

- Zusammenfassung -

Caroline von Plettenberg

Dr. med.

Alterations of the Promoter Methylation Level of Relapsed Pediatric T-cell Acute Lymphoblastic Leukemia and Their Corresponding Patient Derived Xenografts

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

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

Ungefähr 20% der pädiatrischen Patienten mit akuter T-Zell-Leukämie erleiden aufgrund von Resistenzentwicklung und unzureichenden Therapiemöglichkeiten ein Rezidiv mit schlechter Prognose. Rezidive sind gekennzeichnet durch eine hohe klonale Heterogenität, verursacht durch die Selektion von Subklonen und den Erwerb neuer Mutationen. Einige rezidivspezifische genetische Veränderungen konnten identifiziert werden (NT5C2, TP53), jedoch scheinen diese keine wesentlichen Treiber der Rezidiventwicklung zu sein. Dies weist darauf hin, dass epigenetische Mechanismen zur klonalen Selektion in therapieresistenten Rezidiverkrankungen beitragen könnten. Zwei verschiedene Rezidivtypen wurden bei der akuten T-Zell-Leukämie definiert: „Typ 1“ entwickelt sich aus einem Zellklon der während der Initialdiagnose in der leukämischen Phase vorlag, „Typ 2“ entwickelt sich aus präleukämischen Vorläuferklonen, die zum Zeitpunkt der Initialdiagnose noch nicht leukämisch waren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Hypothese getestet, dass epigenetische Mechanismen, insbesondere Promotermethylierung, zur Therapieresistenz der T-ALL-Rezidive von Kindern und Jugendlichen beitragen. Zu diesem Zweck wurden die Daten von Illumina-Methylation-Arrays mit genomischer DNA von 35 T-Zell-Leukämiepatienten zum Zeitpunkt der Initial- und korrespondierender Rezidivdiagnose analysiert. Dies zeigte eine bemerkenswerte Stabilität des epigenetischen Milieus mit nur sehr wenig rekurrierenden Veränderungen der Promotermethylierung. Unter der kleinen Anzahl von veränderten Promotoren zeigte die Mehrheit eine Hypomethylierung mit Beteiligung an Signalwegen der Immunantwort, Hämatopoese,

Negativregulation der Zelldifferenzierung und Proto-Onkogenen. Die rekurrend hypermethylierten Promotoren zeigten mehrheitlich eine Beteiligung an T-Zell-spezifischen terminalen Differenzierungsprozessen. Die hier beschriebenen Daten weisen darauf hin, dass die differentielle Methylierung eines bestimmten Gensatzes die Aktivierung karzinogener Mechanismen mit einhergehender Zelldifferenzierung fördert und so potentiell zur Resistenzentwicklung in T-Zell-Leukämie rezidiven beiträgt. Inaktivierung T-Zell-spezifischer Differenzierungseigenschaften durch Hypermethylierung, sowie die dazugewonnene zelluläre Plastizität durch Hypomethylierung einer Vielzahl anderer Gene, könnten zum Zellüberleben trotz aggressiver Chemotherapie in der Rezidivkrankung beitragen.

Um zu beurteilen, ob die größere genetische Heterogenität des „Typ 2“-Rezidivs im Vergleich zum „Typ 1“-Rezidiv auch auf epigenetischer Ebene vorhanden ist, wurde eine Methylierungsanalyse der Promoterregionen von „Typ 1“, „Typ 2“ und entsprechenden Initialdiagnosen durchgeführt. Auch hier zeigte sich eine bemerkenswerte Stabilität des epigenetischen Milieus. Jedoch ergaben sich Hinweise darauf, dass „Typ 1“-Rezidive eher durch Promoterhypermethylierung und „Typ 2“-Rezidive eher durch Hypomethylierung gekennzeichnet sind ($p < 0,0001$, Fisher's exact test). Dies könnte darauf hindeuten, dass Leukämieklone des „Typ 1“-Rezidivs, die aus der Initialdiagnose hervorgehen, ein längeres Proliferations- und Replikationsgeschehen und damit Akkumulation von hypermethylierten Promotoren aufweisen, als die Leukämieklone, die von einem präleukämischen Vorfahren („Typ 2“) abstammen.

Um effektivere Behandlungsstrategien zu entwickeln, sind valide präklinische Modelle unabdingbar. Von Patienten abgeleitete Xenografts gehören zu den wichtigen Instrumenten der Krebsforschung, da sie den Krebszellen ein weitgehend natürliches, dreidimensionales Wachstum ermöglichen und die klonale Heterogenität der Tumorzellen abbilden. Jedoch wurde die epigenetische Stabilität der von T-Zell-Leukämien abgeleiteten Xenografts bis jetzt nicht untersucht. Um die epigenetische Stabilität von Xenografts zu bewerten, wurden die Daten der Methylierungsarrays von je 11 Xenografts der Initial- und Rezidivdiagnose mit den zugehörigen Primärleukämieproben verglichen. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass das epigenetische Profil der leukämischen Blasten in Xenografts weitgehend stabil ist und diese somit auch im Hinblick auf das epigenetische Milieu der Tumorzellen relevante präklinische Modelle der T-Zell Leukämie darstellen.