

Apoptose-Resistenz ist einer der wichtigsten pathogenen Mechanismen in der Entwicklung der Chronisch Lymphatischen Leukämie (CLL). Verschiedenste Signalwege sind hierbei aktiviert, welche die Viabilität der CLL-Zellen aufrechterhalten. Resistenz gegenüber Todesrezeptor-vermittelten Apoptose-Signalen, z. B. FAS, stellt dabei einen entscheidenden Aspekt dar. Kürzlich konnte TOSO (auch FAS-Apoptose inhibierendes Molekül 3 - FAIM3) von unserer Gruppe als spezifisch in der CLL überexprimiertes Protein, verglichen mit gesunden B-Zellen und anderen B-Zell-Lymphomen, identifiziert werden. Es wird angenommen, dass TOSO einen anti-apoptotischen Effekt ausübt. Allerdings muss seine biologische Relevanz für B-Zellen *in vivo* dringend noch erforscht werden. Weiterhin ist noch nicht geklärt, wie TOSO reguliert und warum es in den verschiedenen B-Zell Entitäten so extrem heterogen exprimiert wird. Interessanterweise konnte erhöhte TOSO-Expression mit fortschreitender CLL assoziiert werden. Dies schließt auch den unmutierten Status der IgV_H-Gene des B-Zell-Rezeptors (BZR) mit ein. Der BZR ist eine treibende Kraft in B-Zell-Malignitäten. Untersuchung der TOSO-Expression nach Aktivierung des BZR ergab einen Anstieg an Oberflächen-exprimiertem TOSO.

Bis heute wurde der TOSO-Promoter noch nicht beschrieben. Daher wurde in dieser Arbeit die TOSO-proximale Region genauer untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, dass diese Region Promoteraktivität ausübt. *In silico*-Analysen und phylogenetisches ‚Footprinting‘ ermittelten zudem die Existenz von Bindestellen für die Transkriptionsfaktoren NF- κ B und BCL6. In dieser Arbeit konnte weiterhin gezeigt werden, dass die TOSO-Hochregulierung nach Aktivierung des BZR, auf direkter Bindung von NF- κ B und BCL6 an den TOSO-Promoter beruht. Luciferase-Reporter-Analysen konnten NF- κ B, u. a. mittels gezielter Mutagenese, als neuen Induktor der TOSO-Expression identifizieren. Die Bindung von BCL6, nachgewiesen via Chromatin-IP und Luciferase-Analysen, führte hingegen zur Repression der TOSO-Promoteraktivität.

Obwohl nun erklärt werden kann, wie TOSO durch den BZR reguliert wird, ist der Grund für seine deutlich geringere Expression in normalen B-Zellen und anderen B-Zell-Lymphomen weiterhin unklar. Die hier präsentierten Daten demonstrieren erstmals, dass DNA-Methylierung im TOSO-Promoter für die geringen Proteinlevel verantwortlich sind. DNA-Hypomethylierung des TOSO-Promoters erweist sich als auffälliges Merkmal der CLL, während B-Zellen gesunder Spender über einen

hypermethylierten Promoter verfügen. Tatsächlich spielt Methylierung im TOSO-Promoter eine wichtige Rolle, da sie ebenso in anderen, TOSO gering-exprimierenden B-Zell-Lymphomen nachgewiesen werden konnte.

Um TOSO funktionell einzuordnen wurde via CD19-Cre-vermittelter Rekombination ein B-Zell-spezifisches TOSO Knockout-Mausmodell generiert. Peripheres Blut der TOSO-defizienten Mäuse wiesen verringerte B-Zellzahlen auf, während andere Zellen, wie z. B. NK- und T-Zellen, nicht betroffen waren. mRNA-basierte Microarray-Analysen ergaben erstmals ein TOSO-abhängiges Genexpressionsprofil. Es konnten fast 500 Gene identifiziert werden, die eine Deregulation als Folge der TOSO-Depletion aufwiesen. Besonders auffällig waren zwei Moleküle: der das Überleben fördernde Rezeptor des B-Zell-Aktivierungsfaktors (BAFF-R) und der Migrationsfaktor C-X-C Chemokin-Rezeptor Typ 5 (CXCR5), die auch dafür bekannt sind in der CLL-Pathogenese eine wichtige Rolle zu spielen. Die TOSO-Deletion verursachte in den murinen B-Zellen eine Reduktion von BAFF-R und CXCR5, was initial zu verminderter Migration oder gestörter Formation der B-Zell-Follikel führen könnte. B-Zell-Follikel liefern normalerweise das Überleben fördernde Signale und initiieren Zellproliferation und -differenzierung. Zudem ist bekannt, dass der Verlust der Rezeptorfunktion von BAFF-R zu einer Deprivation von B-Zellen führt, die von einem Mangel an BAFF-R-vermittelten Überlebenssignalen herrührt. Somit könnten diese Ergebnisse eine neue Funktion von TOSO bei der Migration, im Überlebens-Signaling und in der Blutzellen-Homöostase darstellen.

Zusammengefasst zeigt diese Arbeit, wie TOSO in gesunden und malignen B-Zellen reguliert wird und identifiziert neue TOSO-Funktionen, welche einen essenziellen Schritt zur Aufklärung der molekularen Gründe für die Entwicklung einer CLL darstellen.