

MEDIZINISCHE KLINIK IV

LEHRSTUHL FÜR INNERE MEDIZIN (HÄMATOLOGIE UND ONKOLOGIE)

UNIV.-PROF. DR. MED. RAINHARDT OSIEKA (BIS 31.07.2009)

UNIV.-PROF. DR. MED. TIM HENRIK BRÜMMENDORF (AB 01.08.2009)

ANZAHL DER PLANSTELLEN FÜR WISSENSCHAFTLICHE MITARBEITER: 11,5 BIS 31.07.09, 16,5 SEIT 01.08.09

ANZAHL ALLER DRITTMITTELFINANZIERTEN MITARBEITER: 0 WISSENSCHAFTLER; 1 MTA (SEIT 01.08.09)

1. FORSCHUNGSSCHWERPUNKTE

Epigenetische Veränderungen bei hämatologischen Neoplasien (PD Dr. Galm, Dr. Jost, Dr. Wilop, Dr. Dada, Dr. Gezer)

Epigenetische Veränderungen spielen eine entscheidende Rolle in der Initiation und Progression von malignen Tumoren. Durch Hypermethylierung von CpG-Inseln im Bereich von Genpromotorregionen kommt es im Zusammenspiel mit einer Histondeacetylierung zur Inhibition der Transkription von Genen, ohne dass deren DNA-Sequenz unmittelbar alteriert wird. Handelt es sich bei den durch CpG-Hypermethylierung betroffenen Genloci um Tumorsuppressorgene, so kommt dies funktionell einer Deletion oder Punktmutation mit konsekutivem Funktionsverlust gleich und kann im Laufe der Tumorevolution zu einem Wachstumsvorteil der betroffenen Zellen führen. Im Rahmen der malignen Transformation stellt somit die Hypermethylierung von Genpromotorregionen neben genetischen Alterationen einen alternativen Mechanismus zur Geninaktivierung dar.

Aktuelle Projekte der Arbeitsgruppe umfassen Untersuchungen über Veränderungen des Epigenoms bei akuter myeloischer Leukämie, multiplem Myelom, myeloproliferativen Neoplasien sowie der chronischen lymphatischen Leukämie. Neben der Analyse von Kandidatengenen ist zukünftig auch der Einsatz von Array-basierten Methoden vorgesehen. Weiterhin soll die Rolle der Wnt-Signaltransduktion und der SFRP-Gene in der Regulation der hämatopoetischen Differenzierung untersucht werden.

In ihrer Gesamtheit können die Erkenntnisse über epigenetische Prozesse nicht nur zu einem besseren Verständnis der molekularen Mechanismen in der Pathogenese von malignen Tumoren beitragen, sondern auch neue Möglichkeiten in der Anwendung und Evaluation von innovativen Therapiestrategien, die eine Beeinflussung des Epigenoms von malignen Zellen implementieren, eröffnen. Das zunehmende Wissen über epigenetische Veränderungen wird zukünftig bei der Entwicklung neuer therapeutischer Strategien sowie der Risikostratifizierung von Patienten mit hämatopoetischen Neoplasien von großem Nutzen sein.

Synergismus von demethylierenden Substanzen und dem HDAC-Inhibitor SAHA beim multiplen Myelom (Dr. Jost)

Der Einsatz von demethylierenden Substanzen (DNMT-Inhibitoren) als Differenzierungstherapie bei hämatopoetischen Neoplasien gehört mittlerweile zu den Standardtherapien bei akuten myeloischen Leukämien und myelodysplastischen Syndromen. Als weitere Differenzierungstherapie stehen nun die Inhibitoren der Histon-Deazetylasen (HDAC-Inhibitoren) zur Verfügung. Bisher gibt es keine *in-vitro* oder klinische Daten zum Einsatz dieser Substanzen bei multiplen Myelom. In Zelllinien von multiplem Myelom konnten wir nachweisen, dass Synergismen zwischen Decitabine (DNMT-Inhibitor) und SAHA (HDAC-Inhibitor) bei der Induktion des Zelltods und der Apoptose bestehen. Des Weiteren konnte eine Zunahme der Reexpression von epigenetisch herabregulierten Genen durch den kombinierten Einsatz der beiden Substanzgruppen an den Zelllinien beobachtet werden. Diese Ergebnisse bieten somit eine Grundlage für die weitere präklinische und klinische Untersuchung der Kombination von DNMT-Inhibitoren und HDAC-Inhibitoren zur Behandlung des multiplen Myeloms.

Telomerbiologie (Prof. Brümmendorf, Dr. Panse, Dr. Ziegler)

Der chronischen myeloischen Leukämie (CML) liegt eine myeloproliferative Erkrankung der hämatopoetischen Stammzelle zugrunde, die auf das onkogene Potenzial des Fusionsproteins BCR-ABL zurückgeht. Die chronische Phase der CML ist charakterisiert durch eine gesteigerte Hämatopoese und geht nach einer variablen Zeitspanne in eine akzelerierte Phase und/oder Blastenkrise über, die aufgrund eines zusätzlichen Differenzierungsblocks einer akuten Leukämie ähnelt und mit einer schlechten Prognose verbunden ist. Die molekularen Mechanismen der Krankheitsprogression der CML sind bis heute unklar. Aus einer Reihe von Publikationen geht hervor, dass Patienten mit fortgeschrittenem Krankheitsstatus eine drastische Verkürzung der Telomere in BCR-ABL-positiven Zellen aufweisen. Telomere besitzen eine Tumorsuppressorfunktion und eine Verkürzung der Telomere in eukaryontischen Zellen ist mit zunehmender genetischer Instabilität vergesellschaftet. Es wird deshalb vermutet, dass eine erhöhte Telomerase-Aktivität in CML-Zellen und/oder Defekte in Tumorsuppressoren wie p53 oder Ink4Arf in fortgeschrittener Erkrankung verhindern, dass die Zellen in Telomer-induzierte Apoptose/Seneszenz eintreten. In Kooperation mit der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf (M. Balabanov), Hannover (B. Schlegelberger, xx) und Berlin (yy) soll die kausale Rolle der Telomerbiologie für die Krankheitsprogression der CML in einem *in vivo* Mausmodell untersucht werden. Die Analysen sollen Aufschluss geben, inwiefern Telomer-vermittelte genetische Instabilität die Akzeleration einer BCR-ABL-positiven Erkrankung fördern und welche Kandidaten-Läsionen involviert sind. Die gewonnenen Ergebnisse können

somit wichtige therapeutische Ansatzpunkte für neue Telomer-/Telomerase- und damit zielgerichtete molekulare Interventionsstrategien ergeben.

Darüber hinaus wird im Rahmen des Begleitforschungsprogramms der multizentrischen Deutschen CML IV Therapiestudie die Bestimmung der Telomerlänge in peripheren Blutzellen als neuer prognostischer und prädiktiver Biomarker mit flow FISH evaluiert

Aurorakinasen als Zielstruktur in der chronisch myeloischen Leukämie (Prof. Brümmendorf, Dr. Panse, Dr. Jost)

Die Einführung des selektiven Tyrosinkinaseinhibitors (TKI) Imatinib (IM) hat die Primärtherapie der CML stark beeinflusst und ist mittlerweile zur Standardtherapie der chronischen Phase geworden. Im Laufe der Zeit wurde jedoch klar, dass trotz der Effektivität und Selektivität der IM-Therapie das Phänomen der Resistenzentwicklung zunehmend ein Problem darstellt. Vor allem Punktmutationen in der Kinasedomäne von BCR-ABL sind ein weit verbreitetes klinisches Problem. Die sogenannten TKIs der 2. Generation (Dasatinib, Nilotinib, Bosutinib) liefern beeindruckende klinische Ergebnisse gegen IM-resistente Mutationen, jedoch sind alle diese Substanzen wirkungslos gegenüber der Mutation T315I ("gate keeper mutation"), die etwa 25% der primären und bis zu 70% der sekundären Resistenzen ausmacht. Aufgrund dessen ist die Entwicklung von neuen potenteren Inhibitoren von höchster Priorität.

In einem Kooperationsprojekt mit der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf und Nerviano Medical Sciences (Mailand, Italien) untersuchen wir die Effektivität einer neuen Gruppe von Substanzen, die sogenannten Aurorakinase-Inhibitoren (AKI). Aurorakinasen (A, B, C) gehören zu den Serin-/Threoninkinasen und kontrollieren essenzielle Prozesse während der Zellteilung, wobei eine deregulierte Expression dieser Enzyme zu Aneuploidie und maligner Transformation führen können und deshalb ein potenzielles Ziel der Krebstherapie darstellen. Hierbei liegt ein besonderes Interesse unserer Arbeitsgruppe in einem besseren Verständnis der Mechanismen, die einer Resistenzentwicklung auf Danusertib zugrunde liegen könnten.

Hypusinierung und der eukaryontische Initiationsfaktor 5a (eIF5a) (Prof. Brümmendorf, Dr. Panse, Dr. Ziegler)

Die Hypusinierung ist eine der spezifischsten Proteinmodifikationen in Eukaryonten und beschreibt die schrittweise Umwandlung der Aminosäure Lysin zu Hypusin, welche durch die Deoxyhypusinsynthase (DHS) und die Deoxyhypusinhydroxylase (DOHH) katalysiert wird. Der eukaryontische Initiationsfaktor 5A eIF5a ist das einzige Protein in Eukaryonten, in welchem diese Modifikation nachgewiesen werden konnte. Die Hypusinierung führt zur Aktivierung von eIF5a und kontrolliert Zellproliferation, mRNA-Transport sowie die Replikation des HI-Virus. Interessanterweise wurde die Biosynthese von Hypusin in eIF5a als neues Target in der Behandlung von Bcr-Abl positiven Leukämien identifiziert, obgleich die genaue Rolle der Hypusinierung in der malignen Transformation ungeklärt bleibt.

In einem in vitro Modell soll nun durch retrovirale Überexpressionsstudien in primären murinen embryonalen Fibroblasten (MEFs) untersucht werden, inwiefern aktiviertes eIF5a Proliferation kontrolliert und in Kooperation mit Onkogenen wie Myc, Ras oder Bcr-Abl maligne Transformation initiiert. Die so gewonnenen Ergebnisse sollen nicht nur Aufschluss über die funktionelle Rolle der Hypusinierung im Rahmen von Proliferation und Zellzyklus geben, sondern auch die Funktion von aktivem eIF5a als potenzielles Onkogen validieren.

Darüber hinaus werden neue spezifische Inhibitoren der DHS und der DOHH, die im Rahmen eines BMBF-geförderten Verbundprojekts mit Instituten der Universität Hamburg, dem Heinrich-Pette-Institut, Hamburg und der Universität Lübeck entwickelt werden in vitro und in vivo auf Effektivität in CML Modellsystemen getestet.

Pharmakogenomik in der Hämatologie und Onkologie (Dr. Gökkurt, Dr. Wilop, Dr. Crysandt, Dr. Dada)

Das Gebiet der Pharmakogenomik beschäftigt sich mit den genetisch determinierten Variationen der Enzymausstattung des einzelnen Individuums, die bestimmend für die Wirkung der verabreichten Substanzen (z. B. Chemotherapeutika) ist. Untersuchungen der letzten Jahre haben gezeigt, dass Variationen der DNS, sog. Polymorphismen, für den Aktivitätsgrad der einzelnen Enzyme entscheidend sein können. Funktionell relevante Polymorphismen wurden als eine entscheidende Ursache für interindividuelle Unterschiede in Therapieerfolg und Verträglichkeit der Therapeutika identifiziert.

Beispielhaft für weitere laufende Projekte der Arbeitsgruppe Pharmakogenomik soll hier kurz die Aktivität der Arbeitsgruppe beim Magenkarzinom dargestellt werden. Es konnten bereits durch eigene Vorarbeiten Hypothesen bezüglich des Zusammenhangs einzelner pharmakogenetischer Marker (Polymorphismen) mit klinischen Endpunkten beim fortgeschrittenen Magenkarzinom unter palliativer Chemotherapie herausgearbeitet werden. Die Ergebnisse der i. R. von einer großen randomisierten Phase III Studie durchgeführten pharmakogenetischen Analysen konnten letztes Jahr im *Journal of Clinical Oncology* publiziert werden. In dieser umfangreichen Arbeit wurden Polymorphismen in den Genen TS, MTHFR, MTR, OPRT, XPD, ERCC1, XRCC1, XPA, GSTP1, GSTT1, und GSTM1 unter Berücksichtigung von Haplotypen untersucht. In dieser Arbeit konnten gleich eine Reihe von potentiellen pharmakogenetischen Prädiktoren für das Gesamtüberleben, das Progressions-freie Überleben, das Therapieansprechen und für einzelne Toxizitäten identifiziert werden. Diese Ergebnisse unterstrichen die Hypothese, dass genomische Polymorphismen eine relevante Rolle für die individualisierte Chemotherapie beim Magenkarzinom spielen könnten und stellen eine wertvolle Basis für weitere pharmakogenomische Analysen dar, die i. R. aktuell abgeschlossener bzw. noch laufender klinischer Phase II-III Studien beim fortgeschrittenen Magenkarzinom durchgeführt werden. Neben den genannten Untersuchungen beim Magenkarzinom stellen pharmakogenomische Projekte bei weiteren Tumorentitäten, wie z. B. Karzinome der Lunge, des

Ösophagus, des Kolorektums oder des Kopf-/Halsbereiches, und auch hämatologischen Neoplasien, wie z. B. Multiples Myelom, AML, CML und MDS, Gegenstand aktueller Untersuchungen dar. Ziel der Arbeitsgruppe ist es, durch die Entwicklung von pharmakogenomischen Markern, die eine individualisierte Therapieentscheidung erlauben, einen relevanten Beitrag zur Optimierung der Systemtherapie in der Hämatologie und Onkologie beizutragen.

2. DRITTMITTEL

2.1 über die Drittmittelstelle des UKA verwaltete Mittel

P 1: Die Rolle von epigenetischen Veränderungen in der Pathogenese von myeloproliferativen Syndromen

Projektleiter: Dr. med. E. Jost,
PD Dr. med. O. Galm
Förderer: Deutsche Krebshilfe 108475
Kooperationen: Sidney Kimmel Comprehensive
Cancer Center, Johns Hopkins
University Baltimore, USA
FSP der Fakultät: kein FSP

P 2: SAHA bei multiplem Myelom

Projektleiter: Dr. med. E. Jost
Förderer: MSD SHARP&DOHME
Kooperationen: keine
FSP der Fakultät: kein FSP

3. PUBLIKATIONEN

3.1 Originalarbeiten, Reviews, Editorials: gelistet in WoS/Medline

- [1] Carey JP, Asirvatham AJ, Galm O, Ghogomu TA, Chaudhary J (2009) Inhibitor of differentiation 4 (Id4) is a potential tumor suppressor in prostate cancer. *BMC Cancer*.9:173 (IF 2,736)
- [2] Dada R, Wilop S, Jost E, Galm O, Gassler N, Osieka R (2009) Successful treatment of hepatic encephalopathy in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Acta Haematol*.122:216-20 (IF 1,069)
- [3] Jost E, do O N, Wilop S, Herman JG, Osieka R, Galm O (2009) Aberrant DNA methylation of the transcription factor C/EBPalpha in acute myelogenous leukemia. *Leuk Res*.33:443-9 (IF 2,358)
- [4] Jost E, Gezer D, Wilop S, Suzuki H, Herman JG, Osieka R, Galm O (2009) Epigenetic dysregulation of secreted Frizzled-related proteins in multiple myeloma. *Cancer Lett*.281:24-31 (IF 3,741)
- [5] Keil S, Behrendt FF, Stanzel S, Suehling M, Jost E, Mühlenbruch G, Mahnken A, Günther RW, Das M (2009) RECIST and WHO criteria evaluation of cervical, thoracic and abdominal lymph nodes in patients with malignant lymphoma: manual versus semi-automated measurement on standard MDCT slices. *Rofo*.181:888-95 (IF 2,025)

- [6] Seeliger B, Wilop S, Osieka R, Galm O, Jost E (2009) CpG island methylation patterns in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*.50:419-26 (IF 2,397)
- [7] Spyridopoulos I, Hoffmann J, Aicher A, Brümmendorf TH, Doerr HW, Zeiher AM, Dimmeler S (2009) Accelerated telomere shortening in leukocyte subpopulations of patients with coronary heart disease: role of cytomegalovirus seropositivity. *Circulation*.120:1364-72 (IF 14,816)
- [8] Tur MK, Neef I, Jost E, Galm O, Jäger G, Stöcker M, Ribbert M, Osieka R, Klinge U, Klinge U, Barth S (2009) Targeted restoration of down-regulated DAPK2 tumor suppressor activity induces apoptosis in Hodgkin lymphoma cells. *J Immunother*.32:431-41 (IF 3,203)
- [9] Wiesmann F, Veeck J, Galm O, Hartmann A, Esteller M, Knüchel R, Dahl E (2009) Frequent loss of endothelin-3 (EDN3) expression due to epigenetic inactivation in human breast cancer. *Breast Cancer Res*.11:R34 (IF 5,326)
- [10] Wilop S, von Hobe S, Crysandt M, Esser A, Osieka R, Jost E (2009) Impact of angiotensin I converting enzyme inhibitors and angiotensin II type 1 receptor blockers on survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer undergoing first-line platinum-based chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*.135:1429-35 (IF 2,261)
- [11] Wilop S, Dada R, Galm O, Jousten P, Osieka R, Jost E (2009) Cisplatin as single-agent chemotherapy in patients with liver dysfunction due to metastases. *Onkologie*.32:400-4 (IF 1,234)
- [12] Ye Y, McDevitt MA, Guo M, Zhang W, Galm O, Gore SD, Karp JE, Maciejewski JP, Kowalski J, Tsai HL, Gondek LP, Tsai HC, Wang X, Hooker C, Smith BD, Carraway HE, Herman JG (2009) Progressive chromatin repression and promoter methylation of CTNNA1 associated with advanced myeloid malignancies. *Cancer Res*.69:8482-90 (IF 7,543)

3.2 Diplomarbeiten / Masterarbeiten, Dissertationen, Habil.-schriften

Dissertationen:

- [1] Nicole do Ó: Abberante DNA-Methylierung des Transkriptionsfaktors C/EBPa bei akuter myeloischer Leukämie.
- [2] Deniz Gezer: Hypermethylierung-assoziierte Dysregulation der WNT Antagonisten SFRP 1, 2, 4 und 5 beim Multiplen Myelom.
- [3] Barbara Seeliger: Untersuchungen über Veränderungen des Epigenoms bei der chronischen lymphatischen Leukämie.

4. SONSTIGES

4.1 Gutachtertätigkeiten für Organisationen

Prof. Dr. med. R. Osieka

- Deutsche Krebshilfe e.V.
- Wilhelm Sander Stiftung
- DFG
- Ethikkommission
- Ethikkommission der Ärztekammer NRW

Prof. Dr. med. T. H. Brümmendorf

- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)
- International Cancer Society (UICC)
- Kay Kendall Leukaemia Fund (UK)
- Swiss Cancer League (Schweiz)
- Medical Research Council (UK)
- Jubiläumsfonds der Österreichischen Nationalbank
- Hamburger Krebsgesellschaft

PD Dr. med. O. Galm

- AG START
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)

4.2 Gutachtertätigkeiten für Zeitschriften

Prof. Dr. med. T. H. Brümmendorf

- Leukemia; Blood; Experimental Hematology; Haematologica; British Journal of Hematology; J. Natl. Cancer Institute

PD Dr. med. O. Galm

- Epigenetics; Expert Review of Hematology

Dr. med. E. Jost

- Leukemia & Lymphoma, Anti-Cancer Drugs, Molecular Cancer, Epigenomics

4.3 Mitgliedschaften in einem Editorial Board

Prof. Dr. med. T. H. Brümmendorf

- Current Stem Cell Research and Treatment

4.4 Ausrichtung von Konferenzen und Tagungen

PD Dr. med. O. Galm (Med. Klinik IV), Prof. Dr. rer. nat.

E. Dahl (Inst. f. Pathologie)

- EPIPHAMY - Symposium on Translational Cancer Epigenetics, Aachen, 09.10.2009

4.5 Preise/ Auszeichnungen

Nicole do Ó

- Promotionspreis der Fakultät, 6.2.