

Christoph Emanuel Heilig
Dr. med.

Über chromosomale Instabilität myeloischer Neoplasien

Geboren am 06.12.1981 in Karlsruhe
Staatsexamen am 27.11.2009 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Prof. Dr. med. Alwin Krämer

Aneuploidie ist ein in nahezu allen Tumoren beobachtbares Phänomen. Überdies ist Aneuploidie für viele Tumorentitäten als prognostischer Marker etabliert und wird zudem als Initiator der Tumorgenese diskutiert. Chromosomale Instabilität (CIN), also die regelmäßige mitotische Fehlverteilung von Chromosomen oder Teilen derselben, ist einer der Mechanismen, die zum Auftreten von Aneuploidie führen können. Im Gegensatz zum Begriff der Aneuploidie, der einen cytogenetischen Status beschreibt, handelt es sich bei CIN somit um die Rate cytogenetischer Veränderung. Wie auch für Aneuploidie, ist der Einfluß chromosomaler Instabilität auf Tumorgenese und -progression weitgehend ungeklärt. So gibt es Autoren, die CIN und Aneuploidie eine zentrale Rolle in der Entstehung und Progression von Malignomen einräumen, wohingegen andere dieselben als unspezifische Epiphänomene der malignen Transformation betrachten.

Zunehmende Evidenz stützt das Konzept eines hierarchischen Aufbaus von Tumorzellpopulationen, analog zu den Gegebenheiten in gesunden Geweben. Tumoren bestehen nach diesem Modell aus distinkten Subpopulationen, die sich hinsichtlich ihres Proliferationspotentials und der Fähigkeit, den Tumor erneut zu etablieren, unterscheiden. Die Hauptpopulation des Tumors besteht aus postmitotischen, gewissermaßen ausdifferenzierten Tumorzellen, wohingegen die aktiv proliferierende und somit Tumor-propagierende Subpopulation, die sogenannten Tumorstammzellen, einen geringeren Anteil darstellt. Dieses Modell impliziert ebendiese Tumorstammzellen als relevante Population im Bezug auf das Vorkommen genomischer Instabilität, wie auch auf die Entwicklung von Rezidiven und Therapieresistenzen.

Die myelodysplastischen Syndrome (MDS) sind klonale Erkrankungen des CD34⁺ Stammzellkompartiments und unter anderem durch die häufige Transformation in akute Leukämien charakterisiert. Des weiteren haben die MDS und vor allem die akute myeloische Leukämie (AML) bestimmte rekurrente chromosomale Aberrationen gemein. Auf dieser Grundlage werden die MDS auch als prä maligne Vorstufen oder Frühformen der AML verstanden. Zwar läßt sich das Risiko einer leukämischen Transformation mit Stratifizierungsmodellen wie dem IPSS abschätzen, die für die Progression der MDS verantwortlichen Faktoren sind jedoch weitgehend ungeklärt.

Auf diesen Grundlagen wurde in vorliegender Arbeit nun erstmals chromosomale Instabilität an der malignen Stammzellpopulation verschiedener hämatologischer

Neoplasien untersucht. Neben den Entitäten MDS, sekundärer und *de novo* AML, waren klinische Proben gesunder Probanden, wie auch von Patienten mit Lymphomerkkrankungen Gegenstand dieser Arbeit. Hierzu wurden zunächst die krankheitsrelevanten CD34⁺ Zellen isoliert und folgend mittels Interphasen-Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung mit Chromosomen-spezifischen Centromer- wie auch Subtelomersonden auf die Höhe sowohl numerischer als auch struktureller chromosomaler Instabilität hin untersucht.

Die Messung der numerischen CIN (nCIN) bei insgesamt 73 Patienten konnte sieben Patienten mit gegenüber gesunden Kontrollpersonen erhöhter nCIN identifizieren. Eine erhöhte nCIN fand sich vor allem in MDS-Stadien mit Blastenvermehrung und bei sekundären AML und stellte für Patienten mit MDS, unabhängig von der cytogenetischen Risikoeinteilung nach IPSS, einen negativen prognostischen Marker hinsichtlich des als Tod oder Progreß in eine AML definierten Endpunktes dar. So hatten alle drei MDS-Patienten mit initial erhöhter nCIN nach einem medianen Beobachtungszeitraum von 17,2 Monaten den Endpunkt erreicht, wohingegen 80% der Patienten mit normaler nCIN einen stabilen Erkrankungsverlauf aufwiesen.

Die Messung der strukturellen CIN (sCIN) bei insgesamt 59 Patienten identifizierte acht Patienten mit gegenüber gesunden Kontrollpersonen erhöhter sCIN. Ein gehäuftes Auftreten erhöhter sCIN in bestimmten Patientengruppen fand sich jedoch nicht. Ebenso ergaben sich keine Hinweise auf eine prognostische Relevanz oder eine kausale Beteiligung von sCIN bei MDS.

Die im Erkrankungsverlauf von sieben MDS-Patienten wiederholt durchgeführten Messungen der nCIN ergaben in drei Fällen Zunahmen der nCIN, die jeweils der Transformation in eine AML vorausgingen, was nCIN zudem als kausalen Faktor in der malignen Progression impliziert.

Numerische CIN scheint somit auf Grundlage der vorliegenden Ergebnisse und der aktuellen Literatur ein relevanter Mechanismus der Krankheitsprogression zumindest einer Subgruppe der Patienten mit MDS zu sein. Die Messung numerischer CIN wäre folglich eine praktikable Methode zur besseren Risikostratifizierung von Patienten mit MDS, was sich allerdings in Studien an größeren Patientenkollektiven bestätigen muß.

Weiterführende Arbeiten sollten, neben der Validierung der vorliegenden Ergebnisse anhand größerer Fallzahlen, eine Optimierung der in dieser Arbeit angewandten Methoden, beispielsweise durch die Verwendung einer größeren Anzahl verschiedener Centromersonden oder eine automatisierte Auswertung, zum Ziel haben. Zudem gäbe die Untersuchung unterschiedlicher Subpopulationen des CD34⁺ Kompartiments Aufschluß über ein möglicherweise qualitativ oder quantitativ unterschiedliches Auftreten chromosomaler Instabilität in verschiedenen Differenzierungsstufen der Hämatopoese.

Ebenso von Interesse wäre die Untersuchung der Relevanz chromosomaler Instabilität bei anderen im CD34⁺ Stammzellkompartiment lokalisierten hämatologischen Erkrankungen, wie beispielsweise den myeloproliferativen Syndromen. Ergänzend hierzu könnte die Frage nach der Existenz anderer Formen genomischer Instabilität im hämatopoetischen Stammzellkompartiment bei den

genannten Entitäten und deren Relevanz für Genese und Progression der Erkrankungen Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

Aus einer genaueren Kenntnis der molekularen Ursachen chromosomaler Instabilität ergäben sich letztlich möglicherweise neue Therapieansätze für die beschriebene Vielzahl CIN-assoziiierter maligner Erkrankungen.