

THEO DINGERMANN, ROLF MARSCHALEK, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE

Chromosomale Translokationen – Relevanz für akute Leukämien

INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE

Das Fach Pharmazeutische Biologie hat 1990 mit dem Generationenwechsel einen dramatischen Wandel vollzogen. Es war der Wille der Berufungskommission, dass fachuntypisch nicht etwa ein Naturstoffchemiker, sondern mit Prof. Dingermann ein Molekularbiologe auf die C4-Professur berufen wurde, um der auch im Fach Pharmazie immer stärker an Relevanz gewinnenden Molekularbiologie Rechnung zu tragen.

Der Schwerpunkt der Forschung lag seitdem auf dem Gebiet der genomischen Instabilität, die zunächst an dem Modellorganismus *Dictyostelium discoideum* erforscht wurde. Mit der Neuberufung von Prof. Marschalek und dem Ruf von Prof. Winckler an die Universität Jena wurde dieses Konzept weiterentwickelt, indem die Forschung an dem Protisten gänzlich nach Jena verlagert wurde und das Frankfurter Institut alle Mittel in das von Prof. Marschalek eingebrachte Forschungsthema „Chomosomale Translokationen und Akute Leukämie“ bündelte.

CHROMOSOMALE TRANSLOKATIONEN UND AKUTE LEUKÄMIE

Viele Leukämie-Erkrankungen werden durch spezifische, chromosomale Translokationen bedingt. In diesen chromosomalen Translokationen werden ganze Chromosomenarme zwischen verschiedenen Chromosomen ausgetauscht. In der Regel entstehen dadurch an den Fusionstellen chimäre Gene, die für funktionelle Fusionsproteine mit onkogenem Potential kodieren. Der Schwerpunkt unserer wissenschaftlichen Arbeit liegt derzeit in der Untersuchung der chromosomalen Translokation t(4;11)(q21;q23), die vorwiegend bei Säuglingen und Kleinkindern auftritt. Die dadurch bedingte Hochrisiko-Leukämie kann trotz intensivster Therapie nicht geheilt werden. Unsere Hauptinteressen liegen in der Aufklärung des Krankheitsmechanismus, sowie der Suche nach neuen Wirkstoffen, um die molekularen Krankheitsmechanismen zu inhibieren.

In den letzten Jahren konnten dazu wichtige *in vitro* und *in vivo* Testsysteme etabliert werden. Dadurch war es möglich, zum ersten Mal den onkogenen Mechanismus der t(4;11)-Translokation aufzuklären. Dabei wurden zwei Schlüsselprozesse entdeckt, die potentiell inhibierbar sind. Mit Hilfe dieser neuen Erkenntnisse, wurden bereits neue Projekte gestartet, um diese potentiell inhibitorischen Strategien auszuloten. Ein weiterer Ansatz innerhalb der Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Entstehung von chromosomalen Translokationen des *MLL* Gens. Dazu wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen verschiedene Hypothesen formuliert und untersucht. Auch in der Frankfurter Arbeitsgruppe konnte ein neuer Mechanismus entdeckt werden, der die genetische Instabilität des *MLL* Gens erklären kann. Weitere Arbeiten zu diesem Thema werden derzeit innerhalb der Arbeitsgruppe durchgeführt, um die grundlegenden Mechanismen von genetischer Instabilität zu untersuchen.

Ein weiterer Eckstein unserer Forschungsarbeiten war die Etablierung

THEO DINGERMANN, ROLF MARSCHALEK, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL BIOLOGY

Chromosomal translocations – relevance in acute leukemia

INSTITUT OF PHARMACEUTICAL BIOLOGY

The Institute of Pharmaceutical Biology undertook in 1990 a dramatic conceptual change. With Prof. Dingermann as successor of Prof. Schneider not the typical natural chemist but rather a molecular biologist was appointed, considering the fact that also in Pharmacy molecular biology was gaining conceptual and therapeutic significance.

The scientific activities concentrated from that time on aspects of genomic instability originally studied in the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*. With the appointment of Prof. Marschalek at the Frankfurt institute and the move of Prof. Winkler to the University of Jena, this scientific concept was further developed. All studies on *D. discoideum* were completely transferred to Jena and the Frankfurt institute combined all resources in the project, which Prof. Marschalek had initiated: "Chomosomal Translocations and Acute Leukemias".

CHROMOSOMAL TRANSLOCATIONS AND ACUTE LEUKEMIA

Most leukemic disease were caused by recurrent chromosomal translocations. Chromosomal translocations were caused by the illegitimate exchange of chromosomal material between non-homologous chromosomes. In nearly all cases, chimeric genes were created at the chromosomal fusion sites. They encode functional fusion proteins with oncogenic potential. The focus of our scientific work is the investigation of the chromosomal translocation t(4;11)(q21;q23), which is diagnosed mainly in infants and children. The resulting high-risk acute leukemia has a very poor prognosis. Therefore, the focus of our scientific work is to identify the molecular pathology of the leukemia disease mechanism in order to identify novel targets for drug development that inhibit the oncogenic mechanism.

During the last years, specific *in vitro* and *in vivo* model systems were established. This allowed us to unravel the oncogenic mechanism of t(4;11) translocations, and to unveil two key mechanisms that are important for the oncogenic transformation. This knowledge has been translated into novel projects, aiming to identify and test potential inhibitors that block the identified malignant pathways.

Another important issue of research is the investigation of mechanisms that lead to genetic rearrangements of the human *MLL* gene. Different research groups have posed different hypotheses, trying to explain the observed genetic instability of the human *MLL* gene. The group in Frankfurt has discovered a novel mechanism that explains - in part - the genetic instability of the human *MLL* gene. This knowledge has led to investigations that focusses on different molecular mechanisms that result in genetic instability.

Another milestone concerning *MLL* rearrangements was the establishment of the „Diagnostic Center of Acute Leukemia“ at the Frankfurt University. This diagnostic center is embedded in a European framework involving different study groups and diagnostic centers. A specialized technique, developed in our group, is used to isolate and characterize



des „Diagnostic Centers of Acute Leukemia“. Dieses Diagnostikzentrum ist in ein Europa-weites Netzwerk von Studienzentralen und Diagnostikzentren eingebunden. Mit einer in Frankfurt entwickelten Technik können so die Chromosomenfusionspunkte bei *MLL*-Leukämien aus dem Genom von Leukämiezellen identifiziert und molekular charakterisiert werden. Diese Patienten-spezifische DNA Sequenzen werden anschließend zur Bestimmung der Anzahl an residuellen Tumorzellen bei Leukämiepatienten unter und nach Therapie verwendet. Durch eine engmaschige Testung können so therapeutischer Erfolg und Mißerfolg präzise untersucht werden. Das Frankfurter DCAL spielt hierbei die Rolle des Referenzzentrums für viele prospektiven Studien.

Chromosomale Translokation sind typische Kennzeichen in akuten Leukämieerkrankungen. Eines der Gene, das besonders häufig in chromosomale Translokationen verwickelt ist, ist das *MLL* Gen. Dieses Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 11 und kodiert für ein ca. 4.000 Aminosäuren langes Kernprotein. Das MLL Protein ist essentiell für die Embryonalentwicklung und wird für verschiedene Differenzierungsvorgänge in unserem Körper benötigt. Durch die chromosomale Translokation wird dieses Gen mit einem von ca. 50 bislang bekannten Translokations-Partnergenen (TPG) über reziprok rekombiniert. Dadurch entstehen die beiden Fusionsgene *MLL*-TPG und *TPG*-*MLL*. Beide Fusionsgene werden in Fusionsproteine übersetzt und führen zu einer malignen Entwicklung der betroffenen Zellen. Aufgrund unseres heutigen Kenntnisstandes finden diese Vorgänge nur in den hämatopoietischen Stammzellen des Knochenmarks statt.

Die Anwesenheit dieser Fusionsproteine stört normale Entwicklungsvorgänge. Das bedeutet, dass Blutstammzellen nicht mehr in der Lage sind, bestimmte Differenzierungsvorgänge zu initiieren und aufrecht zu erhalten. Es entsteht ein sogenannter „prä-leukämischer Klon“, der sich durch die Akkumulation von weiteren Mutationen in eine „Leukämiezelle“ verwandeln kann. Ausgehend von solchen Leukämiezellen und ihres enormen Wachstumspotentials, entwickelt sich dann der Krankheitsphänotyp einer akuten Leukämie.

In unseren Forschungsarbeiten untersuchen wir die Funktionen dieser MLL Fusionsproteine. Dabei sind wir auf erste interessante Wirkprinzipien gestoßen, die es uns bereits jetzt erlauben, gezielt nach neuen Wirkstoffen zu suchen. Wir hoffen, dass wir in den nächsten Jahren erste Medikamente entwickeln können, die mit den pathologischen Wirkmechanismen der t(4;11) Leukämie interferieren können. Damit wären wir unserem Ziel, nämlich eine „molekulare Therapie“ zu entwickeln, einen wichtigen Schritt näher gekommen.

chromosomal fusion sites in leukemic cells carrying *MLL* rearrangements. These patient-specific DNA sequences are then used to detect and precisely quantify the amount of cancer cells („minimal residual disease“) in a given leukemia patient during and after therapy. By using several timepoints, therapeutic success or failure can be monitored. The Frankfurt DCAL plays the role of a reference center in several prospective studies.

Chromosomal translocations are a typical hallmark for acute leukemias. One of our genes is mostly affected. This gene is the *MLL* gene which is located on the long arm of chromosome 11 and encodes a nuclear protein of about 4.000 amino acids. The *MLL* protein is essentially involved in embryogenesis and many different differentiation processes of our body. Due to chromosomal translocations, the *MLL* gene is reciprocally recombined with as many as 50 different translocation partner genes (TPG), and thus, the fusion genes *MLL*-TPG and *TPG*-*MLL* were created in such events. Both fusion genes were translated into *MLL* fusion proteins that initiate the malignant process in the affected cells. Based on our knowledge, these affected cells are the hematopoietic stem cells (HSCs) in our bone marrow.

The presence of such fusion proteins disrupt or interferes with normal development. In case of HSCs, the presence of such *MLL* fusion proteins lead to a block of hematopoiesis and the creation of a „pre-leukemic clone“ that might be able to accumulate further mutations and then rapidly develop into a leukemic cell. These leukemic cells have a very high growth potential, and thus, the disease phenotype of an acute lymphoblastic leukemia develops very rapidly.

Our scientific work is focussed on functional aspects of those *MLL* fusion proteins. Progress is being made in understanding the pathologic effects of these *MLL* fusion proteins. This allows us to create first drugs that might interfere with the pathology of the t(4;11) leukemia. This would be a big step forward on our way to develop a molecular therapy for this deadly disease.



KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Theo Dingermann, Prof. Dr. Rolf Marschalek

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29650

E-Mail: dingermann@em.uni-frankfurt.de

Tel.: ++49 (0)69 798-29647

E-Mail: Rolf.Marschalek@em.uni-frankfurt.de

Fax: ++49 (0)69 798-29662

<http://www.biozentrum.uni-frankfurt.de/PharmBiol/>

LITERATUR / REFERENCES

Bursen A, Moritz S, Gaussmann A, Dingermann T, Marschalek R (2004). Interaction of AF4 wildtype and AF4•MLL fusion protein with SIAH proteins: indication for t(4;11) pathobiology? *Oncogene* **23**, 6237-6249.

Gaussmann A, Wenger T, Eberle I, Bursen A, Bracharz S, Herr I, Dingermann T, Marschalek R (2007). Combined effects of the two reciprocal t(4;11) fusion proteins MLL.AF4 and AF4.MLL confer resistance to apoptosis, cell cycling capacity and growth transformation. *Oncogene* **26**, 3352-3363.

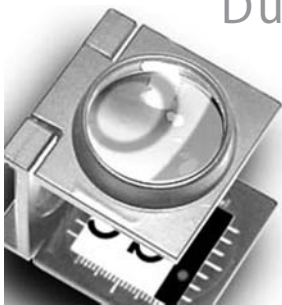
Scharf S, Zech J, Bursen A, Schraets D, Oliver PL, Kliem S, Pfitzner E, Gillert E, Dingermann T, Marschalek R (2007). Transcription links to recombination: a gene-internal promoter coincides with the recombination hotspot II of the human MLL gene. *Oncogene* **26**, 1361-1371.

Kowarz E, Burmeister T, Nigro LL, Jansen MWJC, Delabesse E, Klingebiel T, Dingermann T, Meyer C, Marschalek R (2007).

Complex MLL rearrangements in MLL•AF4+/AF4•MLL-leukemia patients conceal the presence of reciprocal MLL fusion genes. *Leukemia* **21**,1232-1238.

Marschalek R (2008). Etoposide-treatment and MLL rearrangements. *Eur J Haematol* **81**, 481-482.

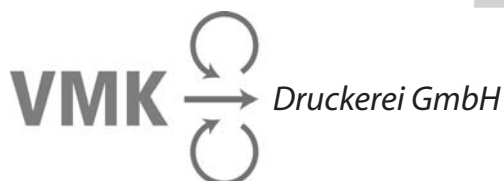
Wir haben den
Durchblick!



Sie erwarten

- KOMPETENZ
- ZUVERLÄSSIGKEIT
- INNOVATION...

...BEI UNS FINDEN SIE ALLES
 Hand in Hand mit unseren Kunden



Faberstraße 17 · 67590 Monsheim
 Tel.: 06243 / 909-110 · Fax: 909-100
 info@vmk-druckerei.de
 www.vmk-druckerei.de