



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Identifizierung von MYB und DUSP6 als neue potenzielle p210BCR-ABL Bruchpunkt-abhängige Regulatoren von Separase bei der chronischen myeloischen Leukämie (CML)

Autor: Michael Stehle
Institut / Klinik: III. Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. W. Seifarth

Die chronische myeloische Leukämie (CML) ist eine maligne Erkrankung der Hämatopoese, die zu abnormer Produktion von Zellen mit vorwiegend myeloischer Differenzierung führt. Karyotypisches Kennzeichen ist eine balancierte t(9;22) Chromosomentranslokation, aus der das sog. Philadelphia (Ph) Chromosom entsteht. Das Ph Chromosom trägt das *bcr-abl* Fusionsgen, das zur Expression der konstitutiv aktiven BCR-ABL Tyrosinkinase führt. Die pathologische Aktivität der ABL-Kinase ist für die Entstehung der CML essenziell und fördert wahrscheinlich auch das Fortschreiten der Erkrankung. Zytogenetisches Korrelat der Krankheitsprogression sind aberrante Karyotypen. Ursächlich sind Störungen im regulatorischen Netzwerk um die Protease Separase, deren proteolytische Überaktivität erwiesenermaßen zu überzähligen Zentrosomen, einer defekten mitotischen Spindel und zu Chromosomenmissegregation bei der Mitose führt (Aneuploidie). Es entstehen genetisch instabile Zellen, die durch den Verlust von Tumorsuppressorgenen und Gewinn von Onkogenen an Malignität gewinnen. Dieser Prozess scheint bei Patienten mit b3a2 *bcr-abl* positiver CML ausgeprägter zu sein als bei Erkrankten mit der *bcr-abl* Bruchpunktvariante b2a2. In beiden Fällen wirkt der Tyrosinkinaseinhibitor Imatinib (IM) zwar durch Hemmung der ABL-Kinaseaktivität der Krankheitsprogression entgegen, es wurde jedoch festgestellt, dass durch IM in gesunden Zellen ebenfalls Aneuploidie ausgelöst werden kann.

Ziel der Arbeit war es daher, durch Inhibition der p210BCR-ABL Tyrosinkinaseaktivität mit IM die Gene zu identifizieren, deren Produkte an der Störung des regulatorischen Netzwerks um Separase beteiligt sein könnten. Es sollten so Hinweise auf die Entstehungsmechanismen genetischer Instabilität bei der CML gefunden werden. Hierfür wurden Microarray Genexpressionsanalysen mit IM-behandelten und unbehandelten CML-Zelllinien (KCL-22, BV173, K562, LAMA-84) durchgeführt. Es zeigte sich, dass IM die Transkription der Gene von *espl1*, *pttg1*, *cdk1*, *pim1*- und *bub1b*-Kinase sowie *c-myb* und *dusp6* in verschiedenen *bcr-abl*-positiven (b2a2, b3a2) und -negativen Zelllinien signifikant veränderte. Die Genprodukte dieser Kandidatengene wurden bereits in anderen Tumorentitäten mit genetischer Instabilität in Verbindung gebracht. Sie beeinflussen Separase möglicherweise indirekt über den „anaphase promoting complex/cyclosome“ (APC/C), eine E3-Ubiquitin-Ligase, die Separase in gesunden Zellen normalerweise ausschließlich in der mitotischen Anaphase aktiviert.

c-myb und *dusp6* zeigten unter IM zusätzlich eine *bcr-abl* bruchpunktabhängige Transkription, so dass klinische Blutproben von CML Patienten mit b3a2 bzw. b2a2 *bcr-abl* positiver CML auf die Genaktivitäten von *c-myb* und *dusp6* bei Erstdiagnose und unter IM-Therapie untersucht wurden. Hierbei zeigte sich jedoch keine Bruchpunktabhängigkeit, da die Patienten unter IM-Therapie alle eine hämatologische Remission erfuhren, so dass im Blut effektiv nur gesunde Zellen ohne *bcr-abl* Fusionsgen vorlagen. Es zeigte sich jedoch eine Reduktion der *c-myb* Transkription unter IM-Therapie auch in diesen gesunden Zellen. Dieses Ergebnis könnte im Zusammenhang mit der unter IM in *bcr-abl*-negativen Zellen beobachteten genetischen Instabilität stehen.

Mit der Analyse des Transkriptoms als unterste Genregulationsebene konnten im Rahmen dieser Arbeit sieben Gene identifiziert werden, deren Produkte potenziell Störungen im regulatorischen Netzwerk der Separase verursachen. Die Ergebnisse dieser Arbeit stellen somit die rationale Basis für weitere Untersuchung der Kandidatengene auf Proteinebene dar, um die Mechanismen der Entstehung genetischer Instabilität weiter zu entschlüsseln.