

ZUSAMMENFASSUNG I

Die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) und die Bruton-Tyrosinkinase (BTK) spielen Schlüsselrollen in der Pathogenese der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL). Aberrante Signaltransduktion über den B-Zell-Rezeptor mit hochregulierter Aktivität von BTK und konstitutiver Aktivierung des PI3K/AKT Signalweges ist eine treibende Kraft für die Apoptose-Resistenz von malignen B-Zellen in der CLL. Die pharmakologische Hemmung von PI3K und BTK durch niedermolekulare Inhibitoren stellt eine vielversprechende Therapieform in der CLL da. Trotz klinischer Erfolge konnte jedoch eine Verbesserung der Isoform-Selektivität von PI3K Inhibitoren deren Effizienz erhöhen.

In dieser Arbeit wurde überprüft, ob eine duale Hemmung der PI3K α - und der PI3K δ -Isoform durch Copanlisib, einem neuen pan-Klasse-I-Inhibitor, eine erhöhte, zelltypspezifische

Wirksamkeit gegenüber dem PI3K δ -selektiven Inhibitor Idelalisib zeigt. Zwar reduzierte Copanlisib das Überleben von CLL Zellen in vitro 10-mal stärker als Idelalisib, insgesamt zeigen PI3K-Inhibitoren, wie auch die BTK-Inhibitoren Ibrutinib und Dasatinib jedoch erst bei klinisch nicht erreichbaren Konzentrationen eine nennenswerte direkte Zytotoxizität in vitro. Die wesentliche Inhibitor-Wirkung beruht auf einer Beeinträchtigung des Dialogs zwischen malignen B-Zellen und dem Tumor-Mikromilieu. Dies zeigt die Hemmung der Chemotaxis von CLL Zellen zu CXCL12 durch wesentlich niedrigere, klinisch erreichbare Konzentrationen durch diese Inhibitoren.

Zusammenfassend zeigt dieser Teil der Arbeit, dass Inhibitoren von PI3K und BTK einen geringeren Einfluss auf das direkte Überleben maligner B-Zellen haben als auf Zellfunktionen mit Bedeutung für deren Interaktion mit dem umgebenden Mikromilieu. Aus der erhöhten direkten Zytotoxizität gegen maligne B-Zellen und effizienter Beeinträchtigung ihrer Zellmigration durch Copanlisib und Duvelisib kann man schließen, dass der Angriff mehrerer PI3K-Isoformen auch klinisch von Vorteil sein könnte.

ZUSAMMENFASSUNG II

Inhibitoren von BTK entwickeln sich zu einer neuen Behandlungsmöglichkeit für B-Zell-Neoplasien mit großem Potential. Die molekularen Grundlagen dieses klinischen Erfolgs werden hingegen erst unvollständig verstanden.

CLL Patienten, die mit dem kovalenten BTK Inhibitor Ibrutinib behandelt wurden, zeigten in einigen Fällen eine Behandlungsresistenz, die auf eine Punktmutation im BTK Gen

zurückgeführt werden konnte. Hierbei war der Cystein-Rest in der ATP Bindetasche, C481S, betroffen, an den Ibrutinib kovalent bindet.

Um die funktionellen Beiträge von BTK in Zelllinien-Modellen von B-Zell-Neoplasien zu bewerten, wurden gezielte Punktmutationen an der Bindetasche von BTK eingeführt, die zu inhibitor-resistenten Mutanten dieser Tyrosinkinase führten. Diesem chemischgenetisch Ansatz liegt zu Grunde, dass in BTK C481S bzw. -T474I jeweils die Bindung des kovalenten bzw. reversiblen Inhibitors Ibrutinib bzw. Dasatinib sterisch beeinträchtigt ist. Durch die Expression der inhibitor-resistenten BTK-Mutanten in malignen B-Zelllinien blieb die aktivierende Autophosphorylierung an BTK-Tyr-223 in Gegenwart des zugehörigen Inhibitors im Vergleich zu BTK-Wildtyp exprimierenden Zellen erhalten. Dies machte die chemisch-genetische Bewertung von Zellfunktionen möglich. In Ramos bzw. Nalm-6 Zellen zeigte die chemisch-genetische Evaluierung, dass BTK am zellularen Wachstum und Überleben nicht funktionell beteiligt war, jedoch an der Sekretion des Chemokins CCL3 durch Ramos Zellen bzw. an der Chemotaxis von Nalm-6 Zellen zu CXCL12. Dies zeigt, dass BTK potenziell eine Rolle im Zusammenspiel von malignen B-Zellen und ihrem Tumormikromilieu spielt.