

Stefano Malvestiti  
Dr. med.

## **The role of JunB in Multiple Myeloma pathogenesis: focus on angiogenesis.**

Fach/Einrichtung: Nationales Centrum für Tumorerkrankungen

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Dr. rer. nat. Klaus Podar

Die in den letzten 15 Jahren erzielten Fortschritte in der Erforschung der Pathogenese des Multiplen Myeloms (MM) haben zur Entwicklung einer Vielzahl neuer, effizienter Substanzen geführt. Die Prognose des MM wurde durch die Integrierung dieser Substanzen in Therapieschemata deutlich gebessert; aktuelle Überlebensraten liegen bei durchschnittlich 8 Jahren. Nichtsdestoweniger stellt das MM auch weiterhin eine unheilbare Erkrankung dar. Weitere therapeutische Verbesserungen sind deshalb dringend notwendig.

Angiogenese beeinflusst signifikant die Krankheitsprogression bei Patienten mit Multiplem Myelom (MM) und korreliert mit einer ungünstigen Prognose. Die Zunahme der Gefäßdichte innerhalb des Knochenmarkmikromilieus wird durch Onkogen-vermittelte Expression und Freisetzung von angiogenetischen Wachstumsfaktoren und Zytokinen, insbesondere dem Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), getriggert. Mitglieder der AP-1 Transkriptionsfaktorfamilie haben in den vergangenen Jahren als aktiv verfolgte therapeutische Ziele an Ansehen gewonnen. Eine frühere Studie unserer Arbeitsgruppe zeigte eine entscheidende Rolle von JunB, einem Mitglied der AP-1 Familie, bei der Proliferation, dem Überleben und der Arzneimittelresistenz von MM-Zellen. Ob JunB auch zur Knochenmarksangiogenese beim MM beiträgt, ist derzeit noch unbekannt.

Mit Hilfe der Oncomine-Software suchte ich zuerst nach korrelativen Expressionsmustern von JunB und angiogenetischen Faktoren. Parallel zu JunB, identifizierten meine Daten eine signifikante Induktion von IGF-1, PIGF, VEGF und VEGFB, ausgehend von normalen Plasmazellen zu Zellen von Patienten mit Monoklonaler Gammopathie Unbestimmter Signifikanz (MGUS) und MM in zwei unabhängigen Genexpressions-Profilierungsdatensätzen fortschreitet. Im Gegensatz dazu wurde keine Korrelation zwischen der Expression von JunB und ANGPT1, ANGPT2, SDF-1 und FGF2 beobachtet.

Ko-kulturen von Knochenmarksstromazellen (KMSZ) mit MM Zellen erhöhen den JunB- Proteinspiegel in Tumorzellen. Dieser Effekt wird insbesondere durch

das humorale Milieu, vor allem durch IL-6, vermittelt. Als nächstes untersuchte ich, ob die KMSZ-vermittelte Produktion und Sekretion von angiogenetischen Faktoren in MM-Zellen über JunB vermittelt wird. Meine Daten zeigen, dass die Doxycyclin-induzierte Hemmung der KMSZ- und IL-6-vermittelten JunB-Expression in TetR-shJunB/MM.1S-Zellen die Produktion von IGF-1, PlGF, VEGF und VEGFB deutlich reduziert. Folglich inhibierte der Überstand von Doxycyclin-behandelten TetR-shJunB/MM.1S:KMSZ Ko-kulturen auch die Angiogenese. Umgekehrt löste eine Tamoxifen-induzierte JunB-Aktivierung in JunB-ER/MM-Zellen die Expression und Sekretion von angiogenetischen Faktoren und folglich eine Steigerung der Angiogenese aus. Vergleichbare Ergebnisse wurden nach transientem JunB-Knockdown auch in anderen MM-Zelllinien erzielt. Die funktionelle Rolle von JunB in der Knochenmarksangiogenese wurde abschliessend auch *in vivo*, unter Verwendung eines MM-Xenograft-Mausmodells, verifiziert. Zu diesem Zweck wurden TetR-SCR/MM.1S- oder TetR-shJunB/MM.1S-Zellen zusammen mit KMSZ in die linke bzw. rechte Flanke von immundefizienten NSG-Mäuse subkutan inokuliert. Eine Behandlung mit Doxycyclin hemmte die JunB-Expression in TetR-shJunB/MM.1S-, nicht jedoch in TetR-SCR/MM.1S- Zellen und führte dadurch zu einer signifikanten Reduktion des Tumor-Wachstums und der Angiogenese.

Zusammenfassend zeigen diese Daten erstmals, dass JunB eine regulatorische Rolle bei der Knochenmarksangiogenese des MM spielt. Damit erweitern wir unser Wissen über die pathophysiologischen Funktionen dieses TFs um eine weitere Facette; und bekräftigen, seine Bedeutung als ein vielversprechendes neues therapeutisches Target im MM.