

Diren Usta
Dr. med.

Preclinical testing of mitogen-activated protein kinase pathway inhibitors in pediatric astrocytomas

Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Till Milde

Tumoren des zentralen Nervensystems stellen die zweithäufigste maligne Erkrankung in der Kindheit dar und sind zugleich die häufigste Ursache für tumor-assoziierte Sterbefälle im Kindesalter. Pädiatrische niedriggradige Gliome sind die häufigsten Hirntumore bei Kindern und manifestieren sich oft als chronische Erkrankung mit einer Vielzahl von Rezidiven, welche wiederholt therapeutische Eingriffe erforderlich machen. Um krankheits- und therapiebedingte Folgeschäden zu verringern, sind neue therapeutische Maßnahmen in der Behandlung von pädiatrischen niedriggradigen Gliomen dringend notwendig. Vorangegangene Studien haben gezeigt, dass die Aktivierung des MAPK-Signalweges ein gemeinsames Merkmal von niedriggradigen pädiatrischen Gliomen darstellt und diese Gruppe von Tumoren für zielgerichtete Therapien prädestiniert. In der präsentierten Studie wurde ein neuartiges zellbasiertes Reportersystem in von Patienten gewonnenen pädiatrischen Astrozytom-Zelllinien etabliert, um präklinischen Daten für translationale Zwecke zu generieren.

Für die Durchführung eines Mittel- bis Hochdurchsatz-Screenings von Inhibitoren des MAPK-Signalweges wurde zunächst ein Reporterkonstrukt (pDIPZ) kloniert. Hierbei wurde ein auf die Aktivierung des MAPK Signalweg ansprechendes Bindungselement integriert, welches die Expression von Reportergenen steuert. Nachfolgend wurden zwei pädiatrische Astrozytom-Zelllinien (DKFZ-BT66 und BT-40), die endogen eine Alteration des MAPK-Signalweges aufweisen (KIAA1549:BRAF-Fusion bzw. BRAFV600E-Mutation), lentiviral mit pDIPZ transduziert. Anschließend wurde das Reportersystem charakterisiert und es konnte gezeigt werden, dass die Aktivität des MAPK-Signalweges durch die Messung der Expression der Reportergene akkurat abgebildet werden konnte.

Im Anschluss wurde das Reportersystem für ein Screening von Inhibitoren des MAPK-Signalweges verwendet. Neben MEK-Inhibitoren konnten pan-RAF-Inhibitoren und ERK-Inhibitoren als neuartige potente Wirkstoffe in der Hemmung des MAPK-Signalweges in sowohl in BRAFV600E-mutierten als auch in den KIAA1549:BRAF-Fusions-positiven Zellen identifiziert werden. Hierbei zeigte sich, dass insbesondere bei RAF Inhibitoren der jeweilige Bindungstyp in Abhängigkeit von der zugrunde liegenden Alteration des MAPK-Signalweges maßgeblich für die Unterschiede in der Hemmung des Signalweges sind.

Für die Testung von möglichen Kombinationstherapien wurden zusätzlich Behandlungen mit verschiedenen Klassen von MAPK Inhibitoren durchgeführt. Die Kombination eines RAF Inhibitors mit einem MEK Inhibitor oder einem ERK Inhibitor zeigte eine synergistische Hemmung des MAPK-Signalweges in beiden Zelllinien, hinweisend auf ein großes klinisches Potenzial dieser Kombinationen. Die Kombination eines MEK Inhibitors mit ERK Inhibitor hingegen zeigte überwiegend additive bis antagonistische Effekte. Entsprechend ist davon auszugehen, dass die synergistische Hemmung des MAPK-Signalweges von der Kombination bestimmter MAPK-Inhibitor-Klassen abhängig ist. Die durch das Reportersystem generierten

Ergebnisse konnten zudem durch die Messung der Phosphorylierung der dem MAPK Signalweg nachgeschalteten Proteine mit Western blot erfolgreich validiert werden.

Abschließend wurde ein Aktivitäts-Score des MAPK-Signalweges in niedriggradigen Gliomen bestimmt, welcher sich in Abhängigkeit der jeweiligen zugrunde liegenden Alteration des MAPK-Signalweges hochreguliert zeigte. Dieser potenziell prädiktive Marker könnte in Zukunft die Auswahl von MAPK-Inhibitor-empfindlichen niedriggradigen Gliomen erleichtern.

Zusammengefasst wurde ein neuartiges Reportersystem für ein Screening von MAPK Inhibitoren in pädiatrischen niedriggradigen Gliomen etabliert. Unter Verwendung des Assays konnten neue vielversprechende Inhibitoren des MAPK Signalweges nachgewiesen werden. Zudem zeigten sich synergistische Effekte von Kombinationstherapien, wenn bestimmte Klassen von MAPK Inhibitoren kombiniert wurden. Abschließend konnte gezeigt werden, dass ein potenziell prädiktiver genetischer Score für MAPK Aktivität in pädiatrischen niedriggradigen Gliomen hochreguliert ist. Zukünftige klinische Studien sind essentiell, um die Wirksamkeit von pan-RAF-Inhibitoren, ERK-Inhibitoren und MAPK-Inhibitor-Kombinationen in der Behandlung von pädiatrischen niedriggradigen Gliomen zu testen.