

## **Zusammenfassung und Ausblick**

Das Ziel dieser Dissertation war, MYCN abhängige und –unabhängige Prozesse im Rahmen von Tumorentstehung und Tumorthherapie *in vitro* und *in vivo* zu modellieren.

Beim Neuroblastom, dem häufigsten soliden, extrakraniellen Tumor des Kindesalters, ist im Rahmen von Tumorentstehung und Tumorthherapie, in 20% der Tumore eine Amplifikation des Onkogens MYCN beschrieben. MYCN Amplifikation ist mit aggressivem Tumorwachstum und einer schlechten Prognose für den Patienten assoziiert. Bei normalem MYCN Status ist eine Risikoeinschätzung schwierig. Analysen von mRNA Profilen primärer Neuroblastome führten in dieser Arbeit zur Identifikation von JARID1C als MYCN unabhängigen prognostischen Marker. JARID1C ist eine Histondemethylase, welche tri- und dimethyliertes H3K4 erkennt und die Methylreste entfernt. In allen getesteten Neuroblastomzelllinien führte eine Inhibition der JARID1C Funktion zu einem Anstieg apoptotischer und dem Abfall proliferativer Zellen. Hierzu wurde JARID1C-spezifische siRNA, und Pbit, einen kürzlich identifizierten JARID1C Inhibitor eingesetzt. Die JARID1C Expression wurde als essentiell für das Überleben von Neuroblastomzellen unabhängig vom MYCN Status nachgewiesen.

Durch die Kreuzung transgener Mäuse mit konditional aktivierbarem MYCN (Lsl-MYCN) und Mäusen, die gewebespezifisch die Cre-Rekombinase exprimieren, wurde MYCN gezielt in diesen Zellen herauf reguliert. In doppelt-transgenen GFAP-Cre;Lsl-MYCN Mäusen kam es zu einer konditionaler Überexpression von MYCN in pankreatischen  $\alpha$ -Zellen, wodurch sich Glukagonome entwickelten. Neben Glukagonomen bildeten einige Tiere auch Hypophysenadenome aus. Tiere mit pankreatischen Tumoren zeigten eine positive Glukagonreaktion im Tumorgewebe sowie erhöhte Werte von Plasma-Glukagon, während Insulinwerte unverändert blieben. Die Tumore zeigten keine chromosomalen Aberrationen und wenige signifikant auf mRNA Ebene regulierte Gene. Aus einem Glukagonom wurden Zelllinien etabliert, die auf eine MYCN Inhibition durch den Brd4 Inhibitor JQ1 und den Aurorakinase A Inhibitor MLN 8237 sensibel reagierten. Das Tumorwachstum von Xenografts dieser Zellen wurde durch beide Inhibitoren signifikant reduziert. Serielle Transplantationen dieser Zelllinien führten zu einer erhöhten Resistenz gegen MYCN-gerichtete Therapien. Somit wurde in dieser Arbeit erstmals ein transgenes Modell für Glukagonome und Hypophysenadenome entwickelt. Neben dem Einsatz zur Überprüfung MYCN-gerichteter Therapien kann dieses Tiermodell auch zur Untersuchung der Biologie neuroendokriner Tumore genutzt werden.

## Abstract

This thesis was aiming to model MYCN dependent and independent processes *in vitro* and *in vivo*.

In neuroblastoma, the most common, extracranial childhood malignancy, the oncogene MYCN is amplified in 20% of tumors. MYCN Amplification is associated with aggressive progression and poor outcome. Risk assessment in patients with normal MYCN status remains difficult. Analyses of mRNA expression profiles from primary neuroblastomas resulted in the identification of JARID1C as a prognostic marker for aggressive neuroblastoma independent of the MYCN amplification status. JARID1C is a histone demethylase, detecting and removing trimethyl and dimethyl residues of lysines at the position 4 of histone 3 (H3K4). The JARID1C expression is essential for neuroblastoma cell survival. An inhibition of JARID1C resulted in an increased fraction of apoptotic cells and a decreased number of proliferative cells in all cell lines tested. For the inhibition of JARID1C function, JARID1C specific siRNA and Pbit, a recently discovered small-molecule inhibitor, was applied.

Cross-breeding of transgenic mice with conditional expression of MYCN (Lsl-MYCN) with mice expressing tissue-specific Cre recombinase, MYCN was upregulated in these cells. In double-transgenic GFAP-Cre;Lsl-NMYC mice, this led to a conditional overexpression of MYCN in pancreatic  $\alpha$ -cells, resulting in the development of glucagonoma. Apart from glucagonoma, some animals developed pituitary adenoma. Animals with pancreatic tumors showed a positive reaction for glucagon in tumor tissue and increased levels of blood glucagon, while insulin levels remained unchanged. The tumors showed only a few significantly regulated mRNAs and no chromosomal aberrations.

Cell lines established from a glucagonoma responded to targeted inhibition of MYCN using the Brd4 inhibitor JQ1 and the Aurora kinase A inhibitor MLN 8237. Growth of xenografted tumor cells was also significantly decreased upon inhibitor treatment, while serial transplantation induced resistance against JQ1 and MLN 8237. This thesis presents the first transgenic mouse model for glucagonoma and pituitary adenoma. Besides using the animal model for further investigations of MYCN-directed therapies, it may also foster the understanding of the biology of neuroendocrine tumors