

Michael Kießling

Dr. med.

**Mutations of neuroblastoma rat sarcoma (NRAS) and Kirsten rat sarcoma (KRAS)
in cutaneous T cell lymphoma**

Promotionsfach: DKFZ

Doktorvater: Prof. Dr. med. Peter H. Krammer

Das Cutane T Zell Lymphom (CTCL) ist eine seltene Tumorerkrankung aus der Gruppe der Non-Hodgkin Lymphome. Es handelt sich hierbei um klonale T-Zellen, die in die Haut einwandern. Bisher ist keine Mutationsanalyse auf die am häufigsten mutierten Onkogene durchgeführt worden. Daher haben wir die verfügbaren Zellkulturlinien des CTCLs sowie Biopsiematerial von 90 CTCL Patienten untersucht. Wir fanden eine NRAS^{Q61K} Mutation in der Zelllinie Hut78. Dieses Ergebnis wurde durch 4 RAS Mutationen, die in den Patientenbiopsien gefunden wurden, bekräftigt. Zwei von den vier Patienten hatten eine NRAS^{Q61K} Mutation, die anderen beiden eine KRAS^{G13D} Mutation. Alle Mutationen bei Patienten fanden sich im fortgeschrittenen Krankheitsstadium IV und hatten eine niedrigere Lebenserwartung als Patienten ohne Mutation des Krankheitsstadiums IV. Eine Verminderung der NRAS-Expression führte in den mutierten Hut78 Zellen zur Apoptose während nicht-mutierte Zelllinien resistent waren. Wir konnten zeigen, dass der pan-RAF Inhibitor Sorafenib Apoptose sowohl in der Hut78 Zelllinie als auch in den anderen CTCL Zelllinien sowie primären Tumorzellen von Patienten auslöste. Allerdings war die Apoptose in den mutierten Hut78 Zellen deutlich stärker. Daraus schließen wir, dass Zellen mit NRAS Mutation für eine Behandlung mit Sorafenib sensitiver sind. Die Behandlung von CTCL Zelllinien und primären Tumorzellen mit Sorafenib zusammen mit dem HDAC Inhibitor Vorinostat führte zu einer synergistischen Verstärkung der Apoptose. Vorinostat und Sorafenib führten zur einer Herunterregulation von Mcl-1, einem Mitglied der Bcl-2 Familie, wohingegen die artifizielle Überexpression von Mcl-1 die Induktion von Apoptose durch die beiden Substanzen blockierte. Zudem konnten wir zeigen, dass die NRAS^{Q61K} Mutation Zellen für eine Behandlung mit den MEK Inhibitoren U0126, AZD6244 und PD0325901 empfänglicher macht. Außerdem führten diese MEK Inhibitoren ausschließlich in der mutierten Hut78 Zelllinie zum Zelltod. Zusammenfassend schließen wir aus unseren Daten,

dass RAS Mutationen im Stadium IV des CTCL vorkommen und dass Patienten mit solchen Mutationen von der Behandlung mit Kinaseinhibitoren profitieren könnten.