

## Abschlussbericht

### **Projekt: „Proteomik maligner embryonaler Tumore mit mehrschichtigen Rosetten (ETMR) - Analyse des molekularen Phänotyps zur Entschlüsselung neuartiger Therapieangriffspunkte“**

Projektleitung:

Prof. Dr. Julia Neumann,  
Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH) und  
Institut für Neuropathologie, UKE

Beginn und Dauer des Projektes 08/2023, Dauer: 20 Monate

Embryonale Tumore mit mehrschichtigen Rosetten (ETMR) sind bösartige Hirntumore bei Kleinkindern. Trotz intensiver Therapie liegt das 5-Jahresüberleben von betroffenen Kindern bei nur 32 %. Im Gegensatz zu Nukleinsäuren (DNA, RNA) spiegeln Proteine den Phänotyp eines Tumors direkter wider und können so Aufschluss über neue Therapieangriffspunkte geben, die für ETMR dringend gebraucht werden. In diesem Projekt wurde die Hypothese verfolgt, dass der Exzess an mRNA in ETMR zu einem spezifischen Proteinprofil führt, dass sich von der mRNA-Expression signifikant unterscheidet. Ziel des Projektes war es dabei das globale Proteom von ETMR in humanen Tumorproben zu analysieren und Immunhistochemisch zu validieren. Basierend auf Proteomprofilen sollten neue Therapieansatzpunkte identifiziert werden und in Frage kommende Therapeutika an ETMR-Zelllinien *in vitro* überprüft werden.

Im Rahmen des Projektes konnten die zusammengetragenen humanen ETMR Proben (FFPE Proben der histologischen Ausprägungen Ependymoblastom, Medulloepitheliom, sowie ETANTR auf Proteom und DNA Methylierungsebene untersucht werden und mit anderen embryonalen Hirntumoren die als Vergleich herangezogen wurden (Medulloblastom, AT/RT) integriert und verglichen werden. Die Arbeitsgruppe konnte parallel in anderen Projekten eine verbesserte Pipeline für die Datenintegration aufbauen (Algorithmus „BERT“) welche auch für diese Daten genutzt werden konnte. Basierend auf Proteomprofilen lassen sich die Hirntumorentitäten klar voneinander abtrennen. Innerhalb der ETMR wurden die unterschiedlichen histologischen Anteile mikrodisseziert und wie geplant hinsichtlich der intratumoralen Heterogenität des Proteoms versus RNA verglichen. Proteom-basierte Clusteranalysen gruppierten die Proben dabei an Hand der unterschiedlichen Histomorphologie. So separierten sich Neuropil-reiche Tumor Areale mit neuronalen Signaturen von undifferenzierten Tumorearealen mit Signaturen der Terms „stemness“ und „chromosome organization“. Eine Ausdifferenzierung dieser undifferenzierten Areale könnte dabei ein neuer interessanter Therapieansatz sein. Zudem könnten die neuronalen Signaturen auf eine mögliche Synaptische Integration der Tumoreareale und einen weiteren Therapieangriffspunkt hindeuten. Diese Fragestellungen werden derzeit in Anschlussprojekten weiterbearbeitet. Unabhängig von der intratumoralen Heterogenität zeigten ETMR im Vergleich zu anderen embryonalen Hirntumoren interessanterweise hoch abundante Proteine des Proteasomkomplex. Dies deutet auf eine hohe Abhängigkeit von ETMR von der Proteasom Maschinerie hin. *In vitro* konnten wir im Zellkulturmodell mit Hilfe der ETMR Zelllinie BT183 zeigen, dass ETMR-Zellen im Vergleich zu anderen embryonalen Hirntumoren in der Tat sehr sensibel auf den ZNS-gängigen Proteasom Inhibitor Marizomib sind. Damit hat sich unsere initiale Hypothese, dass das Proteom spezifische therapeutische Vulnerabilitäten in ETMR aufdecken kann, bestätigt.

Teile der Ergebnisse konnten 2024 in folgender Publikation veröffentlicht werden:

Dottermusch M, Biabani A, Lempertz T, Schumann Y, Navolic J, Godbole S, Obrecht D, Frank S, Dorostkar MM, Voß H, Schlüter H, Rutkowski S, Schüller U, Neumann JE. Integrated proteomics spotlight the proteasome as a therapeutic vulnerability in embryonal tumors with multilayered rosettes. *Neuro Oncol.* 2024 May;3:26(5):935-949. doi: 10.1093/neuonc/noad265. PMID: 38158710; PMCID: PMC11066909.

Zusammenfassend konnten unsere Analysen eine Grundlage für eine zielgerichtete Therapie bei ETMR Patientinnen und Patienten schaffen. Basierend auf den erhobenen Ergebnissen sind derzeit Anschlussprojekte geplant, die weitere Therapieoptionen für ETMR ausloten.