

Mahdi Akbarpour

Doktor Scientiarum Humanarum (Dr.sc.hum)

Evaluation of photon, proton, helium, and carbon ion irradiation in prototypic NSCLC and HNSCC preclinical xenograft models

Fach/Einrichtung: Radiologie / Strahlentherapie

Doktorvater: Prof. Dr.med. Dr. rer. nat. Jürgen Debus

In dieser Arbeit werden neuartige Strahlenqualitäten mit funktionellen genetischen *in-vivo*-Screens in prototypischen Kopf- und Halsplattenepithelkarzinomen (HNSCC, FaDu) und nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC, A549) in präklinischen Xenotransplantationsmodellen evaluiert. Unter Verwendung von genomweiten FaDu- und A549-CRISPR/Cas9-Bibliotheken wurde die *in-vivo*-Tumorantwort auf eine konventionelle Photonen-Strahlentherapie sowie auf eine Bestrahlung mit einer Reihe von Partikeln mit zunehmender Ionisationsdichte (LET), d.h. Protonen-, Helium-, Kohlenstoff- und Sauerstoffionen, untersucht. Zwei genomweite gRNA-Bibliotheken - GeCKO A und Brunello - wurden in Cas9-exprimierende FaDu- und A549-Zellen angewandt. Next-Generation-Sequencing (NGS) Analysen der gRNA Verteilung und der Genexpression erlaubten Einblicke in molekulare Vorgänge der Tumorentwicklung sowie die Identifikation von Genen und Signalwegen, die unter *in-vivo* und unter therapeutischem Selektionsdruck förderlich für das Tumorwachstum sind.

Unabhängig von Tumormodell und gRNA-Bibliothek wurde *in-vivo* eine deutliche Reduktion der gRNA basierten Komplexität gegenüber *in-vitro* festgestellt. Eine zusätzliche Verminderung wurde in bestrahlten Proben beobachtet. Eine klonale Tumor-Evolution wurde – im Sinne einer Expansion weniger Klone – beobachtet, wobei wenige Klone einen Großteil des Tumors ausmachten. Die Tumorwachstumsrate stand in einem negativen Zusammenhang mit der gemessenen Komplexität der gRNA Bibliothek - einem potenziellen Surrogat für die intratumorale Heterogenität -, was den zuvor beschriebenen Zusammenhang zwischen hoher intratumoraler Komplexität und erhöhter Tumoraggressivität untermauert.

Die Bestrahlung mit Partikeln mit hoher LET führte zu einer effizienteren Tumorkontrolle, beobachtbar als Tumorregression (im FaDu-Modell) bzw. als verstärkte Wachstumsverzögerung (im A549-Modell). Bestrahlungstyp-spezifische Transkriptom-Signaturen zeigten sowohl günstige als auch ungünstige Veränderungen, die eine Modulation der Tumormikroumgebung (TGF- β), Entzündung und Seneszenz, pro- und antiangiogene Veränderungen, DNA-Schadensreparatur, Hypoxie und Antigenpräsentation beinhalten. Die Hauptfaktoren, die die Unterschiede in den Transkriptomprofilen innerhalb der Partikel beeinflussten, waren der LET (hohe vs. niedrige LET-Gruppen).

Auf Ebene der gRNAs scheint die Strahlenresistenz durch den Verlust von TGF- β -Signalkomponenten (BMP8A), Chromatin-Remodeling (KDM5C) und Stoffwechselwegen (MDH2) vermittelt zu werden. Analysen der LET-Abhängigkeit identifizierten auch die TGF- β -Signalübertragung als Schlüsselkomponente, die Vermittlung des Zelltods (BAD, BNIP3) und Tumorsuppressoren (ARID2).

Ein gemeinsames Muster übergreifend über die analysierten Tumormodelle und Bibliotheken war ein gradueller, LET-abhängiger Anstieg von Genen, die mit Immunsignalprozessen in Verbindung stehen (HLAs, Interferonantwort, MX1 usw.), und mit der Anreicherung von Signalwegen korrelieren, die mit der Immunantwort in Verbindung stehen. Zusammenfassend bietet diese Arbeit neue Einblicke in die molekularen Faktoren, die das Tumorstadium unter konventioneller Photonen- und Ionenstrahltherapie beeinflussen.