

Relevance of the chemokine receptors CXCR4/CXCR7 and their common ligand CXCL12 in osteosarcoma metastasis

Doctoral Thesis

Author(s):

Brennecke, Patrick

Publication date:

2011

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-006838452>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Diss. ETH No ___19914_____

**Relevance of the Chemokine Receptors CXCR4 /CXCR7
and their Common Ligand CXCL12 in Osteosarcoma
Metastasis**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Science

presented by

Patrick Brennecke

Dipl.Biol. ETH Zurich

Born October 8, 1977 from Lütschenthal (BE), CH

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Ernst Hafen

Prof. Dr. Lukas Sommer

Prof. Dr. Bruno Fuchs

Prof. Dr. Marcus Thelen

2011

Summary

Metastasis is the leading cause of death in patients diagnosed with cancer. In Osteosarcoma (OS), the most prominent primary bone tumor in children and young adolescents, the five -year overall survival of patients with metastatic disease is only 20%, despite multi-agent chemotherapy, which has been introduced in the late 1970s.

Metastasis is a complex cascade of cellular programs required for local tissue invasion, intravasation, survival in the circulation, chemotaxis-driven migration (“tumor cell homing”), extravasation and colonization at the metastatic site. Among these processes, “tumor cell homing” is often mediated by chemokines and their receptors and is best documented for the chemokine CXCL12 and its receptor CXCR4 (CXCL12/CXCR4 axis). This axis was shown to be involved in metastatic spread of many cancer types. Recently, CXCR7 was identified as another high affinity receptor for CXCL12 and accumulating evidence points to biological properties of CXCR7 similar to those of CXCR4 in cancer progression and metastasis.

In this thesis, we established an orthotopic, xenograft OS mouse model, largely reproducing the human disease, which allows us to visualize and quantify lung metastases. The model was used to study the potential tumor growth- and metastasis-suppressive potential of CXCR4-blocking antibodies in OS and the biological relevance of CXCR7 in OS malignancy. The here presented studies took advantage of the *lacZ* gene transduced human 143B OS cell line, 143B-*lacZ*, for post-mortem high sensitivity and resolution analysis of primary OS tumor tissue and metastasis to distant organs, predominantly the lung.

Repetitive tail-vein bolus injections of CXCR4 antibodies 12G5 in 4-day intervals showed a good therapeutic response, reflected by delayed primary tumor formation and inhibited micro-metastasis, but it affected the number and growth of macro-metastases only minimally.

The second study, addressing the biological relevance of CXCR7 on primary tumor growth and metastasis of CXCR4 expressing 143B OS cells showed massively increased lung metastasis

despite diminished primary tumor growth and, in addition, a surprisingly high incidence of metastasis to the auriculum cordis which was only rarely observed with non-manipulated 143B cells.

In conclusion, the results obtained from the studies in this thesis demonstrate for the first time a synergistic malignancy-enhancing activity of the CXCL12 chemokine receptors CXCR4 and CXCR7 and provide the rationale for the development of novel strategies and agents for combined tumor and metastasis suppressive treatment of OS patients with CXCR4/CXCR7 co-expressing tumors.

Zusammenfassung

Metastasen sind die Haupttodesursache der meisten Krebserkrankungen. Im Osteosarkom (OS), welches die häufigste Form von Knochentumoren bei Kindern und jungen Erwachsenen darstellt, liegt die 5-Jahres-Überlebensrate von Patienten mit Metastasen bei nur 20% und dies obwohl bereits Ende der siebziger Jahre eine multimodale Chemotherapie eingeführt worden ist. Der Metastasierungsprozess ist sehr komplex und kann in mehrere Schritte unterteilt werden, welche die Intravasation ins umliegende Gewebe des Primärtumors, den Anschluss und das Überleben in der Zirkulation, das „Tumorzell- Homing“, die Extravasation sowie die Kolonisierung des Sekundärgewebes beinhalten. Unter all diesen Prozessen wird das „Tumorzell- Homing“, die direkte Migration von Tumorzellen hin zu Organen, welche sekundär besiedelt („Metastasierungsorgane“) werden, häufig durch Chemokine und deren Rezeptoren vermittelt. Am besten dokumentiert ist dieses Phänomen für das Chemokine CXCL12 und dessen Rezeptor CXCR4, von welchen bekannt ist, dass sie in die Metastasierung von vielen Krebsarten involviert sind. Kürzlich wurde CXCR7 als ein zweiter Rezeptor mit hoher Affinität für CXCL12 identifiziert und, wie im Falle von CXCR4, konnte dessen Beteiligung an der Progression von Krebs und an der Metastasierung nachgewiesen werden.

In dieser Dissertation wurde ein orthotopisches, xenograft Mausmodell für das OS etabliert, welches den Krankheitsverlauf bei Menschen gut wiedergibt und auch die quantitative Erfassung von Lungenmetastasen ermöglicht. Mit Hilfe dieses Modells wurde der therapeutische Effekt eines CXCL12 Bindung- blockierenden CXCR4 Antikörpers untersucht sowie die biologische Relevanz von CXCR7 auf die Entwicklung der Primärtumore und die Bildung von Metastasen im OS Mausmodell untersucht.

Die Blockierung der Bindung von CXCL12 mittels des entsprechenden Antikörpers 12G5 zeigte einen guten therapeutischen Effekt bei Lungenmikrometastasen und hat eine Verzögerung des Primärtumorwachstums bewirkt, die Bildung von Lungenmakrometastasen wurde jedoch nur wenig verringert.

Die Studie, in der die biologische Relevanz von CXCR7 - unter Berücksichtigung von CXCR4 - bezüglich der Primärtumorentwicklung und Metastasierung untersucht wurde, hat gezeigt, dass CXCR7 die Bildung von Lungenmetastasen signifikant verstärkt und beschleunigt, während dem wesentlich kleinere Primärtumoren gebildet wurden. Zudem wurde in Mäusen, die mit CXCR7 transduzierten Zellen inokuliert worden sind, ein massiver Befall der Auricula cordis durch Metastasen beobachtet.

Die Ergebnisse der in dieser Dissertation zusammengefassten Untersuchungen haben erstmals einen potenzierenden Effekt von CXCR7 auf die Metastasierung von Tumorzellen mit ausgebildeter CXCR4/CXCL12 Achse gezeigt. Diese Beobachtungen bilden die Grundlage und rechtfertigen die Entwicklung von Strategien - CXCL12 Antagonisten -, die gleichzeitig CXCR4 und CXCR7 inhibieren und damit zur Verhinderung der Ausbildung von Metastasen beim Osteosarkom führen und, mit grosser Wahrscheinlichkeit, auch bei anderen Tumoren angewendet werden können.