

Aus dem
CharitéCentrum für Chirurgische Medizin
Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie
Campus Benjamin Franklin
Kommissarische Direktorin: Prof. Dr. med. Katharina Beyer

Habilitationsschrift

Targeting des IL-6/gp130 Signalwegs als Therapieoption im duktalem Pankreasadenokarzinom

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach „Chirurgie“

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin
von

Dr. med. Ioannis Pozios

Eingereicht: September 2023

Dekan: Prof. Dr. med. Joachim Spranger

1. Gutachter/in:

2. Gutachter/in:

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	6
1.1. Das duktales Pankreasadenokarzinom (PDAC)	6
1.2. Zielgerichtete Therapie	7
1.3. Chemoresistenz: eine Herausforderung in der Therapie des PDAC	8
1.4. Inflammation und Chemoresistenz im PDAC	8
1.4.1. Interferone und IFN-induzierte Proteine mit Tetratricopeptid-Wiederholungen	9
1.4.2. IL-6/gp130/STAT3-Signalweg	10
1.5. Neuartige potenzielle therapeutische Ziele im PDAC	12
1.5.1. Raloxifen	12
1.5.2. SC144	13
1.6. Detektion von okkulten Lebermetastasen: eine diagnostische Herausforderung im PDAC	15
1.7. Zielsetzung und Fragestellung	15
2. Eigene Arbeiten	17
2.1 Die Rolle von IFIT3 in der Tumorprogression und Chemoresistenz im PDAC	17
2.2 Raloxifen inhibiert in vivo und in vitro das Tumorwachstum im PDAC durch Interaktion mit dem ER- β und dem IL-6/gp130/STAT3 Signalweg	26
2.3 Inhibition von gp130 mittels SC144 als potenzieller Therapieansatz im PDAC	38
2.4 Die Inhibition des IL-6/gp130 Signalwegs durch Raloxifen oder SC144 verstärkt die Effektivität von Paclitaxel im PDAC	49
2.5 Machbarkeitsstudie zum Nachweis von PDAC-Lebermetastasen mittels Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung im orthotopen Mausmodell	65
3. Diskussion	71
3.1 Inflammatorische prognostische Marker im PDAC	72
3.1.1 IFIT3 Expression	72
3.1.2 IL-6/gp130 Expression	72
3.2 Die Rolle der inflammatorischen Tumormikroumgebung und des IL-6/gp130 Signalwegs im PDAC.....	74
3.3 Inhibition des IL-6/gp130-Signalweges als Therapieoption im PDAC	75

3.4 Inhibierung des IL-6/gp130 Signalweges zur Reduktion der Chemoresistenz gegen Paclitaxel im PDAC	77
3.5 Diagnostischer Wert der intraoperativen Fluoreszenzbildgebung zur Erkennung von okkulten Lebermetastasen im PDAC	79
4. Zusammenfassung	81
5. Literaturverzeichnis	84
Danksagung	92
Erklärung	93

Abkürzungsverzeichnis

apCAFs	Antigen-präsentierende krebsassoziierte Fibroblasten
aSMA	α -Smooth-Muscle-Actin
CA19-9	Kohlenhydratantigen 19-9
CAFs	krebsassoziierte Fibroblasten
CLC	Cardiotrophin-like Cytokin
CT-1	Cardiotrophin-1
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CNF	Ciliary Neurotrophic Factor
CRP	C-reaktives Protein
DARTS	Drug Affinity Responsive Target Stability
eIF3	eukaryotischer Initiationsfaktor 3
ER	Östrogenrezeptor
ER- α	Östrogenrezeptor α
ER- β	Östrogenrezeptor beta
gp130	glycoprotein-130
iCAFs	inflammatorische krebsassoziierte Fibroblasten
ICG	Indocyaningrün
IFIT	IFN-induzierte Proteine mit Tetratricopeptid-Wiederholungen
IFNs	Interferone
IL-6	Interleukin 6
IL-6R	Interleukin-6-Rezeptor
IL-6R α	Interleukin-6-Rezeptorteil α
IPMN	intraduktale papilläre muzinöse Neoplasien
ISGs	IFN-stimulierte Gene
JAK	Januskinase
LIF	Leukemia Inhibitory Factor

MCN	muzinöse zystische Neoplasien
MDSCs	myeloid-abgeleitete Suppressor-Zellen
myCAFs	myofibroblastische krebsassoziierte Fibroblasten
OSM	Oncostatin M
PanIN	pankreatische intraepitheliale Neoplasien
PDAC	Pankreasadenokarzinom
pER- β	phosphorylierter Östrogenrezeptor beta
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PSCs	pankreatische Sternzellen
pSTAT3	phosphorylierter signal transducer and activator of transcription 3
sIL-6R	soluble Interleukin-6-Rezeptor
spg130Fc	soluble glycoprotein-130 Fusion protein
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
TAMs	tumorassoziierte Makrophagen
TANs	tumorassoziierte Neutrophile
TCGA	The Cancer Genome Atlas
WES	whole-exome sequencing

1. Einleitung

1.1 Das duktales Pankreasadenokarzinom (PDAC)

Duktale Adenokarzinome, auch als exokrine Pankreaskarzinome bezeichnet, sind die häufigsten Malignome des Pankreas (mehr als 95 %) und gehören zu den Malignomen mit der höchsten krebspezifischen Mortalität. Das duktales Pankreasadenokarzinom (PDAC) stellt die dritthäufigste krebsbedingte Todesursache in der Europäischen Union dar. In Deutschland erkranken jedes Jahr ca. 20.000 Patienten am Pankreaskarzinom ("Krebs - Pancreatic Cancer" Robert Koch Institut). Aufgrund der ungünstigen Prognose versterben auch fast ebenso viele Personen an diesem Tumor. Seit Jahren steigen die Erkrankungs- und die Sterberaten an, unter anderem aufgrund der demografischen Entwicklung. Laut neuer Forschungsergebnisse aus den USA wird das Pankreaskarzinom im Jahr 2030 voraussichtlich die zweithäufigste krebsbedingte Todesursache sein und die Todesfälle durch Mamma- und Kolonkarzinom überholen (Siegel et al. 2022). Das mittlere (mediane) Erkrankungsalter bei Diagnosestellung liegt zwischen 70-75 Jahren.

Die muzinösen zystischen Neoplasien (MCN), die intraduktalen papillären muzinösen Neoplasien (IPMN) und die pankreatischen intraepithelialen Neoplasien (PanIN) stellen die präkanzerösen Läsionen des invasiven duktales Pankreasadenokarzinoms dar. Der Progressionsprozess von Dysplasie zum invasiven Adenokarzinom findet erst nach der sequenziellen Akkumulation von Mutationen und anderen genetischen Aberrationen statt (Ying et al. 2016). Bei über 90 % der Tumoren liegt eine Mutation im KRAS-Onkogen vor und ist damit die häufigste genetische Aberration im Pankreaskarzinom, gefolgt von Aberrationen an den Tumorsuppressionsgenen TP53, SMAD4 und CDKN2A, die zu ihrer Inaktivierung führen (Waddell et al. 2015; Raphael et al. 2017). Das Pankreaskarzinom ist von großer Heterogenität und durch ein desmoplastisches Stroma charakterisiert, wobei die genaue Rolle der Tumormikroumgebung sowie der immunologischen Regulation größtenteils unerforscht ist. Bis auf bestimmte genetische Krankheitsbilder mit familiärer Belastung (2-3% der Neuerkrankungen) ist die Genese des Pankreaskarzinoms so weit unklar. Als erworbene Risikofaktoren gelten unter anderem Rauchen, Adipositas, Diabetes mellitus Typ 2 und chronische Pankreatitis (Ryan, Hong, and Bardeesy 2014).

Meistens sind die Pankreasadenokarzinome im Pankreaskopf lokalisiert (ca. 70 %). Die Symptome sind unspezifisch und fallen erst bei fortgeschrittener Erkrankung auf. Initiale Symptome sind Gewichtsverlust und unklare Oberbauchschmerzen ggf. mit Ausstrahlung in den Rücken. Im Verlauf können je nach Lokalisation folgende Beschwerden auftreten: Ikterus mit Pruritus, Diarrhoe, Steatorrhoe und

Neuaufreten beziehungsweise Verschlechterung eines Diabetes mellitus. Aufgrund der spät eintretenden unspezifischen Symptome wird die Erkrankung meistens auch erst spät diagnostiziert. Früherkennungsmaßnahmen asymptomatischer Personen sind bisher nicht wirksam und daher nicht empfohlen.

Die Therapie hängt vom Tumorstadium zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ab. Die Tumoren werden in drei Kategorien unterteilt. Bei resezierbaren lokalen Tumoren (15-20 %) wird eine primäre operative Resektion durchgeführt und stellt die einzige kurative Therapieoption beim Pankreaskarzinom dar (Latenstein et al. 2020). Eine adjuvante medikamentöse Tumorthherapie ist indiziert, um das Überleben zu verlängern. Die zweite Kategorie sind lokal fortgeschrittene Tumoren ohne Fernmetastasen (15-20 %). Bei diesen Tumoren ist das Ziel mittels primärer Chemotherapie den Tumor zu verkleinern, um eine resektables Stadium zu erreichen (Chawla and Ferrone 2019). Bei Patienten mit Fernmetastasen (60-70 %) ist eine medikamentöse Tumorthherapie indiziert mit der palliativen Intention, das Überleben zu verlängern und die Lebensqualität zu verbessern (Ryan, Hong, and Bardeesy 2014; Siegel et al. 2022).

1.2 Zielgerichtete Krebstherapie

Neben der zytotoxischen Chemotherapie gewinnt die individualisierte, gezielte molekulare Krebstherapie mit Antikörpern oder kleinmolekularen Inhibitoren („targeted therapy“) zunehmend an Bedeutung. Die Identifikation weiterer neuer Zielmoleküle auf der Tumorzelle ist für einen individualisierten Therapieansatz unerlässlich und stellt eine zentrale Rolle der aktuellen onkologischen Forschung dar, um eine bessere Ausdifferenzierung der tumorgerichteten Therapie, eine exaktere Abschätzung der Prognose und des individuellen Therapieansprechens und damit letztlich eine Verbesserung der Prognose des einzelnen Patienten ermöglichen zu können.

In den letzten Jahren wurden durch die Entdeckung einiger, für die Karzinogenese relevanter Signaltransduktionswege neue therapeutische Ansatzpunkte aufgedeckt und so das Konzept der „zielgerichteten“ Therapie entwickelt. Durch verbesserte molekulargenetische Analysetechniken wie die vollständige Exomsequenzierung (whole-exome sequencing - WES) und „The Cancer Genome Atlas“ (TCGA) Projekt konnte die Forschung zuletzt vermehrt relevante Zielstrukturen der Karzinogenese verschiedener Tumoren identifizieren und mittels zielgerichteter Medikamente inhibieren (Raphael et al. 2017; Witkiewicz et al. 2015).

1.3 Chemoresistenz: eine Herausforderung in der Therapie des PDAC

Trotz der Fortschritte im biochemischen und pharmakologischen Bereich der Krebsforschung bleibt die Behandlung des Pankreasadenokarzinoms weiterhin eine große Herausforderung. Im Kontrast zu den Fortschritten in der Diagnostik und Therapie anderer Krebsarten, ist das Pankreaskarzinom die einzige Krebserkrankung, bei der in den letzten 40 Jahren keine signifikante Verlängerung der Restlebenszeit erzielt worden ist. Nur in kleinen Subgruppen konnte eine minimale Senkung der Sterblichkeit erreicht werden. Die absolute 5-Jahres-Überlebensrate konnte während eines halben Jahrhunderts nur minimal von 5 % auf 9 % verbessert werden und bleibt im Vergleich zum stetigen Fortschritt in der medikamentösen Therapie anderer Krebsarten weiterhin unbefriedigend. Als Konsequenz hat das Pankreaskarzinom heute die schlechteste Prognose unter allen Tumorentitäten.

Neuartige gezielte Ansätze (zum Beispiel Cetuximab, Rigosertib, Elpamotide, Bevacizumab, Aflibercept, Axitinib, Masitinib and Ganitumab) konnten bis jetzt beim Pankreaskarzinom keine signifikante Verlängerung der Überlebenszeit zeigen (Ottaiano et al. 2017). Klinische Studien zeigen, dass die bisher vorhandenen medikamentösen Therapiemöglichkeiten nur gering zu einer Verlängerung der Überlebenszeit und zur Verbesserung der Lebensqualität führen können (Conroy et al. 2018; Hoff et al. 2013), als das Pankreaskarzinom im Allgemeinen ein schlechtes Ansprechen auf die Chemotherapie zeigt. Eine Schlüsselrolle für die Chemoresistenz des PDAC scheint das desmoplastische Tumorstroma zu spielen, welches durch ausgedehnte Fibrose und fehlende Vaskularisation charakterisiert ist und somit die Verteilung der Chemotherapeutika in der Tumorumgebung verhindert (drug delivery) (Olive et al. 2009; Provenzano et al. 2012; Jacobetz et al. 2013). Daher sind weitere Untersuchungen zur Abklärung der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen und zur Identifizierung neuer Ziele für die therapeutische Intervention erforderlich.

1.4 Inflammation und Chemoresistenz im PDAC

Inflammation und Karzinogenese sind zwei komplizierte pathologische Prozesse, die miteinander interagieren (Hanahan and Weinberg 2011). Einerseits gilt die chronische Pankreatitis als Risikofaktor für die Entstehung des PDAC und begünstigt die Tumorprogression (Lowenfels et al. 1993), während auf der anderen Seite das Pankreaskarzinom an sich selbst eine starke inflammatorische Reaktion verursacht, die durch unreife myeloische Zellen, Makrophagen und Granulozyten charakterisiert ist (Habtezion, Edderkaoui, and Pandol 2016).

Inflammatorische Prozesse und insbesondere das Interleukin 6 (IL-6) spielen eine essentielle Rolle in der Entwicklung des PDAC, der Ausbildung eines desmoplastischen Tumorstromas und der Ausbildung von Resistenzen gegenüber den gängigen Chemotherapeutika (Zhang et al. 2013b; Corcoran et al. 2011).

1.4.1 Interferone und IFN-induzierte Proteine mit Tetratricopeptid-Wiederholungen

Interferone (IFNs) gehören zu den wirksamsten Zytokinen des angeborenen Immunsystems und können antimikrobielle Reaktionen gegen intrazelluläre Virusinfektionen auslösen (MacMicking 2012). Typ-I-IFNs regulieren eine Immunantwort durch die Aktivierung mehrerer Zelltypen, darunter dendritische Zellen, zytotoxische T-Zellen und natürliche Killerzellen und zeigen zusätzlich in Zellkulturen antiproliferative und proapoptotische Aktivität. Bisher wurden über 2000 IFN-regulierte Gene (ISGs) identifiziert (Hertzog et al. 2011), darunter die IFN-induzierten Proteine mit Tetratricopeptid-Wiederholungen (IFIT) die die Proteintranslation während einer Infektion über die Wechselwirkung mit dem eukaryotischen Initiationsfaktor 3 (eIF3) regulieren. Bisher sind vier Mitglieder dieser Proteinfamilie (IFIT1, IFIT2, IFIT3/4, und IFIT5) identifiziert (Fensterl und Sen 2011; Wachter et al. 2007). Neue Studien zeigen, dass IFIT-Proteine nicht nur an der antiviralen Immunantwort, sondern auch an verschiedenen zellulären Prozessen beteiligt sind und sie mit dem Progress und der Metastasierung von Krebs in Zusammenhang stehen (Tan et al. 2021; Pidugu et al. 2019).

Aufgrund ihrer Fähigkeit, Komponenten des eIF3-Komplexes zu binden und die Translation von Wirtszellproteinen zu hemmen, könnten IFIT-Proteine die Zellteilung durch die IFN-Signalübertragung hemmen. Darüber hinaus modulieren IFIT-Proteine die Expression negativer Regulatoren des Zellzyklus, was zur Akkumulation von Zellen am G1-S-Phasenübergang führt (Xiao et al. 2006). Somit können IFIT-Proteine als Komplex die Zellapoptose nach der Induktion von IFN-Antworten regulieren (Diamond and Farzan 2013). In Vorarbeiten zeigte sich eine Hochregulierung von IFIT3 in der humanen hochgradig metastasierende PDAC-Zelllinie L3.6pl im Vergleich zur Ursprungszelllinie COLO357FG. Zusätzlich führt die transgene Expression von IFIT3 in PDAC-Zelllinien zu einer erhöhten Proliferationsrate und Chemoresistenz. IFIT3 induziert auch in PDAC-Zellen die Expression von IL-6 und supprimiert die Wirkung von hungerinduzierter Apoptose (Niess et al. 2014).

1.4.2 IL-6/gp130/STAT3-Signalweg

Der Signalweg IL-6/glycoprotein-130/Signal transducer and activator of transcription 3 (IL-6/gp130/STAT3) stellt eine der wesentlichen Signalkaskaden in der Tumorentstehung und Tumorprogression im PDAC dar.

IL-6 ist ein 23-30 kDa großes Zytokin mit pleiotropen biologischen Aktivitäten auf eine Vielzahl von Zellen. IL-6 spielt eine wichtige Rolle für die Inflammationsreaktion im Körper, aber auch für die maligne Transformation und Progression von verschiedenen Tumoren, einschließlich dem Pankreaskarzinom. Durch Beeinflussung der Tumormikroumgebung und der Regulation von Krebsstammzellen trägt IL-6 wesentlich zur Karzinogenese bei (Heo, Wahler, and Suh 2016). IL-6 ist entscheidend für die KRAS-gesteuerte PDAC-Entstehung sowie für die Tumorprogression von Läsionen mit Intraepithelialen Neoplasien (PanIN) zu einem invasiven Karzinom. IL-6 fördert die Viabilität und Invasion der Zellen und hiermit die Metastasierung des PDAC (Lesina et al. 2011; Huang et al. 2010).

Gp130 ist ein 130 kDa großes Transmembranprotein, welches ubiquitär im menschlichen Körper exprimiert wird. In der Plasmamembran von Zellen fungiert es als transduzierende Untereinheit verschiedener Zytokinrezeptorkomplexe. Zu den bindenden Zytokinen zählen IL-6, Interleukin-11 (IL-11), Leukemia Inhibitory Factor (LIF), Oncostatin M (OSM), Ciliary Neurotrophic Factor (CNF), Cardiotrophin-1 (CT-1) und Cardiotrophin-like Cytokin (CLC) (Taga 1997), die alle zusammen die IL-6 Zytokinfamilie darstellen. Durch diese Vielfalt an Liganden hat gp130 ein großes biologisches Spektrum und ist involviert in die Adipozytenregulation (White and Stephens 2011), Inflammation und Tumorprogression (Silver and Hunter 2010). Die Signaltransduktion in das Innere der Zelle läuft hierbei über verschiedene Signalkaskaden ab, wie zum Beispiel STAT3.

STAT3 ist ein Transkriptionsfaktor und ein Mitglied der STAT-Proteinfamilie. Es wird durch das STAT3-Gen, ein Onkogen, kodiert, das in mehreren menschlichen Krebsarten, einschließlich dem Pankreaskarzinom, exprimiert wird und dessen Rolle in der Tumorentstehung bekannt ist (Abbildung 1).

Durch Bindung von IL-6 an dessen Rezeptor und an gp130, entsteht ein aktiver Signalkomplex. In diesem IL-6/IL-6R/gp130-Komplex kommt es zur Homodimerisierung von gp130, was eine Autophosphorylierung zweier intrinsisch assoziierter Januskinasen (JAK) bedingt (van Duijneveldt, Griffin, and Putoczki 2020). Diese wiederum phosphorylieren die intrazellulären Rezeptordomänen von gp130, wodurch STAT-3 über seine SH2-Domäne binden kann und von JAK phosphoryliert wird (Abbildung 1). Aufgrund der Phosphorylierung können nun die zwei STATs dimerisieren, in den Zellkern eindringen und dort als Transkriptionsfaktoren wirken (Heinrich et al. 2003).

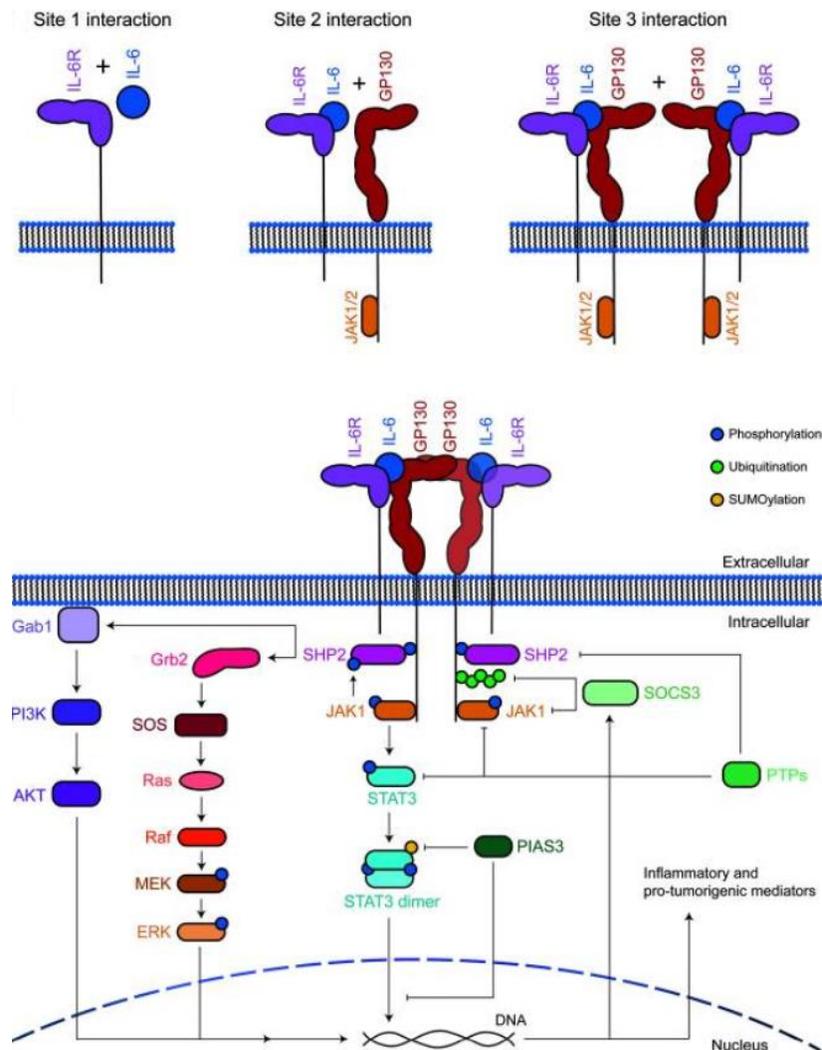


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Signalweges der IL-6 Zytokinfamilie sowie des schrittweisen Bindungsprozesses für die Mitglieder der IL-6-Familie am Beispiel von IL-6. Die Interaktion an Stelle 1 beinhaltet die Bindung von Zytokinen (in diesem Fall IL-6) an den jeweiligen zytokinspezifischen Rezeptorteil (IL-6R), wobei die Interaktion an Stelle 2 zwischen dem Zytokin/Rezeptorteilkomplex (IL-6/IL-6R) und dem gemeinsamen gp130-Rezeptorteil erfolgt. Interaktionen an Stelle 3 beinhalten die Bildung des endgültigen aktiven Signalkomplexes, in diesem Fall die Bildung des IL-6/IL-6R/gp130-Hexamerkomplex, die zur Aktivierung von Januskinasen (JAK) mit anschließender Aktivierung des STAT3-Signalweges führt. Dies führt zu einer Hochregulierung einer Reihe von entzündlichen und protumorigenen Molekülen sowie des negativen Regulators SOCS3 (van Duijneveldt, Griffin, and Putoczki 2020).

Es hat sich gezeigt, dass gp130 eine wichtige Rolle bei der Entstehung verschiedener Tumorarten spielt, dazu zählen Brustkrebs, Lungenkrebs und Ovarialzellkarzinome (Xu et al. 2013). Zurückzuführen ist dies teilweise auf die Expression wichtiger onkogener Proteine, wie zum Beispiel Survivin, Bcl-2, Cyclin D, VEGF und Matrixmetalloproteasen über den JAK-STAT3-Signalweg. Diese Proteine haben eine wichtige Funktion für Zellproliferation, Zellüberleben, Angiogenese und Zellmigration und damit bei der Entstehung und Verbreitung von Tumorzellen (Yu, Pardoll, and Jove 2009).

1.5 Neuartige potenzielle therapeutische Ziele im PDAC

In Vorarbeiten wurde die klinische Relevanz der Proteinexpression des IL-6/STAT3-Signalweges evaluiert und das Überleben in einer Kohorte von Patienten mit reseziertem PDAC in Abhängigkeit der Expression von IL-6, STAT3 und phosphoryliertem STAT3 (pSTAT3) analysiert (Pozios et al. 2018). Ziel war es hierbei, das Potenzial dieser Proteine als neuartige prognostische Marker für das PDAC zu bewerten. In einem Tissue Microarray mit PDAC-Gewebe von 175 Patienten konnte gezeigt werden, dass IL-6, STAT3 und pSTAT3 in über der Hälfte von den Patienten mit resezierten Pankreaskarzinomen stark exprimiert sind (Pozios et al. 2018). Basierend auf eigenen Vorarbeiten, die eine prognostische Rolle vom Östrogenrezeptor β (ER- β) für Patienten mit PDAC zeigten (Seeliger et al. 2018), wurde in dieser Studie auch die Expression vom ER- β und dessen phosphorylierter Form pER- β untersucht. Interessanterweise fand sich, dass die Expression von pER- β signifikant mit einer schlechteren Prognose korreliert (Pozios et al. 2018). Östrogenrezeptoren werden auf praktisch allen soliden Tumoren exprimiert, jedoch ist die Rolle von Östrogenrezeptoren als molekulares Target bei soliden Tumoren, außer dem Mammakarzinom, bisher nicht ausreichend charakterisiert. Somit stellen der IL-6/gp130/STAT3 Signalweg sowie der ER- β mögliche attraktive innovative therapeutische Ziele für das PDAC dar.

1.5.1 Raloxifen

Raloxifen ist ein Vertreter der dritten Generation von selektiven Östrogenrezeptor-Modulatoren. Am Östrogenrezeptor α (ER- α) besteht eine Wirkung als Agonist/Antagonist, und am ER- β dominieren in den meisten Geweben die antagonistischen Effekte. Klinisch wird Raloxifen in der Therapie der Osteoporose eingesetzt (Vogel et al. 2006). Basierend auf der 2018 veröffentlichten Studie, die eine wichtige Rolle der Isoform ER- β und ihrer phosphorylierten Isoform pER- β für die Tumorprogression nahe legen (Pozios et al. 2018), könnte Raloxifen als Antagonist für den ER- β in der Lage sein, durch Abbruch der ER- β -vermittelten

Signaltransduktion das Tumorwachstum zu inhibieren. Des Weiteren gibt es Hinweise, dass Raloxifen auch möglicherweise durch andere Signalwege wirken kann. In silico Daten geben erste Hinweise darauf, dass Raloxifen die IL-6 induzierte STAT3-Phosphorylierung im IL-6/gp130/STAT3 Signalweg spezifisch hemmen kann und potenziell an den gp130-Rezeptor binden und dabei die gp130-Dimerisation stören kann (Li et al. 2014).

1.5.2 SC144

SC144 gehört zu der Gruppe der Quinoxalinhydrazide und wurde das erste Mal 2009 an der Universität von Südkalifornien synthetisiert (Xu et al. 2013). Es zählt zu den niedermolekularen Verbindungen und benötigt deshalb keine weiteren Modifikationen, um im Körper stabil zu bleiben und seine Wirkung zu entfalten. Die Wirkung von SC144 beruht hauptsächlich auf der Bindung an gp130. Hierbei führt es zu einer Phosphorylierung und Deglykosylierung von gp130 und damit zu einer Senkung seiner Aktivität. Somit inhibiert SC144 auch den STAT-3 Signalweg, indem es die Phosphorylierung von STAT-3 und damit nachweislich die Expression weiterer Onkogene verhindert (Xu et al. 2013) (Abbildung 2).

Als mögliches Krebstherapeutikum induziert es Apoptose und stoppt die Zellzyklusprogression, hat jedoch in gesunden Epithelzellen nur sehr geringe Wirkung, was es zu einem idealen Tumormedikament machen könnte (Plasencia et al. 2009). Besonders in multiresistenten Ovarialzellkarzinomen konnte dessen Wirkung sowohl in vitro als auch in vivo in Mausmodellen gezeigt werden.

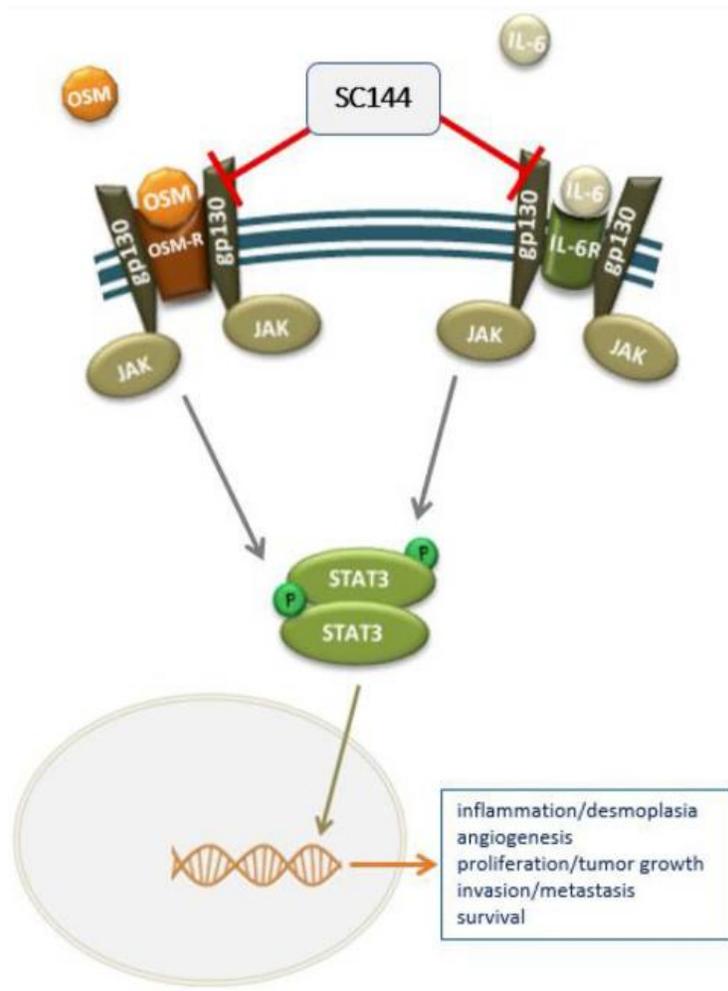


Abbildung 2: Schematische Darstellung des IL-6 bzw. OSM/gp130/STAT3 Signalweges mit Wirkung des gp130-Inhibitors SC144. Ein Arbeitsmodell für den Wirkmechanismus von SC144 bei PDAC: SC144 bindet an gp130 und inhibiert die gp130-Aktivität, was zur Hemmung der IL-6- bzw. OSM-stimulierten STAT3^{Y705}-Phosphorylierung und folglich zur Suppression der STAT3-regulierten Genexpression führt. Als Folge werden eine Reihe von Prozessen wie Inflammation und Desmoplasie, Angiogenese, Tumorphiliferation und Tumorzellwachstum, Invasion und Metastasierung sowie Tumorzellüberleben gehemmt (Pozios et al. 2023).

1.6 Detektion von okkulten Lebermetastasen: eine diagnostische Herausforderung im PDAC

Das PDAC metastasiert sehr frühzeitig in die Leber, sodass sich insbesondere bei diesen Patienten eine sehr ungünstige Prognose ergibt (Wood et al. 2022). Bei mehr als der Hälfte der Patienten liegt bei der Diagnose eine Metastasierung vor. Der Nachweis einer metastatischen Erkrankung schließt eine onkologische Resektion des Pankreas aus. Trotz der standardisierenden umfassenden präoperativen Abklärung mittels Computertomographie (CT) und ggf. Magnetresonanztomographie (MRT) kommt es bei der Mehrzahl der Patienten nach kurativer Resektion in den ersten zwei Jahren postoperativ zu einem Rezidiv mit Nachweis von Fernmetastasen typischerweise in der Leber oder im Peritoneum, was das Vorhandensein okkulter Metastasen zum Zeitpunkt der Operation bestätigt (Groot et al. 2018; Jones et al. 2019; Shirakawa et al. 2019). Die hepatische Metastasierung im PDAC hat unter allen Rezidivmustern die schlechteste Prognose und ein frühes Rezidiv stellt einen weiteren Indikator für eine schlechte Prognose dar (Groot et al. 2018).

Daher ist die intraoperative Erkennung hepatischer Metastasen am Beginn einer Pankreasoperation essenziell, um unnötige Pankreasresektionen mit hoher Morbidität zu vermeiden. Die Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung (Near-infrared fluorescence imaging) unter Verwendung von Indocyaningrün (ICG) ist eine in der Klinik etablierte Methode, um kolorektalen Lebermetastasen während einer Operation darzustellen (Liberale et al. 2017). Jedoch ist die Rolle der Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung beim PDAC, um Lebermetastasen zu erkennen, nicht bekannt.

1.7 Zielsetzung und Fragestellung

Inflammatorische Prozesse und insbesondere IL-6 spielen eine entscheidende Rolle in der Entwicklung des PDAC, der Ausbildung eines desmoplastischen Tumorstromas und der Ausbildung von Resistenzen gegenüber den gängigen Chemotherapeutika. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Identifizierung von prognostischen inflammatorischen Markern sowie der Untersuchung von innovativen zielgerichteten Therapien im Pankreaskarzinom, die den IL6/gp130/STAT3-Signalweg unterschiedlich inhibieren können und hiermit eventuell die Wirkung vom Erstlinien-Chemotherapeutikum Paclitaxel verstärken können. Im Fokus stehen hierbei einerseits die Charakterisierung molekularer Prozesse, die die Wirkung des Östrogenrezeptormodulators Raloxifen und des direkten gp130-Inhibitors SC144 im PDAC beschreiben, und andererseits die Untersuchung des Effektes einer Kombinationstherapie mit Raloxifen oder SC144 zusammen mit dem Erstlinien-Chemotherapeutikum Paclitaxel in vivo in einem orthotopen

PDAC-Mausmodell. Diese Aspekte werden hier *in vitro* und *in vivo*, im Zellkultur- und Tiermodell, untersucht. Anschließend wird im Rahmen der Tierversuche die ICG-gestützte Fluoreszenzbildgebung als Methode evaluiert, um die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen beim PDAC zu erhöhen.

Zu den Themenkomplexen, Identifizierung von prognostischen inflammatorischen Markern und Untersuchung von innovativen zielgerichteten Therapien im Pankreaskarzinom, werden in dieser Arbeit die folgenden Fragestellungen untersucht:

- Wird IFIT3 im humanen PDAC exprimiert und welche prognostische Relevanz hat seine Expression in Patienten mit PDAC? (Arbeit 1)
- Welchen Einfluss hat Raloxifen auf die Tumorpheriferation und das Tumorstachstum im PDAC und auf welchem molekularen Wirkmechanismen beruht die Wirkung von Raloxifen? (Arbeit 2)
- Wird gp130 im humanen PDAC exprimiert und welche Wirkung hat der direkte gp130-Inhibitor SC144 auf die Tumorpheriferation im PDAC? (Arbeit 3)
- Welchen Einfluss hat ein Targeting des IL6/gp130/STAT3-Signalweges mit dem selektiven ER-Modulator Raloxifen oder dem direkten gp130-Inhibitor SC144 auf die Wirksamkeit des Erstlinien-Chemotherapeutikums Paclitaxel im PDAC? (Arbeit 4)
- Welche Rolle spielt die ICG-gestützte Fluoreszenzbildgebung als Methode, um die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen beim PDAC zu erhöhen? (Arbeit 5)

2. Eigene Arbeiten

2.1 Die Rolle von IFIT3 in der Tumorprogression und Chemoresistenz im PDAC

IFIT3 ist ein Gen, dessen Expression durch Interferon stimuliert wird und das verschiedene antivirale und proinflammatorische Funktionen hat. Da die Inflammation in der Tumorentstehung, Tumorprogression und Entwicklung von Chemoresistenz beim PDAC eine Schlüsselrolle hat, wurde in dieser Arbeit die Rolle von IFIT3 im PDAC untersucht. In Vorarbeiten zeigte sich eine Hochregulierung von IFIT3 in der humanen hochgradig metastasierenden PDAC-Zelllinie L3.6pl im Vergleich zur Ursprungszelllinie COLO357FG. Zusätzlich führte die transgene Expression von IFIT3 in beiden PDAC-Zelllinien zu einer erhöhten Proliferationsrate und Chemoresistenz. IFIT3 induzierte auch die Expression von IL-6 und supprimierte die Wirkung von hungerinduzierter Apoptose (Niess et al. 2014).

In der vorliegenden Studie wurde die IFIT3 Expression in PDAC-Zelllinien mit unterschiedlichem Metastasierungspotenzial (FG und L3.6pl) und in einer etablierten Gemcitabin-resistenten Zellvariante (L3.6plGres) analysiert. Um zudem die klinische Relevanz von IFIT3 weiter zu bewerten, wurde die prognostische Bedeutung dieses Gens bei Patienten mit reseziertem PDAC untersucht. Im Detail wurde das Gesamtüberleben dieser Patienten in Abhängigkeit von der IFIT3 Expression in einem Tissue Microarray von 254 radikal resezierten Pankreaskarzinomen von zwei klinischen Kohorten analysiert. Die hochgradig metastasierenden L3.6pl-Zellen zeigten im Vergleich zu FG-Zellen eine signifikant höhere IFIT3 Expression. IFIT3 wurde in Gemcitabin-resistenten Zellen akkumuliert. Eine IFIT3 Überexpression erhöhte die Apoptoseresistenz gegen die Behandlung mit Gemcitabin. Somit stellt die Überexpression von IFIT3 einen Indikator für anti-apoptotische Aktivität und Chemoresistenz von PDAC-Zellen dar. IFIT3 fand sich in 32% der Patienten hoch exprimiert. Die Patienten, die eine hohe Expression von IFIT3 aufwiesen und eine Chemotherapie erhielten, hatten eine statistisch signifikant verringerte Überlebensrate gegenüber den Patienten mit geringerer Expression und gleicher Chemotherapie.

Zusammenfassend dient IFIT3 als Indikator für Chemoresistenz gegen das Erstlinien-Chemotherapeutikum Gemcitabin sowie als negativer prognostischer Marker für Patienten mit reseziertem PDAC, die eine Chemotherapie erhalten. Hiermit bestätigt sich die Rolle inflammatorischer Prozesse in der Tumorprogression und Chemoresistenz im PDAC.

Elevated interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 3 (IFIT3) is a poor prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. Zhao Y, Altendorf-Hofmann A, Pozios I, Camaj P, Däberitz T, Wang X, Niess H, Seeliger H, Popp F, Betzler C, Settmacher U, Jauch KW, Bruns C, Knösel T. J Cancer Res Clin Oncol. 2017 Jun;143(6):1061-1068. <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2351-4>

2.2 Raloxifen inhibiert in vivo und in vitro das Tumorwachstum im PDAC durch Interaktion mit dem ER- β und dem IL-6/gp130/STAT3 Signalweg.

Die Rolle von Östrogenrezeptoren beim Pankreaskarzinom ist weitgehend unbekannt. Hinweise aus eigenen Voruntersuchungen legten eine entscheidende Rolle der Isoform ER- β für die Tumorprogression nahe (Seeliger et al. 2018). Ausgehend von der Fragestellung, inwiefern die Expression von Östrogenrezeptoren beim PDAC mit pathologischen Parametern und der Prognose von Patienten mit resezierten Pankreaskarzinomen korreliert, sind in eigenen Vorarbeiten eine Reihe immunhistochemisch-klinischer sowie präklinischer in vitro und in vivo- Untersuchungen durchgeführt worden. In einem Tissue Microarray mit PDAC-Gewebe von 175 Patienten konnte gezeigt werden, dass die Proteine des IL-6/STAT3-Signalweges sowie ER- β und seine phosphorylierte Form in der Mehrheit der Patienten hoch exprimiert sind und die Expression von phosphoryliertem ER- β signifikant mit einer schlechteren Prognose der PDAC-Patienten korreliert (Pozios et al. 2018). In silico Daten zeigten, dass Raloxifen außerhalb von einer Wirkung als selektiver ER-Modulator auch als möglicher Inhibitor der IL-6/gp130-Interaktion und folglich der IL-6/gp130/STAT3 Signalkaskade wirken könnte (Li et al. 2014).

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Modulation der ER- β Signaltransduktion mit Raloxifen zu einer Reduktion der Proliferationsrate in vitro und zu einer signifikanten Inhibition des orthotopen Tumorwachstums in einem PDAC-Mausmodell führt. In in vitro Versuchen wurde gezeigt, dass ein Targeting des ER- β Signalweges mit dem selektiven ER-Modulator Raloxifen zu einer dosisabhängigen, signifikanten Reduktion der Proliferation von humanen PDAC-Zellen führt. Dieser Effekt konnte durch siRNA knockdown von ER- β antagonisiert werden, nicht jedoch durch knockdown von ER- α , so dass offensichtlich eine Spezifität des Effektes bezüglich ER- β besteht. Gleichzeitig konnte in PDAC-Zellen eine signifikante Inhibition der Synthese von IL-6 nach Gabe von Raloxifen gezeigt werden, so dass hier möglicherweise ein Link zu inflammatorischen Komponenten der Karzinogenese und Tumorprogression besteht. Im orthotopen PDAC Xenograft-Mausmodell führte die Therapie mit Raloxifen zu einer signifikanten Reduktion des Tumorwachstums und der Metastasierung. Histologisch konnte eine Reduktion der Tumorzellproliferation auch in vivo bestätigt werden. Anhand dieser Daten könnte ein Kollektiv von Patienten identifiziert werden, die neben einer adjuvanten zytotoxischen Therapie von einer Therapie mit Raloxifen möglicherweise profitieren könnten.

Raloxifene inhibits pancreatic adenocarcinoma growth by interfering with ER β and IL-6/gp130/STAT3 signaling. Pozios I, Seel NN, Hering NA, Hartmann L, Liu V, Camaj P, Müller MH, Lee LD, Bruns CJ, Kreis ME, Seeliger H. Cell Oncol (Dordr). 2021 Feb;44(1):167-177. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00559-9>

2.3 Inhibition von gp130 mittels SC144 als potenzieller Therapieansatz im PDAC

Der IL-6/gp130/STAT3-Signalweg stellt eine der wesentlichen Signalkaskaden in der Tumorentstehung, Tumorprogression, Metastasierung und Chemoresistenz des PDAC dar. Glycoprotein-130 fungiert in der Plasmamembran von Zellen als transduzierende Untereinheit verschiedener Zytokinrezeptorkomplexe der IL-6 Familie und überträgt intrazellulär das Signal der IL-6 Zytokinen durch STAT3 Aktivierung. SC144 ist ein niedermolekularer direkter gp130-Inhibitor.

Diese Studie untersucht einerseits die gp130-Expression in PDAC-Proben einer klinischen Kohorte und andererseits die in vitro Wirkung von SC144 in PDAC-Zelllinien. Hierfür wurde die gp130-Expression im Tumorepithel und Tumorstroma in einem Tissue Microarray von 175 resezierten Pankreaskarzinomen durch Immunhistochemie bestimmt und eine Überlebensanalyse durchgeführt. Darüber hinaus wurde in vitro die Hemmung der Tumorpheriferation durch SC144 mittels BrdU- und MTT-Assays evaluiert und mit Hilfe von Western Blots, die Wirkung von SC144 auf die IL-6- und OSM-Signalübertragung untersucht.

Gp130 wird im Epithel von 78,8 % und im Stroma von 9,4 % der Tumorproben exprimiert. Patienten ohne stromale gp130-Expression zeigen ein schlechteres Überleben als Patienten mit stromaler gp130-Expression (Median 16,2 bzw. 22,9 Monate), dieser Unterschied erreicht jedoch keine Signifikanz ($p = 0,144$). SC144 hemmt die Zellproliferation und Zellviabilität von PDAC-Zellen und supprimiert sowohl die durch IL-6 als auch die durch OSM stimulierte STAT3^{Y705}-Phosphorylierung in Pankreaskarzinomzelllinien.

Obwohl gp130 in der Mehrheit der epithelialen PDAC-Zellen nachgewiesen werden konnte, ist die stromale gp130 Expression in dieser Studie nur gering. Der niedermolekulare gp130-Inhibitor SC144 kann wirksam die Tumorpheriferation des PDAC in vitro hemmen und die IL-6- oder OSM/gp130/STAT3-Signalkaskade inhibieren. Diese Ergebnisse legen nahe, dass gp130 ein neuartiges mögliches therapeutisches Ziel für die Behandlung von PDAC sein kann. Der innovative Ansatz einer direkten gp130-Inhibition beruht auf der Tatsache, dass gp130 der membranständige Signaltransduktor für alle IL-6 Zytokine (IL-6, IL-11, IL-27, LIF, CNTF, OSM, CT-1, CLC) ist (Taga 1997). Somit ist anzunehmen, dass durch SC144 nicht nur die Wirkung von IL-6 blockiert wird, sondern auch die der anderen Zytokinen. Jedoch ist die Rolle von diesen Zytokinen im PDAC bisher nur in Ansätzen charakterisiert.

Gp130 is expressed in pancreatic cancer and can be targeted by the small inhibitor molecule SC144.

Pozios I, Hering NA, Guenzler E, Arndt M, Elezkurtaj S, Knösel T, Bruns CJ, Margonis GA, Beyer K, Seeliger H. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology. 2023 Jan;149(1):271-280. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04518-9>

2.4 Die Inhibition des IL-6/gp130 Signalwegs durch Raloxifen oder SC144 verstärkt die Effektivität von Paclitaxel im PDAC

Paclitaxel ist ein Zytoskelett-Hemmer, welcher als Erstlinien-Kombinationstherapie mit dem Standard-Chemotherapeutikum Gemcitabine im PDAC verwendet wird (Goldstein et al. 2015). Inwiefern eine zusätzliche Inhibition des IL-6/gp130 Signalweges mit Raloxifen oder SC144 die Effektivität der Standard-Chemotherapeutika und die Chemoresistenz beeinflusst, war bislang unklar und wurde bisher nicht untersucht. Ziel der vorliegenden Studie war es zu klären, ob ein gezieltes Targeting des IL-6/gp130 Signalweges mit SC144 oder Raloxifen die Wirksamkeit von Paclitaxel verstärkt. MTT- und BrdU-Assays sowie TUNEL-Färbungen wurden durchgeführt, um die Viabilität, Proliferation und Apoptoseinduktion der Zellen in den humanen PDAC Zelllinien L3.6pl und AsPC-1 zu untersuchen. In vivo wurden die Effekte in einem orthotopen PDAC-Mausmodell untersucht. Die Tumorproben wurden vermessen und mittels qPCR, Immunhistochemie und ELISA analysiert. In vitro zeigte eine kombinierte Stimulation mit Raloxifen/Paclitaxel eine verstärkte Inhibition der Tumorzellproliferation und Apoptoseinduktion. Berechnungen des Synergie-Scores bestätigten einen additiven Einfluss von Raloxifen auf Paclitaxel. Im PDAC-Mausmodell konnte ebenfalls gezeigt werden, dass beide Kombinationen von Raloxifen/Paclitaxel und SC144/Paclitaxel das Tumorwachstum im Vergleich zur Monotherapie reduzieren. Jedoch scheinen die Wirkmechanismen von Raloxifen und SC144 unterschiedlich zu sein. Während die Kombination von Raloxifen/Paclitaxel die Survivin-mRNA-Expression verringert und tendenziell eine erhöhte Caspase-3-Färbung in den Primärtumoren zeigt, reduziert die Kombination von SC144/Paclitaxel den IL-6-Spiegel in den Tumoren und im Plasma der Mäuse. Zusammenfassend kann die zusätzliche Gabe von einem IL-6/gp130 Hemmer (Raloxifen oder SC144) die antikanzerogene Wirkung von Paclitaxel auf das Tumorwachstum verstärken, was darauf hindeutet, dass die Paclitaxel-Dosen auch bei einer kombinierten Chemotherapie reduziert werden könnten, um die Nebenwirkungen von Paclitaxel zu verringern. Somit könnte die Chemoresistenz gegenüber Paclitaxel reduziert werden. Dieser therapeutische Ansatz könnte eine neue Perspektive in der individualisierten molekularen Diagnostik und Therapie beim Pankreaskarzinom eröffnen.

Targeting Interleukin-6/Glycoprotein-130 Signaling by Raloxifene or SC144 Enhances Paclitaxel Efficacy in Pancreatic Cancer. Hering NA, Günzler E, Arndt M, Zibell M, Lauscher JC, Kreis ME, Beyer K, Seeliger H, Pozios I. *Cancers* (Basel). 2023 Jan 11;15(2):456. <https://doi.org/10.3390/cancers15020456>

2.5 Machbarkeitsstudie zum Nachweis von PDAC-Lebermetastasen mittels Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung im orthotopen Mausmodell

Der Nachweis einer metastatischen Erkrankung schließt eine onkologische Resektion des Pankreas aus. Nahinfrarot-Fluoreszenzmarkierungen wie ICG unterstützen die intraoperative Erkennung okkult und hepatischer Mikrometastasen und ihre Rolle ist bei Erkennung kolorektalen Metastasen bereits in der Klinik etabliert (Liberale et al. 2017). Jedoch ist diese Methode im PDAC bis jetzt nicht untersucht. Unter Berücksichtigung der 3R-Prinzipien, Ersetzen, Reduzieren, Verbessern (Replace, Reduce, Refine), konnten wir diese Fragestellung in einem bereits bestehenden und genehmigten Tierversuchsvorhaben adressieren. Um die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen im PDAC zu erhöhen, wurde die Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung in unserem Projekt integriert und als Methode evaluiert. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Rolle der Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung mittels ICG bei PDAC-Lebermetastasen als Machbarkeitsstudie in dem orthotopischen PDAC-Mausmodell zu untersuchen.

Das PDAC wurde durch die Injektion humanen PDAC-Zellen (L3.6pl) in den Pankreasschwanz von BALB/c-nu Mäusen induziert. Nach vierwöchigem Tumorwachstum wurde ICG in die Schwanzvene injiziert und bei der Tumorentnahme am darauffolgenden Tag eine Fluoreszenzsignalanalyse mithilfe der Quest Spectrum® Fluoreszenzbildgebungsplattform durchgeführt. Obwohl ein PDAC-Wachstum und Lebermetastasen bei allen Tieren visuell bestätigt werden konnten, zeigte keine der Lebermetastasen ein erhöhtes Fluoreszenz-Signal. Die ICG-Färbung konnte weder die Lebermetastasen sichtbar machen noch die Fluoreszenzintensität des Randes um die Leberläsionen verstärken. Daher ist die ICG-Färbung nicht in der Lage, die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen mittels Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung im PDAC zu erhöhen.

Weitere Studien auf molekularer Ebene sind erforderlich, um den zugrundeliegenden Mechanismus für die unzureichende ICG-Speicherung in den PDAC-Lebermetastasen und der Ränder der Leberläsionen zu erläutern.

Near-infrared fluorescence imaging for detecting pancreatic liver metastasis in an orthotopic athymic mouse model. Lee LD, Hering NA, Zibell M, Lobbes LA, Kamphues C, Lauscher JC, Margonis GA, Seeliger H, Beyer K, Weixler B, **Pozios I.** In Vivo. 2023 Mar-Apr;37(2):519-523. <https://doi.org/10.21873/invivo.13109>

3. Diskussion

Maligne Erkrankungen des Pankreas sind aktuell die vierthäufigste Ursache der durch Krebs verursachten Todesfälle bei beiden Geschlechtern in der westlichen Welt mit steigender Tendenz. In 2018 war das PDAC weltweit für über 430.000 Todesfälle verantwortlich und in 2030 wird es voraussichtlich die zweithäufigste krebsassoziierte Todesursache in Europa und in den Vereinigten Staaten von Amerika sein (WHO Organisation 2020). Aufgrund einer häufig erst sehr späten Diagnose in einem bereits fortgeschrittenen Stadium kommt ein potenziell kurativer chirurgischer Therapieansatz nur bei 15-20 Prozent der Patienten in Frage. Daher stellt die medikamentöse Tumorthherapie die wichtigste Säule der Behandlungsoptionen dar. Jedoch gibt es aktuell keine effektive Therapieoption für Patienten mit nicht resektablen Tumoren trotz der essenziellen Fortschritte bei anderen Krebserkrankungen durch neuartige Chemotherapeutika, Immuntherapie oder zielgerichtete Antikörpertherapie. Daher ist Forschung in diesem Bereich von großer Bedeutung, um die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen besser zu verstehen und neue Ziele für die therapeutische Intervention zu identifizieren.

Ein essenzielles Problem der Chemotherapie im PDAC ist die Chemoresistenz. Obwohl gängige Chemotherapeutika in *in vitro* Experimenten Effekte in epithelialen Zellkulturmodellen zeigen, können diese erfolgsversprechenden Ergebnisse nicht in PDAC-Patienten übertragen werden. Hierfür scheint die desmoplastische Tumormikroumgebung des PDAC verantwortlich zu sein. Inflammatorische Prozesse und insbesondere der gp130/STAT3-Signalweg der IL-6 Zytokinfamilie scheinen eine wichtige Rolle nicht nur in der Entwicklung des PDAC zu spielen, sondern auch in der Ausbildung dieses desmoplastischen Tumorstromas und der Ausbildung von Chemoresistenzen (Zhang et al. 2013b; Corcoran et al. 2011).

Im Fokus dieser Arbeit stand die Identifizierung prognostischer Marker für das PDAC, die möglicherweise als neue therapeutische Ziele dienen könnten, sowie die Untersuchung der Blockierung des IL-6/gp130/STAT3-Signalweges durch den Östrogenrezeptormodulator Raloxifen und den direkten gp130-Hemmer SC144 als neue Therapieoption im PDAC. Ziel war es, mögliche Effekte zu überprüfen, die grundlegende Mechanismen dieser Wirkung zu erläutern sowie die Grundlage für eine mögliche klinische Anwendung einer Kombinationstherapie aus klassischen Chemotherapeutika mit Raloxifen oder dem neuen gp130-Hemmer SC144 zu schaffen. Im Rahmen dieser Experimente haben wir zusätzlich als Methode die ICG-gestützte Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung evaluiert, um die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen beim PDAC zu erhöhen, da das Auftreten dieser sehr häufig und entscheidend für das geringe Überleben bei PDAC-Patienten ist.

3.1 Inflammatorische prognostische Marker im PDAC

3.1.1 IFIT3 Expression

Ausgehend von den Voruntersuchungen unserer früheren Arbeitsgruppe konnten wir IFIT3 als potenziellen prognostischen Marker für Patienten mit PDAC identifizieren. In einer Gain-of-Function-Studie zeigte sich eine Hochregulierung von IFIT3 in der aggressiven humanen PDAC-Zelllinie L3.6pl im Vergleich zu ihrer ursprünglichen Zelllinie, COLO357FG. Des Weiteren konnte auch gezeigt werden, dass IFIT3 die IL-6 Expression induziert (Niess et al. 2014). Basierend auf diesen Daten haben wir die Expression von IFIT3 in zwei klinischen Kohorten mit Patienten mit reseziertem PDAC von zwei chirurgischen Zentren analysiert (Zhao et al. 2017).

Hier konnte bestätigt werden, dass die erhöhte Expression von IFIT3 einen unabhängigen prognostischen Faktor für das gesamte Überleben dieser Patienten darstellt (Zhao et al. 2017). Van den Broeck et al. analysierten Expressionsprofile von IFIT3 in Proben von PDAC-Patienten und zeigten einen Trend, dass die IFIT3-Expression mit einer schlechteren Prognose korrelierte (Van den Broeck et al. 2012). In anderen Studien wird berichtet, dass IFIT3 in T- und B-Zellen, plasmazytoiden dendritischen Zellen, myeloischen dendritischen Zellen, Nierenzellen und Neuronen weit verbreitet ist (Fensterl et al. 2008; Wachter et al. 2007). Da Immunsuppression ein Kennzeichen des PDAC darstellt und zu einer frühen Metastasierung und einem kürzeren Überleben der Patienten beiträgt, spielt IFIT3 als Bestandteil unterschiedlicher Immunzellen eventuell eine Rolle bei der Interaktion des Immunsystems und des PDAC in der Tumormikroumgebung (Gautam, Batra, and Jain 2023).

In dieser Arbeit bestätigt sich das Potenzial von IFIT3 als negativen prognostischen Marker für das PDAC und somit die Rolle inflammatorischer Prozesse im Pankreaskarzinom. Jedoch ist die Rolle von IFIT3 im PDAC nur unzureichend beschrieben und weitere Untersuchungen sind erforderlich. IFIT3 ist ein Entzündungs-assoziiertes Gen, das über den JAK/STAT-Signalweg reguliert wird und die IL-6 Expression induziert (Niess et al. 2014). Da der IL-6/gp130/STAT3-Signalweg essenziell für die Entstehung und Progression des PDAC ist, lag der Fokus weiterer Studien in dieser Arbeit auf diesem Signalweg.

3.1.2 IL-6/gp130 Expression

Der IL-6-Spiegel im Serum von Patienten mit PDAC ist erhöht im Vergleich zu gesunden Patienten oder Patienten mit chronischer Pankreatitis und stellt einen negativen prognostischen Marker dar (Okada et al. 1998; Ebrahimi et al. 2004; Talar-Wojnarowska et al. 2009). Ein erhöhter IL-6-Serumspiegel bei Patienten

mit PDAC korreliert auch mit einer erhöhten Tumorlast, Kachexie, Metastasierung und einem erhöhten Tumorstadium sowie bei metastasierten Patienten mit einem schlechten Gesamtüberleben (Ebrahimi et al. 2004; Okada et al. 1998; Talar-Wojnarowska et al. 2009; Miura et al. 2015; Ramsey et al. 2019; Farren et al. 2016). Aus diesen Gründen wurde berichtet, dass der IL-6-Serumspiegel im Vergleich zum C-reaktiven Protein (CRP), dem karzinoembryonalen Antigen (CEA) und dem Kohlenhydratantigen 19-9 (CA19-9) einen Mehrwert als diagnostischer und prognostischer Marker haben könnte (Mroczko et al. 2010).

IL-6 wird in der Tumormikroumgebung exprimiert und ist in humanen PDAC-Tumoren im Vergleich zu angrenzendem normalem Gewebe überexprimiert (Bellone et al. 2006; Xing et al. 2018). In unserer Vorarbeit konnte in einem Tissue Microarray mit PDAC-Gewebe von 175 Patienten auch gezeigt werden, dass die Proteine vom IL-6/STAT3 Signalweg in den meisten Tumorproben hoch exprimiert sind (Pozios et al. 2018). Allerdings zeigte in unserer Kohorte die Expression von IL-6, STAT3 und pSTAT3 keine prognostische Relevanz für das gesamte oder tumorfreie Überleben dieser Patienten. Analog zu unseren Daten zeigten andere Studien, einschließlich den Daten vom „The Cancer Genome Atlas“, ebenfalls keine signifikante Korrelation der erhöhten IL-6-Expression mit der Überlebensrate (Kim et al. 2017; van Duijneveldt, Griffin, and Putoczki 2020). Jedoch korreliert in anderen Studien die Expression von IL-6 mit einem verringerten Überleben (Mroczko et al. 2010; Ramsey et al. 2019; Bellone et al. 2006). Diese kontroverse Datenlage deutet daraufhin, dass die prognostische Rolle der IL-6-Expression im PDAC-Gewebe in weiteren Studien basierend auf größeren Patientenkohorten untersucht werden soll.

In unserem orthotopen PDAC-Mausmodell konnte eine Überexpression von IL-6 auf mRNA-Ebene in den Pankreasmaustumoren sowie auf Proteinebene im Serum der Mäuse nachgewiesen werden (Hering et al. 2023). Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen anderer Studien überein, die ebenfalls eine Überexpression von IL-6 auf mRNA- und Proteinebene im Pankreas von PDAC-Mäusen berichtet haben (Shi et al. 2019; Nagathihalli et al. 2016; Zhang et al. 2013a). In der Literatur sind allerdings unterschiedliche Expressionsniveaus von IL-6 in verschiedenen primären und kommerziellen humanen PDAC-Zelllinien beschrieben. Jedoch ist die IL-6 Expression von den Karzinomzellen durchaus höher im Vergleich zu den normalen pankreatischen duktalem Epithelzelllinien (Goumas et al. 2015; Bellone et al. 2006; Zhang et al. 2013b; Feurino et al. 2007; Wigmore et al. 2002). Hier scheint die Tumormikroumgebung eine wichtige Rolle beizutragen.

In dieser Arbeit konnte in einem Tissue Microarray mit PDAC-Gewebe von 175 Patienten auch gezeigt werden, dass gp130 im Epithel der meisten Tumorproben hoch exprimiert ist. Jedoch ist die stromale gp130 Expression in dieser Studie nur gering. Patienten ohne stromale gp130-Expression zeigen ein

schlechteres Überleben als Patienten mit stromaler gp130-Expression (Median 16,2 bzw. 22,9 Monate), dieser Unterschied erreicht jedoch keine Signifikanz ($p = 0,144$). Diese Ergebnisse legen nahe, dass gp130 ein neuartiges mögliches therapeutisches Ziel für die Behandlung von PDAC sein kann.

3.2 Die Rolle der inflammatorischen Tumormikroumgebung und des IL-6/gp130 Signalwegs im PDAC

In den letzten Jahren wird zunehmend die Rolle der Tumormikroumgebung im PDAC beschrieben, da sie entscheidend für die Tumorentstehung, Progression, Metastasierung und Chemoresistenz ist. Das PDAC ist durch ein typisches desmoplastisches Stroma charakterisiert, welches fast 90 % des gesamten Tumolvolumens ausmacht (Erkan et al. 2012; Neesse et al. 2011; Pandol et al. 2009). Diese einzigartige Eigenschaft scheint für das therapeutische Versagen der sonst aggressiven Chemotherapeutika verantwortlich zu sein.

Mittlerweile ist eine Reihe von Zelltypen in der Pankreastumormikroumgebung charakterisiert, die mit den pankreatischen, duktalem Karzinomzellen interagieren und zu der entzündlichen desmoplastischen Komponente des PDAC beitragen. Darunter zählen krebsassoziierte Fibroblasten (CAFs), pankreatische Sternzellen (PSCs), tumorassoziierte Makrophagen (TAMs), tumorassoziierte Neutrophile (TANs), regulatorische T-Zellen, myeloid-abgeleitete Suppressor-Zellen (MDSCs), natürliche Killerzellen, dendritische Zellen, Mastzellen, Nervenzellen und Endothelzellen (Foucher et al. 2018). Die Interaktionen zwischen den verschiedenen Zelltypen innerhalb der Tumormikroumgebung sowie zwischen den Stromazellen und den epithelialen Karzinomzellen stellen komplexe Prozesse dar, die nur teils beschrieben sind und das Verständnis der grundlegenden Mechanismen erschweren. Die oben genannten Zelltypen können unterschiedlich auf die Tumorphiliferation und auf die anderen Zellen der Tumormikroumgebung wirken und je nach Interaktion und Signalen entweder die Tumorphiliferation fördern oder inhibieren.

Für die entzündliche desmoplastische Reaktion der Tumormikroumgebung sind die CAFs und die PSCs verantwortlich. Nach entsprechender Aktivierung produzieren sie verschiedene Komponenten der extrazellulären Matrix wie Kollagen, Laminin und Fibronektin, die die Tumormikroumgebung umbauen und eine fibrotische Barriere um das PDAC bilden. Diese erschwert das Durchdringen von Chemotherapeutika („Drug Delivery“) und trägt zur Bildung von Chemoresistenzen im PDAC bei (Masamune et al. 2009; Jacobetz et al. 2013; Provenzano et al. 2012; Apte, Pirola, and Wilson 2015). Es sind drei Typen von CAFs beschrieben, die myofibroblastischen CAFs (myCAFs), die inflammatorischen

CAFs (iCAFs) und die kürzlich entdeckten Antigen-präsentierenden CAFs (apCAFs) (Öhlund et al. 2017; Elyada et al. 2019).

Während myCAFs durch hohe Expression von α -Smooth-Muscle-Actin (α -SMA) den Umbau der extrazellulären Matrix und die Epitheliale-mesenchymale Transition vorantreiben, sind iCAFs durch niedrige Expression von α -SMA und hohe Expression von Zytokinen, vor allem IL-6, gekennzeichnet und an inflammatorischen Prozessen und in der Ablagerung von extrazellulärer Matrix beteiligt (Öhlund et al. 2017). Somit trägt nicht nur die IL-6-Expression der epithelialen PDAC-Zellen zur Tumorphiliferation, Tumorprogression, Angiogenese und Metastasierung im PDAC bei, sondern auch die IL-6-Expression der iCAFs, die die oben genannten Prozesse fördert.

In unserem orthotopen PDAC-Mausmodell konnten wir eine Überexpression von IL-6 auf mRNA-Ebene in den Pankreasmaustumoren sowie auf Proteinebene im Serum der Mäuse nachweisen. Da wir ein transgenes Mausmodell mit humaner PDAC-Zelllinie in unserer Arbeit verwendet haben, haben wir sowohl auf humanes als auch auf murines IL-6 im Serum der Mäuse untersucht. Unsere Ergebnisse konnten die oben genannten Befunden bestätigen, da wir humanes und murines IL-6 im Serum der Mäuse nachweisen konnten. Somit konnte gezeigt werden, dass IL-6 sowohl von den humanen epithelialen Pankreaskarzinomzellen als auch von den murinen Stromazellen exprimiert wird (Hering et al. 2023). Im Einklang mit unseren Ergebnissen waren auch Befunde von anderen Studien. In einem Organoidmodell waren in Monokultur von Pankreaskarzinom- oder Stromazellen nur geringe Menge von IL-6 nachweisbar, während in einem Kokultur-System von Pankreaskarzinom- und Stromazellen iCAFs hohe Mengen von IL-6 exprimierten und hierdurch in den epithelialen Pankreaskarzinomzellen den IL-6/gp130/STAT3-Signalweg aktivierten (Hamada et al. 2016; Öhlund et al. 2017; Nagathihalli et al. 2016).

Die Wirkung gängiger Chemotherapeutika wird einerseits durch die oben beschriebene desmoplastische Struktur des PDAC, die mit der extrazellulären Matrix eine Barriere bildet, und andererseits durch die Ausschüttung von inflammatorischen Zytokinen und anderen Signalmolekülen verhindert (Jacobetz et al. 2013). Aus diesen Gründen ist ein doppeltes Targeting der duktaalen Karzinomzellen und der Tumormikroumgebung erforderlich, um effektive therapeutische Ansätze zu entwickeln.

3.3 Inhibition des IL-6/gp130-Signalweges als Therapieoption im PDAC

Die oben genannten Daten weisen darauf hin, dass der IL-6/gp130/STAT3-Signalweg ein vielversprechendes therapeutisches Ziel für die Behandlung von PDAC-Patienten darstellt. In unserer

Arbeit konnten wir diese Hypothese bestätigen, da wir die hemmende Wirkung von Raloxifen oder SC144 auf die IL-6/gp130/STAT3-Signalübertragung in PDAC-Zellen und auf das Tumorwachstum in einem Xenotransplantat-Mausmodell zeigen konnten (Pozios et al. 2020; 2023; Hering et al. 2023).

Obwohl Raloxifen als selektiver ER-Modulator bekannt ist, stehen *in silico* Daten zur Verfügung, die Raloxifen als möglichen Hemmer der IL-6/gp130 Interaktion darstellten (Li et al. 2014). In einer 2014 erschienen Arbeit zeigten Li und Kollegen, dass Raloxifen die IL-6 induzierte STAT3-Phosphorylierung im IL-6/gp130/STAT3 Signalweg spezifisch hemmen kann und potenziell an den gp130-Rezeptor binden und dabei die gp130-Dimerisation stören kann (Li et al. 2014). Die in dieser Arbeit vorliegenden Daten zeigen, dass Raloxifen die IL-6-Synthese in humanen PDAC-Zellen hemmt, spezifisch am gp130 sich bindet und als möglichen Wirkmechanismus die IL-6-induzierte STAT3-Phosphorylierung wirksam supprimiert (Pozios et al. 2020). Darüber hinaus zeigen unsere Daten, dass Raloxifen zu einer signifikanten Reduktion der Proliferationsrate in verschiedenen Pankreaskarzinomzelllinien führt sowie das Tumorwachstum *in vivo* in einem orthotopen Pankreasadenokarzinom-Mausmodell reduziert. Diese Befunde werden durch andere Studien gestützt, die die Rolle von Bazedoxifen, einem anderen selektiven ER-Modulator mit ähnlichem Wirkmechanismus, untersuchten (Li et al. 2014; Wu et al. 2016). Bazedoxifen wurde, wie auch Raloxifen durch *in silico* Analysen als potenzieller IL-6/gp130 Inhibitor identifiziert und zeigt in einer weiteren Studie, ähnliche Ergebnisse bezüglich seiner *in vitro* und *in vivo* Wirkung im PDAC (Wu et al. 2016).

Kürzlich wurden verschiedene gegen IL-6 gezielte humanisierte, murine oder chimäre Antikörper (Olokizumab, Sirukumab, Siltuximab, Clazakizumab, PF-423691, MED15117 und Elsilimomab) in klinischen Studien der Phasen I, II oder III vor allem als entzündungshemmende Substanzen für Autoimmunerkrankungen untersucht (Choy et al. 2020). Des Weiteren stehen mittlerweile gezielte Antikörper gegen die spezifische IL-6 Untereinheit des IL-6-Rezeptorkomplex (IL-6R α), wie Tocilizumab und Sarilumab zur Verfügung (Choy et al. 2020). Der humanisierte Anti-IL-6R α -Antikörper Tocilizumab ist in mehr als 100 Ländern für rheumatoide Arthritis und andere autoinflammatorische Erkrankungen zugelassen und wurde auch für die Behandlung der COVID19-Pneumonie angesetzt (Choy et al. 2020). Derzeit wird Tocilizumab in Kombination mit Gemcitabin/nab-Paclitaxel in einer randomisierten Phase II Studie für Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem PDAC untersucht (NCT02767557). Eine weitere klinische Studie wurde mit dem monoklonalen Anti-IL-6-Antikörper Siltuximab als Monotherapie für Patienten mit soliden Tumoren, einschließlich PDAC, durchgeführt. Die Ergebnisse stehen jedoch noch aus (NCT00841191).

Darüber hinaus kann eine spezifische Hemmung des IL6-Transsignalings mithilfe des Designerproteins soluble gp130 Fusionsprotein (sgp130Fc) erreicht werden. IL-6 bindet zunächst an den spezifischen IL-6R α . Dieser IL-6/IL-6R α -Komplex bindet und aktiviert dann ein Homodimer aus der Rezeptoruntereinheit gp130 (auch IL-6R β genannt). Während gp130 auf allen Körperzellen exprimiert ist, kommt der IL-6R α nur auf einigen Zelltypen vor. Zellen, die nur gp130, nicht aber den IL-6R α exprimieren, können daher nicht auf IL-6 reagieren. Interessanterweise wird der IL-6R α auch als löslicher Rezeptor (sIL-6R α) exprimiert. Der Komplex aus IL-6 und sIL-6R kann alle Körperzellen stimulieren. Daher verleihen Zellen, die den sIL-6R freisetzen, anderen Zellen die Eigenschaft, auf IL-6 zu reagieren. Dieser Signalweg wird als Trans-Signaling bezeichnet (Calabrese and Rose-John 2014). In mehreren Studien konnte die wichtige Rolle des IL-6-Trans-Signalings bei Inflammation und Krebs gezeigt werden. Derzeit wird das rekombinante sgp130Fc als neues Medikament für Patienten mit Morbus Crohn getestet (Schreiber et al. 2021).

Die beschriebenen Therapien mit Tocilizumab und sgp130Fc wurden bereits in vivo in einem PDAC-Mausmodell untersucht und führten dort zu einer Tumorreduktion (Goumas et al. 2015). Allerdings fokussieren diese Studien nur auf das IL-6. Angesichts der Tatsache, dass die gp-130/STAT3-Signalübertragung durch zahlreiche verschiedene Zytokine aktiviert werden kann, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die therapeutische Ausrichtung auf die gp130-Untereinheit wirksamer sein könnte als die alleinige Blockierung von IL-6, da andere gp130-Zytokine der IL-6 Familie (wie OSM, IL-11 oder LIF) die Effekte von IL-6 kompensieren können. Hierfür gibt es Daten, die diese Hypothese stützen. Oncostatin M (OSM) ist, ähnlich zu den klinischen Daten für IL-6, im Serum von Patienten mit PDAC erhöht (Torres et al. 2014). In der vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, dass OSM, wie IL-6 die Phosphorylierung von STAT3^{Y705} in humanen PDAC-Zelllinien stimulieren kann (Pozios et al. 2023).

Um die Hypothese einer globalen Inhibition der gp130/STAT3-Signalübertragung zu untersuchen, haben wir in der vorliegenden Arbeit den direkten kleinmolekularen gp130-Inhibitor SC144 ausgewählt. Unsere Daten zeigen, dass SC144 zu einer Reduktion der Proliferationsrate in Pankreaskarzinomzelllinien führt und die STAT3-Phosphorylierung supprimiert (Pozios et al. 2023). Der innovative Ansatz einer direkten gp130-Inhibition beruht auf der Tatsache, dass somit die Signaltransduktion und STAT3-Aktivierung durch alle Zytokine der IL-6-Familie (IL-6, IL11, IL27, LIF, CNTF, OSM, CT-1, CLC) blockiert wäre. Dieses ist allerdings noch nicht abschließend experimentell bestätigt. Die spezifische Rolle der einzelnen Mitglieder der IL-6-Familie, wie zum Beispiel für die Ausbildung von Chemoresistenzen, ist im PDAC bisher weitgehend unklar.

3.4 Inhibierung des IL-6/gp130 Signalweges zur Reduktion der Chemoresistenz gegen Paclitaxel im PDAC

Inwiefern eine zusätzliche Therapie zur Inhibierung des IL-6/gp130 Signalweges in Kombination mit dem Erstlinien-Chemotherapie-Schema Gemcitabine/Paclitaxel zu einem verbesserten Überleben der Patienten mit PDAC führt, ist bislang unklar. Derzeit wird Tocilizumab in Kombination mit Gemcitabin/nab-Paclitaxel in einer randomisierten Phase II Studie für Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem PDAC untersucht (NCT02767557). Jedoch sind die endgültigen Ergebnisse der Studie noch ausstehend. Darüber hinaus ist der zugrundeliegende molekulare Mechanismus unklar.

Die in dieser Arbeit untersuchten Kombinationstherapieansätze mit Raloxifen/Paclitaxel und SC144/Paclitaxel zeigten im Vergleich zur Monotherapie eine verstärkte Reduktion des Tumorwachstums im PDAC-Mausmodell (Hering et al. 2023). In vitro zeigte eine kombinierte Stimulation mit Raloxifen/Paclitaxel eine verstärkte Inhibition der Tumorzellproliferation und Apoptoseinduktion. Berechnungen des Synergie-Scores bestätigten einen additiven Einfluss von Raloxifen auf Paclitaxel. Jedoch scheinen die Wirkmechanismen von Raloxifen und SC144 unterschiedlich zu sein (Hering et al. 2023). Während die Kombination von Raloxifen/Paclitaxel die Survivin-mRNA-Expression verringerte und tendenziell eine verstärkte Caspase-3-Färbung in den Primärtumoren zeigte, reduzierte die Kombination von SC144/Paclitaxel den IL-6-Spiegel in den Tumoren und im Plasma der Mäuse (Hering et al. 2023).

Das desmoplastische Tumorstroma stellt eine Hauptursache für die Ausbildung von Chemoresistenzen in der Mehrheit der PDAC dar. Der IL-6/STAT3 Signalweg spielt hierbei eine essentielle Rolle (Long et al. 2017). Die Hemmung dieses Signalwegs durch STAT3-Inhibition fördert die sogenannte Wirkstoffverfügbarkeit am Wirkungsort („Drug Delivery“) im PDAC Mausmodell über den Umbau der Tumormikroumgebung (Nagathihalli et al. 2015), verbessert das Ansprechen auf das Standard-Chemotherapeutikum Gemcitabin und verzögert die Tumorprogression (Venkatasubbarao et al. 2013). Gemcitabine ist ein Zytostatikum, welches zur Gruppe der Pyrimidinanaloga gehört und stellt das Standard-Chemotherapeutikum für die Pankreaskarzinomtherapie dar. Paclitaxel ist ein Zytoskelett-Hemmer, welcher als Erstlinien-Kombinationstherapie mit Gemcitabin bei der Therapie des PDAC verwendet wird (Goldstein et al. 2015). Verschiedene Studien zeigten, dass Paclitaxel in Ovarialkarzinomzelllinien und im Plasma von Patienten mit Mammakarzinom die IL-6-Expression stimuliert. Im Ovarialkarzinomstroma konnte gezeigt werden, dass CAFs die Hauptquelle für die IL-6 Expression darstellen, wodurch die Chemoresistenz gegenüber Paclitaxel verstärkt wird (Wang et al. 2006; Pusztai et al. 2004). In der Summe spielt der IL-6/gp130/STAT3

Signalweg eine entscheidende Rolle bei der Wirkung von Gemcitabin und Paclitaxel sowie potenziell bei der Tumorprogression.

Das in der vierten Arbeit beschriebene Versuchsvorhaben stellt somit einen wichtigen Bestandteil der präklinischen Untersuchungen der Inhibierung des IL6/gp130-Signalweges als additive Therapieoption in Kombination mit dem Erstlinien-Chemotherapeutikum Paclitaxel beim Pankreaskarzinom dar (Hering et al. 2023). Hemmung des IL-6/gp130-Signalwegs könnte in vivo zur Reduktion der Chemoresistenz gegen Paclitaxel im PDAC beitragen. Anhand dieser Daten könnte ein Kollektiv von Patienten identifiziert werden, die neben einer zytotoxischen Therapie auch von einer Therapie mit einem gp130-Hemmer profitieren könnten. Diese Daten könnten eine neue Perspektive in der individualisierten molekularen Diagnostik und gezielten Therapie beim PDAC eröffnen.

3.5 Diagnostischer Wert der intraoperativen Fluoreszenzbildgebung zur Erkennung von okkulten Lebermetastasen im PDAC

Bei mehr als der Hälfte der Patienten mit PDAC liegt bei der Diagnosestellung eine Fernmetastasierung vor. Da der Nachweis einer metastatischen Erkrankung eine onkologische Resektion des Pankreas ausschließt, ist die genaue Diagnostik zur Stadieneinteilung vor der Erwägung einer Resektion von wichtiger Bedeutung, um die unnötige Morbidität einer großen Operation bei Patienten mit unheilbarer Tumorerkrankung zu vermeiden. Trotz der präoperativen radiologischen Abklärung kommt es bei einigen Patienten mit lokalresektablem Tumor zu einem frühen Rezidiv mit Fernmetastasen, was das Vorhandensein okkulter Metastasen zum Zeitpunkt der Operation bestätigt (Groot et al. 2018; Jones et al. 2019). Die Verwendung von der Positronen-Emissions-Tomographie (PET) oder der Staging-Laparoskopie kann hilfreich sein, um kleine oberflächige hepatische oder peritoneale Metastasen zu identifizieren und die Rate nicht-therapeutischer Laparotomien zu reduzieren (Allen et al. 2016). Jedoch werden kleine intraabdominale Metastasen weiterhin übersehen (Elbanna, Jang, and Kim 2020). Eine genauere Erkennung radiologisch okkulten Metastasen kann dazu beitragen, die Behandlung für diese PDAC-Patienten deutlich zu verbessern. Vorarbeiten zeigten, dass die intraoperative Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung die diagnostische Genauigkeit für radiologisch okkulte Tumoren der Leber oder des Peritoneums bei hepatozellulärem oder kolorektalem Karzinom verbessert (Satou et al. 2013; Handgraaf et al. 2017). Da die Rolle dieser Fluoreszenzbildgebung beim PDAC nicht erforscht war, haben wir im

Rahmen dieser Arbeit die intraoperative Nahinfrarot- Fluoreszenzbildgebung als Methode in unserem PDAC Mausmodell untersucht.

Obwohl in der vorliegenden Studie ein PDAC-Wachstum und Lebermetastasen bei allen Versuchstieren visuell bestätigt werden konnten, zeigte keine der Lebermetastasen ein erhöhtes Fluoreszenz-Signal. Die ICG-Färbung konnte weder die Lebermetastasen sichtbar machen noch die Fluoreszenzintensität des Randes um die Leberläsionen verstärken. Daher ist die ICG-Färbung nicht in der Lage, die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen mittels Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung im PDAC zu erhöhen.

Weitere Studien auf molekularer Ebene sind erforderlich, um den zugrundeliegenden Mechanismus für die unzureichende ICG-Speicherung in den PDAC-Lebermetastasen und der Ränder der Leberläsionen zu erläutern.

4. Zusammenfassung

Trotz bedeutender Fortschritte in der Tumorthherapie und Verbesserung des Überlebens der meisten Tumorpatienten, bleibt die Therapie des Pankreaskarzinoms heutzutage eine große Herausforderung (Conroy et al. 2018; Hoff et al. 2013). Die relative 5-Jahres-Überlebensrate ist sehr ungünstig und liegt in Deutschland nach Angaben des Deutschen Zentrums für Krebsregisterdaten des Robert-Koch-Instituts bei 8 Prozent. Damit weist das PDAC die niedrigsten Überlebensraten unter allen Krebserkrankungen auf (Robert Koch Institut, Zentrum für Krebsregisterdaten). In den letzten Jahren wurden durch die Entdeckung einiger für die Entwicklung eines Karzinoms relevanter Signalwege neue therapeutische Ansatzpunkte aufgedeckt und so das Konzept der zielgerichteten Therapie entwickelt.

Ein Merkmal des PDAC ist die Chemoresistenz gegen die gängigen Chemotherapeutika, wodurch die medikamentösen Therapieoptionen aktuell nur zu einem geringfügig verlängerten Überleben beitragen. Das desmoplastische Tumorstroma stellt eine Hauptursache für die Ausbildung von Chemoresistenzen in der Mehrheit der PDAC dar (Olive et al. 2009; Provenzano et al. 2012; Jacobetz et al. 2013). Der IL-6/gp130/STAT3-Signalweg spielt eine entscheidende Rolle bei der Tumorprogression im PDAC sowie in der Entwicklung der fibrotischen Tumormikroumgebung, welche für die Tumorentstehung, Progression, Metastasierung und Chemoresistenz des PDAC verantwortlich ist (Zhang et al. 2013b; Corcoran et al. 2011). IL-6 ist als Schlüsselzytokin des PDAC gut untersucht. Seine Expression wird durch proinflammatorische Prozesse stimuliert. So wird beispielsweise die IL-6 Expression durch das Zytokin IFN- α über IFIT3 stimuliert (Niess et al. 2014). Die in dieser Arbeit beschriebene Identifizierung von IFIT3 als prognostischer Marker für das PDAC bestätigt die zentrale Rolle inflammatorischer Prozesse im PDAC (Zhao et al. 2017).

Eine Inhibition des IL-6-Signalweges als potenzieller Therapieansatz wurde für das PDAC bisher noch nicht erforscht. Für die Hemmung des IL-6/gp130-Signalweges wurde in dieser Arbeit der Östrogenrezeptormodulator Raloxifen mit zusätzlicher hemmender Wirkung an der IL6/gp130-Interaktion sowie der kleinemolekulare direkte gp130-Hemmer SC144 identifiziert (Abbildung 3). Der innovative Ansatz einer direkten gp130-Inhibition beruht auf der Tatsache, dass gp130 ein membranständiger Signaltransduktor für alle Zytokine der IL-6 Familie ist (IL-6, OSM, IL-11, IL-27, LIF, CNTF, CT-1, CLC). Im Vergleich zu der bisherigen isolierten IL-6 Inhibition findet durch die globale gp130-Blockierung eine Hemmung der STAT3-Phosphorylierung auch für die anderen Zytokine der IL-6 Familie statt. Darüber hinaus wurde die therapeutische Wirkung durch die oben genannten Substanzen in Kombination mit dem

Erstlinien-Chemotherapeutikum Paclitaxel untersucht. Ziel der Untersuchungen war es, neue therapeutische Perspektiven für Patienten mit Pankreaskarzinom zu eröffnen.

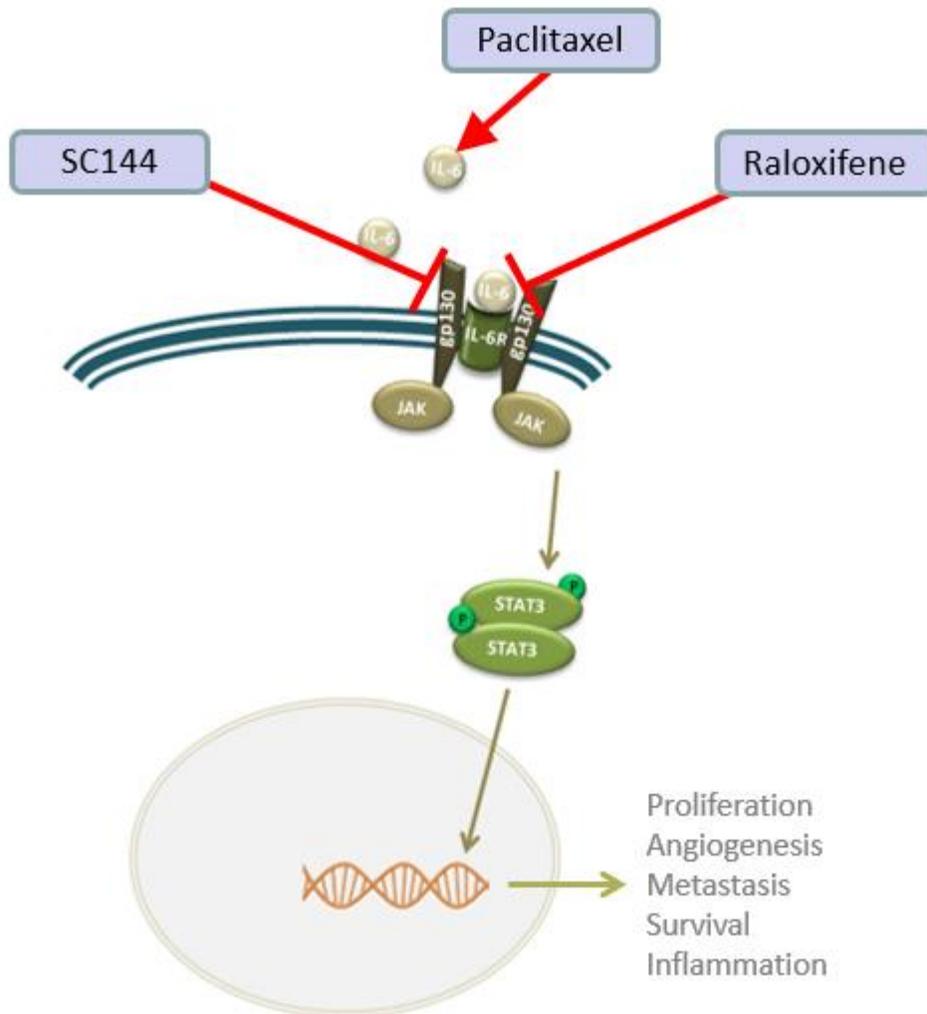


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Wirkmechanismus von Raloxifen und SC144 auf den IL-6/gp130/STAT3 Signalweges in PDAC.

In den vorliegenden Arbeiten konnte an humanen PDAC-Zelllinien gezeigt werden, dass Raloxifen und SC144 die IL-6- bzw. OSM-induzierte STAT3-Phosphorylierung im IL-6/gp130/STAT3 Signalweg supprimieren (Abbildung 3). In diesem Forschungsvorhaben wurden grundlegende Mechanismen sowie die Rolle des IL-6/gp130/STAT3-Signalweges im PDAC erläutert. Des Weiteren wurde die Wirksamkeit des Östrogenrezeptormodulators Raloxifen als möglichen IL-6/gp130-Inhibitor sowie des kleinmolekularen

gp130-Hemmers SC144 auf die Tumorproliferation in vitro sowie auf das Tumorwachstum in einem orthotopen PDAC-Mausmodell bestätigt (Pozios et al. 2020; 2023). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass die Kombination eines IL-6/gp130-Inhibitors (SC144 oder Raloxifene) mit dem Erstlinien-Chemotherapeutikum Paclitaxel zu einer signifikanten Reduktion des orthotopen Tumorwachstums führt und die Apoptose in vitro erhöht (Hering et al. 2023). Diese Ergebnisse sind vielversprechend. Durch Einsatz von Raloxifen bzw. SC144 könnte möglicherweise die Chemoresistenz im PDAC gegenüber Paclitaxel reduziert werden. Jedoch sind die grundlegenden Mechanismen nur in Ansätzen charakterisiert. Zur weiteren Identifizierung der Wirkmechanismen unter Berücksichtigung des inflammatorischen Milieus, insbesondere zur Analyse der beteiligten Tumormikroumgebung und der krebsassoziierten Fibroblasten des PDAC, sind weitere Experimente in syngenem immunkompetentem Mausmodell erforderlich.

Da die Lebermetastasierung eine entscheidende Rolle für die Prognose der PDAC-Patienten spielt und eine onkologische Resektion des Pankreas ausschließt, wurde zusätzlich in dieser Arbeit die Nahinfrarot-Fluoreszenzbildgebung in unserem Projekt integriert und als Methode evaluiert, um die Sensitivität der Erfassung möglicher Lebermetastasen im PDAC zu erhöhen. Obwohl ein PDAC-Wachstum und Lebermetastasen bei allen Tieren visuell bestätigt werden konnten, zeigte keine der Lebermetastasen ein erhöhtes Fluoreszenzsignal (Lee et al. 2023). Weitere Studien auf molekularer Ebene sind erforderlich, um den Mechanismus für die unzureichende ICG-Speicherung in den PDAC-Lebermetastasen und der Ränder der Leberläsionen zu erläutern.

Diese in vitro und in vivo Ergebnisse deuten auf die IL-6/gp130-Interaktion als potenzielles therapeutisches Ziel für die Therapie des Pankreaskarzinoms hin. Die Kombination von Raloxifen/Paclitaxel oder SC144/Paclitaxel zeigt im Mausmodell einen therapeutischen Vorteil im Vergleich zu Paclitaxel allein (Hering et al. 2023). Dieses Versuchsvorhaben stellt somit einen wichtigen Bestandteil der präklinischen Untersuchungen der Inhibierung des IL6/gp130-Signalweges als additive Therapieoption zur Reduktion der Paclitaxel-Chemoresistenz beim PDAC dar. Diese Daten könnten eine neue Perspektive in der individualisierten molekularen Diagnostik und gezielten Therapie beim Pankreaskarzinom eröffnen.

5. Literaturverzeichnis

- Allen, Victoria B., Kurinchi Selvan Gurusamy, Yemisi Takwoingi, Amun Kalia, and Brian R. Davidson. 2016. "Diagnostic Accuracy of Laparoscopy Following Computed Tomography (CT) Scanning for Assessing the Resectability with Curative Intent in Pancreatic and Periampullary Cancer." *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 7 (7): CD009323. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009323.pub3>.
- Apte, Minote, Romano C. Pirola, and Jeremy S. Wilson. 2015. "Pancreatic Stellate Cell: Physiologic Role, Role in Fibrosis and Cancer." *Current Opinion in Gastroenterology* 31 (5): 416. <https://doi.org/10.1097/MOG.000000000000196>.
- Bellone, Graziella, Carlo Smirne, Francesco Angelo Mauri, Elena Tonel, Anna Carbone, Alessandra Buffolino, Luca Dughera, Antonio Robecchi, Mario Pirisi, and Giorgio Emanuelli. 2006. "Cytokine Expression Profile in Human Pancreatic Carcinoma Cells and in Surgical Specimens: Implications for Survival." *Cancer Immunology, Immunotherapy: CII* 55 (6): 684–98. <https://doi.org/10.1007/s00262-005-0047-0>.
- Calabrese, Leonard H., and Stefan Rose-John. 2014. "IL-6 Biology: Implications for Clinical Targeting in Rheumatic Disease." *Nature Reviews Rheumatology* 10 (12): 720–27. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2014.127>.
- Chawla, Akhil, and Cristina R. Ferrone. 2019. "Neoadjuvant Therapy for Resectable Pancreatic Cancer: An Evolving Paradigm Shift." *Frontiers in Oncology* 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2019.01085>.
- Choy, Ernest H., Fabrizio De Benedetti, Tsutomu Takeuchi, Misato Hashizume, Markus R. John, and Tadimitsu Kishimoto. 2020. "Translating IL-6 Biology into Effective Treatments." *Nature Reviews Rheumatology* 16 (6): 335–45. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0419-z>.
- Conroy, Thierry, Pascal Hammel, Mohamed Hebbar, Meher Ben Abdelghani, Alice C. Wei, Jean-Luc Raoul, Laurence Choné, et al. 2018. "FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer." *The New England Journal of Medicine* 379 (25): 2395–2406. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1809775>.
- Corcoran, Ryan B., Gianmarco Contino, Vikram Deshpande, Alexandros Tzatsos, Claudius Conrad, Cyril H. Benes, David E. Levy, Jeffrey Settleman, Jeffrey A. Engelman, and Nabeel Bardeesy. 2011. "STAT3 Plays a Critical Role in KRAS-Induced Pancreatic Tumorigenesis." *Cancer Research* 71 (14): 5020–29. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-0908>.
- Diamond, Michael S., and Michael Farzan. 2013. "The Broad-Spectrum Antiviral Functions of IFIT and IFITM Proteins." *Nature Reviews Immunology* 13 (1): 46–57. <https://doi.org/10.1038/nri3344>.
- Duijneveldt, Gemma van, Michael D.W. Griffin, and Tracy L. Putoczki. 2020. "Emerging Roles for the IL-6 Family of Cytokines in Pancreatic Cancer." *Clinical Science (London, England : 1979)* 134 (16): 2091–2115. <https://doi.org/10.1042/CS20191211>.
- Ebrahimi, Behnam, Susan L. Tucker, Donghui Li, James L. Abbruzzese, and Razelle Kurzrock. 2004. "Cytokines in Pancreatic Carcinoma: Correlation with Phenotypic Characteristics and Prognosis." *Cancer* 101 (12): 2727–36. <https://doi.org/10.1002/cncr.20672>.
- Elbanna, Khaled Y., Hyun-Jung Jang, and Tae Kyong Kim. 2020. "Imaging Diagnosis and Staging of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Comprehensive Review." *Insights into Imaging* 11 (1): 58. <https://doi.org/10.1186/s13244-020-00861-y>.
- Elyada, Ela, Mohan Bolisetty, Pasquale Laise, William F. Flynn, Elise T. Courtois, Richard A. Burkhardt, Jonathan A. Teinor, et al. 2019. "Cross-Species Single-Cell Analysis of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Reveals Antigen-Presenting Cancer-Associated Fibroblasts." *Cancer Discovery* 9 (8): 1102–23. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-19-0094>.

- Erkan, Mert, Simone Hausmann, Christoph W. Michalski, Alexander A. Fingerle, Martin Dobritz, Jörg Kleeff, and Helmut Friess. 2012. "The Role of Stroma in Pancreatic Cancer: Diagnostic and Therapeutic Implications." *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 9 (8): 454–67. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.115>.
- Farren, Matthew R., Thomas A. Mace, Susan Geyer, Sameh Mikhail, Christina Wu, Kristen Ciombor, Sanaa Tahiri, et al. 2016. "Systemic Immune Activity Predicts Overall Survival in Treatment-Naïve Patients with Metastatic Pancreatic Cancer." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 22 (10): 2565–74. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1732>.
- Fensterl, Volker, Christine L. White, Michifumi Yamashita, and Ganes C. Sen. 2008. "Novel Characteristics of the Function and Induction of Murine P56 Family Proteins." *Journal of Virology* 82 (22): 11045–53. <https://doi.org/10.1128/jvi.01593-08>.
- Feurino, Louis W., Yuqing Zhang, Uddalak Bharadwaj, Rongxin Zhang, Fei Li, William E. Fisher, F. Charles Brunicaudi, Changyi Chen, Qizhi Yao, and Min Li. 2007. "IL-6 Stimulates Th2 Type Cytokine Secretion and Upregulates VEGF and NRP-1 Expression in Pancreatic Cancer Cells." *Cancer Biology & Therapy* 6 (7): 1096–1100. <https://doi.org/10.4161/cbt.6.7.4328>.
- Foucher, Etienne D., Clément Ghigo, Salem Chouaib, Jérôme Galon, Juan Iovanna, and Daniel Olive. 2018. "Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Strong Imbalance of Good and Bad Immunological Cops in the Tumor Microenvironment." *Frontiers in Immunology* 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2018.01044>.
- Gautam, Shailendra K., Surinder K. Batra, and Maneesh Jain. 2023. "Molecular and Metabolic Regulation of Immunosuppression in Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Molecular Cancer* 22 (1): 118. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01813-y>.
- Goldstein, David, Robert Hassan El-Maraghi, Pascal Hammel, Volker Heinemann, Volker Kunzmann, Javier Sastre, Werner Scheithauer, et al. 2015. "Nab-Paclitaxel Plus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer: Long-Term Survival From a Phase III Trial." *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 107 (2). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju413>.
- Goumas, Freya A., Reinhild Holmer, Jan-Hendrik Egberts, Artur Gontarewicz, Carola Heneweer, Ulf Geisen, Charlotte Hauser, et al. 2015. "Inhibition of IL-6 Signaling Significantly Reduces Primary Tumor Growth and Recurrences in Orthotopic Xenograft Models of Pancreatic Cancer." *International Journal of Cancer* 137 (5): 1035–46. <https://doi.org/10.1002/ijc.29445>.
- Groot, Vincent P., Georgios Gemenetzis, Alex B. Blair, Ding Ding, Ammar A. Javed, Richard A. Burkhart, Jun Yu, et al. 2018. "Implications of the Pattern of Disease Recurrence on Survival Following Pancreatectomy for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Annals of Surgical Oncology* 25 (8): 2475–83. <https://doi.org/10.1245/s10434-018-6558-7>.
- Habtezion, Aida, Mouad Edderkaoui, and Stephen J. Pandol. 2016. "Macrophages and Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Cancer Letters* 381 (1): 211–16. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.11.049>.
- Hamada, Shin, Atsushi Masamune, Naoki Yoshida, Tetsuya Takikawa, and Tooru Shimosegawa. 2016. "IL-6/STAT3 Plays a Regulatory Role in the Interaction Between Pancreatic Stellate Cells and Cancer Cells." *Digestive Diseases and Sciences* 61 (6): 1561–71. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-4001-5>.
- Hanahan, Douglas, and Robert A. Weinberg. 2011. "Hallmarks of Cancer: The next Generation." *Cell* 144 (5): 646–74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
- Handgraaf, H. J. M., L. S. F. Boogerd, D. J. Höppener, A. Peloso, B. G. Sibinga Mulder, C. E. S. Hoogstins, H. H. Hartgrink, et al. 2017. "Long-Term Follow-up after near-Infrared Fluorescence-Guided Resection of Colorectal Liver Metastases: A Retrospective Multicenter Analysis." *European Journal of Surgical Oncology* 43 (8): 1463–71. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2017.04.016>.

- Heinrich, Peter C, Iris Behrmann, Serge Haan, Heike M Hermanns, Gerhard Müller-Newen, and Fred Schaper. 2003. "Principles of Interleukin (IL)-6-Type Cytokine Signalling and Its Regulation." *Biochemical Journal* 374 (Pt 1): 1–20. <https://doi.org/10.1042/BJ20030407>.
- Heo, Tae-Hwe, Joseph Wahler, and Nanjoo Suh. 2016. "Potential Therapeutic Implications of IL-6/IL-6R/Gp130-Targeting Agents in Breast Cancer." *Oncotarget* 7 (13): 15460–73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7102>.
- Hering, Nina A., Emily Günzler, Marco Arndt, Miriam Zibell, Johannes C. Lauscher, Martin E. Kreis, Katharina Beyer, Hendrik Seeliger, and Ioannis Pozios. 2023. "Targeting Interleukin-6/Glycoprotein-130 Signaling by Raloxifene or SC144 Enhances Paclitaxel Efficacy in Pancreatic Cancer." *Cancers* 15 (2): 456. <https://doi.org/10.3390/cancers15020456>.
- Hoff, Daniel D. Von, Thomas Ervin, Francis P. Arena, E. Gabriela Chiorean, Jeffrey Infante, Malcolm Moore, Thomas Seay, et al. 2013. "Increased Survival in Pancreatic Cancer with Nab-Paclitaxel plus Gemcitabine." *The New England Journal of Medicine* 369 (18): 1691. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1304369>.
- Huang, Chen, Guang Yang, Tao Jiang, Kejian Huang, Jun Cao, and Zhengjun Qiu. 2010. "Effects of IL-6 and AG490 on Regulation of Stat3 Signaling Pathway and Invasion of Human Pancreatic Cancer Cells in Vitro." *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR* 29 (1): 51. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-29-51>.
- Jacobetz, Michael A., Derek S. Chan, Albrecht Neesse, Tashinga E. Bapiro, Natalie Cook, Kristopher K. Frese, Christine Feig, et al. 2013. "Hyaluronan Impairs Vascular Function and Drug Delivery in a Mouse Model of Pancreatic Cancer." *Gut* 62 (1): 112–20. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-302529>.
- Jones, Robert P., Eftychia-Eirini Psarelli, Richard Jackson, Paula Ghaneh, Christopher M. Halloran, Daniel H. Palmer, Fiona Campbell, et al. 2019. "Patterns of Recurrence After Resection of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Secondary Analysis of the ESPAC-4 Randomized Adjuvant Chemotherapy Trial." *JAMA Surgery* 154 (11): 1038–48. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2019.3337>.
- Kim, Hyoung Woo, Jong-Chan Lee, Kyu-Hyun Paik, Jingu Kang, Jaihan Kim, and Jin-Hyeok Hwang. 2017. "Serum Interleukin-6 Is Associated with Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Progression Pattern." *Medicine* 96 (5): e5926. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000005926>.
- "Krebs - Pancreatic Cancer." n.d. Accessed April 17, 2016. http://www.krebsdaten.de/Krebs/EN/Content/Cancer_sites/Pancreatic_cancer/pancreatic_cancer_node.html.
- Latenstein, Anouk E. J., Stijn van Roessel, Lydia G. M. van der Geest, Bert A. Bonsing, Cornelis H. C. Dejong, Bas Groot Koerkamp, Ignace H. J. T. de Hingh, et al. 2020. "Conditional Survival After Resection for Pancreatic Cancer: A Population-Based Study and Prediction Model." *Annals of Surgical Oncology* 27 (7): 2516–24. <https://doi.org/10.1245/s10434-020-08235-w>.
- Lee, Lucas D., Nina A. Hering, Miriam Zibell, Leonard A. Lobbes, Carsten Kamphues, Johannes C. Lauscher, Georgios A. Margonis, et al. 2023. "Near-Infrared Fluorescence Imaging for Detecting Pancreatic Liver Metastasis in an Orthotopic Athymic Mouse Model." *In Vivo* 37 (2): 519–23. <https://doi.org/10.21873/invivo.13109>.
- Lesina, Marina, Magdalena U. Kurkowski, Katharina Ludes, Stefan Rose-John, Matthias Treiber, Günter Klöppel, Akihiko Yoshimura, et al. 2011. "Stat3/Socs3 Activation by IL-6 Transsignaling Promotes Progression of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Development of Pancreatic Cancer." *Cancer Cell* 19 (4): 456–69. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2011.03.009>.
- Li, Huameng, Hui Xiao, Li Lin, David Jou, Vandana Kumari, Jiayuh Lin, and Chenglong Li. 2014. "Drug Design Targeting Protein-Protein Interactions (PPIs) Using Multiple Ligand Simultaneous Docking (MLSD) and Drug Repositioning: Discovery of Raloxifene and Bazedoxifene as Novel Inhibitors of

- IL-6/GP130 Interface." *Journal of Medicinal Chemistry* 57 (3): 632–41.
<https://doi.org/10.1021/jm401144z>.
- Liberale, G., P. Bourgeois, D. Larsimont, M. Moreau, V. Donckier, and T. Ishizawa. 2017. "Indocyanine Green Fluorescence-Guided Surgery after IV Injection in Metastatic Colorectal Cancer: A Systematic Review." *European Journal of Surgical Oncology: The Journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 43 (9): 1656–67.
<https://doi.org/10.1016/j.ejso.2017.04.015>.
- Long, Kristen B., Graham Tooker, Evan Tooker, Santiago Lombo Luque, Jae W. Lee, Xiaoqing Pan, and Gregory L. Beatty. 2017. "IL6 Receptor Blockade Enhances Chemotherapy Efficacy in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Molecular Cancer Therapeutics* 16 (9): 1898–1908.
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-16-0899>.
- Lowenfels, A. B., P. Maisonneuve, G. Cavallini, R. W. Ammann, P. G. Lankisch, J. R. Andersen, E. P. Dimagno, A. Andrén-Sandberg, and L. Domellöf. 1993. "Pancreatitis and the Risk of Pancreatic Cancer. International Pancreatitis Study Group." *The New England Journal of Medicine* 328 (20): 1433–37. <https://doi.org/10.1056/NEJM199305203282001>.
- MacMicking, John D. 2012. "Interferon-Inducible Effector Mechanisms in Cell-Autonomous Immunity." *Nature Reviews Immunology* 12 (5): 367–82. <https://doi.org/10.1038/nri3210>.
- Masamune, Atsushi, Takashi Watanabe, Kazuhiro Kikuta, and Tooru Shimosegawa. 2009. "Roles of Pancreatic Stellate Cells in Pancreatic Inflammation and Fibrosis." *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 7 (11): S48–54. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2009.07.038>.
- Miura, Tomofumi, Shuichi Mitsunaga, Masafumi Ikeda, Satoshi Shimizu, Izumi Ohno, Hideaki Takahashi, Junji Furuse, et al. 2015. "Characterization of Patients with Advanced Pancreatic Cancer and High Serum Interleukin-6 Levels." *Pancreas* 44 (5): 756–63.
<https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000335>.
- Mroczo, Barbara, Magdalena Groblewska, Mariusz Gryko, Bogusław Kedra, and Maciej Szmítkowski. 2010. "Diagnostic Usefulness of Serum Interleukin 6 (IL-6) and C-Reactive Protein (CRP) in the Differentiation between Pancreatic Cancer and Chronic Pancreatitis." *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 24 (4): 256–61. <https://doi.org/10.1002/jcla.20395>.
- Nagathihalli, Nagaraj S., Jason A. Castellanos, Chanjuan Shi, Yugandhar Beesetty, Michelle L. Reyzer, Richard Caprioli, Xi Chen, et al. 2015. "Signal Transducer and Activator of Transcription 3, Mediated Remodeling of the Tumor Microenvironment Results in Enhanced Tumor Drug Delivery in a Mouse Model of Pancreatic Cancer." *Gastroenterology* 149 (7): 1932-1943.e9.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.07.058>.
- Nagathihalli, Nagaraj S., Jason A. Castellanos, Michael N. VanSaun, Xizi Dai, Mahogany Ambrose, Qiaozhi Guo, Yanhua Xiong, and Nipun B. Merchant. 2016. "Pancreatic Stellate Cell Secreted IL-6 Stimulates STAT3 Dependent Invasiveness of Pancreatic Intraepithelial Neoplasia and Cancer Cells." *Oncotarget* 7 (40): 65982–92. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11786>.
- Neesse, Albrecht, Patrick Michl, Kristopher K. Frese, Christine Feig, Natalie Cook, Mike A. Jacobetz, Martijn P. Lolkema, et al. 2011. "Stromal Biology and Therapy in Pancreatic Cancer." *Gut* 60 (6): 861–68. <https://doi.org/10.1136/gut.2010.226092>.
- Niess, Hanno, Peter Camaj, Ruth Mair, Andrea Renner, Yue Zhao, Carsten Jäckel, Peter J. Nelson, Karl-Walter Jauch, and Christiane J. Bruns. 2014. "Overexpression of IFN-Induced Protein with Tetratricopeptide Repeats 3 (IFIT3) in Pancreatic Cancer: Cellular 'Pseudoinflammation' Contributing to an Aggressive Phenotype." *Oncotarget* 6 (5): 3306–18.
- Öhlund, Daniel, Abram Handly-Santana, Giulia Biffi, Ela Elyada, Ana S. Almeida, Mariano Ponz-Sarvisé, Vincenzo Corbo, et al. 2017. "Distinct Populations of Inflammatory Fibroblasts and Myofibroblasts in Pancreatic Cancer." *Journal of Experimental Medicine* 214 (3): 579–96.
<https://doi.org/10.1084/jem.20162024>.

- Okada, S., T. Okusaka, H. Ishii, A. Kyogoku, M. Yoshimori, N. Kajimura, K. Yamaguchi, and T. Kakizoe. 1998. "Elevated Serum Interleukin-6 Levels in Patients with Pancreatic Cancer." *Japanese Journal of Clinical Oncology* 28 (1): 12–15. <https://doi.org/10.1093/jjco/28.1.12>.
- Olive, Kenneth P., Michael A. Jacobetz, Christian J. Davidson, Aarthi Gopinathan, Dominick McIntyre, Davina Honess, Basetti Madhu, et al. 2009. "Inhibition of Hedgehog Signaling Enhances Delivery of Chemotherapy in a Mouse Model of Pancreatic Cancer." *Science (New York, N.Y.)* 324 (5933): 1457–61. <https://doi.org/10.1126/science.1171362>.
- Organization, World Health. 2020. "WHO Report on Cancer: Setting Priorities, Investing Wisely and Providing Care for All."
- Ottaiano, Alessandro, Monica Capozzi, Chiara De Divitiis, Alfonso De Stefano, Gerardo Botti, Antonio Avallone, and Salvatore Tafuto. 2017. "Gemcitabine Mono-Therapy versus Gemcitabine plus Targeted Therapy in Advanced Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis of Randomized Phase III Trials." *Acta Oncologica* 56 (3): 377–83. <https://doi.org/10.1080/0284186X.2017.1288922>.
- Pandol, Stephen, Mouad Edderkaoui, Ilya Gukovsky, Aurelia Lugea, and Anna Gukovskaya. 2009. "Desmoplasia of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 7 (11): S44–47. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2009.07.039>.
- Pidugu, Vijaya Kumar, Hima Bindu Pidugu, Meei-Maan Wu, Chung-Ji Liu, and Te-Chang Lee. 2019. "Emerging Functions of Human IFIT Proteins in Cancer." *Frontiers in Molecular Biosciences* 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2019.00148>.
- Plasencia, Carmen, Fedora Grande, Takashi Oshima, Xuefei Cao, Roppei Yamada, Tino Sanchez, Francesca Aiello, Antonio Garofalo, and Nouri Neamati. 2009. "Discovery of a Novel Quinoxalinhydrazide with a Broad-Spectrum Anticancer Activity." *Cancer Biology & Therapy* 8 (5): 458–65.
- Pozios, Ioannis, Nina A. Hering, Emily Guenzler, Marco Arndt, Sefer Elezkurtaj, Thomas Knösel, Christiane J. Bruns, Georgios A. Margonis, Katharina Beyer, and Hendrik Seeliger. 2023. "Gp130 Is Expressed in Pancreatic Cancer and Can Be Targeted by the Small Inhibitor Molecule SC144." *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 149 (1): 271–80. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04518-9>.
- Pozios, Ioannis, Thomas Knösel, Yue Zhao, Gerald Assmann, Iraklis Pozios, Mario H. Müller, Christiane J. Bruns, Martin E. Kreis, and Hendrik Seeliger. 2018. "Expression of Phosphorylated Estrogen Receptor Beta Is an Independent Negative Prognostic Factor for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 144 (10): 1887–97. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2717-2>.
- Pozios, Ioannis, Nina N. Seel, Nina A. Hering, Lisa Hartmann, Verena Liu, Peter Camaj, Mario H. Müller, et al. 2020. "Raloxifene Inhibits Pancreatic Adenocarcinoma Growth by Interfering with ER β and IL-6/Gp130/STAT3 Signaling." *Cellular Oncology (Dordrecht)*, September. <https://doi.org/10.1007/s13402-020-00559-9>.
- Provenzano, Paolo P., Carlos Cuevas, Amy E. Chang, Vikas K. Goel, Daniel D. Von Hoff, and Sunil R. Hingorani. 2012. "Enzymatic Targeting of the Stroma Ablates Physical Barriers to Treatment of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Cancer Cell* 21 (3): 418–29. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.01.007>.
- Pusztai, Lajos, Tito R. Mendoza, James M. Reuben, Monica M. Martinez, Jie S. Willey, Juanita Lara, Abdul Syed, et al. 2004. "Changes in Plasma Levels of Inflammatory Cytokines in Response to Paclitaxel Chemotherapy." *Cytokine* 25 (3): 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2003.10.004>.
- Ramsey, Mitchell L., Erin Talbert, Daniel Ahn, Tanios Bekaii-Saab, Niharika Badi, P. Mark Bloomston, Darwin L. Conwell, et al. 2019. "Circulating Interleukin-6 Is Associated with Disease Progression, but Not Cachexia in Pancreatic Cancer." *Pancreatology : Official Journal of the International Association of Pancreatology (IAP) ... [et Al.]* 19 (1): 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2018.11.002>.

- Raphael, Benjamin J., Ralph H. Hruban, Andrew J. Aguirre, Richard A. Moffitt, Jen Jen Yeh, Chip Stewart, A. Gordon Robertson, et al. 2017. "Integrated Genomic Characterization of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Cancer Cell* 32 (2): 185-203.e13. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2017.07.007>.
- Ryan, David P., Theodore S. Hong, and Nabeel Bardeesy. 2014. "Pancreatic Adenocarcinoma." *New England Journal of Medicine* 371 (11): 1039-49. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1404198>.
- Satou, Shouichi, Takeaki Ishizawa, Koichi Masuda, Junichi Kaneko, Taku Aoki, Yoshihiro Sakamoto, Kiyoshi Hasegawa, Yasuhiko Sugawara, and Norihiro Kokudo. 2013. "Indocyanine Green Fluorescent Imaging for Detecting Extrahepatic Metastasis of Hepatocellular Carcinoma." *Journal of Gastroenterology* 48 (10): 1136-43. <https://doi.org/10.1007/s00535-012-0709-6>.
- Schreiber, Stefan, Konrad Aden, Joana P. Bernardes, Claudio Conrad, Florian Tran, Hanna Höper, Valery Volk, et al. 2021. "Therapeutic Interleukin-6 Trans-Signaling Inhibition by Olamkicept (Sgp130Fc) in Patients With Active Inflammatory Bowel Disease." *Gastroenterology* 160 (7): 2354-2366.e11. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.02.062>.
- Seeliger, Hendrik, Ioannis Pozios, Gerald Assmann, Yue Zhao, Mario H. Müller, Thomas Knösel, Martin E. Kreis, and Christiane J. Bruns. 2018. "Expression of Estrogen Receptor Beta Correlates with Adverse Prognosis in Resected Pancreatic Adenocarcinoma." *BMC Cancer* 18 (1): 1049. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4973-6>.
- Shi, Yu, Weina Gao, Nikki K. Lytle, Peiwu Huang, Xiao Yuan, Amanda M. Dann, Maya Ridinger-Saison, et al. 2019. "Targeting LIF-Mediated Paracrine Interaction for Pancreatic Cancer Therapy and Monitoring." *Nature* 569 (7754): 131-35. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1130-6>.
- Shirakawa, Sachiyo, Hirochika Toyama, Masahiro Kido, and Takumi Fukumoto. 2019. "A Prospective Single-Center Protocol for Using near-Infrared Fluorescence Imaging with Indocyanine Green during Staging Laparoscopy to Detect Small Metastasis from Pancreatic Cancer." *BMC Surgery* 19 (1): 165. <https://doi.org/10.1186/s12893-019-0635-0>.
- Siegel, Rebecca L., Kimberly D. Miller, Hannah E. Fuchs, and Ahmedin Jemal. 2022. "Cancer Statistics, 2022." *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 72 (1): 7-33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>.
- Silver, J. S., and C. A. Hunter. 2010. "Gp130 at the Nexus of Inflammation, Autoimmunity, and Cancer." *Journal of Leukocyte Biology* 88 (6): 1145-56. <https://doi.org/10.1189/jlb.0410217>.
- Taga, T. 1997. "The Signal Transducer Gp130 Is Shared by Interleukin-6 Family of Haematopoietic and Neurotrophic Cytokines." *Annals of Medicine* 29 (1): 63-72.
- Talar-Wojnarowska, Renata, Anita Gasiorowska, Beata Smolarz, Hanna Romanowicz-Makowska, Andrzej Kulig, and Ewa Malecka-Panas. 2009. "Clinical Significance of Interleukin-6 (IL-6) Gene Polymorphism and IL-6 Serum Level in Pancreatic Adenocarcinoma and Chronic Pancreatitis." *Digestive Diseases and Sciences* 54 (3): 683-89. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0390-z>.
- Tan, Xing Fei, Qifan Chen, San Hue Hua, and George Wai Yip. 2021. "Roles of Interferon Induced Protein with Tetratricopeptide Repeats (IFIT) Family in Cancer." *Current Medicinal Chemistry* 28 (25): 5034-47. <https://doi.org/10.2174/0929867328666210617105209>.
- Torres, Carolina, Sonia Perales, María José Alejandre, José Iglesias, Rogelio J. Palomino, Miguel Martín, Octavio Caba, et al. 2014. "Serum Cytokine Profile in Patients With Pancreatic Cancer." *Pancreas* 43 (7): 1042-49. <https://doi.org/10.1097/MPA.000000000000155>.
- Van den Broeck, Anke, Hugo Vankelecom, Rudy Van Eijdsden, Olivier Govaere, and Baki Topal. 2012. "Molecular Markers Associated with Outcome and Metastasis in Human Pancreatic Cancer." *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 31 (1): 68. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-31-68>.
- Venkatasubbarao, Kolaparathi, Lindsay Peterson, Shujie Zhao, Ping Hill, Lin Cao, Qing Zhou, Steffan T. Nawrocki, and James W. Freeman. 2013. "Inhibiting Signal Transducer and Activator of Transcription-3 Increases Response to Gemcitabine and Delays Progression of Pancreatic Cancer." *Molecular Cancer* 12 (1): 104. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-12-104>.

- Vogel, Victor G., Joseph P. Costantino, D. Lawrence Wickerham, Walter M. Cronin, Reena S. Cecchini, James N. Atkins, Therese B. Bevers, et al. 2006. "Effects of Tamoxifen vs Raloxifene on the Risk of Developing Invasive Breast Cancer and Other Disease Outcomes: The NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 Trial." *JAMA* 295 (23): 2727–41. <https://doi.org/10.1001/jama.295.23.joc60074>.
- Wacher, Christie, Marcus Müller, Markus J. Hofer, Daniel R. Getts, Regina Zabarar, Shalina S. Ousman, Fulvia Terenzi, Ganes C. Sen, Nicholas J. C. King, and Iain L. Campbell. 2007. "Coordinated Regulation and Widespread Cellular Expression of Interferon-Stimulated Genes (ISG) ISG-49, ISG-54, and ISG-56 in the Central Nervous System after Infection with Distinct Viruses." *Journal of Virology* 81 (2): 860–71. <https://doi.org/10.1128/jvi.01167-06>.
- Waddell, Nicola, Marina Pajic, Ann-Marie Patch, David K. Chang, Karin S. Kassahn, Peter Bailey, Amber L. Johns, et al. 2015. "Whole Genomes Redefine the Mutational Landscape of Pancreatic Cancer." *Nature* 518 (7540): 495–501. <https://doi.org/10.1038/nature14169>.
- Wang, T.-H., Y.-H. Chan, C.-W. Chen, W.-H. Kung, Y.-S. Lee, S.-T. Wang, T.-C. Chang, and H.-S. Wang. 2006. "Paclitaxel (Taxol) Upregulates Expression of Functional Interleukin-6 in Human Ovarian Cancer Cells through Multiple Signaling Pathways." *Oncogene* 25 (35): 4857–66. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209498>.
- White, Ursula A., and Jacqueline M. Stephens. 2011. "The Gp130 Receptor Cytokine Family: Regulators of Adipocyte Development and Function." *Current Pharmaceutical Design* 17 (4): 340–46.
- Wigmore, S. J., K. C. H. Fearon, K. Sangster, J. P. Maingay, O. J. Garden, and J. A. Ross. 2002. "Cytokine Regulation of Constitutive Production of Interleukin-8 and -6 by Human Pancreatic Cancer Cell Lines and Serum Cytokine Concentrations in Patients with Pancreatic Cancer." *International Journal of Oncology* 21 (4): 881–86. <https://doi.org/10.3892/ijo.21.4.881>.
- Witkiewicz, Agnieszka K., Elizabeth A. McMillan, Uthra Balaji, GuemHee Baek, Wan-Chi Lin, John Mansour, Mehri Mollaei, et al. 2015. "Whole-Exome Sequencing of Pancreatic Cancer Defines Genetic Diversity and Therapeutic Targets." *Nature Communications* 6 (1): 6744. <https://doi.org/10.1038/ncomms7744>.
- Wood, Laura D., Marcia Irene Canto, Elizabeth M. Jaffee, and Diane M. Simeone. 2022. "Pancreatic Cancer: Pathogenesis, Screening, Diagnosis, and Treatment." *Gastroenterology* 163 (2): 386–402.e1. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2022.03.056>.
- Wu, Xiaojuan, Yang Cao, Hui Xiao, Chenglong Li, and Jiayuh Lin. 2016. "Bazedoxifene as a Novel GP130 Inhibitor for Pancreatic Cancer Therapy." *Molecular Cancer Therapeutics* 15 (11): 2609–19. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-15-0921>.
- Xiao, Shu, Dong Li, Hai-Qing Zhu, Man-Gen Song, Xiao-Rong Pan, Pei-Min Jia, Lin-Ling Peng, et al. 2006. "RIG-G as a Key Mediator of the Antiproliferative Activity of Interferon-Related Pathways through Enhancing P21 and P27 Proteins." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (44): 16448–53. <https://doi.org/10.1073/pnas.0607830103>.
- Xing, Hai-Bo, Meng-Ting Tong, Jing Wang, Hong Hu, Chong-Ya Zhai, Chang-Xin Huang, and Da Li. 2018. "Suppression of IL-6 Gene by ShRNA Augments Gemcitabine Chemosensitization in Pancreatic Adenocarcinoma Cells." *BioMed Research International* 2018: 3195025. <https://doi.org/10.1155/2018/3195025>.
- Xu, Shili, Fedora Grande, Antonio Garofalo, and Nouri Neamati. 2013. "Discovery of a Novel Orally Active Small-Molecule Gp130 Inhibitor for the Treatment of Ovarian Cancer." *Molecular Cancer Therapeutics* 12 (6): 937–49. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-1082>.
- Ying, Haoqiang, Prasenjit Dey, Wantong Yao, Alec C. Kimmelman, Giulio F. Draetta, Anirban Maitra, and Ronald A. DePinho. 2016. "Genetics and Biology of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Genes & Development* 30 (4): 355–85. <https://doi.org/10.1101/gad.275776.115>.

- Yu, Hua, Drew Pardoll, and Richard Jove. 2009. "STATs in Cancer Inflammation and Immunity: A Leading Role for STAT3." *Nature Reviews Cancer* 9 (11): 798–809. <https://doi.org/10.1038/nrc2734>.
- Zhang, Yaqing, Wei Yan, Meredith A. Collins, Filip Bednar, Sabita Rakshit, Bruce R. Zetter, Ben Z. Stanger, Ivy Chung, Andrew D. Rhim, and Marina Pasca di Magliano. 2013a. "Interleukin 6 Is Required for Pancreatic Cancer Progression by Promoting MAPK Signaling Activation and Oxidative Stress Resistance." *Cancer Research* 73 (20): 10.1158/0008-5472.CAN-13-1558-T. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1558-T>.
- . 2013b. "Interleukin-6 Is Required for Pancreatic Cancer Progression by Promoting MAPK Signaling Activation and Oxidative Stress Resistance." *Cancer Research* 73 (20): 6359–74. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1558-T>.
- Zhao, Yue, Annelore Altendorf-Hofmann, Ioannis Pozios, Peter Camaj, Therese Däberitz, Xiaoyan Wang, Hanno Niess, et al. 2017. "Elevated Interferon-Induced Protein with Tetratricopeptide Repeats 3 (IFIT3) Is a Poor Prognostic Marker in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 143 (6): 1061–68. <https://doi.org/10.1007/s00432-017-2351-4>.

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Martin Kreis, ehemaliger Direktor der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie der Charité Campus Benjamin Franklin und nun Vorstand der Krankenversorgung der Charité, der mich während meiner akademischen und klinischen Karriere maßgeblich unterstützt und gefördert hat. Durch seine ruhige und offene Art war er stets zugänglich für neue Ideen und konstruktive Diskussionen. Ab 2021 übernahm Frau Prof. Katharina Beyer die Leitung der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie und führte ganz selbstverständlich die Unterstützung meiner weiteren Laufbahn fort. Bei ihr möchte ich mich besonders für die Schaffung von Freiräumen für mein wissenschaftliches Arbeiten bedanken.

Mein außerordentlicher Dank gilt dem Betreuer meiner Doktorarbeit, PD Dr. Hendrik Seeliger, ehemaliger Leitender Oberarzt in der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie der Charité Campus Benjamin Franklin, der direkt zu Beginn meiner chirurgischen Ausbildung in München mein Interesse an der Forschung geweckt hat. Bei ihm möchte ich mich besonders bedanken für die Einführung in die experimentelle Pankreasforschung, die langjährige Unterstützung und Förderung sowohl in meiner akademischen als auch in meiner klinischen Karriere.

Mein ganz besonderer Dank gilt hierbei PD Dr. Nina Hering, Leiterin des chirurgischen Forschungslabors, für die großartige Zusammenarbeit, den Anstoß zu vielen wissenschaftlichen Projekten und die regen Diskussionen. Die Zusammenarbeit und spätere Kooperation haben meinen Forschungsschwerpunkt geprägt und waren auf meinem Weg zur Habilitation maßgeblich. Für die freundliche Aufnahme, die hervorragende Teamarbeit, die methodische Expertise und die tatkräftige Unterstützung möchte ich mich sehr herzlich bei Marco Arndt, Mitarbeiter des Chirurgischen Forschungslabors bedanken. Für die technische Unterstützung möchte ich mich auch bei Sonja Sitali und Miriam Zibell, Mitarbeiterinnen des Chirurgischen Forschungslabors bedanken.

Ich möchte allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie und allen Kooperationspartnerinnen und -partnern, die mich in meiner Forschung begleitet und unterstützt haben, für die kollegiale und produktive Zusammenarbeit herzlich danken. Hierbei möchte ich insbesondere Dr. Lucas Lee und Dr. Verena Liu für die Einführung in die Tierversuche und die ergiebige und inspirierende Zusammenarbeit danken.

Von ganzem Herzen möchte ich meiner Familie danken, meinen Eltern, meinen Kindern und insbesondere meine Frau für ihre Geduld, fortwährende Unterstützung und ihren Rückhalt auf meinem beruflichen Weg.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Berlin, 03.09.2023

Ioannis Pozios