



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Charakterisierung der MAPK1/2-modulierenden Aktivität BCR-ABL-gerichteter Tyrosinkinaseinhibitoren in murinen hämatopoetischen Zelllinien

Autor: Thomas Klag
Institut / Klinik: III. Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. Paul La Rosée

Die Prognose der chronischen myeloischen Leukämie (CML) hat sich mit der Einführung des BCR-ABL-gerichteten Tyrosinkinaseinhibitors (TKI) Imatinib (Glivec[®]) dramatisch verbessert. Persistierende minimale Resterkrankung, sowie das Auftreten primärer und sekundärer Resistenz gegenüber Imatinib und den Zweitgenerations-Inhibitoren Nilotinib (Tasigna[®]) und Dasatinib (Sprycel[®]) stellen jedoch eine therapeutische Herausforderung dar. BCR-ABL-abhängige Resistenzmechanismen wie Punktmutationen in der Kinasedomäne sowie die BCR-ABL-Amplifikation sind gut verstandene Resistenzmechanismen. Die BCR-ABL-unabhängigen Resistenzmechanismen sind heterogen. Eine zunehmend an Bedeutung gewinnende Beobachtung in diesem Zusammenhang ist die kompensatorische Aktivierung pro-mitogener und anti-apoptotischer Signalkaskaden, welche die Sensitivität einer Subpopulation BCR-ABL-positiver Stammzellen gegenüber TKI-vermittelter Apoptoseinduktion reduziert. Die hier vorgelegte experimentelle Arbeit fokussiert auf die Ras-Raf-abhängigen Serin/Threonin-Kinasen MAPK1/2, auch bekannt als Erk1/2, deren Zytokin-abhängige Aktivierung als Antwort auf BCR-ABL-Inhibition in CD34+ Stammzellen vorbeschrieben ist. Diese Beobachtung wurde in das murine hämatopoetische Zellmodell Baf3 (Baf3pSR α , Baf3p210, Baf3p210-T315I) übertragen, um die MAPK1/2-modulierenden Eigenschaften der drei klinisch verfügbaren TKIs Imatinib, Nilotinib und Dasatinib zu charakterisieren.

Dasatinib zeigt im Vergleich zu Imatinib und Nilotinib eine deutlich höhere Potenz, der Zytokin-abhängigen MAPK1/2-Aktivierung als kompensatorische Antwort auf TKI-Therapie entgegenzuwirken. Die erweiterten Zielmolekül-Interaktionen des Multikinase-Inhibitors Dasatinib scheinen hierfür ursächlich zu sein. Diese TKI-induzierte Regulierung der MAPK1/2-Aktivität findet BCR-ABL-unabhängig statt. Dies zeigen Experimente mit BCR-ABL-negativen Baf3pSR α -Zellen und Baf3p210-T315I Zellen, welche die sogenannte *gatekeeper*-Mutation T315I exprimieren. Mutation T315I in der ABL-Kinasedomäne blockiert die Bindung aller bisher verfügbaren TKIs. Imatinib und in potenzierter Weise Nilotinib führen im Gegensatz zu Dasatinib in beiden Zellmodellen zu einer dosis-abhängigen Steigerung der MAPK1/2-Aktivität. Es scheint sich somit um ein sog. *off-target*-Phänomen der TKI-Therapie zu handeln. Schlüsselbefund hierbei ist die selbst in Abwesenheit von Interleukin-3 eskalierte MAPK1/2-Stimulierung in Zellen, welche BCR-ABL-T315I exprimieren. Dieser Befund reiht sich in zahlreiche Berichte ein, welche eine differentielle onkogene Potenz dieses BCR-ABL-Subtyps vermuten lassen.

Zur Untersuchung der funktionellen Relevanz wurde die TKI-induzierte MAPK1/2-Aktivierung hinsichtlich der Resistenzvermittlung gegenüber unspezifisch wirkender Chemotherapie in Baf3p210-T315I-Zellen überprüft. Imatinib und Nilotinib, nicht aber Dasatinib zeigen antagonistische Effekte gegenüber der antiproliferativen Aktivität der hypomethylierenden Substanz Decitabine. Die gezielte Aktivität BCR-ABL-T315I- und MAPK-gerichteter kleinmolekularer Inhibitoren (MK-0457, UO-126) kann dagegen nicht durch Imatinib negativ beeinflusst werden. Dies unterstützt die Hypothese der zentralen Bedeutung aberranter MAPK-Aktivität im Kontext der hoch-resistenten BCR-ABL-Mutation T315I. Diese Arbeit ist Grundlage für weiterführende Experimente in primären TKI-resistenten Patientenzellen. Weiterhin eröffnen diese Ergebnisse neue Fragestellungen zur molekularen Regulation der MAPK-abhängigen Resistenzregulation und zur klinischen Bedeutung der differentiellen MAPK-Modulation der drei untersuchten TKIs. Antworten auf diese Fragen führen möglicherweise zu neuen molekularen Therapieansätzen mit dem Ziel der Resistenzüberwindung und somit der Heilung der chronischen myeloischen Leukämie.