

Sebastian Rutsch

Kooperation von Interleukin-6 und c-myc bei der Genese des Multiplen Myeloms

Geboren am 17.07.1980 in Schwäbisch Hall

Staatsexamen am 11.06.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hartmut Goldschmidt

Das Multiple Myelom ist ein Tumor mit vielen Ursachen. Neben Strahlenexposition und toxischen Einflüssen spielt die Stimulation von Plasmazellen durch Interleukin-6 eine große Rolle. Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Überexpression des zellulären Onkogens c-myc, das beim Menschen in 96% der Myelome/Plasmozytome trans-überexprimiert wird, während es bei Mäusen in nahezu 100% der Tumoren cis-überexprimiert wird. Wie zu erwarten, entstehen bei IL-6-transgenen Mäusen verstärkt Plasmozytome. Überraschenderweise findet sich bei über 95% dieser Tumoren wie bei Pristan-induzierten Tumoren die Translokation T(12;15), die c-myc in den Immunglobulin-Schwerkettenlokus transloziert, obwohl IL-6 c-myc über den Stat3-pathway überexprimieren kann. Diese Entdeckung legt eine besondere Bedeutung dieser Form der Überexpression für die Pathogenese des multiplen Myeloms nahe.

Hieraus ergab sich die Hypothese, dass Mäuse, die ein IL-6-Transgen und ein c-myc-Transgen tragen eine wesentlich beschleunigte Tumorgenese aufweisen sollten, da die c-myc-Translokation nicht erworben werden muss. Hierfür wurden hemizygot IL-6-transgene Mäuse mit hemizygoten c-myc-transgenen Mäusen gekreuzt und die Tumorzinzidenz untersucht. Da bei IL-6-transgenen Tumoren verschiedene Translokationsbruchpunkte der Translokation T(12;15) verwendet werden, kreuzten wir hemizygot IL-6-transgene Mäuse mit hemizygoten iMyc^{E μ} -transgene Mäusen bzw. hemizygoten iMyc^{C μ} -transgene Mäuse um den Einfluss des Translokationsbruchpunkts auf die Onkogenese des multiplen Myeloms zu untersuchen.

Die Tumorzinzidenz ist bei beiden doppeltransgenen Mausstämmen im Vergleich mit den einfach-transgenen Mäusen und Wildtypmäusen beschleunigt und die Überlebenszeit signifikant verkürzt. Interessanterweise zeigte sich, dass die Überlebenszeit der iMyc^{C μ} x IL-6 transgenen Mäuse signifikant länger ist als die der iMyc^{E μ} x IL-6 transgenen Mäuse, was durch das Fehlen des E μ -Enhancers auf dem das c-myc-Transgen-tragende Chromosom 12 der iMyc^{C μ} x IL-6 transgenen Mäusen erklärt wird. Fehlt der E μ -Enhancer auf einem Chromosom findet das V-zu-J-Rearrangement in diesem IgH-Locus seltener statt und dieser IgH-Locus ist seltener rearrangiert und aktiv. Somit wird

c-myc bei diesen Zellen nicht überexprimiert und die Zahl der zur Entartung prädestinierten Zellen ist geringer.

Die histologische und immunhistochemische Untersuchung der doppeltransgenen Tumoren auf IRF4 und CD138 ergab bei 100% der doppeltransgenen Tumoren die Diagnose Plasmozytom, die bei 19 von 22 Tumoren durch das Vorhandensein eines M-Gradienten bestätigt wurde. Bei 2/3 der doppeltransgenen Mäuse wuchsen mehrere Tumorklone aus. Für das Auftreten von Plasmozytomen anstelle von Lymphomen ist mit hoher Wahrscheinlichkeit der genetische BALB/c-Hintergrund verantwortlich.

Plasmozytome werden in plasmozytisch, plasmoblastisch und anaplastisch unterteilt. Circa je 60% der doppeltransgenen Tumoren sind plasmoblastisch, ca. je 40% plasmozytisch differenziert. Es traten keine anaplastischen Plasmozytome auf.

Die Ergebnisse der Isotypisierung legen den Schluss nahe, dass die doppeltransgenen Tumoren sowohl aus primitiven B₁-B-Zellen, die sich in IgA-produzierende Plasmazellen entwickeln, als auch aus folliculären B₂-B-Zellen, die sich in IgG-produzierende Plasmazellen entwickeln, entstehen.

Während alle doppeltransgenen Tumoren in i.p. Pristan-behandelten Mäusen auswuchsen, konnten die Tumoren nicht in unbehandelte Mäuse transplantiert werden. Dies zeigt, dass auch die doppeltransgenen Tumoren, die autokrin IL-6 sezernieren, auf parakrines IL-6-signaling angewiesen sind.

Um den kooperativen Effekt von IL-6 und c-myc bei der Plasmozytomentstehung besser zu verstehen, wurden Expression und Aktivität von Schlüsselenzymen verschiedener Signalkaskaden mittels Western Blot untersucht. Hierzu wurden IL-6 singletransgene Tumoren mit IL-6 x iMyc^{Eμ} doppeltransgenen Tumoren und einer Wildtypkontrolle aus B220⁺ B-Zellen verglichen.

Die Expression und Aktivität von Akt unterscheidet sich nicht wesentlich zwischen den beiden transgenen Mausstämmen. Anders bei den beiden anderen untersuchten IL-6-Signaltransduktionswegen: IL-6 x iMyc^{Eμ} doppeltransgene Tumoren exprimieren deutlich mehr Stat3 als IL-6-tg Tumoren, gleichzeitig ist der pathway deutlich aktiver. Die Expression von Erk1 und Erk2 unterscheidet sich kaum zwischen den einfach- und doppeltransgenen Tumoren, jedoch sind beide Erk-pathways bei den doppeltransgenen Tumoren wesentlich aktiver als bei den IL-6 einfachtransgenen Tumoren. Somit wirkt die Überexpression von c-myc vermutlich besonders über die Stat3- und die Erk-Signalkaskaden.

Die Untersuchung des p19^{ARF}-Mdm2-p53-pathway zeigt eine gering verstärkte Mdm2-Expression der doppeltransgenen Tumoren im Vergleich mit den einfach-transgenen Tumoren. Ebenso sind die p19^{ARF}-Spiegel der doppeltransgenen Tumoren höher als die der einfach-transgenen Tumoren. Hinsichtlich der Häufigkeit einer kompletten Inhibition der p19^{ARF}- bzw. p53-Expression ergibt sich kein signifikanter Unterschied.

Bei den untersuchten Bcl-2-Familienmitgliedern finden sich Expressionsunterschiede bei der Expression von Mcl-1, Bcl-2 und Bcl-xL. Die doppeltransgenen Tumoren exprimieren, vermutlich durch die erhöhte Aktivität der Stat3-Signalkaskade, mehr Bcl-xL und Mcl-1, während die einfachtransgenen Tumoren v.a. Bcl-2 exprimieren.

Die iMyc x IL-6 transgenen Tumoren sind neue und potente Modelle des humanen multiplen Myeloms im fortgeschrittenen Tumorstadium. Sie können ein weiterer Baustein zu einem noch besseren Verständnis der Pathogenese des Multiplen Myeloms sein.