

Johannes Krebs

Dr. med.

Identifizierung chromosomaler Imbalancen bei Adulter T-Zell Leukämie/Lymphom (ATL) mittels Vergleichender Genomischer Hybridisierung: Klinische Bedeutung und klonale Analysen

Geboren am 13.01.1973 in Trier

3. Staatsexamen am 16.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Humangenetik

Doktorvater: Prof. Dr. med. C. R. Bartram

Die Adulte T-Zell Leukämie/Lymphom (ATL) ist eine eigenständige klinisch-pathologische Erkrankung, bei der es zu einer malignen Proliferation peripherer, reifer T-Lymphozyten, vornehmlich des CD4⁺CD8⁻-Immunphänotyps, kommt. Als ätiologisches Agens der ATL wurde das humane T-Zell-Leukämie Virus Typ I (HTLV-I) identifiziert, wobei die ATL-Tumorzellen durch eine monoklonale, in seltenen Fällen auch oligoklonale Integration proviraler DNA gekennzeichnet sind. Der Mechanismus der ATL-Leukämogenese ist bisher noch weitgehend ungeklärt. Für das virale Tax-Protein wurde eine Vielzahl pleiotroper Interaktionen mit zellulären Genen und Proteinen, die Zellwachstum, Zellzykluskontrolle und Apoptose beeinflussen, nachgewiesen. Es könnte damit eine Schlüsselfunktion bei der Initiierung der Leukämogenese einnehmen. Allerdings scheinen nach derzeitigem Wissensstand noch zusätzliche zelluläre Veränderungen bzw. genetische Ereignisse für die Tumorgenese bei ATL mitverantwortlich zu sein. Demgemäß war eine Intention der vorliegenden, bislang umfangreichsten CGH-Studie bei ATL die Identifizierung von Kandidatenregionen, die bedeutsam für die ATL-Leukämogenese sein könnten.

Unsere CGH-Studie an 64 ATL-Patienten detektierte eine Vielzahl genomischer Veränderungen. Die hohe Diversität und Komplexität der Tumorkaryotypen mit einer hohen Aneuploidie-Rate (45%) spiegelt eindrücklich die chromosomale Instabilität der ATL-Zellen wieder, welche u.a. durch Tax-vermittelte Einflüsse auf die zelluläre Integrität bedingt sein könnte. In dieser Arbeit wurden Gewinne genetischen Materials am häufigsten auf den Chromosomenarmen 14q, 7q, 3p und 3q lokalisiert, während die Verluste vorwiegend die chromosomalen Regionen 6q und 13q

bzw. das Y-Chromosom betrafen. Die Ergebnisse zeigen dabei gute Übereinstimmung mit den bereits publizierten zytogenetischen und molekular-zytogenetischen ATL-Daten und bestätigen die obigen und einige weitere, weniger häufig involvierte Chromosomenbereiche als wiederkehrende Zielregionen genetischer Veränderungen bei ATL. Darüberhinaus ermöglichte die Definition sogenannter "minimal common regions" eine weitere Eingrenzung der Kandidatenregionen für genetische Gewinne auf die chromosomalen Bereiche 14q32-qter, 7q21-q35, 3p21-pter bzw. 3q24-q26 und für die detektierten genetischen Verluste auf den Bereich 13q32-qter bzw. die 3 "hotspot"-Regionen auf Chromosomenarm 6q (6q14-q16, 6q21-q22, 6q27-qter). Eine Vielzahl potentieller Tumorsuppressor-Gene und Onkogene, welche eine Bedeutung für die ATL-Tumorgenese haben könnten, sind in diesen Bandenbereichen lokalisiert.

Da sich die indolente und aggressive ATL anhand ihres klinischen Verlaufs erheblich unterscheiden, wurden die CGH-Ergebnisse der Patienten beider ATL-Subtypen (46 aggressive vs. 18 indolente ATL) einander gegenübergestellt. Bei der aggressiven ATL fand sich im Vergleich zur indolenten ATL eine signifikant erhöhte chromosomale Instabilität der Tumorzellen. Dieser Befund stützt die Hypothese der "multistep"-Leukämogenese mit Akkumulation genetischer Veränderungen bei ATL. Spezifische Aberrationen wie Gewinne auf 1q bzw. 4q waren signifikant, Gewinne auf den Chromosomenarmen 3q bzw. 11q und Verluste von 13q grenzwertig signifikant häufiger in der Patientengruppe mit aggressiver ATL vertreten, was auf eine Bedeutung dieser Veränderungen in der ATL-Progression hinweist.

Die klinische und prognostische Relevanz der ermittelten CGH-Resultate wurde ebenfalls untersucht. Im Gesamtkollektiv (Patienten mit aggressiver und indolenter ATL) war eine erhöhte Anzahl genetischer Aberrationen (>2 Veränderungen pro Patient) signifikant mit einem verkürzten Überleben der Patienten assoziiert. Ferner konnte gezeigt werden, daß die Patienten mit mehr als 2 nachgewiesenen Imbalanzen unabhängig vom ATL-Subtyp signifikant häufiger von ungünstigen Prognosefaktoren, wie erhöhten LDH- bzw. Kalziumspiegeln, schlechtem klinischen Allgemeinzustand (fortgeschrittenem Performance Status (PS) nach WHO, 1970; Einteilung in 5 Schweregrade) und einer größeren Anzahl mitinvolvierter Organsysteme, betroffen waren. In der getrennten Analyse beider Patientengruppen mit unterschiedlichem ATL-Subtyp waren in der Gruppe mit aggressiver ATL genetische Gewinne auf dem Chromosomenarm 7q grenzwertig signifikant, ein simultaner Gewinn der Chromosomenarme 7q und 14q eindeutig signifikant mit einer besseren Prognose der betroffenen Patienten verbunden.

In der Gruppe der Patienten mit indolenter ATL korrelierte hingegen eine vermehrte Anzahl chromosomaler Verluste (>1 Verlust pro Patient) mit einem verkürzten Überleben der Patienten.

Auch die CGH-Ergebnisse der gepaarten Proben aus 2 unterschiedlichen Manifestationslokalisationen bzw. aus 2 verschiedenen Erkrankungsstadien jeweils eines Patienten reflektieren die hohe genetische Variabilität und Heterogenität bei ATL. Alle Vergleichsproben der 7 Patienten mit akuter ATL und Rezidiv zeigten eine klonale Verwandtheit, aber keine klonale Evolution der Tumorzellen zwischen beiden Erkrankungsstadien; dies ist ein weiteres Indiz für eine im Vergleich zur Frühphase zunehmend komplexere, chromosomale Instabilität in der Spätphase der Leukämogenese bei ATL. Von den untersuchten Patienten mit initial chronischer ATL und im Krankheitsverlauf eintretender akuten Krise offenbarten zwei Drittel eine klonale Evolution, während das übrige Drittel dieser Patienten einen klonalen Wechsel der Tumorzellen anzeigte.

Insgesamt belegen die vorliegenden CGH-Ergebnisse die vielschichtige genetische Instabilität der Tumorzellen während der ATL-Leukämogenese. Diese schließt sowohl klonale, chromosomale wie auch molekulare Veränderungen mit ein. Da bisher noch keine effektive Therapie der ATL etabliert ist, gilt es in Zukunft, die Schlüsselgene der ATL-Tumorgenese zu identifizieren, um so neue, geeignetere Therapieansätze bzw. auch Präventionskonzepte für klinisch noch gesunde HTLV-I-Träger finden zu können.