

Az akut mieloid leukémia genetikai és patológiai sajátosságai

RAJNAI HAJNALKA, KIRÁLY PÉTER ATTILA

Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

Levelezési cím:

Dr. Rajnai Hajnalka, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.
Tel.: +36 20 374 50 65,
e-mail: rajnai.hajnalka@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2016. február 15.

Elfogadva:

2016. március 20.

A molekuláris genetika robbanásszerű fejlődése a malignus myeloid neopláziák heterogenitásának hátterében számos visszatérő genetikai eltérést tárt fel. E mutációk felfedezése, majd ezt követően széleskörű prognosztikai vizsgálata fontos előrelépést jelentett az akut myeloid leukémia (AML) klinikai heterogenitásának megértésében. Jelen közleményünkben összefoglaljuk a *de novo* és szekunder AML kialakulásának hátterét, illetve a betegség progressziójához és a relapsushoz vezető tényezőket. AML-ben bizonyos gének eltéréseinek vizsgálata a mindennapi diagnosztika fontos részévé vált. Segítségükkel a betegek individuális rizikóbesorolása válik lehetővé, továbbá e mutációk terápiás célpontokat is jelenthetnek. *Magy Onkol* 61:21–28, 2017

Kulcsszavak: akut myeloid leukémia, genetikai háttér, klonális heterogenitás

The recent advances in the field of molecular biology have enabled a more comprehensive genomic analysis in myeloid malignancies. The studies have unveiled recurrent somatic mutations in several genes illuminating the clinical heterogeneity of these diseases. In this review, we discuss the pathogenesis of de novo and secondary acute myeloid leukemia (AML) in view of recent findings. Mutational analysis of several genes are already included in the everyday diagnostic procedure of AML. The identification of these mutations enables improvements in risk-stratification strategies and provides new potential targets for treatment of AML.

*Rajnai H, Király P. Pathogenesis and genetic landscape of acute myeloid leukemia. *Magy Onkol* 61:21–28, 2017*

Keywords: acute myeloid leukemia, genetic background, clonal heterogeneity

BEVEZETÉS

Az AML egy heterogén, agresszív betegségcsoport, melyre a mieloid sejtek differenciációjának különböző szintű gátlása és kontrollálatlan proliferáció jellemző. A csecsemőkori AML incidenciája 1,5/100 000, mely 1–4 év között 0,9/100 000-re csökken, az 5–9 éves korosztályban kissé emelkedik, itt az incidencia 1,4/100 000. Ezt követően felnőttkorban fokozatosan emelkedik, 65 év felett az incidencia 16,2/100 000 (1). Az esetek nagy része *de novo* alakul ki, míg 20–25%-ban más mieloid betegség transzformációja során fordul elő. A szekunder AML közel fele mielodiszpláziás szindróma (MDS), mintegy 27%-a mieloproliferatív daganat (MPN) transzformációja kapcsán lép fel, míg a maradék 24% terápiához társult szekunder AML (2). A 2008-as WHO-beosztás visszatérő genetikai abnormalitásokkal társuló, diszpláziás vonásokkal társuló, illetve terápiaasszociált, valamint máshogy nem osztályozható kategóriákat különít el (1. táblázat) (3). Ez utóbbi kategóriában a sejtek differenciáltsági foka és iránya alapján határozzuk meg altípusát (megfelel a French–American–British (FAB) klasszifikációnak) (1. ábra).

Az AML diagnózisa komplex hisztológiai, citológiai, áramláscitometriai, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatokon alapul (2. táblázat). Diagnózisának felállításához a perifériás vérben és/vagy a csontvelőben 20% feletti blasztarány (illetve blasztekvivalens sejt) jelenléte szükséges, azonban bizonyos esetekben – visszatérő transzlokációk

1. TÁBLÁZAT. Az akut mieloid leukémia 2008-as WHO-klasszifikációja

AML, visszatérő genetikai eltérésekkel t(8;21) AML-ETO (RUNX1-RUNX1T1) inv(16) vagy t(16;16) CBFβ-MYH1 t(15;17) PML-RARA t(9;11) MLLT3-MLL t(6;9) DEK-NUP214 inv(3) vagy t(3;3) RPN-EV1 t(1;21) RBM15-MKL1 Provizionálisan: AML NPM1-mutációval Provizionálisan: AML CEBPA-mutációval
AML, mielodiszpláziás vonásokkal
AML, terápiaindukált
AML, nem klasszifikálható AML, minimálisan differenciált (M0) AML, érés nélkül (M1) AML, érés jeleivel (M2) Akut mielomonocitás leukémia (M4) Akut monoblasztos/monocitás leukémia (M5) Akut eritroleukémia (M6) Akut megakarioblasztos leukémia (M7) Akut bazofil leukémia Akut panmielózis mielofibrózissal
Mieloid szarkóma
Down-szindróma-asszociált AML
Blasztos plazmocitoid dendritikus sejtis neoplazma

2. TÁBLÁZAT. Az akut mieloid leukémia patológiai diagnózisa és prognosztikai markerek meghatározása a hazai gyakorlatban

DIAGNÓZIS	AML
Csontvelő-biopszia	Opcionális*
Csontvelő-aspirátum [kenet]	Igen
Perifériás vér [kenet]	Opcionális
Immunfenotipizálás (áramlási citometria/immunhisztokémia)	Igen
Citogenetika/FISH [§]	Igen
Prognosztikai markerek diagnóziskor	
NPM1-, FLT3-, CEBPA-génmutációk [#]	Igen
Követés	
Minimális reziduális betegség vizsgálata áramlási citometriával	Igen
Minimális reziduális betegség vizsgálata molekuláris módszerekkel követhető betegség esetén [¶]	Igen

*Alacsony blasztarány az aspirátumban, vagy punctio sicca. [§]Intézetünkben rendelkezésre álló FISH-próbák t(8;21), t(15;17), MLL split, inv(16). [#]Intézetünkben rendelkezésre álló, AML-ben előforduló, azonban a mindennapi gyakorlatban nem használt molekuláris vizsgálatok: IDH1/2, RUNX1, TP53. Familiáris MDS/AML-ben: ETV6, ANKRD26. [¶]Rendelkezésünkre álló, betegségkövetésre alkalmas QRT-PCR-próbák: RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH1, DEK-NUP214, E2A-PBX1, MLL-AF4, MLL-AFF1, MLL-ELL, MLL-MLLT3, MLLT1-MLL, PML-RARA, ETV6-RUNX1

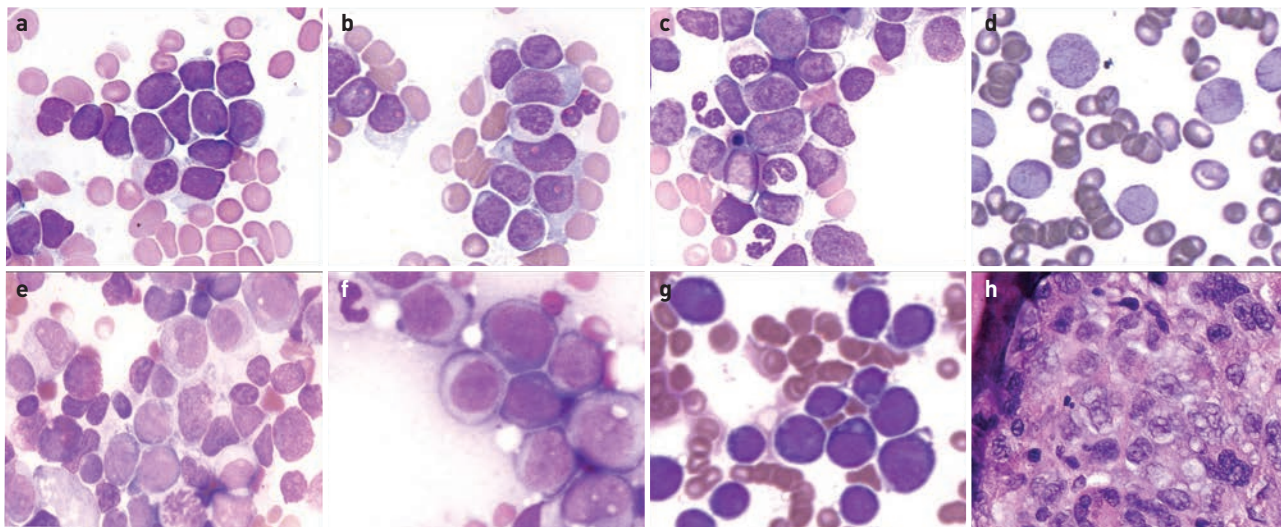
[t(8;21), inv(16), t(16;16), t(15;17)], illetve eritroleukémia – 20% alatti blasztarány esetén is kimondható. Monociter és mielomonociter differenciációval járó AML-ben a monoblasztok mellett a promonociták blasztekvivalens sejtévé számolandóak. A morfológiai vizsgálatok mellett a differenciáció megállapítása, illetve a beteg terápiai válaszána követése és a minimális reziduális betegség kimutatása szempontjából kiemelt fontosságú az áramláscitometriai vizsgálat (3. táblázat).

PATOGENEZIS

Kromoszómaeltérések

A betegség patogenezisében bizonyítottan szerepet játszó non-random kromoszómaabnormalitások (specifikus transzlokációk, illetve deléciók) az AML-esetek közel 50%-ában mutathatók ki (2. ábra). A specifikus kromoszómaeltérések a 2008-as WHO-beosztás alapján külön csoportot képeznek. Egy-egy eltérés karakterisztikus morfológiai és immunfenotípusos vonásokkal társul, és betegkorcsoportbeli jellegzetességek is megfigyelhetők. Így a t(8;21)RUNX1-RUNX1T1 transzlokáció mellett FAB M2, t(15;17)PML-RARA mellett FAB M3, t(1;22)RBM15-MKL1 mellett FAB M7 fenotípus látható. Emellett a t(9;11)MLLT3-MLL és t(6;9)DEK-NUP214 gyakrabban fordulnak elő gyermek- és fiatalkori AML-ben (3).

A specifikus kromoszómaabnormalitások diagnóziskori meghatározása fontos információt szolgáltat a betegség



1. ÁBRA. Az akut mieloid leukémia FAB-klasszifikáció által meghatározott csoportjai. a) AML, minimális differenciációval. A blasztok keskeny citoplazmával, prominens nukleolusszal rendelkeznek. Morfológiai differenciációs jelek nem láthatóak. b) AML, érés nélkül. A sejtek túlnyomó többsége mieloblaszt, elvéve azurofil granulomok láthatóak a citoplazmában. c) AML, érés jeleivel. A mieloblasztok mellett egy-egy érettebb neutrofil granulocita is feltűnik. d) Akut promielocitás leukémia. Hipergranulált promielociták, azurofil granulomokkal, egy-egy sejtben Auer-pálcákkal. e) Akut mielomonocitás leukémia. A mieloblasztok mellett érettebb monociták, egy-egy promonocita is megfigyelhető. f) Akut monoblasztos/monocitás leukémia. Az ábrán monoblasztos leukémia csontvelőkenete látható. A nagy sejtek széles bazofil citoplazmával, kerek sejtmaggal rendelkeznek, elvéve egy-egy nukleolusz látható. g) Akut eritroleukémia. Mély bazofil citoplazmával rendelkező éretlen eritroid alakok. f) Akut megakarioblasztos leukémia. A csontvelő-biopsziában éretlen megakarioblasztok és egy-egy érett megakariocita fedezhető fel. a–g) Csontvelőkenet, Giemsa-festés, 60x. f) Csontvelő-biopszia, hematoxin-eozin festés, 40x

prognóza, illetve a terápiára adott válasz szempontjából [3. táblázat] [4]. Bizonyos kariotípusejtérések – úgymint t(15;17) PML/RARA és „core binding factor” leukémiák t(8;21), inv(16) vagy t(16;16) – kedvező prognosztikai faktorként határozhatóak meg, míg mások jelenléte – többek között az inv(3), t(3;3) és t(6;9), valamint a komplex kariotípusejtérés – esetén a beteget a rossz prognosztikai csoportba sorolják [5]. Komplex kariotípusejtérés a betegek közel 10–12%-ában észlelhető, és rendkívül rossz prognosztikai tényezőként tartják számon. Komplex kromozómaeltérésként értelmezendő a 3 vagy több kromozóma érintettsége, visszatérő transzlokációk kizárása mellett. A komplex kariotípusejtérés egyik legfontosabb eleme a 17p-deléció, illetve a p53 gén mutációja [6].

A szerkezeti kromozómaeltérések kimutatását széles körben lehetővé teszi a konvencionális kariotipizálás elérhetősége, azonban klasszikus citogenetikai módszerek egyes, a gyermekkori AML-ben előforduló, rossz prognosztikai tényezőként szereplő kriptikus transzlokációk [t(5;11) NUP98-NSD1 fúzió; t(7;12) MNX1-ETV6 fúzió] kimutatására nem alkalmasak [7, 8]. Emellett az akut promielocitás leukémiás betegek megközelítőleg 5%-ában inszerció, illetve komplex átrendeződés következtében nem azonosítható a klasszikus t(15;17) PML-RARA fúzió, azonban e betegcsoport is kedvező választ ad speciális célzott terápiára (ATRA, all-transz-retin-sav) [7]. Ennek következtében bizonyos kriptikus transzlokációt hordozó betegek nem kerülnek azonosításra, valamint

a rizikóbesorolásuk nem fedti a valóságot, mely alapján nem megfelelő terápiában részesülnek, emiatt bizonyos esetekben megalapozott gyanú esetén célszerű érzékenyebb, specifikus módszer, lehetőség esetén FISH, illetve molekuláris genetikai vizsgálat végzése.

Normális kariotípusú AML

Az elmúlt két évtizedben a molekuláris biológia robbanásszerű fejlődése – először a génexpressziós profil analízis vizsgálatok, majd ezt követően a teljesgenom-szekvenálás – újabb visszatérő genetikai alterációkat fedett fel legfőképpen az addig normális kariotípusú (NK)-AML-ként meghatározott, azonban prognosztikailag rendkívül heterogén viselkedésű betegcsoportban, melynek egy része önálló, azonban egyelőre provizórikus WHO-entitásként került megnevezésre [9]. E provizionális entitások az „AML CEBPA-mutációval” és az „AML NPM1-mutációval”. A CEBPA, NPM1 és FLT3 génmutációk jelentősége részletesen meghatározott és alaposan körüljárt, azonban az újgenerációs szekvenálás segítségével számos addicionális visszatérő genetikai eltérést detektáltak.

A „Cancer Genome Atlas Research Network” 200 AML-es beteg genomját vizsgálta [50 betegnél teljesgenom-, 150 betegnél teljesexom-szekvenálással, RNS- és miRNS-szekvenálással és DNS-metilációs vizsgálattal] [10]. A mutációkat hordozó fehérjék funkciójuk alapján számos funkcionális csoportba sorolhatóak [3. ábra], úgymint: 1. transzkripció

3. TÁBLÁZAT. AML diagnózisához áramlási citometriai vizsgálat során használt sejtfelszíni és citoplazmatikus markerek

AML DIAGNÓZIS	
Prekurzor betegség	CD34, CD117, HLA-DR
Granulopoetikus markerek	CD13, CD15, CD33, MPO
Monocitamarkerek	CD11c, CD14, CD64,
Megakariocitamarkerek	CD61
Eritroid markerek	CD36
Kevert fenotípusú AML	
Mieloid sejtvonal	MPO- vagy monocita-differenciáció
B-limfoid sejtvonal	CD19, CD79a, CD22, CD10
T-limfoid sejtvonal	cCD3, sCD3

faktorok; 2. sejtciklus-szabályozók; 3. szignáltranszdukciós faktorok; 4. DNS-metilációt szabályozó fehérjék; 5. hiszton-modifikációt szabályozó fehérjék; 6. RNS-splicing faktorok; 7. kohezinkomplex tagjai.

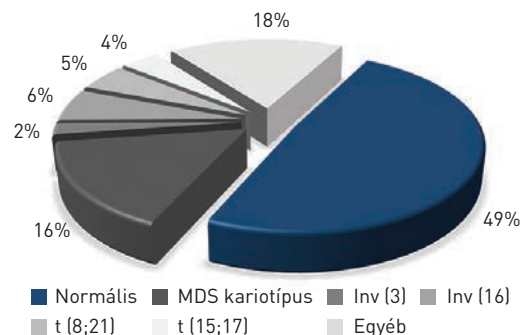
Transzkripciós faktorok. A transzkripciós faktorok szerepüket a különböző gének RNS-szintű átíródásának szabályozásában fejtik ki. Az AML patogenezisében kiemelt fontosságú transzkripciós faktorok főként a hemopoetikus őssejt mieloid irányú differenciációjában játszanak fontos szerepet. A *CEBPA* (CCAAT/enhancer binding protein α) gén egy mieloid sejtekre jellemző transzkripciós faktort kódol, a neutrofil granulociták differenciációjában játszik szerepet. A mutáció legfőképpen AML M1 és AML M2 – vagyis éretlen mieloid morfológiájú – esetekben fordul elő, mely tükrözi a *Cebpa*-/- egér hemopoézisét, melyből hiányoznak az érett granulociták, azonban a többi hemopoetikus sejt típus intakt [11]. Mutációja az NK-AML-esetek 6-10%-ában fordul elő, azonban kiegyensúlyozatlan kromoszómaeltérés esetén is kimutatható (pl. del(9q)) [12]. A *CEBPA*-mutáns esetek egy része *GATA2*-génmutációval asszociált, míg *FLT3* gén érintettséggel ritkán fordulnak elő egymás mellett [13, 14]. A *CEBPA*-mutációt hordozó AML-ben szenvedő betegcsoport jó prognózisúnak tekintendő, azonban csupán abban az esetben, ha biallélikus mutáció van jelen [13]. Ezen felül az összes AML-eset ~5%-ában kimutatható a *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1) gén mutációja, mely szintén transzkripciós faktor család tagja, és a hemopoetikus őssejt differenciációját szabályozza [15]. *RUNX1*-génmutációk társulhatnak *MLL*-, *IDH1*-, *ASXL1*-mutációkkal és a 13-as kromoszóma eltéréssel, leggyakrabban AML-M0 morfológiájú esetekben fordulnak elő. A mutáció jelenléte kedvezőtlen prognosztikai jellemzőnek bizonyult fiatal AML-es betegek esetében [16]. Továbbá ide tartozik a *GATA2* gén mutációja, mely a biallélikus *CEBPA*-mutált esetek közel 20%-ában kimutatható, és kedvező prognózissal társul [17].

Sejtciklus-szabályozók. A sejtciklus-szabályozó fehérjék a sejtek proliferációjának fenntartásában, illetve az apoptózis útvonalának szabályozásában játszanak kiemelt szerepet. Provizorikus WHO-entitásként meghatározott eltérés az

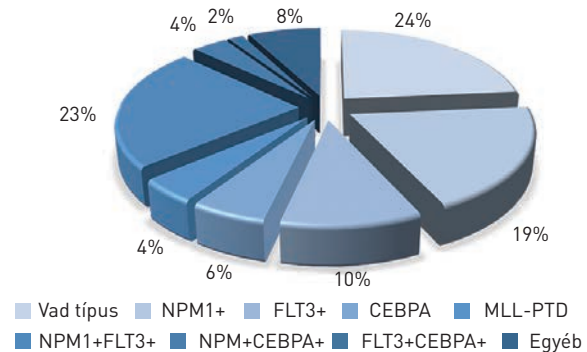
NPM1 (nucleophosmin1) gén mutációja, mely a leggyakoribb genetikai eltérésnek (~50%) tekinthető NK-AML-ben. Az *NPM1* protein egy a lokalizációját a citoplazma és a sejtmag között folyamatosan változtató fehérje. Normális esetben főként a sejtmagban helyezkedik el, az ARF-p53 apoptózis-jelátviteli utat szabályozza. Mutáció esetén a fehérje tartós citoplazmikus lokalizációt mutat, mely esetben fokozódik a progenitorsejt proliferációs készsége és túlélése [18]. Bizonyított, hogy az *NPM1*-mutáció önmagában kedvező prognózissal jár fiatal felnőttek esetén [19], azonban *FLT3*- és *DNMT3A*-mutációk (*NPM*-mutánson belül: *NPM1*-*FLT3*: 40%, *NPM1*-*DNMT3A*: 50%, *NPM1*-*DNMT3-IDH1*: 15%) mellett gyakori relapszusokkal tarkított és kedvezőtlen prognózisú betegséget határoz meg [20].

A szignáltranszdukciós faktorok csoportjába tartoznak az összes AML-es eset megközelítőleg 25%-ában kimutatható *FLT3* (fms-like tyrosine kinase 3) gén eltérései, ami egyrészt lehet „in frame” duplikáció a génben (*FLT3*-ITD), illetve tirozinkináz domént érintő pontmutáció (*FLT3*-TKD). Mindkét eltérés a receptor, és ezáltal a jelátviteli út konstitutív aktivációját eredményezi [21]. Különböző vizsgálatok alapján

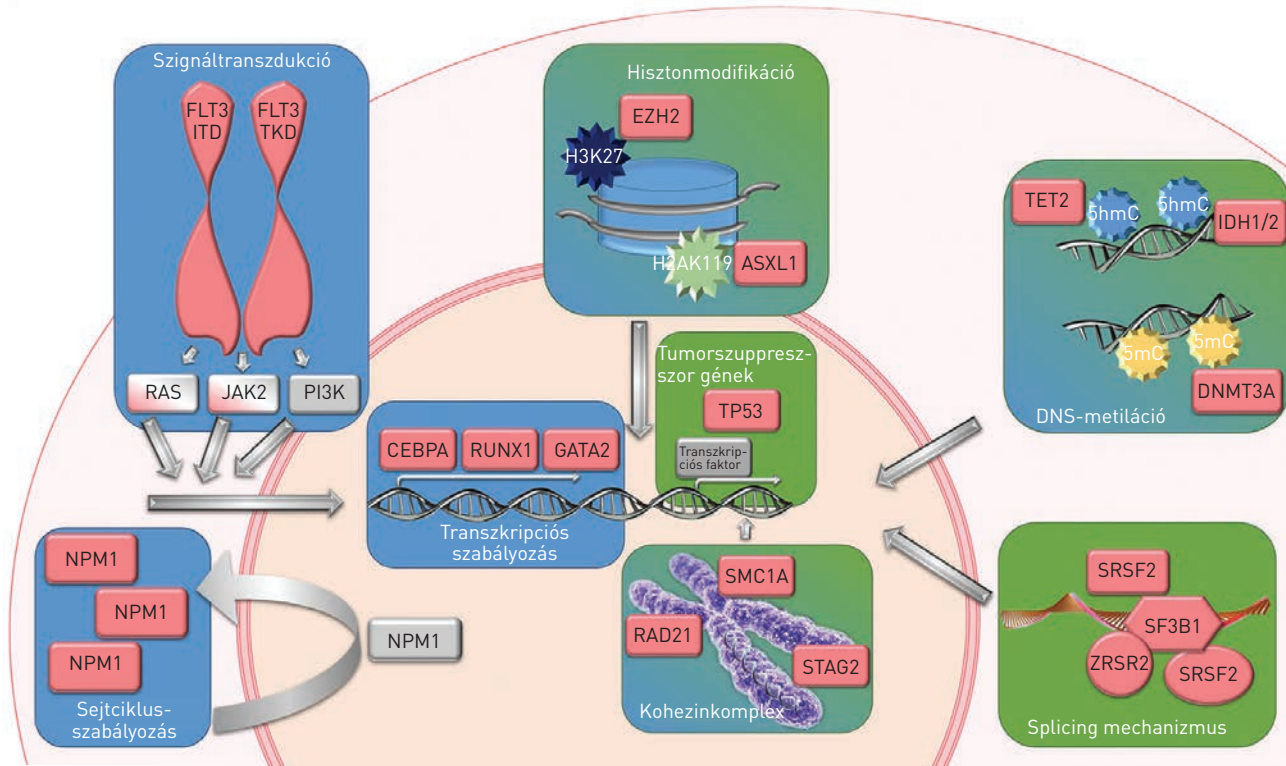
Citogenetikai eltérések AML-ben



Rekurrens mutációk NK-AML-ben



2. ÁBRA. Citogenetikai eltérések gyakorisága akut mieloid leukémiában, valamint a visszatérő génmutációk gyakorisága normális kariotípusú AML-ben.



3. ÁBRA. Akut mieloid leukémiában és mielodiszplázias szindrómában észlelhető, visszatérő mutációk által érintett fehérjék funkcionális csoportjai. A kék háttérrel rendelkező négyzetek AML-ben, a zöld háttérűek MDS-ben szignifikánsan gyakrabban érintett fehérjéket jelölik, míg a színtemenetes négyzetek mindkét kórképben előfordulnak

az *FLT3*-ITD jelenléte független rizikófaktora a magas relapsusrátának, illetve kedvezőtlen teljes túlélésnek [21], míg az *FLT3*-TKD kedvezőbb betegségkimenetelt vetít előre [22]. Biállélikus *CEBPA*- és *NPM1*-mutációval együttesen észlelt *FLT3*-ITD géntérés esetén a betegség prognózisa szintén kedvezőtlen, rövid betegségmentes túléléssel standard kemoterápiás kezelést követően [23]. Az *FLT3* gén érintettsége mellett egyéb, a sejtciklus szabályozásában szerepet játszó jelátviteli utak szereplői is érintettek bizonyultak AML-ben, így a *RAS* (rat sarcoma) (*NRAS*: 11%, *KRAS*: 5%), *cKIT* (mast/stem cell growth factor receptor) [4%], *CBL* (Casitas B-lineage lymphoma) [1%], *NF1* (neurofibromin 1) [4%], és *PTPN11* (tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11) [5%]. A *RAS* gén érintettsége prognosztikailag neutrálisnak bizonyult, azonban a *cKIT*-mutációk kedvezőtlen betegségprognózzal társultak [24].

DNS-metilációt szabályozó fehérjék. A DNS-metiláció bizonyos gének promoterének szabályozásával befolyásolja e gének expresszióját. A DNMT3A DNS(citozin-5)-metiltranszferáz 3A) fehérje a DNS-metilációs folyamatban játszik közvetlen szerepet, génjének mutációi a *de novo* AML-esetek 30%-ában mutathatók ki [25]. Gyakran társul *NPM1*- és

FLT3-ITD-mutációkkal, mely felveti kooperatív szerepüket az AML patogenezisében [26]. Korábbi tanulmányok alapján jelenléte kedvezőtlen teljes túléléssel társult, azonban egy nagyobb betegcsoporton végzett vizsgálat ezt nem tudta igazolni [27]. Az *IDH1* és *IDH2* [izocitrát-dehidrogenáz 1 és 2] gének mutációi (7% és 9%) főként NK-AML-ben, illetve *NPM1*-mutációval együttesen fordulnak elő [28, 29]. Prognosztikai jelentőségének meghatározása során számos vizsgálat során egymásnak ellentmondó eredmények születtek, azonban elmondható, hogy az *IDH2* gén egy specifikus pontmutációja (*IDH2R140Q*) esetén a betegek kedvező terápiás választ és öt éves túlélést mutattak [30]. A TET2 (ten-eleven-translocation-2) fehérje fontos szerepet tölt be a DNS-metiláció iniciális lépesei során. Mutációi főként NK-AML-ben fordulnak elő, az összes AML-eset kb. 7-20%-ában, és rossz prognosztikai tényezőnek tekinthetőek [31].

Hisztonmodifikációt szabályozó fehérjék. A DNS a sejtmagban hisztonfehérjékhez asszociáltan helyezkedik el, ez a kötődés a strukturális kapcsolaton felül génextpressziót reguláló funkcióval is rendelkezik. Az ASXL1 (additional sex-comb like 1) fehérje a hisztonmetiláció regulációjában játszik szerepet. Mutációi a *de novo* AML-esetek ~17%-ában,

4. TÁBLÁZAT. Akut mieloid leukémia standardizált rizikócsoport-beosztása citogenetikai és molekuláris genetikai eltérések alapján [5]

RIZIKÓCSOPORT	GENETIKAI ELTÉRÉS
Kedvező	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1
	inv(16)(p13.1q22) vagy t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11
	Mutált NPM1, FLT3-ITD nélkül (normális kariotípus)
	Mutált CEBPA (normális kariotípus)
Intermediér-I	Mutált NPM1 és FLT3-ITD (normális kariotípus)
	Vad típusú NPM1 és FLT3-ITD (normális kariotípus)
	Vad típusú NPM1, FLT3-ITD nélkül (normális kariotípus)
Intermediér-II	t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL
	Egyéb citogenetikai eltérés, mely más rizikócsoportba nem sorolható
Kedvezőtlen	inv(3)(q21q26.2) vagy t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EVI1
	t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214
	t(v;11)(v;q23); MLL-átrendeződés
	-5 or del(5q); -7; abn(17p); komplex kariotípus

míg MDS-ből transzformált AML-esetek közel 30%-ában mutathatók ki, jelenlétük kifejezetten kedvezőtlen prognózissal társul [32]. Továbbá ebbe a csoportba tartoznak még az AML-ben ritkábban észlelhető *EZH2* (enhancer of zeste 2), és *KDM6A* (lysine (K)-specific demethylase 6A) gének mutációi. Az epigenetikai modifikációkat végző gének mutációi szignifikánsan gyakrabban fordulnak elő felnőttkori AML-ben, mint gyermekkoriban, illetve megfigyelték, hogy a mutációs frekvencia az életkorral nő.

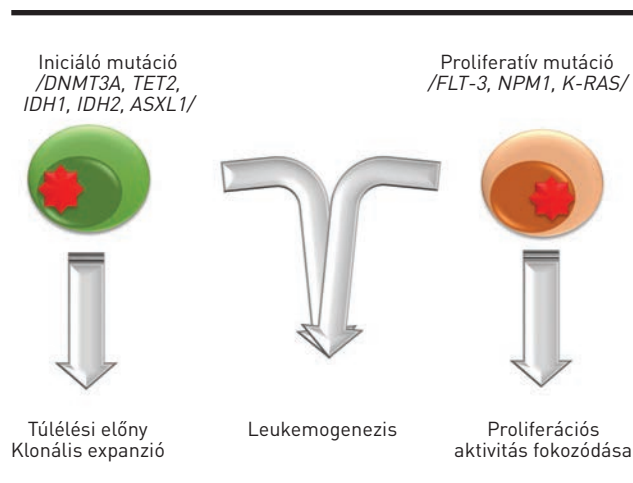
RNS-splicing faktorok. Az RNS-splicing során az mRNS posztttranszkripciósi módosulása alakul ki, mikor is kivágódnak az exonok közül a nem kódoló intronszakaszok, ennek eredménye a fehérjét kódoló érett mRNS. AML-ben leggyakrabban mutált splicing faktorok az *SF3B1* (splicing factor 3b subunit 1) (~3%), *SRSF2* (serine/arginine rich splicing factor 2), *ZRSR2* (zinc finger RNA-binding motif and serine/arginine rich 2) (~1%), és *U2AF1* (U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1) (~2%), főként szekunder, MDS-ből kialakuló AML-ben fordulnak elő [32]. Az RNS-splicing csoportban leírt mutációk prognosztikai jelentősége jelenleg még nem ismert.

A kohezinkomplex tagjai. A kohezinkomplex tagjai olyan fehérjék, melyek osztódás során a testvérkromatidák kohézióját biztosítják. Egy széles körű, mieloid kórképeket vizsgáló tanulmány az AML-esetek 12%-ában észlelt mutációkat a ko-

hezinkomplex részeként ismert *SMC1A* (structural maintenance of chromosomes 1A), *SMC3* (structural maintenance of chromosomes 3), *RAD21* (Rad21 homolog), és *STAG2* (stromal antigen 2) génekben [33]. A kohezincsoportban leírt mutációk prognosztikai jelentősége az ismert irodalmi adatok alapján jelenleg nem tűnik szignifikánsnak.

KLONÁLIS ARCHITEKTÚRA ÉS RELAPSZUS

Az újgenerációs szekvenálási technikák lehetővé tették a különböző mutációk együttes előfordulási frekvenciájának, a betegség szubklonális architektúrájának és a kórkép időbeli evolúciójának vizsgálatát (4. ábra). Bizonyos AML-típusok egy úgynevezett preleukémiás látens periódust követően alakulnak ki, melynek során a hemopoetikus őssejtben szomatikus mutációk alakulnak ki, azonban a sejt még megőrzi a differenciációs készségét. Ilyen mutációk (iniciáló/preleukémiás mutációk) az epigenetikai szabályozásban részt vevő gének mutációi (*DNMT3A*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, és *ASXL1*), melyek mellett is szabályosan kiérő vérképzés azonosítható, azonban jelenlétük a preleukémiás HSC-klón expanzióját eredményezi, melynek következtében a hemopoézis klonálissá válik. E mutációkat hordozó sejt későbbi differenciálódása során, bizonyos progenitor szakaszokban megjelenő társmutációk (proliferatív/driver mutációk) eredményezhetik a transzformációt. E mutációk általában a sejtproliferációban és bizonyos szignáltranszdukciós útvonalakban kiemelt szerepet játszó fehérjékben (pl. NPM1, FLT3, KRAS) történnek, melynek eredményeképpen a sejtek fokozott proliferációja által vezethetnek a leukémia kifejlődéséhez [34]. Emellett ismertek olyan megfigyelések, amelyek alapján a klonális hemopoézis (*DNMT3A*-, *TET2*- és *ASXL1*-mutációk jelenléte)



4. ÁBRA. A különböző típusú mutációk kooperatív hatása leukémia képződése során. Iniciátor és driver mutációk szinergisztikus hatása AML kialakulásának esetén, melynek során a HSC-ben megjelenő iniciátor mutáció szelekciós előnyt biztosítva klonális hemopoézist eredményez, majd a sejtproliferációt támogató driver mutáció megjelenésének hatására kialakulhat a leukémiás transzformáció

előfordulásának gyakorisága az életkorral egyenes arányban emelkedik, és összefüggést mutat az AML kialakulásával [35].

E megfigyelések alapján feltételezhető, hogy a leukémia evolúciója lineáris architektúrájú, melynek során az iniciáló mutációt követően a betegség fejlődése során a driver mutációk lépésről lépésre jelennek meg. Azonban primer és relabált AML-párok vizsgálata kimutatta, hogy a lineáris betegsévolúciós mintázat mellett az esetek egy részében a mutációk megjelenése komplex elágazódó mintázatot mutatott. Lineáris fejlődés esetén egyféle mutációkat hordozó tumorsejtklón volt megfigyelhető, melyben relapszus során addicionális mutációk jelentek meg. Az elágazódó fejlődés esetén különböző szubklónoknak megfelelően multiplex mutációs klaszterek voltak megfigyelhetőek a primer mintában. A terápiát követően egy szubklón jobb túlélési előnnyel rendelkezett, és relapszus esetén e klón expanziója volt megfigyelhető [36]. Ennek alapján fontos kiemelni a kezelés előtti molekuláris diagnosztika jelentős szerepét, mely egyrészt a betegek individuális rizikóbesorolását teszi lehetővé, másrészt a célzott, személyre szabott terápia korszakában terápiás target mutációk kimutatását és ezáltal specifikusabb kezelés lehetőségét biztosítja.

SZEKUNDER AKUT MIELOID LEUKÉMIA

Szekunder akut mieloid leukémia az MDS-ben szenvedő betegek 30%-ában, Philadelphia-negatív MPN-ben 10-20%-ban alakul ki, míg CML-ben a betegek kb. 20%-a progresszióba lép.

Mielodiszpláziás szindróma esetén kifejlődése feltehetően a betegség genetikai evolúciója során bizonyos sejtproliferációt eredményező driver mutációk megjelenésén, illetve klonális szelekción alapul. Kimutatták, hogy a szekunder AML domináns klónja már MDS stádiumban detektálható, iniciátor mutációval rendelkező klónból fejlődik ki [37]. Ezen iniciátor mutációk főként epigenetikai szabályozó fehérjéket (TET2, ASXL1) érintenek, és már korai MDS-ben is kimutathatóak. Azonban egyes kromoszómaeltérések (7-es kromoszóma monoszómiája), illetve bizonyos gének mutációi – főként transzkripciós faktorok, sejtciklusfehérjék (RAS, P53, FLT3) – bizonyítottan nagyobb rizikót jelentenek az AML-be történő progresszió szempontjából. Az FLT3-ITD mutáció gyakran detektálható *de novo* AML-ben, azonban szekunder AML-re ritkán jellemző, korai fázisú MDS-ben pedig kifejezetten ritkán detektálható [38].

A poszt-MPN AML-ben észlelhető genetikai eltérések szintén jelentősen különböznek a *de novo* AML-csoportban észlelt mutáció-előfordulástól. E betegcsoportban jóval gyakrabban fordulnak elő az epigenetikai regulációs me-

chanizmusok fehérjéinek mutációi, úgymint TET2, ASXL1 és IDH1/2 [39]. A JAK2 V617F mutált alcsoportban előforduló transzformáció esetén detektált leggyakoribb mutációk a TP53 [44%], ASXL1 [44%] és IDH2 [44%] fehérjéket érintik, míg JAK2 vad típusú poszt-MPN AML-ben a CALR [43%], ASXL1 [38%] és SRSF2 fehérjék érintettsége volt leggyakrabban kimutatható [40].

FAMILIÁRIS MYELODYSPLÁZIÁS SZINDRÓMA ÉS AKUT MIELOID LEUKÉMIA

Az AML és MDS döntően sporadikus kórképek, azonban ritkán megfigyelhető öröklődő familiáris formájuk, melynek hátterében a mieloid differenciációt szabályozó faktorok mutációi állhatnak. E familiáris esetek hátterében csíravonali mutációkat detektáltak a *RUNX1*, *GATA2*, valamint *CEBPA* génekben [41–43]. E mutációk jelenléte különböző klinikai képpel társulhat, és korai felismerésük elengedhetetlen a kezelési stratégia megtervezéséhez, valamint az esetlegesen érintett, de még patológiás eltéréseket nem mutató rokon személy kiszűrése és szoros követése szempontjából. A familiáris MDS és AML tekintetében utalunk a munkacsoportunk közeljövőben publikálására kerülő, e témában íródott összefoglaló közleményére [44].

MEGBESZÉLÉS

Az újgenerációs szekvenálási technikák elérhetővé válása mind akut mieloid leukémiában, mind mielodiszpláziás szindrómában átalakította a betegségek kialakulásáról alkotott képünket, továbbá feltárta molekuláris heterogenitásokat, valamint további célpontokat szolgáltatott a betegségek személyre szabott terápiájának megvalósításához.

AML-ben a leggyakoribb visszatérő genetikai eltérések vizsgálata (*NPM1*, *FLT3*, *CEBPA*, visszatérő kromoszóma-transzlokációk) bekerült intézetünk mindennapi diagnosztikai gyakorlatába, lehetővé téve a betegek individuális rizikóbesorolását és ezáltal személyre szabottabb terápiás terv kidolgozását. Azonban az elmúlt években számos olyan, különböző géncsoportokat érintő mutáció került felfedezésre, mely jelentősen befolyásolja a betegség prognózisát, továbbá a fent említett mutációkkal együtt megjelenve ezek prognosztikai értékét megváltoztatják (pl. *DNMT3A*). Ezáltal a jövőben felmerülhet az igény a betegek genetikai profiljának szélesebb körű vizsgálatára. A betegek individuális genetikai eltéréseinek meghatározása emellett a kezelés során lehetővé teszi minimális reziduális betegség monitorozását is, az esetleges relapszus korai detektálását, ezáltal biztosítja a kezelés korai adaptálását a terápiás válasz alapján.

IRODALOM

1. Howlader NNA, Krapcho M, Garshell J, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2011. National Cancer Institute; Bethesda, MD, USA, 2012
2. Ostgard LS, Kjeldsen E, Holm MS, et al. Reasons for treating secondary AML as de novo AML. *Eur J Haematol* 85:217–226, 2010
3. Arber DA, Brunning RD, Le Beau MM, et al. Acute myeloid leukaemia and related precursor neoplasms. In: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Ed. Swerdlow SH, Campo E, Harris NH, et al. IARC, Lyon 2008, pp. 109–145
4. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B [CALGB 8461]. *Blood* 100:4325–4336, 2002
5. Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 115:453–474, 2010
6. Mrozek K. Cytogenetic, molecular genetic, and clinical characteristics of acute myeloid leukemia with a complex karyotype. *Semin Oncol* 35:365–377, 2008
7. Grimwade D, Mrozek K. Diagnostic and prognostic value of cytogenetics in acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 25:1135–1161, 2011
8. Beverloo HB, Panagopoulos I, Isaksson M, et al. Fusion of the homeobox gene HLXB9 and the ETV6 gene in infant acute myeloid leukemias with the t(7;12)(q36;p13). *Cancer Res* 61:5374–5377, 2001
9. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 114:937–951, 2009
10. Ley TJ, Miller C, Ding L, et al. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 368:2059–2074, 2013
11. Ohlsson E, Schuster MB, Hasemann M, et al. The multifaceted functions of C/EBPalpha in normal and malignant haematopoiesis. *Leukemia* 25: 324, 2015
12. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha [C/EBPalpha], in acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 27: 263–270, 2001
13. Wouters BJ, Lowenberg B, Erpelinck-Verschueren CA, et al. Double CEBPA mutations, but not single CEBPA mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. *Blood* 113: 3088–3091, 2009
14. Greif PA, Dufour A, Konstandin NP, et al. GATA2 zinc finger 1 mutations associated with biallelic CEBPA mutations define a unique genetic entity of acute myeloid leukemia. *Blood* 120: 395–403, 2012
15. Lam K, Zhang DE. RUNX1 and RUNX1-ETO: roles in hematopoiesis and leukemogenesis. *Front Biosci (Landmark Ed)* 17:1120–1139, 2012
16. Tang JL, Hou HA, Chen CY, et al. AML1/RUNX1 mutations in 470 adult patients with de novo acute myeloid leukemia: prognostic implication and interaction with other gene alterations. *Blood* 114:5352–5361, 2009
17. Fasan A, Eder C, Haferlach C, et al. GATA2 mutations are frequent in intermediate-risk karyotype AML with biallelic CEBPA mutations and are associated with favorable prognosis. *Leukemia* 27:482–485, 2013
18. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med* 352:254–266, 2005
19. Kuhn A, Grimwade D. Molecular markers in acute myeloid leukaemia. *Int J Hematol* 96:153–163, 2012
20. Gale RE, Lamb K, Allen C, et al. Simpson's paradox and the impact of different DNMT3A mutations on outcome in younger adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 33:2072–2083, 2015
21. Levis M. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: what is the best approach in 2013? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013:220–226, 2013
22. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, et al. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 110:1262–1270, 2007
23. Green CL, Koo KK, Hills RK, et al. Prognostic significance of CEBPA mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: impact of double CEBPA mutations and the interaction with FLT3 and NPM1 mutations. *J Clin Oncol* 28:2739–2747, 2010
24. Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood* 109:431–448, 2007
25. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 363:2424–2433, 2010
26. Corces-Zimmerman MR, Hong WJ, Weissman IL, et al. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:2548–2553, 2014
27. Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group [AMLSG]. *Blood* 121:4769–4777, 2013
28. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, et al. Differential prognosis impact of IDH2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood* 117:3696–3697, 2011
29. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med* 361:1058–1066, 2009
30. Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 366:1079–1089, 2012
31. Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, et al. TET2 mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 29:1373–1381, 2011
32. Schnittger S, Eder C, Jeromin S, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* 27:82–91, 2013
33. Kon A, Shih LY, Minamino M, et al. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet* 45:1232–1237, 2013
34. Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. *Nature* 506:328–333, 2014
35. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 371:2488–2498, 2014
36. Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature* 481:506–510, 2012
37. Walter MJ, Shen D, Ding L, et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 366:1090–1098, 2012
38. Dicker F, Haferlach C, Sundermann J, et al. Mutation analysis for RUNX1, MLL-PTD, FLT3-ITD, NPM1 and NRAS in 269 patients with MDS or secondary AML. *Leukemia* 24:1528–1532, 2010
39. Cerquozzi S, Tefferi A. Blast transformation and fibrotic progression in polycythemia vera and essential thrombocythemia: a literature review of incidence and risk factors. *Blood Cancer J* 5:e366, 2015
40. Rampal R, Ahn J, Abdel-Wahab O, et al. Genomic and functional analysis of leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E5401–5410, 2014
41. Smith ML, Cavenagh JD, Lister TA, et al. Mutation of CEBPA in familial acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 351:2403–2407, 2004
42. Michaud J, Wu F, Osato M, et al. In vitro analyses of known and novel RUNX1/AML1 mutations in dominant familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia: implications for mechanisms of pathogenesis. *Blood* 99:1364–1372, 2002
43. Hahn CN, Chong CE, Carmichael CL, et al. Heritable GATA2 mutations associated with familial myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 43:1012–1017, 2011
44. Király PA, Kállay K, Marosvári D, et al. Familiáris myelodysplasiás szindróma és akut myeloid leukaemia klinikai és genetikai háttere. *Orv Hetil* 157:283–289, 2016