

Teresa Boesl - Tumor cell-derived vesicles modify the phenotype of fibroblasts in Hodgkin lymphoma

Tag der mündlichen Prüfung: 29.11.2016

Keywords: extracellular vesicles, exosomes, Hodgkin lymphoma, fibroblasts, cancer-associated fibroblasts, TNF-alpha, NFkB

Interzelluläre Kommunikation spielt eine wichtige Rolle in der Krebsentstehung und in ihrem Verlauf. Das Zusammenspiel der Zellen erfolgt durch direkten Zell-Zell Kontakt oder lösliche Faktoren. Extrazelluläre Vesikel (EVs) kristallisieren sich als neue Mitwirkende bei diesen Wechselwirkungen *in trans* heraus, indem sie funktionelle Moleküle wie Proteine, mRNA und microRNAs (miRNAs) zu ihren Empfängerzellen transportieren. Gegenstand neuester Studien sind vor allem EVs aus Tumorzellen. Ihnen werden vielseitige Effekte auf die molekularen Mechanismen der Krebsbiologie zugeschrieben und ihr Einfluss reicht von der Krebsentstehung über die Proliferation der Zellen bis zum Fortschreiten der Krankheit. Das Hodgkin Lymphom (HL) eignet sich als Model für die Erforschung dieser Wechselwirkungen besonders gut. Denn neben den zahlreichen nicht-malignen Immunzellen und Stromazellen, wie z.B. Fibroblasten, sind die malignen Zellen klar in der Minderheit und haben zudem oft keinen direkten Kontakt, um miteinander zu interagieren.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass EVs die Interaktion von HL Zellen und Fibroblasten beeinflussen. Aus Tumorzellen isolierte EVs (HL EVs) zeigten bona fide Eigenschaften von Vesikeln und wurden von Fibroblasten aufgenommen. Dadurch konnten sie in den Zielzellen einen inflammatorischen Phänotyp erzeugen, der dem Krebs-assoziierten Fibroblasten sehr nahe kommt. So zeigten Fibroblasten nach Aufnahme von HL EVs ein gesteigertes Migrationsverhalten und bildeten durch die Sezernierung von inflammatorischen Zytokinen ein Tumor-förderndes Sekretom. Darüber hinaus enthielt dieses Sekretom Wachstumsfaktoren und Angiogenese-fördernde Faktoren und hatte so weiteren Einfluss auf zelluläre Signalwege und Netzwerke. Es konnte gezeigt werden, dass HL EVs

TNF- $\alpha$  mRNA transportieren und dies korrelierte mit einem Anstieg der TNF- $\alpha$  mRNA und Protein in Fibroblasten. Die Aufnahme der HL EVs führte zur Induktion des NF $\kappa$ B-Signalweges und zu einer erhöhten Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine, die einen weiteren Beitrag zum Tumorfördernden Mikromilieu leisteten.

So steuern aus Tumorzellen isolierte EVs den Phänotyp von Fibroblasten und induzieren protumorigene Eigenschaften. Diese Erkenntnisse tragen zu einem besseren Verständnis der komplexen Interaktionen in der Modelzentität des HL bei und das erweiterte Wissen über EVs kann somit möglicherweise helfen, neue Methoden zur Krebsbekämpfung zu entwickeln.

Inter-cellular communication plays an important role in cancer initiation and progression and is mediated by secreted molecules including growth factors and cytokines. The interplay of cells depends on direct cell-cell contact and soluble factors. Extracellular vesicles (EVs) emerge as new players enabling a cross-talk *in trans* by shuttling functional molecules including proteins, mRNA and microRNAs (miRNAs) to recipient cells. Especially cancer cell-derived EVs are a subject of recent studies, since they seem to have tremendous effects on the molecular mechanisms of cancer biology and play a role in tumor development, survival and progression. Hodgkin lymphoma (HL) is an ideal model to study these interactions, since the malignant cells are greatly outnumbered by non-malignant immune and stromal cells and are often not in close proximity to directly interact with each other.

Here, EVs were identified as important vehicles for the interaction between HL cells and fibroblasts. Tumor cell-derived EVs (HL EVs) exhibited bona fide characteristics of vesicles and were taken up by fibroblasts. Thereby, the vesicles were able to induce an inflammatory phenotype in the target cells, which resembled the phenotype of cancer-associated fibroblasts (CAFs). As a result, the activated fibroblasts showed enhanced migrational behavior and secretion of inflammatory cytokines. The altered secretome of fibroblasts after HL EV exposure was characterized by pro-inflammatory

cytokines, growth factors and angiogenesis stimulating factors, further impacting on cellular signaling pathways and networks. It was demonstrated that HL-derived vesicles transport TNF- $\alpha$  mRNA, which correlated with increasing TNF- $\alpha$  mRNA and protein in fibroblasts upon HL EV exposure. The uptake of HL EVs caused induction of NF $\kappa$ B-signaling and induced enhanced secretion of pro-inflammatory cytokines, which may further contribute to a tumor-supportive microenvironment (ME).

Hence, tumor cell-derived EVs modify the phenotype of fibroblasts and induce tumor-promoting characteristics. These findings contribute to a better understanding of the complex interactions in the model entity HL and therefore, the extended knowledge about EVs might help to develop novel tools to combat cancer.