

Silvia Barbosa  
Dr. sc. Hum.

## **The Role of SOX2 and SOX9 as Regulatory Genes of the Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Microenvironment**

Fach/Einrichtung: Hals-Nasen-Ohrenheilkund

Doktorvater: Prof. Dr. Jochen Heß

Das Plattenepithelkarzinom des Kopfes und Halses (HNSCC) ist eine sehr heterogene Erkrankung mit einem sehr unterschiedlichen Ausgang für die Patienten. Epigenetische Regulationen der Transkriptionsfaktoren SOX2 und SOX9 wurden mit der Modulierung der Plastizität von Krebszellen in Verbindung gebracht. Darüber hinaus belegen zahlreiche Studien einen Zusammenhang zwischen einer veränderten Expression beider Transkriptionsfaktoren und der Fähigkeit, sich der Immunüberwachung zu entziehen, Behandlungsresistenz zu entwickeln und die Metastasierung zu fördern. Die molekularen Mechanismen, die an der Regulierung von SOX2/SOX9 beteiligt sind und ihre klinischen Auswirkungen sind jedoch noch weitgehend unbekannt. Die Haupthypothese dieser Studie war, dass die stammzellverwandten Transkriptionsfaktoren SOX2 und SOX9 ein genregulatorisches Netzwerk modulieren und dadurch die Behandlungsreaktion von Krebszellen beeinflussen. Ziel war es, die Rolle der SOX2/SOX9-Beziehung und ihrer heterogenen Expression in Tumoren aufzuklären und herauszufinden, wie dies möglicherweise die Mikroumgebung des Tumors einschließlich der Strahlentherapie beeinflusst, was sich letztlich auf das Ansprechen der Patienten auf die Therapie auswirkt. Die Expression von SOX2 und SOX9 wurde in etablierten Krebszelllinien untersucht, die ein heterogenes Expressionsmuster für beide Transkriptionsfaktoren aufwiesen. Immunhistochemische Färbungen bestätigten ein heterogenes und inverses SOX2/SOX9-Expressionsmuster in den meisten Tumorgeweben von Patienten aus der HNC-Kohorte des Heidelberger Zentrums für Personalisierte Onkologie (HIPO). Eine bioinformatische Analyse von Transkriptomdaten aus dem The Cancer Genome Atlas for Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (TCGA-HNSCC) brachte Kandidatengene ans Licht, die die inverse SOX2/SOX9-Expression regulieren oder deren Folge sein könnten. Die Ingenuity Pathway Analysis für ausgewählte Kandidatengene ergab, dass die TGF- $\beta$ -Signalübertragung einer der wichtigsten kanonischen Signalwege ist, die mit der inversen SOX2/SOX9-Expression zusammenhängen. Die Analyse der klinischen Daten von TCGA-HNSCC bestätigte, dass HPV-negative HNSCC mit einem hohen SOX2- und einem niedrigen

SOX9-Expressionsmuster ein verbessertes Gesamtüberleben aufweisen, wenn eine Strahlentherapie Teil der Behandlung ist. In Übereinstimmung mit den klinischen Daten verringerte die Ausschaltung von SOX2 in der OSCC-Zelllinie HNO223 deren Überlebensfähigkeit sowohl nach einer einmaligen als auch nach fraktionierter Bestrahlung. Eine detailliertere molekulare Charakterisierung etablierter HNSCC-Zelllinien zeigte einen Trend zu einer reduzierten SOX2-Expression, aber erhöhte SOX9-Proteinspiegel bei bestrahlten Krebszellen im Vergleich zu den Kontrollen. Eine Zunahme der INHBA-Expression war nach der Bestrahlung ebenfalls zu beobachten, was das von der bioinformatischen Analyse vorhergesagte Modell unterstützt (positive Assoziation zwischen TGF-Signalen und einem SOX2-niedrigen/SOX9-hohen Phänotyp).

Um zu untersuchen, ob SOX2 die Anfälligkeit von Krebszellen für den Angriff von Immunzellen nach der Bestrahlung moduliert, wurden Co-Kulturtests mit mononukleären Zellen aus peripherem Blut durchgeführt, die die Beteiligung eines komplexeren Netzwerks an der Regulierung von Immuneffektoren zeigten. Um den mutmaßlichen Zusammenhang zwischen der SOX2/SOX9-Expression in Tumorzellen und dem Tumorummunmilieu in Patientenproben zu untersuchen, wurden einzelne, aus Primärtumoren dissoziierte Zellen auf die Expression von Markern von Pan-Leukozyten und natürlichen Killerzellen untersucht. Die Analyse ergab ein erhöhtes Vorkommen von Immunzellen in der Tumorprobe im Vergleich zu abgestimmtem nicht-malignem Nachbargewebe. Die immunhistochemische Färbung für SOX2 und SOX9 bestätigte deren heterogenes Expressionsmuster auch in diesen angepassten pathologischen Proben. Weitere Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen SOX2/SOX9 und dem Immunmilieu des Tumormaterials von Patienten müssen durchgeführt werden, um die oben genannten Ergebnisse mit dem Behandlungsergebnis in Beziehung zu setzen. Die jüngsten Ergebnisse zeigen, dass SOX2 und SOX9 eine Reihe von Signaturgenen vorhersagen, die die Radioresistenz modulieren können und dass der TGF- $\beta$ -Signalweg einer der wichtigsten kanonischen Signalwege ist, die bei der Überexpression der Kandidatengene eine Rolle spielen. Diese Ergebnisse ebnen den Weg für weitere Untersuchungen, bei denen diese Transkriptionsfaktoren zur Vorhersage von Ergebnissen bei Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Kopfes und Halses verwendet werden könnten.