

PROGRAMMHEFT

14. SYMPOSIUM

Urologische Forschung
der Deutschen Gesellschaft für Urologie

Molekulare Grundlagen
für gezielte Diagnostik und Therapie



Aachen 2023
16. bis 18. November



DGU **AUF**



ARBEITSGRUPPE UROLOGISCHE FORSCHUNG

Inhalt

BEGRÜßUNG & HINWEISE	3
HERZLICH WILLKOMMEN.....	3
GRÜßWORT DER DGU.....	4
ALLGEMEINE HINWEISE	5
CME-ZERTIFIZIERUNG	6
SHUTTLE-BUSSE	6
EINGELADENE REFERENTINNEN & REFERENTEN	7
HINWEISE FÜR VORTRAGENDE & MODERIERENDE.....	8
WISSENSCHAFTLICHE PREISE	8
BISHERIGE PREISTRÄGERINNEN & PREISTRÄGER	9
WISSENSCHAFTLICHES PROGRAMM	11
DONNERSTAG 16.11.2023.....	13
FREITAG, 17.11.2023.....	15
SAMSTAG, 18.11.2023	20
ABSTRACTS	23
FÖRDERER & SPONSOREN	79
AuF 2024	83
FERDINAND EISENBERGER-FORSCHUNGSSTIPENDIEN DER DGU	85
WOLFGANG LUTZEYER-FORSCHUNGSSTIPENDIUM DER DGU	86
AuF-SYMPOSIUM 2024	87

HERZLICH WILLKOMMEN

Sehr geehrte Damen und Herren,
liebe Kolleginnen und Kollegen,
liebe Forschende,

wir freuen uns sehr, Sie im Namen der Arbeitsgruppe urologische Forschung (AuF) zum 14. Symposium der Deutschen Gesellschaft für Urologie in Aachen begrüßen zu dürfen.

Wir haben das AuF-Symposium 2023 unter das Motto „Molekulare Grundlagen für gezielte Diagnostik und Therapie“ gestellt. Damit möchten wir aktuelle Ansätze und Konzepte in der urologischen Forschung aufzeigen und beleuchten, welche diagnostischen und therapeutischen Fragestellungen an den verschiedenen urologischen Institutionen bearbeitet werden, welche Fortschritte es gibt und welche Entwicklungen ein Potenzial für den Schritt *from bench to bedside* haben. Inhaltlich fokussiert das Symposium insbesondere auf molekulare, genetische und epigenetische Grundlagen uro(onko)logischer Erkrankungen und deren translationaler Anwendungen. Neben den Hauptvorträgen zum Tagungsschwerpunkt gestalten vor allem Ihre wissenschaftlichen Beiträge aus dem breiteren urologischen Themenfeld in Form von Postern und Kurzvorträgen diese Tagung. Mit den AuF- und Uropathologie-Preisen sowie dem Max Kemper-Preis für erstmalig Teilnehmende werden zum Ende des Symposiums herausragende Präsentationen ausgezeichnet.

Als Neuerung haben wir das Tagungsprogramm am Freitagnachmittag etwas entspannt, so dass Sie auch an diesem Kongresstag die Möglichkeit haben werden, vor Beginn der Abendveranstaltung Ihr Hotel aufzusuchen oder ein Sightseeing im historischen Zentrum Aachens zu unternehmen. Zudem haben wir Shuttle-Busse organisiert, mit denen Sie jeden Tag bequem zwischen Aachener Innenstadt und Tagungslocation pendeln können.

Gemeinsam freuen wir uns nun auf einen anregenden Austausch, spannende Diskussionen und gesellige Tage mit Ihnen in Aachen und hoffen, dass wir mit diesem Symposium der urologischen Forschung neue Impulse geben können.



PD Dr. med. Jennifer Kranz

Tagungspräsidentin
Klinik für Urologie und
Kinderurologie
Uniklinik RWTH Aachen



Prof. Dr. rer. nat. Philipp Wolf

Tagungspräsident
AG Antikörper-basierte Diagnostik und Therapie
Klinik für Urologie
Universitätsklinikum Freiburg

GRÜßWORT DER DGU

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

zum mittlerweile 14. Mal findet im November das „Symposium Urologische Forschung der DGU“ statt. In diesem Jahr macht unsere Tournee Halt in der ganz im Zeichen Europas stehenden Kaiserstadt Aachen.

Das AuF-Symposium ist eine jährliche Veranstaltung der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. mit bundesweiter Bedeutung und versteht sich als grundlagenwissenschaftliche Ergänzung zum Jahreskongress unserer Fachgesellschaft. Das Besondere dieses Tagungsformats ist sicherlich der niederschwellige und dadurch besonders intensive, kollegiale Austausch zwischen Forscherinnen und Forschern mit medizinischen wie naturwissenschaftlichen Hintergründen unterschiedlicher Karriereebenen aus Urologie, Pathologie und weiteren angrenzenden Disziplinen.

Mit dem Themenschwerpunkt „Molekulare Grundlagen für gezielte Diagnostik und Therapie“ bietet die Tagung allen urologisch forschenden Arbeitsgruppen und deren Nachwuchskräften einen umfassenden Rahmen zur Präsentation ihrer aktuellen Daten. Zusammen mit dem gesetzten Programm freue ich mich auf eine inhaltliche Vielfalt von Beiträgen, die die aktuellen molekularbiologischen Erkenntnisse zu uro(onko)logischen Krankheitsbildern abbilden und mögliche Entwicklungen daraus für Target-bezogene diagnostische oder therapeutische Verfahren aufzeigen.

In diesem Sinne sind interessante Diskussion zu erwarten und ich wünsche allen Teilnehmenden, Referierenden und Partnern der AuF eine entsprechend spannende Tagung und eine gute Zeit in Aachen!



Prof. Dr. med. Axel Haferkamp

Direktor der Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie der UM Mainz
Vorsitzender der AuF & Leiter des DGU-Ressorts Forschungsförderung

ALLGEMEINE HINWEISE

Tagungsort

Technologiezentrum Aachen am Europaplatz – „The Urban Village“
Dennewartstraße 25-27 • 52068 Aachen



Anfahrtsskizze unter

https://tza-aachen.de/wp-content/uploads/2020/10/TZA_Anfahrtsbeschreibung.pdf

Tagungszeiten

Donnerstag, 16.11.2023, 14:30 Uhr bis
Samstag, 18.11.2023, 13:00 Uhr

Tagungsgebühren

120 € (Studierende und UroFors-Mitglieder: 80 €)

Abendveranstaltungen

An den beiden Abenden des AuF-Symposiums gibt es in gewohnt legerer Atmosphäre Gelegenheiten zu Diskussionen und zum gegenseitigen Kennenlernen. Karten erhalten Sie – solange der Vorrat reicht – auch noch an der Registrierung im Foyer.

- **Begrüßungsabend**
Donnerstag, 16.11.2023, 19:30 Uhr – „Ratskeller“, Markt 40, Aachen
Kosten: 25 € (Studierende und UroFors-Mitglieder: 15 €)
- **Geführte Besichtigung des Aachener Doms**
Freitag, 17.11.2023, 19:00 Uhr – Treffpunkt: Domininformation, Johannes-Paul-II-Straße
Die Teilnahme ist kostenfrei.
- **Experimenteller Abend**
Freitag, 17.11.2023, 20:00 Uhr – „Boulevard 30“, Campus-Boulevard 30, Aachen
Kosten: 35 € (Studierende und UroFors-Mitglieder: 25 €)

Kontakte

PD Dr. med.
Jennifer Kranz
Klinik für Urologie und Kinderurologie
Uniklinik RWTH Aachen
jkranz@ukaachen.de
Tel.: 0241-80 36886

Prof. Dr. rer. nat.
Philipp Wolf
AG Antikörper-basierte Diagnostik & Therapie
Universitätsklinikum Freiburg
philipp.wolf@uniklinik-freiburg.de
Tel.: 0761-270 28921

Dr. rer. nat.
Christoph Becker
Forschungskoordination
DGU Düsseldorf
cbecker@dgu.de
Tel.: 0211-516096 30

Technologiezentrum am Europaplatz
The Urban Village
Dennewartstraße 25-27, 52068 Aachen
konferenz@tza-aachen.de
Tel.: 0241-963 2023

CME-ZERTIFIZIERUNG

Wie gewohnt wurde auch das aktuelle Symposium „Urologische Forschung der DGU“ von der zuständigen Landesärztekammer – in diesem Fall der Ärztekammer Nordrhein – mit CME-Punkten zertifiziert. Das 14. AuF-Symposium erhielt dabei insgesamt **15 CME-Punkte**, die sich auf die drei Kongresstage verteilen.



Für teilnehmende Ärztinnen und Ärzte ist es erforderlich, sich *täglich* mit ihren EFN-Nummern (gerne auch mit Barcode-Aufklebern) in die entsprechenden, an der Registrierung ausliegenden CME-Listen einzutragen. Zudem werden für jeden besuchten Kongresstag gesonderte CME-Teilnahmebescheinigungen ausgestellt, die ebenfalls an der Registrierung ausgegeben werden.

Die Akademie der Deutschen Urologen übernimmt die Meldung der registrierten Teilnehmer an die einzelnen Landesärztekammern.

SHUTTLE-BUSSE

Für den Transfer zwischen der Aachener Innenstadt und dem Tagungszentrum TZA am Europaplatz bzw. zum Experimentellen Abend am Freitagabend bieten wir Shuttle-Busse an. Die zur Verfügung stehenden Busse des Aachener ÖPNV-Anbieters ASEAG tragen die Kennzeichnung „AuF-Symposium“ und pendeln nach folgendem Fahrplan:

Zeit	Start	Ziel
Donnerstag, 16.11.2023		
14:00	Elisenbrunnen (Haltestelle 5)	TZA am Europaplatz
18:15	TZA am Europaplatz	Elisenbrunnen
Freitag, 17.11.2023		
08:30	Elisenbrunnen (Haltestelle 5)	TZA am Europaplatz
17:00	TZA am Europaplatz	Elisenbrunnen
19:50	Elisenbrunnen (Haltestelle 3)	Campus Boulevard 30
23:00	Campus Boulevard 30	Elisenbrunnen
Samstag, 18.11.2023		
08:30	Elisenbrunnen (Haltestelle 5)	TZA am Europaplatz
13:15	TZA am Europaplatz	Elisenbrunnen und weiter zum Hauptbahnhof Aachen

Die Nutzung der Shuttle-Busse ist für Teilnehmende des AuF-Symposiums kostenfrei.

EINGELADENE REFERENTINNEN & REFERENTEN



Prof. Dr. med.
Matthias Schwab
Dr. Margarethe Fischer-
Bosch-Institut für Klinische
Pharmakologie (IKP)



Prof. Dr. rer. nat.
Elfriede Nößner
AG Immunanalytik
Helmholtz Zentrum
München



Prof. Dr. med.
Matthias Saar
Klinik für Urologie und
Kinderurologie
Uniklinik RWTH Aachen



Prof. Dr. med.
Michael Hölzel
Institut für
Experimentelle Onkologie
Universitätsklinikum Bonn



PD Dr. med.
Christoph Kuppe
Medizinische Klinik II
Uniklinik RWTH Aachen



Prof. Dr. med.
Nadine Gaisa
Institut für Pathologie
Universitätsklinikum Ulm



Prof. Dr. phil. nat.
Katharina Lückerath
Klinik für Nuklearmedizin
Universitätsklinikum Essen



Prof. Dr. med.
David Pfister
Klinik für Urologie
Uniklinik Köln



Prof. Dr. med.
Ken Herrmann
Klinik für Nuklearmedizin
Universitätsklinikum Essen



Prof. Dr. med.
Almut Schulze
Abt. Tumormetabolismus
und Microenvironment
DKFZ Heidelberg

HINWEISE FÜR VORTRAGENDE & MODERIERENDE

Die über Abstracts eingereichten Beiträge des Symposiums werden auch in diesem Jahr wieder als Kurzvorträge *und* als Poster präsentiert. Wir möchten die Vortragenden und Moderierenden freundlich bitten, auf die **Einhaltung der Redezeiten (!)** zu achten und darüber hinaus die Posterautorinnen und Posterautoren, sich während der ausgewiesenen Postersessions für die Posterinterviews und Fragen der Teilnehmenden an ihrem Poster aufzuhalten. Die Tagungssprache ist Deutsch. Nicht-deutschsprachige Rednerinnen und Redner sind herzlich eingeladen, ihre Beiträge in Englisch vorzutragen.

Die Tagungstechnik verwendet Microsoft PowerPoint unter Windows. Bitte achten Sie auf entsprechende Kompatibilität Ihrer Präsentation, da wir aus Zeitgründen kein individuelles Anschliessen von Apple-MacBooks ermöglichen können. Die Medienannahme befindet sich im vorderen Bereich des Tagungssaals „Lenthe“. Reichen Sie Ihre Präsentation bitte ca. eine halbe Stunde vor Beginn Ihrer Sitzung ein. Sollte Ihr Vortrag Videosequenzen enthalten, achten Sie auch darauf, die entsprechenden Dateien zusätzlich zu Ihrer ppt-Datei mit abzugeben.

Poster können bereits zu Beginn des Symposiums im Saal „Lennep“ – direkt neben dem Vortragssaal „Lenthe“ – angebracht werden und dürfen bis zum Tagungsende hängen bleiben. Für jede Posternummer steht eine entsprechend gekennzeichnete Posterwand zur Verfügung. Material zum Aufhängen der Poster wird gestellt.

Die Abstracts der präsentierten Beiträge werden Anfang 2024 in der Zeitschrift „Die Urologie“ zitierfähig publiziert.

WISSENSCHAFTLICHE PREISE

Traditionell werden am Ende des Symposiums herausragende Präsentationen sowohl von medizinischen als auch von naturwissenschaftlichen Forscherinnen und Forschern mit insgesamt zwei AuF-Preisen in Höhe von je 500 € ausgezeichnet. Darüber hinaus wird ein Urologie-Preis ebenfalls in Höhe von 500 € explizit an einen urologischen Beitrag zur Stärkung der Kooperation mit der Deutschen Gesellschaft für Pathologie ausgelobt. Die Preisgelder werden von der DGU zur Verfügung gestellt.

Zudem verleiht die AuF mit dem Max Kemper-Preis ein Reisestipendium inklusive *wild card* zum nächstjährigen AuF-Symposium für die beste Präsentation einer/s erstmalig Teilnehmenden. Der Max Kemper-Preis wurde aus dem Nachlass des Namensgebers zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses in der Urologie gestiftet.

Über die Vergabe der Preise entscheidet eine Jury. Kurzvorträge und Posterpräsentationen werden dabei gleichrangig berücksichtigt.

BISHERIGE PREISTRÄGERINNEN & PREISTRÄGER

AuF-Preise

- 1. AuF-Symposium **2009** in München: Dr. rer. nat. Annika Fendler, Berlin
Dr. med. Matthias Saar, Homburg/Saar
- 2. AuF-Symposium **2010** in Mainz: Dr. rer. nat. Natalie Sampson, Innsbruck, A
Dr. med. Friedemann Zengerling, Ulm
- 3. AuF-Symposium **2011** in Jena: Dr. rer. nat. Kerstin Boll & Rudolf Ascherl, Leipzig
Dr. med. Matthias Heck, München
Dr. rer. nat. Elke Nolte, Erlangen
Dr. rer. nat. Elke Schneider, Mainz
- 4. AuF-Symposium **2012** in Berlin: Dr. med. Carl Ludwig Behnes, Göttingen
Dr. rer. nat. Nina Korzeniewski, Heidelberg
Dr. rer. nat. Bettina Schlick, Innsbruck, A
PD Dr. med. Carsten Stephan, Berlin
- 5. AuF-Symposium **2013** in Gießen: Dr. med. Felix Bremmer, Göttingen
Dr. phil. nat. Klaus Deckmann, Gießen
M.Sc. Linda Gummlich, Berlin
Dr. med. Peter Rubenwolf, Mainz
- 6. AuF-Symposium **2014** in Homburg: M.Sc. Ines Breuksch, Mainz
Dipl.-Biol. Beatrice Stubendorff, Homburg/Saar
Dr. med. Anja Urbschat, Marburg
Dr. med. Martin Weiss, Greifswald
- 7. AuF-Symposium **2015** in Dresden: M.Sc. Eva Lichtenegger, München
Dr. med. Johannes Linxweiler, Homburg/Saar
Dr. med. Malin Nientiedt, Bonn
Dipl.-Biol. Karsten Salomo, Dresden
- 8. AuF-Symposium **2016** in Bonn: M.Sc. Sophie Baumgart, Homburg/Saar
Dr. med. David Müller, Basel
Dr. rer. nat. Daniel Nettersheim, Bonn
Dr. med. Laila Schneidewind, Freiburg
- 9. AuF-Symposium **2017** in Freiburg: Isabella Barth, Aachen
M.Sc. Daniel Bauer, Berlin
M.Sc. Sebastian Maxeiner, Frankfurt a.M.
Dr. med. Kathrin Reichel, Freiburg i.Br.
- 10. AuF-Symposium **2018** in Mainz: Dr. med. Niklas Klümper, Bonn
Dr. rer. nat. Katja Nitschke, Mannheim
Dr. med. Anne Offermann, Lübeck
Dr. rer. nat. Margaretha Skowron, Düsseldorf
- 11. AuF-Symposium **2019** in Tübingen: Dr. rer. med. Mandy Berndt-Paetz, Leipzig
Cand. med. Lisa Grote, Düsseldorf
Cand. med. Leander Schweibold, Tübingen
- 12. AuF-Symposium **2021** in Berlin: M.Sc. Anna Barkowiak, Düsseldorf
Cand. med. Christina Meisl, Berlin
- 13. AuF-Symposium **2022** in Erlangen: M.Sc. Mara Kotthoff, Düsseldorf
Dr. rer. nat. Sarah Meneceur, Düsseldorf

Max Kemper-Preis

- 8. AuF-Symposium **2016** in Bonn: Cand. med. Clara Humke, Marburg
- 9. AuF-Symposium **2017** in Freiburg: Dr. med. Nadine Gelbrich, Greifswald
Cand. med. Anne-Kathrin Thiemens, Frankfurt
- 10. AuF-Symposium **2018** in Mainz: Cand. med. Sebastian Schwarz, Heidelberg
- 11. AuF-Symposium **2019** in Tübingen: Cand. med. Marina Bertlich, Göttingen
Cand. med. Philippa Lantwin, Heidelberg
- 12. AuF-Symposium **2021** in Berlin: M.Sc. Carla Steinhauser, Dresden
- 13. AuF-Symposium **2022** in Erlangen: Cand. med. Marc Philipp Manthey, Gießen

Uropathologie-Preis

- 11. AuF-Symposium **2019** in Tübingen: Dr. med. Simon Filmar, Göttingen
- 12. AuF-Symposium **2021** in Berlin: Dr. med. Franz Dreßler, Lübeck
- 13. AuF-Symposium **2022** in Erlangen: Cand. med. Friederike Kullmann, Erlangen
M.Sc. Julia Pannhausen, Aachen

WISSENSCHAFTLICHES PROGRAMM

Einführung	14. Symposium Urologische Forschung der DGU
14:30-14:35	Jennifer Kranz Tagungspräsidentin Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen Philipp Wolf Tagungspräsident AG Antikörper-basierte Diagnostik und Therapie, Klinik für Urologie, Universtitätsklinikum Freiburg
14:35-14:40	Axel Haferkamp Direktor der Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Mainz Leiter des DGU-Ressorts Forschungsförderung und Vorsitzender der AuF
14:40-14:45	Matthias Saar Direktor der Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen
Kurzvorträge 1	MOLEKULARE MECHANISMEN FÜR ZIELGERICHTETE THERAPIEN 1 Moderation: Jennifer Kranz , Aachen & Philipp Wolf , Freiburg
14:45-14:55	V1.1 Rebecca Schlößer Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen <i>Profiling the highly mutated chromatin remodeler ARID1A in urothelial bladder cell lines</i>
14:55-15:05	V1.2 Anja Rabien Klinik für Urologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin <i>MMP-14 has immunosuppressive roles in bladder cancer</i>
15:05-15:15	V1.3 Eduard Below Institut für Experimentelle Onkologie, Universitätsklinikum Bonn <i>Enfortumab Vedotin Induces a Drug-Tolerant Persistent Urothelial Cancer Cell State Which Can Be Targeted via BCL-XL Inhibition</i>
15:15-15:25	V1.4 Mara Kotthoff Klinik für Urologie, Abt. Translationale Uroonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf <i>Molekularbiologische Analyse von (refraktären) Dottersacktumoren zur Etablierung von spezifischen Therapieoptionen</i>
15:25-15:35	V1.5 Margaretha Skowron Klinik für Urologie, Abt. Translationale Uroonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf <i>Evaluation of NK-92-CD24-CAR cells, antibody (CLDN6)- / or nanobody (CXCR4)- drug-conjugates for the treatment of (refractory) germ cell tumors</i>
15:35-15:45	V1.6 Alex Stephan Klinik für Urologie, Abt. Translationale Uroonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf <i>Krebs-assoziierte Fibroblasten beeinflussen die Progression von Keimzelltumoren durch Sekretion der Effektormoleküle LGALS3BP und LYVE1</i>

Hauptreferat 1 TAGUNGSSCHWERPUNKT	
Moderation: Jennifer Kranz , Aachen & Philipp Wolf , Freiburg	
15:45-16:15	Matthias Schwab Dr. Margarethe Fischer-Bosch-Institut für Klinische Pharmakologie (IKP), Stuttgart <i>Risk prediction for renal cancer and consequences for targeted therapy</i>
16:15-16:45 Kaffeepause	
Industrie- beitrag 1	
SATELLITENSYMPOSIUM JANSSEN-CILAG	
Moderation: Axel Haferkamp , Mainz	
16:45-17:15	Matthias Saar Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen <i>Molekulare Testung in der Uro-Onkologie heute und morgen</i>
Kurzvorträge 2	
BIOMARKER	
Moderation: Axel Haferkamp , Mainz & Matthias Saar , Aachen	
17:15-17:25	V2.1 Palin Pontagratanakul Klinik für Urologie, Abt. Translationale Uroonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf <i>Definition des "Growing teratoma syndrome" anhand molekularer Subtypisierung und Identifizierung neuer Biomarker</i>
17:25-17:35	V2.2 Jakob Wieke Urologische Klinik, Sektion Molekulare Uroonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg <i>Genotype-phenotype disconnections in renal cell carcinoma: Implications for biomarker development and personalized therapy</i>
17:35-17:45	V2.3 Katja Nitschke Klinik für Urologie und Urochirurgie, Universitätsmedizin Mannheim <i>Hohe Expression von DNA-Reparaturgenen ist mit einem signifikant längeren Überleben im klarzelligen Nierenkarzinom assoziiert</i>
17:45-17:55	V2.4 Felix Steffens Klinik für Urologie und Urochirurgie, Universitätsmedizin Mannheim <i>Signifikanz der intratumoralen Fibrose im Nierenzellkarzinom</i>
17:55-18:05	V2.5 Daniel Uysal Klinik für Urologie und Urochirurgie, Universitätsmedizin Mannheim <i>Das 17q12-21 Amplikon um HER2 im muskelinvasiven Harnblasenkarzinom: ein molekularer entitätsübergreifender Vergleich</i>
19:30-23:00	Begrüßungsabend <i>Get Together</i> in der Gaststube „Ratskeller“ Gebuchte Teilnehmende

Kurzvorträge 3 THERPEUTISCHE ANSÄTZE & WIRKSTOFFE 1

Moderation: **Michèle Hoffmann-Massier**, Düsseldorf & **Stefan Duensing**, Heidelberg

- 09:00-09:10 V3.1 **Julia Pannhausen**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Enhanced radio-sensitizing effects of squamous bladder cancer cells by targeting DNA damage response (DDR) pathways
- 09:10-09:20 V3.2 **Jutta Schmitz**
Klinik für Urologie, AG Harnblasenkarzinom, Universitätsklinikum Düsseldorf
Bladder carcinoma cells are sensitized to PARP inhibitors by Bromodomain and Extra-Terminal motif (BET) inhibitors inducing DNA repair deficiency (BRCAness)
- 09:20-09:30 V3.3 **Nadine Gelbrich**
Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsmedizin Greifswald
Kombinationstherapie von medizinischem Gasplasma und Cisplatin steigert die Tumortoxizität und Immunogenität in humanen Harnblasenkrebszellen
- 09:30-09:40 V3.4 **Sascha Markowitsch**
Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Mainz
Sanguinarin induziert in Nierenzellkarzinom-Zellen die RIP1-abhängige Apoptose und unterstützt eine Cabozantinib-basierte Therapie in vitro
- 09:40-09:50 V3.5 **Olesya Vakhruшева**
Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Mainz
Präklinische Analysen zum Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf das progressive Wachstumsverhalten von therapieresistenten Blasenkarzinomzellen

Hauptreferat 2 TAGUNGSSCHWERPUNKT

Moderation: **Michèle Hoffmann-Massier**, Düsseldorf & **Stefan Duensing**, Heidelberg

- 09:50-10:20 **Christoph Kuppe**
Med. Klinik II, Klinik für Nieren u. Hochdruckkrankheiten, Rheumatologie u. Immunologie, Uniklinik RWTH Aachen
Neue Technologien in der Gewebeanalyse – Potential für die molekulare Grundlagenforschung der Urologie

10:20-11:05 Kaffeepause & Posterinterviews 1

Poster 1 BIOMARKER & METHODEN

Moderation: **Laila Schneidewind**, Greifswald & **Michael Rose**, Aachen

- P1.1 **June Möller**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Evaluation of immunohistochemical markers for neuroendocrine carcinomas of the bladder and prostate
- P1.2 **Gerit Theil**
Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsmedizin Halle/Saale
Clinical utility of digital PCR by detection of cell-free microRNA in PCa patients

P1.3 Marcus Derigs

Klinik für Urologie, Philipps-Universität Marburg

Increased expression of PD-L1 in urosepsis is associated with increased mortality and might be induced by the CRP-receptor CD64

P1.4 Moritz Maas

Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen

Nectin-4 Proteinexpression beim klarzelligen Nierenzellkarzinom

P1.5 Moritz Maas

Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen

Evaluation des MCM-5 Testes in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms - bekannte und unbekannt einflussnehmende Parameter auf das Testergebnis

P1.6 Moritz Maas

Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen

Evaluationen zur Veränderung der Ejakulatqualität 1985/86 vs. 2021/22

**Industrie-
Beitrag 2** **SATELLITENSYMPOSIUM NOVARTIS**
Moderation: **Bernd Wullich**, Erlangen & **Susanne Füssel**, Dresden

11:05-11:25 **Katharina Lückerath**
Klinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Essen
Radiobiologie: Ein Blick hinter die Kulissen

11:25-11:50 **Ken Herrmann**
Klinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Essen
Theranostik: Prinzip, Vorhersage & Ausblick

Kurzvorträge 4 **MODELLE**
Moderation: **Bernd Wullich**, Erlangen & **Susanne Füssel**, Dresden

11:50-12:00 **V4.1 Radu Alexa**
Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen
Establishment and optimization of deep learning models in diagnosing hydronephrosis

12:00-12:10 **V4.2 Anathanassios Fragoulis**
Institut für Anatomie und Zellbiologie, Uniklinik RWTH Aachen
Long-term MMC treatment of NMIBC using a novel intravesically applicable degradable drug-delivery system in our mouse model

12:10-12:20 **V4.3 Anna Herrmann**
Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen
The impact of substrate elasticity on cell functionality & interaction in prostate cancer

12:20-12:30 **V4.4 Pedro Pinto**
Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Greifswald
A Novel Multi-compartment Model to Study Renal Cell Carcinoma in vitro: Bridging Tumor and Healthy Epithelium

12:30-13:30 **Mittagspause**

Hauptreferat 3 TAGUNGSSCHWERPUNKT
Moderation: **Johannes Linxweiler**, Homburg/Saar & **Margaretha Skowron**, Düsseldorf

13:30-14:00 **Elfriede Nößner**
AG Immunanalytik, Helmholtz Zentrum München
Immunprofile des metastasierten Nierenzellkarzinoms zur Prädiktion des Therapieansprechens auf Immuncheckpointinhibition

Kurzvorträge 5 MOLEKULARE DIAGNOSTIK 1
Moderation: **Johannes Linxweiler**, Homburg/Saar & **Margaretha Skowron**, Düsseldorf

14:00-14:10 V5.1 **Mark-Sebastian Bösherz**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Development of a multiparametric grading system for prognostic stratification of squamous cell carcinomas of the bladder

14:10-14:20 V5.2 **Marco Hoffmann**
Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen
Therapeutic and diagnostic potential of folic acid receptors and glycosylphosphatidylinositol transamidase in prostate cancer

14:20-14:30 V5.3 **June Möller**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Comparison of variation effect prediction algorithms for the interpretation of single-base exchanges in cancers of the bladder and upper urinary tract

14:30-14:40 V5.4 **Alexander Fichtner**
Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen
ELOC-mutated Renal Cell Carcinoma

14:40-14:50 V5.5 **Annika Richter**
Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen
Postpubertale Teratome des Hodens mit somatischer Malignität - Eine morphologische, immunhistochemische und molekularpathologische Analyse

14:50-15:35 Kaffeepause & Posterinterviews 2

Poster 2 THERAPEUTISCHE ANSÄTZE & WIRKSTOFFE
Moderation: **Radu Alexa**, Aachen & **Holger Erb**, Dresden

P2.1 **Jana Sauer**
Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen
Mechanism of action and interaction of garlic extract and established therapeutics in prostate cancer

P2.2 **Hanin Khatib**
Klinik für Urologie, AG Harnblasenkarzinom, Universitätsklinikum Düsseldorf
Neu entwickelte HDAC-Inhibitoren mit stärker tumorspezifischer Wirkung induzieren Mitosestörungen in Urothelkarzinomzellen

P2.3 Fenny Tanjaya

Klinik für Urologie, AG Harnblasenkarzinom, Universitätsklinikum Düsseldorf
Identifizierung neuer Histondeacetylase-Inhibitoren mit verbesserter tumorspezifischer Wirkung zur Behandlung von Urothelkarzinom-Zellen

P2.4 Michael Enge

Klinik für Urologie und Andrologie, Klinikum St. Georg, Leipzig
Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen zur Prognoseaussage und zum Therapiemonitoring beim Prostatakarzinom

P2.5 Daniel Beus

Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Mainz
Shikonin unterstützt eine Axitinib-basierte Therapie von Nierenzellkarzinomen in vitro additiv

P2.6 Moritz Maas

Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen
Entwicklung und initiale Evaluation Infigratinib-freisetzender Seeds als therapeutische Option für die lokale Therapie von nicht-muskelinvasiven Urothelkarzinomen der Harnblase (NMIBC)

Hauptreferat 4 TAGUNGSSCHWERPUNKT

Moderation: **Anja Rabien**, Berlin & **Niklas Klümper**, Bonn

15:35-16:05 Michael Hölzel

Institut für Experimentelle Onkologie, Universitätsklinikum Bonn
Morphologie und Organoide: Neue Ansätze zur Vorhersage von Therapieansprechen im Nierenzellkarzinom

Kurzvorträge 6 MOLEKULARE MECHANISMEN FÜR ZIELGERICHTETE THERAPIEN 2

Moderation: **Anja Rabien**, Berlin & **Niklas Klümper**, Bonn

16:05-16:15 V6.1 Pia Schmidt

Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen
Resistance to darolutamide in prostate cancer cells in vitro correlates with EZH2-mediated, increased global level of histone modification H3K27me3 and is mediated by Hedgehog signaling

16:15-16:25 V6.2 Subhajit Mandal

Klinik für Urologie, Philipps-Universität Marburg
Remodelling of the tumour microenvironment by mutant p53(mutp53) in bladder cancer

Kurzvorträge 7 THERAPEUTISCHE ANSÄTZE & WIRKSTOFFE 2

Moderation: **Anja Rabien**, Berlin & **Niklas Klümper**, Bonn

16:25-16:35 V7.1 Isis Tara Wolf

Klinik für Urologie, AG Antikörper-basierte Diagnostik und Therapie, Universitätsklinikum Freiburg
Ein Funke der Hoffnung im Kampf gegen Prostatakrebs: der Photosensibilisator WB692 induziert Pyroptose während der Photoimmuntherapie

16:35-16:45 V7.2 **Sarah Waibel**
Klinik für Urologie, AG Antikörper-basierte Diagnostik und Therapie,
Universtitäsklinikum Freiburg
*Photoimmuntherapie des Prostatakarzinoms mit anti-PSMA Antikörpern und
Antikörperfragmenten*

16:45-16:55 V7.3 **Fabian Huber**
Klinik für Urologie, AG Antikörper-basierte Diagnostik und Therapie,
Universtitäsklinikum Freiburg
Photoimmuntherapie des Harnblasenkarzinoms

19:00-23:00 **Experimenteller Abend**

19:00 Uhr: *Geführte Besichtigung des Aachener Doms*

20:00 Uhr: *Diskussionsabend im Campuslokal „Boulevard 30“*

Gebuchte Teilnehmende

SAMSTAG, 18.11.2023

Uropathologie- Sitzung **AG UROPATHOLOGIE DER DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR PATHOLOGIE**

Moderation: **Nadine Gaisa**, Ulm & **Danny Jonigk**, Aachen

- 09:00-09:30 **Nadine Gaisa**
Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Ulm
Molekularpathologie in der Uro-Onkologie 2023: Molekulare Grundlagen und Techniken für gezielte Diagnostik und Therapie

Kurzvorträge 8 **MOLEKULARE DIAGNOSTIK 2**

Moderation: **Nadine Gaisa**, Ulm & **Danny Jonigk**, Aachen

- 09:30-09:40 V8.1 **Laila Schneidewind**
Klinik für Innere Medizin C, Unniversitätsklinikum Greifswald
Prediction of response by B cell axis in patients with metastatic urothelial cancer receiving PD-L1 inhibition therapy
- 09:40-09:50 V8.2 **Ann-Kathrin Huber**
Urologische Klinik, Sektion Molekulare Uroonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg
Digital Spatial Profiling to interrogate topological niches in prostate cancer
- 09:50-10:00 V8.3 **David Langhoff**
Urologische Klinik, Sektion Molekulare Uroonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg
Digital Spatial Profiling identifies loss of INPP4B as a novel feature of Neuroendocrine Prostate Cancer
- 10:00-10:10 V8.4 **Dimitri Barski**
Klinik für Urologie, Lukaskrankenhaus Neuss
First Proof-of-Concept of theranostic instillation therapy approaches for Muscle invasive bladder cancer patients within the Bladder BRIDGister study group
- 10:10-10:20 V8.5 **Simon Engelmann**
Klinik für Urologie, Krankenhaus St. Josef, Universität Regensburg
Untersuchung von mitochondrialen Funktionsstörungen der Skelettmuskulatur von sarkopenen Patienten die sich aufgrund eines Urothelkarzinoms einer radikalen Zystektomie unterziehen

10:20-11:00 **Kaffeepause & Posterinterviews 3**

Poster 3 **MOLEKULARE GRUNDLAGEN & MECHANISMEN**

Moderation: **Angelika Borkowetz**, Dresden & **Jochen Neuhaus**, Leipzig

- P3.1 **Julia Wirtz**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Identification of epigenetically regulated genes during squamous bladder cancer development
- P3.2 **Cathrin Zimmermann**
Institut für Pathologie, Uniklinik RWTH Aachen
Functional impact of (epi)genetically regulated HOXA genes on early and late stages of urothelial carcinoma development

P3.3 Elisabeth Tan

Institut für Experimentelle Onkologie, Universitätsklinikum Bonn

Improving Antibody-Drug Conjugate Treatments by Understanding the Dynamics of Drug Target Surface Expression and Rationale Drug Combinations

P3.4 Aileen Haller

Urologische Klinik, Sektion Molekulare Uroonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg

Analyse der Funktion des Transkriptionsfaktors Forkhead Box A1 (FOXA1) bei der malignen Progression des Prostatakarzinoms

P3.5 Sammy Okutoyi

Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Würzburg

CE-ICP-DRC-MS: Principles, potential, and application for monitoring iron-induced ferroptosis ex vivo and in human biofluids

**Industrie-
Beitrag 3**

SATELLITENSYMPOSIUM PFIZER

Moderation: **Oliver Hahn**, Würzburg & **Daniel Nettersheim**, Düsseldorf

11:00-11:30

David Pfister

Klinik für Urologie, Uro-Onkologie, spezielle urologische und roboterassistierte Chirurgie, Uniklinik Köln

Prostatatumoren und PARP-Inhibition: Molekularbiologische Grundlagen, therapeutische Ansätze, Therapiemanagement

Kurzvorträge 9

MOLEKULARE MECHANISMEN FÜR ZIELGERICHTETE THERAPIEN 3

Moderation: **Oliver Hahn**, Würzburg & **Daniel Nettersheim**, Düsseldorf

11:30-11:45

V9.1 Vivek Venkataramani

Comprehensive Cancer Center Mainfranken, Universitätsklinikum Würzburg

Deciphering Ferroptosis: A Revolutionary Approach in Prostate Cancer Research and Innovative Analytical Methods

11:45-12:00

V9.2 Oliver Hahn

Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Würzburg

The ratio of Fe²⁺/Fe³⁺ can be used as a biomarker for ferroptotic activity in prostate cancer – results from first in vitro and in vivo experiments

Hauptreferat 5

THEMENSCHWERPUNKT

Moderation: **Oliver Hahn**, Würzburg & **Daniel Nettersheim**, Düsseldorf

12:00-12:30

Almut Schulze

Abt. Tumormetabolismus und Microenvironment, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg

Targeting cancer metabolism

12:30-12:45 Verleihung **AuF-Preise, Uropathologie-Preis und Max Kemper-Preis**

Christoph Becker, Düsseldorf

Schlussworte und Amtsübergabe

Jennifer Kranz, Aachen & **Philipp Wolf**, Freiburg

Johannes Linxweiler, Homburg/Saar & **Margaretha Skowron**, Düsseldorf

12:45-13:00 **Farewell & Lunchpakete**

ABSTRACTS

V1.1

Profiling the highly mutated chromatin remodeler ARID1A in urothelial bladder cell lines

Rebecca M. Schlößer¹, Florian Krumbach¹, Eyleen Corrales², Geoffroy Andrieux², Melanie Boerries^{2,3}, Kerstin Becker⁴, Ursula Schneider¹, Ruth Knüchel-Clarke^{1,5,#}, Stefan Garczyk^{1,5,#}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital, Aachen

² Institute of Medical Bioinformatics and Systems Medicine, Medical Center - University of Freiburg, Faculty of Medicine, University of Freiburg

³ German Cancer Consortium (DKTK), Partner site Freiburg, a partnership between DKFZ and Medical Center - University of Freiburg

⁴ Cologne Center for Genomics (CCG), Medical Faculty, University of Cologne

⁵ Center for Integrated Oncology Aachen Bonn Cologne Duesseldorf (CIO ABCD), Aachen

contributed equally to this work

Question: Chromatin remodelers like the SWI/SNF complex are frequently mutated across a wide range of cancers. ARID1A, a SWI/SNF subunit, displays frequent mutations especially in bladder cancer, however our knowledge about the mutational impact remains limited.

Methods: We used genomics (Omni-ATAC-Seq), transcriptomics (RNA-Seq), and interactomics (Co-IP followed by mass spectrometry) to profile for ARID1A wildtype and CRISPR generated knockout/knockdown cell lines. Both normal-like (HBLAK, UROtsa) and bladder cancer models (T24, JMSU-1) were used. Furthermore, we performed functional splicing, DNA-damage-response, and proliferation assays.

Results: ARID1A-deficient cells display a significantly more condensed chromatin structure. Notably, regions within or nearby genes involved in epithelial-mesenchymal transition, DNA-damage response and proliferation were less accessible. Transcriptomics revealed a similar picture with an additional impact on translation and mRNA-splicing. We could also show a direct link between ARID1A and splicing as it interacts with the SMN complex, which assembles and metabolizes (spliceosomal) small nuclear ribonucleoprotein particles. First functional assays agreed with these findings, pointing towards a role of ARID1A in (alternative) splicing. Additionally, we could detect influences on cell proliferation and DNA-damage response in vitro.

Conclusions: Our in vitro data with urothelial cell lines show that ARID1A is directly and indirectly involved in different pathways, some of which may be potential targets for cancer therapy (such as the involvement in the DNA-damage response). Further research assessing the impact of such therapeutics are considered interesting for improvement of targeted therapy.

Kontakt: rschloesser@ukaachen.de

V1.2

MMP-14 has immunosuppressive roles in bladder cancer

Shuai Zhu¹, Bettina Ergün¹, Jonas Busch^{1,2}, [Anja Rabien](mailto:anja.rabien@charite.de)¹

¹ Department of Urology, Charité - Universitätsmedizin Berlin

² Department of Urology, Berlin Vivantes Clinic, Berlin

Introduction and Objectives: As one of matrix metalloproteinases, MMP-14 is mainly involved in the degradation of extracellular matrix, which is closely associated with the migration and invasion of cancer cells in the previous research. In our current study, we aim to explore the immune effects of MMP-14 in bladder cancer.

Material and Methods: We used TCGA database to select the differentially expressed genes (DEGs) and the expression-correlated genes (ECGs) according to different expression level of MMP-14. A venn diagram was used to select the common genes between DEGs and ECGs. GO functional enrichment analysis and DisGeNET database were used to explore the function of MMP-14 in bladder cancer. Immunofluorescence staining was designed to detect the basic expression of MMP-14 and PD-L1 in 4 bladder cancer cell lines. Next, we applied plasmid to knock down the expression of MMP-14 in HT-1376 cells. Western blotting was used to detect the expression of MMP-14 and PD-L1 in HT-1376 cells with MMP-14 knockdown (KD). Furthermore, we carried out ssGSEA algorithm to investigate the effect of MMP-14 on immune infiltration in bladder cancer. GEPIA database and TIMER database were used to study the correlation between MMP-14 expression and some immune markers in bladder cancer.

Results: 1798 DEGs and 3955 ECGs were selected out, and 767 common genes were displayed. MMP-14 was involved in immunosuppression process. MMP-14 was positively correlated with PD-L1 expression in bladder cancer cells. MMP-14 KD led to the decreased expression of PD-L1 in HT-1376 cells. Furthermore, MMP-14 expression was moderately correlated with the enrichment of Treg cells, and high MMP-14 expression showed more enrichment of Treg cells compared with the low. In addition, MMP-14 expression was positively correlated with the biomarkers of Treg cells and T cell exhaustion in bladder cancer.

Conclusion: MMP-14 might play an important inhibitory role in the immune killing process in bladder cancer and is expected to become a candidate target for immunotherapy of bladder cancer.

This project is funded by Berlin Urological Research Foundation (Stiftung Urologische Forschung).

Kontakt: anja.rabien@charite.de

V1.3

Enfortumab Vedotin Induces a Drug-Tolerant Persistent Urothelial Cancer Cell State Which Can Be Targeted via BCL-XL Inhibition

Eduard Below¹, Elisabeth Tan¹, Anna Stettner¹, Aileen Heselich¹, Khanh Ngoc Tran¹, Damian Ralser^{1,2}, Alexander Maas³, Jonas Eckrich³, Marieta Toma⁴, Markus Eckstein⁵, Niklas Klümper^{1,6}, Michael Hölzel¹

¹ Institute for Experimental Oncology (IEO), University Hospital Bonn

² Department of Gynecology, University Hospital Bonn

³ Department of Otorhinolaryngology, University Hospital Bonn

⁴ Institute of Pathology, University Hospital Bonn

⁵ Institute of Pathology, University Hospital Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU)

⁶ Department of Urology, University Hospital Bonn

Enfortumab Vedotin (EV), an anti-NECTIN-4 Antibody-Drug-Conjugate (ADC) delivering a spindle toxin, has been approved for patients with metastatic urothelial carcinoma (mUC). However, durable responses to EV are rare. Discovering the underlying molecular mechanisms is of utmost relevance to develop rational therapeutic strategies that can overcome specific resistance mechanisms. Here, in one unique patient case with longitudinal tumor tissue pre-EV start and post-progression there was a remarkable increase of multinucleated giant cells. Since these cells present a senescent-like morphology, we here systematically investigated the potential of senolytics to target these drug-tolerant persisters (DTP).

We examined NECTIN-4, BCL-2, BCL-XL, MCL1 protein expression in a panel of urothelial cancer (UC) cell lines by Western blotting and flow cytometry. In addition, we performed immunohistochemical staining of BCL-XL and BCL-2 in 17 UC tissue samples. Further, the BCL-inhibitor responsiveness in combination with EV or alone was studied in vitro in three NECTIN-4 expressing UC cell lines (RT4, CAL29, HT1376). Moreover, the effect of a BCL-XL inhibitor on EV-induced DTP cells was assessed using IncuCyte Live-Cell Imaging.

NECTIN-4 positive cell lines are susceptible to EV and form DTP with a multinucleated, senescent-like phenotype. BCL-XL, that is strongly expressed in UC: 15/17 tissue samples showed moderate to strong expression of BCL-XL, whereas all samples were BCL-2 negative. In vitro, combination of EV and the selective BCL-XL-Inhibitor A1331852 demonstrated synergistic efficacy with rapid killing of multinucleated giant cell DTP.

Our data highlight the novel therapeutic concept of combining EV and BCL-XL inhibition for patients with UC.

Kontakt: s4edbelo@uni-bonn.de

V1.4

Molekularbiologische Analyse von (refraktären) Dottersacktumoren zur Etablierung von spezifischen Therapieoptionen

Kotthoff M1, Skowron MA1, Bremmer F2, Ruhnke K1, Parmaksiz F1, Richter A2, Küffer S2, Reuter-Jessen K2, Pauls S3, Stefanski A3, Ströbel P2, Stühler K3, Nettersheim D1

1 Klinik für Urologie, Urologisches Forschungslabor, Translationale Uro-Onkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

2 Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen

3 Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum, Molecular Proteomics Laboratory (MPL), Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Einleitung: Dottersacktumoren (DST) sind eine nicht-seminomatöse Subgruppe der Keimzelltumoren (KZT). Auf Grund fehlender Therapieoptionen gelten DST als besonders aggressive KZT-Entität mit schlechter Überlebens-Prognose für die betroffenen Patienten. Da DST-Komponenten oftmals nach oder während einer Chemotherapie heranwachsen, stellt die DST-Entwicklung möglicherweise einen Therapie-Fluchtmechanismus dar.

Methoden: Für die Identifikation von behandelbaren Mutationen in (resistenten, -R) DST-Geweben wurden TruSight Oncology 500 (TSO)-Analysen durchgeführt. Die Proteome von DST(-R)-Geweben wurden mittels Massenspektrometrie auf mögliche Resistenzfaktoren hin untersucht. Neben der Proteom-Analyse wurden putative Therapieziele in DST-ähnlichen Zelllinien durch proteinbasierte Phosphokinase-Arrays und qRT-PCR-Analysen erforscht. Aufbauend auf diesen Analysen wurden 17 alternative Medikamente mittels XTT-Zellviabilitätstests bzw. Annexin V / Propidiumjodid-Durchflusszytometrie auf ihre Effektivität in DST-Zellen und Kontrollzellen hin untersucht.

Ergebnisse: In > 50 % der untersuchten DST-Geweben wurden Amplifikationen oder SNVs in Tumorsuppressoren, Zellzyklusregulatoren und MAPK- und FGF-Signalkomponenten erfasst. Die Phosphokinase-Arrays bestätigten eine verstärkte Aktivität in MAPK-, WNT-, P53-Signalkaskaden im Vergleich mit gesunden Zellen. Die Testung von putativen DST-Medikamenten konnte final acht pharmakologische Inhibitoren als vielversprechende Therapieoptionen mit DST-spezifischer Wirksamkeit identifizieren. Die Applikation der Inhibitoren konnte eine Zellzyklusveränderung und / oder Apoptose-Induktion in DST(-R)-Zellen induzieren, während die Kontrollzellen kaum beeinflusst wurden.

Schlussfolgerung: In dieser Studie wurden molekulare Merkmale der DST-Resistenzmechanismen entschlüsselt. Weiter wurden therapeutische Ziele für für die Behandlung von (refraktären) DST-Patienten identifiziert, die mittels pharmakologischer Multikinase-Inhibitoren angreifbar sind.

Kontakt: mara.kotthoff@med.uni-duesseldorf.de

V1.5

Evaluation of NK-92-CD24-CAR cells, antibody (CLDN6)- / or nanobody (CXCR4)-drug-conjugates for the treatment of (refractory) germ cell tumors

Margaretha A. Skowron¹, Christian Söhngen¹, David J. Thomas¹, Philipp Bierholz¹, Gamal A. Wakileh^{1,2}, Felix Bremmer³, Mara Kotthoff¹, Rüdiger Klapdor⁴, Stephanie Anbuhl⁵, Raimond Heukers⁵, Martine J. Smit⁵, Axel Schambach^{4,6}, Peter Albers⁷, Daniel Nettersheim¹

¹ Department of Urology, Urological Research Laboratory, Translational UroOncology, Medical Faculty and University Hospital Düsseldorf, Heinrich Heine University Düsseldorf

² Department of Urology, University Hospital Ulm

³ Institute of Pathology, University Medical Center Göttingen

⁴ Department of Gynecology and Obstetrics, Hannover Medical School

⁵ Amsterdam Institute for Molecular and Life Sciences, Division of Medicinal Chemistry, Faculty of Sciences, Vrije Universiteit, Amsterdam, NL

⁶ Institute for Experimental Hematology, Hannover Medical School

⁷ Department of Urology, Medical Faculty and University Hospital Düsseldorf, Heinrich Heine University Düsseldorf

Background: Representing the most common tumor entity among young men, germ cell tumors (GCT) are usually treated with cisplatin-based chemotherapy. However, this generally efficient treatment strategy is often accompanied by the development of therapy resistance, eventually resulting in a worse prognosis. To identify novel therapeutic approaches, this study evaluated the cytotoxic efficacy of CD24-targeting NK-92-CAR cells and antibody- / nanobody-drug-conjugates (ADC / NDC) binding CLDN6 or CXCR4, respectively, for the treatment of GCT cells.

Methods: Immunohistochemistry, antibody stainings with subsequent flow cytometry, and qRT-PCR were utilized for the measurement of CD24, CLDN6, and CXCR4 on protein and mRNA level in GCT cell lines and tissues. XTT cell viability assays, as well as flow cytometry-based apoptosis and cell cycle assays were used for the evaluation of cytotoxicity.

Results: Co-cultivation with NK-92-CD24-CAR cells induced apoptosis in CD24+ embryonal carcinoma (EC) cells, while CD24-deficient EC cells did not respond to this therapeutic approach. Treatment with a novel CLDN6-ADC diminished the cell viability in CLDN6+ seminoma (SEM), EC, choriocarcinoma (CC), and partly in yolk-sac tumor (YST) cells. As a therapeutic option specific for CC and YST, a CXCR4-binding NDC has been proven efficient, while non-cancerous fibroblasts remained unaffected. Moreover, cell cycles were generally disrupted upon treatment with these different therapeutic strategies in the respective CD24+, CLDN6+ or CXCR4+ GCT populations, while non-cancerous controls remained unresponsive.

Conclusion: By using NK-92-CD24-CAR cells, CLDN6-ADC, and / or CXCR4-NDC, this study offers promising therapeutic options for the treatment of (refractory) GCT subtypes.

Kontakt: margaretha.skowron@med.uni-duesseldorf.de

V1.6

Krebs-assoziierte Fibroblasten beeinflussen die Progression von Keimzelltumoren durch Sekretion der Effektormoleküle LGALS3BP und LYVE1

Stephan A1, Skowron MA1, Che Y2, Pongratanakul P2, Poschmann G3, Stühler K3, Petzsch P4, Köhrer K4, Kresbach C5, Schüller U5, Wruck W6, Adjaye J6, Albers P2, Nettersheim D1

1 Translationale UroOnkologie, Urologisches Forschungslabor, Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

2 Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

3 Molecular Proteomics Laboratory, Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum (BMFZ), Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

4 Genomics & Transcriptomics Laboratory, Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum (BMFZ), Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

5 Institut für Neuropathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

6 Institut für Stammzellforschung und Regenerative Medizin, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Fragestellung: Im Tumormikromilieu (TM) sind neben Tumorzellen (TZ) und Immunzellen ebenso Fibroblasten (FB) zu finden, welche zu Krebs-assoziierten FB (KAF) aktiviert werden, die Tumormetastasierung und -wachstum beeinflussen. Die Interaktion von KAF mit Keimzelltumoren (KZT) ist kaum untersucht. Daher wurden KZT-isolierte KAF aus Seminomen (SE), embryonalen Karzinomen (EK) und Teratomen (TE) molekular und epigenetisch charakterisiert, um Moleküle und Signalwege zu identifizieren, die Einfluss auf die Progression von KZT nehmen.

Methoden: Aus KZT-Geweben (SE=6, EK=3, TE=3) wurden primäre KAF isoliert und das DNA-Methylom, das Transkriptom, und das Proteom mittels 850k-DNA-Methylierungsassays, RNA-Sequenzierung, und Massenspektrometrie analysiert. Gesunde FB dienten als Kontrolle (n=5). Rekombinante Proteine der deregulierten Moleküle wurden genutzt, um die Auswirkungen auf Proliferation und Differenzierung von KZT (TCam-2, 2102EP) und Immunzellen (THP-1) zu testen.

Ergebnis: In allen 3 KAF-Subgruppen waren Signalwege der extrazellulären Matrix sowie der inflammatorischen Immunantwort im Vergleich zu FB induziert. Jedoch zeigten sich auch Subgruppenspezifische Unterschiede – hochregulierte Gencluster involviert in PI3K-/BMP-Signalwege (SE-KAF), Remodellierung des Zytoskeletts (EK-KAF), und Entwicklungs-/Differenzierungsprozessen aller drei Keimblätter (TE-KAF). Identifizierte Zielmoleküle (LYVE1, LGALS3BP) nahmen funktionellen Einfluss auf Proliferation von KZT-Zellen und den inflammatorischen Differenzierungsstatus der Makrophagen-Zelllinie THP1.

Schlussfolgerung: Die Studie zeigte einerseits, dass die KZT-Subtypen im TM ansässige KAF modulieren, wobei wir (latent) pluripotenten TZ (SE, EK) ein höheres Potenzial einer Aktivierung von KAF zuschreiben als ausdifferenzierten TE. Andererseits wirkten KZT-KAF auf das TM, indem von KAF sekretierte Proteine die Proliferation der KZT und Immunlandschaft prägen. Wir präsentieren LYVE1 und LGALS3BP als potenzielle Zielmoleküle in der Erforschung der KZT-Progression.

Kontakt: alexa.stephan@med.uni-duesseldorf.de

V2.1

Definition des „Growing teratoma syndrome“ anhand molekularer Subtypisierung und Identifizierung neuer Biomarker

Pailin Pongratanakul^{1,6*}, Felix Bremmer^{2*}, Stella Pauls³, Gereon Poschmann³, Catena Kresbach⁴, Alexa Stephan¹, Fatma Parmaksiz¹, Margaretha A. Skowron¹, Pia Paffenholz⁵, Kai Stühler³, Ulrich Schüller⁴, Philipp Ströbel², Axel Heidenreich⁵, Yue Che⁶, Peter Albers⁶, Daniel Nettersheim¹

¹ Urologisches Forschungslabor, Translationale Uro-Onkologie, Medizinische Fakultät und Universitätskrankenhaus Düsseldorf, Heinrich Heine Universität Düsseldorf

² Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen

³ Molecular Proteomics Laboratory (MPL), Biologisch-Medizinisches Forschungszentrum (BMFZ), Medizinische Fakultät und Universitätskrankenhaus Düsseldorf, Heinrich Heine Universität Düsseldorf

⁴ Institut für Neuropathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Hamburg

⁵ Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Köln, Universität zu Köln

⁶ Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät und Universitätskrankenhaus Düsseldorf, Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Fragestellung: Eine Therapie-resistente Form der Keimzelltumoren ist das „Growing teratoma syndrome“ (GTS). Nach Logothetis wird ein GTS als ein unter Chemotherapie größtenprogreredientes Teratom trotz normalisierter Tumormarker definiert. Bis heute ist die Pathogenese unklar und spezifische Therapien limitiert. Ziel dieser Arbeit war die molekulare Subtypisierung des GTS sowie die Identifizierung neuer Biomarker.

Material & Methoden: 50 Patienten mit einem GTS wurden identifiziert; davon wurden 12 auf epigenetischer sowie Proteom-/Sekretomebene analysiert. Zudem wurden zwei longitudinale Fälle inkludiert. Teratome (TER) ohne GTS-Merkmale dienten als Kontrollen.

Ergebnisse: Anhand der Wachstumsraten wurde die Patienten in langsame (< 0,5 cm/Monat), mittlere (0,5 - 1,5) und schnelle (> 1,5) GTS eingeteilt. Durch die Analyse der DNA-Methylierung und des Sekretoms konnten wir einen Atlas möglicher Biomarker für das GTS identifizieren. Auf Proteom-Ebene zeigten sich beim GTS differentiell regulierte Proteine im Vergleich zum TER. Angereichert fanden sich Proteine, die an der DNA-Replikation und dem Zellzyklus beteiligt sind. Dagegen waren Proteine vermindert, die mit dem Immunsystem interagieren. Im longitudinalen Verlauf scheinen die schnellen GTS eine hohe Interaktion mit dem Mikromilieu und eine erhöhte Migrationsaktivität zu haben. Die langsamen GTS hingegen befanden sich in einer Keimblatt-assoziierten Differenzierung. Die Entwicklung eines Dottersacktumors im späteren Verlauf der Erkrankung deutet in beiden Fällen darauf hin, dass okkulte, nicht-seminomatöse Anteile im GTS persistieren.

Schlussfolgerung: Neue epigenetische und sekretorische Biomarker können Patienten mit einem GTS identifizieren und die Progressionsdynamik vorhersagen. Ein Update der Logothetis-Definition scheint zudem erforderlich: Das neu definierte GTS hat eine hohe Wachstumsdynamik, die auf okkulte nicht-seminomatösen Keimzelltumoranteilen beruht. Patienten mit einem GTS benötigen daher eine umgehende Komplettresektion aller Residuen nach Chemotherapie.

Kontakt: pailin.pongratanakul@med.uni-duesseldorf.de

V2.2

Genotype-phenotype disconnections in renal cell carcinoma: Implications for biomarker development and personalized therapy

Jakob Wieke¹, Christina Jurcic¹, Martina Kirchner², Volker Endris², Adam Kaczorowski¹, Stefanie Zschäbitz³, Dirk Jäger³, Markus Hohenfellner⁴, Anette Duensing^{4,5}, Albrecht Stenzinger², Stefan Duensing^{1,4}

¹ Molecular Urooncology, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

² Institute of Pathology, University Hospital Heidelberg

³ National Center for Tumor Diseases (NCT) and Department of Medical Oncology, University Hospital Heidelberg

⁴ Department of Urology, University Hospital Heidelberg, and National Center for Tumor Diseases (NCT), Heidelberg

⁵ Precision Oncology of Urological Malignancies, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

Background: Renal cell carcinoma (RCC) is characterized by a high degree of genomic and functional intratumoral heterogeneity (ITH). Besides VHL mutations, there are a number of recurrent driver events that can lead to an activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway or extensive chromatin remodeling. Whether and to what extent driver aberrations shape functional ITH and the spatial architecture of RCC is incompletely understood. Herein, we analyze the correlation between driver events and functional properties in the tumor periphery and center as the most obvious spatial niches contributing to ITH.

Methods: A total of 23 RCCs were analyzed by panel next-generation sequencing and immunohistochemistry for five surrogate markers for key genetic alterations including Ki-67, phospho-mTOR S2448, CD31, GLUT1 and H3K36me3. Expression was scored semiquantitatively in the tumor center and periphery.

Results: There was no correlation between the number of driver mutations and expression of the proliferation marker Ki-67, the presence of mutations in genes of the PI3K/Akt/mTOR pathway and the expression of phospho-mTOR S2448 and the presence of a VHL mutation and microvessel density or expression of the glucose transporter GLUT1. Furthermore, mutations in the methyltransferase gene SETD2 were not found to correlate with the expression level of H3K36me3.

Conclusion: Our results provide evidence for a profound disconnection between the genotype and the functional phenotype in RCC. Biomarker development and personalized treatment approaches should hence combine genetic and functional analyses to improve clinical-decision making for patients with advanced RCC.

Kontakt: jakob.wieke@gmx.de

V2.3

Hohe Expression von DNA-Reparaturgenen ist mit einem signifikant längeren Überleben im klarzelligen Nierenkarzinom assoziiert

Nitschke K1, Nassri S1, Elgert F1, Wessels F1, Reible B2, Brochhausen C2, Michel MS1, Nuhn P3, Worst TS1

1 Klinik für Urologie und Urochirurgie, Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg, Mannheim, Germany

2 Pathologisches Institut, Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg, Mannheim, Germany

3 Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Kiel, Kiel, Germany

Einleitung: DNA-Reparaturmechanismen, wie die homologe Rekombination, spielen eine entscheidende Rolle bei der Beseitigung von DNA-Schäden. Defekte in den DNA-Reparaturgenen (DNA Damage Response Genes, DDRG) können Ursache genomischer Instabilität sein und sowohl in der Entstehung als auch bei der Progression von Tumoren eine Rolle spielen. Die prognostische Rolle der DDRG im klarzelligen Nierenzellkarzinom (NCC) ist noch unzureichend untersucht.

Material und Methoden: Die RNA-Expression der DDRG RAD50, RAD52, ERCC2, ERCC6, BRCA1 und BRCA2 wurde in Tumorgewebe von 125 Patienten mit NCC (m:85, w:40, med. Alter:65; T1=77, T2=10, T3=36, T4=2) mittels qRT-PCR analysiert und anschließend mit klinischen und histopathologischen Parametern sowie dem Gesamtüberleben korreliert.

Ergebnisse: Tumore mit einem niedrigen T-Stadium (T1/T2) hatten eine höhere Expression von RAD50, RAD52, ERCC2 und ERCC6. Ein Zusammenhang zwischen den Faktoren Alter, Geschlecht und Lymphgefäßinvasion und der Expression zeigte sich für keines der Gene. Patienten mit einer hohen Expression von RAD50 ($p=0,0043$), RAD52 ($p=0,0159$), BRCA1 ($p=0,0425$), BRCA2 ($p=0,0340$), ERCC2 ($p=0,0028$) bzw. ERCC6 ($p=0,0003$) hatten ein signifikant längeres Gesamtüberleben. In der multivariablen Analyse zeigte sich, dass ein niedriges Alter ($p=0,0029$) und eine hohe ERCC6-Expression ($p=0,0422$) mit einem längeren Überleben einhergehen.

Schlussfolgerung: Eine hohe Expression verschiedener DDRG ist mit einer besseren Prognose von Patienten mit klarzelligem NCC assoziiert. Weiterhin stellte ERCC6, neben dem Alter, einen unabhängigen Prädiktor bezogen auf das Gesamtüberleben dar. Bestimmte DDRG könnten daher Relevanz für die Risikostratifizierung von Patienten mit NCC haben.

Kontakt: katja.nitschke@medma.uni-heidelberg.de

V2.4

Signifikanz der intratumoralen Fibrose im Nierenzellkarzinom

Felix Steffens¹, Jennifer Kranz^{2,3,4}, Christoph Kuppe⁴, Rafael Kramann⁴

¹ Klinik für Urologie und Urochirurgie, Universitätsmedizin Mannheim

² Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen

³ Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Halle (Saale)

⁴ Medizinische Klinik II und Abteilung für experimentelle Innere Medizin und Systembiologie, Uniklinik RWTH Aachen

Einleitung: Bei der molekularen Untersuchung des Nierenzellkarzinoms wurde die Nierenfibrose bisher nur marginal berücksichtigt. Systematische Untersuchungen über einen Kausalzusammenhang zwischen Kollagenbildung und Tumorentwicklung fehlen. In dieser Studie wurde erstmals der Zusammenhang zwischen Nierenfibrose und Nierentumor unterschiedlicher morphologischer Subtypen untersucht.

Material und Methoden: 70 Nierenzellkarzinome wurden mit histologischen Standard- und molekularpathologischen Techniken ausgewertet. Im Rahmen eines vom Land NRW geförderten Projektes erfolgte die Analyse frisch gewonnen humanen Gewebes vom Nierentumor und gesundem Nierengewebe. Spezifische Transkriptomdaten wurden generiert. Es erfolgte eine RNA-Sequenzierung aus malignem und gesundem Gewebe. An neun Proben wurde eine Massenspektrometrie durchgeführt, um das Proteom zu charakterisieren. Es wurde die unterschiedliche Häufigkeit der Gene berechnet. Die Transkriptionsfaktor(TF)-Aktivitäten wurden analysiert. Die TF von 10 klarzelligen Nierenzellkarzinomen wurden mit der Prozentfläche verglichen, welche mittels Immunfluoreszenz für Alpha-SMA, CD 31 und Kollagen 1 ermittelt wurde.

Ergebnisse: Es zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied für den Endothelzellmarker CD 31, der vermehrt bei papillären Nierenzellkarzinomen nachgewiesen wurde. Die TF-Analyse ergab Verbindungen zwischen TF und den Fibrosemarkern Kollagen 1, CD 31 und alpha-SMA. Es ließen sich Interaktionen zwischen verschiedenen Clustern nachweisen, die auf unterschiedliche Regulationseinflüsse zwischen Tumor, gesundem Gewebe und Fibrose hinweisen.

Schlussfolgerung: Die Bedeutung der Signaltransduktionswege und proteomischen Merkmale bei Nierenzellkarzinomen bleibt ungewiss. Hieraus leitet sich die Durchführung größerer Analysen sowie Notwendigkeit einer Identifizierung molekularer Tumoreigenschaften ab, um einen Beitrag zur modernen Präzisionsmedizin zu leisten.

Kontakt: felix.steffens@umm.de

V2.5

Das 17q12-21 Amplikon um HER2 im muskelinvasiven Harnblasenkarzinom: ein molekularer entitätsübergreifender Vergleich

Daniel Uysal¹, Katja Nitschke¹, Ralph Wirtz², Markus Eckstein³, Thomas Stefan Worst¹, Philipp Erben¹

¹ Klinik für Urologie und Urochirurgie, Universitätsmedizin Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim

² Stratifyer Molecular Pathology, Köln

³ Universitätsklinikum Erlangen, Pathologisches Institut, Erlangen

Fragestellung: Der humane epidermale Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2) erlebt als therapeutisches Target durch neue Antikörper-Wirkstoff-Konjugate im Harnblasenkarzinom (BC) neue Bedeutung. Bisher zeigen HER2-Inhibitoren anders als beim Mamma-(BRCA) und Magenkarzinom (STAD) im BC keinen therapeutischen Benefit. Der 17q12 Locus um HER2, das HER2-Amplikon, weist koamplifizierte Gene mit potentieller prognostischer und therapeutischer Relevanz auf. Ziel dieser Arbeit war eine entitätsübergreifende molekulare Charakterisierung dieses „Amplikons“ auf DNA- und RNA-Ebene sowie die Assoziation mit klinischen Daten.

Methoden: Es erfolgten Genexpressions- und Kopienzahlanalysen von 10 HER2-Amplikongenen mittels qRT-PCR in Gewebeproben von 91 Patienten (MA, medianes Alter 71 Jahre, 25% weiblich) mit histologisch bestätigtem muskelinvasiven BC (MIBC) (T2-4, N0-N3) nach radikaler Zystektomie (RC). Vergleichend wurden entitätsübergreifend 3 TCGA Kohorten (BC n=357, BRCA n=1074, STAD n=404) analysiert. Genexpressionsdaten wurden mit klinisch-histopathologischen Merkmalen korreliert und das Überleben mittels Kaplan-Meier-Kurven und Cox Regressionsanalysen untersucht.

Ergebnisse: Das 17q12-21 Amplikon zeigte entitätsübergreifend Ähnlichkeiten in der Verteilung der Gene um HER2 aber Unterschiede in weiter entfernt liegenden Genen (PPP1R1B, IKZF3). In der MA Kohorte waren hohe Expressionen von PNMT, HER2, MIEN1 und GRB7 mit einem signifikant ($p < 0.05$) schlechteren Gesamtüberleben assoziiert. Dies bestätigte sich für PNMT in der multivariablen Analyse ($p = 0.015$). Hohe T-Stadien (T3/4) waren bei MA Patienten mit einer höheren STARD3 Genexpression assoziiert ($p = 0.014$). In der TCGA_BC zeigten N+ Patienten eine höhere ERBB2 und GRB7 Expression ($p = 0.003$, $p = 0.007$).

Schlussfolgerung: PNMT, HER2, MIEN1 und GRB7 sind vielversprechende prognostische Marker für das Gesamtüberleben nach RC. Entitätsspezifische Unterschiede in der Amplikonarchitektur könnten für Ansprechen und Resistenzentwicklung einer gegen HER2 gerichteten Therapie relevant sein.

Kontakt: daniel.uysal@umm.de

V3.1

Enhanced radio-sensitizing effects of squamous bladder cancer cells by targeting DNA damage response (DDR) pathways

Julia Pannhausen¹, Ahmed Chughtai², Julia Wirtz¹, Danny D. Jonigk^{1,3}, Michael J Eble², Nadine T. Gaisa^{1,4#}, Michael Rose^{1,4#}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital

² Department of Radiation Oncology, RWTH Aachen University

³ German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

⁴ Institute of Pathology, University Hospital, University of Ulm

contributed equally to this work

Question posed: The study investigated the impact of inhibiting key DNA damage response (DDR) proteins - DNA-PKi, ATRi, POLQi, and PARPi - on radio-sensitization in ex vivo cultured bladder cancer cells from squamous (SCC) or luminal urothelial (LumUC) bladder cancers.

Method: Inhibitors for DNA-PK (AZD7648), ATR (Ceralasertib), POLQ (ART588), and PARP (Olaparib) were applied in combination with ionizing radiation (IR) at doses of 0, 2, and 8 Gy on primary cancer cells of SCC (n=3) and LumUC (n=2). Short-term cell viability was assessed via XTT incorporation, and IC50 values were calculated according to Chou-Talalay. Long-term effects were assessed using clonogenic survival assays. DNA repair was visualized via γ H2AX foci staining at 4 and 24 hours post-treatment.

Results: Inhibiting DNA-PK, ATR, and PARP increased the sensitivity of primary bladder cancer cells to IR. The IC50 values shifted towards lower drug concentrations when combined with increased IR exposure, i.e. DNA-PK inhibitor sensitivity increased up to 143-fold (8Gy-IC50: 0.05 μ M). DDR inhibition-induced radio-sensitization was notably more effective in SCC, i.e. demonstrated by a 62-fold greater responsiveness to PARPi compared to LumUC. Clonogenic survival assays and immunofluorescence analysis further supported this, showing reduced survival rates and enhanced γ H2AX foci formation in SCC compared to LumUC. However, POLQ inhibition did not radio-sensitize either subtype.

Conclusion: DDR inhibitors effectively impaired DNA repair and reduced the survival of patient-derived squamous bladder cancer cells at nanomolar concentrations when exposed to IR. Combining radiotherapy with the inhibition of DDR pathways appears to be a promising therapeutic approach for SCC of the urinary bladder.

Kontakt: jpannhausen@ukaachen.de

V3.2

Bladder carcinoma cells are sensitized to PARP inhibitors by Bromodomain and Extra-Terminal motif (BET) inhibitors inducing DNA repair deficiency (BRCAness)

Jutta Schmitz^{1,2}, Michèle J. Hoffmann^{1,2}, Günter Niegisch^{1,2}

¹ Department of Urology, Bladder Cancer Working Group, Medical Faculty and University Hospital, Heinrich-Heine-University Duesseldorf

² Center for Integrated Oncology (CIO) Duesseldorf, CIO Aachen-Bonn-Cologne-Duesseldorf

We characterized epigenetic induction of DNA repair deficiency (BRCAness) by bromodomain and extra-terminal motif inhibitors (BETi) in urothelial cancer cells (UCCs) and their cisplatin resistant sublines (LTTs). Further, we analysed potency and synergistic effects of combination treatment with BETi and PARP inhibitors (PARPi).

Dose response curve analyses were performed with BETi PLX51107, JQ1, Birabresib, and BRD-4 protein degraders (PROTACs) ARV-771 and ARV-825 for T24, J82 and their LTTs after 72 h of treatment. Benign HBLAK cells served as control. The same procedure was performed with PARPi Olaparib, Talazoparib, and PARP1 PROTAC SK575. Compusyn and Combenefit were used to calculate synergism allowing dose reduction. Suitable reduced dosages at non-fixed ratios of BETi and PARPi were simulated with Combenefit and validated by MTT assay.

UCCs responded to BETi and Talazoparib in the nM or low μM range (IC_{50} T24: 0.044 – 1.3 μM). Generally, LTTs were more sensitive to treatment with BETi (IC_{50} T24-LTT: 0.005 – 0.36 μM), also compared with HBLAK cells indicating a therapeutic window (IC_{50} HBLAK: 0.017 – 0.22 μM). In contrast, ARV-825 and SK575 were particularly toxic (IC_{50} SK575 for T24: 2.7 μM ; for HBLAK: 0.62 μM). Combination of ARV-771 with Talazoparib showed mostly antagonistic effects on T24 cells, so that PROTACs were excluded for further combination analyses. Strongly synergistic effects with combination index (CI) values of 0.02 – 0.58 were determined for Talazoparib with PLX51107, JQ1 or Birabresib in UCCs and LTTs, allowing significant dose reduction ($< 0.5 \times \text{IC}_{50}$). While combination of Talazoparib and PLX51107 also showed synergistic effects in HBLAK cells, combinations with JQ1 or Birabresib were better tolerated by control cells.

Pharmacologic BET inhibition is highly effective in cisplatin resistant cells, which can be optimized by combination with PARPi. Combinations of Talazoparib with JQ1 or Birabresib gave promising results and are currently validated on organoids.

Kontakt: jutta.schmitz@med.uni-duesseldorf.de

V3.3

Kombinationstherapie von medizinischem Gasplasma und Cisplatin steigert die Tumortoxizität und Immunogenität in humanen Harnblasenkrebszellen

Nadine Gelbrich^{1,2}, Julia Edelmann², Martin Burchardt¹, Uwe Zimmermann¹, Sander Bekeschus²

¹ Universitätsmedizin Greifswald, Klinik und Poliklinik für Urologie, Greifswald

² ZIK plasmatis, Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP Greifswald), Greifswald

Einleitung: Das Harnblasenkarzinom ist der zweithäufigste Tumor des Urogenitaltrakts. Zu den stadienangepassten Standardtherapien zählen die chirurgische Resektion (TUR-B, radikale Cystektomie), Chemotherapie und Radiotherapie. Verglichen zu den chemotherapeutischen Nebenwirkungen führt eine lokale Applikation von medizinischem Gasplasma in der Kombinationsbehandlung mit niedrigeren Cisplatin-Konzentration zu einer Steigerung des tumortoxischen Effektes bei gleichzeitig nebenwirkungsärmerem Behandlungsansatz.

Material und Methoden: Die Gasplasma-Cisplatin-induzierte Tumortoxizität wurde in versch. präklinischen Modellen in vitro (T24, RT-112, SCaBER) sowie auf neo-vaskularisierte Tumoren in ovo untersucht. Dabei wurden Einzel- und Kombinationsbehandlungen hinsichtlich ihrer Toxizität untersucht und ihre Effekte auf die Expressionsraten ausgewählter extrazellulärer Marker und der Zytokinsekretion durchflusszytometrisch analysiert und miteinander verglichen.

Ergebnisse: Die Kombinationsbehandlung führte ab einer Konzentration von 1 µg/ml Cisplatin zu einer gesteigerten Abnahme der metabolischen Aktivität gegenüber den Einzelbehandlungen in vitro. Entsprechende Ergebnisse ließen sich mikroskopisch im Lebendzell-Imaging über 40 h nachweisen. Es wurde keine signifikant verstärkte Reduktion der Tumoralast sowie -angiogenese nach Kombinationsbehandlung von neo-vaskularisierten Harnblasentumoren in ovo beobachtet. Eine signifikant erhöhte Expression von immunogenen Zelltodmarkern wie HSP70 auf der Oberfläche von Kombinations-behandelten Tumorzellen sowie eine vermehrte Sekretion proinflammatorischer Zytokine (z.B. IL8) verglichen zur Einzelgasplasmabehandlung deutet auf eine gesteigerte Immunogenität der Krebszellen nach Kombinationsbehandlung hin.

Schlussfolgerung: Diese Arbeit fasst die additiven und synergistischen Effekte einer Gasplasma-Cisplatin-Kombinationsbehandlung zusammen und unterstützt den vielversprechenden Einsatz von medizinischem Gasplasma als zusätzliche Therapieoption bei Harnblasenkrebs.

Kontakt: nadine.gelbrich@t-online.de

V3.4

Sanguinarin induziert in Nierenzellkarzinom-Zellen die RIP1-abhängige Apoptose und unterstützt eine Cabozantinib-basierte Therapie in vitro

Sascha D. Markowitsch¹, Leila Efinger¹, Vivienne Voges¹, Thomas Efferth², Roman Blaheta¹, Olesya Vakhrusheva¹, Axel Haferkamp¹, Eva Jüngerl

¹ Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

² Institut für Pharmazie und Biochemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Einleitung: Zielgerichtete Strategien haben die Therapie des Nierenzellkarzinoms (NZK) verbessert. Aufgrund entstehender Resistenzen bleibt der Behandlungserfolg jedoch limitiert. Neue Therapieoptionen werden daher weiterhin gesucht. Sanguinarin aus der Traditionellen Chinesischen Medizin zeigte bereits in verschiedenen Entitäten antitumorale Effekte. Die Datenlage zum NZK ist bisher überschaubar. In der vorliegenden Studie wurde daher an NZK-Zellen alleine oder als Kombinationsbehandlung mit Cabozantinib der Einfluss von Sanguinarin auf das progressive Wachstum evaluiert.

Material und Methoden: Die NZK-Zelllinien, Caki-1, 786-O, KTCTL-26 und A-498, wurden mit Sanguinarin behandelt. Unbehandelte Zellen dienten als Kontrollen. Im Anschluss wurde das Zellwachstum, verschiedene Zelltodereignisse (Apoptose, Nekrose, Nekroptose und Ferroptose) und die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) analysiert. Zudem wurde die Expression und Aktivität von zelltodregulierenden Proteinen bestimmt. Im Anschluss wurde die Wirkungsstärke von Sanguinarin mit Cabozantinib in Kombination ermittelt und mittels Isobogrammen dargestellt.

Ergebnisse: Die Behandlung mit Sanguinarin resultierte in NZK-Zellen in einer zeit- und dosisabhängigen signifikanten Inhibition des Tumorzellwachstums und der Zellproliferation. Die wachstumshemmende Wirkung von Sanguinarin war in der Regel mit einem Zellzyklusarrest in der G2/M-Phase und Modulationen der zellzyklusregulierenden Proteine assoziiert. Sanguinarin induzierte zudem die RIP1 assoziierte Apoptose, welche mit einem Anstieg an ROS einherging. Sanguinarin in Kombination mit Cabozantinib wirkte dabei additiv.

Schlussfolgerung: Sanguinarin induziert in NZK-Zellen antitumorale Effekte, die jeweils in einer Inhibition des progressiven Wachstums mündeten. Sanguinarin könnte somit ein vielversprechendes Additiva innerhalb der Therapie von Patienten mit fortgeschrittenem NZK darstellen. Weiterführende Analysen sind notwendig, um dies zu verifizieren.

Kontakt: sascha.markowitsch@unimedizin-mainz.de

V3.5

Präklinische Analysen zum Einfluss von HDAC-Inhibitoren auf das progressive Wachstumsverhalten von therapieresistenten Blasenkarzinomzellen

Eva-Maria Schorsch¹, Sascha Markowitsch¹, Roman Blaheta¹, Martin Michaelis², Jindrich Cinatl³, Oliver Krämer⁴, Wolfgang Sippl⁵, Axel Haferkamp¹, Eva Jünger¹, [Olesya Vakhrusheva¹](mailto:olesya.vakhrusheva@unimedizin-mainz.de)

¹ Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

² Industrial Biotechnology Centre and School of Biosciences, University of Kent, UK

³ Institut für Medizinische Virologie, Universitätsklinikum Frankfurt, Goethe-Universität Frankfurt

⁴ Institut für Toxikologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

⁵ Martin-Luther-Universität, Institut für Pharmazie, Medizinische Chemie, Halle-Wittenberg

Fragestellung: Wenn das Blasenkarzinom (BCa) metastasiert ist, gibt es derzeit keine kurative Behandlung. Therapieresistenzen limitieren die klinische Effektivität der Therapeutika beim fortgeschrittenen BCa. Aufgrund der hohen Mutationsrate in BCa-Zellen könnten sich HDAC-Inhibitoren als Zielstrukturen für die Krebstherapie eignen. In der vorliegenden Studie wurde erstmalig untersucht, inwiefern KH16 und KH29, HDAC-Inhibitoren der zweiten Generation, auf das Wachstum parentaler und Cisplatin-resistenter Blasenkarzinomzellen Einfluss nimmt.

Material und Methoden: Therapiesensitive (parentale) und Cisplatin-resistente BCa-Zellen, TCCSup, RT122, T24 und KU1919, wurden für 24-72 Stunden mit KH16 und KH29 behandelt. Anschließend wurde das Tumorzellwachstum und die Zellzyklusphasen evaluiert. Weiterhin wurden nach KH16- oder KH29-Behandlung die Apoptose, Ferroptose und Nekroptose sowie die involvierten regulatorischen Proteine untersucht.

Ergebnisse. Die Gabe von HDAC-Inhibitoren, KH16 und KH29, führte zu zeit- und dosisabhängiger Inhibition des Wachstums. Das Wirkspektrum lag hierbei in einem nanomolaren Bereich. Des Weiteren führte die Behandlung zu einem signifikanten Anstieg fragmentierter DNA und Apoptose-Induktion, einhergehend mit einer Modulation der Apoptose-regulierenden Proteine PARP-1 und p21. Die KH-induzierten Effekte ließen sich durch den Multicaspase-Inhibitor zVAD revidieren, während die Blockade mit Necrostatin-1 und Ferrostatin-1 zu keinem signifikanten Effekt führte.

Schlussfolgerungen: Auf Grund unserer Daten postulieren wir, dass KH16 oder KH29 als Additivum in einer komplementären Therapie für Patienten mit fortgeschrittenem BCa wirkungsvoll sein könnten. Weiterführende (in vivo) Untersuchungen sind notwendig, um dies zu verifizieren.

Kontakt: olesya.vakhrusheva@unimedizin-mainz.de

P1.1

Evaluation of immunohistochemical markers for neuroendocrine carcinomas of the bladder and prostate

Ehab Hammad¹, [June Möller](mailto:june.moeller@rwth-aachen.de)¹, Michael Rose^{1,2}, Iryna V. Samarska³, Danny Jonigk^{1,4}, Nadine T. Gaisa^{1,2}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital

² Institute of Pathology, University Hospital, University of Ulm

³ Department of Pathology, GROW School for Oncology and Reproduction, Maastricht University, Medical Centre+, Maastricht, NL

⁴ German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

Introduction: Neuroendocrine carcinomas are rare tumors of the bladder and prostate with a histologically characteristic small cell morphology. Although the current WHO classification allows diagnosis even without expression of neuroendocrine markers in histo-morphologically striking cases, immunohistochemical verification of neuroendocrine differentiation is recommended. Therefore, we evaluated the performance of immunohistochemical antibodies to detect neuroendocrine differentiation in cancers of the bladder and prostate.

Patients and methods: We used tissue microarrays of n=19 bladder and n=11 prostate neuroendocrine carcinomas to study immunohistochemical expression of synaptophysin, chromogranin A, ISL1, INSM1, CD56, NSE, TTF1, CK, Ki67 and p53 and evaluated expression by a modified immunoreactive score (IRS) of Remmele and Stegner. Additionally, in bladder tumors a molecular subtype consensus panel was evaluated.

Results: In neuroendocrine bladder carcinomas, the most predominant marker (IRS ≥ 3) was synaptophysin showing expression in 16 out of 18 tumor tissues (IRS ≥ 3), with 9/18 showing characterized by a strong expression. We also observed expression (IRS ≥ 3) of INSM1, CD56, ISL1 and chromogranin A. NSE and TTF1 were rarely expressed. For p53 we found an aberrant expression (i.e. IRS =0 or IRS=12) in 13/18 of cases, 13/18 cases were positive for CK staining. All neuroendocrine bladder tumors showed a median Ki67 expression of 85%. Interestingly, a close correlation of synaptophysin and INSM1 expression was calculated (Spearman $r=0.89$, $p < 0.001$). Surprisingly, through the molecular consensus markers, a basal or luminal phenotype was found in five tumors; two basal phenotypes showed no neuroendocrine marker expression. The marker expression in prostate neuroendocrine carcinomas was similar.

Conclusions: Synaptophysin and INSM1 are promising for usage as qualified markers for neuroendocrine differentiation in bladder and prostate. Thus, both markers will be further validated in larger cohorts to confirm their diagnostic impact.

Kontakt: june.moeller@rwth-aachen.de

P1.2

Clinical utility of digital PCR by detection of cell-free microRNA in PCa patients

Bialek J, Weigand K, Rohr T, Fornara P, G. Gakis, G. Theil

University Clinic and Outpatient Clinic for Urology, Medical Faculty of Martin Luther University Halle-Wittenberg, Halle (Saale)

PSA serum testing involved in prostate cancer (PCa) screening incurs harms of overdiagnosis. To overcome this issue, examination of circulating cell-free miRNAs as early tumor development biomarkers can be considered. Optimal tool for such analysis could be the digital PCR, which provides accurate and precise quantification of target molecules. The purpose of our trial was to evaluate the best condition to determine the miRNA using the chip-based digital PCR method in the small sample volume.

Our 10-years screening study for PCa included 960 men who were analyzed for PSA level. Circulating miRNAs (miR-16, -375) isolated from 53 participants of this population were analyzed with chip-based digital PCR System. We optimized the single steps as well as the cycle number to reduce the "rain" of not fully amplified products. Specificity and sensitivity were determined using ROC-curve. We detected increased levels (median cp/μL; range) of miR-16 in PCa group (32768; 136-328528) comparing to BPH (4822; 148-91495) or healthy (18132; 0-35159) men, when miRNA-375 was higher in BPH group. Analysis of the PCa group at various time points displayed increased expression tendency in the patients with the time distance less than 1 year to the surgery. At the time shortly before surgery, levels of both miRNAs were higher by younger men than by older ones. The AUC of miRNA-16 and PSA were >0.98 indicating a high diagnostics accuracy. Considering our results miRNA-16 can be proposed as PCa tumor suppressor.

Crucial role in achieving accurate and reliable results in chip-based dPCR is the optimization of the procedure. The chip-based dPCR is a method, which in short-time and less working-steps improved the possibility of detection and analysis of miRNA as potential tumor markers in our cohort.

Kontakt: gerit.theil@uk-halle.de

P1.3

Increased expression of PD-L1 in urosepsis is associated with increased mortality and might be induced by the CRP-receptor CD64

Derigs M, Mandal S, Pavlakis E, Huber H, Hanse J

Institution: Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Marburg

Question: PD-L1 is a known inhibitory checkpoint molecule, which is upregulated in general sepsis and may contribute to sepsis-induced immunosuppression. Here we assessed the meaning of the soluble form of PD-L1 (sPD-L1) in urosepsis and examined the regulation of PD-L1 expression in immune cells.

Materials und Methods: Blood samples of urosepsis and control patients (both groups n = 18) were analyzed. sPD-L1 and sPD-1 levels were determined using ELISA and were correlated to whole blood mRNA concentrations of PD-1, PD-L1, neutrophil markers and T-cell markers via RT-qPCR, and also to major inflammatory markers and the outcome of urosepsis. Additionally, cell lines of important immune cells (neutrophils, monocytes, and T cells) were stimulated with interferon-gamma (IFNG), mimicking inflammation, and mRNA gene sequencing (RNA-seq) was performed.

Results: sPD-L1 and not sPD-1 was significantly increased in urosepsis patients when compared to the controls ($p < 0.0001$). In addition, patients with high sPD-L1 levels, as dichotomized to the median, had a significantly shorter survival rate than those with low sPD-L1 levels (90 vs. 45 % 30 days after admission, $p = 0.019$). PD-L1 correlated positively with the mRNA markers of neutrophils (CEACAM8, MPO), and the inflammatory markers CRP and PCT, however sPD-L1 correlated negatively with T-cell markers (TCRb, CD4, CD8). In a cell line (MOLM20) derived from human neutrophil granulocytes, PD-L1 was upregulated by IFNG along with the CRP-receptor CD64.

Conclusion: We propose sPD-L1 as a relevant prognostic biomarker for urosepsis. Importantly, sPD-L1 expression correlated to increased PD-L1 and neutrophil mRNA markers. We hypothesize that PD-L1 expression in neutrophils is induced via CRP/CD64 signaling, which we plan to further investigate in patients' samples by flow cytometry.

Kontakt: derigs@med.uni-marburg.de

P1.4

Nectin-4 Proteinexpression beim klarzelligen Nierenzellkarzinom

Kira Klein, Moritz Maas, Jörg Hennenlotter, Niklas Harland, Viktoria Stühler, Olga Dobler, Tilman Todenhöfer, Arnulf Stenzl, Igor Tsaour, Steffen Rausch

Universitätsklinikum Tübingen, Klinik für Urologie

Fragestellung: Für das Transmembranprotein Nectin-4 wird für einige humane Malignome eine Bedeutung in der Tumorbiologie diskutiert. Für das klarzellige (cc) Nierenzellkarzinom (RCC) sind allerdings erst wenige Daten dazu verfügbar. In einer pilothaften Erhebung sind hier Daten zur histologischen Expression von Nectin-4 in Subtypen des RCCs ermittelt worden.

Material & Methoden: An einem Kollektiv von 37 Patienten mit Nierentumoren wurden Paraffinproben als TMAs immunhistochemisch auf Nectin-4 Expression gefärbt und mikroskopisch evaluiert. In Anlehnung an etablierte Quantifizierungen am Urothelkarzinom wurden Grad 0-3+ der vorherrschenden Färbeintensität und gefärbte Gewebefläche zu einem endgültigen Score verrechnet.

Ergebnisse: Das Kollektiv verteilte sich: 28x männlich - 9 weiblich, Alter median 63 (20-83) Jahre, 23x links - 14x rechts, Tumor median 4.5 (0.7-17.5) cm. Subtypen 17x cc, 2x papillär (pp), 3x chromophob (chrom), 4x Onkozytom (onko), 8x andere Entitäten (and). T-Stadien der malignen Tumoren verteilten sich 19xT1, 4xT2 und 5xT3, Grading 3xG1, 21xG2 und 4xG3, 1x N+ M1 - Situation. Die Expression ist vorrangig zytoplasmatisch lokalisiert. Die cc, pp, chrom, onko, and, Tubuli und Glomeroli exprimierten 0.94, 2.5, 2.0, 3.0, 2.5, 2.8 und 0.0. Bei den ccRCC sank die Nectin-4 Expression mit steigendem T-Stadium, Der N+ / M1 Tumor exprimierte bei sarcomatoidem ccRCC kein Nectin-4. G3 Tumoren exprimierten weniger Nectin-4 als G1/2 (0.69 vs. 1.68). Mit der Tumorgroße nahm die Nectin-4 Expression ab, bei den ccRCC sogar signifikant ($p=0.0094$, $r_2 \text{ korr.} = 0.396$). Keine Korrelationen fanden sich für Geschlecht, Alter und betroffene Seite.

Schlussfolgerungen: Die ccRCC exprimieren im Vergleich der Subgruppen wenig Nectin-4. Sie verhalten sich gemäß aktuellen Erkenntnissen zum Urothelkarzinom und zeigen verringerte Expressionen in fortgeschrittenen Stadien. Die absolut geringeren Expressionen im Vergleich zu Urothelkarzinomen sind im Hinblick auf deren Biomarker-Eigenschaft vor dem Hintergrund der Antikörper-Verdünnung zu diskutieren.

Kontakt: moritz.maas@med.uni-tuebingen.de

P1.5

Evaluation des MCM-5 Testes in der Diagnostik des Harnblasenkarzinoms – bekannte und unbekannte einflussnehmende Parameter auf das Testergebnis

Nika Schreiner, Moritz Maas, Jörg Hennenlotter, Andrea Hohner, Arnulf Stenzl, Igor Tsaur, Steffen Rausch

Universitätsklinikum Tübingen, Klinik für Urologie

Fragestellung: Beim Harnblasenkarzinom (BC) wird der Protein-basierten Urindiagnostik trotz ihrer Anfälligkeit gegenüber Störfaktoren (SF) ein großes Potential zugeschrieben. Im Falle des ADXBladder MCM-5 Tests sind bereits Lithiasis (LIT) und instrumentierte Uringewinnung (IUS) als SF beschrieben. Diese Studie prüft weitere naheliegende SF hinsichtlich ihrer Signifikanz in einem Klinik-typischen Kollektiv und inkludiert dabei auch herstellerseits ausgeschlossene.

Material und Methode: An 103 Patienten, nach Herstellerkriterien zur BC Diagnostik eingeschlossen, und einem weiteren Kollektiv ohne BC mit LIT (n=28) und IUS (18) wurde vor Zystoskopie MCM5 im Urin mittels ELISA bestimmt. In bivariaten Modellen wurden die Effektstärken der jeweiligen SF und Histologie auf das Testergebnis verglichen. Multivariat wurden signifikante SF gemäß ihrer unabhängigen Einflussnahme auf des Testergebnis gerankt. Für IUS und LIT wurden die Rate falsch-Positiver (+) mit / ohne Einfluss gegenübergestellt.

Ergebnisse: Sensitivität, Spezifität und Akkuratess nach Hersteller cut-off (0.985) waren 80.7 (86.7 bei high, 75.0 low Grade), 43.1 und 54.4%. Für Hämaturie (HU), HWI und Uringewicht (UG) jeweils vs. Histologie zeigten sich Wertepaare von 6.0 vs. 1.7, 4.4 vs. 2.2 und 1.6 vs. 1.4 (alle <0.05), für Alter, Geschlecht und Nierenfunktion ergaben sich keine Signifikanzen. Das Gesamtmodell rankte die Effektstärken mit: HU > HWI > Histologie (alle <0.05) > UG (<0.28). 100% der histologisch negativen Patienten (3) mit GFR<60 waren falsch(+). Pat. mit / ohne LIT waren zu 78.6 / 60.7% falsch(+), mit / ohne IUS zu 77.8 / 62.6% (je n=117, beide n.s.).

Schlussfolgerungen: Der Test liefert annehmbare Testqualitäten in der täglichen Routine-Anwendung. HU, HWI und das UG zeigen im Gegensatz zu Alter, Geschlecht und bemerkenswerterweise IUS und LIT unabhängigen Einfluss auf das Testergebnis. HWI und HU können als eigenständige diagnostische Kriterien detektiert werden. Die Nierenfunktion muss in späteren Untersuchungen auf deren Signifikanz als SF geprüft werden.

Kontakt: moritz.maas@med.uni-tuebingen.de

Evaluationen zur Veränderung der Ejakulatqualität 1985/86 vs. 2021/22

Gina Weber, Moritz Maas, Jörg Hennenlotter, Bastian Amend, Viktoria Stühler, Andrea Hohneder, Arnulf Stenzl, Igor Tsaur, Steffen Rausch

Universitätsklinikum Tübingen, Klinik für Urologie

Fragestellung: Entlang der vergangenen Jahrzehnte beobachten verschiedene Studien eine kontinuierliche Verringerung von Spermienzahlen im Ejakulat [2,3]. Nachdem frühere Arbeiten diesen Effekt vorrangig in industrialisierten Regionen gesehen haben, zeigt sich dieses Phänomen jetzt doch weltweit. Damit liegt die Ursache -etliche Faktoren aus Umwelt und individueller Lebensart werden diskutiert -weiterhin im Dunkeln. Die Spermienzahl wird dabei neben dem Maß für die Fruchtbarkeit des Mannes auch als Indikator für seine allgemeine Gesundheit angenommen. Inwieweit sich solche Vermutungen in der Andrologischen Klinik niederschlagen, ist nicht bekannt.

Material & Methoden: Die Ergebnisse der Spermioogramm-Analysen von historischen Patienten, die sich in den Jahren 1985-86 mit andrologischer Fragestellung routinemäßig einer Spermioogramm-Analyse unterzogen haben, wurden mit denen eines aktuellen Kollektivs aus den Jahren 2021-22 verglichen. Die Kollektive wurden jeweils konsekutiv eingeschlossen, Spermioogramme, die zur Vasektomie-Kontrolle dienten, wurden in beiden Kollektiven ausgeschlossen.

Ergebnisse: 155 und 111 Patienten aus 85/86 und 2021/22 konnten gegenübergestellt werden. Alter median 29 (18-65) und 34 (18-52) Jahre ($p < 0.0001$), Karenztage 4.5 (2-21) und 3.0 (1-14, $p = 0.0014$). Ejakulat-Volumina und Spermindichten zeigten keine signifikanten Unterschiede. Spermiengesamtzahl (median 52.4 vs. 23.8 mill), Gesamtmotilität nach WHO A+B+C (70.0 vs. 20.0%) und die fortschreitende Beweglichkeit WHO A+B (50.0 vs. 7.5%) zeigten hingegen im aktuellen Kollektiv wesentlich niedrigere Werte ($p = 0.0175$, < 0.0001 und < 0.0001).

Schlussfolgerungen: Auch im klinischen Kollektiv sind deutliche Qualitätsverringerungen hauptsächlich der Spermienmotilität detektierbar. Dies unterstützt die gängige Meinungsrichtung aus Daten der Normalbevölkerung. Bei solch beträchtlichen Unterschieden müssen allerdings einflussnehmende Limitationen bezüglich der Vergleichbarkeit der beiden Gruppen diskutiert werden.

Kontakt: moritz.maas@med.uni-tuebingen.de

V4.1

Establishment and optimization of deep learning models in diagnosing hydronephrosis

Radu Alexa¹, Jennifer Kranz^{1,2,3}, Christoph Kuppe³, Sikander Hayat³, Rafael Kramann³, Ritabrata Sanyal³, Marco Hoffmann¹, Luis Felipe Casas Murillo⁴, Matthias Saar¹

¹ Klinik für Urologie und Kinderurologie, Uniklinik RWTH Aachen

² Universitätsklinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsklinikum Halle (Saale)

³ Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, rheumatologische und immunologische Erkrankungen, Uniklinik RWTH Aachen

⁴ Robotic Systems Engineering, Uniklinik RWTH Aachen

Background: Hydronephrosis is an essential disease component in diagnosing acute renal colic. Recent advances in deep-learning neuronal networks, imaging techniques, and computational capabilities have facilitated image-based pattern recognition in various datasets. These models have already been used for image-based detection of different urological pathologies. Using an ultrasound database, a neural network can be trained to distinguish kidneys from other organs and automatically detect hydronephrosis, if present.

Material and Methods: Non-hydronephrotic and hydronephrotic ultrasound images of human kidneys were collected anonymously. Centered sagittal ultrasound images were processed for use with pre-trained convolutional neuronal networks. A total of 6 "state of the art" models (GoogLeNet, AlexNet, AlexNet_v2, ResNet50, ResNet101, ResNet152) were trained, tested, and used to evaluate new images. Models were created using Python 3.10 and the PyTorch 1.12.1 library.

Results: 523 renal ultrasound images (423 non-hydronephrotic and 100 hydronephrotic) were collected from 3 different ultrasound devices. After training, all models were used to evaluate 200 new kidney images (142 non-hydronephrotic and 58 hydronephrotic kidneys). The AlexNet model achieved the highest validation accuracy of 98.5% (GoogLeNet 97%, AlexNet_v2 96%, ResNet50 96%, ResNet101 97.5%, ResNet152 95%).

Conclusion: Our deep learning model opens the way for the first automated triage of patients with renal colic and thus creates the prerequisite for standardized diagnosis and workup of these patients.

Kontakt: ralex@ukaachen.de

V4.2

Long-term MMC treatment of NMIBC using a novel intravesically applicable degradable drug-delivery system in our mouse model

Athanassios Fragoulis¹, Barbara Dittrich², Patrick Arndt³, Sarah Schemmert³, Katja Strick³, Carmen Fera³, Michaela Moss⁴, Julia Steitz⁴, Rene Tolba⁴, Joachim Grosse³

¹ Department of Anatomy and Cell Biology, Uniklinik RWTH Aachen

² DWI Leibniz Institute of Interactive Materials, Aachen

³ Department of Urology, Uniklinik RWTH Aachen

⁴ Institute for Laboratory Animal Science, Uniklinik RWTH Aachen

Introduction: Treatment for non-muscle invasive bladder cancers (NMIBC), the most common bladder cancer, includes initial transurethral resection and subsequent intravesical short-term immuno- and/or chemotherapy. However, since the standard treatment protocols do not adequately inhibit tumor progression, new more efficient treatment approaches are needed. We developed a novel degradable drug-delivery system (DDS) for long-term MMC treatment to optimize its effect due to increase contact time. Evaluation took place using our RT112-luc/GFP reporter cell based NMIBC mouse model.

Methods: MMC release in PBS and artificial urine was initially evaluated by HPLC-MS. Transgenic RT112-luc/GFP cells, which show a constitutive expression of a firefly luciferase/GFP fusion protein, were generated. Cytotoxicity of DDS-derived MMC was tested in vitro before the cells were intravesically instilled in Swiss Webster nu/nu mice. Tumor progression was monitored and quantified by measurements of RT112-derived bioluminescence signals (BLI) in an IVIS in vivo imager. At day 7, MMC treatment strategies started (DDS with 10, 20 or 30 µg MMC), free MMC (1mg/mL for 2 h) dealt as control. BLI was quantified once a week for 42 more days. Afterwards, bladders and kidneys were prepared for further histopathological analysis.

Results: The in vitro experiments confirmed the suitability of RT112-luc/GFP cells for our NMIBC model. The BLI signals increased during cancer progression and were restricted to the bladder for at least 21 days. DDS-derived MMC treatment resulted in almost complete regression (90%). Histopathological evaluation further confirmed our findings, especially the non-muscle invasive growth of the tumor over 21 days.

Conclusion: We established a novel and robust mouse model as well as drug delivery system for NMIBC. The RT112-luc/GFP cells allowed us to monitor and quantify tumor growth in vivo over time. The suitability of both for future treatment studies was confirmed by using a well-established MMC treatment.

Kontakt: afragoulis@ukaachen.de

V4.3

The impact of substrate elasticity on cell functionality & interaction in prostate cancer

Anna Herrmann^{1,3}, Marco Hoffmann^{1,3}, Thomas Ermler^{1,3}, Jennifer Kranz^{1,2,3}, Flavien Devaux^{1,3}, Matthias Saar^{1,3}

1 Clinic of Urology and Pediatric Urology, University Hospital RWTH Aachen

2 Department of Urology, Kidney Transplantation Centre, Martin-Luther-University, Halle

3 Center for Integrated Oncology (CIO), University Hospital RWTH Aachen

OBJECTIVES: The elasticity of cell culture substrates influences multiple cell properties. Herein we investigate the influence of substrate elasticity (SE) on the cultivation of prostate cancer (PCa) cells thus aiming to optimize primary cell culture on a long-term basis. The change of elasticity in a malignant prostate impressively demonstrates the importance of this characteristic on cellular function in this tumor tissue.

METHODS: By using the biocompatible silicone Sylgard 184, different SE can be prepared, according to defined mixing ratios of base and crosslinker. The resulting cell properties were studied by bright-field microscopy and immunofluorescence using image analysis as well as proliferation and migration assays. In addition, cellular communication was characterized as a function of underlying SE using a Boyden chamber.

RESULTS: LNCaP cells showed a reduction in cell surface area and roundness as well as an increase in perimeter and diameter on 90 kPa substrates (malignant tissue) compared to 50 kPa (healthy tissue). These parameters indicate improved metabolic activity, which was confirmed in subsequent proliferation studies. Further, the actin cytoskeleton was characterized, showing increased expression and orientation on stiffer substrates. Similarly, higher migratory activity on stiffer substrates was detected in wound healing assays. In addition, the interaction between healthy PNT-2 cells and PCa cells was examined in a Boyden chamber as a function of the underlying SE, with PNT-2 cells exhibiting higher attraction to LNCaP cells on softer substrates.

CONCLUSIONS: SE significantly influences the cultivation of PCa cells and seems to be able to ideally mimic the original tissue properties by appropriately elastic silicone substrates. Through further investigation, we plan to specifically optimize PCa primary cell culture and develop an in vitro metastasis assay.

Kontakt: anherrmann@ukaachen.de

V4.4

A Novel Multi-compartment Model to Study Renal Cell Carcinoma in vitro: Bridging Tumor and Healthy Epithelium

Pinto P, Somova M, Padmyastuti A, Burchardt M

Klinik und Poliklinik für Urologie, Universitätsmedizin Greifswald

Background: Renal cell carcinoma (RCC) is a prevalent urologic cancer arising from renal tubule epithelial cells. Significant progress has been made in RCC therapies, with surgical interventions and immunotherapy yielding positive clinical outcomes. Despite these advances, early RCC detection remains a challenge, with most tumors detected incidentally during unrelated imaging diagnostics. Current in vitro RCC models do not fully replicate the complexity of the tumor microenvironment or the interactions with stromal and non-tumor cells, limiting their use in biomarker research and drug testing. Microphysiological Systems (MPS) that incorporate flow through 3D cell structures can mimic microenvironments and have emerged as valuable tools to study tumor pathophysiology and secretions in vitro.

Methods: The dual-compartment TissUse Humimic MPS chip, with recirculating perfusion and pulsating flow, was used as a dynamic culture platform. Bespoke 3D printed culture chambers were developed to reconstruct a renal proximal tubule, embedded in a collagen type I matrix. Agar-collagen hydrogels were used to embed RCC spheroids. The healthy tubule model and RCC spheroids were cultured in separate compartments, sharing the same perfusion. The effects of this co-culture on the expression of key renal markers, secretion of immune factors, and metabolic activity were determined using qPCR and ELISA, and the Agilent SeaHorse analyzer, respectively. RNA-Seq was used to characterize the impact of MPS culture on the physiology of non-tumor renal proximal tubule cells.

Results: We determined that the renal proximal tubules and RCC spheroids maintain their viability over a 5-day co-culture period. RCC culture showed limited alterations to their gene expression and metabolic activity, maintaining a predominately glycolytic phenotype when cultured alone or together with the renal tubule. The renal tubules maintained a predominately oxidative metabolism in a single culture. Co-culture with RCC shifted their metabolism towards glycolytic activity and enhanced the expression of interleukin 6 and 8. Interestingly, the expression of secretion of the Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (Ngal) was consistently downregulated in both RCC and renal tubules co-culture. RNAseq analysis showed that relative to 2D cultures, the renal tubules have an enhanced cellular architecture, cytoplasm transport activity, oxidative phosphorylation, and diminished proliferation capacity, among other features.

Conclusions: This study highlights the physiological changes that non-tumor renal proximal tubules undergo when sharing the same microenvironment as RCC cells. RCC promotes a metabolic shift in non-tumor cells, aligning their energy production pathways with the tumor cells. This effect can potentially recruit further healthy epithelium toward a malignant phenotype and facilitate the preservation of the tumor microenvironment. The secretion of immune factors by the renal tubule is deregulated, notably Ngal. This small protein secreted in the urine has been considered a potential RCC biomarker, however, its significance for RCC pathophysiology remains unclear. This RCC-MPS model can be further employed to investigate the mechanisms behind the metabolic induction by RCC cells, as well as the causes of Ngal deregulation and its potential use as an RCC biomarker.

Kontakt: pintop@uni-greifswald.de

V5.1

Development of a multiparametric grading system for prognostic stratification of squamous cell carcinomas of the bladder

Böshertz MS¹, Jung M¹, Rose M^{1,2}, Jonigk DD^{1,3}, Gaisa NT^{1,2}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital

² Institute of Pathology, University Hospital, University of Ulm

³ German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

Introduction: Primary squamous cell carcinoma (SCC) of the bladder is a rare subtype of bladder cancer and shows various morphologies. While grading systems for squamous cell carcinomas of other sites have been refined in recent years, to date no common grading system has been established for primary SCC of the bladder. This study aims to provide comprehensive insights to the relevance of different histopathological parameters for prognosis in bladder SCC.

Methods: In a cohort of 114 patients with primary bladder SCC and mixed SCC and urothelial carcinoma, we evaluated distinct histopathological aspects, namely growth (solid, ulcerative, polypous) and infiltration (trabecular, nodular, infiltrative) pattern, keratinization, necrosis, and lymphocytic infiltration (TILs), and correlated the resulting scores with recurrence-free (RFS) and overall survival (OS).

Results: Higher necrosis ($p < 0,01$), fewer TILs ($p < 0,05$) and higher tumor budding ($p < 0,05$) significantly correlated with worse RFS as singular parameters. A multiparametric scoring algorithm with addition of growth and invasion pattern allows the stratification in three groups with significantly different survival ($p < 0,01$) between low (G1) and high (G2, G3) grade groups.

Conclusion: We propose a multiparametric scoring approach for grading of bladder SCC in order to enhance prognostic impact. Our data underlines the importance of evaluating multiple histopathological hallmarks for prognostic stratification in a standardized manner, and we think that our study contributes to the establishment of a common grading system for primary bladder SCC.

Kontakt: mboeshertz@ukaachen.de

V5.2

Diagnostic and therapeutic potential of folic acid receptors and glycosylphosphatidylinositol transamidase in prostate cancer

Hoffmann M1, Ermler T1, Hoffmann F1, Alexa R1, Kranz J1,2, Steinke N3, Gaisa N T4, Saar M1

1 Clinic of Urology and Pediatric Urology, University Hospital RWTH Aachen

2 Department of Urology, Kidney Transplantation Centre, Martin-Luther-University, Halle

3 Interdisciplinary Center for Clinical Research (IZKF), RWTH Aachen University

4 Institute of Pathology, University Hospital RWTH Aachen

OBJECTIVES: Folate receptors (FR) are already known as selective entry site into cancer cells and a potential diagnostic marker, due to the proliferation-induced high demand for folic acid (FA). Overexpression of glycosylphosphatidylinositol-transamidase (GPI-T) is also associated with cancer progression or metastasis. To our knowledge, a detailed characterization of FR1- and GPI-T, regarding therapeutic and diagnostic feasibilities in PCa, has yet to be described.

METHODS: Cell culture studies and tissue sections were analyzed by western blot, qRT-PCR and immunofluorescence. In addition, we utilized FA-functionalized lipoplexes to characterize the potential of FR1-targeted delivery. We employed AI-driven image analysis to assess the risk levels of different Gleason Scores, correlating with the FR and GPI-T-expression observed on histopathological slides.

RESULTS: Interestingly, we detected high levels of FR1-mRNA in healthy prostate epithelial cells and healthy prostate tissue. In prostate cancer however, we were able to show a massive enhanced FR1-membrane-localization where the receptor can gain its function. We were able to link these changes to the overexpression of GPI-T. PCa cells in vitro and cancer tissue show GPI-T's most potent overexpression, thereby inducing FR1 membrane localization. Finally, we utilize FA-functionalized lipoplexes to selectively transfer DNA into PCa-cells. Furthermore, we devised a diagnostic strategy using AI-driven image analysis to identify Gleason-Grade-specific changes in FR1-localization and GPI-T expression.

CONCLUSIONS: Thus, FR1 represents a promising candidate for targeted therapeutic transfer pathways in PCa and, in combination with GPI-T, may provide predictive imaging and established diagnostics.

Kontakt: marchhoffmann@ukaachen.de

V5.3

Comparison of variation effect prediction algorithms for the interpretation of single-base exchanges in cancers of the bladder and upper urinary tract

June Möller¹, Michael Rose^{1,2}, Lancelot Seillier¹, Danny Jonigk^{1,3}, Nadina Ortiz-Brüchle^{1,#}, Nadine T. Gaisa^{1,2,#}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital

² Institute of Pathology, University Hospital Ulm

³ German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

contributed equally to this work

Introduction: Advances in NGS techniques facilitate targeted and personalized medicine. Although accurate prediction of pathogenic consequences of mutations is critical to ensure effective treatment this procedure is not standardized so far. Thus, it is of clinical significance to evaluate prediction algorithms allowing classification of sequencing data from patients with urothelial cancer which may help to improve NGS based diagnostic and therapy prediction.

Methods: Independent data sets of n=357 benign mutations (IARC class 1/2), n=361 pathogenic pan-cancer variations (IARC class 4/5) and n=441 pathogenic (IARC class 4/5) cancer-specific single-base exchanges were created using data from ClinVar and cBioPortal. Various prediction algorithms were used (e.g., SIFT, REVEL, MutationTaster, MetaRNN, ListS2, DEOGEN2 and BayesDel) and the true positive and negative rates of single programs and combinations of two algorithms were compared. Combined performances were calculated separately at a threshold of one or a consensus of both tools for the interpretation of a variant as deleterious. Additionally, algorithms were specifically tested with variations in tumor suppressor genes compared to oncogenes and hotspots.

Results: MutationTaster achieved highest sensitivity (95%), but a specificity of only 51% in the urothelial cancer cohort compared to the benign cohort. Additionally, the best performing combination in terms of sensitivity was MutationTaster/Meta SVM at a threshold of ≥ 1 , with a sensitivity of 99% and a specificity of 39%. Meanwhile, MetaRNN achieved highest specificity at 83%, with a sensitivity of 83%. The best performing combination in terms of specificity was SIFT/DEOGEN2 with a consensus approach and a specificity of 94% but failed to reach suitable sensitivity (41%). The performance in urothelial cancers versus PanCancers was not measurably different.

Conclusions : Tested algorithms appear promising, however, accurate sensitivity rates resulted in mostly reduced specificity. Therefore, we now aim to test combinations of three tools to further improve specificity and sensitivity. Moreover, results will be correlated with published studies of PanCancer-based data sets to further determine tumor entity specific differences.

Kontakt: june.moeller@rwth-aachen.de

V5.4

ELOC-mutated Renal Cell Carcinoma

Fichtner A1, Reuter-Jessen K1, Strauss A2, Ströbel P1, Bremmer F1

1 Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen

2 Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen

Purpose: The current 2022 WHO classification of tumours of the urinary tract and male genital organs now encompasses a large group of molecular defined renal cell carcinomas (RCC). We here present a case of a 26-year old male patient with a morphologically and immunohistochemically distinct RCC that turned out to be an ELOC-mutated RCC.

Methods: Immunohistochemical stainings were performed on formalin-fixed and paraffin embedded tissue using the DAKO Omnis stainer. ZytoLight SPEC VHL/1p12/CEN7/17 and ZytoLight SPEC CCND1 Break Apart/2q11/CEN6 Quadruple Color Probe by ZytoVision were performed to look for deletion of VHL, translocation of chromosome 11q13 (CCND1) for aneuploidies of chromosome 1 (1p12), 2 (2q11), 6 (CEN6) 7 (CEN7) and 17 (CEN17). Next Generation Sequencing analysis was performed using the TSO500 Panel by Illumina.

Results: Histopathological analysis revealed a tumor with tubular and papillary growth pattern consisting of cells with clear cytoplasm and a prominent fibromuscular stroma. Immunohistochemical analysis showed positive stainings for PAX-8, vimentin, CK7 and CD10, but negative stainings for TFE3, GATA3, and CK20. No losses of SDHB, INI1 or BAP1 were detected. Fibromuscular stroma stains positive for smooth muscle actin and caldesmon. CEN6 deletion was detected by FISH analysis and TSO 500 panel analysis revealed an ELOC mutation.

Conclusion: In summary, the diagnosis of an ELOC-mutated RCC was made, of which only 20 cases have been reported in the literature so far. These tumours usually have a good clinical course with only two described metastatic diseases. Pathologists and urologists should have these new entities in mind in differential diagnosis of renal neoplasms.

Kontakt: alexander.fichtner@med.uni-goettingen.de

V5.5

Postpubertale Teratome des Hodens mit somatischer Malignität - Eine morphologische, immunhistochemische und molekularpathologische Analyse

Richter A1, Pongratanakul P2, Che Y3, Küffer S1, Reuter-Jessen K1, Ströbel P1, Albers P3, Nettersheim D3, Bremmer F1

1 Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Göttingen

2 Abteilung für Urologie, Urologisches Forschungslabor, Translationale Uroonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

3 Abteilung für Urologie, Universitätsklinikum Düsseldorf

Fragestellung: Maligne Keimzelltumoren (KZT) des Hodens sind die häufigsten malignen soliden Tumore des jungen Mannes. In der Regel sprechen KZT gut auf eine Cisplatin-haltige Chemotherapie an. Ein geringer Prozentsatz der Patienten entwickelt allerdings eine Resistenz gegen die Standardtherapie. Ein möglicher Resistenzmechanismus ist dabei die Ausbildung einer sogenannten „somatischen Malignität“ (SM) (also die Ausbildung eines Sarkoms oder eines Karzinoms wie es auch in anderen Organen zu finden ist). Diese Tumoren können primär im Hoden entstehen, sind jedoch meistens in Metastasen zu finden. Für diese Patienten besteht aktuell kein adäquates Therapiekonzept, weshalb sie eine schlechte Prognose haben. Die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit waren: Welche histologischen Subtypen der SM liegen vor? Können durch ausführliche molekularpathologische Untersuchungen potenzielle therapeutische Zielstrukturen identifiziert werden?

Material und Methoden: Ein Kollektiv aus 33 ursprünglich als SM diagnostizierten Tumoren von 25 Patienten wurde immunhistochemisch charakterisiert und mittels TSO 500 Panel von Illumina molekularpathologisch analysiert.

Ergebnisse: Morphologische und immunhistochemische Analysen zeigten 9 Adenokarzinome, 7 Rhabdomyosarkome, 2 Angiosarkom, ein NET, ein ENET, ein Sarkom NOS und ein Karzinom NOS. 10 Tumore wurden als Dottersacktumoren (DT) diagnostiziert und nicht SM. Alle Tumoren wiesen ein Isochromosom 12 p auf. Die molekularpathologischen Analysen von 16 Proben zeigten mikrosatellitenstabile Tumoren mit geringem tumour mutational burden. Klar pathogene Mutationen waren nur vereinzelt nachweisbar.

Schlussfolgerungen: Die Diagnose einer SM ist aufgrund ihrer schlechten Prognose wichtig. Die differenzialdiagnostische Abgrenzung insbesondere gegenüber einem DT ist schwierig, kann aber mit einer von uns in der vorliegenden Arbeit etablierten Markerkombination erreicht werden. Die ausführliche molekularpathologische Untersuchung konnte keine einheitlichen therapeutischen Zielstrukturen detektieren.

Kontakt: annika.richter1@med.uni-goettingen.de

P2.1

Mechanism of action and interaction of garlic extract and established therapeutics in prostate cancer
Jana Sauer^{1,3}, Marco Hoffmann^{1,3}, Radu Alexa^{1,3}, Jennifer Kranz^{1,2,3}, Majd Zahran^{1,3}, Matthias Saar^{1,3}

1 Clinic of Urology and Pediatric Urology, University Hospital RWTH Aachen

2 Department of Urology, Kidney Transplantation Centre, Martin-Luther-University, Halle

3 Center for Integrated Oncology (CIO), University Hospital RWTH Aachen

OBJECTIVES: To the best of our knowledge, a detailed mode of action of garlic extract (GE) on prostate cancer (PCa) is not yet known, especially in combination with administered therapeutics. We became aware of the potential benefits from one of our patients, who was diagnosed 14 years ago with biopsy-proven PCa (Gleason 6) and has been able to regulate his iPSA level from 11.8 ng/ml to stable levels between 3.5- 5 ng/ml for ≥ 10 years to date. We now started to understand if GE can gain function in combination to reduce doses and cytotoxicity, if GE can modulate the metabolism of drugs and potential consequences on drug safety.

METHODS: To quantify the antiproliferative effect of GE and the combination with established therapeutics, healthy prostate epithelial cells (PNT2) and PCa-cells (LNCaP) were treated, respectively. Proliferation was assessed by MTS. To investigate the underlying mechanism with additive or subtractive effects of combination therapy, changes in integrin patterns by immunofluorescence, DNA damage by Comet-Assay, and reduction of Cytochrome P450 (CYP450) and androgen receptor (AR) expression by qRT-PCR were investigated.

RESULTS: 0.5% GE significantly reduced cell viability of LNCaP cancer cells by 25.7% (s.d. 11.3%) after only 2 hours, with higher effects compared to healthy PNT2 (10.5% s.d. 4.6%), induced by DNA-damage and Integrin-b1 dependent activation of caspases. Surprisingly, the combination of GE and Docetaxel treatment resulted in significantly higher cell viabilities than docetaxel alone, likely induced by the dose-dependent upregulation of CYP450. The combination of GE and 0.01 μ M Enzalutamide showed significantly reduced cell viabilities compared to Enzalutamide alone, possibly by a GE-induced reduction in AR-expression.

CONCLUSIONS: GE shows an impressive effect in cell culture on PCa cells, which could possibly explain corresponding effects in our patient's case. The exact mechanisms need to be further investigated to confirm a relevant additive effect in combination with established substances, as counteracting mechanisms may also occur.

Kontakt: jsauer@ukaachen.de

P2.2

Neu entwickelte HDAC-Inhibitoren mit stärker tumorspezifischer Wirkung induzieren Mitosestörungen in Urothelkarzinomzellen

Hanin Khatib^{1,2}, Fabian Fischer³, Leandro A. Alves Avelar³, Vera Thielges³, Sarah Meneceur^{1,2}, Thomas Kurz³, Günter Niegisch^{1,2}, Michèle J. Hoffmann^{1,2}

¹ Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

² Center für integrierte Onkologie (CIO) Düsseldorf, CIO Aachen-Bonn-Köln-Düsseldorf

³ Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Fragestellung: Vorarbeiten ergaben pharmakologische Inhibitoren von Klasse I Histondeacetylasen (HDACi) als neuen therapeutischen Ansatz für das Urothelkarzinom (UC). Neben epigenetischen Effekten auf die Transkription haben HDACi auch cytotoxische Wirkung und eignen sich dadurch für Therapie-Kombinationen. In dieser Arbeit wurden an der HHU neu entwickelte HDACi auf eine stärker tumorspezifische Wirkung im Vergleich zu kommerziellen HDACi wie Romidepsin untersucht und auf ihre Wirkung auf Replikation und Mitose. Hierdurch sollen neue Kombinationspartner wie z.B. Spindelgifte identifiziert werden.

Material und Methoden: 235 HDACi wurden in einem library screening an 5 UC-Zelllinien und benignen HBLAK-Zellen auf ihre tumorspezifische Wirkung untersucht. Top3 Kandidaten wurden mittels MTT-Test und Caspase-Test validiert. Die molekulare Wirkung auf DNA-Schadensinduktion, Mitose und Spindelkontrollpunkte wurde mittels Immunocytochemie für γ H2AX, p53BP1, AURKA/B, MAD2L1, BUB1, α -Tubulin, Actin, RAD51 und RPA nachgewiesen. Die Wirkung der Kombination von LAK13 mit dem Mitosehemmer Vinblastin auf die Zellviabilität wurde mittels MTT-Test bestimmt. Enzymspezifität wurde mittels Western Blot und in zellfreien Testsystemen bestimmt.

Ergebnisse: IC₅₀-Werte der HDACi LAK13, VTK36 und FFK190 lagen in UC-Zelllinien niedriger als in HBLAK (0.5-6 μ M). Alle HDACi induzierten Caspase 3/7-Aktivität zelllinienabhängig, jedoch nicht in HBLAK. Vergleichbar mit Romidepsin bewirkte LAK13 starke Zelltodinduktion. Mit den immunocytochemischen Färbungen konnten deutliche Veränderungen durch HDACi am Spindelapparat und bei der Cytokinese nachgewiesen werden. Die Kombination von LAK13 mit Vinblastin wirkte jedoch nicht synergistisch.

Schlussfolgerungen: Es konnten neue HDACi mit einer besser tumorspezifischen Cytotoxizität identifiziert werden. Durch die HDACi induzierte DNA-Schädigung und Mitosestörung ergeben sich neue Ansätze für Kombinationstherapien, die zukünftig untersucht werden.

Kontakt: hanin.khatib@hhu.de

P2.3

Identifizierung neuer Histondeacetylase-Inhibitoren mit verbesserter tumorspezifischer Wirkung zur Behandlung von Urothelkarzinom-Zellen

Fenny Tanjaya^{1,2}, Finn K. Hansen³, Katharina Stenzel⁴, Yodita Asfaha⁴, Sarah Meneceur^{1,2}, Thomas Kurz³, Günter Niegisch^{1,2}, Michèle J. Hoffmann^{1,2}

1 Klinik für Urologie, Medizinische Fakultät und Universitätsklinikum, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

2 Center für integrierte Onkologie (CIO) Düsseldorf, CIO Aachen-Bonn-Köln-Düsseldorf

3 Pharmazeutisches Institut, Pharmazeutische und Zellbiologische Chemie, Universität Bonn

4 Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Fragestellung: Chemotherapieresistenz ist ein großes klinisches Problem bei der Behandlung von Patienten mit Urothelkarzinomen (UC). Wir suchen epigenetische Inhibitoren für die Kombinationstherapie mit Cisplatin, die synergistisch wirken. In früheren Arbeiten haben wir kommerzielle Inhibitoren von Histondeacetylase (HDACi) wie Romidepsin als geeignet identifiziert, da diese auch auf die DNA-Schadensantwort wirken. In dieser Arbeit wurden an der HHU neu entwickelte HDACi auf bessere Eignung für den klinischen Einsatz untersucht; also Substanzen mit vergleichbarem Wirkmechanismus wie Romidepsin, aber niedrigerer Normaltoxizität.

Material und Methoden: Nach library screening von 5 UC-Zelllinien und benignen HBLAK-Zellen mit 235 HDACi wurden Top10 Kandidaten mittels MTT-Test validiert und Top3 mit stärker tumorspezifischer Wirkung identifiziert. Wirkung auf Zellzyklus und -Tod wurde mittels Durchflusszytometrie und Caspase-Test analysiert, auf die DNA-Schadensantwort mittels Western Blot, Immunocytochemie und RT-PCR. Synergistische Effekte wurden nach Chou Talalay berechnet. Enzymspezifität wurde mittels Western Blot und in zellfreien Testsystemen bestimmt.

Ergebnisse: IC50-Werte der HDACi DDK122, KSK43 und YAK40 lagen in UC-Zelllinien niedriger als in HBLAK. Alle HDACi induzierten G2/M-Arrest und Zelltod zelllinienabhängig, jedoch nicht in HBLAK. DDK122 bewirkte starke Effekte, die vergleichbar mit Romidepsin waren, auch auf die Expression von Regulatoren der DNA-Replikation und Zytokinese. Die Kombination von DDK122 mit Cisplatin reduzierte synergistisch die Zellviabilität.

Schlussfolgerungen: Die neuen HDACi, insbesondere DDK122, wirken stärker tumorspezifisch und synergistisch mit Cisplatin und sind somit vielversprechende Kandidaten für eine neuartige Kombinationstherapie des UC.

Kontakt: fenny.tanjaya@uni-duesseldorf.de

P2.4

Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen zur Prognoseaussage und zum Therapiemonitoring beim Prostatakarzinom

M. Enge¹, S. Borte², A. Hamza¹

¹ Klinik für Urologie und Andrologie, Klinikum St. Georg gGmbH Leipzig

² Klinikum St. Georg gGmbH, Medizinisches Zentrallabor, Leipzig

Hintergrund: Bei einigen Tumorarten sind die üblichen Serummarker wie der PSA-Wert beim Prostatakarzinom nicht immer optimal geeignet, um die Prognose von Patienten und die Wirksamkeit von Therapien (Operation, Chemotherapie, Bestrahlung, antihormonelle Therapie) einzuschätzen. Von daher sind wir auf der Suche nach weiteren messbaren Faktoren zur Prognose- und Therapieeinschätzung zur Steigerung der Patientensicherheit und Lebensqualität. Ein vielversprechender Ansatz ist die Bestimmung von im Blut zirkulierenden Tumorzellen. Zirkulierende Tumorzellen (CTCs) sind Zellen, welche sich von einem Primärtumor gelöst und im Blutkreislauf kursieren. Diese können in sekundäre Organe eindringen und sich dort einzeln oder als kleine Cluster ablagern. Aus ihnen können sich Metastasen entwickeln, die wieder zirkulierende Tumorzellen ins Blut freisetzen.

Methodik/Material: Zirkulierende Tumorzellen werden aus dem peripheren Blut mittels konventioneller Blutentnahme von 30 Prostatakarzinompatienten gewonnen. Da diese aber nur in sehr geringen Zahlenvorkommen, müssen sie zunächst aufgereinigt werden und können dann auf charakteristische Oberflächenmerkmale hin untersucht werden. Die Immunomagnetische Aufreinigung ist hier als Methode der Wahl zu betrachten. CTCs können weiter auf molekularer und damit genetischer Ebene untersucht werden. Hiermit eröffnet sich die Möglichkeit Resistenzen gegen eine eingeleitete Therapie nachzuweisen und somit frühzeitig einen Therapiewechsel anzustreben.

Ziel: Unser Ziel ist es, die CTC-Zahl als validen und besseren Biomarker im Vergleich zum bisher eingesetzten PSA klinisch zu etablieren. Wir versprechen uns davon eine verbesserte Aussage über die Prognose der Rezidiv- und Metastasenfreiheit und eine Optimierung des Therapiemonitorings.

Kontakt: michael.enge@googlemail.com

P2.5

Shikonin unterstützt eine Axitinib-basierte Therapie von Nierenzellkarzinomen in vitro additiv

Daniel Beus¹, Sascha D. Markowitsch¹, Thomas Efferth², Roman Blaheta¹, Olesya Vakhrusheva¹, Axel Haferkamp¹, Eva Jüngel¹

¹ Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

² Institut für Pharmazie und Biochemie, Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Einleitung: Die Therapierbarkeit des metastasierten Nierenzellkarzinoms (NZK) ist durch auftretende Therapieresistenzen limitiert. Shikonin, ein Wirkstoff aus der Traditionellen Chinesischen Medizin, konnte beim NZK bereits antitumorale Effekte induzieren. In der vorliegenden Studie wurde daher der Einfluss einer chronischen Kombinationsbehandlung mit Shikonin und Axitinib auf das progressive Wachstum von NZK-Zellen evaluiert.

Material und Methode: Die NZK-Zelllinien Caki-1 und 786-O wurden kurz (1-3 Tage) oder chronisch (12 Wochen) mit Axitinib und/oder Shikonin behandelt. Wechselwirkungen von Axitinib und Shikonin in naiven NZK-Zellen wurden in Isobologrammen erfasst. Nach den chronischen Behandlungen wurde das Zellwachstum, der Zellzyklus und die Expression zellzyklusregulierender Proteine evaluiert. Weiterhin wurde untersucht, ob Axitinib und/oder Shikonin regulierte Zelltode induzieren.

Ergebnisse: Axitinib in Kombination mit Shikonin wirkte in den NZK-Zellen zelltypabhängig additiv. Die NZK-Zellen, die chronisch mit Axitinib und Shikonin behandelt wurden, zeigten eine verstärkte, signifikante Wachstumsinhibition im Vergleich zu den nur mit Axitinib vorbehandelten Zellen. Die Kombinationsbehandlung induzierte einen G2/M-Phase-Arrest des Zellzyklus, dies ging mit Modulationen zellzyklusregulierender Proteine einher. Zudem wurde signifikant die Apoptose durch die Kombinationsbehandlung induziert. Eine Beteiligung des pro-apoptotischen Proteins RIP1 konnte durch Blockadestudien nachgewiesen werden.

Schlussfolgerung: Die Effekte der Axitinib/Shikonin-Behandlung waren additiv und hielten über die Zeit an. Shikonin könnte somit eine vielversprechende integrative Substanz für die Therapie fortgeschrittener NZK darstellen. Weiterführende Analysen müssen dies verifizieren.

Kontakt: dbeus@students.uni-mainz.de

P2.6

Entwicklung und initiale Evaluation Infigratinib-freisetzender Seeds als therapeutische Option für die lokale Therapie von nicht-muskelinvasivem Urothelkarzinomen der Harnblase (NMIBC)

Moritz Maas^{1,2}, Moritz Reike^{2,3}, Kai Yu⁴, Henning Bahlburg^{2,3}, Amy Wang², Alberto Contreras-Sanz², Igor Moskalev², Dirk Lange², Jay Kizkhakkedathu^{4,5,6,7}, Peter Black²

1 Universitätsklinikum Tübingen, Abteilung für Urologie, Tübingen

2 University of British Columbia, Vancouver Prostate Centre, Department of Urologic Sciences, Vancouver, CA

3 Marien Hospital Herne - Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum, Klinik für Urologie, Herne

4 University of British Columbia, Department of Pathology and Lab Medicine, Vancouver, CA

5 University of British Columbia, Centre for Blood Research, Vancouver, CA

6 University of British Columbia, School of Biomedical Engineering, Vancouver, CA

7 University of British Columbia, Department of Chemistry, Vancouver, CA

Fragestellung: Wiederholte Resektionen machen nicht-muskelinvasive Urothelkarzinome der Harnblase (NMIBC) zur Herausforderung für Patienten und das Gesundheitssystem. Die intravesikalen Therapieoptionen beschränken sich auf Chemotherapeutika und BCG, womit die hohe Rate an aktivierenden FGFR3 Mutationen in NMIBC bislang therapeutisch ungenutzt bleibt. Systemische Therapieansätze mit FGFR-Inhibitoren (FGFRi) sind bislang auch aufgrund der hohen Nebenwirkungsrate auf Studien beschränkt. Ziel unserer Studie war daher die Entwicklung eines intravesikalen Therapieansatzes mit speziellen, mit dem FGFRi Infigratinib (Infb) beschichteten Titan-Seeds.

Material & Methode: Titan-Seeds wurden gemäß einer standardisierten Beschichtungsmethode (PMID 34328312) mit Infb beschichtet. Die Fähigkeit der Seeds zur Infb-Freisetzung in H₂O und Zellkulturmedium wurde mittels Flüssigchromatographie evaluiert. Die antiproliferative Wirksamkeit des freigesetzten Infb wurde in vitro an FGFRi-sensitiven (RT112) sowie -resistenten (UC13) Blasenkarzinomzelllinien mit frisch hergestellter Infb Lösung verglichen. Die in vivo Effektivität wurde mittels subkutaner Tumore in 80 NSG Mäusen evaluiert.

Ergebnisse: Eine adhäsive, Infb zuverlässig freisetzende Beschichtung konnte erfolgreich hergestellt werden und zeigte eine Infb-Freisetzung über einen Zeitraum von insgesamt 8 Wochen. Das freigesetzte Infb zeigte sich biologisch aktiv und führte zu einer statistisch signifikanten Wachstumshemmung in FGFRi sensitiven, jedoch nicht in FGFRi resistenten Blasenkarzinomzellen. Diese war dabei vergleichbar mit der einer 10 µM frisch zubereiteten Lösung. Die in vivo Daten konnten diese Beobachtungen bislang nicht bestätigen.

Schlussfolgerung: Unsere Ergebnisse belegen eine erfolgreiche Freisetzung biologisch aktiven Infbs aus der Beschichtung von Titan-Seeds in antiproliferativen Dosen. Die in vitro beobachtete Wachstumshemmung lässt sich jedoch bislang nicht in vivo bestätigen, wobei eine detailliertere Analyse dieser Daten noch aussteht.

Kontakt: moritz.maas@med.uni-tuebingen.de

V6.1

Resistance to darolutamide in prostate cancer cells in vitro correlates with EZH2-mediated, increased global level of histone modification H3K27me3 and is mediated by Hedgehog signaling

[Pia Schmidt](#)¹, Matthias Podehl¹, Florian Wegwitz², Sammy Okutoyi¹, Marina Bertlich^{1,3}, Annemarie Uhlig¹, Marion Striepe¹, Lutz Trojan¹, Oliver Hahn^{1,4}

¹ Department of Urology, University Medical Center Göttingen

² Department of Gynecology and Obstetrics, University Medical Center Göttingen

³ Department of Urology and Pediatric Urology, University Medical Center Bonn

⁴ Department of Urology, University Medical Center Würzburg

Question: Darolutamide is a new anti-androgen currently being introduced in the treatment of hormone-sensitive prostate cancer (PC). Despite significant improvements in patient survival, resistance to such second-generation drugs arises inevitably. Here, we investigated the epigenetic mechanisms underlying the acquisition of darolutamide resistance in PC cells in vitro.

Material and methods: VCaP cells were treated with increasing darolutamide concentrations to reach resistance. To determine transcriptome and epigenome changes in parental and darolutamide-resistant cells (DARORes), we performed high-throughput mRNA- and chromatin immunoprecipitation-sequencing. Integrative bioinformatics analyses of these datasets identified potential effector pathways.

Results: In our experiments, we detected a global epigenetic switch characterized by a genome-wide increase and relocation of the histone mark H3K27me3 in DARORes cells. Interestingly, DARORes cells harbored higher levels of the Polycomb repressive complex 2 subunit EZH2 as well as a strong enrichment of H3K27me3 at androgen receptor binding sites, suggesting an implication of both factors. Further transcriptome analyses established the Hedgehog signaling as a potential effector pathway under the control of this epigenetic mechanism. GLI1/2/3 reporter assays confirmed increased Hedgehog signaling activity in DARORes cells. Accordingly, treatment of DARORes cells with Hedgehog inhibitor Vismodegib severely impaired the viability of the cells.

Conclusion: Our results suggest EZH2 and the Hedgehog signaling as attractive therapeutic targets for castration-resistant prostate cancer after using darolutamide in first-line treatment. Further research is needed to clarify the underlying mechanisms.

Kontakt: pia.schmidt@stud.uni-goettingen.de

V6.2

Remodelling of the tumour microenvironment by mutant p53(mutp53) in bladder cancer

Mandal S, Reimold P, Derigs M, Aksoy C, Huber J, Evangelos P

Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg

Background and objective: p53, the most frequently mutated gene across all cancers. Commonly, these are missense mutations which disrupt its tumour suppressor function. Simultaneously these mutations endow the protein with novel oncogenic properties, which actively promote tumour aggressiveness, limiting patient survival. Oncogenic effectors of mutp53 are therefore attractive therapeutic targets for a broad spectrum of cancer patients. In this project we focus on investigating the precise involvement of various p53 „hotspot“ mutants on the regulation of the bladder cancer tumour microenvironment.

Methodology: Using the CRISPR/Cas9 technology or siRNA-mediated gene silencing, we created several mutp53 knockout (KO) bladder cancer cell lines (RT112, 5637, HT1376). We then conducted comparative whole-cell proteomic and secretomic analyses between KO and parental cells, by means of mass spectrometry. The data was further analysed by gene set enrichment analysis (GSEA) and validated in commercial cytokine arrays, western blots, and flow cytometry. Functional analysis, will be done in vitro in co-culture models and cell-based assays and findings will finally be validated in patient samples for suitable therapeutic approaches.

Results: Preliminary data shows multiple dysregulated proteins in KO cells to parental cells. Some of the most dysregulated proteins are: the proinflammatory cytokines osteopontin and lipocalin 2, the anti-tumorigenic cytokine ST2, the TGF- β signalling blocker and adhesion molecule Endoglin, the EMT-related transcription factor E2F3 and the pro-tumorigenic signal-inducer YWHAZ.

Conclusion: Even though our research is still at initial stages, our large-scale data provides valuable insights on the dynamic regulation of the tumour cell microenvironment through mutp53. We expect to uncover novel mutp53 gain-of-function processes via distinct mechanisms, that will provide clinically relevant therapeutic vulnerabilities.

Kontakt: drsubhajitmandal89@gmail.com

V7.1

Ein Funke der Hoffnung im Kampf gegen Prostatakrebs: der Photosensibilisator WB692 induziert Pyroptose während der Photoimmuntherapie

Wolf I1,2,3, Storz J4, Eßer P2,5, Schultze-Seemann S1,2, Martin S2,5, Fischer P6,7, Gratzke C1,2, Brückner R4, Wolf P1,2

1 Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Freiburg i.Br.

2 Medizinische Fakultät, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

3 Fakultät für Biologie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

4 Institut für Organische Chemie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

5 Forschungsgruppe Allergologie, Klinik für Dermatologie, Universitätsklinikum Freiburg i.Br.

6 Max Planck Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg

7 Institute for Molecular Systems Engineering and Advanced Materials, Universität Heidelberg

Prostatakrebs ist weltweit eine der am häufigsten auftretenden malignen Erkrankungen bei Männern. Angesichts dieser epidemiologischen Herausforderung sind die Entwicklung und Erforschung innovativer therapeutischer Strategien von größter Bedeutung. Die Photoimmuntherapie (PIT) stellt einen vielversprechenden Ansatz dar, bei dem die Spezifität von Antikörpern mit der Zytotoxizität von lichtaktiverbaren Photosensibilisatoren kombiniert wird.

Im Rahmen dieser Studie wurde unser Phthalocyanin-Fluoreszenzfarbstoff WB692 erstmalig als potenzieller Photosensibilisator für die PIT evaluiert.

Zunächst erfolgte die kovalente Konjugation von WB692 an einen Antikörper, der spezifisch das Prostata-spezifische Membranantigen (PSMA) auf Prostatakrebszellen erkennt. Das resultierende Antikörper-Photosensibilisator-Konjugat (APK) zeigte eine hohe Affinität und Selektivität für PSMA-exprimierende Prostatakrebszellen. Im Anschluss wurde die Fähigkeit des APKs Zelltod nach PIT auszulösen analysiert. Durch die Bestrahlung mit harmlosem nahinfrarotem Licht (690 nm) konnte das APK eine dosis- und zeitabhängige Zytotoxizität in den Krebszellen induzieren, während Kontrollzellen unbeeinflusst blieben. Bemerkenswert war, dass die Zellen nach PIT morphologischen Veränderungen aufwiesen, die mit Pyroptose in Verbindung gebracht werden konnten, darunter Zellschwellung und Membranruptur. Mechanistische Untersuchungen zeigten die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in den Zellen, die eine Kaskade intrazellulärer Ereignisse auslösten, darunter die Aktivierung von Caspase-1, die Spaltung von Gasdermin D und die anschließende Freisetzung von zellulärem Inhalt nach Membranruptur.

Zusammenfassend zeigt unsere Studie das Potenzial von WB692 während der PIT Pyroptose auszulösen, was nicht nur zum gezielten Zelltod der Krebszellen führt, sondern durch die Freisetzung immunogener Zellbestandteile möglicherweise auch die Immunantwort gegen Prostatakrebs verstärkt.

Kontakt: isis.wolf@uniklinik-freiburg.de

V7.2

Photoimmuntherapie des Prostatakarzinoms mit anti-PSMA Antikörpern und Antikörperfragmenten
Sarah Waibel^{1,2}, Isis Wolf^{1,2,3}, Susanne Schultze-Seemann^{1,2}, Christian Gratzke^{1,2}, Jonas Storz⁴,
Reinhard Brückner⁴, Philipp Wolf^{1,2}

1 Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Freiburg i.Br.

2 Medizinische Fakultät, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

3 Fakultät für Biologie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

4 Institut für Organische Chemie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

Fragestellung: Herkömmliche Therapien des Prostatakarzinoms weisen entscheidende Nachteile auf, wie beispielsweise das Verbleiben von Tumorzellen im Operationsgebiet nach radikaler Prostatektomie. Ziel der Arbeit war die Etablierung eines neuen Ansatzes der hochspezifischen Photoimmuntherapie, die sich insbesondere zur intraoperativen Eradikation residueller Tumorzellen eignet.

Material & Methoden: Dazu wurde der neu entwickelte zytotoxische Farbstoff WB692 über Cysteine an den anti-PSMA Antikörper h3/F11A118C/D265C gekoppelt. Aus den Antikörper-Farbstoff-Konjugaten wurden in einem nächsten Schritt FabA118C-Farbstoff-Konjugate generiert. Es folgte die in vitro Testung der durch Rotlicht induzierten Zytotoxizität beider Konjugate auf den PSMA-positiven Prostatakarzinomzelllinien LNCaP, C4-2 und PC3-PSMA. Zur näheren Charakterisierung des Zelltods wurden Mikroskopieaufnahmen angefertigt sowie eine AnnexinV-Propidiumiodid-Färbung und ein Western Blot zum Nachweis von Apoptosemarkern durchgeführt.

Ergebnisse: Die Photoimmuntherapie mit h3/F11A118C/D265C-WB692 zeigte eine spezifische und signifikante Zytotoxizität in den PSMA-positiven Prostatakarzinomzellen. Erstmals konnte die Photoimmuntherapie erfolgreich mit Fab-Farbstoff-Konjugaten durchgeführt werden, die im Vergleich zu Vollantikörpern eine bessere Mikrodistribution im Tumor haben könnten. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass es sich bei dem durch Photoimmuntherapie induzierten Zelltod nicht um Apoptose, sondern höchstwahrscheinlich um eine Form des Immunogenen Zelltods handelt.

Schlussfolgerungen: Zusammenfassend stellt die Photoimmuntherapie mit unserem Farbstoff WB692 zur intraoperativen Entfernung residueller Tumorzellen eine aussichtsreiche Behandlungsmethode dar, die ein gewebeschonenderes Operieren ermöglicht und ein immunologisches Gedächtnis induziert, das zur Reduktion von Rezidiven und Metastasen des Prostatakarzinoms beiträgt.

Kontakt: sarah-seitzer@web.de

V7.3

Photoimmuntherapie des Harnblasenkarzinoms

Fabian Huber^{1,2}, Isis Wolf^{1,2,3}, Lukas Klemenz^{1,2}, Susanne Schultze-Seemann^{1,2}, Christian Gratzke^{1,2}, Jonas Storz⁴, Reinhard Brückner⁴, Philipp Wolf^{1,2}

1 Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Freiburg i.Br.

2 Medizinische Fakultät, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

3 Fakultät für Biologie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

4 Institut für Organische Chemie, Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i.Br.

Fragestellung: Die weltweit hohe Inzidenz, die nach wie vor hohen Rezidivraten und die enormen Behandlungskosten stellen große Herausforderungen in der Therapie des Harnblasenkarzinoms dar. Die Entwicklung neuer innovativer Ansätze zur anhaltenden Tumorkontrolle ist daher von elementarer Bedeutung. Die Photoimmuntherapie (PIT) gilt als vielversprechende zukünftige Tumorthherapie. Bei ihr werden Konjugate aus tumorspezifischen Antikörpern mit zytotoxisch wirkenden Photosensitizer-Farbstoffen verwendet, die durch Bestrahlung mit Licht aktiviert werden können. Das Ziel dieser Forschungsarbeit bestand darin, die PIT mittels des neuen Phthalocyanin-Farbstoffes WB692-CB1 für die Anwendung am Harnblasenkarzinom zu etablieren.

Material & Methoden: Hierfür wurden modifizierte Varianten der Antikörper Cetuximab und Trastuzumab rekombinant hergestellt und mit WB692-CB1 konjugiert. Die spezifische Bindung der Antikörper-Farbstoff-Konjugate (AFK) an EGFR sowie HER2 wurde durchflusszytometrisch verifiziert. Anschließend erfolgte die Evaluation der PIT mit den neu konjugierten AFK jeweils einzeln und in Kombination auf Blasenkrebszellen.

Ergebnisse: Es konnte eine spezifische Bindung der neuen AFK an EGFR positive bzw. HER2 positive Blasenkrebszellen nachgewiesen werden. Nach Vorbehandlung der Zellen mit den AFK konnte durch Bestrahlung mit harmlosem Rotlicht (690 nm) eine dosis-abhängige Zytotoxizität hervorgerufen werden, während die Antigen-negativen Kontrollzellen nicht betroffen waren. Auf Zellen mit Koexpression von EGFR und HER2 führte die Kombination beider AFK zu additiven zytotoxischen Effekten.

Schlussfolgerungen: Die PIT stellt durch den spezifisch induzierbaren Zelltod sowie der additiven Kombination verschiedener AFK eine vielversprechende Option für die künftige Therapie des molekular heterogenen Harnblasenkarzinoms dar, mit dem Tumorzellen angegriffen und gleichzeitig das umliegende Gewebe geschont werden kann.

Kontakt: fabian_huber@aol.com

V8.1

Prediction of response by B cell axis in patients with metastatic urothelial cancer receiving PD-L1 inhibition therapy

Laila Schneidewind^{1,2}, Uwe Grunwald², Thomas Neumann², Oliver W. Hakenberg¹, Bernhard Kiss³

1 University Medical Center Rostock, Dept. of Urology, Rostock

2 University Medical Center Greifswald, Internal Medicine C, Greifswald

3 University Hospital Bern, Inselspital, Dept. of Urology, Bern, CH

Introduction: Cancer immunotherapy is predominately based on T cell-mediated approaches, but the adaptive immune response also includes effector B cells that participate in the antigen-specific reactions. Furthermore, data about tumor immunology in metastatic urothelial cancer (UC) mostly arise from retrospective studies or focus only on tumor microenvironment. However, immune cells from the peripheral blood are easy to access. Consequently, we performed a prospective pilot study about cellular immunity in patients with metastatic urothelial UC receiving PD-L1 inhibition therapy.

Methods: A prospective clinical non-interventional study about cellular immune phenotyping of peripheral blood via FACS in patients with metastatic UC was started and all relevant clinical data were collected at the start of therapy and then after 3 months.

Results: Twenty-one patients with a median age of 69.0 years (IQR 64.0 – 82.5) were included. Thereof, 17 patients (81.0%) received pembrolizumab and 4 (19.0%) avelumab. Nine patients (42.9%) had an overall response (ORR). Regarding RECIST criteria v1.1 5 (23.8%) had complete response, 4 (19.0%) partial response, 5 (23.8%) stable disease and 6 (28.6%) progressive disease, respectively. At start of therapy, the median percentage of B cells from lymphocytes was 7.6 (IQR 5.3 – 11.2) and the median percentage of plasmablasts from B cells was 5.7 (IQR 1.3 – 12.1). Relative shortage of B cells (lower than 5.9%) and high plasmablasts in peripheral blood (more than 1%) were significantly associated with no ORR ($p=0.031$; $p=0.049$). Interestingly, this finding was independent from therapy line.

Conclusions: Relative shortage of B cells and high percentage of plasmablasts in peripheral blood might predict poor response to immunotherapy in UC.

Kontakt: laila.schneidewind@uni-greifswald.de

V8.2

Digital Spatial Profiling to interrogate topological niches in prostate cancer

Ann-Kathrin Huber¹, Adam Kaczorowski¹, Felix Schneider¹, Sarah Böning¹, Magdalena Görtz², Albrecht Stenzinger³, Markus Hohenfellner², Anette Duensing⁴, Stefan Duensing¹

¹ Molecular Urooncology, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

² Department of Urology, University Hospital Heidelberg, Heidelberg

³ Institute of Pathology, University Hospital Heidelberg

⁴ Precision Oncology of Urological Malignancies, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

Background: Prostate cancer is characterized by a high degree of intra- and intertumoral heterogeneity. However, little is known about the spatial distribution of prostate cancer clones with certain functional characteristics such as the propensity to cause malignant progression and to metastasize. In the present proof-of-concept study, we use the novel method of Digital Spatial Profiling (DSP) to investigate protein expression in the tumor center and periphery as prominent topological niches.

Methods: Nanostring GeoMx® DSP was used to analyze five patients for the expression of 47 proteins using four profiling modules (immune cells, PI3K-AKT, MAPK and cell death). A total of 37 regions of interest (ROIs) from the tumor center and periphery were analyzed, leading to a total of 1,739 data points. Significantly up- or downregulated proteins were identified using linear mixed models. Validation was performed in vitro and in vivo with immunohistochemistry and viability as well as colony formation assays in LNCaP, PC-3 and NIH/3T3 cells after transfection with siRNA duplexes or plasmid DNA, respectively. The impact on patient prognosis was assessed by an analysis of the progression free survival in a cohort of 163 mostly high-risk prostate cancer patients.

Results: DSP revealed the Bcl-2 family protein BAD as the most significantly upregulated protein in the tumor center when compared to the tumor periphery. The pattern of BAD expression observed by DSP was reproducible by immunohistochemistry. SiRNA-mediated knockdown of BAD in LNCaP and PC-3 cells decreased cell viability and colony formation. Conversely, overexpression of murine BAD increased cell viability and colony formation in NIH/3T3 cells. High BAD expression was associated with a shorter time to biochemical recurrence ($p=0.053$) in prostate cancer patients.

Conclusion: Our results suggest the tumor center as a topological niche with high expression of BAD, which could drive prostate cancer progression. Targeting BAD may be a promising strategy for future therapeutic intervention to improve patient outcome.

Kontakt: ann-kathrin.huber@stud.uni-heidelberg.de

V8.3

Digital Spatial Profiling identifies loss of INPP4B as a novel feature of Neuroendocrine Prostate Cancer
David Langhoff¹, Steffen Kohlmann¹, Sarah Böning¹, Felix Schneider¹, Adam Kaczorowski¹, Cathleen Nientiedt³, Albrecht Stenzinger², Markus Hohenfellner⁴, Anette Duensing⁵, Stefan Duensing¹

¹ Molecular Urooncology, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

² Institute of Pathology, University Hospital Heidelberg

³ Department of Medical Oncology, National Center for Tumor Diseases (NCT), University Hospital Heidelberg

⁴ Department of Urology, University Hospital Heidelberg

⁵ Precision Oncology of Urological Malignancies, Department of Urology, University Hospital Heidelberg

Introduction: While treatment-emergent neuroendocrine prostate cancer (NEPC) is relatively well understood, very little is known about the prognostic impact and the underlying biology of areas with neuroendocrine (NE) features found in primary prostate cancer. In the present study we used high plex multi-region digital spatial profiling (DSP) to identify novel proteins and pathways involved in NE differentiation in primary prostate cancer.

Patients and Methods: The prognostic role of NE foci in primary prostate cancer was analyzed in a cohort of 51 patients. Primary endpoint was biochemical progression-free survival (BPFS). Protein-based DSP using the NanoString GeoMx platform was performed on five tumors in which focal NE differentiation was present. Regions of interest were selected according to synaptophysin (SYP) expression by cognitive fusion. Four antibody modules comprising 53 targets were applied across 59 regions of interest, giving rise to 3,127 data points. Validation experiments included immunohistochemistry (IHC), induction of NE differentiation in LNCaP cells using charcoal stripped FBS or enzalutamide as well as transfections and RNA sequencing.

Results: A high expression of NE markers was associated with significantly shorter BPFS. DSP analysis revealed two differentially expressed proteins across all tumors: an increase of CD56 (confirming neuroendocrine features) and downregulation of INPP4B, an inhibitory regulator of the PI3K/AKT pathway. Decreased expression of INPP4B was confirmed by IHC. Induction of NE differentiation in LNCaP cells yielded robust increases of NE marker and a simultaneous downregulation of INPP4B. RNA sequencing after siRNA knockdown of INPP4B shows significant upregulation in several candidate genes previously described in the context of PI3K/AKT activation.

Conclusion: Using DSP, we identified downregulation of INPP4B as a novel feature of NE differentiation in primary prostate cancer. Therapeutic targeting of the PI3K/AKT axis may be a promising approach to improve prognosis in these patients.

Kontakt: davidlanghoff@icloud.com

V8.4

First Proof-of-Concept of theranostic instillation therapy approaches for Muscle invasive bladder cancer patients within the Bladder BRIDGister study group

D. Barski¹, R.M. Wirtz², 7, 12, L. Kastner³, P.C. Voß⁴, F. Friedersdorff^{4,5}, T. Otto¹, M. Waldner⁶, E. Veltrup², F. Linden², M. Schwandt², R. Hake⁷, S. Eidt⁷, J. Roggisch⁸, C. Rieger³, S. Koch^{8,9}, T.H. Ecke^{4,10}, A. Heidenreich³, L. Greifenstein¹¹, R.P. Baum^{11,12}

1 Dpt. of Urology, Rheinlandklinikum, Neuss

2 STRATIFYER Molecular Pathology GmbH, Köln

3 Dpt. of Urology, University Clinic Cologne, Urology, Cologne

4 Dpt. of Urology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Corporate Member of Freie Universität, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Berlin

5 Dpt. of Urology, Evangelisches Krankenhaus Königin Elisabeth Herzberge, Berlin

6 Dpt. of Urology St. Elisabeth Hospital, Cologne

7 Institute of Pathology at the St. Elisabeth Hospital, Köln

8 Institute of Pathology, HELIOS Hospital, Bad Saarow

9 Brandenburg Medical School, DE-14770 Brandenburg

10 Department of Urology, HELIOS Hospital, Bad Saarow

11 CURANOSTICUM Wiesbaden-Frankfurt, Wiesbaden

12 ICPO Foundation, Ravensburg

Background: Patients with muscle invasive urothelial carcinoma achieving pathological complete response (pCR) upon neoadjuvant chemotherapy (NACT) have improved prognosis. Previously we did show that lumina tumors respond better to NACT, while FGFR1 expression is associated with chemo resistance. Interestingly the expression of the radioligand targets CXCR4 and FAP is found chemoresistant, stroma-associated tumors. The objective of this study was to prospectively validate the predictive value of molecular target typing from TUR biopsy tissue samples and to assess CXCR4 & FAP radioligand instillation imaging and therapy in selected patients of the „Bladder BRIDGister“ to justify subsequent adopted clinical trials.

Methods: Formalin fixed paraffin embedded (FFPE) tissues from transurethral resections (TUR) before chemotherapy and cystectomy samples after NACT of 36 patients were retrospectively collected and 650 TURB samples were prospectively collected as part of the Bladder BRIDGister. RNA from FFPE tissues were extracted by commercial kits, relative gene expression of subtyping markers (KRT5, KRT20, FGFR1) and radioligand target genes (CXCR4, FAP) were analyzed by standardized RT-qPCR systems (STRATIFYER Molecular Pathology GmbH, Cologne). Hierarchical clustering, Kruskal-Wallis, chi square and contingency tests were done by JMP 9.0.0 (SAS software). PET/CT Imaging by CXCR4 instillation was performed after completion of cisplatin based NACT. FAP treatment was performed subsequently by instillation +/- systemic application.

Results: The neoadjuvant cohort consisted of 36 patients (median age: 69, male 83% vs. female 17%) with 92% of patients being histopathologically node negative. Hierarchical clustering revealed that CXCR4 and FAP are elevated in stromal rich, KRT5 & KRT20 negative tumors not responding to NACT. Elevated FAP above median mRNA expression was significantly associated with resistance to NACT (chi² 4.314 p=0,0378). Combining elevated FAP and CXCR4 mRNA expression did identify 28% of the patients to be at high risk of NACT resistance (90%). TUR biopsies from MIBC patients undergoing NACT were molecularly analyzed for subtype and radioligand expression. Exemplarily one pT2 G3 MIBC patient was selected for PET/CT imaging after two cycles that was predicted to be unresponsive to NACT. As CXCR4 radioligand imaging is associated with hematologic toxicity we instilled ⁶⁸Ga CXCR4 and did see tumor specific uptake into the chemotherapy-resistant MIBC invading the adjacent soft tissue. Subsequent instillation and systemic therapy cycles with ¹⁷⁷Lu-FAP also revealed strong uptake into the invading MIBC and a newly developed cancer site the bladder. TURB after the second theranostic cycle revealed partial tumor response and increased immune cell infiltration indicating initial effectiveness of radioligand therapy approaches in chemotherapy resistant MIBC.

Conclusions: Expression of the radioligand targets CXCR4 and FAP has been shown to be associated with aggressive stromal associated tumors and being resistant to NACT. This could be validated by selecting patients for FAP & CXCR4 PET/CT imaging. Instillation of radioligands into the bladder revealed to be safe and effective for imaging and therapy in patients being unresponsive to standard chemo- or immune therapies.

Kontakt: dimitri.barski@rheinlandklinikum.de

V8.5

Untersuchung von mitochondrialen Funktionsstörungen der Skelettmuskulatur von sarkopenen Patienten die sich aufgrund eines Urothelkarzinoms einer radikalen Zystektomie unterziehen

Simon Engelmann¹, Sonja Decking², Maximilian Burger¹, Kathrin Renner-Sattler², Roman Mayr¹

¹ Klinik für Urologie, Caritas Krankenhaus St. Josef, Regensburg

² Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Universitätsklinikum Regensburg

Fragestellung: Sarkopenie ist mit geringerem gesamt und krebspezifischem Überleben bei Patienten mit einem Urothelkarzinom assoziiert. Der Zusammenhang zwischen Muskelmasse und Muskelfunktion wurde noch nicht ausreichend untersucht. Unsere Studie befasst sich mit der Frage: Haben sarkopene Patienten mit einem Urothelkarzinom eine mitochondriale Funktionsstörung?

Material & Methoden: In dieser prospektiven Studie wurden Patienten eingeschlossen, die im Zeitraum von Februar 2023 bis September 2023, eine radikale Zystektomie im Caritas Krankenhaus St. Josef, Regensburg erhalten haben. Im Rahmen der OP erfolgte die Probenentnahme von je ca. 0,5g M. rectus abdominis und M. psoas. Zur funktionellen Untersuchung der Mitochondrien wurde eine hochauflösende Respirometrie anhand eines Oxygraphen (OROBOROS 02K) durchgeführt. Zur Bestimmung des ‚Skeletal Muscle Index‘ (SMI) erfolgte die Flächenmessung der Skelettmuskulatur auf Höhe LWK3 in der präoperativen Computertomographie. Es erfolgte zudem eine histologische Aufarbeitung der Muskelproben.

Ergebnisse: Es wurden 15 (75%) Männer und 5 (25%) Frauen mit einem medianen Alter von 74 Jahren (62-77 IQR) in unsere Studie eingeschlossen. Acht (40%) der Patienten waren sarkopen, definiert nach Martin et al. Im M. psoas zeigte sich bei den sarkopenen Männern eine reduzierte respiratorische Kapazität in der oxidativen Phosphorylierung (OxPHOS; $p=0.03$) und im Elektronen Transfer System (ETS; $p=0.05$).

Schlussfolgerungen: Sarkopene Männer mit einem Urothelkarzinom haben eine mitochondriale Funktionsstörung in gewissen Bereichen der Atmungskette. Ein Ausblick: Die Patientenrekrutierung wird fortgesetzt, die histologische Auswertung der Muskelfaserflächen folgt und Patientenserum wird auf Biomarker untersucht.

Kontakt: sengelmann@csj.de

P3.1

Identification of epigenetically regulated genes during squamous bladder cancer development

Julia Wirtz¹, Lisa Leuchtenberg¹, Lancelot Seillier¹, Lin Gan², Per Hoffmann³, Stefanie Heilmann-Heimbach³, Michèle J Hoffmann⁴, Danny D Jonigk^{1,5}, Michael Rose^{1,6#}, Nadine T Gaisa^{1,6#}

¹ Institute of Pathology, Medical Faculty of the RWTH Aachen University

² IZKF Aachen, Medical Faculty of the RWTH Aachen University

³ LIFE & BRAIN GmbH, Bonn

⁴ Department of Urology, Medical Faculty, Heinrich-Heine University Düsseldorf

⁵ German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

⁶ Institute of Pathology, Medical Faculty of Ulm University

Equal co-senior authors

Background: In this study we aimed to identify a set of epigenetically regulated genes, acting as putative oncogenic drivers in squamous differentiated bladder cancers.

Methods: Matched samples of normal urothelium (NU), squamous metaplasia (Sq-Met) and squamous cell carcinoma (SCC) from n=3 bladder cancer patients were profiled in transcriptome (HTA2.0) and methylome (EPIC) arrays. Normal epithelial HBLAK cells were differentiated into a basal cell type by calcium induction and profiled for the methylome and transcriptome. Gene expression analyses were performed by qRT-PCR and methylation status was determined by pyrosequencing. Validation was examined on a human tissue cohort of NU, Sq-Met, and SCC (overall n=30) and the TCGA BLCA-dataset.

Results: SBSN, SLC10A6, SDR9C7, DSG1, SPRR2D, A2ML1, and CRCT1 were identified showing an upregulation between both, NU to Sq-Met and NU to SCC transition, with stronger effects during early cell differentiations. All genes underwent promoter hypomethylation. HBLAK cells acting as a model for squamous differentiation validated these results including suprabasin (SBSN). Prioritized SBSN was upregulated 5.4-fold (adj.p<0.01) between NU and Sq-Met, 7.5-fold during HBLAK differentiation (adj.p<0.001) but only 2.9-fold (adj.p=ns) between NU and SCC, according to promoter hypomethylation by 0.2-, 0.3- and 0.1-fold, respectively.

Conclusions: We identified a set of genes, all known to be involved in squamous/keratinocytic differentiation, that appear to be upregulated and hypomethylated during Sq-Met and tumor progression. Further analyses of this gene set will likely provide new insights into regulatory processes of NU to Sq-Met phase transition in squamous bladder cells.

Kontakt: jwirtz@ukaachen.de

P3.2

Functional impact of (epi)genetically regulated HOXA genes on early and late stages of urothelial carcinoma development

Cathrin Zimmermann¹, Julia Sturm¹, Lancelot Seillier¹, Franziska C. Lammert¹, Danny Jonigk^{1,2}, Nadine T. Gaisa^{1,3,#}, Michael Rose^{1,3,#}

¹ Institute of Pathology, RWTH Aachen University Hospital

² German Center for Lung Research, DZL, BREATH, Hanover

³ Institute of Pathology, University Hospital, University of Ulm

contributed equally to this work

Introduction: In previous work we identified the amplification of a chromosomal locus comprising the Homeobox A (HOXA) gene cluster in invasive branches of phylogenetic trees of bladder cancers. However, TCGA data revealed heterogeneous expression patterns pointing also on loss of HOXA gene expression potentially involving epigenetic regulation. Therefore, we aimed to study expression and DNA methylation of HOXA candidates, as well as the functional role of selected HOXA genes in early and late stages of urothelial cancer cells in vitro.

Methods: TCGA data were screened for HOXA gene expression and promoter methylation. Tissues of urothelial carcinomas (UC, n=20) and normal urothelium (Nu, n=20) were used to extract RNA and DNA to initially perform RT-qPCR. DNA methylation of HOXA candidates was determined by bisulfite-pyrosequencing. AZA-TSA de-methylation experiments were performed to functionally confirm promoter hypermethylation as molecular mechanism of gene regulation in vitro. HOXA1 and HOXA11 genes were overexpressed in urothelial cancer cell lines (BFTC905, EJ28, HBLAK) to functionally analyze cell growth, colony formation and migration.

Results: TCGA data showed increased HOXA1 expression associated with unfavorable prognosis in bladder cancer whereas HOXA11 and HOXA13 tend to be downregulated. Concurringly, their promoter regions were characterized by hypermethylation. RT-qPCR demonstrated HOXA1 upregulation in a subgroup of urothelial carcinomas, whereas HOXA11 and HOXA13 were downregulated compared to normal urothelium. In vitro, HOXA1 overexpression led to enhanced growth rate and colony formation ability, whereas HOXA11 overexpression is expected to cause opposite effects.

Discussion: HOXA genes likely play an important but also contrary role in urothelial carcinoma development. The knowledge of epigenetically dysregulated expression patterns may provide the basis for finally understanding the expansion of invasive clones in bladder cancer.

Kontakt: cazimmermann@ukaachen.de

P3.3

Improving Antibody-Drug Conjugate Treatments by Understanding the Dynamics of Drug Target Surface Expression and Rationale Drug Combinations

Elisabeth Tan¹, Julia Albrecht^{1,2}, Eduard Below¹, Maike Effern¹, Niklas Klümper^{1,2}, Roberta Turiello¹, Michael Hölzel¹

¹ Institute of Experimental Oncology, University Medical Center Bonn (UKB), University of Bonn

² Department of Urology, University Medical Center Bonn (UKB), University of Bonn

The application of antibody-drug conjugates (ADC) is an emerging strategy for targeted therapy in cancer treatments. However, the knowledge about primary and acquired resistance mechanisms is still limited. The first FDA approved ADC in metastatic urothelial cancer (UC), Enfortumab-Vedotin (EV), targets the highly expressed junction protein Nectin-4. Although administration of EV currently does not require testing of the Nectin-4 status, data from UC patients show two distinct groups either with membranous or cytoplasmic Nectin-4 localization, which could be associated with varying susceptibility to EV treatment.

This project aims to elucidate the causes and functional consequences of altered Nectin-4 expression and localization in UC. By establishing reporter systems to track endogenous Nectin-4 and quantify its cell surface expression, spontaneous heterogeneity of various UC cells can be addressed and correlated to molecular phenotypes. Understanding the mechanisms leading to an altered Nectin-4 expression pattern would help clinicians to select and stratify the patients that will benefit from anti-Nectin-4 based therapies. Additionally, this project focuses on optimizing ADCs for cancer treatment by characterizing the influence of different drug classes as additional antibody payloads and evaluate novel combinations of ADCs in UC.

Many biological processes like epigenetic regulation and altered metabolism play crucial roles in cancer development and are implicated to confer a drug-tolerant phenotype seen in many cancer entities. Implementing alternative payloads in ADCs could help to target in particular the drug tolerant cell population without strongly increasing the treatment toxicity. Thereby, this project may provide new strategies to manage therapy resistance.

Kontakt: elisabeth.tan@ukbonn.de

P3.4

Analyse der Funktion des Transkriptionsfaktors Forkhead Box A1 (FOXA1) bei der malignen Progression des Prostatakarzinoms

Aileen Haller¹, Adam Kaczorowski¹, Anette Duensing^{2,5}, Albrecht Stenzinger³, Glen Kristiansen⁴, Markus Hohenfellner⁵, Stefan Duensing^{1,5}

¹ Sektion Molekulare Uroonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg

² Sektion Präzisionsonkologie, Universitätsklinikum Heidelberg

³ Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Heidelberg

⁴ Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Bonn

⁵ Urologische Universitätsklinik, Heidelberg

Fragestellung: Eine Dysregulation der Expression des Pionier-Transkriptionsfaktors FOXA1 ist eine häufige Veränderung beim Prostatakarzinom. Dabei wurden sowohl für eine Überexpression als auch für einen Verlust von FOXA1 tumorogene Mechanismen beschrieben. Ziel dieser Arbeit war es daher, den potenziell prognostischen Wert einer aberranten FOXA1 Expression beim Prostatakarzinom zu untersuchen, um so zu einem besseren Verständnis der Rolle von FOXA1 bei der Progression des Prostatakarzinoms zu gelangen.

Material und Methoden: Die Proteinexpression von FOXA1 wurde mittels Immunhistochemie bestimmt. Höhe und Heterogenität der FOXA1 Expression wurden an einer Reihe von ausgewählten primären Prostatakarzinomen sowie einem Tissue-Microarray mit Prostatagewebe von 165 Patienten bestimmt. Das Überleben der Patienten wurde mit der Kaplan-Meier Methode untersucht. Der Effekt eines siRNA-vermittelten FOXA1 Knockdowns sowie einer Überexpression auf die Zellviabilität wurde in LNCaP Zellen überprüft. Veränderungen des Transkriptomts nach FOXA1 Knockdown wurden mittels RNA Sequenzierung untersucht.

Ergebnisse: Es zeigte sich eine deutliche intra- und intertumorale Heterogenität der FOXA1 Expression. Eine erniedrigte FOXA1 Expression war mit einem schlechteren rezidivfreien Überleben assoziiert (Median 54 Monate, 95% CI 48,91-80,57), während bei Patienten mit erhöhter Expression im Beobachtungszeitraum von 145 Monaten das mediane Überleben nicht unterschritten wurde ($p=0.013$). Während diese Ergebnisse auf eine Rolle eines FOXA1 Verlustes bei der Tumorprogression hindeuten, konnte in vitro gezeigt werden, dass sowohl Knockdown als auch Überexpression von FOXA1 mit einer verminderten Zellviabilität assoziiert waren. Gleichzeitig führte ein FOXA1 Knockdown zu einer erhöhten Expression von Genen des Interferon Signalwegs.

Schlussfolgerungen: Die vorliegenden Ergebnisse legen nahe, dass beim Prostatakarzinom insbesondere die Reduktion der FOXA1 Expression zur malignen Progression beiträgt.

Kontakt: aileen@hatec.de

P3.5

CE-ICP-DRC-MS: Principles, potential, and application for monitoring iron-induced ferroptosis ex vivo and in human biofluids

Sammy Okutoyi^{1,2}, Mónica Vara-Pérez³, Patrizia Agostinis⁴, Edouard Charlebois⁴, Kostas Pantopoulos⁵, Bernhard Michalke⁶, Vivek Venkataramani⁷

1 Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen

2 Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Würzburg

3 Cell Death Research and Therapy Group, Department of Cellular and Molecular Medicine, KU Leuven, BE

4 Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Bonn

5 Lady Davis Institute for Medical Research, Jewish General Hospital and Department of Medicine, McGill University, Montreal, CA

6 Research Unit Analytical BioGeoChemistry, Helmholtz-Zentrum München

7 Comprehensive Cancer Center Mainfranken, University Hospital Würzburg

Ferroptosis is a regulated cell death pathway triggered by unrestrained membrane lipid peroxidation. It is distinct from more canonical "programmed" cell death forms, and is tightly regulated by various activating or inhibitory factors closely related to cell metabolism, including the compartmentalization and availability of redox-active iron (Fe²⁺). In particular for body fluids, reliable quantitative methods for Fe²⁺/Fe³⁺ redox-speciation are needed to assess the risk of injured tissue to undergo ferroptosis. Our novel method consists of two analytical steps out of the same sample, but using different analytical parameter ("one pot-two shot" method). Different separation conditions necessary for either iron speciation, or sulfur and selenium speciation can be achieved simply by changing buffer chemicals. During the second shot GSH and GSSG are quantified via respective sulfur content and GPX4, being a seleno-protein, is quantified via selenium. Assessment of the Fe²⁺/Fe³⁺ ratio within whole cell extracts accurately reflects changes in the cellular labile iron pool (LIP) and a shift in GSH/GSSG ratio reflect exhaust of metabolic ROS protection. Our method shows good accuracy (97-105% recovery), a detection limit of ~3.5 µg/L for iron species and 10 mg/l for sulfur and selenium species. We successfully could apply this method in cell and tissue lysates as well as in various biofluids, including CSF and bone marrow plasma.

Kontakt: venkataramani_v@ukw.de

Deciphering Ferroptosis: A Revolutionary Approach in Prostate Cancer Research and Innovative Analytical Methods

Vivek Venkataramani¹, Bernd Michalke², Oliver Hahn³, Pedro Friedmann Angeli⁴

¹ Comprehensive Cancer Center Mainfranken, University Hospital Würzburg

² Research Unit Analytical BioGeoChemistry, Helmholtz-Zentrum München

³ Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Würzburg

⁴ Rudolf-Virchow-Zentrum, Center for Integrative and Translational Bioimaging, Universität Würzburg

Ferroptosis stands out in the realm of programmed cell death, distinctively characterized by an intensive reliance on intricate iron metabolism and the ensuing accumulation of lipid peroxides. Unlike conventional apoptosis, ferroptosis operates independently of specific protein effectors and does not necessitate transcriptional or post-translational activation in response to lethal stimuli. Instead, this pathway emerges through disruptions in the cell's antioxidant defenses. The implications of ferroptosis extend significantly, particularly in the context of advanced prostate cancer, a field marked by formidable challenges such as castration-refractory and neuroendocrine subtypes. The pathway's intrinsic dependency on iron unravels novel therapeutic prospects and offers a glimmer of hope in tackling these aggressive forms of cancer. At the forefront of our investigative efforts is the CE-ICP-DRC-MS analytical method, a technique developed to dissect the complexities of ferroptosis in both clinical and research domains. This method empowers researchers with the ability to precisely discriminate and quantify various iron redox species across diverse biological matrices, providing a rich tapestry of insights into the dynamic processes of cellular iron utilization. Simultaneously, CE-ICP-DRC-MS facilitates a quantification of key metabolic biomarkers, including GSH, GSSG, and GPX4. This dual analytical approach not only illuminates the cellular redox state but also unravels the metabolic intricacies underpinning ferroptosis. Boasting exceptional accuracy and sensitivity, the CE-ICP-DRC-MS method has firmly established itself as an indispensable tool in the arsenal of cancer research and therapy. This presentation aims to underscore the potential encapsulated in the ferroptosis pathway. Furthermore, it seeks to highlight the impact and precision that advanced analytical methodologies, such as the CE-ICP-DRC-MS, bring to the table in developing novel intervention strategies in this critical field of cancer research.

Kontakt: office.friedmann-angeli@uni-wuerzburg.de

V9.2

The ratio of Fe²⁺/Fe³⁺ can be used as a biomarker for ferroptotic activity in prostate cancer – results from first in vitro and in vivo experiments

Oliver Hahn^{1,2}, Sammy Okutoyi^{1,2}, Yaoyun Kuang³, Xuan Zheng³, Marina Bertlich⁴, Bernhard Michalke⁵, Vivek Venkataramani⁶

1 Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen

2 Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Würzburg

3 Klinik für Neurologie, Universitätsmedizin Göttingen

4 Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsklinikum Bonn

5 Research Unit Analytical BioGeoChemistry, Helmholtz-Zentrum München

6 Comprehensive Cancer Center Mainfranken, University Hospital Würzburg

Iron dependent cell death (ferroptosis) is a recently discovered form of cell death offering potential for targeted cancer therapies. Ferroptotic activity largely depends on the intracellular „labile“ Fe²⁺ as well as on intracellular Ferritin levels and unsaturated fatty acids.

We identified the β -amyloid precursor protein (APP) as a new regulatory protein for ferroptosis. Low APP expression was shown in androgen-independent prostate cancer cell lines. Coherently, we could show changes in the labile iron pool of those cells towards higher Fe²⁺ as well as upregulation of Ferritin, indicating increased susceptibility to ferroptosis. Higher AR activation in an abiraterone resistant VCaP model, contrarily, lead to higher rates of Fe³⁺ and decreased Ferritin. Using APP overexpressing models, we could then correlate these changes in iron metabolism to correlate directly with sensitivity to ferroptosis inducing noxae (FINs) in vitro as well as in a subcutaneous mouse xenograft model. We established CE-ICP mass spectrometry as a fast and easy way to investigate intracellular iron forms which we can also use in patient body fluids as well as in fresh frozen tissue.

We propose APP and intracellular Fe²⁺ as potential biomarkers in prostate cancer with immediate therapeutic implications. Further investigation from our group tends towards an epigenetic regulation of APP which needs to be explored further.

Kontakt: Hahn_O1@ukw.de

FÖRDERER & SPONSOREN

Wir bedanken uns für finanzielle und ideelle Unterstützung bei unseren Förderern und Sponsoren:



Die Gesamtsumme der finanziellen Zuwendungen beläuft sich zum Zeitpunkt der Veröffentlichung auf 31.100 €. Die Mittel werden verwendet für Raummiete, Tagungstechnik, Druckkosten und Reisekosten für eingeladene Referierende. Weitere Informationen zum Umfang und den Bedingungen des Sponsorings gem. FSA finden Sie auf unserer Tagungshomepage: <http://auf-symposium.dgu.de/sponsoren.html>.

AUF 2024

FERDINAND EISENBERGER-FORSCHUNGSTIPENDIEN DER DGU

Auch für 2024 schreibt die DGU weitere Ferdinand Eisenberger-Forschungstipendien für urologische Assistenz- und Fachärztinnen und -ärzte aus.

Die Ferdinand Eisenberger-Forschungstipendien der DGU bieten interessierten medizinischen Nachwuchskräften in der Urologie die Chance, sich für 12 Monate mit experimentellen Fragestellungen außerhalb des klinischen Alltags intensiv beschäftigen zu können.

Ziel dieses Stipendienprogramms ist es, promovierten Urologinnen und Urologen, oder in urologischer Facharztausbildung befindlichen Medizinerinnen und Medizinern im Rahmen der Durchführung eines wissenschaftlichen Projekts die Möglichkeit zu geben, Kompetenzen in der Forschung zu erwerben und gleichermaßen für sich als auch für ihre Heimatkliniken wichtige Kontakte zu in der Grundlagenforschung ausgewiesenen Forscherpersönlichkeiten und Forschungslaboratorien im deutschsprachigen Raum zu knüpfen. Wesentlich für eine Förderentscheidung sind neben einem innovativen Forschungsprojekt und einem ausgewiesenen Gastlabor auch die infrastrukturellen Voraussetzungen an der Heimatklinik, die eine Fortsetzung der Forschungsarbeiten im Anschluss an das Stipendiumsjaar gewährleisten sollen.

Nächste Bewerbungsfrist: 15. Januar 2024

Weitere Informationen:

<https://www.urologenportal.de/forschungsfoerderung/eisenberger-stipendien.html>

WOLFGANG LUTZEYER-FORSCHUNGSTIPENDIUM DER DGU

Ebenfalls schreibt die DGU erneut ein Wolfgang Lutzeyer-Forschungstipendium für Naturwissenschaftlerinnen und Naturwissenschaftler in der Urologie aus.

Die Wolfgang Lutzeyer-Forschungstipendien der DGU dienen der beruflichen Förderung sowie der Aus- und Weiterbildung junger Naturwissenschaftlerinnen und Naturwissenschaftler, die einer urologischen Klinik in Deutschland angehören.

Ziel dieses Stipendienprogramms ist es, begabten naturwissenschaftlichen Nachwuchsforscherinnen und Nachwuchsforschern zum Ende ihrer Promotions- oder Postdoc-Phase die Möglichkeit zu geben, ihre Forschungsarbeiten im Labor ihrer aktuellen urologischen Klinik fortzuführen, eine Publikation zu schreiben und einen eigenen Drittmittelantrag – einschließlich der Beantragung ihrer eigenen Stelle – zur Einreichung bei einer renommierten öffentlichen Förderinstitution auszuarbeiten. Dabei adressiert das Stipendium ausdrücklich Forscherpersönlichkeiten, deren Projekte einen laborexperimentellen Schwerpunkt haben. Die Durchführung in diesem Kontext erfolgreich eingeworbener Drittmittelprojekte soll anschließend im Labor der Heimatklinik erfolgen.

Bewerbungsfrist: 15. Januar 2024

Weitere Informationen:

<https://www.urologenportal.de/forschungsfoerderung/lutzeyer-stipendien.html>



Call for Abstracts
Deadline: 1.10.2024

15. SYMPOSIUM

Urologische Forschung
der Deutschen Gesellschaft für Urologie

Gemeinsam Brücken bauen
für die Zukunft der Urologie:
Wissenstransfer und multidisziplinäre Forschung

Homburg

14.-16. November 2024

DGU



AUF



ARBEITSGRUPPE UROLOGISCHE FORSCHUNG