

# **Oncogenic KRAS-induces necroptotic priming of pancreatic neoplasia**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

Dr. rer. nat

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln



Köln, 2023

vorgelegt von

Sofya Tishina

# Abstract

Caspase 8 regulates normal tissue homeostasis by executing apoptosis and protecting from necroptosis. Several aggressive cancers express high levels of caspase 8, yet its function in neoplastic disease remains poorly explored. Here, we find that oncogenic KRAS-driven neoplastic transformation induces upregulation of Ripk3 and MLKL – proteins which form part of the necroptosis machinery, but necroptosis itself is kept in check by co-upregulation of caspase 8.

Mice in which caspase 8 is deleted in the pancreas manifested a drastic decrease in precursor lesion formation in a KRAS<sup>G12D</sup>-driven model of pancreatic cancer. Co-deletion of the essential necroptosis effector MLKL reversed the protective effects of caspase 8 ablation and promoted metastasis. Mechanistically, oncogenic KRAS induced a STING-dependent type I interferon response, resulting in upregulation of components of the necroptosis pathway. High caspase 8 expression in precursor lesions was a result of co-selection to prevent necroptosis. Therefore, triggering necroptosis by blocking caspase 8 activity was therapeutically highly efficacious in models of genetically engineered PDAC *in vivo*. These results assign a tumour-protective function to caspase 8 in PDAC and show that overcoming caspase 8 activity has therapeutic benefit in this incurable malignancy.

Thus, in this study, we have discovered an upregulation of necroptosis machinery, which we refer to as "necroptotic priming," in the context of mutated KRAS expression. This discovery indicates that upon oncogenic KRAS-driven necroptotic priming, cancer cells and not healthy cells become more susceptible to necroptosis induction. Given that KRAS is one of the most commonly occurring oncogenes in human cancers, we have uncovered a potential target for therapeutic intervention. Importantly, we have successfully demonstrated this vulnerability in pancreatic neoplasia, a cancer type that has historically posed significant treatment challenges.

# Abstract

Caspase-8 reguliert die normale Gewebekomöostase, indem sie Apoptose ausführt und vor Nekroptose schützt. Mehrere aggressive Tumorerkrankungen exprimieren hohe Mengen an Caspase-8, ihre Funktion in neoplastischen Erkrankungen ist jedoch bislang nur unzureichend untersucht. In dieser Arbeit zeigen wir, dass eine durch onkogenes KRAS getriebene neoplastische Transformation zu einer Hochregulation von Ripk3 und MLKL führt – Proteinen, die Teil der Nekroptose-Maschinerie sind –, während die Nekroptose selbst durch eine gleichzeitige Hochregulation von Caspase-8 unterdrückt wird.

Mäuse, bei denen Caspase-8 im Pankreas deletiert wurde, zeigten in einem KRAS<sup>G12D</sup>-getriebenen Modell des Pankreaskrebses eine drastische Reduktion der Bildung von Vorläuferläsionen. Die gleichzeitige Deletion des essenziellen Nekroptose-Effektors MLKL hob die protektiven Effekte der Caspase-8-Ablation auf und förderte die Metastasierung. Mechanistisch induzierte onkogenes KRAS eine STING-abhängige Typ-I-Interferon-Antwort, die zu einer Hochregulation von Komponenten des Nekroptose-Signalwegs führte. Die hohe Caspase-8-Expression in Vorläuferläsionen war das Ergebnis einer Koselektion zur Verhinderung der Nekroptose. Dementsprechend erwies sich die Auslösung von Nekroptose durch Blockade der Caspase-8-Aktivität in vivo in Modellen des genetisch veränderten pankreatischen dukalen Adenokarzinoms (PDAC) als therapeutisch hochwirksam. Diese Ergebnisse weisen Caspase-8 eine tumorsuppressive Funktion im PDAC zu und zeigen, dass die Überwindung der Caspase-8-Aktivität einen therapeutischen Nutzen bei dieser bislang unheilbaren malignen Erkrankung besitzt.

Zusammenfassend haben wir in dieser Studie eine Hochregulation der Nekroptose-Maschinerie im Kontext mutierter KRAS-Expression identifiziert, die wir als „necroptotic priming“ bezeichnen. Diese Entdeckung deutet darauf hin, dass infolge eines durch onkogenes KRAS vermittelten nekroptotischen Primings Tumorzellen – im Gegensatz zu gesunden Zellen – eine erhöhte Anfälligkeit für die Induktion von Nekroptose aufweisen. Da KRAS eines der am häufigsten vorkommenden Onkogene in humanen Krebserkrankungen ist, haben wir damit ein potenzielles Ziel für therapeutische Interventionen identifiziert. Wichtig ist, dass wir diese Verwundbarkeit erfolgreich in pankreatischer Neoplasie demonstrieren konnten, einem Tumortyp, der historisch mit erheblichen therapeutischen Herausforderungen verbunden ist.