

Nadine Zoé Müller

Dr. med.

Chromosomale Ursachen der CCND1-Überexpression beim Multiplen Myelom

Geboren am 08.07.1981 in Ludwigshafen am Rhein

Staatsexamen am 13.11.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik

Doktormutter: Frau Prof. Dr. sc. hum. Anna Jauch

Das Multiple Myelom ist eine maligne lymphoproliferative B-Zell-Erkrankung, die durch eine Vermehrung und Akkumulation monoklonaler Plasmazellen im Knochenmark gekennzeichnet ist. Die Erkrankung zeichnet sich aus durch eine große genomische Instabilität, die sich in einer Vielzahl numerischer und struktureller Chromosomenaberrationen widerspiegelt. Aufgrund der Assoziation verschiedener Chromosomenaberrationen lassen sich die Patienten in prognostisch relevante Subgruppen einteilen. Ziel dabei ist es, dem Patienten eine individuelle risiko-adaptierte Therapie zu ermöglichen.

Das Proto-Onkogen Cyclin D1 (CCND1), lokalisiert auf Chromosom 11q13, besitzt eine wichtige biologische Bedeutung in der Pathogenese des Multiplen Myeloms. Eine Aktivierung dieses Proto-Onkogens und die damit verbundene Überexpression kann durch unterschiedliche Mechanismen erfolgen. Auf Chromosomenebene spielen hierbei Translokationen und Amplifikationen eine wesentliche Rolle. In der vorliegenden Arbeit sollte der Zusammenhang zwischen numerischen und strukturellen Aberrationen der chromosomalen Region 11q13 und der Expressionshöhe des CCND1-Gens genauer analysiert werden.

Im ersten Teil der Dissertation wurden daher CD138⁺ Plasmazellen von 155 Multiplen Myelom-Patienten mit einer, das CCND1-Gen überspannenden, Breakapart Sonde auf ein

Rearrangement der Chromosomenregion 11q13 untersucht. Bei 37,4% (58/155) der Patienten wurde ein normal diploider Status der Region 11q13 diagnostiziert, 46,5% (72/155) der Patienten zeigten einen Zugewinn dieser Region und bei 16,1% (25/155) der Patienten wurde ein CCND1-Rearrangement in den malignen Tumorzellen nachgewiesen. Der positive Nachweis eines CCND1-Rearrangements konnte in 24 von 25 Patienten auf das Vorliegen einer Translokation t(11;14)(q13;q32.3) zurückgeführt werden. Lediglich bei einem Patienten wurde trotz positivem CCND1-Rearrangement keine Translokation t(11;14)(q13;q32) nachgewiesen. Das CCND1-Rearrangement lag jedoch nur in 14% der Plasmazellkerne vor, so dass zum jetzigen Zeitpunkt nicht sicher beantwortet werden kann, ob es sich hierbei um ein anderes CCND1-Rearrangement mit unbekanntem Translokationspartner handelt oder ob die Translokation t(11;14)(q13;q32) aufgrund des Schwellenwertes von 10% für ein signifikantes Ergebnis bei der FISH Analyse nicht diagnostiziert wurde. Hierzu sind weitere Untersuchungen an einem größeren Patientenkollektiv notwendig. Die Ergebnisse der CCND1-Breakapart Sonde der untersuchten Patienten wurden anschließend mit dem Auftreten zusätzlicher Chromosomenaberrationen (Zugewinne 1q21, 9q34, 15q22 und 19q13, Deletionen 13q14 und 17p13 sowie die Translokation t(4;14)(p16.3;q32)) korreliert. Statistisch signifikant zeigte sich hierbei eine Assoziation rekurrenter Zugewinne der Chromosomenregionen 9q34, 15q22 und 19q13 mit einem Zugewinn 11q13. Um eine klinische und prognostische Relevanz der CCND1-FISH-Ergebnisse zu analysieren, wurden diese mit den klinischen Parametern (Stadien-Einteilung (Durie und Salmon, ISS), β_2 -Mikroglobulin, Albumin, CRP, und Hämoglobin) der Patienten korreliert. Ausschließlich für den Albuminwert konnte ein statistisch signifikanter Effekt detektiert werden. So zeigten MM-Patienten mit einem 11q13-Rearrangement, welches auf eine Translokation t(11;14)(q13;q32) zurückgeführt werden konnte, die höchsten Albuminwerte.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die FISH-Ergebnisse ausgewählter Patienten mit einem normalen diploiden CCND1-Status, mit einem CCND1-Zugewinn oder mit einem CCND1-Rearrangement mit der Höhe der Cyclin D1-Expression und den klinischen Parametern korreliert. Patienten mit einem CCND1-Rearrangement zeigten eindeutig die höchsten Cyclin D1-Expressionswerte. Patienten mit einem Zugewinn der Region 11q13 wiesen tendenziell erhöhte CCND1-Expressionswerte im Vergleich zur Patientengruppe ohne Alterationen der Region 11q13 auf. Somit lässt sich als Alternativmechanismus zur Onkogen-Aktivierung neben der Translokation t(11;14)(q13;q32) ein Gendosiseffekt aufgrund des Zugewinns nachweisen, der ebenfalls zu einer erhöhten Cyclin D1-Expression führt. Bezüglich der klinischen Parameter wurde in diesen drei Patientengruppen nur für Albumin ein statistisch

signifikanter Effekt nachgewiesen. So zeigten MM-Patienten mit einem CCND1-Rearrangement und einer deutlich erhöhten Cyclin D1-Expression die höchsten Albuminwerte auf. Bei der klinischen Korrelation zeigte die Translokation t(11;14)(q13;q32) und der Cyclin D1-Zugewinn keinen Hochrisikostatus für das progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben der Patienten.