

Karin Huber
Dr. med.

***LPIN1* is a key regulator of phospholipid metabolism and a potential coordinator of stemness and differentiation programs in acute myeloid leukemia and hematopoietic stem and progenitor cells**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Dr. med. Caroline Pabst

Auch heute ist die akute myeloische Leukämie mit einer stark reduzierten Lebenserwartung besonders für ältere Patientinnen und Patienten assoziiert. Dies liegt an hohen Rezidivraten, die mit der Existenz Chemotherapie-resistenter Leukämiestammzellen begründet werden. In den letzten Jahren wurden zunehmend Anstrengungen unternommen, das Metabolom von Leukämiestammzellen zu entschlüsseln. Das Ziel war die Identifikation zellulärer Mechanismen, welche zur gezielten Eradikation leukämischer Stammzellen nutzbar gemacht werden könnten. Phospholipide stellen einen Teil des Metaboloms dar, der in der Leukämie-Forschung bislang geringe Beachtung fand, obwohl er in anderen Entitäten bereits als zentrales Element der Tumorgenese etabliert ist.

In dieser Arbeit wurde die Funktion der Phosphatidsäurephosphatase *LPIN1* im Kontext der akuten myeloischen Leukämie und des hämatopoetischen Systems ergründet. Es zeigte sich, dass hohe *LPIN1*-Expression in akuter myeloischer Leukämie mit einer schlechten Prognose, dem Vorhandensein von Hochrisikomutationen, sowie einem hohen Anteil an Leukämiestammzellen assoziiert war. Auch in gesunden hämatopoetischen Zellen war eine hohe *LPIN1*-Expression charakteristisch für das Stammzellkompartiment.

Funktionelle Untersuchungen mittels *short hairpin RNAs* und *CRISPR/Cas9* ergaben, dass eine Reduktion der *LPIN1*-Expression mit einem Proliferationsnachteil in Zelllinien und primären Leukämiezellen aus Patientenproben einherging. Zudem zeigten primäre Zellen eine verringerte Fähigkeit sich im Knochenmark immunodefizienter Mäuse anzusiedeln und dort zu proliferieren. Sowohl *in vitro* als auch *in vivo* war die Expression von *LPIN1* notwendig für den Erhalt des CD34⁺ Stammzellkompartiments. Ähnliche Ergebnisse lieferten Versuche in hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen. Zusätzlich zu der beobachteten Hemmung des Wachstums und der verminderten Fähigkeit sich in Mäusen anzusiedeln und zu expandieren, fiel bei hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen eine Kompromittierung von Stammzellfunktionen auf. In Folge einer Reduktion der *LPIN1*-Expression war die Bildung von Zellkolonien in Methylzellulose stark reduziert. Besonders betroffen waren hier die sehr unreifen multipotenten Vorläuferzellen. Passend hierzu war die Fähigkeit hämatopoetischer Stammzellen in Mäusen in B-Zellen zu differenzieren stark eingeschränkt. Um die zugrundeliegenden Mechanismen aufzudecken, wurde eine RNA-Sequenzierung von OCI-AML3 und hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen nach Reduktion der *LPIN1*-Expression durchgeführt. Hierbei wurden in OCI-AML3 sowie in hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen insgesamt geringe, aber zahlreiche Gene betreffende Veränderungen der Expression festgestellt. Eine Reduktion der Transkription von Genen, die für Proteine des Phospholipidstoffwechsels kodierten, resultierte in messbaren Veränderungen des Lipidoms. In OCI-AML3 war die Menge an Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin in Folge der Reduktion der *LPIN1*-Expression signifikant reduziert. Gleichzeitig fiel ein leichter Anstieg des Sphingomyelins auf. Diese

Antikorrelation der zwei Lipidgruppen wurde auch in primären Patientenproben mittels Analyse des Lipidoms beobachtet. Diese Daten legen die Existenz einer Verbindung zwischen Phospho- und Sphingolipidmetabolismus im Kontext der akuten myeloischen Leukämie nahe.

Antikorrelation zwischen Phosphatidylcholin und Sphingomyelin wurde darüber hinaus auch in RNA-Sequenzierungsdaten von gesunden hämatopoetischen Zellen festgestellt. *LPIN1* als Surrogatparameter für die Phosphatidylcholin-Synthese sowie Sphingomyelinhydrolasen waren am höchsten in unreifen CD34⁺ Zellen exprimiert. Ihre Transkription nahm im Verlauf der Differenzierung sukzessive ab, während die Expression von Sphingomyelinsynthasen zunahm. Diese Daten weisen ebenfalls auf eine Assoziation zwischen Phospholipidstoffwechsel und Differenzierung im hämatopoetischen System hin.

Als Regulator des Diacylglycerolpools und des Phospholipidmetabolismus in leukämischen und gesunden hämatopoetischen Zellen nimmt *LPIN1* eine Schlüsselrolle in der Koordination dieser Stoffwechselwege ein. Die Hemmung von *LPIN1* oder mit *LPIN1*-assoziierten Stoffwechselwegen in leukämischen Stammzellen könnte daher zur deren effektiven Eradikation beitragen.