

Juliane Eilers

Dr.med.

Identifizierung und Evaluation somatischer Alterationen der T-ALL im Kindesalter

Fach: Kinderheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Kulozik, PhD

Die häufigste Krebserkrankung im Kindesalter ist die akute lymphatische Leukämie (ALL). Kindliche Patienten mit ALL haben heute, durch konstante Weiterentwicklung der etablierten Therapiestrategie (Polychemotherapie, Radiotherapie und gegebenenfalls Stammzelltransplantation) mit 90% Langzeitüberlebenden eine gute Prognose. Diese gute Prognose trifft jedoch nicht auf alle molekularen Subgruppen der ALL gleichermaßen zu. 20% der Patienten mit T-ALL erleiden unter Standardtherapie ein Rezidiv. Im Erkrankungsrückfall sind für diese Patienten die aktuellen Therapiemöglichkeiten sehr begrenzt und die Zahlen der Langzeitüberlebenden sinken drastisch. Um dieser Patientengruppe helfen zu können, bedarf es einer frühzeitigen Identifizierung der Rezidivgefährdeten Hochrisikopatienten. Die aktuelle Risikostratifizierung durch Therapieansprechen ist zur frühzeitigen Identifizierung dieser Hochrisikopatienten unzureichend. Möglicherweise sind bestimmte genetische Alterationen der T-ALL mit erhöhtem Rezidivrisiko assoziiert und könnten somit als genetische Marker zur Identifikation von Hochrisikopatienten eingesetzt werden. Ziel der Arbeit ist es rekurrente Genveränderungen zu finden und diese im Hinblick auf ihre Rolle in der Leukämogenese und ihre prognostische Aussagekraft als Risikomarker zu untersuchen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde Primärmaterial von Patienten mit T-ALL Ersterkrankung, in Remission und im Rezidiv auf das Vorliegen genetischer Alterationen untersucht. Durch Anwendung verschiedener molekulargenetischer Methoden (Sanger Sequenzierung, zielgerichtetes tiefes Sequenzieren, MLPA) wurden somatische Alterationen der T-ALL in den verschiedenen Krankheitsstadien identifiziert und ihre prognostische Relevanz analysiert. Des Weiteren wurde die Rolle von leukämiespezifischen Mutationen in der klonalen Evolution, zum besseren Verständnis der Entwicklung von Erstdiagnose zum Rezidiv, analysiert.

Zu Beginn dieser Arbeit lag durch Vorarbeiten bereits ein Datensatz von durch „whole exome sequencing“ identifizierten Mutationen in einer T-ALL Patientenkohorte mit Probenmaterial vom Zeitpunkt der Erstdiagnose, der Remission und des Rezidivs vor. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Mutationen durch Anwendung des Sequenzierungs-Goldstandards „Sanger Sequenzierung“ validiert. Hierbei konnten 78% der SNVs bei 3 Patienten und 38% der Indels bei 7 Patienten bestätigt werden. Rekurrent auftretende und somit potentiell relevante Mutationen für die Leukämogenese wurden anschließend mittels Sanger

Sequenzierung in einer größeren Patientenkohorte untersucht. Hierbei zeigte sich das Gen *MAP3K7* in einer Kohorte von 379 Patienten bei 3 Patienten (0,8%) in den untersuchten Exons 8 und 13 mutiert. In den Experimenten zur Bestimmung der Kopienzahl durch MLPA fanden sich in den 436 untersuchten T-ALL Proben ein Verlust von *MAP3K7* in 43 Proben (9,9%). Dieser hohe Prozentsatz von *MAP3K7* Alterationen (Mutationen und Deletionen) weist auf eine funktionelle Relevanz von *MAP3K7* in den Leukämiezellen hin. Der Verlust von *MAP3K7* trat fast ausschließlich als Kodeletion mit *CASP8AP2* auf. Außerdem zeigte sich ein Verlust von *MAP3K7* assoziiert mit einem Vorliegen des onkogenen Fusionstranskripts *SIL-TAL*. Bei der Analyse klinischer Daten der untersuchten Patienten, hatten Patienten mit Kodeletion der Gene *MAP3K7* und *CASP8AP2* signifikant häufiger eine reife T-ALL, es zeigte sich im Vergleich zu der Kontrollgruppe jedoch kein Unterschied in der Einteilung der Risikogruppen oder beim Ansprechen auf die Therapie. Trotz seiner möglicherweise funktionellen Relevanz stellt *MAP3K7* somit isoliert gesehen keinen geeigneten Marker zur Risikostratifizierung dar.

Zum besseren Verständnis der klonalen Evolution der T-ALL wurde, zusätzlich zum WES, zielgerichtetes, tiefes Sequenzieren eingesetzt um die klonale Entwicklung der Leukämie durch den Nachweis von unterschiedlichen Subklonen zu vervollständigen. Hierdurch gelang die Einteilung der Patienten in zwei Rezidivtypen. Bei dem Rezidivtyp 1 finden sich die Mutationen des Hauptklons bei Erstdiagnose auch im Rezidiv, das Rezidiv entwickelt sich also aus dem Hauptklon der Ersterkrankung. Der Rezidivtyp 2 ist gekennzeichnet durch den Verlust von Mutationen des Hauptklons der Ersterkrankung im Rezidiv, das Rezidiv entwickelt sich in diesem Fall aus einem gemeinsamen Vorläufer, aber nicht aus dem Hauptklon bei Ersterkrankung. Bei beiden Rezidivtypen treten zusätzlich neue Mutationen im Rezidiv auf.

Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit rekurrente Alterationen des Gens *MAP3K7* in einer großen Kohorte von T-ALL Patienten identifiziert. Alterationen von *MAP3K7* zeigten sich mit bekannten genetischen Veränderungen assoziiert, erlaubten aber retrospektiv keine Aussage über den klinischen Verlauf der Patienten. Die unterschiedliche klonale Evolution einer Leukämie von Erstdiagnose zum Rezidiv weist auf verschiedene Mechanismen der Rezidiventstehung hin. Ein tieferes Verständnis der Rezidiventwicklung ist notwendig zur Identifizierung der Hochrisikopatienten und zur Verbesserung der Therapie.