

Análisis clínico y funcional del factor de transcripción SOX9 en cáncer colorrectal

Erik Lizárraga-Verdugo^a, César López-Camarillo^b, Mercedes Bermúdez^a, Rosalío Ramos-Payán^a, Geovanni Romero-Quintana^a, Maribel Aguilar-Medina^{a,*}

^aFacultad de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa. CP 80010, Culiacán, Sinaloa, México.

^bLaboratorio de Oncogenómica y Proteómica del cáncer. Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

*maribelaguilar@uas.edu.mx

Palabras clave: SOX9, factor de transcripción, cáncer colorrectal.

Introducción

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los cánceres más comunes en todo el mundo, con 1,8 millones de casos y 862.000 muertes solo en 2018¹. El desarrollo del CCR es un proceso multifactorial y de múltiples pasos que incluye diferentes modificaciones genómicas y epigenéticas. La mayoría de los casos son esporádicos y se desarrollan lentamente durante una década a través de la secuencia adenoma-carcinoma². SOX9 es un factor de transcripción importante en el mantenimiento de la homeostasis del colon³. No obstante, SOX9 se ha reportado como oncogén y ha sido relacionado con la promoción de la proliferación, la inhibición de la senescencia y la colaboración con otros oncogenes en el desarrollo del cáncer. Sin embargo, SOX9 se ha propuesto como un marcador de la progresión del cáncer y/o la determinación del nivel de diferenciación tumoral, a través de la regulación de CDX2 y MUC2 mediante β -catenina en CCR. Además, las investigaciones correlacionan altos niveles de SOX9 con mal pronóstico en CCR³.

Metodología

Se analizó la expresión de SOX9 de un total de 97 biopsias de pacientes con CCR de estadio I y II mediante inmunohistoquímica. Se evaluó la expresión de SOX9 a nivel transcripcional en líneas. Se realizó el silenciamiento de SOX9 en la línea HCT 116 mediante lipofección utilizando 30 nM de Silencer Select siRNA para SOX9, corroborado 24 h post-transfección por RT-qPCR e inmunofluorescencia. Para el ensayo de formación de esferoides, se sembraron 4×10^4 HCT 116 y HCT 116siSOX9 por pozo en placas de ultra baja adherencia. Al cabo de 72 h los esferoides fueron evaluadas a 10X por microscopía. El análisis de las variables categóricas se comparó mediante la prueba de chi-cuadrado y para las variables continuas, se realizó una prueba t y ANOVA.

Resultados y discusión

La sobre expresión de SOX9 se presentó en el 47% de los tumores con mayor expresión en pacientes <40 años ($p < 0,046$), sugiriendo que SOX9 es importante para la carcinogénesis de colon de inicio temprano. Recientemente el CCR se ha detectado en personas más jóvenes, aumentando un 2% cada año⁴. No obstante, en otros reportes, la edad y los niveles de expresión de SOX9 no se asociaron⁵, lo cual pudiese estar relacionado con el trasfondo genético de la población de estudio y la heterogeneidad existente en los tumores. Además, la sobre expresión se asoció positivamente con la localización del tumor en el lado derecho ($p < 0,048$). Otras características como el estadio de la enfermedad y grado de tumor también se encontraron relacionada con la alta expresión de SOX9, principalmente con estadio II y grado T3 de CCR respectivamente ($p < 0,001$) sugiriendo la participación de

SOX9 en la progresión, tamaño y extensión del tumor. Finalmente, el 12% de los pacientes recayeron, curiosamente, de los pacientes con recaída local (58%), todos mostraron tumores con altos niveles de expresión de SOX9. Los niveles de expresión de SOX9 no se asociaron con la probabilidad de supervivencia en pacientes globales ($p < 0,66$) ni en pacientes con recaída ($p < 0,21$). La capacidad de formación de colonosferas se afectó tras el silenciamiento de SOX9, afectando la cantidad, el tamaño y la integridad de las mismas. La disminución en la expresión SOX9 resulta en la pérdida de resistencia a anoikis, además, es un factor de transcripción importante para mantener la adhesión a través de marcadores de superficie⁶⁻⁸.

Conclusiones

Este es el primer estudio que evalúa la expresión de SOX9 en pacientes mexicanos con diagnóstico de CCR en estadio temprano. La expresión alta de SOX9 parece jugar un papel importante en la tumorigénesis y se asocia con estadios T avanzados de pacientes en estadio clínico II, pero no con recaída o supervivencia libre de enfermedad.

Participación de los autores

E.R.L.; Trabajo experimental
M.A.M. y C.L.C.; Directores de tesis
M.B y R.R.P.; Análisis de datos
R.R.P. y G.R.Q.; Análisis estadístico

Referencias

1. Bray, F.; Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Siegel, R. L.; Torre, L. A.; Jemal, A., Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2018**, *68* (6), 394-424.
2. Munro, M. J.; Wickremesekera, S. K.; Peng, L.; Tan, S. T.; Itinteang, T., Cancer stem cells in colorectal cancer: a review. *J Clin Pathol* **2018**, *71* (2), 110-116.
3. Bastide, P.; Darido, C.; Pannequin, J.; Kist, R.; Robine, S.; Marty-Double, C.; Bibeau, F.; Scherer, G.; Joubert, D.; Hollande, F.; Blache, P.; Jay, P., Sox9 regulates cell proliferation and is required for Paneth cell differentiation in the intestinal epithelium. *J Cell Biol* **2007**, *178* (4), 635-48.
4. Mauri, G.; Sartore-Bianchi, A.; Russo, A. G.; Marsoni, S.; Bardelli, A.; Siena, S., Early-onset colorectal cancer in young individuals. *Mol Oncol* **2019**, *13* (2), 109-131.
5. Lü, B.; Fang, Y.; Xu, J.; Wang, L.; Xu, F.; Xu, E.; Huang, Q.; Lai, M., Analysis of SOX9 expression in colorectal cancer. *Am J Clin Pathol* **2008**, *130* (6), 897-904.
6. Scott, C. E.; Wynn, S. L.; Sesay, A.; Cruz, C.; Cheung, M.; Gomez Gaviro, M. V.; Booth, S.; Gao, B.; Cheah, K. S.; Lovell-Badge, R.; Briscoe, J., SOX9 induces and maintains neural stem cells. *Nat Neurosci* **2010**, *13* (10), 1181-9.

7. Ma, X. L.; Hu, B.; Tang, W. G.; Xie, S. H.; Ren, N.; Guo, L.; Lu, R. Q., CD73 sustained cancer-stem-cell traits by promoting SOX9 expression and stability in hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol* **2020**, *13* (1), 11.

8. Kim, Y. N.; Koo, K. H.; Sung, J. Y.; Yun, U. J.; Kim, H., Anoikis resistance: an essential prerequisite for tumor metastasis. *Int J Cell Biol* **2012**, *2012*, 306879.