

Zusammenfassung

Olga Sepman

Dr.med.

**Korrelation zwischen der Protein-Expression der Onkogene *MYC* und *MYCN* und chromosomalen Alterationen an ihren genomischen Loci in Neuroblastom-Zelllinien ohne *MYCN*-Amplifikation**

Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. Manfred Schwab

Das Neuroblastom ist der häufigste extrakranielle solide Tumor, der etwa 7% aller onkologischen Erkrankungen im Kindesalter ausmacht. Klinisch ist das Neuroblastom durch ein heterogenes Krankheitsspektrum gekennzeichnet, das von spontaner Regression bis hin zu schneller Tumorprogression und Metastasierung reicht. Etwa 50% aller Patienten haben bei Diagnosestellung bereits aggressiv wachsende Tumoren, bei denen die Identifizierung genomischer Veränderungen eine entscheidende Rolle für die Auswahl der therapeutischen Strategie spielt. Obwohl die Amplifikation des *MYCN*-Gens der wichtigste genetische Biomarker für eine ungünstige Prognose ist, haben etwa 60% der Hochrisiko-Neuroblastome keine *MYCN*-Amplifikation. Über die molekulare Pathogenese dieser Tumoren ist noch wenig bekannt.

Zum Zeitpunkt des Beginns meiner Arbeit gab es erste experimentelle Hinweise, dass auch eine erhöhte Expression des *MYC*-Gens das Tumorverhalten beeinflussen könnte. Die möglichen genetischen Grundlagen der *MYC*-Aktivierung in Neuroblastomzellen waren jedoch nicht erforscht. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, durch molekularbiologische Methoden die genetischen Mechanismen zu identifizieren, die für die Überexpression des *MYC*-Onkogens in Neuroblastomen verantwortlich sein könnten.

Die anfängliche Analyse der Expression der *MYC*- und *MYCN*-Proteine in Neuroblastom-Zelllinien ohne *MYCN*-Amplifikation zeigte in jeweils 40% der untersuchten Zellen ein hohes Level von *MYC* bzw. *MYCN*. Die Bestimmung der Kopienzahl-Veränderungen der genomischen DNA mittels hochauflösender Array-CGH hat aber gezeigt, dass die

Hochregulation von MYC/MYCN-Proteinen nicht mit einer erhöhten Kopienzahl der jeweiligen Genloci assoziiert ist.

Um die Annahme zu prüfen, dass strukturelle chromosomale Rearrangements an den *MYC/MYCN*-Loci eine mögliche Ursache der Protein-Überexpression sein könnten, habe ich molekular-zytogenetische Analysen in drei Schritten durchgeführt: mFISH → FISH mit spezifischen DNA-Sonden → Sequenzierung.

Als Hauptergebnis dieser Untersuchungen hat sich herausgestellt, dass die MYC- bzw. MYCN-Expression genau in den Zelllinien sehr hoch war, in denen die genomischen Loci von *MYC* bzw. *MYCN* in Translokationen involviert waren. In 5 von 11 untersuchten Zelllinien wurde eine Translokation nachgewiesen: vier Mal am *MYC*-Locus und einmal am *MYCN*-Locus. Die Fusionsstellen dieser Translokationen wurden in unmittelbarer Nähe der jeweiligen Onkogen-Loci lokalisiert. Bemerkenswert ist, dass die überwiegende Mehrheit des translozierten chromosomalen Materials aus der Bande 4q34.1 stammt, die auch in Translokationsereignisse mit dem Onkogen *IGF2BP1* auf 17q21.32 involviert ist. Die genomische Instabilität einer ca. 860 kb großen Region innerhalb von 4q34.1 wurde auch in einigen primären Tumoren beobachtet. In einer der untersuchten Zelllinien war die hohe Expression des MYC-Proteins mit der Translokation von 7q33-Material in die unmittelbare Nähe des *MYC*-Gens korreliert.

Die gewonnenen Erkenntnisse über die Translokationen in die Nähe der *MYC*-, *MYCN*- und *IGF2BP1*-Loci führten zu der Hypothese, dass die Expression der betroffenen Onkogene durch genomische Elemente des jeweiligen Translokationspartners, am häufigsten von 4q34.1, beeinflusst wird. Diese Hypothese wurde durch Kartierung von aktiven Enhancer-Elementen in der Nähe der identifizierten Translokationsbruchpunkte in einem nachfolgenden Projekt in unserer Arbeitsgruppe bekräftigt.

Zusammengenommen lenken die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit die Aufmerksamkeit auf die Häufigkeit eines hohen MYC-Expressionslevels in Neuroblastomen ohne *MYCN*-Amplifikation und identifizieren die genomische Region 4q31.1 als überzufällig häufige Quelle von Enhancer-Elementen in der Nähe der betroffenen Onkogen-Loci. Die Korrelation zwischen der hohen MYC- bzw. MYCN-Protein-Expression und den chromosomalen Veränderungen an ihren genomischen Loci könnte demnach plausibel durch den „Enhancer Hijacking“-Mechanismus erklärt werden.