

Investigating the Role of STING and ZBP1 in the Tumorigenesis of Non-Small Cell Lung Cancer (Abstract)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität zu Köln



vorgelegt von
Hoang Son Luu
aus Berlin

Köln, 2025

Berichterstatter:

Prof. Dr. Manolis Pasparakis

Prof. Dr. Hamid Kashkar

Prof. Dr. Jan Riemer

Tag der mündlichen Prüfung: 24.07.2025

Zusammenfassung

Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom (NSCLC) stellt die häufigste Form von Lungenkrebs dar und zählt weltweit zu den führenden Ursachen krebsbedingter Mortalität. Entzündliche Prozesse und regulierte Zelltodmechanismen, insbesondere jene, die durch die angeborenen Immunrezeptoren STING („Stimulator of Interferon Genes“) und ZBP1 („Z-DNA Binding Protein 1“) vermittelt werden, konnten als zentrale Modulatoren von Tumor-Immunsystem-Interaktionen und potenzielle therapeutische Ziele identifiziert werden. Diese Dissertation untersucht die funktionelle Bedeutung von STING und ZBP1 im Rahmen der NSCLC-Entwicklung mithilfe gentechnisch veränderter Mausmodelle, die den KRAS-getriebenen, p53-defizienten Subtyp der menschlichen Erkrankung nachbilden.

Umfassende genetische Ausschaltungsstudien ergaben, dass weder STING noch ZBP1 für die Initiierung, das Wachstum oder die Progression von NSCLC erforderlich sind. Fortschreitende MRT-basierte Verlaufskontrolle und Überlebensanalysen zeigten, dass der Verlust beider Gene die Tumorlast oder das Gesamtüberleben im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht signifikant beeinflusst. Zudem konnte die pharmakologische Induktion von DNA-Schäden durch den PARP-Inhibitor Olaparib, welcher die cytosolische DNA erhöht und somit theoretisch die STING-ZBP1-Signalwege aktivieren könnte, keinen genotypabhängigen Effekt auf das Tumorwachstum oder das therapeutische Ansprechen nachweisen.

Zur weiteren Beurteilung des therapeutischen Potenzials entzündlicher Zelltodmechanismen wurde ein Modell der erzwungenen intratumoralen Expression von konstitutiv aktiviertem ZBP1 (ZBP1ca) etabliert. Während ZBP1ca *in vitro* eine ausgeprägte nekroptotische Zelltötung auslöst, hatte dessen Expression in etablierten Tumoren *in vivo* keinen Einfluss auf Wachstum, Morphologie oder Überleben – selbst bei Kombination mit Immuncheckpoint-Blockade (anti-PD1) oder angeborener Immunstimulation (anti-CD40/Poly(I:C)). Western-Blot-Analysen konnten am Endpunkt kein ZBP1ca-Protein nachweisen, was ineffiziente Expression, rasche Elimination sterbender Zellen oder eine tumorintrinsic Resistenz gegen Nekroptose nahelegt.

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass durch STING und ZBP1 vermittelte entzündliche Zelltodwege im KRAS/p53-mutierten NSCLC-Kontext für die Tumorprogression entbehrlich sind. Die Daten unterstreichen die Bedeutung tumorintrinsic Resistenzmechanismen und des immunologisch „kalten“ Tumormikromilieus, das die Wirksamkeit immunogener Zelltodtherapien limitiert. Zukünftige Strategien sollten darauf abzielen, diese Barrieren durch Kombinationstherapien zu überwinden, die die Immunaktivierung steigern und Tumoren gegenüber reguliertem Zelltod sensibilisieren.

Abstract

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is the most prevalent form of lung cancer and remains a leading cause of cancer-related mortality worldwide. Inflammation and regulated cell death pathways, particularly those mediated by the innate immune sensors STING (stimulator of interferon genes) and ZBP1 (Z-DNA binding protein 1), have emerged as key modulators of tumor-immune interactions and potential therapeutic targets. This dissertation investigates the functional roles of STING and ZBP1 in NSCLC development using genetically engineered mouse models that recapitulate the KRAS-driven, p53-deficient subtype of human disease.

Comprehensive genetic ablation studies revealed that neither STING nor ZBP1 is essential for NSCLC tumor initiation, growth, or progression. Longitudinal MRI-based monitoring and survival analysis demonstrated that the loss of either gene did not significantly alter tumor burden or overall survival compared to controls. Furthermore, pharmacological induction of DNA damage with the PARP inhibitor olaparib, which increases cytosolic DNA and could theoretically activate STING-ZBP1 signaling, failed to unmask any genotype-dependent effects on tumor growth or therapeutic response.

To further assess the therapeutic potential of inflammatory cell death, the dissertation employed a model of enforced intratumoral expression of constitutively active ZBP1 (ZBP1ca). While ZBP1ca robustly induced necroptotic cell death *in vitro*, its expression in established tumors did not impact tumor growth, morphology, or survival *in vivo*, even when combined with immune checkpoint blockade (anti-PD1) or innate immune stimulation (anti-CD40/Poly(I:C)). Western blot analysis failed to detect ZBP1ca protein in tumor lysates at endpoint, suggesting either inefficient expression, rapid clearance of dying cells, or tumor-intrinsic resistance to necroptosis.

Collectively, these results demonstrate that STING- and ZBP1-mediated inflammatory cell death pathways are dispensable for NSCLC progression in the KRAS/p53-mutant context. The findings highlight the profound impact of tumor-intrinsic resistance mechanisms and the immunologically “cold” tumor microenvironment characteristic of NSCLC, which may limit the efficacy of immunogenic cell death-based therapies. Future strategies should focus on overcoming these barriers through combination approaches that enhance immune activation and sensitize tumors to regulated cell death.