

Duoduo Zhao

Dr. med.

The Landscape of Small Nucleolar RNA Expression And Potential Roles of RNA Modifications in Multiple Myeloma

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Carsten Müller-Tidow

RNA-Modifikationen spielen eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Genexpression und der Bestimmung des Zellschicksals. Diverse wissenschaftliche Studien konnten bereits zeigen, dass eine Dysregulation epitranskriptomischer Signalwege an der Entstehung von Krebserkrankungen und der Resistenzentwicklung gegenüber Chemotherapeutika beteiligt ist. Unter den verschiedenen Molekülen, welche RNA-Modifikationen vermitteln, spielen kleine nukleoläre RNAs (snoRNAs) RNAs, die hauptsächlich Modifikationen ribosomaler RNAs steuern, eine entscheidende Rolle bei der Tumorentstehung und -progression. Die Rolle von snoRNAs und die Funktion von RNA-modifizierenden Enzymen beim Multiplen Myelom (MM) sind jedoch weitestgehend unbekannt. Daher sollte im Rahmen dieser Doktorarbeit die Rolle der snoRNAs sowie RNA-modifizierender Enzyme im Multiplen Myelom durch zwei verschiedene Ansätze untersucht werden. Zunächst wurde die snoRNA-Expression in 71 neu diagnostizierten MM-Proben, 4 rezidivierten/refraktären MMs und 3 normalen B-Zell-Kontrollen mittels small RNA-Sequencing untersucht. Die snoRNA-Expressionsprofile waren stark mit molekularen Untergruppen des Multiplen Myeloms assoziiert. Hyperdiploide Patienten zeigten eine Anreicherung von snoRNAs auf Chromosom 15, mit einer besonderen Überexpression von Mitgliedern der SNORD115-Familie, welche auf 15q11 lokalisiert sind. MM-Patienten mit einer t(4;14) Translokation wiesen eine hohe Expression von SCARNA22 auf, was mit einer ungünstigen Prognose assoziiert war ($p=0.007$). Bei Patienten mit einer Amplifikation von Chromosom 1q waren alle snoRNAs, die auf 1q25 lokalisiert sind, hochreguliert. Unter diesen war eine erhöhte SNORD78 Expression mit einem signifikant schlechteren progressionsfreien Überleben ($p = 0.019$) sowie Gesamtüberleben ($p = 0.011$) assoziiert. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die erhöhte Expression von snoRNAs ein gemeinsames Merkmal des Multiplen

Myeloms darstellt. Zudem definieren MM-spezifische Chromosomenaberrationen Untergruppen von Myelompatienten, welche ein charakteristisches snoRNA-Expressionsmuster aufweisen. In einem zweiten experimentellen Ansatz führte ich einen fokussierten CRISPR-Knockout-Screen durch, um RNA-modifizierende Enzyme zu identifizieren, die mit Bortezomib-Resistenz in einer MM-Zelllinie assoziiert sind. Ich transduzierte eine 1700 sgRNA-umfassende CRISPR-Cas9-Bibliothek, welche etwa 150 RNA-modifizierende Enzyme in ihrer Expression beeinflusst, in eine MM-Zelllinie und behandelten die Zellen mit dem Proteasominhibitor Bortezomib. Proben wurden an den Tagen 1, 8, 15 und 22 gesammelt und im Vergleich mit unbehandelten Zellen analysiert. Zur Analyse der Ergebnisse wurde die MAGeCK-Software verwendet. Das gezielte CRISPR/Cas9-Screening ergab, dass ein Verlust von sgRNAs, welche auf eine Untergruppe von tRNA U34-modifizierenden Enzymen- CTU2, ELP1 sowie ELP3-5- abzielen, eine Resistenz gegenüber Bortezomib vermittelt. In einer Validierungskohorte von Patienten mit rezidiviertem/refraktärem MM war ein niedriges mRNA-Expressionsniveau von ELP4 mit einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber Bortezomib verbunden ($p = 0.003$). Zudem waren höhere mRNA-Spiegel von ELP4 und CTU2 bzw. ELP3 und ELP4 mit einem verkürzten Überleben assoziiert. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass U34-Enzyme die Empfindlichkeit von Bortezomib in MM-Zellen regulieren könnten. Zusammenfassend hat diese Studie ein Subtypspezifisches Expressionsmuster von snoRNAs im Multiplem Myelom aufgezeigt und U34-tRNA-Modifikationsenzyme als neue Mediatoren der Bortezomib-Resistenz identifiziert.