

Aus der  
Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin  
Klinik der Universität München  
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. Matthias Brendel

**Evaluation der TSPO-PET in syngenem Glioblastom-Mausmodellen  
mit orthotoper Inokulation**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Lukas Gold

aus  
Landsberg am Lech

Jahr  
2024

---

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Nathalie Albert  
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Rainer Glaß  
PD Dr. Nina Schmidt-Hegemann  
Prof. Dr. Jochen Herms

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. Adrien Holzgreve

Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 05.12.2024

## Affidavit



### Eidesstattliche Versicherung

Gold, Lukas

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

#### **Evaluation der TSPO-PET in syngenem Glioblastom-Mausmodellen mit orthotoper Inokulation**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 10.12.2024

Ort, Datum

Lukas Gold

Unterschrift Doktorand

# Inhaltsverzeichnis

<b>Affidavit</b> .....	<b>1</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>2</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>3</b>
<b>Publikationsliste</b> .....	<b>4</b>
<b>1. Beitrag zu den wissenschaftlichen Veröffentlichungen</b> .....	<b>6</b>
1.1 Beitrag zur ersten Veröffentlichung .....	6
1.2 Beitrag zur zweiten Veröffentlichung .....	6
<b>2. Einleitung</b> .....	<b>7</b>
2.1 Positronen-Emissions-Tomographie bei Glioblastomen.....	7
2.2 [ <sup>18</sup> F]Fluorethyltyrosin als klinisch etablierter Tracer .....	8
2.3 Das Translocator Protein als molekulare Zielstruktur .....	8
2.4 Das GL261 und SB28 Glioblastom-Mausmodell .....	10
<b>3. Diskussion zu den beiden Veröffentlichungen</b> .....	<b>13</b>
<b>4. Zusammenfassung</b> .....	<b>16</b>
4.1 Abstrakt (Deutsch) .....	16
4.2 Abstract (English).....	17
<b>5. Erste Veröffentlichung: The Traumatic Inoculation Process Affects TSPO Radioligand Uptake in Experimental Orthotopic Glioblastoma</b> .....	<b>19</b>
<b>6. Zweite Veröffentlichung: 18 kDa translocator protein positron emission tomography facilitates early and robust tumor detection in the immunocompetent SB28 glioblastoma mouse model</b> .....	<b>20</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>21</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>25</b>

## Abkürzungsverzeichnis

HGG = Hochmaligne Gliome

IHC = Immunhistochemie

MRT = Magnetresonanztomographie

PET = Positronen-Emissions-Tomographie

PBR = peripherer Benzodiazepinrezeptor

SUV<sub>mean</sub> = mean standardized uptake value

TAM = Tumor-assoziierte Makrophagen

TBR<sub>mean</sub> = mean tumor-to-background ratio

VOI = volume of interest

## Publikationsliste

### Originalpublikationen dieser kumulativen Doktorarbeit

**Gold L**, Barci E, Brendel M, Orth M, Cheng J, Kirchleitner SV, Bartos LM, Pötter D, Kirchner MA, Unterrainer LM, Kaiser L, Ziegler S, Weidner L, Riemenschneider MJ, Unterrainer M, Belka C, Tonn JC, Bartenstein P, Niyazi M, von Baumgarten L, Kälin RE, Glass R, Lauber K, Albert NL, Holzgreve A. The Traumatic Inoculation Process Affects TSPO Radioligand Uptake in Experimental Orthotopic Glioblastoma. *Biomedicines*. 2024 Jan 15;12(1):188.

Bartos LM, Kirchleitner SV, Blobner J, Wind K, Kunze LH, Holzgreve A, **Gold L**, Zatcepin A, Kolabas ZI, Ulukaya S, Weidner L, Quach S, Messerer D, Bartenstein P, Tonn JC, Riemenschneider MJ, Ziegler S, von Baumgarten L, Albert NL, Brendel M. 18 kDa translocator protein positron emission tomography facilitates early and robust tumor detection in the immunocompetent SB28 glioblastoma mouse model. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Oct 17;9:992993.

### Weitere Originalpublikationen

**Gold L**, Moser C, Fabritius MP, Seidensticker M, Ricke J, Albertsmeier M, Angele MK, Knösel T, Di Gioia D, Lindner LH, Armbruster M, Kunz WG. Diagnostic accuracy of biopsy after neoadjuvant treatment for well-differentiated and dedifferentiated retroperitoneal liposarcoma. *Surg Oncol*. 2023 Jun;48:101945.

Bartos LM, Kirchleitner SV, Kolabas ZI, Quach S, Beck A, Lorenz J, Blobner J, Mueller SA, Ulukaya S, Hoehner L, Horvath I, Wind-Mark K, Holzgreve A, Ruf VC, **Gold L**, Kunze LH, Kunte ST, Beumers P, Park HE, Antons M, Zatcepin A, Briel N, Hoermann L, Schaefer R, Messerer D, Bartenstein P, Riemenschneider MJ, Lindner S, Ziegler S, Herms J, Lichtenthaler SF, Ertürk A, Tonn JC, von Baumgarten L, Albert NL, Brendel M. Deciphering sources of PET signals in the tumor microenvironment of glioblastoma at cellular resolution. *Sci Adv*. 2023 Oct 27;9(43):eadi8986.

Holzgreve A, Pötter D, Brendel M, Orth M, Weidner L, **Gold L**, Kirchner MA, Bartos LM, Unterrainer LM, Unterrainer M, Steiger K, von Baumgarten L, Niyazi M, Belka C, Bartenstein P, Riemenschneider MJ, Lauber K, Albert NL. Longitudinal [<sup>18</sup>F]GE-180 PET Imaging Facilitates In Vivo Monitoring of TSPO Expression in the GL261 Glioblastoma Mouse Model. *Biomedicines*. 2022 Mar 22;10(4):738.

Kirchner MA, Holzgreve A, Brendel M, Orth M, Ruf VC, Steiger K, Pötter D, **Gold L**, Unterrainer M, Mittlmeier LM, Barci E, Kälin RE, Glass R, Lindner S, Kaiser L, Maas J, von Baumgarten L, Ilhan H, Belka C, Notni J, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. PSMA PET Imaging in Glioblastoma: A Preclinical Evaluation and Theranostic Outlook. *Front Oncol*. 2021 Nov 17;11:774017.

## Kongressbeiträge

**Gold L**, Barci E, Brendel M, Orth M, Cheng J, Kirchleitner SV, Bartos LM, Unterrainer LM, Kaiser L, Ziegler S, Weidner L, Riemenschneider MJ, Unterrainer M, Belka C, Tonn J, Bartenstein P, Niyazi M, von Baumgarten L, Kälin RE, Holzgreve A. Impact of inoculation-driven immune response on TSPO and amino acid PET imaging in experimental orthotopic glioblastoma. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2023; 50. S39.

Bartos LM, Kirchleitner SV, Quach S, Blobner J, Wind K, Weidner L, Holzgreve A, **Gold L**, Kunze L, Antons M, Kunte ST, Beumers P, Messerer D, Bartenstein P, Tonn JC, von Baumgarten L, Riemenschneider MJ, Albert NL \*, Brendel M \*. Declines in Tumor and Immune Cells 18kDa Translocator Protein (TSPO) Declines in Tumor and Immune Cells During Progression of Experimental Glioblastoma. *Neuro Oncol*. 2022 Nov 14; 24(suppl\_7):vii175.

Bartos L, Kirchleitner S, Blobner J, Wind K, Holzgreve A, **Gold L**, Kunze L, Antons M, Kunte ST, Beumers P, Quach S, Messerer D, Bartenstein P, Tonn JC, von Baumgarten L, Riemenschneider MJ, Albert NL, Brendel M. Tumor cells drive 18 kDa translocator protein (TSPO) PET tracer signals of experimental and clinical glioblastoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2022 Sep 22; 49 (Suppl 1): 123.

Bartos LM, Kirchleitner SV, Blobner J, Wind K, Holzgreve A, **Gold L**, Messerer D, Quach S, Bartenstein P, Tonn JC, von Baumgarten L, Riemenschneider MJ, Albert NL, Brendel M. Cell Sorting after Tracer Injection for Precise Determination of Various TSPO-PET Signal Sources in Experimental Orthotopic Glioblastoma. *J Nucl Med*. 2022 June 1; 63(supplement 2):2318.

**Gold L \***, Barci E \*, Brendel M, Orth M, Cheng J, Kirchleitner SV, Bartos LM, Unterrainer LM, Weidner L, Riemenschneider MJ, Unterrainer M, Belka C, Tonn JC, Bartenstein P, von Baumgarten L, Kälin RE, Glaß R, Lauber K, Albert NL, Holzgreve A. Serial TSPO and FET PET monitoring in experimental orthotopic glioblastoma and the impact of inflammation and astrogliosis related to the inoculation process. *Nuklearmedizin*. 2022; 61(02): 147.

Bartos LM, Kirchleitner SV, Blobner J, Wind K, Holzgreve A, **Gold L**, Quach S, Bartenstein P, Tonn JC, von Baumgarten L, Riemenschneider MJ, Albert NL, Brendel M. Cellular resolution of TSPO-PET signal in healthy tissue and experimental orthotopic glioblastoma. *Nuklearmedizin*. 2022; 61(02): 169.

Holzgreve A, Kaiser L, Li Z, **Gold L**, Bartenstein P, Albert NL. Threshold-based meningioma delineation in SSR-targeted PET. *Nuklearmedizin*. 2021; 60(02): 148.

Holzgreve A, Pötter D, Brendel M, Orth M, Weidner L, Maas J, von Ungern-Sternberg B, **Gold L**, Kirchner MA, Riemenschneider MJ, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. Longitudinal PET Imaging Allows for Non-Invasive Assessment of TSPO Expression in a Glioblastoma Mouse Model. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020 Sep 18; 47(Suppl 1):47.

Kirchner M, Holzgreve A, Brendel M, Ruf V, Pötter D, **Gold L**, Lindner S, Orth M, Maas J, Bartenstein P, Lauber K, Albert NL. Preclinical evaluation of F-18-PSMA PET in glioblastoma as a potential theranostic approach. *Nuklearmedizin*. 2020; 59(02): 154-155.

# **1. Beitrag zu den wissenschaftlichen Veröffentlichungen**

## **1.1 Beitrag zur ersten Veröffentlichung**

Der Autor dieser kumulativen Dissertation, Lukas Gold (geb. 21.08.1997), hat in der wissenschaftlichen Veröffentlichung mit dem Titel „The Traumatic Inoculation Process Affects TSPO Radioligand Uptake in Experimental Orthotopic Glioblastoma“ maßgeblich am Erarbeiten des Studiendesigns, bei der Etablierung und Durchführung der Methodik (u. a. Kleintier-PET und Autoradiographie) und bei der Auswertung, Interpretation und Präsentation der Ergebnisse mitgewirkt. Des Weiteren hat er den ersten Entwurf der wissenschaftlichen Arbeit erstellt und unter Mithilfe der Co-Autoren überarbeitet. Die Erstautorschaft der Veröffentlichung wurde mit Enio Barci (geb. 26.07.1994) geteilt, welcher im Laufe des Projektes an der immunhistochemischen Validierung der erzielten Ergebnisse in PET und Autoradiographie beteiligt war und beim Verfassen des wissenschaftlichen Manuskriptes mithalf.

## **1.2 Beitrag zur zweiten Veröffentlichung**

Bei der zweiten Veröffentlichung „18 kDa translocator protein positron emission tomography facilitates early and robust tumor detection in the immunocompetent SB28 glioblastoma mouse model“ dieser kumulativen Dissertation hat der Co-Autor Lukas Gold (geb. 21.08.1997) bei der intellektuellen Konzeption und Revision des wissenschaftlichen Manuskriptes mitgewirkt. Zudem war er an der Durchführung, Auswertung und Interpretation der Kleintier-PET Bildgebung beteiligt.

## 2. Einleitung

### 2.1 Positron-Emissions-Tomographie bei Glioblastomen

Glioblastome gelten als die aggressivsten primären Hirntumoren und stellen aufgrund ihrer infiltrativen Eigenschaften, raschen Progression sowie Therapieresistenz eine große Herausforderung für das Feld der Neuroonkologie dar (Weller et al., 2021). Betroffene Patienten leiden meist an unspezifischen Symptomen wie Kopfschmerzen, Krampfanfällen oder neurologischen Defiziten (Alifieris and Trafalis, 2015). Trotz multidisziplinärer therapeutischer Ansätze wie chirurgischer Resektion, Bestrahlung des Tumors oder Durchführen einer Chemotherapie haben betroffene Patienten eine schlechte Prognose (Weller et al., 2017). Das Gesamtüberleben dieses Patientenkollektivs wird beispielsweise mit etwa 5,8% nach fünf Jahren der Erstdiagnose angegeben, das mediane Gesamtüberleben beträgt trotz therapeutischer Fortschritte ungefähr 15 Monate (Tan et al., 2020). Die Magnetresonanztomographie (MRT) hat sich als Bildgebungsmodalität von Glioblastomen etabliert, da sie präzise Lokalisation und morphologische Charakterisierung dieser Hirntumoren ermöglicht (Youssef et al., 2023).

Moderne Forschungsansätze beruhen auf der Darstellung des Tumormikromilieus dieser heterogenen Entitäten mittels der innovativen Positronen-Emission-Tomographie (PET), um Rückschlüsse auf die Pathophysiologie von Glioblastomen auf zellulärer Ebene ziehen zu können und anhand dieser funktionellen, nicht-invasiven Bildgebungsmethode therapeutische Strategien erarbeiten zu können (Zinnhardt et al., 2021, Suchorska et al., 2016). Nichtsdestotrotz ist die humane PET-Bildgebung limitiert, beispielsweise lassen sich histologische Informationen als Goldstandard für die Identifikation des zellulären Ursprungs von PET-Signal bei Glioblastomen nur erschwert gewinnen und erfordern chirurgische Maßnahmen wie eine Gewebebiopsie (Vettermann et al., 2020). Deshalb hat im Laufe der letzten Jahre die Kleintier-PET Bildgebung zunehmend an Bedeutung gewonnen und konnte vielversprechende Ergebnisse erzielen (Van Camp et al., 2021). Als weitverbreitete Methode werden die Tumorzellen stereotaktisch in das Hirn der Tiere – im Regelfall Mäuse oder Ratten – orthotop inokuliert (Baumann et al., 2012). Obwohl dieser Inokulationsprozess intuitiv einen traumatischen Eingriff darstellt, werden in der Literatur mögliche artifizielle Ergebnisse faszinierenderweise nahezu gar nicht beachtet. Es bleibt nach aktuellem Stand der Forschung zum Beispiel unklar, inwieweit sich bestimmte Zelltypen

methodenbedingt im Bereich der Inokulationsstelle ansammeln und mit dem natürlichen Tumormikromilieu interagieren. Weiterführend stellt sich die Frage, ob bei der Durchführung der PET Auswirkungen durch die stereotaktische Inokulation zu berücksichtigen sind und – falls dies zutrifft – welche Zeitpunkte nach Inokulation für diese Bildgebung zu bevorzugen sind.

Ziel dieser kumulativen Dissertation ist Evaluation der PET in syngenem Glioblastom Mausmodellen, wobei die soeben erläuterten Auswirkungen durch den orthotopen Inokulationsprozess beachtet werden soll. Dabei werden in den zwei vorgestellten wissenschaftlichen Projekten unterschiedliche methodische Ansätze gewählt, unter anderem werden mit Hilfe der PET verschiedene molekulare Zielstrukturen untersucht. Die Hintergründe dazu werden im Folgenden näher vorgestellt.

## 2.2 [<sup>18</sup>F]Fluorethyltyrosin als klinisch etablierter Tracer

[<sup>18</sup>F]Fluorethyltyrosin ([<sup>18</sup>F]FET) hat sich als bedeutsamer PET-Radiotracer für Gliome etabliert und wird mittlerweile routinemäßig bei Glioblastom-Patienten angewandt (Galldiks et al., 2015b). Dabei erleichtert das [<sup>18</sup>F]FET PET die Beantwortung relevanter klinischer Fragen, wozu die Differenzialdiagnostik, Therapieplanung oder Beurteilung des Therapieansprechens gehören (Hutterer et al., 2013, Tonn et al., 2012, Galldiks et al., 2015a, Albert et al., 2016, Law et al., 2019). Die molekularen Zielstrukturen, die von [<sup>18</sup>F]FET gebunden werden, sind die L-Aminosäuretransporter (LAT), die in LAT1 und LAT2 unterteilt werden können (Habermeier et al., 2015). Erstere Untergruppe wird von proliferierenden Zellen überexprimiert, wobei der exakte Aufnahmemechanismus von [<sup>18</sup>F]FET in die jeweiligen Zellen derzeit noch nicht im Detail verstanden wird (Cai et al., 2020). Trotzdem liefert der Tracer wertvolle Informationen über den Aminosäuremetabolismus im Gewebe, was einen großen Mehrwert für die Tumordiagnostik darstellt. In der ersten wissenschaftlichen Veröffentlichung dieser Doktorarbeit wurde das Tumorsignal des Tracers [<sup>18</sup>F]FET im murinen Glioblastom-Modell quantifiziert und mit dem eines TSPO-Radioliganden verglichen. Letzterer wird nun im Näheren beschrieben.

## 2.3 Das Translocator Protein als molekulare Zielstruktur

Das Translocator Protein (TSPO) ist ein membranständiges Protein, das in der äußeren Mitochondrienmembran lokalisiert ist und eine atomare Masse von 18 kDa aufweist (Mokrov et al.,

2021). Es ist auch unter dem Namen peripherer Benzodiazepinrezeptor (PBR) bekannt (Papadopoulos et al., 2006). Die vielfältigen Funktionen von TSPO erstrecken sich von der Regulation der Steroidbiosynthese, Beteiligung an der Zellproliferation und Apoptose bis hin zur Immunmodulation der betroffenen Zellen (Lacapère and Papadopoulos, 2003, Denora and Natile, 2017, Liu et al., 2014). TSPO wird von verschiedenen Zellentitäten exprimiert, dazu gehören unter anderem Endothelzellen, Gliomzellen, Astrozyten, Makrophagen oder Mikroglia, was beispielsweise anhand von immunohistochemischen Analysen untersucht werden kann (Nutma et al., 2021).

Aktuelle Forschungsansätze haben sich die spezifischen Expressionsmuster von TSPO zu Nutzen gemacht und fokussieren auf die Darstellung dieses Proteins in verschiedenen Pathologien wie neurodegenerativen Erkrankungen, traumatischen Hirnverletzungen oder ischämischen Pathomechanismen (Zhang et al., 2021). Im Bereich der Nuklearmedizin wird den betroffenen Patienten hierfür ein Radiotracer injiziert, der idealerweise möglichst spezifisch an das Translocator Protein bindet, woraufhin dessen Verteilungsmuster im Gewebe durch PET dreidimensional aufgelöst werden kann. In den letzten Jahrzehnten wurden diese TSPO-Tracer stetig weiterentwickelt, sodass nun neben den früheren Generationen, zu denen beispielsweise [<sup>11</sup>C]PBR28 oder [<sup>18</sup>F]DPA714 zählen, Tracer der dritten Generation wie [<sup>18</sup>F]GE180 zur Verfügung stehen (Corica et al., 2023).

An dieser Stelle soll die Relevanz der TSPO-Bildgebung bei Hirntumoren hervorgehoben werden. In zahlreichen klinischen Studien wurden diese PETs bei Glioblastom Patienten bereits durchgeführt (Filippi et al., 2023). Ein Ziel dieser Studien ist das Untersuchen des Tumormikromilieus dieser infiltrativen Tumoren, was als Grundlage für die Entwicklung individueller Therapiestrategien dienen könnte. Dabei wird das Tumorsignal in der PET als weit etablierte Methode mithilfe des mean standardized uptake values ( $SUV_{mean}$ ) oder mean tumor-to-background ratio ( $TBR_{mean}$ ) quantifiziert. In einer hier exemplarisch angeführten Studie wurden TSPO-PETs bei insgesamt 22 Patienten mit hochmalignen Gliomen (HGG) durchgeführt. Dabei zeigte der Tumor heterogene Anreicherung des Tracers, welcher gleichzeitig die Tumorgrenzen in der MRT überschritt. Die Infiltration des Tumors könnte deshalb ausgedehnter sein als bisher angenommen, was praktische Implikationen wie bei der Bestrahlungsplanung dieser Tumoren mit sich zieht. In diesem Kontext könnte das TSPO-PET wertvolle Mehrinformationen im Vergleich zur konventionellen Bildgebung liefern (Unterrainer et al., 2019). In einer aktuelleren Studie wurde dem Tracer

[<sup>18</sup>F]GE180 eine mögliche Funktion als prognostischer Biomarker für Patienten mit einem Glioblastom Rezidiv zugeschrieben (Quach et al., 2023). Perspektivisch ermöglichen zudem innovative Methoden die Auflösung des zellulären Ursprungs des Tracersignals, was als Grundlage für die Entwicklung weiterer, spezifischer Radioliganden dienen könnte (Bartos et al., 2022, Bartos et al., 2023).

Auch in präklinischen Studien wurden TSPO-PETs bereits durchgeführt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Tracer [<sup>18</sup>F]DPA714 und [<sup>18</sup>F]GE180 in verschiedenen orthotopen Mausmodellen zuverlässig in Tumorarealen mit TSPO-Expression anreicherten und hier vor allem die Randstrukturen des Tumors heterogenes Signal aufwiesen (Zinnhardt et al., 2017, Holzgreve et al., 2022). Eine weitere präklinische Studie korrelierte TSPO-Signal mit diffusionsgewichteter MRT-Bildgebung und kam zur Konklusion, dass durch TSPO-Expression insbesondere infiltrative Bereiche des Tumors identifiziert werden können (Pigeon et al., 2019).

Bei der Interpretation der klinischen und präklinischen PETs sollte berücksichtigt werden, dass sowohl Tumor-assoziierte Makrophagen (TAMs) als auch Tumorzellen ein essenzieller Bestandteil des Glioblastom-Tumormikromilieu darstellen und diese beide Zellentitäten TSPO-exprimieren (Aras and Zaidi, 2017, Zinnhardt et al., 2021). Dies wird durch den Umstand verkompliziert, dass auch weitere Zelltypen wie reaktive Astrozyten TSPO-Expression aufweisen können (Placone et al., 2016). Im klinischen Kontext sollten reaktive Veränderungen wie beispielsweise akut entzündliche Reaktionen nach therapeutischer Intervention beachtet werden, welche zu vermehrter TSPO-Expression führen kann (Hamard et al., 2016). Präklinisch könnten methodische Ansätze – hier ist insbesondere der Inokulationsprozess von den Tumorzellen hervorzuheben – zu artifizieller TSPO-Expression führen, worauf das Hauptaugenmerk dieser kumulativen Dissertation gerichtet ist und im folgenden Absatz detaillierter eingegangen wird.

## **2.4 Das GL261 und SB28 Glioblastom-Mausmodell**

Eine Vielzahl von präklinischen Studien verwendet murine Glioblastom-Modelle, um Aussagen über den Tumor in vivo zu treffen und translationale Konzepte zu erarbeiten. Dabei stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, wobei grob zwischen genetisch veränderten Modellen, syngenischen Modellen und Xenograft-Modellen unterschieden wird (Haddad et al., 2021). Bei den soeben angeführten Modellen findet standardmäßig eine stereotaktische Injektion im Bereich des

Hirns der Tiere statt. Während bei den genetisch veränderten Modellen Tumorwachstum durch Injektion genmodifizierender, beispielsweise retroviraler Substanzen induziert wird (Hambardzumyan et al., 2011, Xiao et al., 2005), werden bei den anderen beiden genannten Modellen Tumorzellen stereotaktisch in das Hirn der Mäuse inokuliert (Baumann et al., 2012). Hier werden je nach Fragestellung unterschiedliche Zelllinien implantiert. Xenograft-Modelle, die mit Blick auf translationale Aussagekraft im Regelfall humane Glioblastom Zelllinien verwenden, können lediglich in immundefizienten Tieren angewendet werden (Haddad et al., 2021). Exemplarisch wurde die humane Glioblastom Zelllinie U87 in mehreren Therapiestudien mit Angiogenesehemmern stereotaktisch inokuliert (Pechman et al., 2011, Jahangiri et al., 2017). Im Gegensatz dazu können bei den syngen Modellen, die murine Glioblastom Zelllinien benutzen, immunkompetente Mäuse verwendet werden, was durch die natürliche Immunantwort zu einem vollständigeren Tumormikromilieu führt (Haddad et al., 2021). Hier werden bei vorrausgehender Zucht der Zellkulturen in vitro zudem gut reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich des Wachstumsverhaltens in vivo beschrieben (Haddad et al., 2021). Im Folgenden wird im Detail auf die syngen Modelle der im Verlauf präsentierten Veröffentlichungen dieser kumulativen Dissertation eingegangen.

1. GL261 ist einer der häufigsten benutzten Zelllinien für syngene Glioblastom-Modelle. In einigen grundlegenden Eigenschaften sind diese Tumore dem humanen Glioblastom ähnlich, weshalb zahlreiche Studien mit diesem Modell vielversprechende Ergebnisse in Hinblick auf einen translationalen Mehrwert erzielen konnten (Szatmári et al., 2006, Maes and Van Gool, 2011). Eine Limitation dieses Modells ist die erhöhte Immunogenität von GL261 im Vergleich zu humanen Glioblastom-Zelllinien, welche möglicherweise das gute Ansprechen auf Checkpoint-Inhibitoren erklären könnte, was allerdings in klinischen Studien nicht beobachtet wurde (Genoud et al., 2018, Wainwright et al., 2014). Als ein Faktor, der die Immunogenität in diesem Modell beeinflussen könnte, ist die Entzündungsantwort auf die stereotaktische Inokulation der Tumorzellen anzuführen (Banati et al., 2020).
2. Das SB28 Mausmodell ist im Vergleich zu GL261 nach aktuellem Literaturstand deutlich weniger verwendet worden, zeigt in bisher publizierten Studien jedoch aussichtsreiche Resultate hinsichtlich der Zusammensetzung des Tumormikromilieus (Kosaka et al.,

2014). Die Tumore weisen analog zum humanen Glioblastom eine relativ niedrige Immunogenität auf, was sie zu einem robusten Modell im präklinischen experimentellen Setting machen. Exemplarisch wird dies durch schwaches Ansprechen auf Checkpoint-Inhibitoren verdeutlicht, wie es ebenfalls in klinischen Studien beobachtet wurde (Genoud et al., 2021).

In der ersten Veröffentlichung dieser Doktorarbeit werden longitudinale, duale [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 und [ $^{18}\text{F}$ ]FET PETs im GL261 Mausmodell durchgeführt und Rückschlüsse über Alterationen des Tumormikromilieus durch den traumatischen Inokulationsprozesses aufgezeigt, was bis dato in der Literatur nur sehr wenig thematisiert wurde.

Die zweite Veröffentlichung evaluiert [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs im SB28 Mausmodell und quantifiziert die Anreicherung des Tracers an mehreren Zeitpunkten nach stereotaktischer Inokulation. Analog zur ersten Veröffentlichung wurden zusätzlich gewebsbasierte Analysen wie Immunhistochemie durchgeführt und mit den Ergebnissen aus der in vivo Bildgebung korreliert.

### 3. Diskussion zu den beiden Veröffentlichungen

In dieser kumulativen Dissertation wurden zwei wissenschaftliche Arbeiten präsentiert, die [<sup>18</sup>F]GE180 PETs im murinen GL261 und SB28 Glioblastom Modell durchführten und die Eignung dieser Modelle für zukünftige (Therapie-)Studien evaluieren. Dabei wurde in beiden Studien an allen untersuchten Zeitpunkten (Tag 7 und 14 nach Inokulation von GL261 Tumorzellen, Tag 6,3 ± 0,5 und 18,5 ± 0,5 nach Inokulation von SB28 Tumorzellen) erhöhte Anreicherung im Bereich des Tumors festgestellt (siehe Figure 1D in der ersten Veröffentlichung und Figure 3G in der zweiten Veröffentlichung). Daten aus immunhistochemischen Analysen wurden in beiden Projekten mit [<sup>18</sup>F]GE180 PET Signal qualitativ korreliert und implizierten eine spezifische Anreicherung des Tracers in Arealen mit TSPO-Expression. In der Studie mit dem syngenem GL261 Modell wurden zudem *in vitro* [<sup>18</sup>F]GE180 Autoradiographien quantifiziert und konnten spezifisches Tracer Signal im Bereich von TSPO-exprimierenden Zellen weiter belegen ( $p < 0,0001$ ; siehe Supplementary Figure S5C).

Interessanterweise überschritt in diesem Projekt das [<sup>18</sup>F]GE180 Tumorsignal in der *in vitro* Autoradiographie und PET insbesondere zum frühen Zeitpunkt (Tag 7/8 nach Tumoringokulation) das zusätzlich bestimmte [<sup>18</sup>F]FET Signal in der *ex vivo* Autoradiographie und PET ( $TBR_{\text{mean}}$  in der PET 1,22 ± 0,10 versus 1,04 ± 0,04,  $p < 0,001$ ). Zum späteren Zeitpunkt (Tag 14/15 nach Tumoringokulation) glichen sich die Anreicherungen der beiden Tracer hingegen an ( $TBR_{\text{mean}}$  in der PET 1,28 ± 0,10 versus 1,15 ± 0,04,  $p = 0,008$ ). Deutlich erhöhtes [<sup>18</sup>F]GE180 Signal im Bereich der Inokulationsstelle von Kontroll-Mäusen in der *in vitro* Autoradiographie und PET gaben Aufschluss, dass insbesondere zu frühen Zeitpunkten nach Inokulation reaktive Veränderungen durch die stereotaktische Inokulation auftreten und vermehrtes TSPO-Tracer Signal als Folge haben können (siehe Figure 2 und 3 in der ersten Veröffentlichung). Dies wurde durch immunhistochemische Analysen bestätigt. Im Bereich des Inokulationskanals der Kontroll-Tiere wurden im Vergleich zur kontralateralen, nicht-operierten Hirnhemisphäre eine deutlich vermehrte Anzahl von TSPO-exprimierenden Mikroglia/ Makrophagen und reaktiven Astrozyten identifiziert (siehe Figure 4). Dabei konnte innerhalb der 5 Wochen nach Kontroll-Injektion ein Shift dieser TSPO-exprimierenden Zellpopulationen im Bereich der Injektionsstelle von Mikroglia/ Makrophagen zu reaktiven Astrozyten beobachtet werden ( $p < 0,001$ ). Im Glioblastom-Mausmodell könnten diese Zellen möglicherweise durch das solide Wachstum des Tumors an den Tumorrand verdrängt

werden und die Anreicherung von [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 über das [ $^{18}\text{F}$ ]FET Signals hinaus erklären, das innerhalb der histologischen Tumorgrenzen beschränkt ist. Es bleibt allerdings offen, in welchem Ausmaß diese reaktiven Zellen tatsächlich mit dem Inokulationsprozess assoziiert sind, da sie ebenfalls Teil des natürlichen Tumormikromilieus sein könnten. Die genaue Auswirkung der Mikroglia, Makrophagen und reaktiven Astrozyten auf das TSPO-Gesamt tumorsignal ist ebenfalls unklar und könnte bei visuell geringerer TSPO-Expression im Vergleich zu den Tumorzellen (siehe Figure 1C in der ersten wissenschaftlichen Veröffentlichung und Supplemental Figure 3 in der zweiten wissenschaftlichen Veröffentlichung) insbesondere bei vorangeschrittenem Tumorstadium weniger stark ins Gewicht fallen, was in zukünftigen Studien dediziert untersucht werden kann. Darüber hinaus stellt sich die Frage, weshalb das Tumorsignal von [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 im GL261 Modell zum frühen Zeitpunkt nach Inokulation sich statistisch nicht signifikant zu den Kontroll-Mäusen unterschied ( $\text{SUV}_{\text{mean}} 1,23 \pm 0,15$  versus  $1,27 \pm 0,11$ ,  $p = 0,554$ ; lediglich die  $\text{TBR}_{\text{mean}}$  Werte werden in der Veröffentlichung gezeigt), während dies im SB28 Modell der Fall war ( $\text{SUV}_{\text{mean}} 1,4 \pm 0,3$  versus  $0,9 \pm 0,1$ ,  $p < 0,01$ ). Die möglichen Gründe dafür sollten an dieser Stelle diskutiert werden. Davor ist jedoch erwähnenswert, dass in den beiden vorgestellten Arbeiten kein direkter quantitativer Vergleich zwischen dem [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Signal in dem SB28 und GL261 Mausmodell durchgeführt wurde. Nichtsdestotrotz visualisiert Figure 4 des zweiten wissenschaftlichen Projektes zumindest einen qualitativen Unterschied in der Anreicherung des TSPO-Tracers im Bereich des Tumors.

Als primärer Grund für die Diskrepanz des quantifizierten Tracer-Signals an der Inokulationsstelle zwischen Tumor- und Kontroll-Mäusen zu frühen Bildgebungszeitpunkten müssen Unterschiede in der Tumorbiologie angeführt werden. SB28 Tumore repräsentieren im Vergleich zu GL261 Tumoren vermehrt das Tumormikromilieu von humanen Glioblastomen, welches durch hohe TSPO-Expression und folglich TSPO-Traceranreicherung charakterisiert ist (Haddad et al., 2021, Ammer et al., 2020). Zudem treten in besonders aggressiv wachsenden Tumoren wie im SB28 Modell Störungen in der Blut-Hirn-Schranke auf, was zusätzlich das unspezifische [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Tumorsignal verstärken kann.

Als weitere wichtige Faktoren sind Unterschiede in der Durchführung der Methodik und Auswertung der [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs in den beiden vorgestellten wissenschaftlichen Projekten zu beachten. Wie in der Diskussion der ersten angeführten wissenschaftlichen Veröffentlichung ausführlich beschrieben, gibt es eine Vielzahl von Variablen, die das Ausmaß reaktiver Veränderungen durch

den Inokulationsprozess beeinflussen. In Bezug auf die beiden wissenschaftlichen Projekte haben beispielsweise Operateure mit unterschiedlicher Erfahrung die stereotaktische Inokulation durchgeführt. Weitere beschriebene Faktoren wie die Taganzahl nach Inokulation (GL261: Tag 7; SB28  $6,3 \pm 0,5$ ) beziehungsweise die genaue Tageszeit der Inokulation unterschieden sich ebenfalls, während andere Variablen wie der verwendete Mausstamm (C57BL/6) in beiden Arbeiten identisch waren. Darüber hinaus wurde das [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PET Signal in den beiden Projekten unterschiedlich quantifiziert. Während in den GL261 Mäusen das  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  über die gesamte anteriore Hemisphäre mit einem Volumen von  $50 \text{ mm}^3$  bestimmt wurde, wurde bei den Tieren mit der inokulierten SB28 Zelllinie eine deutlich kleinere volume of interest (VOI) mit  $2 \text{ mm}^3$  verwendet. Diese hat das hohe Signal unmittelbar an den Meningen nicht miterfasst, auf welches die Pfeile in Figure 1D und 2A der ersten Veröffentlichung exemplarisch gerichtet sind. Bei genauem Hinsehen kann man in Figure 3G der zweiten Veröffentlichung tatsächlich auch bei den Kontroll-Tieren erhöhte Tracer Anreicherung im Bereich der Meningen beobachten.

Als weiterführender, translationaler Ansatz sollten ebenfalls im humanen TSPO-PET reaktive Veränderungen wie beispielsweise nach stereotaktischer Biopsie bei der Interpretation von Tumorsignal beachtet werden (siehe Figure 5 in der ersten wissenschaftlichen Veröffentlichung).

## 4. Zusammenfassung

### 4.1 Abstrakt (Deutsch)

#### Hintergrund

Glioblastom-Mausmodelle werden häufig verwendet, um Tumoreigenschaften zu untersuchen und Behandlungseffekte zu überwachen. In dieser kumulativen Dissertation werden zwei wissenschaftliche Veröffentlichungen vorgestellt, die die Validität der TSPO-PET in den syngenesischen GL261 und SB28 Glioblastom-Mausmodellen mit orthotoper Inokulation evaluieren.

#### Methoden

Für das erste Projekt mit dem GL261 Modell wurden serielle [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 und [ $^{18}\text{F}$ ]FET PETs an Tag 7/8 und Tag 14/15 nach der Inokulation durchgeführt (n=24 Tumor-Mäuse, n=3 Kontroll-Mäuse). Zusätzliche Kontroll-Mäuse erhielten [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs bis Tag 90, um Inokulation-assoziierte Effekte zu untersuchen (n=25). Für das zweite Projekt mit dem SB28 Modell wurden [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs und kontrastverstärkte Computertomographie in Woche 1 (n=6 Tumor-Mäuse, n=6 Kontroll-Mäuse) und Woche 3 (n=8 Tumor-Mäuse, n=9 Kontroll-Mäuse) nach der Inokulation durchgeführt. In beiden Studien wurden gewebebasierte Analysen wie Immunhistochemie (IHC) oder Autoradiographie (ARG) durchgeführt und mit den in vivo Befunden korreliert.

#### Ergebnisse

Für die GL261 Tumor-Mäuse überstieg das [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Tumorsignal in PET und ARG das [ $^{18}\text{F}$ ]FET PET Signal sowohl in Umfang als auch Intensität (z. B. war am Tag 7/8 das mittlere tumor-to-background-volume ( $\text{TBR}_{\text{mean}}$ ) in PET 1,22 für [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 und 1,04 für [ $^{18}\text{F}$ ]FET,  $p < 0,001$ ). Kontroll-Mäuse zeigten eine signifikante [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Anreicherung an der Injektionsstelle, die jedoch im Laufe der Zeit abnahm (z. B. betrug der  $\text{TBR}_{\text{mean}}$  in PET am Tag 7 1,20 und am Tag 35 1,04,  $p = 0,04$ ). Für die SB28 Tumor-Mäuse war das [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Tumorsignal in der PET sowohl zu frühen als auch zu späten Zeitpunkten höher im Vergleich zu den Kontroll-Mäusen (z. B. betrug am Tag 6 das mean standardized uptake volume  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  1,4 für die Tumor-Mäuse und 0,9 für die Kontroll-Mäuse,  $p < 0,01$ ) und überstieg visuell die Tumoranreicherung der GL261 Tumor-Mäuse. In der IHC sammelten sich TSPO-exprimierende GL261- und SB28-Tumorzellen, neuroinflammatorische Zellen und reaktive Astrozyten im Bereich der Injektionsstellen an, was für eine spezifische [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 Traceranreicherung sprach.

## Schlussfolgerung

Insgesamt sind sowohl GL261 als auch SB28 Mausmodelle für zukünftige Therapiestudien mit TSPO-PET geeignet. Allerdings muss die Immunantwort infolge der Inokulation bei der Planung dieser Studien berücksichtigt werden. Dies betrifft insbesondere frühe Zeitpunkte der Bildgebung nach der Inokulation.

## 4.2 Abstract (English)

### Background

Glioblastoma mouse models are commonly used to investigate tumor properties and monitor treatment effects. In this cumulative dissertation two scientific publications are presented, which evaluate the validity of TSPO-PETs in the syngeneic GL261 and SB28 glioblastoma mouse models with orthotopic inoculation.

### Methods

For the first project using the GL261 model, serial [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 and [ $^{18}\text{F}$ ]FET PETs were performed at day 7/8 and day 14/15 after inoculation (n=24 tumor mice, n=3 sham mice). Additional sham mice underwent [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs until day 90 to monitor inoculation associated effects (n=25). For the second project using the SB28 model, [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 PETs and contrast enhanced computer tomography were carried out at week 1 (n=6 tumor mice, n=6 sham mice) and week 3 (n=8 tumor mice, n=9 sham mice) after inoculation. At both studies, tissue-based analyses as immunohistochemistry (IHC) or autoradiography (ARG) were performed and correlated to in vivo findings.

### Results

For the GL261 bearing mice, [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 tumor uptake in PET and ARG surpassed [ $^{18}\text{F}$ ]FET PET uptake both in extent and intensity (e.g., at day 7/8 the mean tumor-to-background-volume ( $\text{TBR}_{\text{mean}}$ ) in PET was 1.22 for [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 and 1.04 for [ $^{18}\text{F}$ ]FET,  $p < 0.001$ ). Sham mice showed significant [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 uptake at the injection site which however decreased over time (e.g.,  $\text{TBR}_{\text{mean}}$  in PET was 1.20 at day 7 and 1.04 at day 35,  $p = 0.04$ ). For the SB28 bearing mice, [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 tumor uptake in PET was higher when compared to sham mice at both early and late timepoint (e.g., at day 6 mean standardized uptake volume  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  was 1.4 for tumor mice and 0.9 for sham mice,  $p < 0,01$ ) and visually exceeded tumor uptake in GL261 bearing mice. IHC

revealed TSPO labelled GL261 and SB28 tumor cells, neuroinflammatory cells and reactive astrocytes at the injection sites which indicated specific [ $^{18}\text{F}$ ]GE180 tracer binding.

### **Conclusion**

In general, the GL261 and SB28 mouse models are both suitable for future treatment studies involving TSPO PET. However, immune response through the inoculation must be considered when planning these studies. This especially affects early imaging timepoints after inoculation.

## **5. Erste Veröffentlichung**

<https://www.mdpi.com/2227-9059/12/1/188>

doi: 10.3390/biomedicines12010188

## **6. Zweite Veröffentlichung**

<https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2022.992993/full>

doi: 10.3389/fmed.2022.992993

## Literaturverzeichnis

- ALBERT, N. L., WELLER, M., SUCHORSKA, B., GALLDIKS, N., SOFFIETTI, R., KIM, M. M., LA FOUGERE, C., POPE, W., LAW, I., ARBIZU, J., CHAMBERLAIN, M. C., VOGELBAUM, M., ELLINGSON, B. M. & TONN, J. C. 2016. Response Assessment in Neuro-Oncology working group and European Association for Neuro-Oncology recommendations for the clinical use of PET imaging in gliomas. *Neuro Oncol*, 18, 1199-208.
- ALIFIERIS, C. & TRAFALIS, D. T. 2015. Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. *Pharmacol Ther*, 152, 63-82.
- AMMER, L. M., VOLLMANN-ZWERENZ, A., RUF, V., WETZEL, C. H., RIEMENSCHNEIDER, M. J., ALBERT, N. L., BECKHOVE, P. & HAU, P. 2020. The Role of Translocator Protein TSPO in Hallmarks of Glioblastoma. *Cancers (Basel)*, 12.
- ARAS, S. & ZAIDI, M. R. 2017. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis. *Br J Cancer*, 117, 1583-1591.
- BANATI, R. B., WILCOX, P., XU, R., YIN, G., SI, E., SON, E. T., SHIMIZU, M., HOLSINGER, R. M. D., PARMAR, A., ZAHRA, D., ARTHUR, A., MIDDLETON, R. J., LIU, G. J., CHARIL, A. & GRAEBER, M. B. 2020. Selective, high-contrast detection of syngeneic glioblastoma in vivo. *Sci Rep*, 10, 9968.
- BARTOS, L. M., KIRCHLEITNER, S. V., KOLABAS, Z. I., QUACH, S., BECK, A., LORENZ, J., BLOBNER, J., MUELLER, S. A., ULUKAYA, S., HOEHER, L., HORVATH, I., WIND-MARK, K., HOLZGREVE, A., RUF, V. C., GOLD, L., KUNZE, L. H., KUNTE, S. T., BEUMERS, P., PARK, H. E., ANTONS, M., ZATCEPIN, A., BRIEL, N., HOERMANN, L., SCHAEFER, R., MESSERER, D., BARTENSTEIN, P., RIEMENSCHNEIDER, M. J., LINDNER, S., ZIEGLER, S., HERMS, J., LICHTENTHALER, S. F., ERTÜRK, A., TONN, J. C., VON BAUMGARTEN, L., ALBERT, N. L. & BRENDEL, M. 2023. Deciphering sources of PET signals in the tumor microenvironment of glioblastoma at cellular resolution. *Sci Adv*, 9, eadi8986.
- BARTOS, L. M., KUNTE, S. T., BEUMERS, P., XIANG, X., WIND, K., ZIEGLER, S., BARTENSTEIN, P., CHOI, H., LEE, D. S., HAASS, C., VON BAUMGARTEN, L., TAHIROVIC, S., ALBERT, N. L., LINDNER, S. & BRENDEL, M. 2022. Single cell radiotracer allocation via immunomagnetic sorting (scRadiotracing) to disentangle PET signals at cellular resolution. *J Nucl Med*.
- BAUMANN, B. C., DORSEY, J. F., BENCI, J. L., JOH, D. Y. & KAO, G. D. 2012. Stereotactic intracranial implantation and in vivo bioluminescent imaging of tumor xenografts in a mouse model system of glioblastoma multiforme. *J Vis Exp*.
- CAI, L., KIRCHLEITNER, S. V., ZHAO, D., LI, M., TONN, J. C., GLASS, R. & KALIN, R. E. 2020. Glioblastoma Exhibits Inter-Individual Heterogeneity of TSPO and LAT1 Expression in Neoplastic and Parenchymal Cells. *Int J Mol Sci*, 21.
- CORICA, F., DE FEO, M. S., GORICA, J., SIDRAK, M. M. A., CONTE, M., FILIPPI, L., SCHILLACI, O., DE VINCENTIS, G. & FRANTELLIZZI, V. 2023. PET Imaging of Neuro-Inflammation with Tracers Targeting the Translocator Protein (TSPO), a Systematic Review: From Bench to Bedside. *Diagnostics (Basel)*, 13.
- DENORA, N. & NATILE, G. 2017. An Updated View of Translocator Protein (TSPO). *Int J Mol Sci*, 18.
- FILIPPI, L., FRANTELLIZZI, V., VINCENTIS, G., SCHILLACI, O. & EVANGELISTA, L. 2023. Clinical Applications of TSPO PET for Glioma Imaging: Current Evidence and Future Perspective-A Systematic Review. *Diagnostics (Basel)*, 13.
- GALLDIKS, N., DUNKL, V., STOFFELS, G., HUTTERER, M., RAPP, M., SABEL, M., REIFENBERGER, G., KEBIR, S., DORN, F., BLAU, T., HERRLINGER, U., HAU, P., RUGE, M. I., KOCHER, M., GOLDBRUNNER, R., FINK, G. R., DRZEZGA, A., SCHMIDT, M. & LANGEN, K. J. 2015a. Diagnosis of pseudoprogression in patients with glioblastoma using O-(2-[<sup>18</sup>F]fluoroethyl)-L-tyrosine PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 42, 685-95.

- GALLDIKS, N., LANGEN, K. J. & POPE, W. B. 2015b. From the clinician's point of view - What is the status quo of positron emission tomography in patients with brain tumors? *Neuro Oncol*, 17, 1434-44.
- GENOUD, V., ESPINOZA, F. I., MARINARI, E., ROCHEMONT, V., DIETRICH, P. Y., MCSHEEHY, P., BACHMANN, F., LANE, H. A. & WALKER, P. R. 2021. Treating ICB-resistant glioma with anti-CD40 and mitotic spindle checkpoint controller BAL101553 (lisavanbulin). *JCI Insight*, 6.
- GENOUD, V., MARINARI, E., NIKOLAEV, S. I., CASTLE, J. C., BUKUR, V., DIETRICH, P. Y., OKADA, H. & WALKER, P. R. 2018. Responsiveness to anti-PD-1 and anti-CTLA-4 immune checkpoint blockade in SB28 and GL261 mouse glioma models. *Oncoimmunology*, 7, e1501137.
- HABERMEIER, A., GRAF, J., SANDHÖFER, B. F., BOISSEL, J. P., ROESCH, F. & CLOSS, E. I. 2015. System L amino acid transporter LAT1 accumulates O-(2-fluoroethyl)-L-tyrosine (FET). *Amino Acids*, 47, 335-44.
- HADDAD, A. F., YOUNG, J. S., AMARA, D., BERGER, M. S., RALEIGH, D. R., AGHI, M. K. & BUTOWSKI, N. A. 2021. Mouse models of glioblastoma for the evaluation of novel therapeutic strategies. *Neurooncol Adv*, 3, vdab100.
- HAMARD, L., RATEL, D., SELEK, L., BERGER, F., VAN DER SANDEN, B. & WION, D. 2016. The brain tissue response to surgical injury and its possible contribution to glioma recurrence. *J Neurooncol*, 128, 1-8.
- HAMBARDZUMYAN, D., PARADA, L. F., HOLLAND, E. C. & CHAREST, A. 2011. Genetic modeling of gliomas in mice: new tools to tackle old problems. *Glia*, 59, 1155-68.
- HOLZGREVE, A., PÖTTER, D., BRENDDEL, M., ORTH, M., WEIDNER, L., GOLD, L., KIRCHNER, M. A., BARTOS, L. M., UNTERRAINER, L. M., UNTERRAINER, M., STEIGER, K., VON BAUMGARTEN, L., NIYAZI, M., BELKA, C., BARTENSTEIN, P., RIEMENSCHNEIDER, M. J., LAUBER, K. & ALBERT, N. L. 2022. Longitudinal [(18)F]GE-180 PET Imaging Facilitates In Vivo Monitoring of TSPO Expression in the GL261 Glioblastoma Mouse Model. *Biomedicines*, 10.
- HUTTERER, M., NOWOSIELSKI, M., PUTZER, D., JANSEN, N. L., SEIZ, M., SCHOCKE, M., MCCOY, M., GÖBEL, G., LA FOUGÈRE, C., VIRGOLINI, I. J., TRINKA, E., JACOBS, A. H. & STOCKHAMMER, G. 2013. [18F]-fluoro-ethyl-L-tyrosine PET: a valuable diagnostic tool in neuro-oncology, but not all that glitters is glioma. *Neuro Oncol*, 15, 341-51.
- JAHANGIRI, A., NGUYEN, A., CHANDRA, A., SIDOROV, M. K., YAGNIK, G., RICK, J., HAN, S. W., CHEN, W., FLANIGAN, P. M., SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D., MASCHARAK, S., DE LAY, M., IMBER, B., PARK, C. C., MATSUMOTO, K., LU, K., BERGERS, G., SALI, A., WEISS, W. A. & AGHI, M. K. 2017. Cross-activating c-Met/ $\beta$ 1 integrin complex drives metastasis and invasive resistance in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114, E8685-e8694.
- KOSAKA, A., OHKURI, T. & OKADA, H. 2014. Combination of an agonistic anti-CD40 monoclonal antibody and the COX-2 inhibitor celecoxib induces anti-glioma effects by promotion of type-1 immunity in myeloid cells and T-cells. *Cancer Immunol Immunother*, 63, 847-57.
- LACAPÈRE, J. J. & PAPADOPOULOS, V. 2003. Peripheral-type benzodiazepine receptor: structure and function of a cholesterol-binding protein in steroid and bile acid biosynthesis. *Steroids*, 68, 569-85.
- LAW, I., ALBERT, N. L., ARBIZU, J., BOELLAARD, R., DRZEZGA, A., GALLDIKS, N., LA FOUGÈRE, C., LANGEN, K. J., LOPCI, E., LOWE, V., MCCONATHY, J., QUICK, H. H., SATTLER, B., SCHUSTER, D. M., TONN, J. C. & WELLER, M. 2019. Joint EANM/EANO/RANO practice guidelines/SNMMI procedure standards for imaging of gliomas using PET with radiolabelled amino acids and [(18)F]FDG: version 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 46, 540-557.
- LIU, G. J., MIDDLETON, R. J., HATTY, C. R., KAM, W. W., CHAN, R., PHAM, T., HARRISON-BROWN, M., DODSON, E., VEALE, K. & BANATI, R. B. 2014. The 18 kDa translocator protein, microglia and neuroinflammation. *Brain Pathol*, 24, 631-53.

- MAES, W. & VAN GOOL, S. W. 2011. Experimental immunotherapy for malignant glioma: lessons from two decades of research in the GL261 model. *Cancer Immunol Immunother*, 60, 153-60.
- MOKROV, G. V., DEEVA, O. A. & GUDASHEVA, T. A. 2021. The Ligands of Translocator Protein: Design and Biological Properties. *Curr Pharm Des*, 27, 217-237.
- NUTMA, E., CEYZÉRIAT, K., AMOR, S., TSARTSALIS, S., MILLET, P., OWEN, D. R., PAPAPOPOULOS, V. & TOURNIER, B. B. 2021. Cellular sources of TSPO expression in healthy and diseased brain. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 49, 146-163.
- PAPAPOPOULOS, V., BARALDI, M., GUILARTE, T. R., KNUDSEN, T. B., LACAPÈRE, J. J., LINDEMANN, P., NORENBORG, M. D., NUTT, D., WEIZMAN, A., ZHANG, M. R. & GAVISH, M. 2006. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function. *Trends Pharmacol Sci*, 27, 402-9.
- PECHMAN, K. R., DONOHOE, D. L., BEDEKAR, D. P., KURPAD, S. N., HOFFMANN, R. G. & SCHMAINDA, K. M. 2011. Characterization of bevacizumab dose response relationship in U87 brain tumors using magnetic resonance imaging measures of enhancing tumor volume and relative cerebral blood volume. *J Neurooncol*, 105, 233-9.
- PIGEON, H., PERES, E. A., TRUILLET, C., JEGO, B., BOUMEZBEUR, F., CAILLE, F., ZINNHARDT, B., JACOBS, A. H., LE BIHAN, D. & WINKELER, A. 2019. TSPO-PET and diffusion-weighted MRI for imaging a mouse model of infiltrative human glioma. *Neuro Oncol*, 21, 755-764.
- PLACONE, A. L., QUIÑONES-HINOJOSA, A. & SEARSON, P. C. 2016. The role of astrocytes in the progression of brain cancer: complicating the picture of the tumor microenvironment. *Tumour Biol*, 37, 61-9.
- QUACH, S., HOLZGREVE, A., KAISER, L., UNTERRAINER, M., DEKORSY, F. J., NELWAN, D. V., BARTOS, L. M., KIRCHLEITNER, S. V., WELLER, J., WEIDNER, L., NIYAZI, M., RUF, V. C., HERMS, J., STÖCKLEIN, S., WETZEL, C., RIEMENSCHNEIDER, M. J., V. BAUMGARTEN, L., THON, N., BRENDEL, M., RUPPRECHT, R., BARTENSTEIN, P., TONN, J.-C. & ALBERT, N. L. 2023. TSPO PET signal using [18F]GE180 is associated with survival in recurrent gliomas. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 50, 859-869.
- SUCHORSKA, B., ALBERT, N. L. & TONN, J. C. 2016. Usefulness of PET Imaging to Guide Treatment Options in Gliomas. *Curr Treat Options Neurol*, 18, 4.
- SZATMÁRI, T., LUMNICZKY, K., DÉSAKNAI, S., TRAJCEVSKI, S., HÍDVÉGI, E. J., HAMADA, H. & SÁFRÁNY, G. 2006. Detailed characterization of the mouse glioma 261 tumor model for experimental glioblastoma therapy. *Cancer Sci*, 97, 546-53.
- TAN, A. C., ASHLEY, D. M., LÓPEZ, G. Y., MALINZAK, M., FRIEDMAN, H. S. & KHASRAW, M. 2020. Management of glioblastoma: State of the art and future directions. *CA Cancer J Clin*, 70, 299-312.
- TONN, J. C., THON, N., SCHNELL, O. & KRETH, F. W. 2012. Personalized surgical therapy. *Ann Oncol*, 23 Suppl 10, x28-32.
- UNTERRAINER, M., FLEISCHMANN, D. F., DIEKMANN, C., VOMACKA, L., LINDNER, S., VETTERMANN, F., BRENDEL, M., WENTER, V., ERTL-WAGNER, B., HERMS, J., WETZEL, C., RUPPRECHT, R., TONN, J. C., BELKA, C., BARTENSTEIN, P., NIYAZI, M. & ALBERT, N. L. 2019. Comparison of (18)F-GE-180 and dynamic (18)F-FET PET in high grade glioma: a double-tracer pilot study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 46, 580-590.
- VAN CAMP, N., LAVISSE, S., ROOST, P., GUBINELLI, F., HILLMER, A. & BOUTIN, H. 2021. TSPO imaging in animal models of brain diseases. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*.
- VETTERMANN, F. J., UNTERRAINER, M., RUF, V., FLEISCHMANN, D. F., RUPPRECHT, R., FORBRIG, R., HERMS, J., TONN, J. C., BELKA, C., BARTENSTEIN, P., NIYAZI, M. & ALBERT, N. L. 2020. Dual PET Imaging of an H3K27M-Mutant Glioma With 18F-GE-180 and 18F-FET PET. *Clin Nucl Med*, 45, 992-993.

- WAINWRIGHT, D. A., CHANG, A. L., DEY, M., BALYASNIKOVA, I. V., KIM, C. K., TOBIAS, A., CHENG, Y., KIM, J. W., QIAO, J., ZHANG, L., HAN, Y. & LESNIAK, M. S. 2014. Durable therapeutic efficacy utilizing combinatorial blockade against IDO, CTLA-4, and PD-L1 in mice with brain tumors. *Clin Cancer Res*, 20, 5290-301.
- WELLER, M., VAN DEN BENT, M., PREUSSER, M., LE RHUN, E., TONN, J. C., MINNITI, G., BENDSZUS, M., BALANA, C., CHINOT, O., DIRVEN, L., FRENCH, P., HEGI, M. E., JAKOLA, A. S., PLATTEN, M., ROTH, P., RUDÀ, R., SHORT, S., SMITS, M., TAPHOORN, M. J. B., VON DEIMLING, A., WESTPHAL, M., SOFFIETTI, R., REIFENBERGER, G. & WICK, W. 2021. EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat Rev Clin Oncol*, 18, 170-186.
- WELLER, M., VAN DEN BENT, M., TONN, J. C., STUPP, R., PREUSSER, M., COHEN-JONATHAN-MOYAL, E., HENRIKSSON, R., LE RHUN, E., BALANA, C., CHINOT, O., BENDSZUS, M., REIJNEVELD, J. C., DHERMAIN, F., FRENCH, P., MAROSI, C., WATTS, C., OBERG, I., PILKINGTON, G., BAUMERT, B. G., TAPHOORN, M. J. B., HEGI, M., WESTPHAL, M., REIFENBERGER, G., SOFFIETTI, R. & WICK, W. 2017. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol*, 18, e315-e329.
- XIAO, A., YIN, C., YANG, C., DI CRISTOFANO, A., PANDOLFI, P. P. & VAN DYKE, T. 2005. Somatic induction of Pten loss in a preclinical astrocytoma model reveals major roles in disease progression and avenues for target discovery and validation. *Cancer Res*, 65, 5172-80.
- YOUSSEF, G., RAHMAN, R., BAY, C., WANG, W., LIM-FAT, M. J., ARNAOUT, O., BI, W. L., CAGNEY, D. N., CHANG, Y. S., CLOUGHESY, T. F., DESALVO, M., ELLINGSON, B. M., FLOOD, T. F., GERSTNER, E. R., GONZALEZ CASTRO, L. N., GUENETTE, J. P., KIM, A. E., LEE, E. Q., MCFALINE-FIGUEROA, J. R., POTTER, C. A., REARDON, D. A., HUANG, R. Y. & WEN, P. Y. 2023. Evaluation of Standard Response Assessment in Neuro-Oncology, Modified Response Assessment in Neuro-Oncology, and Immunotherapy Response Assessment in Neuro-Oncology in Newly Diagnosed and Recurrent Glioblastoma. *J Clin Oncol*, 41, 3160-3171.
- ZHANG, L., HU, K., SHAO, T., HOU, L., ZHANG, S., YE, W., JOSEPHSON, L., MEYER, J. H., ZHANG, M. R., VASDEV, N., WANG, J., XU, H., WANG, L. & LIANG, S. H. 2021. Recent developments on PET radiotracers for TSPO and their applications in neuroimaging. *Acta Pharm Sin B*, 11, 373-393.
- ZINNHARDT, B., PIGEON, H., THEZE, B., VIEL, T., WACHSMUTH, L., FRICKE, I. B., SCHELHAAS, S., HONOLD, L., SCHWEGMANN, K., WAGNER, S., FAUST, A., FABER, C., KUHLMANN, M. T., HERMANN, S., SCHAFERS, M., WINKELER, A. & JACOBS, A. H. 2017. Combined PET Imaging of the Inflammatory Tumor Microenvironment Identifies Margins of Unique Radiotracer Uptake. *Cancer Res*, 77, 1831-1841.
- ZINNHARDT, B., RONCAROLI, F., FORAY, C., AGUSHI, E., OSRAH, B., HUGON, G., JACOBS, A. H. & WINKELER, A. 2021. Imaging of the glioma microenvironment by TSPO PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*.

## Danksagung

Meinen herzlichen Dank an meine Doktormutter Prof. Dr. med. Nathalie Albert. Ihre kompetenten Anregungen und Kritiken haben die Qualität meiner Arbeit maßgeblich verbessert.

Ein weiterer spezieller Dank an meinen Betreuer PD Dr. med. Adrien Holzgreve für seine kontinuierliche Unterstützung und praktischen Ratschläge.

Zu guter Letzt auch ein Dank an die zahlreichen Personen des inspirierenden wissenschaftlichen Umfeldes, welche diese Arbeit ermöglicht haben.

In tiefer Dankbarkeit für die stetige Unterstützung meiner Eltern, Yi Ge-Gold und Wolfgang Gold, nicht nur während meiner Doktorarbeit, sondern auch während des Studiums und Arbeitsbeginns. Eure bedingungslose Liebe ist unbezahlbar und legt den Grundstein meines persönlichen und akademischen Erfolgs.