

Die Entschlüsselung der mechanistischen Rolle des Gerüstproteins NEDD9 in der Pathogenese und Therapie des EGFR-getriebenen Lungenadenokarzinoms

Lungenkrebs ist die häufigste Ursache für krebsbedingte Todesfälle, wobei das Lungenadenokarzinom (LUAD), mit 45 %, die häufigste histologische Form darstellt. Seit dem letzten Jahrzehnt revolutionierten Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) die Behandlungsstrategien zahlreicher Patienten*innen, dennoch bergen Resistenzmechanismen die größte Schwierigkeit einer langfristig erfolgreichen Therapie. Aus diesem Grund sind neue Behandlungsstrategien zur Überwindung von Resistenzmechanismen von höchster klinischer Bedeutung. Die Klasse der Gerüstproteine, als therapeutisches Ziel, bietet innovative Lösungen zur Überwindung von Resistenzmechanismen.

Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass eine Überexpression des Gerüstprotein NEDD9, in 50 % der Fälle des nicht-kleinzelligem Lungenkrebs vorliegt. Die vorliegende Forschungsarbeit weist darauf hin, dass die NEDD9 Expression in histochemisch gefärbtem EGFR-getriebenen LUAD Tumorgewebe mit dem Gesamtüberleben und einem höheren Tumor-Grad korreliert. Darüber hinaus zeigte die *Nedd9* Defizienz in *TetO-EGFR L858R^{wt/fg} CC10-rtTA^{wt/fg}* (EGFR L858R) Mäusen ein signifikant verzögertes Tumorstadium und ein verlängertes Gesamtüberleben. Zusätzlich wurde bei *Nedd9*-defizienten EGFR L858R Mäusen eine verlängerte Latenzzeit bis zum Auftreten des Tumors festgestellt. In Übereinstimmung mit den *in vivo* Experimenten zeigten 2D *in vitro* Analysen, dass NEDD9 die Tumoraggressivität maßgeblich durch Beeinflussung der zellulären Migration, Adhäsion und Kolonisation fördert. Darüber hinaus demonstrieren 3D *in vitro* Analysen ein gehemmtes Sphäroid-Wachstum und verminderte Invasion in *NEDD9*-depletierten PC-9 Zellen. Hierbei zeigte sich eine Neuprogrammierung von Genexpressionsprofilen, an denen uPAR, FAK, SRC und ERK beteiligt sind, was eine Störung wichtiger zellulärer Fibronectin-Adhäsion-Signalkaskaden nahelegt. Diese Ergebnisse wurden in einem orthotropen Xenotransplantationsmodell bestätigt, in dem transthorakal intrapulmonal injizierte *NEDD9*-depletierten PC-9 Zellen ihre Fähigkeit zur Tumorbildung im Vergleich zu der *NEDD9*-kompetenten Kontrollgruppe vollständig verloren.

Darüber hinaus, zeigten EGFR L858R Mäuse mit *Nedd9* Defizienz ein reduziertes Ansprechen auf eine Osimertinib-Behandlung sowie ein verzögertes Rezidiv-Wachstum der Tumore. Ebenfalls bestätigten *in vitro* Analysen, dass *NEDD9*-depletierte PC-9 Zellen unter Osimertinib-Behandlung in ihrer Fähigkeit zur Proliferation und Migration, beeinträchtigt sind. Zusammengefasst können die hier präsentierten Erkenntnisse Hinweise für die Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze in der Behandlung von Patienten mit EGFR-getriebenen LUAD zur Überwindung von

Resistenzentwicklung liefern, was für diese relevante Patientenpopulation von essentieller Bedeutung ist

Deciphering the Mechanistic Role of Scaffolding Protein NEDD9 in the Pathogenesis and Therapy of EGFR-driven Lung Adenocarcinoma

Lung cancer is the most common cause of cancer-related deaths, with lung adenocarcinoma (LUAD) accounting for 45 % of cases. In the past decade, targeted therapies, such as tyrosine kinase inhibitors (TKIs), have revolutionized LUAD treatment regimens. However, drug resistance remains the major obstacle to successful therapy. Thus, the call for new treatment strategies to overcome drug resistance is of ultimate clinical importance. Scaffolding proteins hold great potential as drug targets to overcome resistance mechanisms.

Previous studies demonstrated that the scaffolding protein NEDD9 is overexpressed in 50 % of non-small cell lung cancer, which is associated with poor overall survival. In the here presented study I show that NEDD9 protein expression in immunohistochemically stained EGFR-driven LUAD tumor tissue is strongly associated with shorter overall survival and higher tumor grade. Moreover, *Nedd9* deficiency in *TetO-EGFR L858R^{ml/tg} CC10-rtTA^{ml/tg}* (EGFR L858R) mice showed slower tumor growth and prolonged overall survival. Strikingly, increased latency until tumor onset was noticed in *Nedd9*-deficient EGFR L858 mice. In line with the *in vivo* experiments, 2D *in vitro* analyses of EGFR-driven LUAD cells (PC-9) showed NEDD9 promoting tumor aggressiveness mainly through promoting cellular migration, adhesion, and colonization. Furthermore, 3D *in vitro* analyses revealed impaired spheroid growth and invasion in cells lacking *NEDD9*, suggesting perturbation of crucial cellular fibronectin-attachment signaling cascades possibly through reprogramming of gene expression profiles, involving uPAR, FAK, SRC, and ERK. These findings were confirmed using an orthotopic xenograft model, where transthoracic intrapulmonary injected *NEDD9* knockout PC-9 cells completely lost their ability to form tumors compared to their *NEDD9* wild-type counterparts.

Additionally, *Nedd9*-deficient EGFR L858 mice showed a slower response to the third-generation TKI osimertinib as well as a delayed relapse-growth of tumors compared to their *Nedd9* wild-type counterparts. *In vitro* analysis confirmed *NEDD9* knockout PC-9 cells proliferate and migrate less under osimertinib treatment compared to *NEDD9* wild-type PC-9 cells. Taken together, these findings provide new insights into the role of NEDD9 in the pathogenesis of EGFR-driven LUAD, which can serve as a basis for the development of new treatment strategies.