

**Results:** ST-4PC demonstrated a sustained and steady release of the incorporated drugs with 50% dx and 20% bic being released after 14 days. We did not observe any systemic toxicity. We observed dx dose dependent local side effects in the s.c. but not in the orthotopic model illustrating the limitations of s.c. models for the evaluation of local cytotoxic therapy. In the s.c. model, 0.1/4% and 0.25/4% dx/bic paste significantly reduced ST-4PC PSA progression, but did not have a significant inhibitory effect on TV. Full dose ST-4PC (1/4% dx/bic) significantly reduced TV, serum PSA and bioluminescence in the orthotopic xenograft model.

**Conclusion:** Image guided FT using ST-4PC demonstrated promising inhibition of PSA progression and tumor growth and has shown to be safe *in vivo* warranting further clinical evaluation.

#### V14.7

### Investigation of TRPM4 and store-operated calcium entry in prostate cancer cell systems and a primary prostate cancer stem cell model

A. Borgström<sup>1</sup>, M. Kiener<sup>2</sup>, S. Kappel<sup>1</sup>, B. Hauert<sup>1</sup>, C. Delalande<sup>2</sup>, E. Zoni<sup>2</sup>, J.-L. Reynond<sup>2</sup>, G. N. Thalmann<sup>3,3</sup>, C. Peñhler<sup>1</sup>, M. Kruthof-de Jullio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University of Bern, Institute of Biochemistry and Molecular Medicine, Bern, Switzerland; <sup>2</sup>University of Bern, Department of Urology and Biomedical Research, Bern, Switzerland; <sup>3</sup>Bern University Hospital, Department of Urology and Biomedical Research, Bern, Switzerland

**Objectives:** Metastatic disease represents the deadliest stage of prostate cancer (PCa). In order to target aggressive PCa cells, it is crucial to characterize PCa cell subpopulations with stem cell properties. High aldehyde dehydrogenase (ALDH) activity is implicated in PCa recurrence and metastasis formation, therefore considered as PCa stem cell-like cell marker. Specific ion channels distinguish PCa cell lines of different metastatic ability. Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry (SOCE) is mediated by Orai channels and STIM Ca<sup>2+</sup> sensors. SOCE is modulated by transient receptor potential melastatin 4 (TRPM4), a Ca<sup>2+</sup> activated cation channel implicated in PCa cell migration.

We studied if ion channels correlate to the differential metastatic potential of ALDH<sup>high/low</sup> PCa cells.

**Methods:** PC-3M-Pro4 cells were sorted for tumorigenic, metastatic ALDH<sup>high</sup> and non-tumorigenic, non-metastatic ALDH<sup>low</sup> subpopulations. Orai and STIM expression was assessed by RT-qPCR. SOCE was measured by Fura-2-ratiometric dye based Ca<sup>2+</sup> imaging. TRPM4 was knocked-out in DU145 cells or blocked by a small molecule TRPM4 inhibitor, Gd<sup>3+</sup>, and migration was assessed. TRPM4 expression was evaluated in PCa tissue.

**Results:** SOCE was increased in PC-3M-Pro4-ALDH<sup>high</sup> cells compared to ALDH<sup>low</sup> cells. Orai and STIM proteins were differentially expressed among these subpopulations. Migration of DU145 cells was reduced by TRPM4 knock-out as well as by application of the TRPM4 inhibitor Gd<sup>3+</sup>. Finally, TRPM4 displayed a specific pattern in PCa tissue.

**Conclusions:** We found elevated SOCE in stem cell-like PCa cells. Further investigations will show, if there is a differentiated role for Orai/TRPM4 channels in cancer stem cell migration.

#### V14.8

### Regulationsmechanismus von p53 im Prostatakarzinom

B. Köditz<sup>1</sup>, P. Paffenholz<sup>1</sup>, H. Göbel<sup>1</sup>, J. Salem<sup>1</sup>, J. Fries<sup>2</sup>, A. Heidenreich<sup>1</sup>, M. von Brandenstein<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Köln, Klinik für Urologie, Uro-Onkologie, spezielle urologische und roboter-assistierte Chirurgie, Köln, Deutschland; <sup>2</sup>Universitätsklinikum Köln, Institut für Pathologie, Köln, Deutschland

**Einleitung:** Endothelin 1 (ET-1) ist ein multifunktionales Protein. Überexpression des ET-1 im Prostatakarzinom (PCa) steht in Korrelation mit Tumorprogression. ET-1 ist für die Überexpression der miRNA-15a verantwortlich, welche für die Produktion von Mxi-2 (verkürzte Variante der MAPK p38) essentiell ist. Im Brustkrebs wurde ein Komplex bestehend aus Mxi-2/Ago2/miR-1285 ausgemacht, welcher an der Herunterregula-

tion von p53 beteiligt ist. Die Fragestellung war, ob dieser Komplex ebenfalls im PCa vorhanden ist.

**Material und Methoden:** Für die Identifikation wurde die Zelllinie PC3 verwendet, welche mit ET-1, SB203580 (MAPK p38 Inhibitor), BQ123 (ETAR Inhibitor) und BQ788 (ETBR Inhibitor) sowie in Kombination behandelt wurde. Proteine und RNA wurden mittels Western Blot, Immunpräzipitation und qRT-PCR analysiert. Patientenbiopsien und Serumproben wurden mittels qRT-PCR und ELISA analysiert.

**Ergebnisse:** Der Komplex (Mxi-2/Ago2/miR-1285) konnte in der PCa Zelllinie nachgewiesen werden und ist an der Herunterregulation von p53 beteiligt. In Patientenbiopsien konnte eine Überexpression beider beteiligten miRs bestimmt werden. Die Mxi-2 Konzentration im Patientenserum war signifikant erhöht und konnte mit der Aggressivität des PCas in Verbindung gebracht werden ( $p < 0,001$ ). Die Gruppe der Patienten bestand aus Gleason Score 6–10  $n = 40$ , Patienten mit Metastasen  $n = 10$  und Patienten mit Tumorregression  $n = 10$ .

**Schlussfolgerung:** Der Regulationsmechanismus bestehend aus Ago2/Mxi-2/miR-1285 konnte ebenfalls im PCa identifiziert werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Mxi-2 im Patientenserum nachweisbar ist und eine Korrelation zur ansteigenden Aggressivität des PCa besteht.

#### V14.9

### Etablierung und Charakterisierung eines spontan metastasierenden „Patient-Derived Xenograft (PDX)“ Modells für die translationale Prostatakarzinomforschung

T. Lange<sup>1</sup>, S. J. Oh-Hohenhorst<sup>1,2</sup>, S. Joosse<sup>2</sup>, K. Pantel<sup>1</sup>, O. Hahn<sup>1</sup>, T. Gosau<sup>1</sup>, S. Dystlovoj<sup>2</sup>, J. Weibrock<sup>2</sup>, S. Feldhaus<sup>1</sup>, H. Maar<sup>1</sup>, R. Gehrke<sup>1</sup>, M. Kruth<sup>2</sup>, R. Simon<sup>2</sup>, T. Schönm<sup>2</sup>, H. Hüland<sup>2</sup>, U. Schumacher<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Anatomie und Experimentelle Morphologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland; <sup>2</sup>Martin-Klinik am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland; <sup>3</sup>Institut für Tumorphologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Deutschland; <sup>4</sup>Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität, Urologische Klinik und Poliklinik, Göttingen, Deutschland; <sup>5</sup>Zentrum für Onkologie, II. Medizinische Klinik und Poliklinik Onkologie, Hämatologie, Knochenmarktransplantation mit Abteilung für Pneumologie, Hamburg, Deutschland; <sup>6</sup>Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Sektionen Molekularpathologie und Zytopathologie, Hamburg, Deutschland; <sup>7</sup>Klinik für Urologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Deutschland

**Einleitung:** Wir etablierten ein neues PDX Modell, das die Pathophysiologie des metastatischen CRPC repräsentiert.

**Methoden:** Das PCa Gewebe aus der OP wurde direkt in die immundefizienten Mäuse eingepflanzt. Der angewachsene Primärtumor wurde dann serial transplantiert. Bei jeder Passage wurde DNA aus Mausblut und -organen isoliert, um DTC und CTC mittels Ah1-PCR zu quantifizieren. Die Expressionen von AR, PSMA und ERG wurden mittels IH untersucht, während PTEN und CHD1 Status mit FISH analysiert wurden. DNA und RNA aus Primärtumoren wurden für das Next Generation Sequencing und RNA Sequencing isoliert.

**Ergebnisse:** Unser PDX Modell wurde als C5 bezeichnet. Der C5-Spender zeigte ein typisches Bild eines CRPC, u.a. mäßig- bis kein Ansprechen auf ADT, rasche Krankheitsprogression durch massive Metastasierung nach RP sowie primäre Resistenz gegenüber Abirateron. Der initial transplantierte C5 Tumor resultierte nach 207 Tage in einem taubaren Primärtumor sowie Mikrometastasen im Knochenmark, die Wachstumsperiode wurde kontinuierlich kürzer. Die Tumoren wuchsen auch in unterschiedlich immunologisch manipulierten Mäusen und bewahrten die Schlüsselmerkmale des Primärtumors wie AR+, PSMA+, ERG+, PTEN<sup>-</sup>/, CHD1+/-, Im Lauf der serialen Transplantation entwickelten einige Tumoren zunehmend Fernmetastasen mit hoher Tumorstadi und wir detektierten dabei transkriptomische Veränderungen. Die CNA und Mutation dieses Modells blieben über mehrere Passagen stabil und die Tumoren konnten problemlos für weitere *in vivo* Experimente kryokonserviert werden.