

- Zusammenfassung -

Étienne Fasolt Richard Corvin Meinert

Dr. med.

Regulation and Function of Estrogen Receptor beta Related Signalling in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Jochen Heß

Plattenepithelkarzinome von Kopf und Hals sind die 6. häufigsten Malignome mit rund 900.000 neuen Fällen pro Jahr. Mögliche Therapieoptionen sind Operation, Radiotherapie und Chemotherapie oder systemische Therapie, welche in den letzten Jahren auch Immuncheckpoint-Inhibitoren beinhaltet. Obgleich über dieses Thema in großem Umfang geforscht wird, hat sich die Prognose nicht erheblich verbessert. Bedenkt man die anatomischen Zusammenhänge in der Kopf- Halsregion, sind Behinderungen und eingeschränkte Lebensqualität ein bedeutendes Problem. Aus diesen Gründen ist weitere Forschung auf dem Gebiet vonnöten, um die Behandlungsergebnisse in Zukunft zu verbessern. Arbeiten aus unserem Labor bezüglich Radioresistenz von Kopf-Hals-Tumoren konnten zeigen, dass ein Opiorphin, genannt submaxillary gland androgen related protein 3a in Verbindung mit Estrogen Rezeptor beta mit Radioresistenz und schlechter Prognose assoziiert ist. Doch die eigentliche Rolle von Estrogen Rezeptor beta ist bisher noch nicht verstanden. Daher soll diese Studie die Rolle von Estrogen Rezeptor beta in Kopf-Hals-Tumoren umfassend untersuchen. Eine Datenbank, genannt the cancer genome atlas, welche umfangreiche Daten zu über 500 Fällen von Plattenepithelkarzinom der Kopf-Hals-Region

enthält, wurde für die Analysen genutzt. Patienten, deren Tumore ein hohes oder niedriges Level von Estrogen Rezeptor beta Transkript aufwiesen, zeigten keine signifikanten Überlebensunterschiede. Mittels sogenannter gene set variation analysis und unsupervised heatmap clustering konnte man im Vergleich von Patienten mit hoher oder niedriger Estrogen Rezeptor beta Expression ein klares Muster erkennen. Es gab 3 Cluster, eines enthielt zu überwiegendem Anteil Patienten mit hoher Estrogen Rezeptor beta Expression, eines enthielt vor allem Patienten mit niedriger Expression und das dritte Cluster war intermediär. Die Cluster zeigten eine differenzielle Akkumulation verschiedener Gen Sets, was auf funktionelle Unterschiede hinweist. Aus diesem Grund wurde angenommen, dass die Cluster Tumore mit hoher, niedriger oder intermediärer Aktivität von Estrogen Rezeptor beta repräsentieren. Patienten mit hoher Aktivität zeigten ein significant schlechteres Überleben als Patienten mit niedriger Aktivität. Auch verschiedene klinische Parameter unterschieden sich zwischen den Clustern. Patienten mit hoher Aktivität zeigten ein tendenziell höheres Grading und waren häufiger in Larynx und Pharynx lokalisiert. Patienten mit niedriger Aktivität zeigten eher ein geringeres Grading und waren eher in der Mundhöhle lokalisiert. Differenziell exprimierte Gene, Mutationsdaten und Copy Number Variations wurden analysiert. Patienten mit hoher Aktivität zeigten eine Überrepresentation von Signalwegen und Genen, die mit epithelial-to-mesenchymal transition assoziiert sind. Patienten mit niedriger Aktivität zeigten eher Anzeichen für einen epithelialen Phänotyp. Um diese Ergebnisse zu validieren wurde ein multinomiales Regressionmodell etabliert, welches die Aktivität von Estrogen Rezeptor beta vorhersagt, indem Tumore auf der Basis der Expression von 22 Genen zu einem der Cluster zugeordnet werden. Das Modell zeigte eine gute interne Validität. Wenn man die verschiedenen Gen-Expressions-Plattformen berücksichtigt, war auch die externe Validierung zufriedenstellend. Mithilfe dieses Modells wurden Zelllinien vom Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals Region und verwandter Tumor-Entitäten klassifiziert und die Sensitivität

gegenüber einer Reihe von Chemotherapeutika untersucht. Zelllinien mit hoher vorhergesagter Estrogen Rezeptor beta Aktivität waren sensitiv gegen Brivanib oder Pilaralisib. Zelllinien mit geringer vorhergesagter Estrogen Rezeptor beta Aktivität waren sensitiv gegen Cetuximab, Navitoclax oder Afatinib. Verschiedene Zelllinien von Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region wurden in vitro hinsichtlich der Expression von Estrogen Rezeptor beta untersucht. Es zeigte sich eine Heterogenität bezüglich Expressionslevel und Lokalisation, sodass von kontextabhängiger Aktivität ausgegangen werden kann. In der Annahme, Estrogen Rezeptor beta sei in die Therapieresistenz dieser Plattenepithelkarzinome involviert, wurden verschiedene cytotoxische Behandlungen dieser Zelllinien durchgeführt, um einen Einfluss auf die Expression des Rezeptors zu untersuchen. Obgleich keine relevanten Expressionsunterschiede gefunden werden konnten, erkannte man, dass der Rezeptor nach diesen Behandlungen proteolysiert worden war. Verschiedene einander untermauernde Experimente konnten zeigen, dass Estrogen Rezeptor beta von Caspase-3 gespalten wird. Die funktionellen Folgen dieser proteolytischen Reaktion konnten aufgrund des Umfangs dieser Studie nicht genauer untersucht werden. Es gibt aber Studien, die darauf hinweisen, dass dieser Mechanismus eine kritische Rolle bei der Stabilisierung und möglicherweise Aktivierung des Rezeptors einnimmt. Die Aussagekraft der Studie ist limitiert. Ein großer Teil basiert auf retrospektiver insilico-Analyse. Auch die Ergebnisse von in-vitro-Experimenten bedürfen einer Überprüfung in-vivo und möglicherweise in klinischen Studien. Zusammenfassend liefert diese Studie umfangreiche Einblicke in die Rolle von Estrogen Rezeptor beta in Plattenepithelkarzinomen der Kopf-Hals-Region. Es wird gezeigt, dass der Rezeptor mit schlechter Prognose assoziiert ist und zeigt potenzielle Signalwege, die an diesem Mechanismus beteiligt sind. Besonders der Mechanismus der Spaltung durch Caspase-3 scheint in diesem Kontext vielversprechend und verlangt nähere Untersuchungen.