

Simon Weisemann

Dr. med.

**Delineating the role of Programmed Cell Death 4 in *Mixed Lineage Leukemia* rearranged acute myeloid leukemia using RNA interference**

Fach/Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktormutter: Prof. Dr. med. Claudia Scholl

Akute myeloische Leukämien (AML) sind eine heterogene Gruppe schwer verlaufender klonaler, hämatopoetischer Erkrankungen, die heute vor allem molekularbiologisch unterschieden werden. Der Nachweis von Translokationen des *Mixed Lineage Leukemia* Gens (*MLL*) definiert eine AML Subgruppe mit besonders schlechter Prognose und 2-Jahres Überlebensraten unter 20 %. Da die pathogenetisch ursächlichen *MLL*-Fusionsproteine bislang noch nicht direkt pharmakologisch angegriffen werden können, stellt die Suche nach sekundären Abhängigkeiten und Zielstrukturen in diesem Kontext einen vielversprechenden Forschungsansatz dar. In diesem Zusammenhang wurde der Zellzyklus-Regulator CDK6 in unserer Arbeitsgruppe als mögliches Therapieziel identifiziert. Eine Behandlung mit dem CDK4/6 Inhibitor Palbociclib induzierte Differenzierung, verlangsamte die Proliferation von *MLL*-rearrangierten Blasten, und befindet sich momentan in der klinischen Evaluation. Auf Grund der Nachteile einer potentiellen Palbociclib-Monotherapie (beispielsweise der schnellen Resistenzentwicklung) wurde in einem genomweiten RNA-Interferenz Screen nach geeigneten Angriffspunkten für eine Kombinationstherapie gesucht. Programmed Cell Death 4 (PDCD4), ein bisher gut beschriebener Tumorsuppressor, wurde als Topkandidat in diesem Screen als möglicher Therapieangriffspunkt identifiziert. Ziel dieser Dissertation war es, die Rolle von PDCD4 in *MLL*-rearrangierter Leukämie sowie auch in *MLL*-Wildtyp Zellen zu untersuchen, und den kombinatorischen Effekt der dualen CDK6 und PDCD4 Hemmung in diesen Zellen zu validieren. Es wird gezeigt, dass shRNA-vermittelte PDCD4 Suppression zu einer deutlichen Verlangsamung der Proliferation in AML-Zelllinien führt. Die gleichzeitige Behandlung mit Palbociclib führt zu einer deutlichen Verstärkung dieses anti-proliferativen Effekts. Darüber hinaus zeigt sich nach PDCD4 Suppression bei gleichzeitiger CDK4/6-Inhibition ein Aktivitätsanstieg der Seneszenz-assoziierten  $\beta$ -Galaktosidase. Der starke Proliferationsabfall wird außerdem begleitet von einem leichten Anstieg des myeloischen Differenzierungsmarkers CD11b, einer erhöhten Apoptoserate, und einer Verschiebung der Zellzyklus-Verteilung im

Sinne eines partiellen G1/G0 Arrests. Auf der Suche nach molekularen Regulationsmechanismen, die dem kontextabhängigen Verhalten von PDCD4 zu Grunde liegen könnten, findet sich ein Zusammenhang zwischen PDCD4 Expression und der aktivierenden Phosphorylierung von Hematopoietic Cell Kinase (HCK) an Tyrosin 411. Zusammenfassend etabliert diese Arbeit eine pro-proliferative, onkogene Funktion von PDCD4 in AML und hebt damit die kontextabhängige Funktion von PDCD4 hervor. Eine duale Inhibition von CDK4/6 und PDCD4 führt zu bemerkenswerten anti-leukämischen Effekten *in vitro* und könnte ein neuer Schritt in Richtung einer zielgerichteten Kombinationstherapie der *MLL*-rearrangierten Leukämien sein.