



Charakterisierung Wachstumsfaktor-induzierter Phänotypänderungen HPV-positiver- und -negativer Plattenepithelkarzinomzellen und β -Catenin *in vitro*. Etablierung eines Zellkulturmodells zur epithelialen-mesenchymalen Transition

Autor: Julia Joana Hoppe
Institut / Klinik: Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. J. Schultz

Kopf-Hals-Plattenepithelkarzinome (HNSCC) sind nach wie vor eine der häufigsten malignen Erkrankungen weltweit mit schlechtem Outcome. In Plattenepithelkarzinomen können Faktoren wie Tumorzellphänotyp sowie HPV-Status die Inzidenz, den Tumorprogress und die Therapiesensitivität beeinflussen.

Die epitheliale-mesenchymale Transition (EMT) bezeichnet einen Vorgang, bei dem epitheliale, adhäsive Zellen zu mesenchymalen, migrationsfähigen Zellen reversibel oder irreversibel modifiziert werden. Die EMT tritt neben der Embryogenese auch im Rahmen der Karzinogenese auf und wird für die Entwicklung eines metastasierungsfähigen Tumorzellphänotyps verantwortlich gemacht. Der Prozess der EMT ist durch die Repression epithelialer Marker wie E-Cadherin und der Hochregulation mesenchymaler Marker z. B. Vimentin, N-Cadherin gekennzeichnet. Wachstumsfaktoren wie EGF und TGF β 1 sind bekannte Induktoren der EMT. Ihre Rolle bei der tumorassoziierten EMT und der Einfluss des HPV-Status sind bisher nur ansatzweise verstanden.

Ziel der vorliegenden Promotion ist es, ein Zellkulturmodell zur Wachstumsfaktor-induzierten EMT für das HPV-assoziierte Plattenepithelkarzinom *in vitro* unter Berücksichtigung der Proteinsynthese von E-Cadherin, Vimentin und β -Catenin zu etablieren.

Hierfür stehen uns drei Zelllinien HPV-negativer Plattenepithelkarzinome (UMSCC22B, UMSCC11A, UMSCC14C) und eine Zelllinie eines HPV-positiven Plattenepithelkarzinoms (CERV196) zur Verfügung. Es erfolgt eine Zellliniencharakterisierung, die zu einer Selektion einer HPV-negativen Plattenepithelkarzinomzelllinie (UMSCC22B) und einer HPV-positiven Plattenepithelkarzinomzelllinie (CERV196) für die weiteren Untersuchungen führt. Im Gegensatz zu UMSCC22B und CERV196 ist die Linie UMSCC11A durch eine verminderte E-Cadherin- und eine vermehrte Vimentin-Expression gekennzeichnet. Unabhängig vom unterschiedlichen Ursprung repräsentieren die Zelllinien damit sowohl einen unterschiedlichen Status der Phänotyptransition als auch der HPV-Positivität.

Parameter mit potentiell Einfluss auf eine Wachstumsfaktor-induzierte EMT (Stimulationszeit, -konzentration, Zelldichte) werden nach Stimulation mit EGF/ TGF β 1 als bekannte Induktoren der EMT unter Verwendung der ELISA quantitativ analysiert und eine Standardisierung der Versuchsrahmenbedingungen festgelegt. Spezifische Modifikationen in der Proteinsynthese EMT-assoziiierter Marker (Vimentin, E-Cadherin) sowie β -Catenin werden nach EGF und EGF/ TGF β 1-Ko-Stimulation in Abhängigkeit von der Stimulationszeit (5h, 24h, 96h) unter den festgelegten Standardbedingungen quantitativ und qualitativ (ELISA, Immunzytochemie) untersucht. Es werden epigenetische Veränderungen in den verschiedenen Zelllinien unter den Gesichtspunkten möglicher EMT-assoziiierter Effekte und unter Berücksichtigung des HPV-Status bewertet.

Im Ergebnis der Untersuchungen zeigt sich, dass die Wachstumsfaktoren EGF und TGF β 1 eine EMT im HNSCC induzieren. Ein Einfluss des HPV-Status während der EMT wird vermutet, kann allerdings aufgrund der Diversität der Karzinomzelllinien nicht belegt werden. Es wird gezeigt, dass sowohl Konzentration als auch Dauer der Wachstumsfaktorstimulation einen Einfluss auf die EMT haben. Im Zellkulturmodell können Wachstumsfaktor-induzierte Phänomene durch die alleinige Wirkung von EGF, aber auch durch eine EGF/ TGF β 1-Ko-Stimulation, insbesondere in der HPV-negativen Zelllinie UMSCC22B dargestellt werden. Weitere Studien sind notwendig, um ein besseres Verständnis des EMT-Prozesses bei HPV-negativen und -positiven Tumoren, ihren Einfluss auf Tumorentstehung, -progression und Tumortherapiesensitivität zu erlangen.

Die Ergebnisse könnten dennoch zukünftig *in vivo* einen Wandel in der Risikostratifizierung und der Erstellung eines validen Risikoprofils beitragen. In Zusammenschau der Ergebnisse wird deutlich, dass eine differenzierte Betrachtung des Phänotyps und des HPV-Status der Tumorcharakterisierung und -einteilung einen wesentlichen Beitrag zur Verbesserung der Risikoabschätzung und möglicherweise auch Auswahl der therapeutischen Strategie leisten kann.