

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie

Charité - Virchow-Klinikum

(Direktor: Prof. Dr. med. B. Dörken)

HABILITATIONSSCHRIFT

**Antiapoptotische Proteine als
Prognosemarker und
Resistenzmechanismen
bei Akuten Myeloischen Leukämien**

zur Erlangung der Venia legendi

für das Fach Innere Medizin

an der medizinischen Fakultät der Charité

Universitätsmedizin Berlin

vorgelegt von

Dr. med. Ingo Tamm

aus Kiel

Gutachter: 1. Herr Prof. Dr. St. Burdach/München
2. Herr Prof. Dr. A. Ganser/Hannover

Datum des öffentlich-wissenschaftlichen Vortrages: 23.01.2006

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung – Die Problematik	4
1.1	Klinische Relevanz der Apoptoseforschung	4
1.2	Die Bcl-2 Familie: Induktoren und Blocker des Apoptoseprogramms	7
1.3	Caspasen: Killer-Proteasen	12
1.4	Inhibitoren der Apoptose: Der Name ist Programm	15
2	Hauptteil – Eigene Arbeiten	22
2.1	Inhibitoren der Apoptose: molekulare und zellbiologische Funktion	22
2.1.1	Survivin blockiert Apoptosestimuli durch Inhibierung von Caspasen	22
2.1.2	Bedeutung der Apoptoseforschung für die klinische Hämatologie	22
2.1.3	Nicht alle BIR-Domänen sind funktionell gleichwertig	22
2.1.4	Hepatitis B X-interacting factor als Kofaktor für Survivins Funktion	22
2.2	Inhibitoren der Apoptose: prognostische Bedeutung	25
2.2.1	Inhibitoren der Apoptose bei kindlicher akuter myeloischer Leukämie	25
2.2.2	XIAP bei de novo akuter myeloischer Leukämie	25
2.2.3	Inhibitoren der Apoptose bei akuter myeloischer Leukämie	25
2.3	Inhibitoren der Apoptose: therapeutische Implikationen	28
2.3.1	Peptide binden spezifisch Inhibitoren der Apoptose	28
2.3.2	Zellzyklus-Inhibitoren induzieren Apoptose	28
2.3.3	Antisense-Konstrukte gegen Inhibitoren der Apoptose	28
3	Ausblick und kritische Würdigung	31
4	Zusammenfassung: Abstrakt	33

5	Literaturverzeichnis	35
6	Abkürzungsverzeichnis	45
7	Danksagungen	46
8	Eidesstattliche Erklärung	47
9	Anhang: im Hauptteil aufgeführte eigene Arbeiten	48

6 Abkürzungsverzeichnis

ALL	Akute Lymphatische Leukämien
AML	Akute Myeloische Leukämie
APAF-1	Apoptosis protease activating factor 1
AS-ODN	Antisense oligonucleotide
B-CLL	Chronische lymphatische Leukämie vom B-Zelltyp
Bcl-2	B cell lymphoma 2
BIR	Baculovirus inhibitory repeat
Bcl-XL	B cell lymphoma extra long
CARD	Caspase recruitment domain
Cdk 4	Cyclin-dependent kinase 4
C. elegans	Caenorhabditis elegans
CIAP1/2	Cellular inhibitor of apoptosis protein 1/2
DD	Death domain
DED	Death effector domain
DISC	Death-inducing-signaling-complex
DNA	Desoxyribonucleic acid
FADD	Fas-activated death domain
FLIP	Flice/caspase-8 inhibitory protein
IAP	Inhibitor of apoptosis protein
MRNA	Messenger RNA
MALT	Mucosa associated lymphatic tissue
NAIP	Neuronal apoptosis inhibitory protein
NF-kB	Nuclear factor-kappa B
PCR	Polymerase chain reaction
RING	Really interesting new gene
Smac	Second mitochondria-derived activator of caspase
tBID	Truncated BID
TNF	Tumor necrosis factor
TRAF	TNF-Receptor activating factor
XAF-1	XIAP-associated factor
XIAP	X-inhibitor of apoptosis

7 Danksagung

Herrn Prof. Dr. John C. Reed, CEO des Burnham Instituts, La Jolla in Kalifornien, USA, danke ich für die molekular- und zellbiologische Ausbildung, die mich in diesen Bereich der Forschung eingeführt und mir neue Sichtweisen ermöglicht hat.

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. B. Dörken, Ärztlicher Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie des Virchow-Klinikums für die klinische Ausbildung und der Ermöglichung der Forschungsaktivitäten.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern meiner Arbeitsgruppe danke ich für ihren Einsatz, die Entwicklung eines neuen Forschungslabors voranzubringen.

Ich bedanke mich bei den verschiedenen nationalen und internationalen Kooperationspartnern, die meine Forschung durch das Bereitstellen von Fachwissen und Reagenzien über viele Jahre unterstützt haben.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Mildred-Scheel-Stiftung und der Deutschen Jose-Carreras Leukämie-Stiftung danke ich für die grosszügige Unterstützung verschiedener Forschungsprojekte sowie Drittmittelfinanzierung von Personalstellen in meiner Arbeitsgruppe.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinem früheren Chef, Herrn Prof. Dr. med. R. Mertelsmann, Ärztlicher Direktor der Medizinischen Klinik, Abteilung für Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinik Freiburg, der in mir das Interesse für das Fach und seine wissenschaftlichen Aspekte geweckt hat.

Ich bedanke mich bei meiner Familie und meinen Eltern, die mich zu jeder Zeit sehr unterstützt haben.

8 Eidstattliche Versicherung

gemäss der Habilitationsordnung der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- keine staatsanwaltschaftlichen Ermittlungsverfahren gegen mich anhängig sind,
- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen wurden, sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlerinnen oder Wissenschaftlern und technischen Hilfskräften und die Literatur vollständig angegeben sind,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, 8. Februar 2005

Dr. med. Ingo Tamm

9 Anhang

Im Hauptteil aufgeführte eigene Arbeiten

Tamm I, Richter S, Oltersdorf D, Creutzig U, Harbott J, Scholz F, Karawajew L, Ludwig W-D, Wuchter C (2004) High expression levels of X-linked inhibitor of apoptosis protein and survivin correlate with poor overall survival in childhood de novo acute myeloid leukemia. *Clin Canc Res* 10: 3737-3744 (69)

Tamm I, Richter S, Scholz F, Schmelz K, Oltersdorf D, Karawajew L, Schoch C, Haferlach T, Ludwig W-D, Wuchter C (2004) XIAP expression correlates with monocytic differentiation in adult de novo AML: impact on prognosis. *Hematol J* 5: 489-495 (98)

Marusawa H, Matsuzawa S, Welsh K, Zou H, Armstrong R, **Tamm I**, Reed JC (2003) HBXIP functions as a cofactor of surviving in apoptosis suppression. *EMBO J* 22:2729-2740 (77)

Tamm I, Trepel M, Cardo-Vila M, Sun Y, Welsh K, Cabezas E, Swatterthwait A, Arap W, Reed JC, Pasqualini R (2003) Peptides targeting caspase inhibitors. *JBC* 278:14401-14405 (100)

Tamm I, Schumacher A, Karawajew L, Ruppert V, Arnold W, Nüssler AK, Neuhaus P, Dörken B, Wolff G (2002) Adenovirus-mediated gene transfer of p16INK4/CDKN2 into bax-negative colon cancer cells induces apoptosis and tumor regression in vivo. *Canc Gene Ther* 9:641-650 (113)

Tamm I, Dörken B, Hartmann (2001) Antisense therapy in oncology: new hopes for an old idea? *Lancet* 358:489-497 (18)

Tamm I, Schriever F, Dörken B (2001) Apoptosis: implications of basic research for clinical oncology. *Lancet Oncol* 2:33-42 (5)

Tamm I, Segall H, Kitada S, Scudiero DA, Tudor G, Myers T, Monks A, Andreeff M, Reed JC (2000) Expression of IAP-family genes in human cancers and leukemias. *Clin Canc Res* 6:1796-1803 (97)

Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC (1998) IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), bax, caspases, and anticancer drugs. *Canc Res* 58:5315-5320 (95)

Takahashi R, Deveraux Q, **Tamm I**, Welsh K, Assa-Munt N, Salvesen GS, Reed JC (1998) A single BIR Domain of XIAP sufficient for inhibiting caspases. *JBC* 273:7787-7790 (50)