

Um Ihnen einen detaillierten Einblick in den Förderbereich **Forschung und Weiterbildung** und das von uns unterstützte Projekt **«Bioinformatiker für Forschungsgruppe Kindliche Leukämien»** zu geben, erlauben wir uns aus dem Projektbericht von **Herr Prof. Dr. med. Jürg Schwaller** zu zitieren.

Bioinformatiker für Forschungsgruppe Kindliche Leukämien

Auszug aus dem verfassten Projektbericht 2023

Hintergrund:

Die rasante Entwicklung neuer molekularer Technologien erlaubt es heute in jeder einzelnen Zelle Profile aller geschriebenen Gene und zunehmend auch der produzierten Proteine zu bestimmen. Diese oft als «Omics» bezeichneten Technologien generieren sehr grosse Datensätze, welche oft nur von geschulten Bioinformatikern ausgewertet werden können. Es scheint, dass diese Entwicklung in der Schweiz strukturell fast etwas verschlafen wurde: so steht die «Core facility for Bioinformatics» am DBM mit weniger als 5 Stellen den Projekten von 70 Forschungsgruppen gegenüber. Wir sind deshalb wirklich sehr dankbar durch die grosszügige Unterstützung der Stiftung für krebskranke Kinder Basel, welche es erlaubte für 3 Jahre eine 80% Bioinformatiker Stelle in unserer Gruppe zu besetzen. Hier berichten wir über seine Aktivitäten in 3 ausgewählten Projekten, fokussiert auf das Jahr 2023, welche klar zeigen, welche Bedeutung die Bioinformatik für die Erforschung kindlicher Leukämien hat.

Was ist erreicht worden?

Projekt-1: Rolle der NFIA-ETO2 Fusion bei kindlicher Erythroleukämie

Wie im letzten Bericht ausführlicher dargestellt, wurde dieses Projekt mit einer Publikation in BLOOD, dem führenden Journal für Hämatologische Forschung erfolgreich abgeschlossen (1). In diesem Projekt hat der, von der SKKB unterstützte Bioinformatiker eine Reihe von «Multi-Omics» Analysen durchgeführt. Vereinfacht gesagt, wir haben das Muster der aktiven Gene mit der Organisation des Chromatins (Erbsubstanz im Zellkern) sowie mit der Bindung eines kindlicher Erythroleukämie assoziierten Fusionsproteins an Chromatin verglichen. Unsere Publikation wurde in einem «Editorial» kommentiert (Blood, 2023 May 4;141(18):2168-2170. doi:10.1182/blood.2023019856) und eine Illustration aus unserer Arbeit wurde für das Titelbild der Ausgabe des Journals ausgewählt.

Projekt-2: Initiation und Progression der akuten myeloischen Leukämie (AML)

Die akute myeloische Leukämie (AML) beim Kind wie auch beim Erwachsenen zeigt sich meist «aus heiterem Himmel». Wenn Symptome auftreten, haben die Krebszellen schon oft einen grossen Teil der normalen Blutbildung verdrängt. Um die präklinische Phase der AML studieren zu können sind wir deshalb auf Tiermodelle angewiesen. Hier haben wir ein von uns etabliertes Mausmodell verwendet, in welchem wir durch die Futter Zugabe des Antibiotikums Doxyzyklin (Dox) eine AML-induzierende Genfusion «iMLL-AFg» anstellen können, was innert ca. 80 Tagen zur Ausbildung einer der menschlichen AML sehr ähnlichen Krankheit führt (2). Die sogenannten MLL-Fusionen funktionieren als Gen Schalter, welche meist das Abstellen der Expression verhindern. Wie im vorherigen Bericht genauer ausgeführt, haben wir die AML-Entstehung in diesem Mausmodell mittels der sogenannten Einzel-Zell Gen-Expressionsanalyse untersucht. Dabei fanden wir, dass es bereits nach 10 Tagen zu signifikanten Veränderungen der Zellen

im Knochenmark kommt, es aber fast 2 Monate dauert, bis man die ersten Krebszellen morphologisch erkennen kann. Auf der molekularen Seite fanden wir am Tag 10 relativ geringe Veränderungen der Gen Expression. Interessanterweise geht das Auftauchen von Krebszellen im Knochenmark am Tag 60 mit der aberranten Expression von bis >1000 Genen einher, was uns vermuten lässt, dass die Progression mit der Aktivierung eines von der Fusion gesteuerten Netzwerkes einhergeht. Sowohl die neue Technologie wie auch die Auswertung der generierten Daten waren eine Herausforderung, nicht nur für unseren Bioinformatiker, sondern auch für die Mitarbeiter der «DBM Bioinformatics Core Facility». Die Daten bildeten das Rückgrat eines Forschungsantrages an den Schweizerischen Nationalfonds (SNSF), welche wir erfolgreich einwerben konnten. Um Gene, welche für die Progression der AML wichtig sind zu identifizieren, haben wir unsere Daten mit einer Vielzahl öffentlich zugänglichen Datensätzen verglichen, wie zum Beispiel mit der «DepMap», einer Datenbank, welche Hinweise zu molekularen Abhängigkeiten von Krebszellen (inklusive AML) gibt. Im Weiteren haben wir aberrant angestellte Gene vom Mausmodell mit Expressionsmuster einer grossen Anzahl AML Patienten verglichen, was es uns erlaubte 38 Kandidaten Gene zu definieren, welche wir dann mittels Gen-Schere («Crispr/Cas9») in AML Zellen von Maus und Mensch funktionell validiert haben. Dabei haben wir ein Gen gefunden, welches bisher kaum in Verbindung mit AML gebracht wurde. Die erst kürzlich durchgeführten Experimente, in welchen wir die Gen Expressionsmuster vor und nach Inaktivierung unseres Kandidatengens in AML Zellen verglichen haben, lassen vermuten, dass dieses Gen nicht nur für die Erhaltung der durch MLL-Fusionen induzierten AML sondern für eine weit grössere Anzahl Formen der Krankheit essentiell sein könnte. Obwohl dieses Projekt viel länger dauert als initial geplant, konnten wir wichtige Daten generieren, wobei wieder einmal die Bioinformatik für deren Auswertung essential war. Wir hoffen unsere Resultate bis Ende 2024 zur Publikation einreichen zu können.

Projekt-3: Charakterisierung der EVI1+ MLL-AF9 AML aus Blutstammzellen

Bei einer neu auftretenden AML kann man oft nicht sagen, in welcher Zelle des blutbildenden Systems sich die Krankheit-auslösende Mutation zuerst bildet. In der Mehrzahl der AML mit MLL-Fusion scheint die Mutation v.a. in den schneller teilenden sogenannten «myeloischen Vorläuferzellen» aufzutreten. Unsere eigenen Daten mit dem iMLL-AF9 Mausmodell sprechen dafür, dass in etwa 10-20% der Fälle, die Mutation aber die Blutstammzellen befällt, was dann zu einer besonders aggressiven Krankheitsform führt (2). In dieser aus Blutstammzellen entstehenden AML findet sich oft die Expression eines anderen Genschalters, genannt «EVI1». In einer Vielzahl von Experimenten fanden wir, dass bestimmte exogene Faktoren wie zum Beispiel das Zytokin Thrombopoietin (TPO) die Anzahl der EVI1+ Blutstammzellen reguliert. Das Anstellen der iMLL-AF9 Fusion nach einer einzigen Gabe von TPO führt zu einer hoch aggressiven EVI1+ AML. Mittels verschiedener molekularer Analysen, welche von unserem Bioinformatiker ausgewertet wurden, konnten wir mögliche Effektor Gene in den EVI1+ AML Zellen bestimmen. Durch das Abgleichen der Expressionsmuster der Maus AML in verschiedenen öffentlich zugänglichen Datenbanken («TARGET», «BEAT») mit einer grossen Anzahl Expressionsmuster von Patienten mit AML, fanden wir 3 gemeinsame Gene: EVI1, INPP4B, und IL12RB2, welche mit einem schlechteren Überleben der Patienten verbunden sind. Im Gegensatz zu INPP4B, welches für ein Signalübertragendes Molekül kodiert, das schon in früheren Studien mit AML in Verbindung gebracht worden ist, ist die Verbindung von IL12RB2 zu AML unerwartet. IL12RB2 kodiert für einen Teil der Oberflächenrezeptoren der Zytokine IL12 und IL35, welche beide v.a. durch ihre Rolle in der Immunantwort bekannt sind. Bei der Validierung der Gene in EVI1+ und EVI1- AML Zellen fanden wir, dass die Reduktion von IL12RB2 auch die Menge von EVI1 reduzierte, was für einen, bisher nicht bekannten Regulationsmechanismus spricht. Wir sind daran diese Resultate zur Publikation einzureichen (3).

Zusammenfassung:

Wie aus den kurzen Projektbeschreibungen erkenntlich, ist die bioinformatische Datenanalyse essentiell für molekulare biomedizinische Forschung. Da es schwierig ist strukturelle Stellen dafür zu generieren, und da die «DBM core facility» mit 5 Leuten nicht alle Projekte von >70 Forschungsgruppen analysieren kann, sind wir der Stiftung für krebskranke Kinder, Basel sehr dankbar für die Unterstützung der Stelle (80%) unseres Bioinformatikers, während der letzten drei Jahre. Wir konnten dadurch Studien erfolgreich abschliessen und publizieren (Projekt 1), neue Unterstützung einwerben (Projekt 2) und generell alle Projekte weiterbringen, um diese erfolgreich abzuschliessen. Durch die Unterstützung der Bioinformatikerstelle in unserer Gruppe hat die Stiftung für krebskranke Kinder Basel nicht nur geholfen, die Grundlagenforschung der kindlichen Leukämien signifikant voranzutreiben, sondern indirekt auch den wissenschaftlichen Nachwuchs gefördert: so waren/sind in allen Projekten PhD Studenten die treibenden Kräfte, wovon 2 schon erfolgreich promoviert haben.

Literatur:

1. Piqué-Borràs M, Jevtic Z, Bagger FO, Séguin J, Sivalingam R, Filgueira Bezerra M, Louwagie A, Juge S, Nellas I, Ivanek R, Tzankov A, Moll UM, Cantillo O, Schulz-Heddergott R, Fagnan A, Mercher T, Schwaller J. The NFIA-ETO2 fusion blocks erythroid maturation and induces pure erythroid leukemia in cooperation with mutant TP53 *Blood*, 2023 May 4;141(18):2245-2260. doi:10.1182/blood.2022017273.
2. Stavropoulou V, Kaspar S, Brault L, Sanders MA, Juge S, Morettini S, Tzankov A, Iacovino M, Lau IJ, Milne TA, Royo H, Kyba M, Valk PJM, Peters AHFM, Schwaller J. MLL-AFg Expression in Hematopoietic Stem Cells Drives a Highly Invasive AML Expressing EMT-Related Genes Linked to Poor Outcome. *Cancer Cell*. 2016 Jul 11;30(1):43-58. doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.011.
3. Châtel-Soulet H-E, Juge S, Pereira AL, Seguin J, El Taher A, Geyer F, Jevtic Z, Otzen Bagger F, Almosaileakh M, Tzankov A, Tong W, Kurokawa M, Nombela Arrieta C, Schwaller J. Increased susceptibility for aggressive EVI1+ HSC regulator-expressing KMT2A-MLLT3- driven AML by exogenous thrombopoietin (submitted).

Herr Prof. Dr. med. Jürg Schwaller
Universitäts-Kinderspital beider Basel (UKBB)
Departement Biomedizin