

Pia-Elena Frey
Dr. med.

Deletions of the Myeloid/Lymphoid or Mixed-Lineage Leukemia Translocated to Chromosome 3 gene occur frequently in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia and targeted treatment with short hairpin RNAs impedes proliferation

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

Die akute Leukämie ist mit etwa 30% der pädiatrischen Krebserkrankungen die bei weitem häufigste bösartige Erkrankung im Kindesalter. Etwa 15% der akuten Leukämien gehen aus Vorläufer-T-Zellen hervor, und die Mehrheit der Patienten überlebt langfristig, wenn sie im Rahmen eines aktuellen Chemotherapie-Protokolls behandelt wird. Wenn Patienten jedoch ein Rezidiv erleiden, ist die Prognose infaust. Dies treibt die Forschung zum Verständnis der Biologie dieser Krankheit voran, die einen besonderen klinischen Bedarf in der pädiatrischen Onkologie darstellt.

Die Leukämogenese ist ein mehrstufiger Prozess, der die Akkumulation mehrerer genetischer Veränderungen erfordert. Aktivierende Mutationen von Transkriptionsfaktoren mit onkogenen Merkmalen durch Überexpression oder Fusion werden als Primäreignisse der Krankheitsentstehung angesehen und auch als "Typ A" klassifiziert. Auf diese folgen sekundäre "Typ B"-Ereignisse im Sinne des Erwerbs von weiteren Mutationen und Kopienzahlvariationen, z.B. des Tumorsuppressors Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A (CDKN2A), Notch-Homolog 1, translocation-associated (NOTCH1) Rezeptor-Gen oder Phosphatase And Tensin Homolog (PTEN).

Das Gen Myeloid/Lymphoid Or Mixed-Lineage Leukemia Translocated To Chromosome 3 (MLLT3) befindet sich in genomischer Nachbarschaft zu CDKN2A auf Chromosom 9p21. Sein Proteinprodukt kann als eigener Transkriptionsfaktor fungieren oder mit mehreren Bindungspartnern interagieren. Einer der wichtigsten ist das Protein Disruptor of telomeric silencing 1-like (DOT1L), das wahrscheinlich auf MLLT3 angewiesen ist, um an das acetylierte Lysin 9 des Histons H3 zu binden und bestimmte genomische Regionen zu erreichen, wodurch die epigenetische Landschaft einer Zelle verändert werden kann. MLLT3 ist einer von vielen potenziellen Bestandteilen des Super Elongation Complex (SEC), wo es mit Assembly platform AF4/FMR2 Family, Member 4 (AFF4) interagiert, um die Elongation zu regulieren. Die Funktion von MLLT3 als einer der häufigsten Fusionspartner bei Translokations-Leukämien mit dem Gen Mixed Lineage Leukemia (MLL) ist gründlich untersucht worden. Dennoch blieb die konkrete Funktion in der akuten lymphoblastischen T-Zell-Leukämie (T-ALL) umstritten. MLLT3-Deletionen treten bei 22.5% der primären T-ALLs auf, in etwa einem Fünftel auf beiden Allelen. Von 8 Zelllinien, die mit Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) analysiert wurden, konnten monoallelische Deletionen in den Zelllinien CCRF-CEM und T-ALL1 nachgewiesen.

Die drei pädiatrischen T-ALL-Zelllinien CCRF-CEM, Jurkat und P12-Ichikawa wurden ausgewählt, um die Rolle von MLLT3 bei dieser Art von Leukämien näher zu untersuchen.

Nach dem Design von short hairpin RNAs, die gegen MLLT3 gerichtet sind, sowie der Etablierung einer Transfermethode unter Zuhilfenahme von AAV-Vektoren, wurde die Transduktionseffizienz der Zelllinien optimiert. Messungen mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion belegten, dass MLLT3-mRNA durch die Behandlung mit von AAV-Vektoren exprimierten short hairpin RNAs in CCRF-CEM nahezu vollständig, aber transient depletiert wurde. Nach der Transduktion wurden die Zellzahlen über einen Zeitraum von 5 Tagen gezählt und ausgewertet, um die Auswirkungen auf die Proliferation zu analysieren. Durch die Behandlung der Zelllinien mit gegen MLLT3 gerichteten short hairpin RNAs wurde die Proliferation im Vergleich zu Zellen, die mit non-silencing-shRNAs behandelt wurden, deutlich reduziert. Die bisherigen Ergebnisse und das etablierte Modellsystem für den MLLT3-Verlust bieten die Grundlage für die weitere Untersuchung der Funktion von MLLT3 in T-ALL-Zellen. Da funktionelles MLLT3 die Proliferation von Leukämiezellen zu fördern scheint, könnte MLLT3 Zielstruktur für neuartige Therapieoptionen sein.