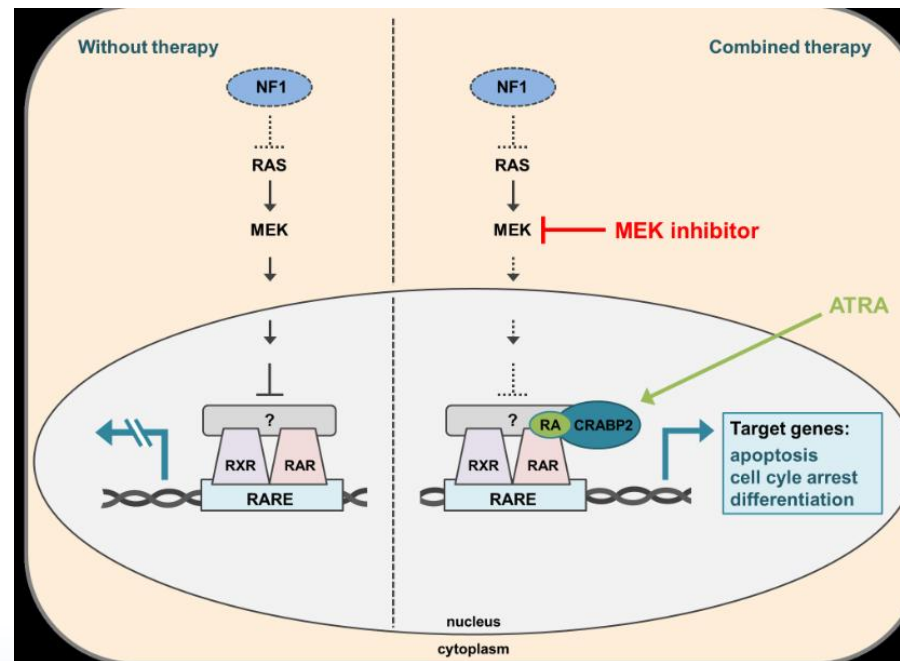


CRABP2 (zelluläres Retinsäure-bindendes Protein 2)

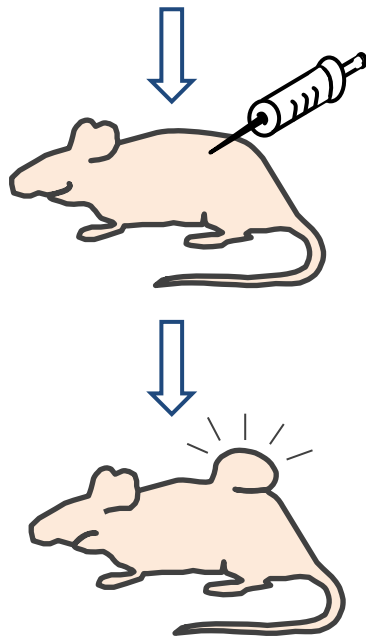
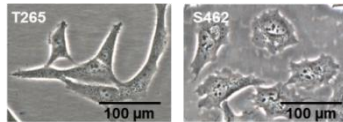
- transportiert die ATRA

Ergebnisse Zellkultur:

Die Kombinationstherapie (ATRA plus MEK-Inhibitoren) von NF1-assoziierten Tumor-Schwannzellen *in-vitro* zeigt ein verstärktes Ansprechen in 2/3 Zelllinien (S462, T265).



Publikation eingereicht bei PLOS ONE.



Ergebnisse Tiermodell:

- Tiere fressen und vertragen Medikamente
- von vier verschiedenen Mausarten (Balb/c, nu/nu Foxn1, Shorn NOD-Scid, SHO Hr) zeigen nur FOXn1 gute Tumorbildungen
- 2 Zelllinien (T265, S462) lassen nach 7 Wochen Tumoren entstehen
- ATRA-Serum-Spiegel sind messbar

Problem: Im Kontrast zur Literatur sind die subkutanen Tumoren nach 7 Wochen sehr klein, so dass eine Messung der Volumenreduktion unter der Therapie erschwert wird.



Ergebnisse Tiermodell:

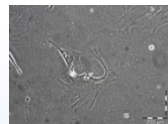
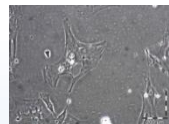
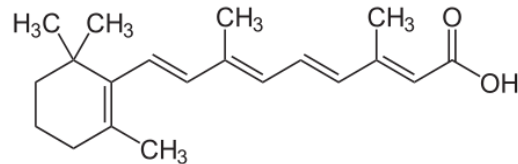
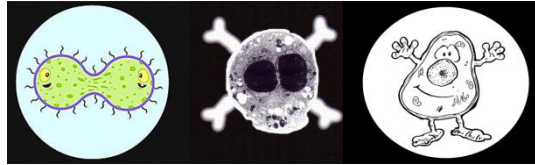
Die Behandlung von MPNST (Xenotransplantate) mit ATRA oder MEKi im Nacktmausmodell (nu/nu Foxn1) mittels oraler Verabreichung führt nicht zu einer signifikanten Reduktion der subkutanen Tumoren, die aus S462-MPNST-Zelllinien generiert wurden.



Zur Wirksamkeit einer Kombinationstherapie von ATRA und MEKi aufgrund inkompletter Aufnahme kann im Nacktmausmodell (Xenotransplante) keine Aussage getroffen werden. Eine andere Applikationsart sollte versucht werden.

Bislang also kein Nachweis einer Wirksamkeit von ATRA im Tiermodell.

CRABP2 in MPNST



Charakterisierung von MPNST in Kultur

Evaluation der Retinsäure-unabhängigen Rolle von CRABP2

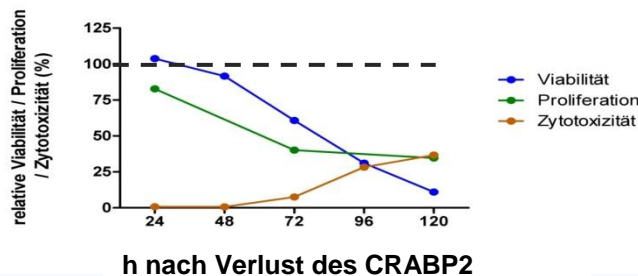
Identifizierung von Signalwegen, die durch CRABP2 beeinflusst werden

Untersuchung der allgemeinen Rolle von CRABP2 in normalen Zellen

Rolle von CRABP2

Ergebnisse:

1. Der Verlust von CRABP2 in Tumor-Schwanzzellen bewirkt ein schlechteres Überleben der Zellen im Vergleich zu Tumorzellen mit CRABP2. Somit ist CRABP2 unabhängig von ATRA für das Überleben von Zellen notwendig (fehlt es, wird Zytotoxizität durch Apoptose induziert). **Da MPNST-Zellen CRABP2 exprimieren, stellt CRABP2 selbst nun ein neues therapeutisches Target dar, das in der Zukunft untersucht werden sollte.**
2. Der Typ-1-Interferon-Signalweg ist heraufreguliert, wenn CRABP2 fehlt (Reporter Array für 45 verschiedene Signalwege in MPNST-Zellen).



ATF2/3/4	GR	AP-1	RAR
AR	HSF-1	MEF2	RXR
Nr2/Nr1	MTF-1	c-Myc	Sox2
ATF6	Gli	Nanog	SP1
C/EBP	HNF4	RBP-Jk	STAT3
CREB	HIF-1a	NFkB	SMAD2/3/4
E2F	IRF1	Oct4	VDR
p53	STAT1/STAT2	Pax6	TCF/LEF
EGR1	STAT1	FOXO	AhR
CBF/NF-Y/YY1	KLF4	NFAT	GATA
ER	PR	PPAR	SRF/EIk-1
			LXR

Publikation der Daten im American Journal of Pathology !!!!

Vielen Dank an



- **Institut für Neuropathologie**

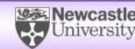
- Susan Fischer-Huchzermeyer
- Volker Senner
- Tanja Kuhlmann
- Steffi Albrecht

- alle anderen Mausexperten

- Verena Stahn
- Eric Tietz

- **Kooperationspartner**

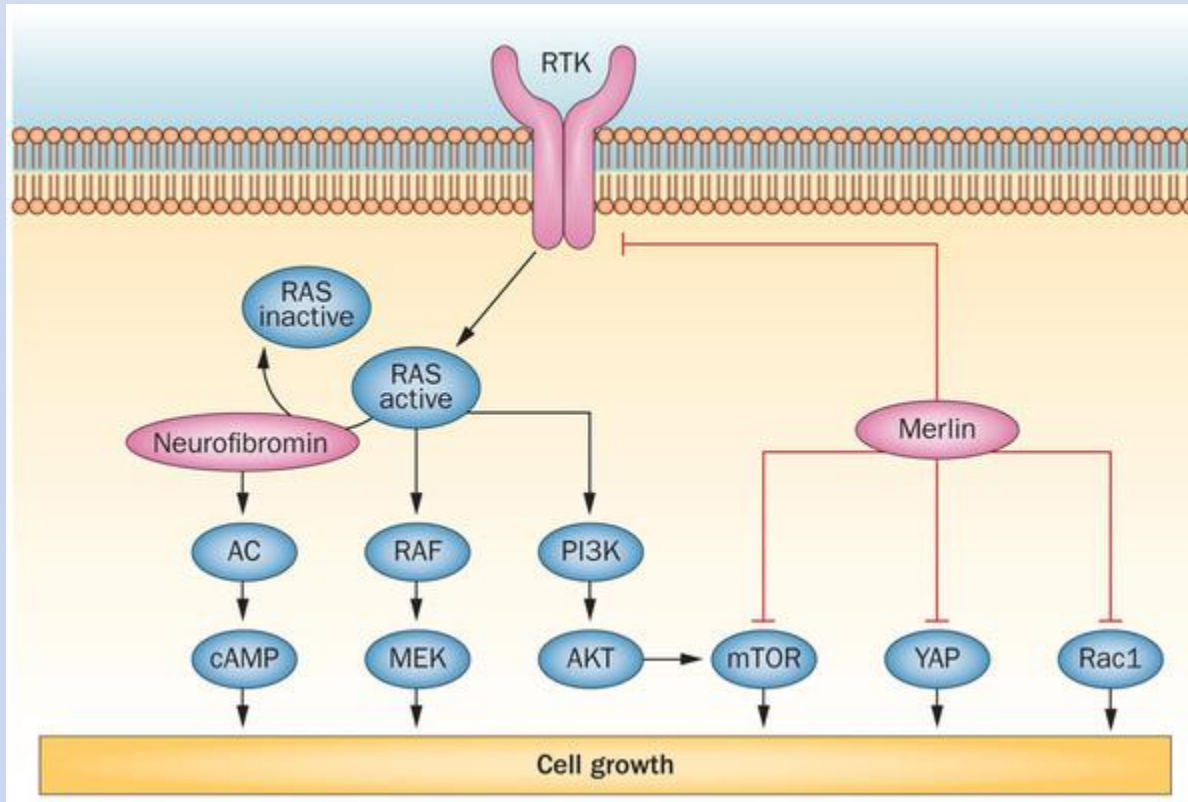
Northern Institute for Cancer Research



- Dr. Gareth Veal

Vielen Dank.





Problemdiskussion - 1

Die im hier verwendeten Nacktmausmodell erreichten Tumorgrößen waren relativ klein (zum Vergleich haben wir entsprechend *Jessen et al., 2013* nach 3 Wochen eine Größe von 200mm³ erwartet, allerdings sind die Tumorgrößen, die in AG Mautner erreicht werden, auch deutlich kleiner).

Insofern ist nicht auszuschließen, dass bei größeren Tumolvolumina auch kleinere Therapieeffekte durch ATRA messbar werden, da überdies die Bestimmung der Tumorgröße mittels eines Kalipers schon größere Messungenauigkeiten mit sich bringt.

Um dieses Problem zu umgehen, hätte man die Tumoren mit einer bildgebenden Methode vermessen müssen (MRT oder Ultraschall). Die logistischen Voraussetzungen sind aber hierfür in Münster, da es sich um immunsupprimierte Mäuse handelt, die besondere Haltungsbedingungen benötigen, nicht vorhanden. Die Vermessung der Tumoren kann auch nachträglich noch erfolgen, indem man das Tumormaterial im Paraffin durch Schnittdicke vermisst, dies ist jedoch sehr aufwendig, **weshalb diese Ergebnisse noch ausstehen.**

Problemdiskussion - 2

Die Nacktmäuse haben in unserem Modell die orale Verabreichung der Kombinationspräparate (MEK-Inhibitor plus ATRA) komplett verweigert. Dies war nicht vorauszusehen, da in den Vorversuchen MEK-Inhibitor und ATRA toleriert worden sind. Allerdings ist die Medikamentenverträglichkeit im Vorversuch an Balb/c-Mäusen getestet worden, während im Hauptversuch Foxn-Mäuse genutzt worden sind, da diese als einzige eine stabile Tumorbildung aufgewiesen haben.

Aus unserer Sicht ist also dieser Versuch nicht auszuwerten, da nicht sicher gestellt werden konnte, dass die Mäuse die Medikamente oral zufriedenstellend aufgenommen haben.

Man kann diesen Versuch aus unserer Sicht nur durch intraperitoneale Applikation der Medikamente sicher durchführen. Diese Applikationsart hat aber der Tierarzt in Münster nicht genehmigt. In der Zukunft sollte diese offene Fragestellung unbedingt noch einmal beantwortet werden, da aus unseren in-vitro-Experimenten eine verstärkte Wirkung der Kombinationstherapie auf MPNST-Zellen eindeutig belegt wird.