

## **FUNDING**

**Name of Journal:** *World Journal of Gastroenterology*

**Manuscript NO:** 40811

**Manuscript Type:** BASIC STUDY

**Typing of pancreatic cancer-associated fibroblasts identifies different subpopulations**

Nielsen MFB *et al.* Stromal heterogeneity in pancreatic cancer

**Michael Friberg Bruun Nielsen, Michael Bau Mortensen, Sönke Detlefsen**



Cand.scient, forskningsassistent  
Michael Friberg Bruun Nielsen  
Odense Universitetshospital  
Afdeling for Klinisk Patologi  
J. B. Winsløvs Vej 15  
5000 Odense C

26. november 2015

10-001452

## FONDSUDELINGEN 2015

Hermed overrækkes bevilling stor **100.000 kr.**

Til projektet "Den pankreatiske stellate celles betydning for udvikling og behandling af pancreas cancer".

Beløbet er indsat på den opgivne bankkonto.

Med venlig hilsen

Lisbeth C. Kureer

## BRØDRENE HARTMANN'S FOND

Cand.scient. Michael Friberg Bruun Nielsen  
Afdeling for Klinisk Patologi, Odense Universitetshospital (OUH)  
Winsløwparken 15  
5000 Odense C

Glumsø d. 15.11.2015

Med henvisning til Deres ansøgning A28308 af 30.6.2015 skal det hermed meddeles, at Fondens bestyrelse har besluttet at bevilge et beløb på

Kr. 80.000,-.

Bevillingen er øremærket til støtte af projektet "**Cancerassocierede fibroblaster og stellate celler**". Bevillingen må **kun** anvendes til dette formål; enhver ændring af formålet kræver således Fondens accept, før bevillingen vil kunne anvendes.

De bedes venligst med Deres underskrift på vedlagte kopi tilkendegive til **sekretariatets** adresse, at De er indforstået med ovenstående betingelser, hvorefter det bevilgede beløb vil blive tilstillet Dem. Vi skal i den forbindelse anmode Dem om at angive en bankkonto, hvortil det bevilgede beløb kan overføres.

Med venlig hilsen  
BRØDRENE HARTMANN'S FOND

Birgitte Hartmann  
Administrator

In duplo

ADVOKATFIRMAET  
**JON PALLE BUHL**

Sönke Detlefsen  
Afd. For Klinisk Patologi  
Odense Universitetshospital  
Winsløwsparken 15  
5000 Odense C

9. oktober 2015  
HL  
J.NR 19024005

**Vedr.: Fonden af 17-12-1981**

Det glæder mig at meddele, at bestyrelsen på sit møde den 25. september 2015 har besluttet at yde Dem et beløb stort kr. 50.000 til drift af Deres projekt vedrørende ”Cancer-associerede fibroblaster og stellate celler: Potentiale for en ny behandling af pancreascancer”.

Af hensyn til indberetning af udbetalingen bedes De venligst returnere vedlagte kopi af nærværende skrivelse forsynet med oplysning om instituttets CVR-nr., idet det er pålagt bestyrelsen at foretage indberetning til SKAT. Endvidere bedes De oplyse bankdetaljer og kontonummer, hvorefter beløbet overføres til Dem.

Med venlig hilsen



Henrik Løbger

Vedr. ansøgning om støtte fra OUHs overlægeråds forskningsfond

Kære Cand.scient., Ph.D. student Michael Friberg Bruun Nielsen

På baggrund af din ansøgning 27-A1433 har overlægerådets legatudvalg besluttet at støtte projektet "*Cancer-associated fibroblasts: Cellular targets in the treatment of pancreatic cancer?*" med i alt kr. 5.000

Evt. kommentarer fra uddelingsmødet vedr. bevillingen:

'Bevilling fra Karen S. Jensen'

**Overlægerådet vil gerne invitere dig til reception.**

**Tidspunkt:** TORSDAG d. 3. MARTS kl. 12 – 13

**Sted:** Patienthotellet, 6. sal syd.

#### **Placering af midler**

- 1) Hvis du allerede har en projektkonto på projektet bedes du sende oplysninger om projektkontonr. til Lise Ehlers på [Lise.Ehlers@rsyd.dk](mailto:Lise.Ehlers@rsyd.dk)
- 2) Skal der oprettes en ny projektkonto, bedes du kontakte OUH Forskerservice på [reg.forskerservice@rsyd.dk](mailto:reg.forskerservice@rsyd.dk)

Venligst informer din forskningsleder og forskningssekretær om bevillingen.

Denne mail kan ikke besvares. Spørgsmål kan rettes til undertegnede.

Med venlig hilsen

Maja Borg Petersen  
Sekretær  
Kvalitet, Forskning, Innovation og Uddannelse  
[maja.petersen@rsyd.dk](mailto:maja.petersen@rsyd.dk) - [www.ouh.dk](http://www.ouh.dk)  
Tlf. +45 2335 6067

OUH  
Odense Universitetshospital

Sdr. Boulevard 29, Indgang 112, 11. sal, 5000 Odense C

Tlf. +45 6611 3333

**OUH | Odense Universitetshospital | Svendborg Sygehus**

## Michael Nielsen

---

**Fra:** Helle Normann Petersen <hnpetersen@health.sdu.dk>  
**Sendt:** 18. september 2015 11:54  
**Til:** Michael Nielsen; Sönke Detlefsen  
**Cc:** Kirsten Ohm Kyvik  
**Emne:** Faculty Scholarship

Dear Michael Friberg Bruun Nielsen

We are pleased to inform you that the Faculty of Health Sciences has approved your application for a PhD Scholarship and granted you a one-year Faculty scholarship including one year's study fee. The terms of employment as a salaried PhD Research Fellow are stated in the Agreement between the Ministry of Finance and the Danish Confederation of Professional Associations (AC).

The faculty scholarship is generally given as either the first or the second of the three PhD years. We will do our best to accommodate your wishes regarding the placement of the scholarship in either of the two first years. However, please note that due to general economic considerations this may not always be possible.

This approval of your application for a faculty scholarship is valid for one year. Hence, if you have not been enrolled as a PhD student within a year from now, the approval is withdrawn without further notice. In this case you may reapply.

You and your main supervisor are asked to fill in the forms "Enrolment form" and "PhD Plan" and send them with all signatures to the PhD School. You may find the forms her:

[http://www.sdu.dk/~media/Files/Forskning/PhD/Phd\\_sundhedvidenskab/skemavejl/Enrolment\\_form.doc](http://www.sdu.dk/~media/Files/Forskning/PhD/Phd_sundhedvidenskab/skemavejl/Enrolment_form.doc) and here: [http://www.sdu.dk/~media/Files/Forskning/PhD/Phd\\_sundhedvidenskab/skemavejl/PhD\\_plan.doc](http://www.sdu.dk/~media/Files/Forskning/PhD/Phd_sundhedvidenskab/skemavejl/PhD_plan.doc)

The earliest starting date is 1 October 2015. The paperwork will take some time but this will not affect your enrolment date. For example, you may be enrolled by 1 October even though the paperwork may not be completed until late October.

On behalf of the Dean

Best regards

**Helle Normann Petersen**  
Administrative Officer, Graduate School, Faculty of Health Sciences

Tel. +45 6550 3986  
Email [hnpetersen@health.sdu.dk](mailto:hnpetersen@health.sdu.dk)  
Web <http://www.sdu.dk/studieinfo/phdhealth>  
Addr. J.B. Winsløvs Vej 19, DK-5000 Odense C, Denmark



UNIVERSITY OF SOUTHERN DENMARK.DK

Vedr. ansøgning om støtte fra Odense Universitetshospitals forskningspulje

Kære Associate Professor, Consultant Pathologist, PhD Sönke Detlefsen

På baggrund af din ansøgning 29-A1500 har Forskningsrådet ved Odense Universitetshospital besluttet at støtte projektet "*The pancreatic cancer stroma: potential target for the development of novel treatment strategies?*" med den korte titel "*Tumor stroma in pancreatic cancer*" med i alt kr. 40.330, fordelt på:

kr. 40.330 i 2016,  
kr. 0 i 2017,

Evt. kommentarer fra uddelingsmødet vedr. bevillingen:  
,,

Midlerne vil blive sat ind på en projektkonto, som du er ansvarlig for.  
Du vil snarest modtage projektkontonummeret fra ForskerService i OUHs regnskabsafdeling.

Venligst informer din forskningsleder og forskningssekretær om bevillingen.

Ikke anvendte midler vil automatisk blive genbevilliget i det efterfølgende år. Forbruget i de enkelte år må ikke overstige det årlige bevilligede budget uanset det samlede budgets størrelse.

Hvis der sker væsentlige ændringer i projektet eller projektets start bliver forsinket, skal dette meddeles Kvalitet, Forskning, Innovation og Uddannelse på [ouh.kfm.forskning@rsyd.dk](mailto:ouh.kfm.forskning@rsyd.dk).

Hvis du skal have ansat en person direkte på kontoen, eller have lønmidler overført til afdelingen, bedes du kontakte ForskerService på [reg.forskerservice@rsyd.dk](mailto:reg.forskerservice@rsyd.dk).

Forskningsrådet modtog i alt 86 ansøgninger. Der uddeles i indeværende runde kr. 4,7 mio. fordelt på 21 ansøgninger.

Opslag af puljer på OUH ses her: <http://ouh.dk/forskningsmidler>

Denne mail kan ikke besvares. Spørgsmål kan rettes til undertegnede.

Med venlig hilsen

Charlotte Horsted  
AC-fuldmægtig  
Kvalitet, Forskning, Innovation og Uddannelse



Vedr. ansøgning om støtte fra Odense Universitetshospitals forskningspulje

Kære Associate Professor, Consultant Pathologist, PhD Sönke Detlefsen

På baggrund af din ansøgning 22-A1133 har Forskningsrådet ved Odense Universitetshospital besluttet at støtte projektet "*Cancer-associated fibroblasts and stellate cells: potential for a change in pancreatic cancer treatment?*" med den korte titel "*Tumor stroma in pancreatic cancer*" med i alt kr. 155.000, fordelt på:

kr. 155.000 i 2015,  
kr. 0 i 2016,

Evt. kommentarer fra uddelingsmødet vedr. bevillingen:  
,,

Midlerne vil blive sat ind på en projektkonto, som du er ansvarlig for.  
Du vil snarest modtage projektkontonummeret fra ForskerService i OUHs regnskabsafdeling.

Venligst informer din forskningsleder og forskningssekretær om bevillingen.

Ikke anvendte midler vil automatisk blive genbevilliget i det efterfølgende år. Forbruget i de enkelte år må ikke overstige det årlige bevilligede budget uanset det samlede budgets størrelse.

Hvis der sker væsentlige ændringer i projektet eller projektets start bliver forsinket, skal dette meddeles Kvalitet, Forskning, Innovation og uddannelse på [ouh.kfm.forskning@rsyd.dk](mailto:ouh.kfm.forskning@rsyd.dk).

Hvis du skal have ansat en person direkte på kontoen, eller have lønmidler overført til afdelingen, bedes du kontakte ForskerService på [reg.forskerservice@rsyd.dk](mailto:reg.forskerservice@rsyd.dk).

Forskningsrådet modtog i alt 72 ansøgninger. Der uddeles i indeværende runde kr. 4,7 mio. fordelt på 26 ansøgninger over årene 2015-2016.

Puljen med de frie forskningsmidler bliver snart slået op igen. Opslaget vil blive sendt til samtlige forskningsledere og afdelingsledelser samt vedlagt Klinisk Instituts ugentlige nyhedsbrev. Derudover kan opslag af puljer på OUH ses her: <http://ouh.dk/forskningsmidler>

Denne mail kan ikke besvares. Spørgsmål kan rettes til undertegnede.

Med venlig hilsen

Vedr. ansøgning om støtte fra Odense Universitetshospitals forskningspulje

Kære Associate Professor, Consultant Pathologist, PhD Sönke Detlefsen

På baggrund af din ansøgning 49-A2379 til puljen med de frie forskningsmidler, er du blevet bevilliget følgende til projektet "*Subtyping of pancreatic cancer-associated fibroblasts: A novel approach using immunohistochemistry and in situ hybridization techniques*" med den korte titel "*Pancreatic cancer-related fibroblasts*"

kr. 204.000 i 2018,

Evt. kommentarer fra uddelingsmødet vedr. bevillingen:

„

Midlerne vil blive sat ind på en projektkonto, som du er ansvarlig for.

Du vil herefter modtage oplysninger fra ForskerService i Økonomi og Planlægning om, hvordan midlerne tilgås.

Venligst informer din forskningsleder og forskningssekretær om bevillingen.

**Bemærk, at der til bevillingen er følgende krav:**

1. Hvis der sker væsentlige ændringer i projektet eller projektets start bliver forsinket, skal dette meddeles Kvalitet, Forskning, Innovation og uddannelse på [ouh.kfiu.forskning@rsyd.dk](mailto:ouh.kfiu.forskning@rsyd.dk).
2. Ikke anvendte midler vil automatisk blive genbevilliget i det efterfølgende år. Forbruget i de enkelte år må ikke overstige det årlige bevilligede budget uanset det samlede budgets størrelse.
3. Bevillingen skal være anvendt senest et år efter sidste bevillingsår, jf. budgettet.
4. Evt. restbeløb skal tilbagebetales.

**Ansættelse og aflønning i projektet:**

Hvis du skal have ansat en person direkte på kontoen, eller have lønmidler overført til afdelingen, bedes du kontakte ForskerService på [reg.forsknerservice@rsyd.dk](mailto:reg.forsknerservice@rsyd.dk)

Forskningsrådet modtog i alt 89 ansøgninger. Der uddeles i indeværende runde kr. 5 mio. fordelt på 36 ansøgninger.

Opslag af puljer på OUH ses her: <http://ouh.dk/forskningsmidler>

Denne mail kan ikke besvares. Spørgsmål kan rettes til undertegnede.

Med venlig hilsen

Charlotte Horsted

AC-fuldmægtig

Kvalitet, Forskning, Innovation og Uddannelse

[charlotte.horsted@rsyd.dk](mailto:charlotte.horsted@rsyd.dk) [www.ouh.dk](http://www.ouh.dk)

Tlf. + 45 2476 3141

OUH - Odense Universitetshospital

Svendborg Sygehus

Sdr. Boulevard 29, Indgang 102, 3.sal, 5000 Odense C

Tlf. + 45 6611 3333

**OUH | Odense Universitetshospital | Svendborg Sygehus**

Kære Michael Friberg Bruun Nielsen

Vedr. ansøgning om støtte fra OUHs phd-pulje

På baggrund af ansøgning 1032 (A-nummer) af den 2015-04-15 om økonomisk støtte til ph.d har OUH's phd.-stipendieudvalg besluttet at tildele 1 års ph.d.-løn, svarende til kr. 500.000, til anvendelse i ph.d.-projektet 'Cancer-associated fibroblasts and stellate cells: potential for a change in pancreatic cancer treatment?' med den korte titel 'Fibroblasts in pancreatic cancer'.

Midlerne vil blive indsat på en projektkonto, som du er ansvarlig for.

Du vil snarest modtage projektkontonummeret fra Forskerservice i Regnskabsafdelingen.

Du bedes informere din forskningsleder og afdelingens forskningssekretær om, at du er tildelt et stipendie fra OUHs ph.d.-pulje.

Hvis du skal have overført penge fra projektet til en afdeling skal du henvende dig til ForskerService på [reg.forskerservice@rsyd.dk](mailto:reg.forskerservice@rsyd.dk).

Skal pengene overføres til SDU, skal du få SDU til at sende en regning til det EAN nr. du får oplyst fra ForskerService.

Ph.d.-stipendieudvalget modtog i alt 25 ansøgninger og der er uddelt 3 stipendier.

Eventuelle kommentarer fra bedømmerne: "Ingen"

Denne mail kan ikke besvares. Spørgsmål kan rettes til undertegnede.

Med venlig hilsen

Stine Kappel Jensen  
AC-fuldmægtig  
Afdelingen for Kvalitet og Forskning/MTV  
[stine.kappel.jensen@rsyd.dk](mailto:stine.kappel.jensen@rsyd.dk) [www.ouh.dk](http://www.ouh.dk)  
Tlf. + 45 23 35 60 25  
OUH - Odense Universitetshospital  
Svendborg Sygehus  
Sdr. Boulevard 29, Indgang 102, 3.sal, 5000 Odense C  
Tlf. + 45 6611 3333

## **Application of funding through OPAC. Department of Pathology, OUH**

### ***Introduction***

The following projects, focusing on the biology of pancreatic cancer (PC), are among the current contributions of the Department of Pathology to OPAC. They are all performed in close collaboration with Surgical Department A. The principal investigator is M.Sc., Ph.D. student Michael F.B. Nielsen (MFBN) and the main supervisor is senior consultant, assoc. prof. Sönke Detlefsen, MD, PhD.

### ***1. Is it possible to identify immunophenotypic and biologic subtypes of pancreatic cancer-associated fibroblasts?***

PC is characterized by high amounts of desmoplastic fibrotic stroma that can occupy up to 80% of the entire tumor volume (1, 2). Stroma-modulating strategies may therefore bear the potential to improve the treatment of PC patients. Until now, cancer-associated fibroblasts (CAFs) have been viewed as a homogeneous cell population (3, 4). Studies examining whether CAFs inhibit or promote tumor growth are conflicting. High "stromal activity", i.e. high numbers of  $\alpha$ -smooth muscle actin-positive CAFs in surgical specimens, had a negative prognostic impact in resected PC patients (5, 6). However, depletion of the tumor stroma and the CAF population promoted tumor growth and reduced survival in genetically-engineered mouse models (7, 8). Our hypothesis – which is based on unpublished observations and has the potential to unite the conflicting arguments - suggests that CAFs in PC are not a homogeneous population, but can be divided into two types: Juxtatumoral CAFs (j-CAFs) are located in close vicinity to the PC cells and undergo an unholy alliance with them, resulting in a cancer-promoting effect, whereas peripheral CAFs (p-CAFs) produce a fibrotic barrier, that may reduce spread of the PC cells. Since two landmark studies published in 1998, quiescent pancreatic stellate cells (qPSCs) have been believed to be the main and sole source of CAFs during the progression of PC (9, 10). We recently were the first to identify periacinar fibroblasts (pFBs) in the normal human pancreas (11). Of note, support for this perception has later been documented in animal studies (12). We further identified specific markers for qPSCs and periacinar fibroblasts (pFBs) in the normal human pancreas. We hypothesize that qPSCs mainly transform to j-CAFs, while pFBs mainly transform to p-CAFs. Furthermore, myofibroblasts in chronic pancreatitis may mainly share phenotypic similarities with p-CAFs but not with j-CAFs. The latter would bear the potential to improve the differentiation of PC from chronic pancreatitis in small EUS-guided pancreatic biopsies containing mainly fibrotic stroma. We will test these hypotheses using tissue microarrays (TMAs) with PC, autoimmune pancreatitis (AIP), alcoholic chronic pancreatitis (ACP) and obstructive chronic pancreatitis (OCP). These TMAs will be examined with immunohistochemistry, immunofluorescence microscopy (IF), double-IF and in situ hybridization (ISH) for mRNAs and miRNAs. This study aims to answer the following questions:

- 1) Is it possible to identify stromal cells in the state of transdifferentiation from qPSCs and pFBs to CAFs in PC?
- 2) Is it possible to identify immunophenotypic and biologic subtypes of CAFs in PC?
- 3) Is it possible to identify markers that enable the differentiation of PC-associated fibrosis from chronic pancreatitis-associated fibrosis in EUS-guided biopsies?

### ***2. Can biomarkers for subtypes of CAFs contribute to a more precise evaluation of response to neoadjuvant chemotherapy in pancreatic cancer?***

When evaluating the response of PC to neoadjuvant therapy (NAT) in surgical specimens it is at present impossible for the pathologist to objectively differentiate regressive fibrosis from desmoplastic fibrosis. We will compare the stromal CAF composition (j-CAFs vs p-CAFs) in PC patients with or without NAT. We will apply the same methodological principles as in project 1, using TMAs with cores of PC tissue after NAT, to clarify if NAT drives the transformation from one CAF subtype to the other. The aims of this study are to answer the following questions:

- 1) Does NAT modulate the frequency of different CAF subtypes in PC?
- 2) Is a low j-CAF / p-CAF ratio an indicator of a good response to NAT in PC?

***Budget and how MFBN will contribute to OPAC in the future.***

The funds applied for (370.500kr) will be used to cover the salary expenses for MFBN for the final 9 months of his Ph.D. programme. We consider this a long-term investment, as MFBN will apply for funding of a post. doc. programme, enabling him to continue his work within the frame of OPAC.

### **References**

1. Kadaba R, Birke H, Wang J, Hooper S, Andl CD, Di Maggio F, et al. Imbalance of desmoplastic stromal cell numbers drives aggressive cancer processes. *J Pathol.* 2013;230(1):107-17.
2. Erkan M, Adler G, Apte MV, Bachem MG, Buchholz M, Detlefsen S, et al. StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research. *Gut.* 2012;61(2):172-8.
3. Nielsen MF, Mortensen MB, Detlefsen S. [The impact of desmoplasia and pancreatic stellate cells on pancreatic cancer]. *Ugeskr Laeger.* 2015;177(34).
4. Nielsen MF, Mortensen MB, Detlefsen S. Key players in pancreatic cancer-stroma interaction: Cancer-associated fibroblasts, endothelial and inflammatory cells. *World J Gastroenterol.* 2016;22(9):2678-700.
5. Erkan M, Michalski CW, Rieder S, Reiser-Erkan C, Abiatari I, Kolb A, et al. The activated stroma index is a novel and independent prognostic marker in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2008;6(10):1155-61.
6. Sinn M, Denkert C, Striefler JK, Pelzer U, Stieler JM, Bahra M, et al. alpha-Smooth muscle actin expression and desmoplastic stromal reaction in pancreatic cancer: results from the CONKO-001 study. *Br J Cancer.* 2014;111(10):1917-23.
7. Rhim AD, Oberstein PE, Thomas DH, Mirek ET, Palermo CF, Sastra SA, et al. Stromal elements act to restrain, rather than support, pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell.* 2014;25(6):735-47.
8. Ozdemir BC, Pentcheva-Hoang T, Carstens JL, Zheng X, Wu CC, Simpson TR, et al. Depletion of carcinoma-associated fibroblasts and fibrosis induces immunosuppression and accelerates pancreas cancer with reduced survival. *Cancer Cell.* 2014;25(6):719-34.
9. Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, et al. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut.* 1998;43(1):128-33.
10. Bachem MG, Schneider E, Gross H, Weidenbach H, Schmid RM, Menke A, et al. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology.* 1998;115(2):421-32.
11. Nielsen MFB, Mortensen MB, Detlefsen S. Identification of markers for quiescent pancreatic stellate cells in the normal human pancreas. *Histochem Cell Biol.* 2017.
12. Yamamoto G, Taura K, Iwaisako K, Asagiri M, Ito S, Koyama Y, et al. Pancreatic Stellate Cells Have Distinct Characteristics From Hepatic Stellate Cells and Are Not the Unique Origin of Collagen-Producing Cells in the Pancreas. *Pancreas.* 2017;46(9):1141-51.