

Tonio Johannes Lukas Lang  
Dr. med.

## **Die Rolle der Mikro-RNA 342 und ihres Wirtsgens Evi in der Blutbildung**

Fach/Einrichtung: NCT (Nationales Centrum für Tumorerkrankungen) / DKFZ (Deutsches Krebsforschungszentrum)  
Doktorvater: Prof. Dr. Hanno Glimm

Hämatopoetische Stammzellen stehen an der Spitze der Hierarchie des blutbildenden Systems und sind in der Lage, die Blutzellproduktion den Bedürfnissen des Organismus anzupassen. Unsere Arbeitsgruppe identifizierte potentielle hämatopoetische Regulatorgene bzw. nicht-kodierende RNAs durch systematische Analyse des Integrationsstellenrepertoires in zehn Patienten einer Gentherapiestudie für Wiskott-Aldrich Syndrom. Unter Anwendung strikter Selektionskriterien wie Anzahl der Insertionsstellen bzw. Abstand zur Transkriptionsstartstelle von Genloci wurden potentielle Regulatoren der Hämatopoese ermittelt. Unter diesen fand sich auch der genomische Locus von Evi und MiR-342, für den noch keine Funktion in hämatopoetischen Stammzellen beschrieben ist und der auch dadurch ein hochinteressanter Untersuchungsgegenstand ist, da die Interaktion von intronischen MikroRNAs und ihren Wirtsgenen bisher kaum verstanden ist. Für das proteinkodierende Gen Evi ist bisher unter anderem eine Funktion in der Remodellierung des Aktinzytoskeletts und bei der DNA-Reparatur bekannt. Über die in einem Intron von Evi kodierte MiR-342 weiß man beispielsweise, dass sie die All-trans-Retinsäure vermittelte Differenzierung von akuten Promyelozytenleukämiezellen beschleunigt. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Rolle der MiR-342 und ihres Wirtsgens Evi in der Blutbildung zu charakterisieren. Hierfür wurde zunächst die Expression von Evi und MiR-342 in verschiedenen primären Blutzellpopulationen untersucht. Beide Kandidaten waren nur gering in hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen exprimiert, ihre Expression stieg jedoch mit zunehmender Ausdifferenzierung. Evi war am stärksten in Lymphozyten, MiR-342 am höchsten in Zellen der myelischen Reihe exprimiert. Zur funktionellen Charakterisierung von Evi und MiR-342 wurden diese durch lentivirale Vektorstrukturen in primären murinen hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen überexprimiert und in der Folge in vitro sowie in vivo mittels funktionaler und molekularer Analysen untersucht. In vitro zeigte sich, dass Evi Überexpression zu mehr PreB-Zellkoloniebildung führt, wohingegen MiR-342 Überexpression Granulozyten-Monozytenkolonien vermehrt. Zusätzlich zu diesem antagonistischen Effekt fiel auf, dass sich die Effekte von Evi und MiR-342 auf die Koloniebildung bei gleichzeitiger Überexpression beider Kandidaten neutralisieren. In vivo

wurden Evi und MiR-342 in seriellen Knochenmarktransplantationsexperimenten analysiert und der gegensätzliche Effekt der beiden Kandidaten auf die Blutzelldifferenzierung bestätigt. Darüber hinaus gab es Hinweise auf eine Depletion des hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellpools auf Ebene des Knochenmarks durch Evi Überexpression. Weiterhin wurde der Einfluss von Evi und MiR-342 Überexpression auf die Genexpression in hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen untersucht. Durch Evi Überexpression wurden 191, durch MiR-342 Überexpression 85 Gene signifikant in ihrer Expression moduliert. Für beide Kandidaten war das am stärksten beeinflusste Genetzwerk das hämatopoetische System. Zudem veränderte Evi Überexpression vorrangig B-Zelldifferenzierung, wohingegen MiR-342 Überexpression myeloische Signalnetzwerke wie Granulozytenadhäsion und -diapedese am stärksten deregulierte. Die klinische Relevanz der Ergebnisse wurde durch Analyse eines öffentlich zugänglichen Genexpressionsdatensatzes von Leukämiepatienten nahegelegt. Hier ergab sich, dass sich die Evi Expression zwischen akuter myeloischer und akuter lymphatischer Leukämie stark unterscheidet und in malignen Erkrankungen des lymphatischen Systems am höchsten ist.

Zusammenfassend wurde durch die vorliegende Arbeit gezeigt, dass der gemeinsame genomische Locus des Wirtsgens Evi und seiner intronischen MiR-342 verschiedene Differenzierungsprogramme in der Hämatopoese steuert. Evi Expression führt zu gesteigerter Lymphopoese, MiR-342 Expression zu gesteigerter Myelopoese.