

Abschlussbericht für die Hamburger Krebsgesellschaft e.V. für das Projekt **Molekulare Mechanismen bei der Tumorigenese von pädiatrischen malignen Gliomen mit MYCN Amplifikation (HGG-MYCN)**
von Dr. Melanie Schoof

Kindliche Gliome MYCN (HGG-MYCN) sind eine weitgehend unbekannte, seltene aber höchst aggressive Art von kindlichen Hirntumoren. Das mittlere Erkrankungsalter der Patienten beträgt 8 Jahre und das mittlere Überleben sind weniger als 14 Monate. Ein besseres Verständnis und damit auch bessere Therapieoptionen sind somit dringend von Nöten. Hierfür haben wir vor kurzem das erste genetisch veränderte Mausmodell für diese Tumoren entwickelt und möchten dies nun nutzen, um die Tumorentstehung besser zu verstehen und neue Therapiekonzepte für diese fatale Erkrankung zu entwickeln. Molekular zeichnen sich diese Tumoren durch eine genetische Vervielfältigung von MYCN aus, über die genaue Natur dieser Veränderung ist allerdings bisher wenig bekannt. Andere Tumorarten mit dieser Art von MYCN Veränderungen sind Neuroblastome und Medulloblastome. In Neuroblastomen ist schon lange bekannt, dass das zusätzliche MYCN oft auf DNA Elementen außerhalb der Chromosomen (ecDNA) vorliegt und so zur Tumorentstehung und auch zur Therapieresistenz beiträgt. Auch für andere Tumorentitäten wurde eine Assoziation von ecDNA mit einem schlechteren Überleben beschrieben.

In diesem von der Hamburger Krebsgesellschaft geförderten Projekt wollten wir nun untersuchen, ob in unserem Mausmodell ec-DNA Elemente vorliegen und wie diese aufgebaut sind.

Um dieses Ziel zu erreichen haben wir als erstes versucht die genetische Amplifikation des MYCN Transgens, die wir in Kopienzahlprofile aus globalen Methylierungsdaten detektiert haben, sichtbar zu machen und ihre Lokalisation zu untersuchen. Wir haben hierfür spezielle DNA-Sonden anfertigen lassen und das Protokoll der Färbung hier etabliert. Leider konnten wir, obwohl wir das Protokoll etablieren konnten, die von uns benötigten Informationen nicht generieren. Dank der Förderung konnten wir aber einen zweiten Ansatz für den Nachweis von ecDNA Elementen verfolgen. Wir haben whole genome sequencing (WGS) Daten von drei Maustumoren generiert und mit Hilfe von speziellen bioinformatischen Tools ausgewertet. Hiermit konnten wir zeigen, dass in allen drei Maustumoren ecDNA Elemente vorhanden sind. Die inkludieren immer den Rosa26-Locus in dem das humane MYCN inseriert ist.

Als nächste Schritte für dieses Projekt planen wir nun WGS von mindestens sechs weiteren Maustumoren, um wiederkehrende strukturelle Elemente auf den ecDNA-elementen zu detektieren. Wir haben außerdem eine Zusammenarbeit mit Prof. Anton Henssen aus Berlin begonnen. Prof. Henssen ist ein Experte in ecDNA und wird uns bei der Analyse der Mechanismen in unserem Mausmodell unterstützen. Zusätzlich planen wir als nächste Schritte die Generierung einer FISH-Sonde für die ecDNA. Da wir dank der WGS-Daten die auf allen ecDNA Elementen vorkommende Sequenzen kennen, können wir dank dieser neuen Information eine FISH-Sonde designen und so die ecDNA doch noch sichtbar machen.

Wir möchten auch überprüfen, ob die für humane Tumore beschriebenen Kennzeichen von ecDNA auch in murinen Tumoren vorkommen.

In der Zukunft werden wir unser Mausmodell nutzen, um die Heterogenität in HGG-MYCN, aber auch anderen MYCN-getriebenen Tumoren, besser zu verstehen. Hier ist besonders auch die Frage nach der Veränderung in der Heterogenität nach der Therapie von Belang, da es für eine Heilung der Patienten entscheidend sein wird, die therapieresistenten Klone im Tumor zu identifizieren, um diese gezielt zusätzlich zur gewählten Ersttherapie anzugreifen.