

JAHRES BERICHT 2015

ISREC STIFTUNG

EINE STIFTUNG ZUR UNTERSTÜTZUNG DER KREBSFORSCHUNG,
DIE UNTER DEM DACH DES AGORA-KREBSZENTRUMS
GRUNDLAGENFORSCHER UND KLINIKER VEREINT UND DIE
TRANSLATIONALE FORSCHUNG UND DEN WISSENSCHAFTLICHEN
NACHWUCHS IN DER SCHWEIZ FÖRDERT



INHALT

Editorial	1-3
Vorwort des Präsidenten des Stiftungsrats Würdigung von Herrn Yves J. Paternot	
Highlights	5
Von der ISREC Stiftung zu ihren Gunsten organisierte Events	
AGORA – Krebszentrum	6-7
Projekt	
Unterstützte Projekte	9
Summer Research Program	
Stipendien	10-26
Krebs und Immunologie / Molekulare Life Sciences	
Lehrstühle	27-33
Translationale Onkologie / Grundlagen der Onkologie	
Fonds	34-42
Glioblastom / Sarkom / Krebsimmuntherapie / Grundlagenforschung	
Organisation	43
Stiftungsrat / Wissenschaftlicher Rat / Direktion / Rechnungsrevision	
Finanzen	44
Ihre Unterstützung der ISREC Stiftung	45
Eine Spende leisten / Steuerliche Abzüge / Steuerliche Belastung	
Goldenes Buch	46
Danksagung	

VORWORT DER PRÄSIDENTIN DES STIFTUNGSRATES

Liebe Spender, Freunde und Partner

2015 hat die Umsetzung des AGORA Projektes begonnen. Im März wurde die Baubewilligung erteilt und im Juni hat der Kanton Waadt der Stiftung ein Baurecht für 75 Jahre vergeben. Die Arbeiten wurden einem Konsortium bestehend aus den Firmen Steiner und Marti anvertraut und im September erfolgte der erste Spatenstich. Seither werden die Arbeiten im Eiltempo durchgeführt, mit dem Ziel, das Gebäude Anfang 2018 einzuweihen.

Am Ende seines Mandats angekommen und gesundheitlich angeschlagen hat Herr Yves Paternot, Präsident seit 2005, Ende 2015 sein Amt abgegeben. Aus Dankbarkeit für alles, was er zum Kampf gegen den Krebs innerhalb der Stiftung beigetragen hat, ernannte ihn diese zum Ehrenpräsidenten. Leider ist er kurz danach, im Februar 2016, verstorben. Ende 2015 haben auch zwei weitere Mitglieder des Stiftungsrates, Frau Martine Brunschwig Graf und Herr Jean-Luc Chenaux, gewünscht, ihr Mandat niederzulegen. Auch ihnen danken wir an dieser Stelle für ihr Engagement während der letzten Jahre im Stiftungsrat. Seit 2016 sitzen Yves Bonzon, Thomas Paulsen und Pierre-Marie Glauser im Rat, dessen Vorsitz ich jetzt übernommen habe.

2015 hat die Stiftung folgende Vorhaben unterstützt:

Ein PhD-Stipendium auf dem Gebiet der Krebsimmunologie, das Herrn Efe Erdes für 4 Jahre erteilt wurde;

Studentenpraktika in Krebsforschungslabors (5 Studenten der UNIL/CHUV und 7 der EPFL);

Eine Partnerschaft im Rahmen des Life Sciences Symposium 2015 «From Cancer Genetics to Personalized Health», Faculté des sciences de la vie, EPFL.

Die neuen Entwicklungen in der Krebsforschung, sowohl auf den Gebieten der personalisierten Medizin und der Immunologie als auch in anderen Bereichen werden von unserer Stiftung stets aufmerksam beobachtet. Auch in Zukunft wird diese im Rahmen ihres Auftrages auf diesen Gebieten arbeitende Forscher fördern. Dank Ihrer Unterstützung können wir unsere Ziele erreichen. Dafür sind wir Ihnen sehr verpflichtet.

Ihnen, die dem Engagement der Stiftung, den Krebs zu bekämpfen, Ihr Vertrauen schenken, danken wir von ganzem Herzen!

Catherine Labouchère



Catherine Labouchère

WÜRDIGUNG VON HERRN YVES J. PATERNOT



2003 als Ratsmitglied in die ISREC Stiftung eingetreten, wurde Herr Yves Paternot im Jahre 2005 deren Präsident. Zehn Jahre lang führte er dieses Gremium. Kurz vor seinem Ableben wurde er in Anerkennung seiner Arbeit im Dienste der Stiftung zum Ehrenpräsidenten ernannt.

Er hat sich für den Kampf gegen den Krebs, der auch ihn getroffen hat, stets stark engagiert. So hat er sich nicht nur für die Umsetzung der Ziele des Gründers, Dr. Henri Isliker, den er sehr bewunderte, eingesetzt, sondern hat auch für die Zukunft vorgesorgt. Als sich das ISREC Institut 2008 der EPFL anschloss, hat er dafür gekämpft, dass der Erlös aus dem Verkauf der Gebäude in Epalinges an den Kanton Waadt auf irgendeine Art und Weise öffentlichen Institutionen zugutekommt. So ist das AGORA Projekt entstanden. Dieses symbolträchtige Gebäude wird ab Anfang 2018 beinahe 300 Forscher auf dem Gebiet der translationalen Krebsforschung zusammenbringen.

Yves Paternot war ein Visionär: Er verstand es, Privatpersonen und Institutionen zu überzeugen, dass nur ein starkes Engagement zu den notwendigen Mitteln führen konnte, die es braucht, um die Arbeit mehrerer, vielfältiger Teams, die sich täglich über ihre Erfahrungen austauschen, zu finanzieren. Er war überzeugt, dass aus diesen Begegnungen neue Ideen entstehen würden.

Innerhalb der Stiftung schaffte er es, ein « Team ISREC » entstehen zu lassen. Er liebte die Weiten der Berge und des Meeres. So hat er auch seiner Mannschaft Offenheit und eine dynamische Produktivität eingepflegt. Dieses nun erweiterte Team wird seine Grundsätze weiterführen und ihn über lange Zeit würdigen, indem sie seine Arbeit fortführt und das AGORA Gebäude errichtet. Einer der Hörsäle wird seinen Namen tragen, als Zeichen der Dankbarkeit für alles, was Yves Paternot im Kampf gegen den Krebs erreicht hat. Auf diese Weise wird sein Geist weiterleben und auch seine Nachfolger prägen.

Danke, Yves!

Catherine Labouchère
Präsidentin

WICHTIGE EREIGNISSE

ORGANISIERTE EVENTS DER ISREC STIFTUNG

AGO Trophy, Saint-Prex

Fünfzig Freiwillige haben bei der Vorbereitung und Ausführung dieser Trophy in Gedenken an ihren Freund Agostino, der an den Folgen von Krebs verstorben ist, mitgewirkt. Circa 400 Personen sind dem Aufruf der Veranstaltung nachgekommen und haben an den verschiedenen Aktivitäten und Wettbewerben teilgenommen. Die Veranstaltung fand am 21. Juni 2015 in Lonay statt und es wurden uns von den Veranstaltern CHF 10'000.- gespendet.

"Corcelles-le-Jorat" Motorbike Race

Seit dem Jahr 1998 veranstaltet das Club Team Girard ein jährliches Oldtimertreffen und Rennen mit Eigentümern, Fahrern und Fans. Die Hälfte der Einnahmen werden dabei der ISREC Stiftung gespendet. Die 18. Ausgabe fand am 29. und 30. August 2015 in Corcelles-le-Jorat statt.

En faveur de :



TROPHEE AGO
5^{ème} édition

ISREC
FONDATION | STIFTUNG | FOUNDATION

Venez passer une journée de détente...
...en faisant une bonne action

DIMANCHE 21 JUIN 2015 dès 9h00

St-Prex, centre sportif du Vieux Moulin

- Tournoi de Football à 7
Huitiers 2 équipes cadet site des
Élis et route de - en face de - 122m
Frais d'inscription :
CHF 150.- / équipe
- Tournoi de Pétanque
Frais d'inscription :
CHF 40.- / équipe
- Concours de fléchettes et tirs au but
- Château gonflable pour les enfants
- Tombola
- Nombreux autres jeux
- Restauration sur place

Informations & inscriptions
sur le site : www.tropheeago.ch

Avec le soutien principal de :

Agence générale Pascal Eyer

Rue de la Gare 28
Case postale 124
1180 Morges 1
Tél. 059 1 207 77 77
Fax 059 1 207 77 17

Siège à Nyon
www.allianz-suisse.ch/pascal_eyer



18^e édition
Team Girard
www.team-girard.info

COURSE DE CÔTE
Corcelles-le-Jorat

29 & 30 août 2015



Les bénéficiaires
de la manifestation:
La Fondation ISREC
La Cordée Fondation Renée Delafontaine

Programme CHF 5.-

AGORA - KREBSZENTRUM

EIN ORT WO GRUNDLAGENFORSCHUNG UND KLINISCHE FORSCHUNG AUF EINANDER TREFFEN

Im Jahre 2003 beschloss die ISREC Stiftung, einen wichtigen Anteil ihrer Ressourcen in eine wegweisende Infrastruktur zu investieren: Das AGORA – Krebszentrum, das sich auf dem Areal des Spitals befindet und einen direkten Austausch mit Patienten erlaubt.

In diesem Gebäude werden Teams aus Grundlagen- und klinischer Forschung arbeiten. 300 bis 350 Wissenschaftler und Kliniker werden zusammenspannen, um die Mechanismen der Krebsentstehung zu verstehen und neuartige Therapien zu entwickeln.



© Behnisch Architekten, Stuttgart

Dieses Projekt setzt die Hauptziele der ISREC Stiftung um: Es unterstützt die Spitzenforschung auf dem Gebiet der Onkologie, ermöglicht die Ausbildung junger Forscher und Ärzte und gibt ihnen die Gelegenheit, ihr Talent in einer führenden Forschungsstätte umzusetzen.

Das AGORA – Krebszentrum wird ein einzigartiger Ort sein. Es wird den Akteuren in der translationalen Krebsforschung die Möglichkeit bieten, eine enge Zusammenarbeit mit dem Spitalbetrieb einzugehen. So können den Patienten personalisierte Pflegeprotokolle angeboten und der Diagnose-Therapie-Zyklus beschleunigt werden.

AGORA - KREBSZENTRUM

SYNERGIEN STÄRKEN

Dieses Projekt verfolgt auch das Ziel, die akademischen Institutionen der Genferseeregion (das CHUV, die UNIL und die EPFL in Lausanne, die UNIGE und die HUG in Genf) und die Kompetenzzentren der Deutschschweiz einander näher zu bringen.



© Behnisch Architekten, Stuttgart

ZEITPLAN FÜR DIE UMSETZUNG

Janvier 2013	Wahl des Projektes durch die ISREC Stiftung nach internationalem Wettbewerb
14. Juli 2014	Eingabe des Antrages für die Baugenehmigung
19. März 2015	Erhalt der Baubewilligung
31. März 2015	Start der öffentlichen Ausschreibung für den Bau des Gebäudes
23. Sept. 2015	Vergabe der Bauarbeiten
Herbst 2015	Start der Bauarbeiten
Ende 2017	Inbetriebnahme des AGORA – Gebäudes
März 2018	Genehmigung aller Labors

UNTERSTÜTZTE PROJEKTE

SOMMERPROGRAMM FÜR STUDIERENDE (SUR/SRP)

Die ISREC Stiftung hat das achte Jahr in Folge das Praktikum in Krebsforschungslaboratorien von fünf an der UNIL/CHUV und sieben an der ETH Lausanne Studierenden unterstützt. Während acht Wochen (vom 6. Juli bis 27. August 2015) konnten die auserwählten jungen Biologie- oder Medizinstudentinnen und -studenten zum ersten Mal die Welt der Forschung entdecken – eine sehr bereichernde Erfahrung, die die Gelegenheit bot, neue Kontakte auf internationaler Ebene zu knüpfen. Zum Abschluss des Programmes durften die Studierenden am 27. August 2015 im Rahmen eines Minisymposiums auf dem UNIL Campus ihre Arbeiten präsentieren.



Foto: Teilnehmende Studenten am Symposium des von UNIL und EPFL gemeinsam organisierten Sommerprogramms 2015

BEHANDELTE THEMEN

JOSPEH BOWNESS SAMSON

Gruppe Prof. Winship Herr – UNIL/CIG

Wie interagieren THAP Proteine mit HCF-1?

LIZA DARROUS

Gruppe Prof. Nicolas Mermod – UNIL/IBT

Der Methylierungsstatus von AP2a Zielen in Brustkrebs

ELIF KOCAK

Gruppe Prof. Yann Barrandon – UNIL/CHUV

Wie Thymome lokal bleiben

MIGUEL MARIN VERMELHO

Gruppe Prof. Vladimir Katanaev – UNIL/DPT

Etablierung einer stabil transfizierten HeLa Reporterzelllinie, mit induzierbarem Fzd7 für Hochdurchsatz – Screening

KRUTI VORA

Gruppe Prof. Tatiana Petrova – UNIL/DEO

Hemmung des TGF- β -Signalwegs um die Herunterregulation von Prox1 in aus Lymphknoten isolierten lymphatischen Endothelzellen zu verhindern

MATTEO CARTIGLIA

Gruppe Prof. Jeffrey A. Hubbell – EPFL/SV/IBI

Selektiver Entzug von Antikörpern aus dem Kreislauf: Anwendung bei Proteinersatztherapien

INDRASHIS DATTA

Gruppe Prof. Joachim Lingner – EPFL/SV/ISREC

Herstellung von CRISPR/Cas9 Konstrukten für eine CTC1-konditionale KO-Zelllinie

VANESSA GERALDINE

Gruppe Prof. Yann Barrandon – EPFL/SV/IBI

Die Entwicklung von Merkel-Zellen in Schnurhaarfollikeln

GENEVIEVE M. GERHARD

Gruppe Prof. Daniel Constan – EPFL/SV/ISREC

Untersuchung der Interaktion zwischen Bicc1 und dem 3'-UTR der Adenylzyklase 6 mRNA mittels Hefe-Drei-Hybrid-System

IVAN ISTOMIN

Gruppe Prof. Pierre Gönczy – EPFL/SV/ISREC

Die Rolle von Kinesin-5 in der Zentrosomen-spaltung bei *C. elegans*

MAGDALENA PLOT CZYK

Gruppe Prof. Olaia Naveiras – EPFL/SV/IBI

Erprobung von Nikotinamidribosid als Beschleuniger der hämatopoetischen Erholung nach einer Knochenmarktransplantation

MARGARET WALKER

Gruppe Prof. Viesturs Simanis – EPFL/SV/ISREC

Wird die SIN-Proteinlokalisierung durch den Zytokineseregulator PTPA beeinflusst?

STIPENDIEN

STIPENDIUM „KREBS UND IMMUNOLOGIE“

Rolle der mesenchymalen Notch-Signalisierung in der Entwicklung und der Ausbreitung des Melanoms

Dieses „ISREC Stipendium“ in Höhe von CHF 40'000.- pro Jahr wurde **Elena Menietti** im Juni 2011 für eine Dauer von vier Jahren gewährt.

Elena Menietti führt ihre Arbeiten im Labor von Professor Gian-Paolo Dotto (Abteilung Biochemie, UNIL) durch.

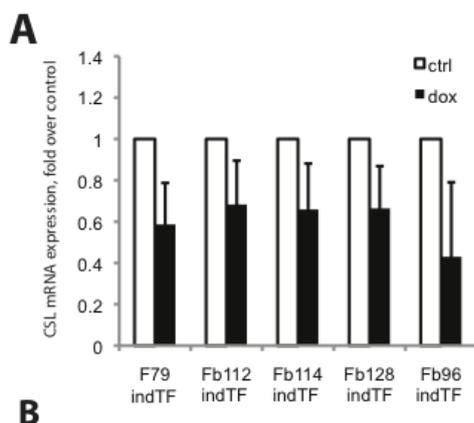
Einleitung

CSL ist ein Schlüsseltranskriptionsfaktor, der meist als Repressor fungiert und von dem gezeigt werden konnte, dass seine Funktion höchst kontextabhängig ist. Wir konnten kürzlich beweisen, dass CSL in der Erhaltung der Hauthomöostase eine wichtige Rolle spielt: Seine spezifische Deletion in dermalen Fibroblasten von Mäusen erzeugt eine induzierende Umgebung für die Entwicklung eines Plattenepithelkarzinoms, die möglicherweise auf die Umwandlung von dermalen Fibroblasten in tumorassoziierte Fibroblasten (CAF, cancer-associated fibroblast) zurückzuführen ist. Trotz des grossen Interesses an CSL als Transkriptionsregulator ist die Aufklärung seines eigenen Regulationsmechanismus bisher vernachlässigt worden.

Es ist besonders wichtig, die Regulation von CSL in Fibroblasten zu verstehen, da diese Erkenntnisse uns helfen könnten, CSL-Expression in CAFs wiederzuerlangen (wir haben bereits gezeigt, dass der Verlust von CSL CAFs induzieren kann). So wäre es möglich, auf die Mikroumgebung einzuwirken, um den Tumorstadium zu begrenzen. Wir beabsichtigen deshalb, die Akteure der CSL-Regulation ans Licht zu bringen.

Unser Projekt verfolgt folgende Ziele:

- 1) Aufklärung der Wege, die CSL regulieren können;
- 2) Verbindung dieser Wege mit der Antwort auf UVA-Bestrahlung und pro-fibrotische Signaltransduktion;
- 3) Ermittlungen, um in Erfahrung zu bringen, ob die Unterschiede zwischen verschiedenen menschlichen Bevölkerungsgruppen in Bezug auf die CSL-Regulation und das Vorkommen von Plattenepithelkarzinomen zusammenhängen.



(A) Fibroblasten von verschiedenen Personen mit Überexpression des Transkriptionsfaktors von Interesse weisen auf der RNA-Ebene eine Herunterregulation von CSL auf.

(B) Fibroblasten von verschiedenen Personen mit Überexpression des Transkriptionsfaktors von Interesse weisen auf der Proteinebene eine Herunterregulation von CSL auf.

Ergebnisse

Um diese Fragen zu beantworten, haben wir in einem ersten Schritt sämtliche in den regulatorischen Bereichen von CSL existierenden SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) untersucht, die mit einer unterschiedlichen Frequenz von einer Population zur anderen vorhanden sind. Dabei haben wir verschiedene bioinformatische Tools benutzt. SNPs sind im Wesentlichen Unterschiede zwischen Individuen auf der DNA-Sequenzebene. Sie beruhen auf der Mutation eines Nukleotids in ein anderes.

Die meisten dieser SNPs sind verbreitet und es besteht ein Muster in deren statistischen Verteilung in Populationen. Normalerweise hat die Modifikation eines SNPs keine Auswirkung auf das korrekte Verhalten der Zellen. Sie verursacht jedoch geringfügige Änderungen, die jedes Individuum einzigartig machen. Wir haben mehrere SNPs identifiziert, die in der einen Population häufiger als in der anderen vorkommen. Zuerst haben wir Individuen europäischen und afrikanischen Ursprungs verglichen. Da unsere gesamte Arbeit mit öffentlich zugänglichen Datenbanken durchgeführt wurde, haben wir die vorausgesagten Frequenzen bestätigt, indem wir die regulatorischen Bereiche von CSL in Personen von afrikanischer und europäischer Herkunft sequenziert haben. Danach haben wir uns auf die Suche nach den vorhergesagten Transkriptionsfaktorbindungsstellen gemacht, die *in silico* durch diese SNPs betroffen sind. Wir entdeckten, dass einige dieser von den SNPs beeinflussten Transkriptionsfaktoren, von denen vorhergesagt wurde, dass sie in den regulatorischen Regionen von CSL binden, wahrscheinlich auf zellulären Stress ansprechen. Dies bedeutet, dass diese Transkriptionsfaktoren wahrscheinlich die Verbindung zwischen UVA-Exposition (die, wie wir im zweiten Jahr gezeigt haben, in der Lage ist, CSL-Expression zu regulieren) und CSL-Herunterregulation darstellen.

Über die CSL Transkriptionsregulation ist nichts bekannt. So überprüfen wir nun, ob diese Transkriptionsfaktoren tatsächlich in der Lage sind, die CSL-Expression zu regulieren. Wir untersuchten einen ersten Transkriptionsfaktor und konnten zeigen, dass seine Überexpression eine Herunterregulation von CSL auf der RNA-Ebene verursachte. Auch konnten wir beweisen, dass Silencing des Transkriptionsfaktors CSL-Transkription induziert.

ChIP-Experimente (Chromatinimmunpräzipitation) ergaben, dass sich dieser Transkriptionsfaktor tatsächlich an regulatorische Regionen von CSL bindet, um dessen Transkription zu regulieren. Darüber hinaus waren weitere Effektoren dieses Transkriptionsfaktors in hochreguliertem Zustand in der Lage, CSL zu regulieren.

Wir haben den Regulationsweg identifiziert, der für eine CSL-Herunterregulation als Reaktion auf Stress verantwortlich ist. So entsteht eine Verknüpfung zwischen dieser Herunterregulation und dem Auftreten von Plattenepithelkarzinomen als Reaktion auf Stress, als Folge der Umwandlung von humanen dermalen Fibroblasten in CAFs.

STIPENDIUM „KREBS UND IMMUNOLOGIE“

Die Rolle des Notch-Rezeptors in der Differenzierung von CD4 TH17-Zellen und seine Bedeutung bei Krebs

Dieses „ISREC Stipendium“ in Höhe von CHF 40'000.- pro Jahr wurde **Manuel Coutaz** im Juni 2011 für eine Dauer von vier Jahren gewährt.

Manuel Coutaz führt seine Arbeiten im Labor von Professor Prof. Fabienne Tacchini-Cottier, (Abteilung Biochemie, UNIL) durch.

Einleitung

Wir untersuchen zurzeit die Rolle der Notch1- (N1) und Notch2- (N2) Rezeptorsignalketten in der Differenzierung von TH17-Zellen und in der Entwicklung einer TH17-Antwort. Die Funktion von TH17-Zellen und IL-17 bei Krebs scheint vom Umfeld abzuhängen; sowohl Förderung als auch Hemmung des Tumorwachstums wurden beschrieben. Die Rolle des Notch-Rezeptorsignalweges in der TH17-Zelldifferenzierung wurde *in vitro* und *in vivo* im experimentellen Mausmodell mit B16 Melanomzellen und in anderen *in vivo* Modellen, die eine TH17-Antwort begünstigen, untersucht. Im B16 *in vivo* Modell wurde ein Einfluss der IL-17-Sekretion durch TH17-Zellen auf das Tumorwachstum beschrieben. Für unsere Experimente haben wir Mäuse mit einer Ablation von Notch1 und Notch2 ($N1N2^{\Delta CD4Cre}$) oder des transkriptionellen Repressors von Notch (RBP-Jk) verwendet, um die Rolle des Notch-Rezeptorsignalweges in der TH17-Zelldifferenzierung besser zu verstehen.

Resultate nach dem vierten Jahr

Die Rolle des Notch-Rezeptorsignalweges in der TH17-Zelldifferenzierung wurde als erstes *in vitro* untersucht. Nach der TH17-Zelldifferenzierung wurde N2 in einem geringeren Ausmass als N1 exprimiert. Wir haben gezeigt, dass N1- und N2-Rezeptoren in TH17 Zellen eine wichtige Rolle in der Regulation von Schlüssel-mRNAs und in der *in vitro* Ausschüttung von IL-17A Zytokinen spielen. Dieser Prozess kann durch höher konzentrierte TCR-aktivierende Signale während der TH17-Zelldifferenzierung überwunden werden.

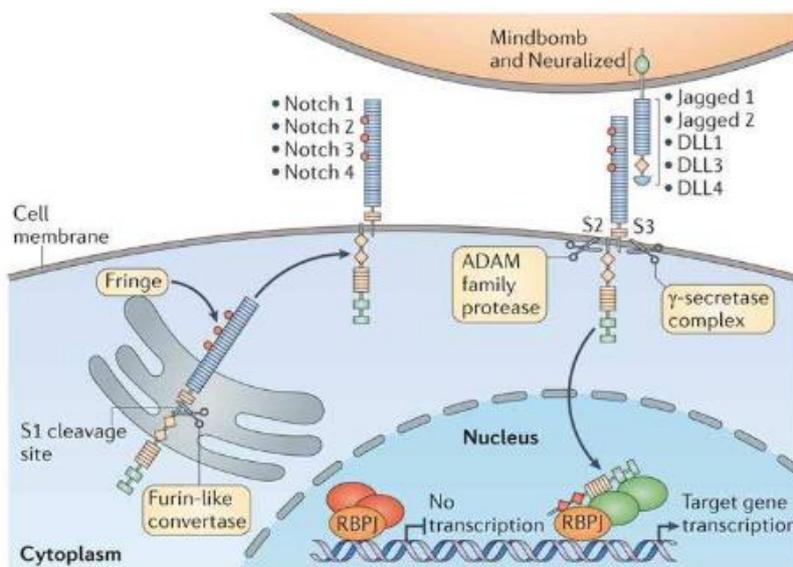


Abbildung:

Aus Radtke, F., MacDonald, H.R., Tacchini-Cottier, F., NRI, 2013

Die Notch-Signaltransduktion wird durch Ligandenbindung an den Notch-Rezeptor ausgelöst. Bei Säugetieren gibt es vier Notch-Rezeptoren (N1-N4) und fünf Notch-Liganden (delta-like (Dll) 1, 3 und 4; Jagged 1 und 2). In der kanonischen Form gelangt der intrazelluläre Teil des Notch-Rezeptors in den Zellkern und bindet an den transkriptionellen Repressor RBP-Jk. Der Korepressorkomplex wird verdrängt und die Expression der Notch-Zielgene aktiviert.

Weiter haben wir untersucht, ob die regulatorische Rolle von Notch auch in der *in vivo* TH17-Zelldifferenzierung beobachtet werden kann. Dazu wurden N1N2^{ΔCD4Cre}-Mäuse und Kontrollmäuse mit in komplettem Freund-Adjuvans (CFA) emulgiertem Ovalbumin (OVA) immunisiert. Dieses Adjuvans induziert die TH17-Zelldifferenzierung. *In vivo* werden mRNA-Expression und Proteinspiegel von IL-17A und RORγT (IL-17-spezifischer Transkriptionsfaktor) durch N1 und N2 selektiv begrenzt, ohne Effekt auf andere an der TH17-Zellfunktion beteiligten Transkriptionsfaktoren.

Nach der OVA/CFA Immunisierung wiesen die N1N2^{ΔCD4Cre} CD4⁺ T Zellen einen erhöhten intrazellulären IL-17A Spiegel auf. Im Gegensatz dazu wurden nach der Restimulation, im Vergleich zu den Kontroll-CD4⁺ T Zellen, reduzierte IL-17A und TH17-bezogene Zytokine in antigenspezifischen N1N2^{ΔCD4Cre} CD4⁺ T Zellen beobachtet (Abb. 2A). N1- und N2-Rezeptorsignaltransduktion begünstigt TH17-bezogene Zytokine selektiv. Dieser Effekt wurde mit Hilfe von pharmakologischen Notch-Inhibitoren und WT CD4⁺ T Zellen bestätigt (Abb. 2B). Um die Notch-kontrollierte Ausschüttung von Zytokinen weiter zu untersuchen, haben wir zuerst ausgeschlossen, dass reduzierte TH17-bezogene Zytokinkonzentrationen mit einer Abnahme der Proliferation oder der Lebensfähigkeit von Notch-defizienten CD4⁺ T Zellen zusammenhängt. Des Weiteren konnten wir keine Auswirkung von *ex vivo* Notch auf die mRNA-Expression von Proteinen beobachten, die am Transport von Zytokinen in restimulierten Notch-defizienten CD4⁺ T Zellen beteiligt sind. Zudem wurde nach der Immunisierung mit OVA/CFA keine aberrante subzelluläre Lokalisierung von IL-17A in N1N2^{ΔCD4Cre} CD4⁺ T Zellen festgestellt.

Schliesslich haben wir ermittelt, dass die Aufgabe von Notch in der TH17-mRNA-Expression und der Kontrolle der TH17-Zytokinausschüttung *in vivo* in anderen Mikroumgebungen überwunden werden kann. Dies deutet klar darauf hin, dass die Rolle von Notch im Rahmen der TH17-Zellfunktionen umgebungsabhängig ist.

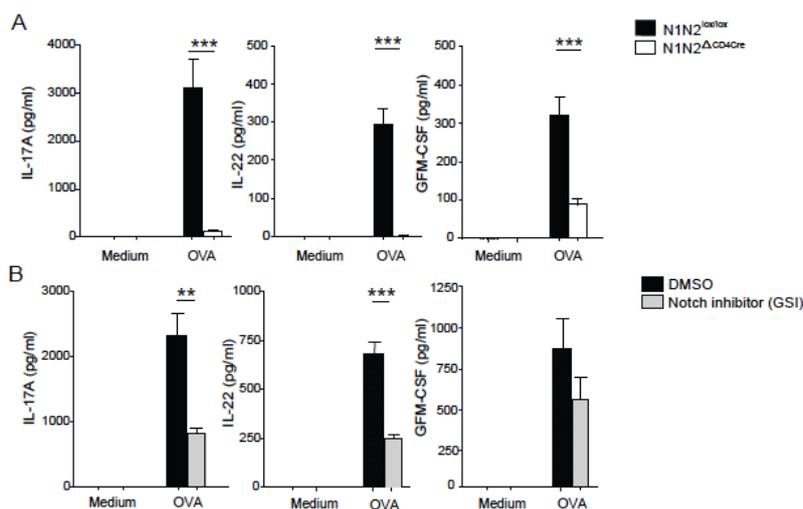


Abbildung 2:

9 Tage nach der OVA/CFA-Injektion wurden CD4⁺ T Zellen von N1N2^{lox/lox} (Kontrolle) und N1N2^{ΔCD4Cre} Mäusen (A) 72 Stunden ohne („Medium“) oder mit OVA restimuliert. (B) CD4⁺ T-Zellen, die aus den drainierenden Lymphknoten stammen, wurden mit DMSO oder einem Notch-Hemmer (γ-Sekretasenhemmer) vorbehandelt und 72 Stunden ohne („Medium“) oder mit OVA restimuliert. Dargestellt sind Mittelwerte der mittels ELISA in einem zellfreien Überstand gemessenen IL-17A, IL-22 und GM-CSF Zytokinkonzentrationen ± SEM. ** p<0.01, ***p<0.001 versus Kontrolle.

Schlussfolgerung

Insgesamt deuten unsere Ergebnisse auf eine wichtige regulatorische Rolle von Notch in der Feinregulierung von TH17-Zelldifferenzierung und Effektorfunktionen hin. Notch limitiert die TH17-Zelldifferenzierung sowohl auf der Ebene der mRNA-Transkription als auch auf der Proteinebene. Im Gegensatz dazu kontrolliert Notch die Ausschüttung von Zytokinen durch TH17-Zellen, was darauf hindeutet, dass Notch in der Regulation von TH17-Zellen zwei unterschiedliche Rollen einnimmt, deren Modulation von Umweltbedingungen abhängt. Eine Unterdrückung der N1- und N2-Signalkette könnte in Situationen wie autoimmunen Krankheiten oder bei gewissen Krebsarten, in denen hohe TH17-Zellkonzentrationen einen negativen Einfluss ausüben, in Betracht gezogen werden.

STIPENDIUM „KREBS UND IMMUNOLOGIE“

Molekulare Mechanismen zur Regulation von T-Zellen mit verbesserter TCR-Affinität gegen Krebs

Dieses „ISREC Stipendium“ in Höhe von CHF 80'000.- pro Jahr wurde **Efe Erdes** im Juli 2015 für eine Dauer von vier Jahren gewährt.

Efe Erdes führt seine Arbeiten im Labor von Professor Nathalie Rufer, (Abteilung Onkologie UNIL/CHUV) durch.

1. Spezifische Ziele

Krebspatienten besitzen zahlreiche tumorspezifische T-Zellrezeptoren (TCR, T cell receptor). Die Aviditäten dieser Rezeptoren sind jedoch relativ gering und letztendlich zu niedrig für eine effektive Antitumorimmunität. Angesichts dieser Beschränkungen müssen effizientere Methoden gefunden werden, um die Avidität individueller T-Zellen zu bestimmen und um T-Zellen mit optimalen Funktionsfähigkeiten bevorzugt zu aktivieren. In den vergangenen Jahren haben wir ein einzigartiges Modell entwickelt, das auf einem Panel von CD8-T-Zellen beruht, die TCRs mit steigenden Affinitäten für das NY-ESO-1 Tumorantigen exprimieren. So können der Kausalzusammenhang zwischen T-Zell-Avidität und T-Zell-Aktivierung und –funktion sowie die zugrundeliegenden Signalmechanismen untersucht werden. Unsere Arbeit zeigt, dass die antitumorale T-Zellantwort von einem bestimmten TCR/pMHC-Affinitätsschwellwert abhängig ist. Unsere Studien haben neuartige Regulationswege aufgezeigt und deuten darauf hin, dass tumorspezifische T-Zellen mit hoher Avidität nicht immer funktionstüchtiger sind.

Das übergreifende Ziel dieses Projektes besteht darin zu verstehen, wie T-Zellen unterschiedliche Stärken der TCR-Peptid/MHC-Interaktionen wahrnehmen, insbesondere durch Modulierung von TCR-vermittelten Signalen. Danach werden wir untersuchen, wie sich das Blockieren dieser molekularen Ziele auf die T-Zell-Empfindlichkeit gegen Tumorzellen auswirkt. Zu diesem Zweck werden wir *in vitro* Experimente durchführen und *in vivo* Mausmodelle benutzen. Vorläufige, vertrauliche Daten deuten darauf hin, dass in veränderten tumorspezifischen CD8-T-Zellen, welche TCRs mit verbesserter Affinität exprimieren, Cbl-Proteine (c-Cbl und Cbl-b) wichtige regulatorische Moleküle darstellen. Solche Studien unterstützen die Entwicklung von Therapien, welche die TCR-Signaltransduktion optimieren, um therapeutische Immuneingriffe, wie etwa adoptiven T-Zelltransfer oder Impfungen, zu fördern.

Erstes Ziel: Analyse des Einflusses von TCRs mit verbesserter Affinität gegen Tumorantigene auf die Expression von Molekülen (z.B. c-Cbl, Cbl-b), die an der Immunmodulation/-regulation beteiligt sind

Zweites Ziel: Beurteilung des Einflusses von TCRs mit verbesserter Affinität in Blockadeexperimenten gegen spezifische Zielmoleküle von TCR-vermittelten Signalwegen (z.B. c-Cbl, Cbl-b)

Drittes Ziel: Validierung des Einflusses spezifischer Zielproteine auf TCRs mit verbesserter Affinität gegen Tumorantigene in einem immundefizienten NSG Mausmodell

2. Hintergrund und Bedeutung

Zytotoxische T-Zellen erkennen dank ihren TCRs antigene Peptide, die vom MHC (pMHC) auf der Oberfläche von infizierten oder bösartigen Zellen präsentiert werden. Die TCR Affinität/Avidität für den pMHC ist ein Schlüsselparame-ter für die zellvermittelte Immunität, da eine starke Bindung an den pMHC bessere Effektorfunktionen verleiht als schwache Interaktionen. Von besonderem Interesse ist dies für Immuntherapien mit adoptivem T-Zelltransfer, welche Immunreaktivität gegen Tumor-/Autoantigene vermitteln, für die endogene T-Zellantworten meist zu schwach sind. Adoptiver Zelltransfer von modifizierten T-Zellen erhöht in der Tat die funktionalen und schützenden Eigenschaften von Tumorantigen-reaktiven CD8-T-Zellen (**Abb. 1**) (1, 2). Resultate aus kürzlich durchgeführten klinischen Studien zeigen jedoch, dass modifizierte TCRs mit erhöhter Affinität aufgrund von schädlichen zytotoxischen Immunantworten *in vivo* in Patienten schwere Nebenwirkungen verursachen können (1, 3, 4). Um in klinischen Studien die Sicherheit von T-Zellen mit modifizierten TCRs zu gewährleisten, muss TCR-Optimierung mittels Affinitätsveränderung einerseits eine Evaluation der optimalen T-Zellempfindlichkeit beinhalten und darf andererseits keine on-target und off-target Nebenwirkungen aufgrund von Selbstreaktivität aufweisen (5).

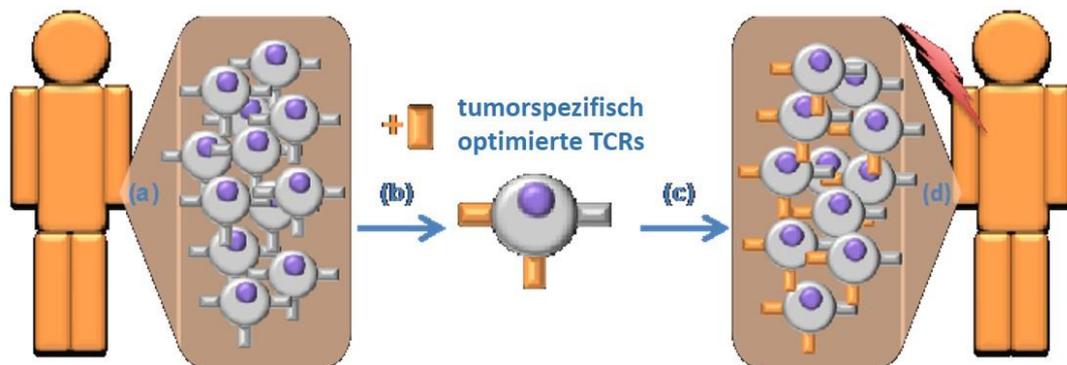


Abbildung 1. Übersicht über den adoptiven Transfer von TCR-veränderten T-Lymphozyten in Krebspatienten. PBMCs (peripheral blood mononuclear cells) werden gesammelt (a). T-Zellen werden mit optimierten, spezifischen TCRs transduziert (b). Es folgt eine kurze *in vitro* Expansion (c). Nach zwischenzeitlicher Chemotherapie (d), werden die veränderten T-Zellen in den Körper retransfundiert.

In den letzten Jahren haben wir ein einzigartiges Panel humaner, mit TCRs zunehmender Affinität bestückten CD8-T-Zellen erstellt. Diese TCRs sind für das NY-ESO-1 Tumorantigen, das vom HLA-A2 präsentiert wird, spezifisch und wurden aufgrund von strukturbasierten rationalen Voraussagen entworfen (6, 7). Wir haben festgestellt, dass die Antitumor-T-Zellfunktion durch Erhöhung der TCR/pMHC-Affinität innerhalb der physiologischen Grenzen verbessert werden kann. Paradoxerweise führen weitere Steigerungen zu drastischen funktionalen Abnahmen (8, 9) (**Abb. 2**).

Unsere Studie hat auch gezeigt, dass es ein Affinitätsfenster für optimale T-Zellfunktion gibt. Kontrolliert wird dieses von verschiedenen Molekülen, wie etwa dem Inhibitionsrezeptor PD-1 oder den SHP-1- und SHP-2-Phosphatasen, von denen bekannt ist, dass sie Signaltransduktion, Aktivierung und spätere Funktion von T-Zellen regulieren ((10); *Presotto, Hebeisen et al.*, nicht publizierte Daten). Insgesamt weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass es in Antitumor-T-Zellen, die TCRs mit verbesserter Affinität exprimieren, verschiedene Kontrollebenen gibt. Möglicherweise werden T-Zellaktivierung und -signaltransduktion durch einen Affinitätsschwellwert für TCR/pMHC-Interaktionen, oberhalb dessen T-Zellen keine produktiven Funktionen entwickeln können, limitiert.

Unsere Arbeit zeigt weiter, dass TCR-Affinität und –Avidität für Tumorantigene/Autoantigene sorgfältig und stufenweise optimiert werden müssen; dies um (i) T-Zellfunktionalität zu maximieren, (ii) Toxizität, die mit on-target Vernichtung von Antigen exprimierendem normalem Gewebe oder Verlust der Zielspezifität assoziiert ist, zu verhindern und (iii) Hochregulierung von inhibierenden regulatorischen Mechanismen (hiernach Immunmodulation/-regulation genannt) zu minimieren.

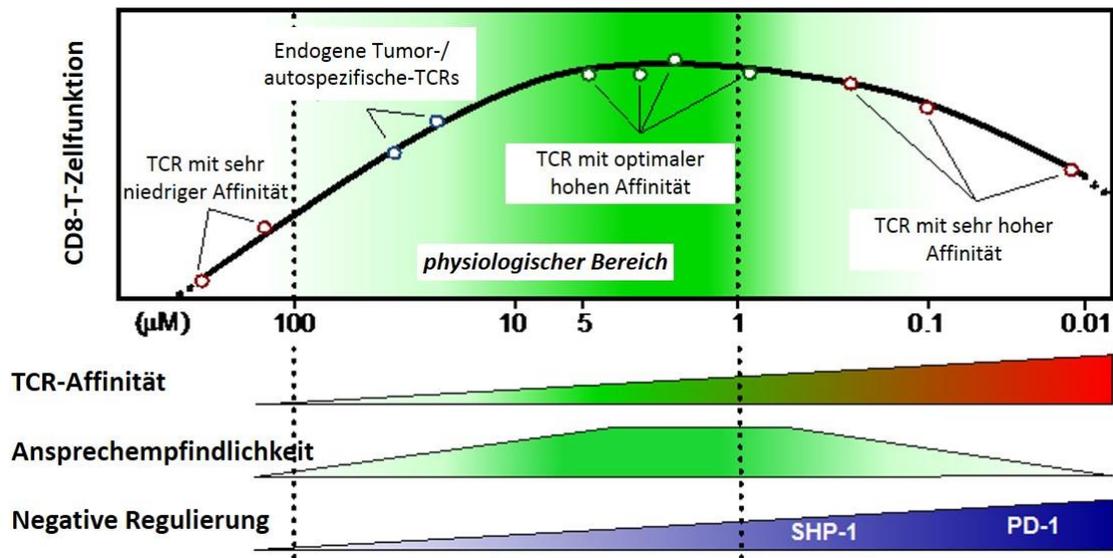


Abbildung 2. Modell, das den Zusammenhang zwischen T-Zellfunktion, TCR-Affinität und negativer Regulierung aufzeigt (11). Dank unseres einzigartigen Panels von CD8-T-Zellen, die TCRs mit steigender Affinität für das NY-ESO-1 Tumorantigen exprimieren, sind wir in der Lage zu zeigen, dass der inhibierende Rezeptor PD-1 und die SHP-1 Phosphatase zur Beschränkung der von der TCR-Affinität abhängigen T-Zellaktivierung und Ansprechempfindlichkeit beitragen (10, 11).

Gegenwärtig untersuchen wir in unserem Panel von T-Zellen, die TCRs mit steigenden Affinitäten für das NY-ESO-1 Tumorantigen exprimieren, molekulare Mechanismen, die an der Regulation der durch TCR-Affinität vermittelten Signaltransduktion und Funktion beteiligt sind. Wir werden molekulare Spieler (z.B. Cbl-Proteine), die zur negativen Regulierung der TCR-vermittelten Signalkaskade im TCR/pMHC Affinitätsbereich beitragen, charakterisieren und modulieren, um deren Einfluss auf die T-Zellfunktion gegen Tumorzellen präzise zu bestimmen. Das Verständnis der T-Zellregulation und die Identifizierung von tumorspezifischen T-Zellen mit optimierter Funktion tragen zur rationalen Entwicklung der Immuntherapie bei. Diese Studie ist mit einem anderen Projekt, das kürzlich vom Schweizerischen Nationalfonds bewilligt wurde (FNS 310030-159417), abgestimmt. Letzteres strebt folgende Ziele an: (i) Untersuchung der Auswirkung der TCR-Avidität auf die Selbstreaktivität gegen HLA-A2, die möglicherweise zu einer erhöhten Expression von Immunregulatoren wie PD-1 führen könnte und (ii) Herstellung neuer TCR-Varianten, die eine erhöhte Spezifität für das Peptid aufweisen, ohne HLA-A2-Reaktivität hervorzurufen.

3. Experimenteller Ansatz

Die E3-Ubiquitin-Ligasen c-Cbl und Cbl-b spielen aus physiologischer Sicht Schlüsselrollen. Unter anderem fungieren sie als Tumorsuppressoren und verhindern den Übergang von normalen Immunantworten zu Autoimmunerkrankungen (12). Insbesondere dienen c-Cbl und Cbl-b als negative Regulatoren der TCR-Signalisierung, indem sie Proteine für den gezielten Abbau mittels Ubiquitinierung bestimmen (13). C-Cbl interagiert mit Zap-70. So wird die Ubiquitinierung der CD3 ζ -Ketten gefördert und TCR-Aktivierung während der positiven thymischen Selektion herunterreguliert. Cbl-b hingegen ist hauptsächlich an der Herunterregulierung der TCR-Signaltransduktion in vollentwickelten peripheren T-Zellen beteiligt. Unser gegenwärtiger Ansatz zielt auf die Schlüsselrolle von c-Cbl in der Modulation der proximalen TCR-Aktivierung und – Signalisierung im TCR-Affinitätsbereich. Erste Resultate zeigen ein progressives Hochregulieren der c-CBL-Expression in T-Zellen von steigender Affinität (*Presotto, Hebeisen, Rufer et al., unveröffentlichte Daten*).

Wir vermuten, dass c-Cbl als TCR-affinitätsabhängiger Feedback-Mechanismus fungiert. Dieser Mechanismus ist Teil eines modulierbaren Systems, welches antigenspezifischen T-Zellen ermöglicht, ihre Reaktivität an verschiedene Stimulationsbedingungen anzupassen.

Im Rahmen unserer ersten Zielvorgabe werden wir die Aktivierungszustände von c-Cbl und Cbl-b in CD8-T-Zellen, die TCR-Varianten mit steigender Affinität für NY-ESO-1 exprimieren, charakterisieren. Dazu verwenden wir Durchflusszytometrie mit einem Phosphoflow-Test, den wir kürzlich entwickelt haben (14) und Western-Blotting (10), sowohl in der Ausgangssituation (Kontrolle) als auch nach multimerspezifischer Stimulierung (1, 5, 10 und 30 Minuten). Mithilfe eines kürzlich validierten monoklonalen Anti-phospho-c-Cbl-Antikörpers (Tyr700; ref 558100, BD Biosciences) (*Presotto, Hebeisen, Rufer et al., unveröffentlichte Daten*) werden wir die Rolle der c-Cbl-Expression sorgfältig bestimmen. Auch werden wir entweder mit einem Phosphoflow-Test oder Western Blotting mehrere monoklonale Antikörper gegen menschliches Cbl-b testen. Nach der Validierung planen wir, in unserem Panel von TCR-transduzierten T-Zellen die Auswirkung von TCRs mit gesteigerter Affinität auf das Expressionsausmass von Cbl-b zu charakterisieren. Auch die Expression verschiedener Moleküle (z.B. Zap-70, LAT, PLC- γ , PI3K und SLP-76), die an der TCR-vermittelten Signalisierung beteiligt sind und selektiv von den Cbl-Proteinen ubiquitiniert werden, möchten wir charakterisieren.

Im Rahmen unserer zweiten Zielvorgabe werden wir die molekularen Mechanismen untersuchen, die an der Negativregulierung der T-Zellen, die unser Panel von TCRs mit steigender Affinität für das NY-ESO-1 Tumorantigen exprimieren, beteiligt sind (**Abb. 2**). In Zusammenarbeit mit Dr. M.-A. Doucey (Abteilung Onkologie, UNIL/CHUV) werden wir mittels Transduktion eines C381A c-Cbl-Mutanten mit fehlender E2-Ubiquitinligase-Aktivität oder durch Erhöhung der c-Cbl-Konzentration dank zytolytischer Transduktion, die biologische Bedeutung der c-Cbl-Expression in diesen T-Zellen mit verbesserter TCR-Affinität bewerten (15).

Danach werden wir die funktionalen Auswirkungen der verringerten enzymatischen c-Cbl-Aktivität oder der erhöhten c-Cbl-Konzentration auf TCR-Herabregulationsexperimente (10), TCR-vermittelte Signalisierung (z.B. pCD3 ζ , pZap70 und pERK mittels Phosphoflow-Test, *Presotto et al., nicht publizierte Daten*; Kalziummobilisationstest (10)) und Funktionalität (z.B. Proliferation, Zytokinsekretion und Zielzellenabtötung) untersuchen. Auch möchten wir ähnliche Experimente durchführen, in denen Cbl-b überexprimiert oder deren Expression blockiert wird, um so die genaue Rolle von Cbl-b in T-Zellen mit verbesserter TCR-Affinität zu bestimmen.

Im Rahmen unserer dritten Zielvorgabe werden wir, nach adoptivem Transfer in immundefiziente NOD/SCID/ γ c $^{-/-}$ (NSG) Mäuse, die *in vivo* Auswirkungen von enzymatisch inhibiertem oder überexprimiertem c-Cbl in CD8-T-Zellen mit verbesserter TCR-Affinität untersuchen. Nach der Rekonstitution mit diesen verschiedenen tumorspezifischen T-Zellen, werden menschliche HLA-A2/NY-ESO-1+ Melanomzelllinien (Me 275- oder Me 290-Zellen) auf die NSG-Mäuse gepfropft. Wichtige Arbeitsziele sind die *in vivo* Expansion von tumorspezifischen T-Zellen und die Bestimmung derer funktionalen Kapazität zur Tumorerkennung und -vernichtung.

In den letzten Jahren haben wir ein einzigartiges und leistungsstarkes Modell entwickelt, das es uns erlaubt, die Rolle der TCR/pMHC-Avidität auf verschiedene biologische Parameter präzise zu bestimmen. Dazu gehören Zellsignalisierung und -aktivierung und Funktion tumorspezifischer T-Zellen. Ein zentrales Ziel ist die Identifikation von regulatorischen Schlüssel-molekülen, die für die Regulierung von TCR-affinitätsvermittelter Signaltransduktion, Funktion und Immunmodulation verantwortlich sind. Die Identifikation dieser molekularen Mechanismen (wie z.B. die hier beschriebenen c-Cbl und Cbl-b) hebt das komplexe regulatorische Netzwerk hervor, das T-Zellimmunantworten in Krebs, Autoimmunität und Infektionserkrankungen kontrolliert. In dieser Hinsicht ist c-Cbl ein besonders interessanter Kandidat, da bekannt ist, dass dieses Molekül von hemmenden Oberflächenrezeptoren in T-Zellen rekrutiert wird. Auch wurde gezeigt, dass es vorzugsweise in den T-Zellen mit der höchsten TCR-Affinität hochreguliert wird (*Presotto, Hebeisen et al., nicht publizierte Daten*). Besonders wichtig ist die Tatsache, dass Erkenntnisse aus solchen Studien unser Wissen über T-Zell vermittelte Immunantworten gegen Tumorzellen verbessern und für die Entwicklung neuer Immuntherapien wesentlich sind.

Referenzen

1. Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, Cassard L, Yang JC, Hughes MS, Kammula US, Royal RE, Sherry RM, Wunderlich JR, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood*. 2009;114(3):535-46.
2. Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, Yang JC, Sherry RM, Dudley ME, Wunderlich JR, Nahvi AV, Helman LJ, Mackall CL, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol*. 2011;29(7):917-24.
3. June CH, Maus MV, Plesa G, Johnson LA, Zhao Y, Levine BL, Grupp SA, and Porter DL. Engineered T cells for cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2014;63(9):969-75.
4. Morgan RA, Chinnasamy N, Abate-Daga D, Gros A, Robbins PF, Zheng Z, Dudley ME, Feldman SA, Yang JC, Sherry RM, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. *J Immunother*. 2013;36(2):133-51.
5. Stone JD, and Kranz DM. Role of T cell receptor affinity in the efficacy and specificity of adoptive T cell therapies. *Front Immunol*. 2013;4:244.
6. Zoete V, Irving MB, and Michielin O. MM-GBSA binding free energy decomposition and T cell receptor engineering. *J Mol Recognit*. 2010;23(2):142-52.
7. Zoete V, Irving M, Ferber M, Cuendet MA, and Michielin O. Structure-Based, Rational Design of T Cell Receptors. *Front Immunol*. 2013;4:268.
8. Schmid DA, Irving MB, Posevitz V, Hebeisen M, Posevitz-Fejfar A, Sarria JC, Gomez-Eerland R, Thome M, Schumacher TN, Romero P, et al. Evidence for a TCR affinity threshold delimiting maximal CD8 T cell function. *J Immunol*. 2010;184(9):4936-46.
9. Irving M, Zoete V, Hebeisen M, Schmid D, Baumgartner P, Guillaume P, Romero P, Speiser D, Luescher I, Rufer N, et al. Interplay between T cell receptor binding kinetics and the level of cognate peptide presented by major histocompatibility complexes governs CD8+ T cell responsiveness. *J Biol Chem*. 2012;287(27):23068-78.
10. Hebeisen M, Baitsch L, Presotto D, Baumgaertner P, Romero P, Michielin O, Speiser DE, and Rufer N. SHP-1 phosphatase activity counteracts increased T cell receptor affinity. *J Clin Invest*. 2013;123(3):1044-56.
11. Hebeisen M, Oberle SG, Presotto D, Speiser DE, Zehn D, and Rufer N. Molecular insights for optimizing T cell receptor specificity against cancer. *Front Immunol*. 2013;4:154.
12. Mohapatra B, Ahmad G, Nadeau S, Zutshi N, An W, Scheffe S, Dong L, Feng D, Goetz B, Arya P, et al. Protein tyrosine kinase regulation by ubiquitination: critical roles of Cbl-family ubiquitin ligases. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833(1):122-39.
13. Barrera-Vargas A, Gomez-Martin D, and Alcocer-Varela J. T cell receptor-associated protein tyrosine kinases: The dynamics of tolerance regulation by phosphorylation and its role in systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol*. 2014.
14. Baumgaertner P, Jandus C, Rivals JP, Derre L, Lovgren T, Baitsch L, Guillaume P, Luescher IF, Berthod G, Matter M, et al. Vaccination-induced functional competence of circulating human tumor-specific CD8 T-cells. *Int J Cancer*. 2011.
15. Brembilla NC, Weber J, Rimoldi D, Pradervand S, Schutz F, Pantaleo G, Ruegg C, Quadroni M, Harshman K, and Doucey MA. c-Cbl expression levels regulate the functional responses of human central and effector memory CD4 T cells. *Blood*. 2008;112(3):652-60.

STIPENDIUM „KREBS UND IMMUNOLOGIE“

Interaktionen zwischen T Lymphozyten und Melanomzellen

Im Januar 2015 wurde Natalie Neubert mit der Unterstützung der Zwillenberg Stiftung dieses „zweckgebundene Stipendium“ in der Höhe von CHF 40'000.- für ein Jahr gewährt.

Natalie Neubert arbeitet im Labor von Professor Daniel Speiser, Gruppe Klinische Tumorbiologie & Immuntherapie, LICR@UNIL.

Einleitung

2008 gab es in Europa aufgrund von Melanomen (schwarzem Hautkrebs) über 67'000 Neuerkrankungen und über 14'000 Todesfälle. In der Schweiz war die Inzidenz am höchsten (Zahl der jährlichen Neuerkrankungen pro 100'000 Einwohner). Trotz beachtlicher medizinischer Fortschritte in den letzten Jahren, bleibt die Prognose für Patienten mit metastasierendem Melanom leider schlecht.

Zytotoxische CD8+ T-Zellen sind wichtige Immunzellen, die beträchtliche Antitumoraktivität aufweisen (**Abb. 1**). Bei Hautkrebspatienten können sie in das Tumorgewebe einwandern und die Melanomzellen (Hautkrebszellen) angreifen. Obwohl tumorspezifische CD8+ T-Zellen Tumorzellen töten können, zerstört die Immunantwort den Tumor oft nicht ganz und viele Patienten werden rückfällig.

Warum können Melanomzellen in der Gegenwart von tumorspezifischen T-Zellen überleben oder sich gar vermehren? Wir untersuchen die Interaktion zwischen der Tumorzelle und den in den Tumor eingewanderten zytotoxischen T-Zellen. Insbesondere sind wir an den direkten Reaktionen von überlebenden Melanomzellen auf den Kontakt mit melanomspezifischen T-Zellen interessiert.

Stand der Forschung nach vier Jahren

Um den Dialog von T-Zellen mit Tumorzellen besser zu verstehen, haben wir ein Co-Kultursystem bestehend aus zytotoxischen CD8+ T-Zellen und Melanomzelllinien (Hautkrebszelllinien) etabliert (**Abb. 2A**). Melanome können aus Melanozyten entstehen. Dabei handelt es sich um pigmentierte Zellen, die sich hauptsächlich in der Haut, aber auch im Auge und im Innenohr befinden. Sie produzieren Proteine, sogenannte melanomspezifische Antigene wie zum Beispiel MelanA, die für diesen Zelltyp einzigartig sind. Diese Antigene können von T-Zellen mit Hilfe ihres T-Zellrezeptors erkannt werden.

Zuerst wurde untersucht, inwieweit sich Melanomzellen (Hautkrebszellen), die die Gegenwart von melanomspezifischen T-Zellen überlebt haben, von unbehandelten Melanomzellen unterscheiden. Eine genomweite Analyse zeigte, dass sich das Verhalten von Hunderten von Genen während der Co-Kultur verändert. Die drei untersuchten Melanomzelllinien verhielten sich ähnlich. Die veränderten Gene spielen in der Antigenpräsentation, in den Interferonsignalwegen und in der Zell-Zell-Kommunikation eine Rolle.

Ungefähr 200 vielversprechende Gene wurden für weitere Genexpressionsanalysen ausgewählt. Das Ziel dieser Experimente war festzustellen, ob ein Kontakt mit melanomspezifischen T-Zellen notwendig ist, um Veränderungen in den Melanomzellen hervorzurufen, oder ob T-Zellen, die ein nicht-relevantes Antigen erkennen, die also nicht mit Melanomzellen interagieren (Kontroll-T-Zellen), die gleichen Auswirkungen haben. Über 80 Gene veränderten sich in Gegenwart von melanomspezifischen T-Zellen, aber nicht in Gegenwart von Kontroll-T-Zellen (**Abb. 2B**).

TNF α und IFN γ sind zwei lösliche Faktoren (sogenannte Zytokine), die von T-Zellen nach Kontakt mit ihren Zielzellen in die Umgebung abgegeben werden. Interessanterweise verhielten sich Melanomzellen, die mit TNF α und IFN γ behandelt wurden, ähnlich wie Melanomzellen, die mit melanomspezifischen T-Zellen behandelt wurden. Dies deutet darauf hin, dass Faktoren, die von Tumorzellen angreifenden T-Zellen abgegeben werden, benachbarte Melanomzellen ohne direkten Zell-Zell-Kontakt verändern können.

Anschliessend wollten wir wissen, ob die Veränderungen auf der mRNA Ebene auch auf der Proteinebene weitergegeben werden. In der Tat waren mehrere Proteine, die Einfluss auf den Entzündungsstatus haben, erhöht nachdem Melanomzellen mit melanomspezifischen T-Zellen kultiviert wurden. Unspezifische Kontroll-T-Zellen haben diesen Effekt nicht bewirkt (**Abb. 2C**).

Um zu überprüfen, ob unsere Beobachtungen ein allgemeingültiges Phänomen sind und nicht nur eine Rolle in unseren ausgewählten vier Zelllinien spielen, wurden 16 Zelllinien mit TNF α und IFN γ behandelt. Die Proteinexpression im Ruhezustand war zwischen den verschiedenen Zelllinien unterschiedlich. Aber die Reaktion der Zelllinien auf TNF α und IFN γ war mit nur kleinen Abweichungen unter den 16 Zelllinien überraschend homogen. Dies deutet darauf hin, dass es sich bei den Veränderungen nicht um patientenspezifische, sondern eher um allgemeine Phänomene handelt.

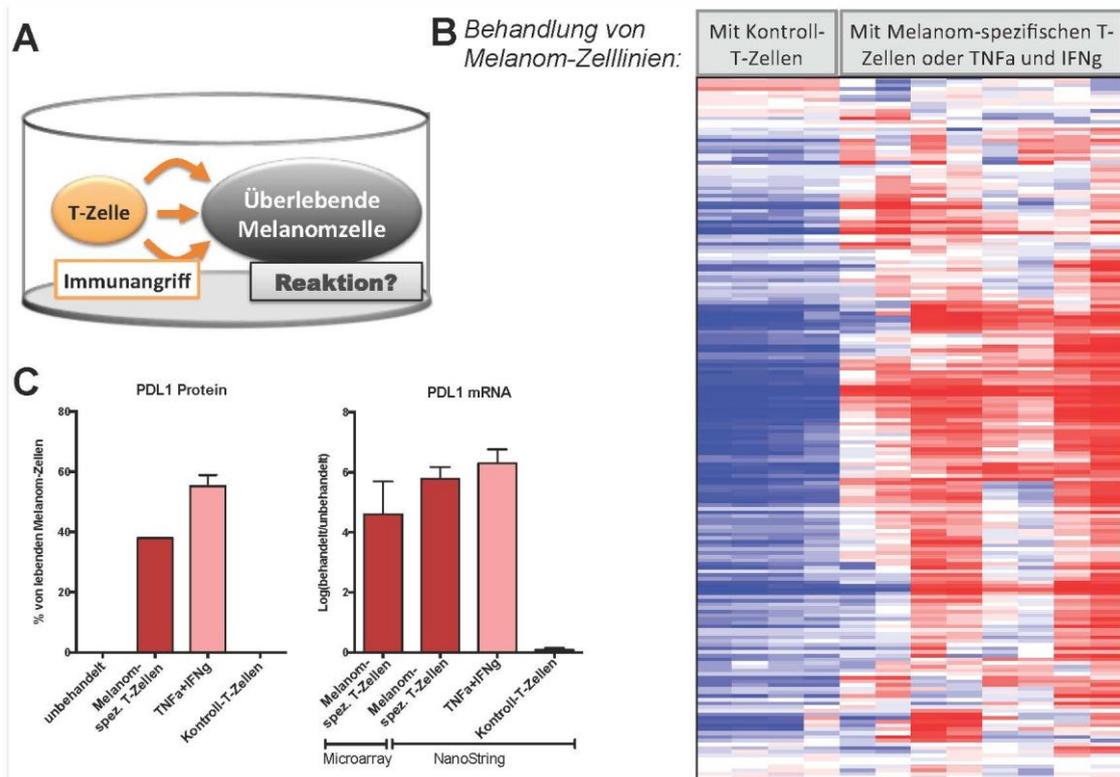


Abbildung 2

- (A) Modell für die Co-Kultur von melanomspezifischen T-Zellen mit einer Melanomzelllinie.
- (B) Verhalten von 185 ausgewählten Genen in Melanomzelllinien, die mit Kontroll-T-Zellen, melanomspezifischen T-Zellen oder TNF α und IFN γ behandelt wurden. Jede Spalte stellt eine Melanomzelllinie mit der angegebenen Behandlung dar. Jede Zeile stellt das Verhalten eines Gens dar (im Vergleich zu unbehandelten Zellen). Farbcode: Rot zeigt Gene, die in behandelten Zellen mehr exprimiert sind als in unbehandelten Zellen. Weiss zeigt Gene, die leicht erhöht sind. Blau zeigt solche, die unverändert sind oder weniger exprimiert werden. Die Ergebnisse wurden mithilfe der NanoString Technologie erzeugt.
- (C) PDL1 Expression in einer repräsentativen Zelllinie, die wie angegeben kultiviert wurde. Links: PDL1 Proteinexpression gemessen mit Durchflusszytometrie. Gezeigt wird der Prozentsatz von lebenden Zellen, die PDL1 exprimieren. Rechts: PDL1 mRNA-Expression, gemessen mit Agilent Microarray und NanoString. Gezeigt wird die Veränderung der PDL1 Expression in Melanomzellen mit der angegebenen Behandlung, verglichen mit unbehandelten Melanomzellen.

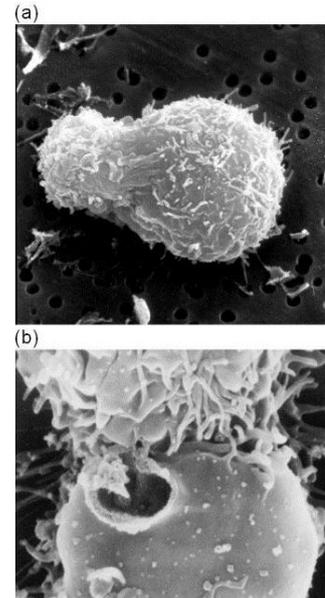
Elektronenmikroskopie. (a) Enge Interaktion einer T-Zelle (links) mit einer grossen Tumorzelle (rechts). (b) Tödliches Loch in der Tumorzelle (unten), das von der T-Zelle (oben) verursacht wurde (ASM MicrobeLibrary©Young).

Zusammenfassung

Die Gegenwart von melanomspezifischen T-Zellen oder die Behandlung mit löslichen Faktoren, die typischerweise von spezifischen T-Zellen abgegeben werden, verursachen viele Veränderungen in den Melanomzellen. In den behandelten Zellen sind die Pegel zahlreicher Proteine, die wichtige biologische Prozesse im Tumorgewebe beeinflussen, erhöht. Unsere Studie mit einer Reihe unterschiedlicher Melanomzelllinien zeigt, dass unsere Beobachtungen ein allgemeines und überraschend homogenes Phänomen sind - gleich oder zumindest ähnlich für Melanome von verschiedenen Patienten. Wir haben verschiedene Proteine identifiziert, die in Zukunft in der Behandlung von Hautkrebspatienten gezielt moduliert werden könnten.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Hypothese einer dynamischen Interaktion zwischen T-Zellen und Melanomzellen, die Tumorresistenzen vorantreibt. Ein besseres Verständnis des komplexen Netzwerkes aus immunstimulierenden und -hemmenden Interaktionen zwischen den Tumorzellen und T-Zellen wird die Tür zu neuen Strategien für die Krebsbehandlung weiter öffnen.

Momentan bereiten wir zwei Veröffentlichungen unserer Ergebnisse in Fachzeitschriften vor.



STIPENDIUM „KREBS UND IMMUNOLOGIE“

Die Rolle des Endoplasmatischen Retikulum-Stresses bei Krebs

Dieses „zweckgebundene Stipendium“ in der Höhe von CHF 40'000.- wurde Bojan Bujisic im Januar 2015 für eine Dauer von 1 Jahr von der gemeinnützigen Dachstiftung EMPIRIS gewährt. **Bojan Bujisic** führt seine Arbeiten im Labor von Professor Fabio Martinon (Abteilung Biochemie, UNIL) durch.

Die Fertigstellung des wissenschaftlichen Berichts ist im Gange.

STIPENDIUM „MOLEKULARE LIFE SCIENCES“

Regulation von Proproteinkonvertase-Aktivitäten in zellulären Kompartimenten und im Gewebe

Dieses „ISREC Stipendium“ in Höhe von CHF 80'000.- pro Jahr wurde **Pierpaolo Ginefra** im Januar 2013 für eine Dauer von vier Jahren gewährt.

Pierpaolo Ginefra führt seine Arbeiten im Labor von Professor Daniel Constam (EPFL/SV/ISREC) durch.

Hintergrund

Sekretierte Enzyme aus der Familie der Subtilisin/Kexin Proproteinkonvertasen (PCSK) stimulieren oder hemmen diverse Hormone, Wachstumsfaktoren und Zelladhäsionsmoleküle durch proteolytische Spaltung spezifischer Erkennungssequenzen. Sowohl in normalen Organen als auch in Tumorgeweben und anderen spezifischen pathologischen Situationen ist ihre physiologische Funktion allerdings ungenügend definiert, unter anderem weil die eindeutige Unterscheidung zwischen den einzelnen enzymatischen Aktivitäten dieser Klasse von "Proteasen" aus technischen Gründen erschwert ist. Manche der häufigsten und tödlichsten Krebserkrankungen (z.B. Lungenadenokarzinome und Melanome) produzieren oft mehr als eine dieser Proteasen in erhöhten Mengen. Diese Tatsache und die ebenfalls erhöhte Aktivität von kritischen Substraten, z.B. TGF β oder Notch, korrelieren allgemein mit fortschreitendem, invasivem und metastasierendem Tumorwachstum. Stimuliert ein niedriger Sauerstoffgehalt die Bildung von Blutgefässen, um einen Tumor mit Nährstoffen und Sauerstoff zu versorgen, so werden PCSK Aktivitäten ebenfalls erhöht. Weiter werden sie zur Bildung einer gewissen Art von Lymphozyten, welche häufig die Abwehr von Tumoren durch das Immunsystem unterdrücken, benötigt. Um solche und andere Krebsmerkmale zu unterbinden, ist es aber wichtig zu wissen, welche dieser neun Proteasen aus der PCSK Familie wann und wo in spezifischen Geweben und zellulären Kompartimenten blockiert werden müssen, um möglichst selektiv nur die gewünschten Substrate beeinflussen zu können. Diese Fragen zu beantworten ist entscheidend, um durch therapeutische Massnahmen selektiv krebsfördernde PCSK Aktivitäten zu hemmen und dadurch toxische Nebenwirkungen einer systemischen Inhibierung aller Proteasen dieser Art zu vermeiden.

Bisherige Forschungsergebnisse

Im ersten Bericht zeigte ich, dass wir mit dem PCSK-FRET basierten Sensor CLIPv4, welcher eine Reihe spezifischer Lokalisierungssequenzen exprimiert, die PC Aktivität in verschiedenen subzellulären Kompartimenten in fixierten HEK293T Zellen messen können.

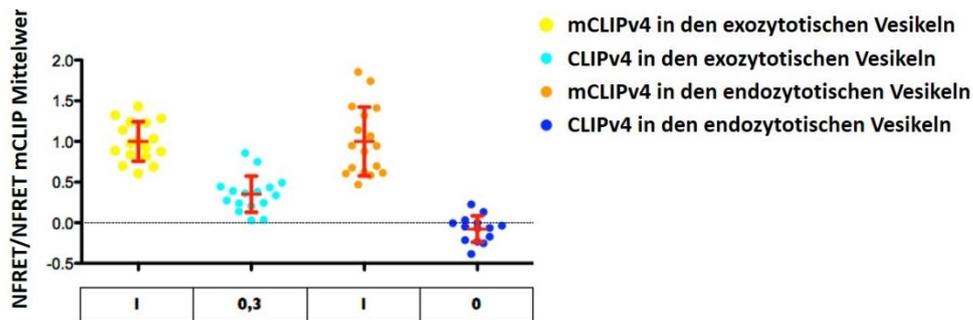
In meinem zweiten Bericht konnte ich zeigen, dass die CLIPv4-Sensoren auch für Live Cell Imaging geeignet sind, zum Beispiel in der B16F1 Mausmelanom Zelllinie.

Forschungsergebnisse im dritten Jahr

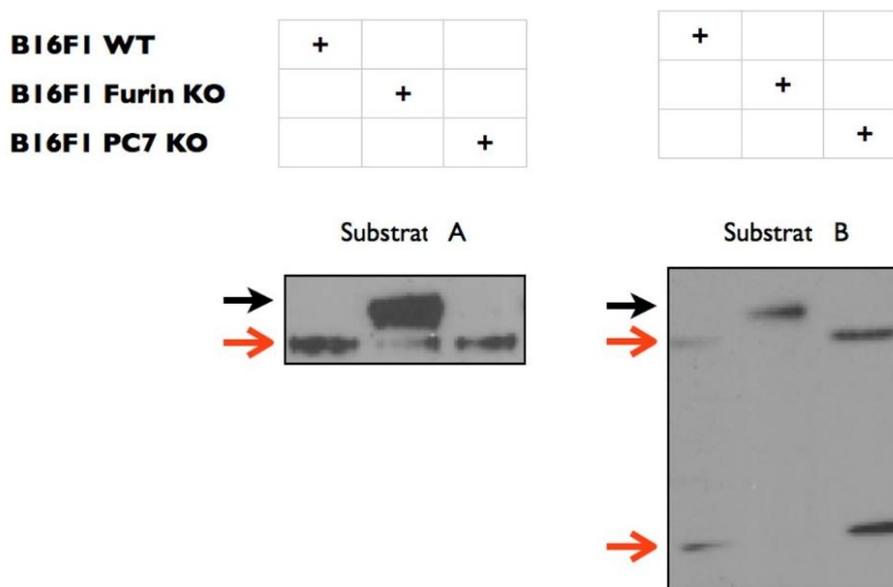
Um die aktiven und endogenen PSKs in B16F1 Melanomzellen zu identifizieren, untersuchte ich den Effekt einer Verminderung der PCSK-Konzentration auf bekannte krebsrelevante PCSK Substrate *in vitro*. Gleichzeitig erforschte ich den Einfluss von PCSKs in der syngeneten Transplantation von B16F1 Zellen *in vivo*. Neben der Erforschung der PCSK Aktivität in B16F1 Zellen mithilfe der CLIPv4-Sensoren, konnte ich zeigen, dass Furin die einzige aktive PCSK im späten Endosom ist. Daher versuchte ich gleicherweise, die PCSKs in alternativen Kompartimenten zu bestimmen. Interessanterweise zeigte die FRET-Analyse der CLIPv4-Sensoren signifikant niedrigere endogene PSCK Aktivität in exozytotischen Vesikeln als in Endosomen. Ausserdem konnte ich gleichzeitig ihre Identität bestimmen. Zusätzlich bestätigte eine pharmakologische Hemmung, dass die CLIPv4-Spaltung in exozytotischen und endozytotischen Vesikeln PCSK abhängig ist, wobei die exozytotische PCSK-Aktivität stärker inhibiert wird als die endosomale. Um zu untersuchen wie der Zelltransport die Aktivität von Furin und PC7 kontrolliert, mutierte ich bekannte Lokalisierungsmotive in ihren zytosolischen Domänen. Wie erwartet veränderten die Mutationen die Lokalisierung der überexprimierten PCSK. Zusätzlich wurden auch die kompartimentspezifischen Profile ihrer proteolytischen Aktivitäten verändert.

Meine Resultate liefern zum ersten Mal einen direkten Nachweis, dass die Substratspezifität und die Aktivität einer PCSK von ihrer subzellulären Lokalisation und ihrem Transport abhängen. Zusammengefasst beschreibt meine Forschung die verschiedenen Komponenten der PCSK-Aktivität in exozytotischen versus endozytotischen Vesikeln und deren Einfluss auf das Tumorwachstum in einem B16F1 Melanommodell. Zu wissen wo und wann die unterschiedlichen PCSKs aktiv sind, wird für zukünftige therapeutische Strategien, welche auf solche Proteasen abzielen, von enormer Wichtigkeit sein.

A)



B)



Quantifizierung der endogenen Aktivität von Furin und PC7 in exozytotischen und endozytotischen Vesikeln und Spaltung von mutmasslichen Substraten in B16F1 Melanomzellen.

- A) Die normalisierte FRET Effizienz (NFRET) von mCLIPv4 diente als positive Kontrolle für maximalen FRET. CLIPv4 NFRET in exozytotischen und endozytotischen Vesikeln in B16F1 wurde mit lichtempfindlicher Emission gemessen, wie früher beschrieben (Xia et al., 2001).
- B) Western Blots bekannter PCSK-Substrate. Schwarzer Pfeil: Intaktes Substrat. Roter Pfeil: Gespaltenes Substrat.

Referenzen

Seidah, N. and A. Prat (2012). "The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases." *Nature Reviews Drug Discovery* 11(5): 367-383.

Xia, Z. P. and Y. H. Liu (2001). "Reliable and global measurement of fluorescence resonance energy transfer using fluorescence microscopes." *Biophysical Journal* 81(4): 2395-2402.

Mesnard, D. and D. B. Constam (2010). "Imaging proprotein convertase activities and their regulation in the implanting mouse blastocyst." *The Journal of Cell Biology* 191(1): 129-139.

Lalou, C., et al. (2010). "Inhibition of the Proprotein Convertases Represses the Invasiveness of Human Primary Melanoma Cells with Altered p53, CDKN2A and N-Ras Genes." *PLoS One* 5(4): e9992.

STIPENDIUM „MOLEKULARE LIFE SCIENCES“

Die Rolle der epithelial-mesenchymalen Transition in nicht-kleinzelligem Lungenkrebs

Dieses „ISREC Stipendium“ in Höhe von CHF 80'000.- pro Jahr wurde **Svenja Groeneveld** im Juni 2013 für eine Dauer von vier Jahren gewährt.

Svenja Groeneveld führt ihre Arbeiten im Labor von Professor Etienne Meylan (EPFL/SV/ISREC) durch.

Einführung

Nicht-kleinzelliger Lungenkrebs (NSCLC) verursacht weltweit mehr Todesfälle als jede andere Krebsart. Die meisten Patienten haben zum Zeitpunkt der Diagnose bereits Metastasen. Ein natürlicher Vorgang, der zur Metastasenbildung beiträgt, ist die epithelial-mesenchymale Transition (EMT). Normalerweise findet sie während der Embryonalentwicklung statt, wird aber häufig in Krebserkrankungen wieder aktiviert. Eine EMT kann durch Transkriptionsfaktoren (EMT-TF), wie z.B. Snail, ausgelöst werden. Erhöhte Mengen von Snail in NSCLC gehen häufig mit einer schlechten Patientenprognose einher. Trotzdem ist weitgehend unklar, wie Snail den Krankheitsverlauf beeinflusst. Meine Arbeit zielt darauf ab, die Rolle von Snail in NSCLC besser zu verstehen. Zusätzlich untersuche ich die Verbindung zwischen dem Hexosamin-Biosyntheseweg (HBP) und der EMT. Dieser Stoffwechselweg stellt ein Produkt her, das die Zelle zur Signalweiterleitung an verschiedene Proteine anheften kann. Dies scheint für eine EMT von Bedeutung zu sein.

Ergebnisse

Snail im Mausmodell

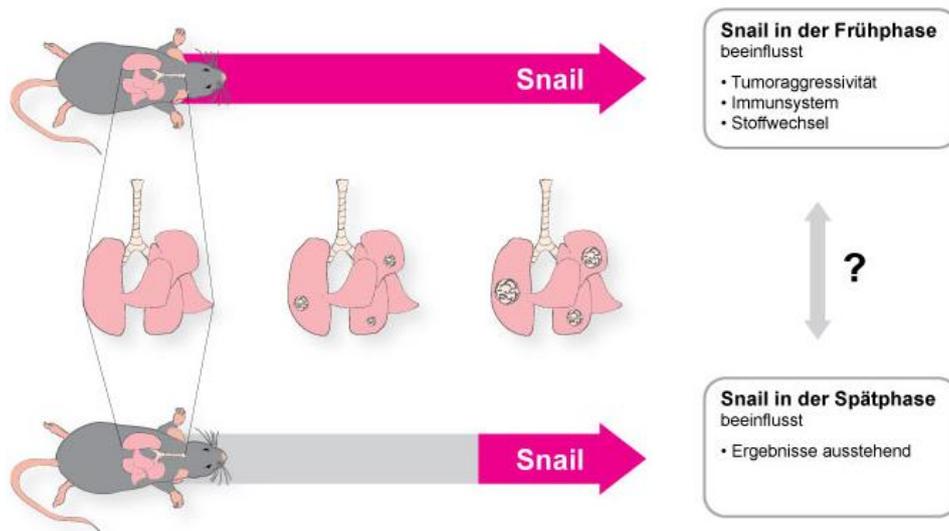
Wir verwenden ein fortschrittliches System, mit dem ein bestimmtes Protein zeitlich kontrollierbar produziert, also induziert, werden kann. Mit dessen Hilfe habe ich Mäuse hervorgebracht, die eine erhöhte Menge des EMT-TF Snail in ihren Lungentumoren aufwiesen. Zwei verschiedene zeitliche Abläufe der Snail-Induktion wurden verwendet. Erstens wurde Snail während der Tumorentstehung induziert, was seine Rolle in der frühen Lebensphase des Tumors nachahmt. Zweitens wurde Snail in bereits etablierten Tumoren induziert, was seinen Einfluss auf das spätere Leben des Tumors imitiert.

Snail in der Tumorentstehung

Die Induktion von Snail in der frühen Tumorentwicklung führte zur Entstehung weniger, aber grösserer Tumore. Die Wachstumsgeschwindigkeit blieb allerdings unverändert. Insgesamt schienen die Tumore bösartiger und weiter fortgeschritten zu sein. Dementsprechend waren EMT und die Invasion anderer Strukturen, wie Blutgefässe und Bronchien, häufiger. Zudem war die Zusammensetzung der Immunzellen innerhalb der Tumore verändert. Der Effekt von Snail auf das Immunsystem wurde ebenfalls mithilfe einer umfangreichen Analyse beobachtet, bei der alle Gene mit einer veränderten Expression erfasst wurden. Hierbei waren nach der Snail-Induktion viele Gene, die eine Rolle in der Immunantwort spielen, aktiver. Die vollständige Analyse der späten Snail-Induktion steht noch aus.

Der Hexosamin-Biosynthese Weg

Ich habe festgestellt, dass in menschlichen NSCLC-Zellen die Aktivierung einer EMT zu einer verstärkten Produktion des wichtigen HBP-Enzyms Glutamin-Fruktose-6-Phosphat-Aminotransferase 2 (GFPT2) führt. Zusätzliche Experimente haben nun ergeben, dass die Proteinmodifikation, für die der HBP das Substrat produziert, ebenfalls gesteigert ist. Interessanterweise fand der Anstieg von GFPT2 und der Modifikation ebenfalls in Tumoren der Maus statt, wenn Snail zu einem frühen Zeitpunkt induziert wurde. Andererseits rief eine forcierte Steigerung der GFPT2-Produktion in NSCLC-Zellen alleine keine EMT hervor und die Unterdrückung der GFPT2-Steigerung während einer EMT verhinderte die Transition nicht. Allerdings führte die Reduktion des Enzyms in bereits mesenchymalen Zellen zur Annahme epithelialer Charakteristika.



Snail-Induktion in der Früh- und Spätphase der Tumorentwicklung im Mausmodell des NSCLC

Um die Rolle von Snail im NSCLC zu untersuchen, wurden zwei Induktionsschemata vergleichsweise angewandt. Oben: Snail-Induktion in der Frühphase ahmt den Einfluss auf die Tumorentstehung nach. Unten: Snail-Induktion in der Spätphase imitiert die Rolle in bereits etablierten Tumoren.

Zusammenfassung

In meinem zweiten Jahr habe ich den Effekt der Produktion des EMT-TF Snail im Mausmodell des menschlichen NSCLC untersucht. Ich fand heraus, dass Snail nicht nur EMT auslöste, sondern auch die Bösartigkeit der Tumore steigerte und die Zusammensetzung ihrer Immunzellen veränderte. Zusätzlich wandelte sich ihr Stoffwechsel. Die Rolle des EMT-TF Snail scheint in NSCLC also über das Auslösen einer EMT hinauszugehen. Die aktuellen, den HBP betreffenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass dieser Stoffwechselweg dazu beiträgt, einen mesenchymalen Status aufrechtzuerhalten, sobald die Transition erfolgt ist.

ISREC LEHRSTUHL „TRANSLATIONALE ONKOLOGIE“

Signaltransduktionsmechanismen und neue Behandlungsstrategien für hämatologische Erkrankungen

Dieser Lehrstuhl wurde im März 2011 mit einem Betrag von CHF 500'000.- pro Jahr für eine Dauer von sechs Jahren ausgestattet.

Er wurde **Prof. Oliver Hantschel** und seiner Forschungsgruppe (EPFL/SV/ISREC) zugesprochen.

Einleitung

Krebs wird durch Veränderungen des genetischen Materials der Zelle verursacht, wodurch es zur Herstellung strukturell veränderter Proteine kommt. In der Folge wachsen und vermehren sich die Zellen unkontrolliert und es entstehen Tumore. Eine wichtige Proteinklasse mit krebserzeugenden Eigenschaften sind die Proteinkinasen. Diese Enzyme funktionieren als molekulare Schalter und liegen im Normalzustand der Zelle in der ausgeschalteten, inaktiven Form vor. In Krebszellen hingegen befinden sich diese Kinasen in einem angeschalteten, immerzu aktiven Zustand. Seit dem Jahr 2001 wurden 30 neue Medikamente zugelassen, die gerade diesen angeschalteten Zustand der Kinase blockieren und somit das Tumorwachstum einschränken. Leider sind die Erfolge des Wirkstoffes oft nur von kurzer Dauer, da molekulare Veränderungen der Kinasen während der Behandlung die Funktionalität des Wirkstoffes einschränken oder gänzlich verhindern.

Resultate

Massgeschneiderte Monobodies als Proteininhibitoren gegen Krebszellwachstum

Das Hantschel-Labor nutzt kleine genetisch konstruierte Moleküle, so genannte Monobodies, die ähnliche Eigenschaften wie Antikörper besitzen, um die Aktivität von Proteinkinasen in verschiedenen Tumortypen zu hemmen. Antikörper werden in der Onkologie umfangreich genutzt, um Proteine an der Tumorzelloberfläche zu binden. Aufgrund ihrer Grösse und komplexen Struktur können sie jedoch nicht in die Tumorzellen eindringen. Im Gegensatz dazu sind Monobodies viel kleiner (weniger als ein Zehntel der Grösse eines Antikörpers, siehe Abbildung 1). Sie können innerhalb der Zelle genutzt werden und binden die Zielproteine mit extrem hoher Affinität und Spezifität. Im letzten Jahr hat das Hantschel-Labor mehrere Monobodies identifiziert und charakterisiert, die darauf abzielen, Proteinkinasen und andere Onkoproteine zu binden und zu inhibieren. Es ist unser Ziel, Monobodies als neue Klasse von proteinbasierten intrazellulären Wirkstoffen in der Tumorthherapie zu etablieren. Wir hoffen, diese Technologie auch über die Grundlagenwissenschaften hinaus bei Krebspatienten anwenden zu können. Diese innovativen Bestrebungen sprechen ein zentrales Problem in der Krebsforschung an und haben das Potential, einen bahnbrechenden neuen Ansatz in der Krebstherapie darzustellen. Prof. Hantschel hat dafür den Consolidator Grant vom European Research Council (ERC) bekommen. Der ERC wird ab Mitte 2016 für fünf Jahre Fördermittel bereitstellen und somit die Weiterführung dieses Forschungszweigs garantieren.

Einblick in die Komplexität der Genome von Krebszellen

Die Fülle an Informationen über genetische Veränderungen von Krebszellen übersteigt derzeit unser Verständnis über die genauen genetischen Ursachen der Krebsentstehung. Zur effektiven Erarbeitung von Therapieansätzen im Rahmen der personalisierten Medizin ist es jedoch notwendig, angreifbare genetische Veränderungen in der komplexen genetischen Landschaft von Krebszellen zu identifizieren. In Zusammenarbeit mit Forschern des Knight Cancer Institute in Portland, USA und des Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle, USA konnte das Labor von Oliver Hantschel kürzlich eine Studie publizieren, in welcher Punktmutationen der Tyrosinkinase TNK2 in Patienten mit akuter myeloischer Leukämie identifiziert, deren Wirkungsweise aufgeklärt und ein möglicher Therapieansatz mit dem Medikament Dasatinib etabliert werden konnten (Maxson et al. (2015) **Cancer Res.**, 76(1), 127-138).

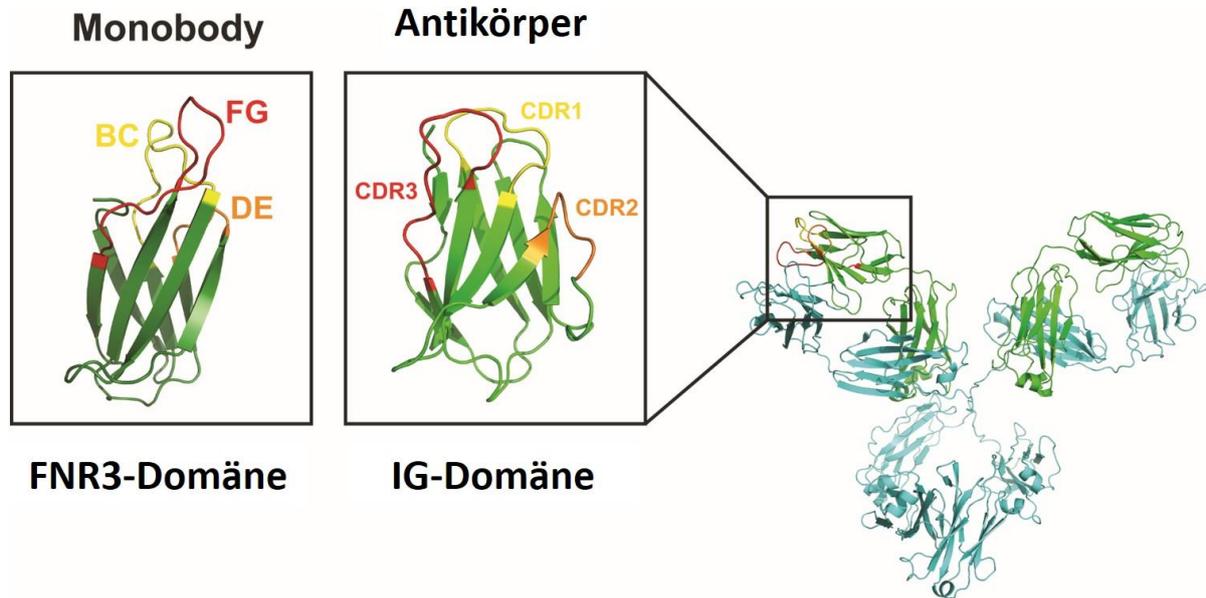


Abbildung:

Vergleich der molekularen Strukturen eines Antikörpers bestehend aus Immunglobulin (Ig) Domänen (links) und eines Monobodys bestehend aus einer Fibronectin Typ 3 (FN3) Domäne (rechts).

ISREC LEHRSTUHL „GRUNDLAGEN DER ONKOLOGIE“

Metabolische Regulierung und Aktivierung zur Nutzung von Antitumorimmunität

Dieser Lehrstuhl wurde im Juni 2013 mit einem Betrag von CHF 500'000.- pro Jahr für eine Dauer von sechs Jahren ausgestattet.

Er wurde der Forschungsgruppe von **Prof. Ping-Chih Ho** (UNIL/LUDWIG) zugesprochen.

Die metabolische Transformation ist ein Hauptmerkmal der meisten Krebszellen. Sie erhöht deren proliferative und antiapoptotische Fähigkeiten, indem sie den anabolischen Metabolismus vorwiegend durch aerobe Glykolyse und Glutaminolyse ankurbelt. Erhöhte aerobe Glykolyse und die Fähigkeit der Krebszellen, Glucose aufzunehmen, begünstigen deren unregulierte Proliferation, indem glykolytische Zwischenprodukte zur Synthese von biosynthetischen Makromolekülen akkumulieren. Diese metabolische Eigenschaft der Krebszellen ist als «Warburg-Effekt» wohl bekannt. Sie unterstreicht die Wichtigkeit des Glucosemetabolismus in der Krebsprogression und stellt gleichzeitig die Grundlage der Fludeoxyglucose-Positronen-Emissionstomographie (FDG-PET) dar. Dabei handelt es sich um die bevorzugte Methode, um primäre und metastatische, bösartige Tumore zu identifizieren und um deren Lage und Wachstum zu verfolgen. Trotz dieser Erkenntnisse ist nicht klar, ob diese metabolischen Zustände der Krebszellen die Funktionen und metabolischen Zustände der infiltrierenden Immun- und Stromazellen modulieren.

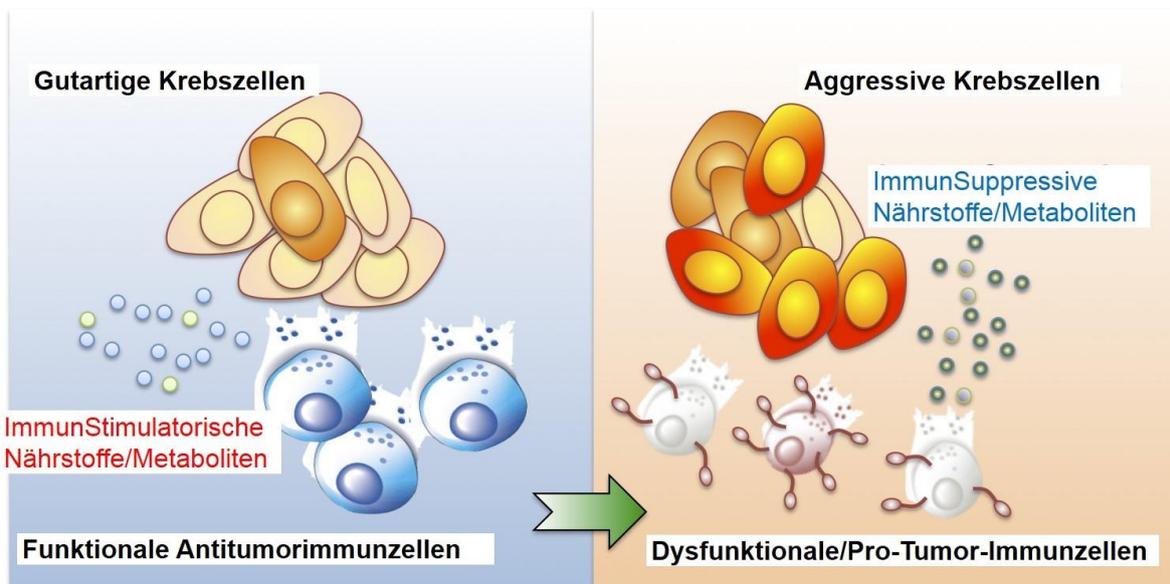
So wie Krebszellen müssen auch aktivierte T-Zellen eine metabolische Umstellung inklusive aerobische Glykolyse und Glutaminolyse durchlaufen, um ihre Expansion, Differenzierung, Migration und die Produktion von Effektormolekülen einzuleiten und aufrechtzuerhalten. Ein bemerkenswertes, besonderes Merkmal von tumorspezifischen T-Zellen ist, dass sie bei der Tumordinfiltration eine gesteigerte co-inhibitorische Rezeptorexpression (z.B. PD-1, Lag3, TIM3) und verminderte Effektorfunktionen aufweisen; Merkmale, die normalerweise der «T-Zell-Erschöpfung» zugeschrieben werden, wenn diese T-Zellen Tumore infiltrieren. Es ist nicht bekannt, wie T-Zellen in der Tumormikroumgebung dysfunktional und/oder erschöpft werden. Andererseits benutzen auch antigenpräsentierende Zellen (APZ), einschliesslich dendritische Zellen und Makrophagen, die aerobe Glykolyse (Warburg-Glykolyse), um ihren Aktivierungs- und Reifungsprozess zu fördern. Nicht ausreichende Glucose oder beeinträchtigte glykolytische Aktivität in diesen APZ führt zu tolerogenen Phänotypen, wie zum Beispiel reduzierter Expression von co-stimulatorischen Rezeptoren und den Haupthistokompatibilitätskomplexen I und II (MHC I und MHC II). Wir stellen in unserem Projekt die Hypothese auf, dass die Tumormikroumgebung eine nährstoffspezialisierte/-eingeschränkte Mikroumgebung bewirken könnte, um die Fähigkeit von tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TIL), die aerobe Glykolyse und einen anabolischen Metabolismus zu erhalten, zu dämpfen. Diese Nährstoffeinschränkung könnte ferner zu beeinträchtigten Antitumorantworten der TILs führen und die Ansammlung von tolerogenen APZ in der Tumormikroumgebung fördern. **Insbesondere möchten wir untersuchen, ob die hohen Raten von aerober Glykolyse und Lipidproduktion in Krebszellen eine «metabolische Falle» für infiltrierende Immunzellen bewirken, welche eine Immunevasion und den Aufbau einer immunsuppressiven Tumormikroumgebung erleichtert.** Falls sich dies bestätigt, könnte es sich um einen verbreiteten, von soliden Tumoren ausgebeuteten Effekt handeln, um T-Zellimmunsuppression bei der Tumordinfiltration durch tumorspezifische T-Zellen zu bewirken, ebenso wie die Bildung von tolerogenen APZ, die T-Zellantworten in der Tumormikroumgebung dämpfen.

Langfristige Ziele dieses Projektes sind die Charakterisierung dieses unterschätzten Bereiches der Tumorimmunologie und die Anwendung der so gewonnenen Erkenntnisse zur Entwicklung neuer Strategien, um mittels einzigartiger und gezielter metabolischer Interventionen die Antitumorimmunität wieder zu erwecken. Dementsprechend sind die spezifischen Ziele dieses Projektes wie folgt:

Erstes spezifisches Ziel: Herausfinden ob erhöhte Raten der aeroben Glykolyse in Tumorzellen diesen erlaubt, der T-Zell-vermittelten Immunüberwachung zu entkommen.

Zweites spezifisches Ziel: Entwicklung von Methoden zur metabolischen Reprogrammierung von tumorreaktiven T-Zellen, um Antitumorantworten in der Tumorumgebung zu steigern.

Drittes spezifisches Ziel: Charakterisierung der Mechanismen, mittels derer die CD40-CD40L Signalisierung dank neuartigen metabolischen Regulierungen tumorinfiltrierende APZs aktiviert. Ferner, die Untersuchung des Einflusses dieser Mechanismen auf das Wiedererwecken der Antitumorimmunität.



- Wie ist die metabolische Dysfunktion mit der Immunevasion verbunden?
- Wie erkennen und integrieren Immunzellen metabolische Aktivität mit Immunantworten?
- Wie können wir Immunzellen metabolisch fördern, um Antitumorantworten zu verbessern?

Das metabolische Milieu der Tumormikroumgebung wird grossenteils vom metabolischen Profil der Tumorzellen beeinflusst. In diesem Projekt möchten wir untersuchen, welche metabolischen Eigenschaften von Tumorzellen erworben werden müssen, um eine Immunevasion herbeizuführen. Ausserdem möchten wir verstehen, wie die metabolischen Interaktionen zwischen Krebs- und Immunzellen die Immunantworten und die ihnen zugrunde liegenden Mechanismen beeinflussen.

Publikationen, die finanziell durch die ISREC Stiftung unterstützt wurden

Ping-Chih Ho*, Pu-Ste Liu (2016) Metabolic communication in tumors: a new layer of immunoregulation for immune evasion. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 4; 4-12. * ist korrespondierender Autor.

Wan-Chen Cheng and **Ping-Chih Ho** (2016) Metabolic tug-of-war in tumors restrains T cell anti-tumor immunity. *Oncolimmunology* (in Druck).

Gregory Verdeil, **Ping-Chih Ho** and Daniel E. Speiser (2016) T cell function and immune regulation in cancer. *Nat. Rev. Immunol.* (in Überarbeitung).

Tagungspräsentationen, die finanziell durch die ISREC Stiftung unterstützt wurden

- 2016 International Symposium of Reproduction and Metabolism, Taipei, Taiwan
- 2016 ISREC-SCCL Symposium 2016: Horizons of Cancer Biology and Therapy, Schweiz
- 2016 World Cancer Congress, Shanghai, China
- 2016 2nd Symposium Tumor Metabolism Meets Immunology, Regensburg, Deutschland
- 2016 5th LIMNA symposium, Lausanne, Schweiz
- 2016 Bellvitge Institute for Biomedical Research, Barcelona, Spanien
- 2016 Master Class Tumor Immunology, Universität Maastricht, Niederlande
- 2016 Kaohsiung Medical University, Kaohsiung City, Taiwan
- 2016 Actelion Pharmaceuticals, Basel, Schweiz
- 2016 Schweizerisches Institut für Allergie- und Asthmaforschung, Davos, Schweiz
- 2015 Center for Immunity and Infection, UNIL, Lausanne
- 2015 Metabolism in Cancer and Stromal Cells, Löwen, Belgien

ISREC LEHRSTUHL „TRANSLATIONALE ONKOLOGIE“

Entschlüsselung der Lymphomgenetik zur Entwicklung neuer Therapien

Dieser Lehrstuhl wurde im November 2014 mit einem Betrag von CHF 500'000.- pro Jahr für eine Dauer von sechs Jahren ausgestattet.

Er wurde **Prof. Elisa Oricchio** und ihrer Forschungsgruppe (EPFL/SV/ISREC) zugesprochen.

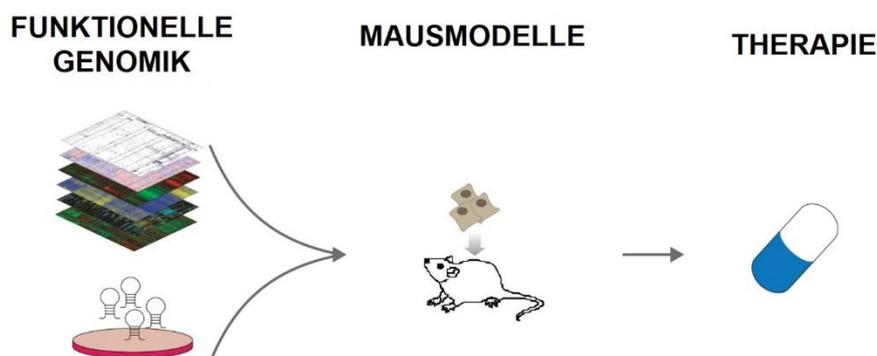
Das Oricchio Labor am ISREC-EPFL wurde im November 2014 eröffnet. Mithilfe der ISREC Stiftung habe ich ein neues Forschungsteam, bestehend aus zwei Doktorandinnen, einer Postdoktorandin und einer erfahrenen Laborantin, zusammengestellt. Unsere Forschung hat sich vorwiegend mit der Genetik des folliculären Lymphoms befasst, um neue Ursachen der Tumorentstehung zu identifizieren und neue therapeutische Strategien zu entwickeln.

Einleitung

Das folliculäre Lymphom (FL) ist eine indolente Form des Non-Hodgkin-Lymphoms mit einer weltweiten Inzidenz von jährlich 120'000 neuen Fällen. Das charakteristische Merkmal dieser Krankheit ist die chromosomale t(14:18) Translokation, die eine konstitutive Expression des anti-apoptotischen Proteins Bcl2 begünstigt. Zusätzlich ist der FL-Phänotyp durch mehrere Veränderungen in der chromosomalen Kopienzahl und durch Mutationen gekennzeichnet. Im FL sind insbesondere Gene für epigenetische Regulatoren (z.B. MLL2 und EZH2) oft mutiert. Diese Gene beeinflussen den Grad der Histonmethylierung und regulieren die Expression verschiedener Gene direkt oder indirekt.

Detaillierte Beschreibung des Projektes

Um neue Ursachen der Lymphompathogenese zu identifizieren, haben wir genomische und genetische Daten aus mehr als 300 FL-Patientenproben integriert. Wir konnten ein neues Gen, Sestrin1, identifizieren. Sestrin1 dient als Ziel für wiederkehrenden Kopienzahlverlust auf Chromosom 6q und für epigenetisches Silencing durch mutiertes EZH2, sowohl im indolenten als auch im transformierten folliculären Lymphom. In unserem Labor benutzen wir das vavP-Bcl2 Mausmodell, um den Einfluss von spezifischen Genveränderungen auf die Entwicklung und Progression des folliculären Lymphoms zu untersuchen. Mithilfe dieses Modells konnten wir zeigen, dass der Verlust von Sestrin1 die Lymphomgenese beschleunigt, was darauf hindeutet, dass Sestrin1 im folliculären Lymphom als Tumorsuppressorgen agiert. Auch erforschen wir die Wirksamkeit eines neuartigen EZH2-Inhibitors, der von GlaxoSmithKline entwickelt wurde und gegenwärtig in klinischen Studien für die Behandlung von Lymphomen charakterisiert wird. Wir konnten nachweisen, dass Sestrin1 ein wichtiger Mediator der therapeutischen Wirksamkeit des EZH2-Inhibitors darstellt und dass der Verlust von Sestrin1 diese Wirksamkeit einschränken kann. In dieser Studie haben wir Sestrin1 als Bindeglied zwischen genetischen und epigenetischen Veränderungen und der Translationsregulation im Lymphom identifiziert. Wir schliessen diese Arbeiten gegenwärtig ab und werden das Manuskript für Peer-Review einreichen.



Langfristig beabsichtigen wir, neue genomische Läsionen in der Krebserkrankung zu charakterisieren, um neuartige, rationale Therapien zu entwickeln.

Zukünftige Vorhaben

Im kommenden Jahr beabsichtigen wir, den Einfluss von mehreren gleichzeitig auftretenden Veränderungen auf die Entwicklung und die Progression des Lymphoms zu charakterisieren. Zu diesem Zweck werden wir neue CRISPR/Cas9 Genom-Editing Technologie verwenden, um Überexpression von Onkogenen zu veranlassen und um Tumorsuppressoren *in vitro* und *in vivo* abzubauen. Wir werden das vavP-Bcl2 Mausmodell benutzen, um die indolente Phase der Krankheit nachzuahmen und Eu-myc Mäuse, um die Lymphomtransformation, die durch die Überexpression von myc vorangetrieben wird, zu untersuchen. Wir beabsichtigen erstens, die Auswirkung des gleichzeitigen Verlusts mehrerer Tumorsuppressorgenkandidaten auf die Lymphomentwicklung und –progression zu definieren; zweitens festzustellen, wie Einzel- und Doppelveränderungen die nachfolgende Signalisierung beeinflussen; und drittens, zu verstehen, wie diese genomischen Veränderungen das Ansprechen der Behandlung mit spezifischen Inhibitoren beeinflussen.

FONDS „TRANSLATIONALE KREBSFORSCHUNG – SARKOM“ Auf NK-Zellen-Triggerring basierte Immunmodulation von gastrointestinalen Sarkomen (GIST)

Untertitel: GIST und NKp30-aktivierende Rezeptoren

Zusammenarbeit zwischen dem CHUV, Lausanne und dem IGR, Paris

Dieser aus einer privaten Schenkung stammende „zweckgebundene Fonds“ im Umfang von CHF 200'000.- pro Jahr wurde im Januar 2012 für eine Dauer von fünf Jahren vergeben.

Forschungseinheit U1015 INSERM und Zentrum für klinische Studien IGR/Curie

Direktor: **Prof. Laurence Zitvogel und Alexander Eggermont**, IGR – Institut Gustave Roussy

Einleitung

Unser Labor hat nachgewiesen, dass gastrointestinale Sarkome (GIST) durch das Immunsystem kontrolliert werden, insbesondere durch NK-Zellen und durch NKp30, dem zentralen aktivierenden Rezeptor. Die paradigmatische Therapie, Glivec/Imatinibmesilat (ein Inhibitor der aberranten onkogenen Tyrosinkinase c-KIT oder von PDGFRA) zeigt Off-Target-Effekte auf das Immunsystem, was zu einer erhöhten Kommunikation zwischen dendritischen Zellen und NK-Zellen und damit zu einer starken Potenzierung der direkten tumoriziden Aktivität von Glivec führt. Trotz des Durchbruchs, der dank dieses zugelassenen Medikamentes erzielt wurde, sind Heilungen selten und langfristige Teilremissionen haben sekundäre Mutationen im Onkogen zur Folge, die für eine therapeutische Kontrolle kaum noch empfänglich sind. Aus diesem Grund muss nach dem ersten Jahr der Imatinibmesilat-Behandlung ein immunonkologisches Management von GIST aufgebaut werden, vorzugsweise basierend auf Immunmodulatoren, die von NK-Zellen anvisiert werden. Ziel unserer Forschung war es, zu untersuchen wie NKp30 eventuell als Prädiktor eines späten Rezidivs dienen könnte und zu ermitteln, welcher immunsuppressive Stoffwechselweg in dieser Krankheit immunonkologisch genutzt werden könnte.

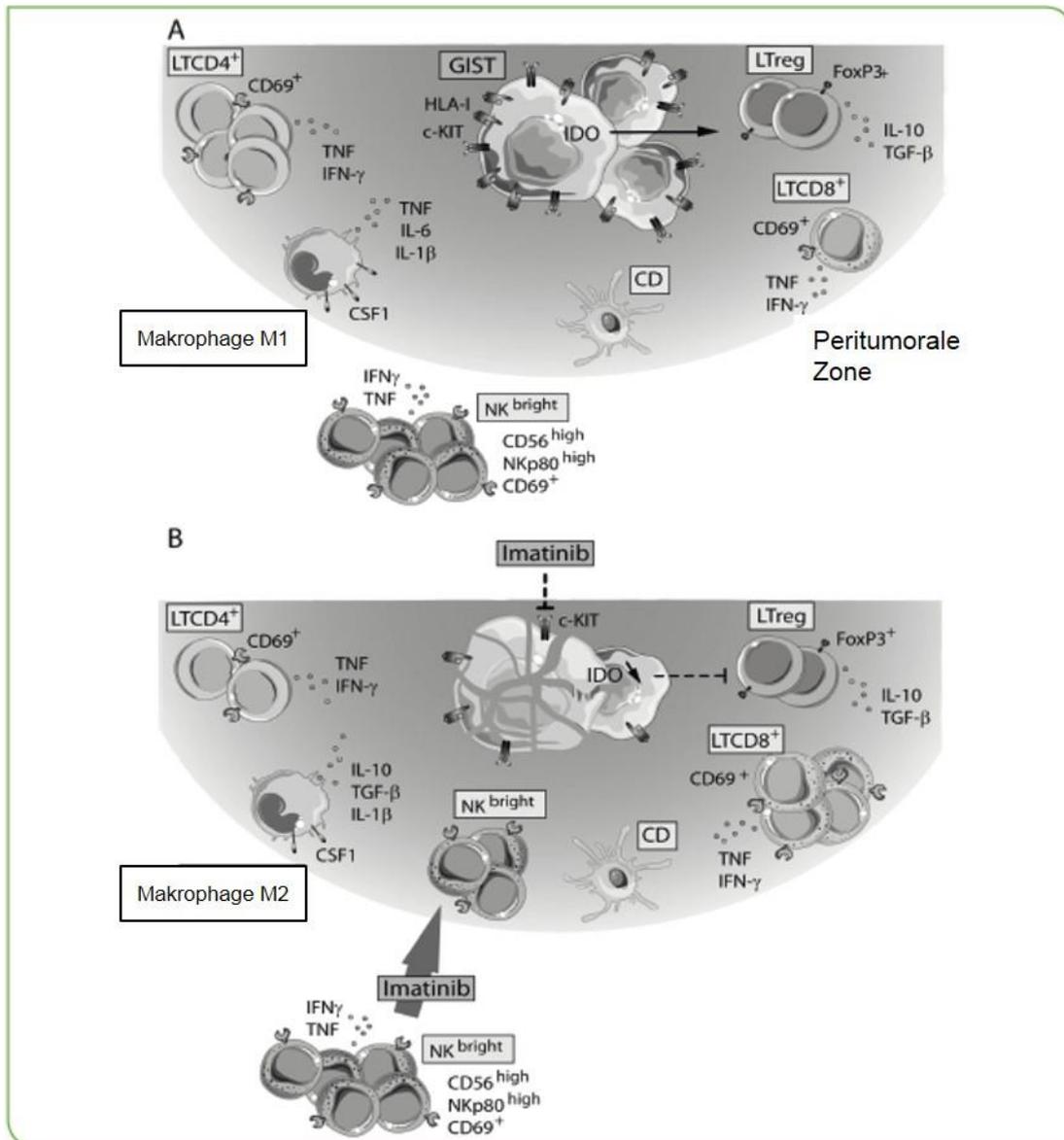
Material und Methoden

Das NKp30-Profil wurde mittels qPCR an Blutleukozyten bestimmt. Es wurden spezifische Primers benutzt, um jede der drei NKp30 Isoformen zu amplifizieren und zu quantifizieren. Mehr als 160 metastatische und 80 lokal fortgeschrittene GIST wurden in einer Test- und in einer Validierungskohorte analysiert. Die NKp30-Liganden wurden mittels ELISA im Serum gemessen. Frische GIST-Tumoren wurden dissoziiert und mit verschiedenen monoklonalen Antikörpern inkubiert, um die Reaktivität von tumorinfiltrierenden Lymphozyten zu prüfen. Statistische Untersuchungen mittels multivariaten Cox Regressionsanalysen wurden durch Biostatistikexperten ausgeführt. Dabei wurden die üblichen Prognoseparameter und die neuen Immunfaktoren berücksichtigt.

Zusammenfassung

Trotz einer wirksamen gezielten Therapie, die auf KIT und PDGFRA Tyrosinkinasen wirkt, entkommen gastrointestinale stromale Tumoren einer Behandlung, dank Mutationen, die eine Resistenz gegen Imatinibmesilat (IM) vermitteln. Anschliessend an die Charakterisierung der NKp30-basierten Immunüberwachung der GIST und der Off-Target-Effekte von IM auf die NK-Zellfunktionen haben wir den prädiktiven Wert von NKp30-Isoformen und löslichen NKp30-Liganden im Blut für die klinische Antwort auf IM untersucht. Die relative Expression und die Proportionen der NKp30-Isoformen hatten in zwei unabhängigen Kohorten von metastatischen GIST Patienten eine markante Auswirkung, sowohl auf das ereignisfreie Überleben als auch auf das Überleben insgesamt. Phänotypen, die auf einem unausgewogenem NKp30B/NKp30C-Verhältnis (ΔBC^{low}) und einer niedrigen Expression von NKp30A beruhten, wurden über alle molekulare Untergruppen hinweg in einem Drittel der Patienten mit einer schlechten Prognose gefunden.

Dieser ΔBC^{low} Blutphänotyp war mit einer proinflammatorischen und immunsuppressiven Tumorumgebung verbunden. Zusätzlich deuteten nachweisbare Spiegel des NKp30-Liganden sB7-H6 auf eine schlechtere Prognose für metastatische GIST. Lösliches AG6, ein Alternativligand für NKp30, war mit einer niedrigen NKp30-Transkription assoziiert und war von zusätzlichem prädiktivem Wert für GIST-Patienten mit hoher NKp30-Expression. Solche GIST-Mikroumgebungen konnten durch Anwendung einer auf rIFN- α , auf monoklonalen anti-TRAIL Antikörpern und auf einer IL-10 Blockade basierenden Therapie gerettet werden, die die angeborene Immunität wiederherstellt. Diese Arbeit wurde im Dezember 2015 zur Publikation in *Oncoimmunology* angenommen und ein Übersichtsartikel in *Nature Review Clin Oncol* ist in Druck.



Natürliche und IM-induzierte Immunüberwachung in GIST.

A. Natürliche Immunüberwachung in GIST. GIST enthalten sowohl Treg- als auch CD4⁺Th1- und CD8⁺Tc1-Zellen, die sich in den Tumornestern befinden und von CD56^{bright} CD16^{dim}-NK-Zellen umgeben sind.

B. IM-Effekte in der Tumorumgebung. IM begünstigt den Verlust von MHC-Klasse-I Molekülen (was auf einen T-Zell-basierten Immun-Editing-Prozess hindeuten könnte), eine Reduktion der intratumoralen, regulatorischen T-Zellen und eine Umsiedlung von NK-Zellen vom Stroma in die Tumorherde, was *in situ* zu einer starken Zunahme des NK/Treg-Verhältnisses führt. Die IM-induzierte Zunahme des NK/Treg-Verhältnisses war in der GIST-Untergruppe, die eine KIT-Exon-11-Mutation aufwies, ausgeprägter (Rusakiewicz et al., *Oncoimmunology*, 2015). Balachandran et al. haben auch über einen positiven Zusammenhang zwischen der enzymatischen IDO Aktivität und Treg Akkumulation post-IM in operablem GIST berichtet (Delahaye N., *Nat Med* 2011).

Publikationen:

Zitvogel L, Rusakiewicz S, Routy B, Ayyoub M, and Kroemer G. The on and off target effects of the first Precision Medicine: the tyrosine kinase inhibitor Imatinib mesylate. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* In press.

Rusakiewicz S, A. Perier, M. Semeraro JM, Pitt, EP von Strandmann, KS Reiners, S. Aspelagh, C. Pipérogrou, F. Vély, A. Ivagnes, S. Jegou, N. Halama, L. Chaigneau, P. Validire, C. Christidis, T. Perniceni, B. Landi, A. Berger, N. Isambert, J. Domont, S. Bonvalot, P. Terrier, J. Adam, JM Coindre, JF Emile, V. Poirier-Colame, K. Chaba, B. Rocha, A. Caignard, A. Toubert, D. Enot, J. Koch, A. Marabelle, M. Lambert, S. Caillat-Zucman, S. Leyvraz, C. Auclair, E. Vivier, A. Eggermont, C. Borg, JY Blay, A. Le Cesne, O. Mir, L. Zitvogel. NKp30 isoforms and NKp30 ligands are predictive biomarkers of response to imatinib mesylate in metastatic GIST patients. *Oncoimmunology*, in press.

Rusakiewicz, S. et al. Immune infiltrates are prognostic factors in localized gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 73, 3499-510 (2013).

Semeraro M, Rusakiewicz S, Minard-Colin V, Delahaye NF, Enot D, Vély F, Marabelle A, Papoular B, Piperoglou C, Ponzoni M, Perri P, Tchirkov A, Matta J, Lapierre V, Shekarian T, Valsesia-Wittmann S, Commo F, Prada N, Poirier-Colame V, Bressac B, Cotteret S, Brugieres L, Farace F, Chaput N, Kroemer G, Valteau-Couanet D, Zitvogel L. Clinical impact of the NKp30/B7-H6 axis in high-risk neuroblastoma patients. *Sci Transl Med.* 2015 Apr 15;7(283):283ra55.

Zitvogel L, Galluzzi L, Viaud S, Vétizou M, Daillère R, Merad M, Kroemer G. Cancer and the gut microbiota: an unexpected link. *Sci Transl Med.* 2015 Jan 21;7(271):271ps1.

Zitvogel L, Galluzzi L, Kepp O, Smyth MJ, Kroemer G. Type I interferons in anticancer immunity. *Nat Rev Immunol.* 2015 Jul;15(7):405-14.

Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, Rusakiewicz S, Routy B, Roberti MP, Duong CP, Poirier-Colame V, Roux A, Becharé S, Formenti S, Golden E, Cording S, Eberl G, Schlitzer A, Ginhoux F, Mani S, Yamazaki T, Jacquelot N, Enot DP, Bérard M, Nigou J, Opolon P, Eggermont A, Woerther PL, Chachaty E, Chaput N, Robert C, Mateus C, Kroemer G, Raoult D, Boneca IG, Carbonnel F, Chamillard M, Zitvogel L. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science.* 2015 Nov 27;350(6264):1079-84.

Vacchelli E, Ma Y, Baracco EE, Sistigu A, Enot DP, Pietrocola F, Yang H, Adjemian S, Chaba K, Semeraro M, Signore M, De Ninno A, Lucarini V, Peschiaroli F, Businaro L, Gerardino A, Manic G, Ulas T, Günther P, Schultze JL, Kepp O, Stoll G, Lefebvre C, Mulot C, Castoldi F, Rusakiewicz S, Ladoire S, Apetoh L, Bravo-San Pedro JM, Lucattelli M, Delarasse C, Boige V, Ducreux M, Delalogue S, Borg C, André F, Schiavoni G, Vitale I, Laurent-Puig P, Mattei F, Zitvogel L*, Kroemer G*. Chemotherapy-induced antitumor immunity requires formyl peptide receptor 1. *Science.* 2015 Nov 20;350(6263):972-8.

FONDS „TRANSLATIONALE KREBSFORSCHUNG – SARKOM“ **Mechanismen der Entstehung und Entwicklung von Sarkomen**

Zusammenarbeit zwischen dem CHUV, Lausanne und dem IGR, Paris

Dieser aus einer privaten Schenkung stammende „zweckgebundene Fonds“ im Umfang von CHF 300'000.- pro Jahr wurde im Januar 2012 für eine Dauer von fünf Jahren vergeben.

Forschungslabor: Institut für Pathologie, UNIL/CHUV, Lausanne

Projektleiter: **Prof. Ivan Stamenkovic**

Einleitung

Sarkome sind bösartige Knochen- und Weichteiltumoren, welche etwa 2% aller bösartigen menschlichen Tumoren und bis zu 15% aller Tumoren bei Kindern umfassen. Trotz multimodalen Therapien weisen die meisten Sarkome eine schlechte Prognose und eine hohe Neigung zu Metastasen auf. Die Ursache dafür liegt zum Teil im schlechten Verständnis der Biologie von Sarkomen begründet.

Ziele des Projektes

Wir haben Studien zur Identifikation der Ursprungszellen von Sarkomen, die einzigartige chromosomale Translokationen aufweisen, durchgeführt, um die onkogenen Ereignisse zu verstehen, welche zu primären Zelltransformationen und zur Entwicklung vollwertiger, zur Metastasenbildung fähiger Tumoren führen. Chromosomale Translokationen in dieser Sarkomuntergruppe führen zur Bildung von Fusionsgenen, die für Proteine kodieren, die meist als aberrante Transkriptionsfaktoren oder Transkriptionsregulatoren fungieren. Diese Fusionsproteine liegen der Pathogenese der entsprechenden Sarkome zugrunde und stellen dementsprechend einen Ansatzpunkt zur Untersuchung von Mechanismen, die zu spezifischen Sarkomen führen, dar. Derartige Mechanismen, die von sarkomspezifischen Fusionsproteinen angewendet werden, um primäre Zellen zu transformieren, müssen aufgeklärt werden. Zu diesem Zweck muss die Wirkungsweise jedes Fusionsproteins verstanden werden. Dazu gehören Effekte auf das Epigenom und das Transkriptom der Zielzelle sowie auf die zur zellulären Hierarchie führenden Reprogrammierung, die für zahlreiche maligne Tumoren (darunter auch die Sarkome) charakteristisch ist. Das Ziel der Studien war die Identifikation potentieller therapeutischer Ziele, die zur Entwicklung von neuen Medikamenten führen könnten, mit denen Sarkome rationell und in mechanismusbasierter Vorgehensweise behandelt werden könnten.

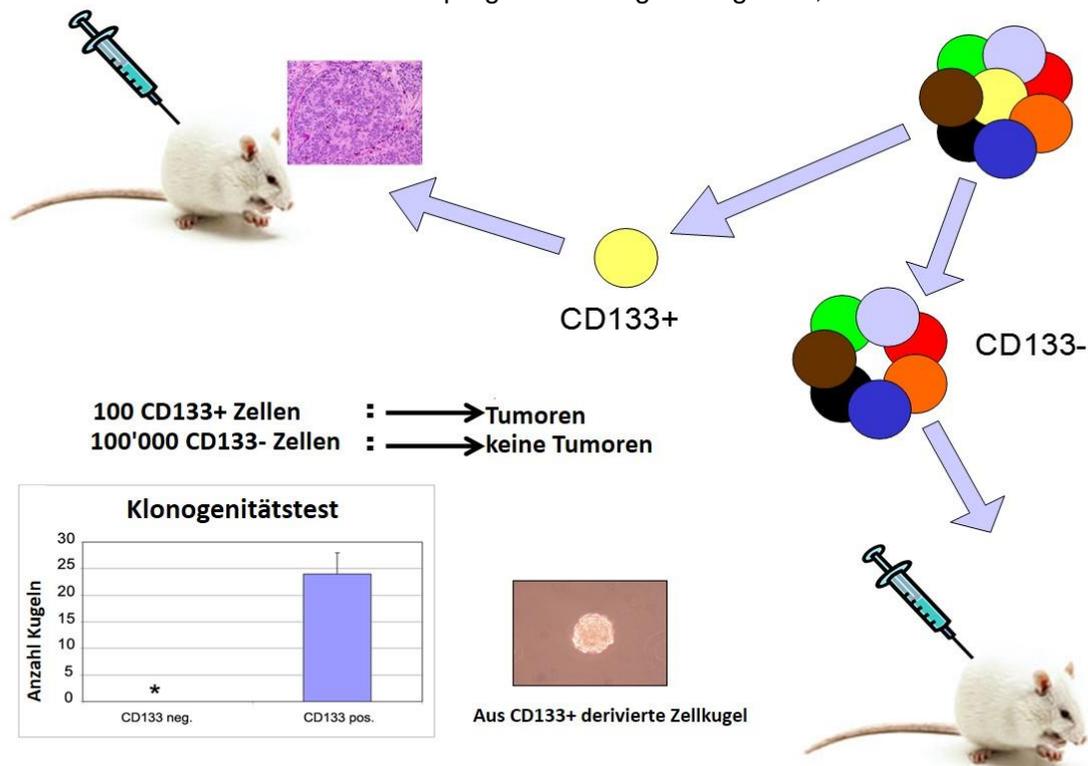
Bisherige Ergebnisse

Wir konnten zeigen, dass mesenchymale Stammzellen (MSZ) des Knochenmarks Ursprungszellen des Ewing-Sarkoms, der zweithäufigsten bösartigen Knochenerkrankung im Kindes- und Jugendalter, sind. Wir haben entdeckt, dass das EWS/FLI1-Fusionsgen, das für das Ewing-Sarkom charakteristisch ist, in MSZ eine Serie epigenetischer Modifikationen induziert, welche zur Transformation führen. Diese Modifikationen beinhalten Veränderungen der Chromatinstruktur, welche die Expression von Schlüsselgenen beeinflussen, die das Überleben und die Vermehrung von Zellen regulieren. Diese Modifikationen umfassen auch Veränderungen in der Expression kurzer, nicht-kodierender RNAs, bekannt als microRNAs (miRNA), welche die Expression ganzer Gennetzwerke kontrollieren. Die Modulierung des miRNA-Expressionsprofils in MSZ führt im Ewing-Sarkom zum Auftreten von Krebsstammzellen (KSZ). Krebsstammzellen stellen wohl die treibende Kraft hinter den meisten Krebserkrankungen dar; dies aufgrund ihrer Fähigkeit zur Selbsterneuerung und zur Generierung differenzierterer Krebsstammzellen, die den Grossteil des Tumors ausmachen. KSZ sind gegen herkömmliche Antikrebstherapien relativ resistent und sind für Rückfälle nach der Behandlung verantwortlich.

Ergebnisse im 4. Jahr

Wir haben mit einer umfassenden Untersuchung der epigenetischen Veränderungen, die den KSZ-Phänotyp vorantreiben oder aufrechterhalten, begonnen. Wir haben Krebsstammzellen aus mehreren Proben von primären Ewing-Sarkomen isoliert und haben angefangen, mittels Chromatin-Immunpräzipitation und anschließender Sequenzierung (ChIP-seq) eine systematische Analyse der Histonveränderungen, die Krebsstammzellen von der Tumormasse unterscheiden, durchzuführen. Damit möchten wir epigenetische Mechanismen identifizieren, die zur Erhaltung und, zusätzlich zu den Veränderungen in der miRNA-Reifung, zum spezifischen Verhalten von KSZ führen.

Auch haben wir uns mit dem Synovialsarkom befasst; einem sehr aggressiven Tumor, der vor allem bei jungen Erwachsenen auftritt. Ursache ist eine chromosomale Translokation, durch welche das SYT-SSX Fusionsgen entsteht. Das von SYT-SSX kodierte Fusionsprotein verhält sich wie ein Transkriptionsregulator, dessen Wirkungsweise jedoch noch unbekannt ist. Wir haben festgestellt, dass SYT-SSX den Wnt-Signalweg selektiv aktiviert. Dieser Signalweg spielt in der Bestimmung der Zellpluripotenz eine Schlüsselrolle und trägt so zur Erhaltung der MSZ bei. Wir untersuchen nun die molekularen Mechanismen, durch die SYT-SSX die Wnt-Signalisierung verändert. Dabei haben wir entdeckt, dass SYT-SSX bedeutende Veränderungen in der Chromatinstruktur bewirkt und so neue regulatorische Regionen in zahlreichen Genen, von denen viele an der Transformation und der Reprogrammierung beteiligt sind, induziert.



Isolierung und Untersuchung von KSZ im Ewing-Sarkom

Ewing-Sarkom-Zellen wurden aufbereitet und mit einem Anti-CD133-Antikörper gefärbt (die Expression von CD133 ist im Ewing-Sarkom mit den KSZ assoziiert). Circa 5-10% der Zellen sind CD133-positiv (gelb). Diese Zellen werden von der CD133-negativen Hauptpopulation getrennt. Eine Injektion von 100 CD133+ Zellen reicht aus, um die Bildung von Tumoren auszulösen, die mit dem menschlichen Originaltumor histologisch identisch sind (Abbildung oben). Die Injektion von 100'000 CD133- Zellen, bewirkt dagegen kein Tumorwachstum. Im Gegensatz zu CD133- Zellen, entwickeln individuelle CD133+ Zellen Kugeln (Klonogenitätstest) (Abbildung, unten links). Abbildung, unten Mitte: Eine von einer Cd133+ Zelle abstammende Zellkugel.

Publikation:

Cironi L, Petricevic T, Fernandes Vieira V, Provero P, Fusco C, Cornaz S, Fregni G, Letovanec I, Aguet M and Stamenkovic I. The fusion protein SYT-SSX1 employs core Wnt pathway transcription factors to induce a partial Wnt signature in synovial sarcoma. 2016, *in Überarbeitung*

FONDS „TRANSLATIONALE FORSCHUNG – KREBSIMMUNTHERAPIE“ Optimierung von T-Lymphozyten für die Langzeit-Krebstherapie

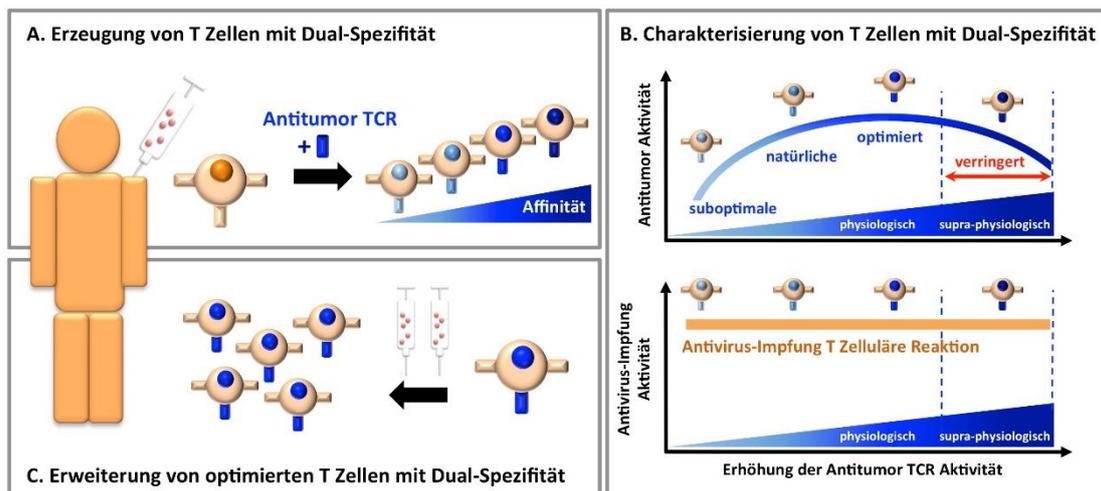
Dieser aus einer privaten Schenkung stammende Fonds im Umfang von CHF 235'000.- wurde im Juni 2013 für zwei Jahre vergeben.

Er wurde der Forschungsgruppe von **Dr Nathalie Rufer** (LICR@UNIL) zugesprochen.

Einführung und Ziele

Krebsimmuntherapien, die auf dem adoptiven Transfer von natürlichen tumorspezifischen T-Lymphozyten basieren, sind erwiesenermassen bei refraktären Patienten, die auf konventionelle Behandlungen nicht ansprechen, klinisch erfolgreich und sicher. Leider wird die klinische Anwendung dieser Therapie durch die Tatsache behindert, dass es schwierig ist, ausreichend tumorreaktive und langlebige T-Lymphozyten für jeden Patienten zu erhalten. Es wurden alternative Strategien entwickelt, die auf dem genetischen Transfer von tumorspezifischen T-Zellrezeptoren (TCR) in T-Lymphozyten vor einer Reinfusion in den Patienten beruhen. Solche Ansätze bieten die einmalige Gelegenheit, die Wirksamkeit der Krebsimmuntherapie durch die Auswahl von affinitätsoptimierten TCRs mit mehr Potenzial zu verstärken, um effiziente und dauerhafte Antitumorantworten zu vermitteln (**Abb. 1**).

Dieses Projekt der ISREC Stiftung hatte zum Ziel, die Machbarkeit und die Vorteile der Herstellung von gentechnisch veränderten impfvirus-spezifischen T-Lymphozyten, die einen affinitätsoptimierten tumorspezifischen TCR co-exprimieren, zu untersuchen. Solche dualspezifische (antitumor und antiimpfstoff) T Zellen können von der Fähigkeit des Impfstoffes, ein langanhaltendes Gedächtnis hervorzurufen, profitieren, um langlebige, dauerhafte und schützende Antitumorantworten zu etablieren. Darüber hinaus möchten wir den optimalen Affinitätsbereich von Antitumor-TCRs, die in einem impfvirus-spezifischen zellulären System verwendet werden, untersuchen.



Prinzip und Verfahren zur Herstellung von dualspezifischen T-Zellen für Krebsimmuntherapien

(A) Impfvirus-spezifische T-Lymphozyten wurden zuerst aus einem gesunden Spender, der zuvor mit dem Gelbfieberimpfstoff immunisiert wurde, isoliert. Als nächstes wurden impfvirus-spezifische T-Zellen konstruiert, die mit einem Panel von Antitumor-TCRs von zunehmender Affinität versehen waren. **(B)** Die doppelspezifischen T-Lymphozyten sind polyfunktional und weisen eine duale (antitumor und anti-impfstoff) Reaktivität auf (B, obere Grafik). Die tumorspezifische Funktion wurde auf eine gegebene Affinitätsschwelle beschränkt, über die hinaus die T-Zellen keine produktive Antitumorfunktion entwickeln konnten (B, untere Grafik). Wurden im Gegensatz dazu duale T-Zellen mit dem impfvirus-spezifischen Antigen stimuliert, so behielten alle veränderten T-Zellen, auch die mit einer sehr hohen Antitumoraffinität, ihre funktionalen Kompetenzen. **(C)** Doppelspezifische (antitumor und anti-impfstoff) T-Zellen expandieren als Reaktion auf das Impfvirusantigen stärker als auf eine tumorantigenspezifische Stimulation, was darauf hindeutet, dass Impfstoffschübe ihre Expansion *in vivo* potenzieren könnten.

Ergebnisse und Perspektiven

Unter Anwendung einer etablierten Gruppe von tumorspezifischen TCRs zunehmender Affinität (1, 2) wurden zunächst von gesunden Individuen stammende T-Lymphozyten, die durch eine Impfung mit dem Gelbfieberimpfvirus induziert wurden (3), so verändert, dass sie duale (antitumor und anti-impfstoff) TCRs co-exprimierten (**Abb. 1A**). Wir konnten zeigen, dass impfvirus-spezifische T-Zellen in hoch polyfunktionale, dualspezifische (antitumor und anti-impfstoff), langlebige Immunzellen (**Abb. 1B**, obere Grafik) umprogrammiert werden. Wir konnten ebenfalls zeigen, dass durch die Verbesserung der tumorspezifischen TCR-Affinität innerhalb physiologischer Grenzen die Antitumorfunktion solcher dualspezifischer T-Lymphozyten optimiert werden kann. Allerdings, und im Einklang mit unserem früheren Bericht (1), führt ein weiterer Affinitätsanstieg des Antitumor-TCRs zur Hochregulierung mehrerer inhibitorischer Rezeptoren und zu einem drastischen Verlust der Antitumorfunktion (**Abb. 1B**, obere Grafik). Interessanterweise behielten T-Zellen mit einer sehr hohen Antitumor-TCR-Affinität ihre funktionelle Kompetenz, wenn sie mit dem Impfstoffvirusantigen (**Abb. 1B**, untere Grafik) stimuliert wurden. Insgesamt zeigten unsere Daten, dass in den dualen T-Zellen die tumorspezifischen Funktionen einem vorgegebenen Affinitätsschwellenwert unterliegen, oberhalb dessen die T-Zellen keine produktive Antitumorreaktion entwickeln konnten. Ihre endogene Impfstoffreaktivität wurde hingegen nicht beeinflusst. Aufgrund dieser Ergebnisse ist anzunehmen, dass die Mechanismen, die für den Funktionsverlust dieser hochaffinen TCRs verantwortlich sind, nicht auf der zellulären Ebene, sondern direkt auf der TCR-Ebene reguliert werden. Schliesslich haben wir gezeigt, dass dualspezifische T-Zellen durch eine Reaktion auf Impfstoffviren stärker angereichert werden können als durch eine Tumorantigenstimulierung. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass aufeinander folgende Impfstoffschübe die Expansion von dualspezifischen T-Zellen und damit ihre therapeutische Aktivität *in vivo* (**Abb. 1C**) potenzieren könnten.

Insgesamt unterstreichen unsere Ergebnisse die Vorzüge und Vorteile der Entwicklung impfvirus-spezifischer T-Lymphozyten mit affinitätsoptimierten TCRs, zur Erreichung einer optimalen und langlebigen Antitumorfunktion (4). Sie stellen somit eine vielversprechende Begründung für die Entwicklung von Strategien für wirksame Krebsimmuntherapien dar.

Referenzen:

- (1) Hebeisen M, Baitsch L, Presotto D, Baumgaertner P, Romero P, Michielin O, Speiser DE, and Rufer N. SHP-1 phosphatase activity counteracts increased T cell receptor affinity. **J Clin Invest**. 123(3):1044-56. 2013
- (2) Hebeisen M, Schmidt J, Guillaume P, Baumgaertner P, Speiser DE, Luescher I, and Rufer N. Identification of rare high avidity tumor reactive CD8 T cells by monomeric TCR-ligand off-rate measurements on living cells. **Cancer Res**. 75(10):1983-91. 2015
- (3) Fuertes Marraco SA, Sonesson C, Cagnon L, Gannon PO, Allard M, Maillard S, Montandon N, Rufer N, Waldvogel S, Delorenzi M, and Speiser DE. Long-lasting stem cell-like memory CD8 T cells with high "naïveness" upon yellow fever vaccination. **Sci Transl Med**. 7(282):282ra48. 2015
- (4) Allard M, Fuertes Marraco SA, Gannon P, Hebeisen M, Speiser DE and Rufer N. Affinity-optimized TCR-engineering of dual tumor and vaccine virus-specific CD8 T cells for cancer immunotherapy. *Manuskript in Vorbereitung*

FONDS „GRUNDLAGENFORSCHUNG“

Analyse der genomischen Instabilität von normalen Zellen und Krebszellen *ex vivo*

Zusammenarbeit zwischen der EPFL und die UNIGE

Dieser aus einer Schenkung der „Fondation de Bienfaisance Pictet“ stammende „zweckgebundene Fonds“ im Umfang von CHF 100'000.- pro Jahr wurde im September 2014 für eine Dauer von drei Jahren vergeben.

Forschungslabore des **Prof. Joerg Huelsken**, (EPFL/SV/ISREC)

Dieses Projekt zielt darauf ab, zwei grundlegende Fragen der Tumorbologie zu beantworten: Haben Tumorzellen eine erhöhte Entstehungsrate von Punktmutationen? Und wenn ja, welches sind die Mechanismen, die zu einer solchen erhöhten Mutationsrate führen? Wir haben früher Ergebnisse veröffentlicht, die zeigen, dass präkanzeröse Zellen aus menschlichen Kolonadenompolypen Punktmutationen mit einer höheren Rate akkumulieren als normale Zellen (1). Wir schätzten, dass die Mutationsrate in diesen Tumorzellen etwa 200-fach erhöht ist und führten diese Erhöhung auf DNA-Replikationsstress zurück (1).

Es ist schwierig, Proben von sehr frühen Krebsstadien beim Menschen zu untersuchen. Dies ist jedoch unumgänglich, um ausschliessen zu können, dass diese erhöhten Mutationsraten nur aufgrund einer Vermischung von mehreren, sich parallel im Tumor entwickelnden Klonen gemessen wurden. Deshalb wollten wir diese Studie an Mausmodellen fortführen, in denen wir das Mutationsprofil gezielt in einzelnen Zellklonen untersuchen konnten. Die Klone stammten entweder von Kolontumormodellen oder von normalem Kolongewebe. Wir haben hierzu 5 Monate alte, heterozygote APC-MIN Mäuse verwendet, um einzelne Krypten zu isolieren - entweder aus dem Dickdarmgewebe, welches frei von Krebs schien, oder aus Dickdarntumoren, die sich in diesen Mäusen entwickelt hatten. Das hier verwendete, mutierte MIN-Allel ist für unsere Studie sehr relevant, da es zur Expression eines verkürzten APC-Proteins führt, welches einer mutanten Form von APC, wie sie häufig in Patienten mit Dickdarmkrebs gefunden wird, ähnelt. Die so gewonnenen Kolonkrypten wurden in einer sogenannten organoiden Gewebekultur bis zu 4 Monate expandiert, wobei nach 1, 2 und 4 Monaten ein Teil der Kultur verwendet wurde, um genomische DNA zu isolieren. Diese organoiden Gewebekulturen erlauben es, primäre, normale Zellen beliebig zu vermehren, da sie die normale Gewebeorganisation einschliesslich des vollständigen Differenzierungsprogramms und der typischen epithelialen Morphologie von Kolonzellen konservieren. Wie zu erwarten haben wir beobachtet, dass Organoide von normalen Krypten und Organoide von Tumorkrypten sich in ihrer Morphologie unterscheiden.

Während die normalen MIN^{+/-} Organoide zunächst eine Morphologie von normalen Dickdarmepithelzellen aufwiesen, zeigten die meisten dieser Organoidkulturen nach 4 Monaten eine typische Tumormorphologie. Dies lässt vermuten, dass „normale“ Zellen aus APC-MIN-Mäusen entweder nicht vollständig normal sind oder dass weitere Veränderungen (möglicherweise durch Verlust des normalen APC-Allels durch LOH (Verlust der Heterozygotie)) *in vitro* auftreten.

Wir werden daher künftig auch Krypten von Wildtyp-Mäusen untersuchen müssen. Nach der Isolierung wurde die genomische DNA analysiert, wobei zuerst Exome isoliert wurden, die dann in einem Illumina Gerät sequenziert wurden. Die Analyse dieser Proben ist noch nicht abgeschlossen.

Wir beabsichtigen, im nächsten Jahr die Sequenzanalyse von mehreren Krypten aus normalem und Tumorgewebe abzuschliessen (jeweils mindestens zwanzig Proben). Dieser vollständige Datensatz wird es uns dann ermöglichen, wie geplant die Mutationsraten in normalem und Kolontumorgewebe zu bestimmen.



(1) Nikolaev SI, Sotiriou SK, Pateras IS, Santoni F, Sougioultzis S, Edgren H, Almusa H, Robyr D, Guipponi M, Saarela J, Gorgoulis VG, Antonarakis SE, Halazonetis TD. A single-nucleotide substitution mutator phenotype revealed by exome sequencing of human colon adenomas. Cancer Res 72: 6279-6289, 2012.

ORGANISATION

Die am 18. Juni 1964 gegründete ISREC Stiftung ist eine private, gemeinnützige Stiftung.

Heute hat sie die Aufgabe, Krebsforschungsprojekte, die den "Wissenstransfer" und die Zusammenarbeit zwischen Grundlagenforschung und klinischer Forschung fördern, auszuwählen und zu unterstützen. Diese innovativen Projekte zielen darauf, Entdeckungen in Ergebnisse zu übersetzen, um so eine positive Auswirkung auf die künftige Behandlung von menschlichem Krebs voranzutreiben.

Die Stiftung setzt sich aus folgenden Organen zusammen:

DER STIFTUNGSRAT

Der Stiftungsrat ist das höchste Verwaltungsorgan der Stiftung. Er stellt die Mittel bereit und ernennt die Mitglieder des wissenschaftlichen Rates, der Direktion sowie der Rechnungsrevision. Darüber hinaus verabschiedet er das jährliche Budget und die Jahresrechnung der Stiftung.

Präsidentin

Frau Catherine Labouchère

Juristin, Abgeordnete des Grossen Rates des Kantons Waadt

Mitglieder

Herr Yves Henri Bonzon

Leiter Investment Management Julius Bär / CIO und Mitglied der Geschäftsleitung

Prof. Franco Cavalli

Vertreter des Wissenschaftlichen Rates, wissenschaftlicher Direktor, IOSI (Istituto Oncologico della Svizzera Italiana, Bellinzona)

Prof. Pierre-Marie Glauser

Rechtsanwalt und Professor für Steuerrecht an der UNIL (Universität Lausanne), Partner der Abels Oberson SA

Prof. Pierre-François Leyvraz

Generaldirektor, CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois)

Prof. Philippe Moreillon

Vizektor, UNIL (Universität Lausanne)

Herr Thomas Werner Paulsen

CEO, Chief Financial Officer, Leiter der Finanz- und Risikoabteilung der Banque Cantonale Vaudoise, Lausanne

Frau Béatrice Schaad

Direktorin der Abteilung Kommunikation, CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vaudois)

Prof. Didier Trono

Ordentlicher Professor, GHI (Global Health Institute), EPFL (Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne)

Prof. Thomas Zeltner Früherer Direktor Bundesamt für Gesundheit

DER WISSENSCHAFTLICHE RAT

Der wissenschaftliche Rat setzt sich aus international renommierten Forschern aus verschiedenen Bereichen der Krebsforschung zusammen.

Präsident

Prof. Franco Cavalli

Wissenschaftlicher Direktor, IOSI (Istituto Oncologico della Svizzera Italiana)

Mitglieder

Prof. Adriano Aguzzi

Direktor, Institut für Neuropathologie, Universitätsspital Zürich

Prof. Martin Fey

Direktor, Klinik und Poliklinik für medizinische Onkologie, Inselspital - Universitätsspital Bern

DIE DIREKTION

Die Direktion wählt mithilfe des wissenschaftlichen Rates die zu unterstützenden Forschungsprojekte aus und unterbreitet ihre Vorschläge dem Stiftungsrat. Sie erarbeitet und schlägt eine Fundraising-Strategie vor und übernimmt die Aufgaben, die ihr durch den Stiftungsrat zugeteilt werden.

Prof. Francis-Luc Perret

Direktor

DIE RECHNUNGSREVISION

Die Rechnungsrevision, deren Aufgaben durch das Gesetz bestimmt werden, wird vom Stiftungsrat ernannt. Sie wird für ein Jahr gewählt. Das Mandat 2015 wurde **EY** anvertraut, einer von der Schweizerischen Treuhänder-Kammer anerkannten Treuhändergesellschaft.

FINANZEN

EINNAHMEN

Die ISREC Stiftung wird im Wesentlichen durch testamentarische Verfügungen, private Spenden sowie Erträge aus ihrem Vermögen finanziert. Am 31. Dezember 2015 betrug das Vermögen der Stiftung rund CHF 64 Millionen.

Summe der 2015 zugeteilten Fördergelder	CHF	2'456'000
Beitrag für den wissenschaftlichen Nachwuchs	CHF	353'000
Stipendium „Krebs und Immunologie“	Saldo im 2014 ausbezahlt	
Stipendium „Krebs und Immunologie“	Saldo im 2014 ausbezahlt	
Stipendium „Krebs und Immunologie“	CHF	80'000
Stipendium „Krebs und Immunologie“	CHF	40'000
Stipendium „Krebs und Immunologie“	CHF	40'000
Stipendium „Molekulare Life Sciences“	CHF	80'000
Stipendium „Molekulare Life Sciences“	CHF	80'000
12 Stipendien „International Summer Research Program“	CHF	33'000
Beitrag für die translationale Krebsforschung	CHF	2'103'000
ISREC Lehrstuhl „Translationale Onkologie“	CHF	500'000
ISREC Lehrstuhl „Grundlagen der Onkologie“	CHF	500'000
ISREC Lehrstuhl „Translationale Onkologie“	CHF	500'000
Fonds „Translationale Krebsforschung – Sarkom“- IGR	CHF	200'000
Fonds „Translationale Krebsforschung – Sarkom“- CHUV	CHF	303'000
Fonds „Grundlagenforschung“	CHF	100'000
Total 2015 empfangene Spenden, Legate, Nachlässe, externe Stipendien	CHF	15'002'217
74 Spontanspenden von Privatpersonen	CHF	249'591
21 Spenden von Unternehmen, Vereinen, Stiftungen	CHF	356'446
9 Spenden für zweckgebundene Stipendien	CHF	7'323'672
3 spezifische Spenden AGORA – Krebszentrum	CHF	4'500'000
6 Spenden für Stipendien	CHF	2'823'672
48 Gedenkspenden	CHF	15'524
49 Legate, Nachlässe	CHF	7'056'984
Organisationskapital	CHF	45'074'286
Fondskapital (Zweckgebundene Fonds)	CHF	8'914'901
Stipendien	CHF	480'000
Fonds	CHF	1'434'901
ISREC Lehrstühle	CHF	7'000'000
Fondskapital AGORA – Krebszentrum	CHF	10'231'967

IHRE UNTERSTÜTZUNG DER ISREC STIFTUNG

EINE SPENDE LEISTEN

Projekte der ISREC Stiftung werden aus privaten Spenden, Legaten und Nachlässen von Personen finanziert, die für unsere Sache empfänglich sind.

Sie können unseren Auftrag auf verschiedene Weise unterstützen:

- durch eine Spende
- durch die Patenschaft von Doktoranden
- durch die Patenschaft von jungen Professoren, die an eine Schweizer Universität oder Hochschule angegliedert sind
- durch die Patenschaft von Post-Doktoranden für die Entwicklung von ausgewählten Forschungsprojekten auf nationalem Niveau
- durch testamentarische Verfügungen

Mag sie bescheiden oder bedeutend sein, jede Spende zählt und trägt zur Erfüllung unseres Auftrages bei.

HERZLICHEN DANK FÜR IHRE UNTERSTÜTZUNG

Fondation ISREC Rue du Bugnon 21, 1011 Lausanne
CCP 10-3224-9 IBAN CH55 0900 0000 1000 3224 9
UBS, 1002 Lausanne IBAN CH11 0024 3243 G020 3554 0
BCV, 1001 Lausanne IBAN CH03 0076 7000 U032 9261 3

STEUERLICHE ABZÜGE

Bundessteuer

Bis zu 20% des gespendeten Betrages können vom Nettoeinkommen abgezogen werden, sofern die Spende mindestens CHF 100.- beträgt.

Kantonssteuer

Die auf der Homepage der Stiftung Zewo (www.zewo.ch) aufgeführten Informationen gelten für die ISREC Stiftung und alle Stiftungen mit rein öffentlichem Zweck.

STEUERLICHE BELASTUNG DER ISREC STIFTUNG

Die ISREC Stiftung ist von Bundes-, Kantons- und Gemeindesteuern sowie Steuern auf Spenden und Erbschaften befreit und ist als Institution mit rein öffentlichem Zweck anerkannt.

GOLDENES BUCH

Seit 1964 haben sehr viele Spenderinnen und Spender das ISREC unterstützt. Mit ihrer Spende oder Legat haben sie der Krebsforschung geholfen. Ihr Beitrag, ob bescheiden oder bedeutend, ist für uns von besonderem Wert.

Dafür HERZLICHEN DANK!

Über 500 Spenderinnen und Spender sind in unserem goldenen Buch eingetragen:

BEITRÄGE VON MEHR ALS 1 MILLION FRANKEN

Eine anonyme Spende / eine anonyme Erbschaft, Lausanne / Frau Annette B., Vevey / Frau Anne-Laurence B., Préverenges / Frau Hilda D., Colombier / Herr Dimitri D., Pully / Frau Johanne G., Lausanne / Frau Jeanne H., Neuenburg / Helmut Horten Stiftung, Lugano / Frau Henriette H.-C., Lausanne / Herr Jean-Pierre H., St Imier / Lartek Limited, Bermudas / Leenaards Stiftung, Lausanne / Krebsliga Schweiz, Bern / Loterie Romande, Lausanne / Frau Marie M., Marin / Porthos Stiftung, Vaduz / Frau Judith P., Lausanne / Frau Martine Monique R., Genf / Herr Eric S., Neuenburg / Sevastopoulo Fonds, Lausanne / Herr Marc V., Lausanne / Kanton Waadt

BEITRÄGE ZWISCHEN CHF. 100'000.– UND 1 MILLION FRANKEN

Dreihunddreissig anonyme Spenden / Kanton Aargau / Frau Charlotte B., Romanel / Frau Dina Henriette B., Vevey / Kanton Bern / Frau Adelheid Gertrud B., Hilterfingen / Frau Elise B., Chailly-s/Montreux / Frau Anne B., Préverenges / Câbleries et Tréfileries de Cossonay / Frau Jeannette C., Vevey / Frau Anne-Marie C., La Tour-de-Peilz / Frau Florence Helen C., La Tour-de-Peilz / Ciba-Geigy AG, Basel / Copley May Stiftung, Genf / Frau Suzanne C., Prilly / Frau Ida d'A., Lausanne / Frau Simone D., Lausanne / Herr Irmgard D., Locarno / Herr Henri D., Monaco / Frau Clara D., Montreux / Frau Doris Ursula D., St-Sulpice / Frau Catherine D., Montreux / Herr Marcel D., Lausanne / Herr Damien D., Lausanne / Echec au cancer de la Broye, Payeme / Frau Elisabeth E., Genf / Frau Bertha F., Yverdon / Alfred Fischer Stiftung, Lausanne / Frau Lilia F., Lausanne / Kanton Freiburg und Ligue fribourgeoise contre le cancer / Frau Esmeralda G. Lausanne / Kanton Genf / Herr Louis G., Prilly / Frau André Lucienne G., Pully / Gygi-Beguign Fonds, Lausanne / Herr René H., Lausanne / Frau Elvine H., Montreux / Göhner Stiftung, Zug / Heskem Stiftung, Vaduz / Herr Georg Philip H., Leipzig / Hoffman-La Roche & Co, Basel / Frau Marguerite J.-K., Lausanne / Frau Alice J., Pully / Kanton Jura / Frau Consuela K., Lausanne / Municipalité de Lausanne / Frau Marthe L., Lausanne / Ligue vaudoise contre le cancer, Lausanne / Frau Yvette L., Vevey / Frau Laura L., Spanien / Lardeco Stiftung, Vaduz / Pierre Louis L., Lausanne / Herr Karl Heinz M., Krienz / Frau Marie-Louise M., Corsier / Medic Stiftung, Genf / Frau Odette M., Lausanne / Herr Roland M., Cugy / Frau Liliane M., Lausanne / Frau Louisa M., Lausanne / Frau Marthe M., Lausanne / Frau Denise Alice N., Neuenburg / Kanton Neuenburg / Frau Marie-Louise P., Lausanne / Herr Franz P., Coppet / Jacqueline Petit Stiftung, Lausanne / Fondation de bienfaisance de la Banque Pictet & Cie, Carouge Ge / Herr Pierre P., Estavayer-le-Lac / Frau Marthe P., Lutry / Frau Elisabeth P., Neyruz / Herr Yves J. P., Verbier / Frau Louise Q., Renens / Frau Nina R., Pully / Herr Georges R., Paris / Herr Edouard-Marcel S., Lausanne / Frau Paulette S., Denens / Herr und Frau S.-B., Siders / Frau Gerorgette S., Genf / Frau Rosalie S., Montreux / Kanton St-Gallen / Michel Tossizza Stiftung, Lausanne / Fräulein Suzanne-Marie T., Payerne / Charles Veillon Stiftung, Lausanne / Frau Evelyne V., Lausanne / Frau Nina W. Lony / Kanton Wallis / Prof. Dr h.c. René W. (Castolin SA), St-Sulpice / Frau Gabriella Maria W., Genf / Frau Henriette W., Lausanne / Frau Mona W., Genf / Frau Gertrud Z., Münchenstein / Herr Walther Willy Z., Montreux / Kanton Zürich

BEITRÄGE ZWISCHEN CHF. 50'000.– UND CHF. 100'000.–

Dreizehn anonyme Spenden / Frau Alice A., Moutier / Frau Yvette A., Vevey / Aiuto Stiftung, Nyon / Frau Marie B., Pully / Frau Rachelle B., Montreux / Kanton Basel-Land / Herr Ernesto B., Genf / Frau Liliane B., Lausanne / Frau Germaine B.-R., Aubonne / Herr Giovanni B., Lausanne / Centrale Suisse des Lettres de Gages (Pfandbriefzentrale), Bern / Frau Violette C., Lausanne / Frau Alice E. C., Orbe / Herr Marcel C., Lausanne / Frau Teresa C.-R., Zürich / Frau Fernande C., Lausanne / Frau Martine D., Lausanne / Herr Jean D., Biel / Frau Raymonde D., Morges / Frau Fernande D.-A., Les Cullayes / Jules & Irène Ederer-Uehlinger Stiftung, Bern / Emouna Stiftung / Ernt & Young, Lausanne / Frau Marie E.-B., Crans-près-Céligny / Fabrique de Câbles Electriques, Cortaillod / Frau Arlette F., Vevey / Frau Josette F., Neuchâtel / Frau Dorothea G., Lausanne / Frau Lidia G., Echallens / Frau Liliane G., Aubonne / Frau Aline G., Kirchberg / Frau Claudine G., New York / Frau Renée H., Lausanne / Frau Marie Juliette Simone H., Genf / Herr Jean-Charles H., Genf / Frau Margarete J., Lausanne / Prof. Gustave J., Zürich / Frau Marie-Louise J., Renens / La Suisse Assurances, Lausanne / Frau Hedwig Meinrada L.-G. / Cancer league Valais, Sierre / Frau Raymonde M., Lausanne / Frau Marianne M., Lausanne / Herr Eugen M.-M., Kilchberg / Nouvelle Cassius Fondation, Vaduz / Frau Andrée P., Lausanne / Frau Madeleine P., Bulle / Frau Gabrielle R., Aubonne / Frau Anne-Marie S., Romanel / Tetra Laval International, Pully / Frau Anne-Marie U., La Chaux-de-Fonds / Frau Madeleine V., Les Paccots / Frau Corinne W., Lausanne / Herr Pierre Z., Lausanne

BEITRÄGE ZWISCHEN CHF. 5'000.– UND CHF. 50'000.–

Achtundvierzig anonyme Spenden / Frau Marie A.-D., Lausanne / Action cancer des boulangers / Herr Georges A., Colombier-sur-Morges / Herr Emile A., Auvornier / Frau Jacqueline A., Lausanne / Albion House Ltd, Lausanne / Alcoa International SA, Lausanne / Dr. Etienne A., Lausanne / André & Cie SA, Lausanne / Kanton Appenzell Ausserrhodens / Association des Câbleries Suisses, Zürich / Frau Charlotte B., Prilly / Frau Yvonne Edmée B., Auvornier / Banque Vaudoise de Crédit, Lausanne / Herr Aimé B., Boudry / Frau Elisabeth B., Lausanne / Herr Maurice B., Lutry / Baumgartner Papiers SA, Lausanne / Frau Fidela B., Clarens / Frau Mireille B., Pully / Frau Jeanne B., Romanel / Bheva Vaduz Stiftung, Neuenburg / Frau Nicky B., Bulle / Frau Rosa B., Cossonay / Frau Emma B., Bern / Bobst & Fils SA, Lausanne / Frau Nicole B., Lausanne / Frau Clara B., Veytaux / Frau Reina B., Prilly / Boillat SA, Reconvieller / Herr Ulysse B., Lutry / Herr Bernard B., Bournens / Frau Odile B., Lens / Borel & Barbey, Genf / Fräulein Alice et Hélène B., Lausanne / Brauchli SA, Lausanne / Frau Lucie B., La Tour-de-Peilz / Unternehmen Paul Bucher, Basel / Frau Dorothee B., La Chaux-de-Fonds / Herr Louis B., Pully / Caisse d'Epargne du District de Cossonay / Herr Stefan C., St-Légier / Frau Anne-Marie C., Lausanne / Frau Eveline C., Ecublens / Herr François C., Meggen / Herr Jean C., Bern / Frau Nelly C.-B., Prilly / Herr Albert B., Lausanne / Herr Frédéric C., Prilly / 'Come back' des motards, Lausanne / Copycolor SA, Renens / Fräulein Juliette C., Lausanne / Couvent de Sainte Ursule, Sion / Herr Ernest C., Villeneuve / Herr et Frau Ernest D., Echichens-sur-Morges / Fräulein Simone de M. d'A., Lausanne / Delta Securities, Guernsey / Frau Yolande de M., Epalinges / Frau Aida de P. M., Lony / Régie De Rham, Lausanne / Frau Lily D., Lausanne / Herr Xavier D., United Kingdom / Frau Ariane D., Genf / Frau Livia D., Montreux / Herr Constant D., Lausanne / Herr Emile D., Châtel-St-Denis / Frau Alice D., Lausanne / Schweizerische Stiftung für den Doron-Preis, Zug / Fräulein Floriane du B., Les Ponts-de-Martel / DuBois Invest LLC, Sierre / Edouard Dubied & Cie, Neuenburg / Herr Jean D. / Herr Albert D., Vevey / Herr Armand D., Penthalthaz / Herr Gian Andrea D., Epalinges / Ebauches SA, Neuenburg / Ecole Hôtelière de Lausanne / Frau Marie E., Vevey / Herr Roger E., Vevey / Empiris Stiftung, Zürich / Municipalité d'Epalinges / Etablissement cantonal d'assurances, Pully / Fabrique d'Assortiments Réunis, Le Locle / Fabrique de Câbles de Brugg / Frau Francisca F., Lausanne / Herr Ruedi F., Gümliigen / Herr Pierre F., Romont / Herr Jules F., Payeme / FPH (Stiftung pour le Progrès de l'homme), Lausanne / Frau Janine F., Yverdon / Frau Jacqueline F.-G., Lausanne / Galenica SA, Bern / Frau Genifer G., La Tour-de-Peilz / Herr Mario G., Stäfa / Fräulein Germaine Marie G., La Tour-de-Peilz / Herr Patrice G., St-Sulpice / Herr Roger G., Lony / Kanton Glaris / Golay-Buchel & Cie, Lausanne / Frau Violette G., Lausanne / Herr Johannes G., Lausanne / Grande Kermesse de la jeunesse pour la lutte contre le cancer, Genf / Frau Hilda G., Morges / Herr Daniel G. / Herr François G., Lausanne / Herr Gérard H., Les Diablerets / Louise Heflerich Fonds, Lausanne / Herr Gustav H.-M., Schaffhausen / Sources Minérales Henniez / Frau Violette H., La Tour-de-Peilz / Fräulein Marguerite H., Lausanne / Frau Yvette H., Lausanne / Herr Ernst H., Biel / Frau Marylène P., Lausanne / Frau J. H., Genf / Frau Claire-Marguerite H., Genf / Herr Heinz I., Lausanne / Imprimeries Réunies SA, Lausanne / Integra Biosciences AG, Wallisellen / Interfood SA, Lausanne / Frau Janette I., Pully / Ingeni AG, Lausanne / Herr Olivier J. G., Lausanne / Frau Joséphine J., Siders / Frau Germaine J., Renens / Herr Hermann J., Ste-Croix / Juchum Stiftung / Frau Elizabeth J., Montreux / Frau Suzanne J., Frankreich / Frau Betty K., Genf / Idryma Georges Katingo Lemos Stiftung, Lausanne / Frau Alice K., Grandvaux / Frau Rose K., Crans-près-Céligny / Kodak SA, Lausanne / La Bâloise Assurances, Basel / La Boutique d'Occasions, Lausanne / La Genevoise Assurances, Genf / Herr Charles-Edouard L., Glion / Herr und Frau L.-S., Lausanne / Herr Roger L., Lausanne / Frau Sandra L.T., Lausanne / Frau Alice L., Payerne / Leclanché SA, Yverdon / Lemo SA, Ecublens / Herr Jean-Pierre L., Bournens / Frau Connie E.F. L., Zürich / Ligue genevoise contre le cancer, Genf / Ligue tessinnoise contre le cancer, Locarno / Lo-Holding Lausanne-Ouchy SA, Lausanne / Frau Marcelle L.-H., Montreux / Frau Emilie L.-M., Lausanne / Frau Jane L., Lausanne / Herr Hans L.-B., Hasle b. Burgdorf / Frau Patricia M., Basel / Herr J.-M. M., Lausanne / Frau Rachel M., Vevey / Frau Alice M., Château d'Oex / Frau Francis M., Lausanne / Frau Marie-Claire M., Lausanne / Ernest Matthey Stiftung, Pully / Herr Pierre M., Lausanne / Frau Viviane M., Corseaux / Metalwerke AG, Dornach / Herr Roland M., Grandvaux / Frau Marthe M.-M., Montreux / Frau Léonie M., Lausanne / Migros Genossenschafts-Bund, Zürich / Herr François M., Lausanne / Frau Suzanne M., Renens / Frau Nelly M., Rossinière / Frau Charlotte M., Chavornay / Frau Angela N.-W., Bern / Frau Monique N., Vandoeuvres / Nutresco SA, Penthalthaz / Frau Marie O.-C., Lausanne / Herr Daniel O., Villars-sous-Yens / Payot SA, Lausanne / Herr Georges P., Morges / Herr Jean P., Lausanne / Herr René P., Lausanne / Philips AG, Zürich / Dr. Suzanne-Marie P.-R., Lausanne / Frau Ida P., Olens-sur-Lucens / Frau Mireille P., Pully / Frau Rose-Marie P., St-Aubin-Sauges / Herr Emile P., Oron / Herr Jules Ernest P., Orbe / Frau Ely P., Pully / Frau Jeanne P., Freiburg / Pro Aremorica Zürich / Publicitas SA, Lausanne / Ramelet SA, Lausanne / Frau Angèle R., Payerne / Herr Hansueli R., Bern / Herr Alfred R., Aubonne / Renault Finance SA, Lausanne / Rentenanstalt, Zürich / Retraites Populaires, Lausanne / Frau Alice R., Lausanne / Frau Anne R., Lausanne / Herren Alain & Jean-Daniel R., Bern / Herr und Frau Hans & Hildegard R., Mettmenstetten / Montres Rolex SA, Genf / Rotary Club, Lausanne / Rütli Stiftung, Luzern / Sagrave SA, Lausanne / Herr und Frau David & Barbara S., Genf / Sandoz SA, Basel / Frau Jeanne S., La Conversion-sur-Lutry / Herr Carlo S., Montreux / Herr G.A. S., Lausanne / Scheuchzer SA, Lausanne / Herr Robert Charles S., Lausanne / Herr Paul-R. S., Lausanne / Frau Lucie S., Lausanne / Frau Clémence S., Lausanne / Frau Béatrice S., Pully / Frau Marguerite S., Lausanne / Herr Olivier S., Rolle / Sicipa SA, Prilly / Siemens-Albis AG, Zürich / Skilift Parsenn-Furka Klosters AG, Davos Platz / Sobrate Stiftung, Lausanne / Société de couture, Savigny / Société de Réassurances, Zürich / Société des Chaix & Ciments de la Suisse Romande, Lausanne / Société Romande d'électricité, Clarens / Soroptimist International - Union Suisse, Grandvaux / Herr und Frau Joseph S.-G., Laufen / Frau Marie S. / Gemeinde St-Sulpice / Frau Cécile S., St-Prex / Supra (SVRSM), Lausanne / In Erinnerung an Frau Marie-Jeanne S., Mont-sur-Rolle / Frau Suzanne S., Lausanne / Team Girard, Puidoux / Fräulein Jeanne T., Lausanne / Herr Jean T., Ste-Croix / Herr Albert T., St-Saphorin-sur-Morges / The Rose Charitable Trust, Grossbritannien / Trophée Ago, Lony / Herr Georges T., Lausanne / Herr Alain T., Bex / Frau Antoinette T., Nyon / Fondation Elisabetta et Jacques Tab, Lausanne / Frau Anne-Marie U., La Chaux-de-Fonds / Kanton Uri / Fräulein Charlotte & Hildegard V., Davos / Frau Rosa V.-J., Lengnau / Herr Benjamin V., Cully / Vaudoise Assurances, Lausanne / Frau Constance V., Le Mont-sur-Lausanne / Frau Cosette V., Givirns / Verrière de St-Prex SA / 24 Heures Presse, Lausanne / Frau Paulette V., Auvornier / Frau Nelly-Henriette V., Villeneuve / Frau Andrea V.D., Monthey / Wander SA, Bern / Frau Emmy W., St-Sulpice / Frau Lyana Elizabeth W., Montreux / Herr Jacques W., Lausanne / Geneviève W., Le Mouret / Winterthur Assurances, Zürich / WnG, Lausanne / Zellinvest SA, Genf / Zyma SA, Nyon

DANKSAGUNG

ALLEN UNSEREN SPENDERN DANKEN WIR FÜR IHREN IN DIESEM JAHR GELEISTETEN BEITRAG. DANK IHRER HILFE KÖNNEN WIR UNSERE PROJEKTE UMSETZEN UND UNSERE MISSION ERFÜLLEN. IHRE GROSSZÜGIGKEIT IST FÜR UNS EINE UNSCHÄTZBARE HILFE.

HERZLICHEN DANK.

Für ihr treues Engagement möchten wir auch speziell Frau Aylin Niederberger, Generalsekretärin, Frau Virginie Porret, Kommunikationsassistentin, sowie unseren Botschaftern Herrn Didier Grobet und Herrn Jürg Kärle danken.

Sie alle haben zur Entwicklung und zum Erfolg unserer Stiftung beigetragen. Wir sind ihnen dafür sehr verbunden.

Catherine Labouchère, Präsidentin Francis-Luc Perret, Direktor

Bearbeitung **Virginie Porret**
Design Umschlagseiten 1 und 3 **Spirale Communication visuelle**
Fotographien © Umschlagseiten, S. 24, 26, 28, 33, 42 **EPFL SV ISREC / S. 3 ISREC Stiftung /**
S. 5 **Trophée Ago, Team Girard / S. 6, 7 Behnisch Architekten / S. 9, 10, 12, 13, 20, 21, 39 UNIL**
S. 15, 16, 38 **UNIL/CHUV / S. 30 UNIL/LUDWIG / S. 35 IGR / Rechte vorbehalten**