

Katharina Weidenauer
Dr. med.

Identification of RPS6KA1 as a mediator of resistance to Venetoclax/Azacytidine-combination treatment in Acute Myeloid Leukemia by genome-scale CRISPR/Cas9 knockout screening

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

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

Die akute myeloische Leukämie ist eine aggressive hämatologische Erkrankung, gekennzeichnet durch unkontrollierte Proliferation myeloischer Vorläuferzellen, Blasteninfiltration des Knochenmarks und Unterdrückung der normalen Hämatopoese. Die Standardinduktionschemotherapie mit Cytarabin und Daunorubicin kann in Patienten unter 60 Jahren eine Remissionsrate von 65-85% erzielen, in Patienten über 60 Jahren beträgt diese nur noch 40-60%. Auch das 5-Jahres-Überleben sinkt in dieser Altersgruppe von 30% auf 5-15%. Da die Erkrankung im Mittel mit 67 Jahren diagnostiziert wird und damit vor allem die ältere Bevölkerung betrifft, die sich bedingt durch Vorerkrankungen nicht mehr einer intensiven Chemotherapie unterziehen kann, gibt es Niedrigdosis-Therapiekonzepte mit jedoch vorwiegend schlechten Ansprechraten. Die kürzlich zugelassene und gut verträgliche Kombination aus dem BCL-2 Inhibitor Venetoclax und der hypomethylierenden Substanz Azacytidin kann hingegen Ansprechraten von 67% erzielen, dennoch erleiden die meisten Patienten im weiteren Verlauf ein Rezidiv oder sind von Beginn an therapierefraktär. Deshalb wurde in dieser Arbeit ein genomweiter CRISPR/Cas9 Screen durchgeführt, um Gene zu identifizieren, die Resistenz oder Sensitivität gegenüber Venetoclax/Azacytidin vermitteln. Im Rahmen der Auswertung wurden die positiv angereicherten sgRNA-Gene mit jenen aus publizierten CRISPR/Cas9 Screens zur Untersuchung von Venetoclax-Resistenz verglichen und zeigten übereinstimmend die Anreicherung von sgRNAs welche zum knockout von *BAX* und *PMAIP1 (NOXA)*, wichtigen Regulatoren der zellulären Apoptose, führen. Das Gen, welches für die ribosomale Proteinkinase RPS6KA1 kodiert, war eines der am stärksten negativ angereicherten sgRNA-Gene und es konnte gezeigt werden, dass der RPS6KA1-Inhibitor BI-D1870 die mittlere inhibitorische Konzentration von Venetoclax/Azacytidin in OCI-AML2 Zellen reduzieren und die Sensitivität von zuvor generierten resistenten OCI-AML2 Zellen wiederherstellen kann. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Hinzunahme von BI-D1870 zu Venetoclax/Azacytidin die inhibitorischen Effekte auf Proliferation und Koloniebildungskapazität verstärkt, Apoptose wurde allerdings nicht verstärkt induziert. Eine Analyse von Zelloberflächenmarkern ergab, dass die RPS6KA1-Inhibition effizient eine monozytäre Subpopulation - oftmals Ausgangspunkt für Resistenzentwicklung - eliminieren konnte, die durch Venetoclax/Azacytidin unverändert blieb. Eine Vergleichsanalyse in Patientendatensätzen ergab, dass *RPS6KA1* in AML stärker exprimiert wird als in gesunden hämatopoetischen Zellen, und eine höhere Expression mit schlechterem Überleben assoziiert ist. Weitere Experimente könnten nun die zugrundeliegenden Mechanismen aufdecken und den prognostischen und therapeutischen Nutzen von RPS6KA1 für die Venetoclax/Azacytidin-Therapie evaluieren.