

## **Protokolresume - LUCELLI**

# **INDIVIDUALISERET BEHANDLING – ETABLERING OG KARAKTERISERING AF PRIMÆRE LUNGE-CANCER CELLELINJER**

**6. oktober 2014**

**Version 1**

### **Forfattere og afdelinger:**

Birgitte Brinkmann Olsen, Nuklearmedicinsk Afdeling, OUH

Poul Flemming Højlund-Carlsen, Nuklearmedicinsk Afdeling, OUH

Peter Licht, Hjerte-, Lunge- og Karkirurgisk Afdeling, OUH

Karen Ege Olsen, Afdeling for Klinisk Patologi, OUH

# Indhold

Baggrund .....	3
Formål .....	3
Metode.....	3
Forsøgspersoner .....	4
Hvervning af deltagere .....	5
Etik .....	5
Tidsplan.....	5
Økonomi.....	6
Publikation af forskningsresultater .....	6

## Baggrund

Den lave overlevelse for lungecancer patienter (85% af patienterne dør inden for 5 år efter diagnosticering) kan skyldes tilstedeværelsen af såkaldte cancer stamceller. De udgør en lille aggressiv del af tumormassen, og er resistente overfor stråle- og kemoterapi. Derudover menes de at være ansvarlige for metastasering og recidiv. Det betyder, at succesfuld behandling af lungecancer afhænger af, at også disse celler rammes. For at kunne udvikle nye behandlingsmuligheder er det således nødvendigt at kunne teste nye terapeutika i cellekulturer (*in vitro*) og i mus/rotter med tumorer (*in vivo*) inden test i mennesker. Der eksisterer allerede kommercielle lungecancer cellelinjer, men disse er over 30 år gamle og således langt fra den oprindelige tumor, blandt andet fordi de har været dyrket i serumholdigt medium, hvilket minimerer andelen af cancer stamceller meget kraftigt, og groft sagt kan man stille spørgsmålstegn ved, om information opnået *in vitro* i disse kommercielle cellelinjer reflekterer situationen i patienterne.

Primære lungecancer cellelinjer udgør derfor en unik mulighed for at opnå ny viden om cancer stamceller med hensyn til deres rolle i tumorvækst og metastasering, men også i udviklingen af nye effektive behandlinger af lungecancer.

## Formål

På baggrund af ovenstående ønsker vi at:

- Etablere primære lungecancer cellelinjer, hvor cellerne vokser uden serum, hvilket øger antallet cancer stamceller da de ikke differentierer som følge af serum
- Karakterisere de etablerede cellelinjer med hensyn til deres indhold af cancer stamceller
- At bruge cellelinjerne til at udvikle nye terapeutiske muligheder, da cancer stamcellerne er resistente over for konventionel stråle- og kemoterapi.
- Teste de nye terapeutiske muligheder både *in vitro* i cellekulturer og *in vivo* i dyremodeller, der har fået indsprøjtet cellerne

## Metode

### *Etablering af primære lungecancer celle linjer*

Det bortopererede væv transporteres til Afdeling for Klinisk Patologi, hvor der samtidig med udtagelse af væv til Dansk Cancer Biobank også udtages væv til celledyrkning, om muligt fra

områder med og uden nekrose. Vævsprøven transporteres derefter til Nuklearmedicinsk Afdeling, hvor der findes et celledyrkningslaboratorium. Fra operation til prøven er i celledyrkningslaboratoriet, vil der maksimalt gå 1 time. I tilfælde af flere tumorer i det bortopererede væv vil vi forberede separate cellekulturer. Vævet vil derefter blive grundigt vasket med antibiotika for at undgå kontaminering og blive skåret i meget små stykker ved hjælp af skalpeller. For at findele vævet endnu mere vil det blive grundigt pipetteret og derefter overført til celledyrkningsflasker med det medium, der indeholder de nødvendige salte, vitaminer, mineraler, vækstfaktorer og antibiotika. Cellerne vokser derefter ved 37°C og 5% CO<sub>2</sub> og mediet skiftes hver 2-3 dag. Cancer stamcellerne vil vokse som flydende sfærer i mediet og vil blive dissociert mekanisk eller enzymatisk efter behov. I begyndelsen vil cellekulturerne også bestå af celletyper, der ikke er kræftceller, men disse vil sidde fast på bunden af flaskerne og desuden ikke længere dele sig efter 2-3 måneder.

### ***Karakterisering af cellelinjer***

Når der er blevet etableret cellelinjer vil de blive karakteriseret med henblik på deres indhold af cancerstam celler ved hjælp af specifikke markører. Derudover vil vi undersøge, om cancer stamcellerne udviser de forventede kendetegn, det drejer sig om evnen til at differentiere samt resistens mod konventionel stråle- og kemoterapi.

Etablerede og karakteriserede cellelinjer vil blive frosset i flydende kvælstof og opbevaret på Nuklearmedicinsk Afdeling.

### ***Test af nye behandlinger***

Cellelinjerne vil blive brugt til at screene for nye behandlingsmuligheder rettet mod cancer stamceller, hvilket er nødvendigt, da de som tidligere nævnt er resistente mod konventionel behandling og menes at være ansvarlige for recidiv og metastasering. Vi vil bruge cellelinjerne til at screene stofbiblioteker og teste mulige radioisotoper *in vitro*. Potentielle lovende kandidater vil derefter blive testet *in vivo* ved hjælp af mus/rotter, der har fået cellelinjerne implanteret.

### **Forsøgspersoner**

Vi ønsker at gennemføre projektet på væv fra 50 patienter og de vil blive bedt om at afgive informeret samtykke, inden de kan indgå i studiet.

### **Følgende patienter kan deltage i studiet:**

Patienter der skal opereres for primær lungecancer

### **Følgende patienter kan ikke deltage i studiet:**

Patienter der har fået neo-adjuverende kemo- eller stråleterapi kan ikke indgå i studiet, da vi ønsker at etablere behandlingsnaive cellelinjer. Desuden ekskluderes inhabile patienter af etiske årsager. Endvidere ekskluderes patienter med kendt tuberkulose p.g.a mycobakterier og patienter med kendt immundeficiens (eks. HIV positive eller patienter der er immunsupprimerede).

### **Hvervning af deltagere**

Patienter som skal opereres for deres primære lungecancer informeres om projektet af en læge i ambulatoriet på Hjerte-, Lunge- og Karkirurgisk Afdeling i forbindelse med deres præoperative forløb. Informationen gives i et rum, hvor den mundtlige information kan gives uforstyrret. Efter den mundtlige information udleveres den skriftlige information. Patienten har mulighed for at have en bisidder med ved informationssamtalen og vil have 24 timer til at tænke over deltagelse. Patienten medgives skriftligt materiale med kontaktinformation til en af de projektansvarlige, som kan kontaktes, hvis der er opklarende spørgsmål. Endeligt samtykke underskrives af patienten, afleveres inden operationen og opbevares på Nuklearmedicinsk Afdeling, OUH.

### **Etik**

Der er ingen bivirkninger, gener eller ulemper for patienterne, da vævsprøven tages på allerede bortopereret væv.

Der er heller ingen direkte fordele for patienterne, men på sigt vil cellelinjerne forhåbentlig kunne være med til at udvikle bedre behandlingsmuligheder for patienter med lungecancer.

Alle patienter deltager frivilligt efter mundtlig og skriftlig information, og kan til enhver tid trække sig ud af projektet uden at det får negativ betydning for deres videre forløb.

### **Tidsplan**

Vi forventer, at projektet starter i starten af 2015 og indsamling af væv vil være afsluttet i 2015 og vi forventer, at projektet er helt afsluttet i slutningen af 2017.

## **Økonomi**

Studiet gennemføres uden samarbejde med private organisationer eller virksomheder. Studiet finansieres af Nuklearmedicinsk Afdelings driftsbudget og de projektansvarlige har ingen økonomisk tilknytning til private virksomheder. Hvis der opnås driftsstøtte fra fonde (eksempelvis til indkøb af engangsartikler til celledyrkning samt reagenser til cellekulturer) vil komiteen blive underrettet, men på nuværende tidspunkt er der ikke søgt om penge til projektet. Der gives ikke vederlag til forsøgspersonerne, da det er et studie, der gennemføres på allerede henviste patienter.

## **Publikation af forskningsresultater**

Resultater fra projektet vil blive udgivet i internationale tidsskrifter med peer-review.