

# Podłoże molekularne i perspektywy terapeutyczne ostrej białaczki limfoblastycznej *BCR-ABL1-like*

## Molecular background and therapeutic perspectives of acute lymphoblastic leukemia *BCR-ABL1-like*

Joanna Madzio, Agata Pastorczak, Wojciech Młynarski

Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

### Streszczenie

*Białaczka BCR-ABL1-like jest nowo wyodrębnionym podtypem ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) wysokiego ryzyka, wywodzącym się z komórek prekursorowych limfocytów B (BCP-ALL), który charakteryzuje profil ekspresji genów podobny do białaczki Philadelphia-pozytywnej mimo braku fuzji genów BCR-ABL1. Częstość występowania na poziomie 15% oraz wysokie ryzyko wznowy i zgonu w przypadkach BCR-ABL1-like skłania do eksplorowania podłoża molekularnego tego nowotworu oraz opracowywania nowych strategii terapeutycznych. Około 80% zaburzeń genetycznych obserwowanych w BCR-ABL1-like ALL dotyczy genów zaangażowanych w różnicowanie i dojrzewanie linii B (IKZF1, PAX5, E2A, EBF1 i VPREB1), a także regulujących procesy proliferacji limfocytów B (CRLF2, CDKN2A/2B). Specyficzne dla tego podtypu białaczki są też fuzje genów PDGFRB, ABL1, JAK prowadzące do aktywacji kinaz szlaków metabolicznych promujących nowotworzenie. Wiele spośród zidentyfikowanych, nadaktywnych ścieżek sygnałowych może być hamowanych za pomocą dostępnych leków ukierunkowanych molekularnie.*

**Słowa kluczowe:** ostra białaczka limfoblastyczna *BCR-ABL1-like*, zaburzenia molekularne

*Hematologia* 2014; 5, 2: 154–161

### Abstract

*BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukemia (ALL) is newly identified subtype of high-risk B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL), which exhibit gene expression signature similar to that of BCR-ABL1-positive leukemia, but without characteristic BCR-ABL1 gene fusion. Since the frequency of the BCR-ABL1-like ALL is relatively high (15%) and the risk of relapse is significantly increased, molecular pathogenesis of this subtype is widely explored. Approximately 80% of genetic lesions in the BCR-ABL1-like ALL refer to genes involved in B-cell differentiation and maturation (IKZF1, PAX5, E2A, EBF1 and VPREB1) as well as to genes that regulate B-lymphocyte proliferation (CRLF2, CDKN2A/2B). Moreover, BCR-ABL1-like ALL is also characterized by gene fusions involving PDGFRB, ABL1, JAK genes which activate kinases of specific, metabolic pathways responsible for cancer development. Many of identified up-regulated signaling pathways can be inhibited by currently clinically available molecular targeted drugs.*

**Key words:** *BCR-ABL1-like* acute lymphoblastic leukemia, molecular abnormalities

*Hematologia* 2014; 5, 2: 154–161

**Adres do korespondencji:** Wojciech Młynarski, Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Sporna 36/50, 91–738 Łódź, e-mail: wojciech.mlynarski@umed.lodz.pl

## Wprowadzenie

Ostra białaczka limfoblastyczna wywodząca się z komórek prekursorowych limfocytów B (BCP-ALL, *B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia*) jest najczęstszym nowotworem złośliwym wieku dziecięcego [1]. Stosowane obecnie na świecie programy terapeutyczne, oparte na stratyfikacji ryzyka wznowy na podstawie przebiegu klinicznego białaczki, odpowiedzi na chemioterapię oraz defektów molekularnych warunkujących biologię ALL, pozwalają na uzyskanie 5-letniego przeżycia wolnego od niekorzystnych zdarzeń (EFS, *event-free survival*) na poziomie 80–85% [2]. Wskaźnik ten jednak stopniowo się obniża z wiekiem pacjenta, zbliżając się u chorych powyżej 15. roku życia do wartości obserwowanych u młodych dorosłych z BCP-ALL [3]. Główną przyczyną śmiertelności w dziecięcej ALL i największym wyzwaniem terapeutycznym jest obserwowana u 20% pacjentów wznowa choroby [4]. Chemiooporność oraz zwiększony potencjał proliferacyjny limfoblastów patologicznych w nawrocie ALL przyczyniają się do pogorszenia odpowiedzi terapeutycznej, co skutkuje uzyskaniem 5-letniego EFS jedynie na poziomie 20% u pacjentów z wczesną szpikową wznową białaczki [5]. Istotą działań zmierzających do poprawy wyników leczenia ALL jest z jednej strony bardziej precyzyjna identyfikacja ryzyka wznowy w momencie diagnozowania białaczki za pomocą markerów genetycznych związanych z agresywnym przebiegiem nowotworu, a z drugiej strony — poszukiwanie nowych strategii terapeutycznych opartych na mechanizmach molekularnych [5–7].

### Genetyczne profilowanie ryzyka wznowy w dziecięcej ALL

Klasyczne markery o znaczeniu prognostycznym oparte na cytogenetyce, tj. rearanżacje genu *MLL*, fuzje *BCR-ABL1*, hipodiploidia, umożliwiają zintensyfikowanie chemioterapii według aktualnie stosowanego protokołu leczenia dziecięcej ALL BFM ALLIC 2009, jednak ze względu na łączną częstość ich występowania na poziomie 3–4% są niewystarczającym narzędziem identyfikacji pacjentów obciążonych wysokim ryzykiem niekorzystnych zdarzeń [8–11]. Wyniki przeprowadzonych w ostatnim 5-leciu badań z zastosowaniem mikromacierzy ekspresyjnych dowodzą, że zdecydowaną większość ALL o niekorzystnym przebiegu klinicznym charakteryzuje profil ekspresji genów analogiczny do ALL z fuzją genów *BCR-ABL1* przy

jednoczesnym braku wymienionej aberracji chromosomowej. Ten podtyp ALL opisały niezależnie grupa holenderska — jako *BCR-ABL1-like* oraz amerykańska — jako *Philadelphia(Ph)-like* ALL. Trzeba jednak zaznaczyć, że istnieją rozbieżności w profilu ekspresji genów pierwotnie raportowanym przez te grupy. Wynikają one prawdopodobnie z metodyki badania opartej na materiale o niskiej stabilności, jakim jest RNA, jak również z różnic populacyjnych w badanych transkryptomach. Obie grupy wyodrębniły jednak nowy podtyp ALL na podstawie podobieństwa profilu ekspresji do obserwowanego w *BCR-ABL1*-pozytywnej białaczce oraz zidentyfikowały te same mutacje i fuzje genowe w opisanym podtypie, co pozwala na spójną interpretację rezultatów [12, 13]. Liczba pacjentów z opisanym fenotypem choroby stanowi 15% BCP-ALL i jest 5-krotnie większa od liczby chorych z niekorzystnymi postaciami ALL identyfikowanymi za pomocą rutynowo stosowanych markerów cytogenetycznych. Wysokie (50%) ryzyko wznowy oraz skrócone przeżycie, wyrażone 5-letnim EFS na poziomie 62%, stawiają *Ph-like* ALL na pozycji najczęstszego niepomyślnego rokowniczo podtypu ALL [14, 15]. Należy jednak zaznaczyć, że mimo ponad 70 razy większej oporności *in vitro* limfoblastów *Ph-like* ALL na L-asparaginazę i 1,6 razy mniejszej wrażliwości na daunorubicynę identyfikacja *BCR-ABL1-like* ALL wyłącznie na podstawie parametrów klinicznych oraz przebiegu indukcji remisji jest niemożliwa, ponieważ białaczkę tę cechuje często zadowalająca klinicznie odpowiedź na wstępne leczenie cytotatyczne [13, 16]. Rozpoznanie można dokonać jedynie na podstawie identyfikacji odpowiednich nieprawidłowości na poziomie genomu i transkryptomu komórek nowotworowych. Około 80% zaburzeń genetycznych obserwowanych w *BCR-ABL1-like* ALL dotyczy genów zaangażowanych w różnicowanie i dojrzewanie linii B (*PAX5*, *E2A*, *EBF1* i *VPREB1*), a także regulujących procesy proliferacji limfocytów B (*CRLF2*, *CDKN2A/2B*), w tym aż 40% przypadków charakteryzuje występowanie mutacji genu kodującego limfoidalny czynnik transkrypcyjny Ikaros (*IKZF1*) (tab. 1) [12, 13].

### Charakterystyka i znaczenie zaburzeń molekularnych obserwowanych w *BCR-ABL1-like* ALL

#### Mutacje genu *IKZF1*

Rola biologiczna białka Ikaros polega na regulowaniu procesów dojrzewania i różnicowania linii limfoidalnej przez wpływ na transkrypcje genów

Tabela 1. Zaburzenia molekularne charakterystyczne dla ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) *Philadelphia-like*Table 1. Molecular abnormalities characteristic for *Philadelphia-like* acute lymphoblastic leukemia (ALL)

Gen	Locus	Rodzaj mutacji	Częstość w B-ALL ogółem	Częstość <i>Ph-like</i> ALL	Molekularny efekt mutacji	Potencjalna efektywna terapia	Pismienictwo
<i>IKZF1</i>	7p12.2	Delecje Mutacje punktowe	15–16%	28–39%	Zahamowanie różnicowania i dojrzewania linii B	Nieznana	[12, 13]
<i>EBF1</i>	5q33.3	Delecje Translokacje	4%	14%	Zahamowanie różnicowania linii B, nadmierna proliferacja w przypadkach translokacji	TKI (imatynib, dazatynib, nilotynib)	[13, 17, 18]
<i>PAX5</i>	9p13.2	Delecje Inwersje	15–19%	31–36%	Zahamowanie różnicowania linii B	Nieznana	[12, 13, 18]
<i>CRLF2</i>	Xp22.33; Yp11.33	Translokacje Mutacje	5–7%	50%	Nadaktywność szlaku JAK–STAT oraz szlaku mTOR/PI3K	Ruksolitynib (inhibitor JAK1/2); rapamycyna (MTI)	[17, 19]
<i>JAK2</i>	9p24.1	Translokacje Mutacje	2–5%	10%	Konstytutywna aktywacja szlaku JAK–STAT	Ruksolitynib (inhibitor JAK1/2)	[17, 20, 21]
<i>ABL1</i>	9q34.12	Translokacje	2–3%	33%	Konstytutywna aktywacja szlaków zależnych od kinaz ABL	TKI (dazatynib, nilotynib, imatynib)	[8, 17, 22]
<i>E2A/TCF3</i>	19p13.3	Translokacje	0%	7%	Zahamowanie różnicowania linii B	Nieznana	[13, 18]
<i>VPREB</i>	22q11.22	Delecje	24%	34%	Konstytutywna transdukcja sygnału z receptora <i>pre-BCR</i>	Nieznana	[13, 23]

B-ALL (*B-lineage acute lymphoblastic leukaemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B; *Ph* — *Philadelphia*; MTI (*mTOR inhibitor*) — inhibitor mTOR; TKI (*tyrosine kinase inhibitors*) — inhibitory kinaz tyrozynowych; BCR (*B-cell receptor*) — receptor komórek B

oraz remodelowanie chromatyny [24]. Defekty tego genu promują w limfoblastach ekspresję genów charakterystycznych dla komórek progenitorowych i komórek pnia, prowadząc ostatecznie do transformacji białaczkowej [25, 26]. Pojawiają się one w momencie diagnozy ALL z częstością 12–15% wszystkich BCP-ALL oraz rzadziej *de novo* niż we wznowie choroby, co pośrednio wskazuje na ich związek z chemioopornością nowotworu [24, 27]. Mogą wynikać zarówno z utraty jednego allelu redukującej działanie supresorowe Ikarosa, jak i z wewnątrzgenowych delecji prowadzących, na drodze alternatywnego *splicingu*, do powstawania form białka Ikaros dających komórkowy fenotyp inaktywujący funkcję transaktywacyjną (*dominant-negative*). Warianty te, dimeryzując z formami aktywnymi, znoszą ich działanie biologiczne [15]. Opisane defekty genu *IKZF1* współwystępują ze zmienną liczbą kopii innych genów uszkodzonych w BCP-ALL i zaangażowanych w rozwój linii limfoidalnej *EBF1*, *PAX5*, *ETV6* oraz regulujących cykl komórkowy *CDKN2A/B*, *BTG1*, *RBI* [28]. W zdecydowanej większości opublikowanych dotąd raportów dotyczących wpływu mutacji *IKZF1* na przeżycie pacjentów pediatrycznych z ALL delecje

genu *IKZF1* były niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym, zarówno w ALL z translokacją *BCR-ABL1*, jak i *BCR-ABL1*-negatywnej. Ponadto wartość predykcyjna tych defektów pozostawała niezależna od poziomu choroby resztkowej (MRD, *minimal residual disease*) w grupie pacjentów cechujących się pośrednim ryzykiem (IRG, *intermediate risk group*) (wg obowiązującej stratyfikacji obciążonych pośrednim ryzykiem wznowy białaczki). Fakt ten jest niezwykle istotny, ponieważ około 70% wznów dziecięcej ALL dotyczy właśnie pacjentów z grupy IRG [15, 16, 29].

### Nadekspresja genu *CRLF2*

Drugim genem, którego upośledzenie funkcji pozostaje w silnym związku z fenotypem *BCR-ABL1-like* ALL, jest *CRLF2* [15]. Białko to jest składową cytokinowego receptora TSLPR, który fizjologicznie ulega pobudzeniu w trakcie procesów zapalnych, co skutkuje zwiększoną aktywnością czynnika transkrypcyjnego *STAT5* i stymulacją proliferacji komórek [18, 19]. Defekty genu *CRLF2* dotyczą około 7% wszystkich ALL oraz około 50% *BCR-ABL1-like* ALL [15]. Obejmują zarówno delecje, jak i translokacje do *locus* genu

dla łańcucha ciężkiego immunoglobulin  $\alpha$  (*IGH $\alpha$* , *immunoglobulin heavy chain alpha*) lub, częściej, do sąsiedniego *locus* genu *P2RY8*. Obie rearanżacje prowadzą do alternatywnej kontroli transkrypcji sekwencji kodującej *CRLF2* przez wzmacniacz *IGH $\alpha$*  lub promotor *P2RY8*, co ostatecznie powoduje nadekspresję *CRLF2* [18, 19]. Jednocześnie około 50% przypadków pozytywnych pod względem rearanżacji *CRLF2* wykazuje również mutacje punktowe genu *JAK1/2* [19]. Występowanie nadekspresji *CRLF2* w komórkach białaczkowych w sposób niezależny zwiększało ryzyko wznowy ALL do około 70% w populacji amerykańskiej [30]. Tak silnego efektu nie potwierdzono jednak w populacjach europejskich [15]. Van der Veer i wsp. [16] wykazali, że nawroty białaczki u pacjentów z podwyższoną ekspresją *CRLF2* występowały tylko o 7% częściej niż u pacjentów z prawidłowym poziomem *CRLF2*.

### Pozostałe defekty molekularne związane z podtypem *BCR-ABL1-like* ALL

Ważnym, choć stosunkowo rzadkim, typem nieprawidłowości obserwowanych w *Ph-like* ALL są delecje genu *EBF1* kodującego czynnik transkrypcyjny zaangażowany na wczesnym etapie różnicowania limfocytów B. Defekty *EBF1* stanowią tylko 4% wszystkich mutacji obserwowanych w BCP-ALL, natomiast ich występowanie zwiększa się do 14% w *Ph-like* ALL i do 20% w przypadku wznów BCP-ALL [13, 30]. Często współwystępują z mutacjami genów supresorowych *TP53* oraz *RBI*, genów dla kinaz z rodziny Janus (*JAK*) oraz z delecjami genu *BTG1* (26%) [31]. Oprócz delecji *locus* genu *EBF1* może ulegać fuzji z fragmentem sekwencji genu *PDGFRB* (*platelet-derived growth factor receptor beta* — kodującego receptor dla płytkowego czynnika wzrostu), co powoduje promowanie przez domenę dimeryzacji białka *EBF1*, autofosforylację i konstytutywną aktywację receptora *PDGFRB* [15].

Inne zaburzenia somatyczne na poziomie genomu ALL *BCR-ABL1-like* to delecje genów *CDKN2A*, *PAX5*, *TCF3* oraz *VBREPI* [13]. Jednak wymienione mutacje występują stosunkowo często w populacji ogólnej i nie mają tak silnego wpływu na ryzyko wznowy ALL [13].

### Warianty polimorficzne predysponujące do rozwoju *BCR-ABL1-like* ALL

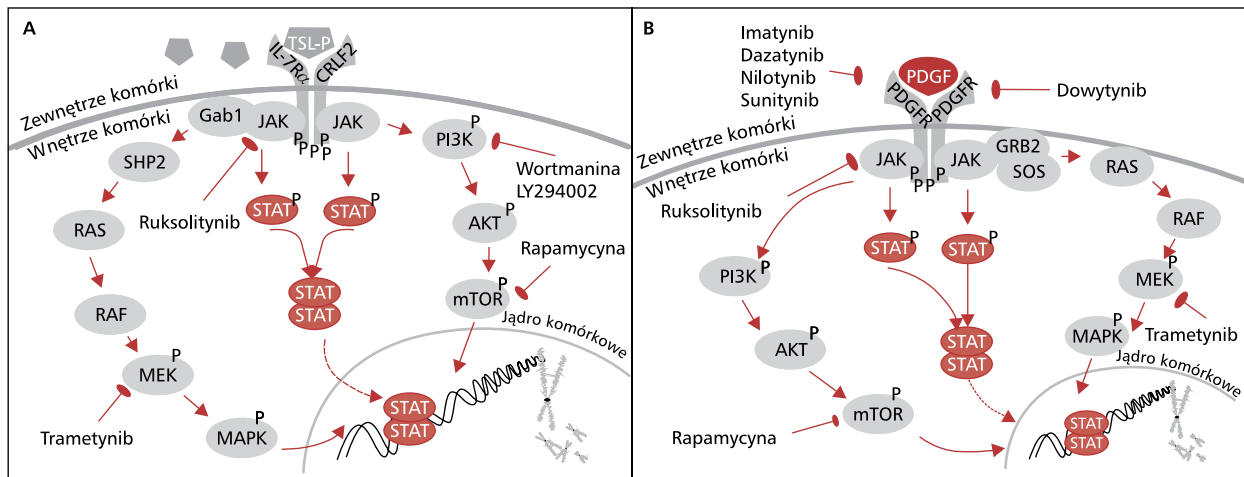
W 2013 roku zidentyfikowano *locus* podatności na *Ph-like* ALL, którym jest jednonukleotydom polimorfizm (SNP, *single nucleotide polymorphism*) w genie *GATA-3* [32]. Kodowane przez niego

białko, będące czynnikiem transkrypcyjnym, wiąże się z DNA w sekwencji „GATA” dzięki dwóm specyficznym palcom cynkowym (*GATA-type zinc finger*) [33]. Reguluje ono rozwój wczesnych progenitorowych limfocytów T i różnicowanie komórek Th1/Th2 (*T helper*), ale nie jest niezbędne do rozwoju krwiotwórczych komórek macierzystych [34, 35]. Perez-Andreu i wsp. [32] opisali znaczącą nadreprezentację allele A w miejscu polimorficznym rs3824662, która wiązała się z ryzykiem wznowy dziecięcej ALL. To samo miejsce polimorficzne w obrębie genu *GATA-3* analizowali Migliorini i wsp. [36], którzy wykazali, że allele ryzyka w rs3824662 wiązały się ze starszym wiekiem w chwili rozpoznania białaczki, gorszym rokowaniem i krótszym okresem remisji. Ważnym wnioskiem płynącym z pracy Perez-Andreu i wsp. jest prawdopodobny związek zmian typu konstytucjonalnego (*germ-line*) z mutacjami somatycznymi [32]. Autorzy wykazali współwystępowanie allele ryzyka w genie *GATA-3* z ryzykiem rozwoju konkretnego fenotypu ALL — *Ph-like* definiowanego rearanżacjami i mutacjami w takich genach, jak: *CRLF2*, *JAK* i *IKZF1*. Ponadto allelowi ryzyka towarzyszyła zwiększona ekspresja *GATA-3*, co może wskazywać na wpływ obecności allele A w *locus* rs382466 na dostępność chromatyny i aktywność transkrypcji. Ostatecznie zaproponowany przez Perez-Andreu i wsp. model klasyfikacji *Ph-like* ALL, poza somatycznymi uszkodzeniami genów *CRLF2*, *IKZF1*, *JAK*, obejmował również populacyjną nadreprezentację allele A w *locus* rs382466 oraz rdzenne amerykańskie pochodzenie [32].

### Zaburzenia aktywności szlaków metabolicznych w *BCR-ABL1-like* ALL

Przełomem w opisywanych badaniach nad patogenezą *BCR-ABL1-like* ALL było powiązanie defektów molekularnych na poziomie genomu i transkryptomu komórek białaczkowych *BCR-ABL1-like* ALL ze swoistą nadaktywnością szlaków metabolicznych. Znaczna część zaburzeń genetycznych typowych dla ALL *Ph-like* prowadzi do aktywacji szlaku sygnałowego JAK–STAT [15, 37]. Enzymy z rodziny Janus (kinazy JAK) są niereceptorowymi kinazami tyrozynowymi pośredniczącymi w transdukcji sygnału z receptorów cytokinowych w komórkach krwiotwórczych; ich nieprawidłowa funkcja promuje proliferację i cytokinowo-niezależny wzrost komórek białaczkowych [15, 38]. Najczęstszą przyczyną tego zjawiska są mutacje punktowe w domenie pseudokinazowej *JAK2*, spośród których 80% współistnieje z mutacjami genu *IKZF1* lub genu *CRLF2* [39, 40]. Innym





**Rycina 1A.** Schemat szlaków metabolicznych zaangażowanych w patogenezę ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) z nadekspresją *CRLF2*; **B.** Schemat szlaków metabolicznych zaangażowanych w patogenezę ALL z fuzją *EBF1-PDGFRB*. Konstytutywna aktywacja receptora PDGFRB lub nadekspresja *CRLF2* prowadzi do fosforylacji kinazy JAK i transdukcji sygnału przez szlaki: PI3K–AKT–mTOR, RAS–RAF–MEK–MAPK lub przez bezpośrednie aktywatory transkrypcji — białka STAT. Rearanżacje kinaz Janusowych (JAK) prowadzą do konstytutywnej aktywacji szlaku JAK–STAT. Potencjalne inhibitory terapeutyczne: ruksolitynib — inhibitor kinazy JAK; wortamina, LY294002 — inhibitor kinazy 3 fosfatydylinozytolu (PI3K); rapamycyna — inhibitor kinazy mTOR; trametynib — inhibitor kinazy MEK; imatynib, dazatynib, nilotynib, sunitynib, dowitynib — inhibitory receptora PDGFR

**Figure 1A.** Scheme of metabolic pathway involved in the pathogenesis of acute lymphoblastic leukemia (ALL) with *CRLF2* overexpression; **B.** Scheme of metabolic pathway involved in the pathogenesis of ALL with *EBF1-PDGFRB* gene fusion. Constitutive activation of platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFRB) receptor or overexpression of *CRLF2* leads to phosphorylation of JAK kinase and signal transduction by pathways such as: PI3K–AKT–mTOR, RAS–RAF–MEK–MAPK or by direct activators of transcription — STAT proteins. Rearrangements of Janus kinase (JAK) lead to constitutive JAK/STAT pathway activation. Potential therapeutic inhibitors: ruxolitinib — inhibitor of JAK kinase; wortamin, LY294002 — inhibitors of phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K); rapamycin — inhibitor of mTOR kinase; trametinib — inhibitor of MEK kinase; imatinib, dasatinib, nilotinib, sunitinib, dovitinib — inhibitor of PDGFR receptor

mechanizmem prowadzącym do wzmożonej aktywacji kinazy JAK2 są opisane w *Ph-like* ALL fuzje z udziałem genu *JAK2* jako partnera translokacji: *BCR-JAK2*, *STRN3-JAK2*, *PAX5-JAK2*. Wszystkie zidentyfikowane fuzje z genem *JAK2* znajdują się w ramce odczytu (*in-frame*) i uszkadzają funkcję pseudokinazowej domeny JAK2, co osłabia autoregulację domeny kinazowej i przyczynia się do jej konstytutywnej aktywności [15]. Z kolei *CRLF2* jest białkiem receptorowym, które uczestniczy w aktywacji czynnika transkrypcyjnego STAT przez szlak kinazy JAK (ryc. 1A). Połowę przypadków ALL z rearanżacją *CRLF2* charakteryzuje występowanie mutacji genów *JAK* oraz, dodatkowo, nadaktywność innego szlaku metabolicznego mTOR/PI3K. W modelach nowotworowych z zastosowaniem mysich ksenograftów wykazano skuteczność leczenia ruksolitynibem (inhibitor JAK1/2) oraz rapamycyną (MTI, *mTOR inhibitor*) u pacjentów z mutacjami aktywującymi kinazę JAK, współwystępującymi z rearanżacją *CRLF2* lub bez niej [19, 37, 41].

Kolejne szlaki metaboliczne, których nadaktywność cechowała przypadki *BCR-ABL1-like* ALL, zidentyfikowano na podstawie wyników sekwencjonowania eksomu komórek nowotworowych ALL. Badanie to ujawniło obecność fuzji genowych obejmujących geny, tj. *PDGFRB*, *ABL1*, których produkty białkowe nabywały konstytutywnej aktywności po translokacji do odpowiedniego genu partnera. Wymienione rearanżacje genów były prawie wyłącznie zarezerwowane dla przypadków *BCR-ABL1-like* ALL [17].

Białko PDGFRB jest kinazą tyrozynową występującą na powierzchni komórek, której gen ulega fuzji do *locus EBF1* w około 8% *Ph-like* ALL, zaburzając tym samym funkcję *EBF1* oraz powodując nadekspresję PDGFRB. Prawdopodobnie domena dimeryzacji *EBF1* ułatwia autofosforylację i konstytutywną aktywację PDGFRB oraz zwiększa poziom ufosforylowanych białek pSTAT5, pAKT i pERK1/2, co prowadzi do transformacji limfoblastów z rearanżacją *EBF1-PDGFRB* oraz ich cytokinowo-niezależnego wzrostu (ryc. 1B).

Namnażanie się komórek białaczkowych z wymienioną fuzją może zostać skutecznie zahamowane przez imatynib oraz inhibitory o szerszym profilu aktywności, tj. dazatynib i dowitynib (specyficzny inhibitor PDGFRB/FGFR) [17]. O klinicznym zastosowaniu tej wiedzy świadczą pojedyncze raporty pierwotnej oporności na konwencjonalną chemioterapię w przypadkach ALL z fuzją *EBF1-PDGFRB*, którą przełamano, stosując imatynib [42]. Analogicznie do PDGFRB nadaktywność kinazy ABL1 może się pojawiać w przypadkach *Ph-like* ALL wskutek translokacji: *ETV6-ABL1*, *NUP214-ABL1*, *RANBP2-ABL1*, *RCS1-ABL* [15].

### Perspektywa efektywnej terapii *Ph-like* ALL

Na podstawie danych dotyczących wysokiego ryzyka wznowy i zgonu z powodu białaczki w grupie pacjentów z podtypem *BCR-ABL1-like* ALL leczonych zgodnie z obecnie stosowanymi protokołami można założyć, że kolejnym krokiem w badaniach nad tym nowotworem będzie opracowanie i wdrażanie optymalnego podejścia terapeutycznego [8–11]. Jedną z aktualnych propozycji zakłada elementy intensyfikacji leczenia włączane do obecnie stosowanego programu chemioterapii i taką formę badania klinicznego zaproponowała grupa holenderska z Uniwersytetu w Rotterdamie dla pacjentów z mutacjami w genie *IKZF1*. Chorzy ci są poddani randomizacji do grupy, która otrzymuje dodatkową dawkę antracyklin w reindukcji remisji oraz dodatkowo przez 12 miesięcy jest leczona merkaptopuryną i metotreksatem w jej podtrzymaniu [43]. Odminnym, bardziej skomplikowanym i kosztownym podejściem do zagadnienia leczenia *BCR-ABL1-like* ALL są próby spersonalizowanej terapii opartej na dysfunkcyjnych mechanizmach molekularnych, charakterystycznych dla danego pacjenta lub grupy chorych. W kilku krajach (Stany Zjednoczone, Wielka Brytania, Francja) z powodzeniem podjęto próby leczenia pierwotnie chemioopornych pacjentów z fuzją *EBF1-PDGFRB* inhibitorami kinazy ABL1 [42]. Te same leki powinny znaleźć zastosowanie również w przypadkach obecności fuzji *NUP214-ABL1* [15]. Główna trudność implementacji tego typu leczenia wynika z ograniczonych możliwości diagnostycznych, gdyż skuteczne inhibitory kinaz tyrozynowych (TKI, *tyrosine kinase inhibitors*), takie jak: imatynib, dazatynib, nilotynib, zostały przetestowane i funkcjonują w leczeniu od wielu lat [44, 45]. Podobnie w przypadku nadaktywnych ścieżek sygnałowych zależnych od kinaz JAK i mTOR (przypadki z nadekspresją *CRLF2* lub mutacjami w genach

kodujących kinazy JAK) istnieją ogólnodostępne substancje aktywnie blokujące transdukcję sygnału w tych szlakach (rapamycyna, ruksolitynib) [37]. Jednak ich optymalne zastosowanie będzie prawdopodobnie wymagało randomizowanych badań klinicznych.

Obecnie w Polsce nie obowiązują ściśle zdefiniowane kryteria diagnostyczne *BCR-ABL1-like*. Jak dotąd, nie opracowano jednoznacznej i uniwersalnej listy genów ulegających nadmiernej ekspresji w tym podtypie, dlatego możliwości identyfikacji obejmują głównie analizę poszczególnych mutacji i fuzji genowych charakterystycznych dla tego podtypu białaczki. Przy czym badania te wykonywano, jak dotąd, niekomercyjnie, w przeważającej większości w ramach projektów badawczych. W miarę pogłębiania się wiedzy na temat biologii *Ph-like* ALL, zwłaszcza w zakresie wykrywania nadaktywnych szlaków sygnałowych, mogą zostać opracowane nowe strategie identyfikacji dla pacjentów ze szczególnie agresywnie przebiegającą białaczką. W rozwoju tych badań konieczne będzie zastosowanie wysokoprzepustowych technik analitycznych, takich jak mikromacierze i sekwencjonowanie nowej generacji, które pozwolą w sposób zintegrowany opracować odpowiednią diagnostykę i spersonalizowaną strategię leczenia [46].

### Piśmiennictwo

1. Mullighan C.G. Molecular genetics of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Invest.* 2012; 122: 3407–3415.
2. Asai D., Imamura T., Yamashita Y. i wsp. Outcome of TCF3-PBX1 positive pediatric acute lymphoblastic leukemia patients in Japan: a collaborative study of Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) and Children's Cancer and Leukemia Study Group (CCLSG). *Cancer Med.* 2014; 3: 623–631.
3. Gatta G., Rossi S., Fosch R. i wsp. Survival and cure trends for European children, adolescents and young adults diagnosed with acute lymphoblastic leukemia from 1982 to 2002. *Haematologica* 2013; 98: 744–752.
4. Kelly M.E., Lu X., Devidas M. i wsp. Treatment of relapsed precursor-B acute lymphoblastic leukemia with intensive chemotherapy: POG (Pediatric Oncology Group) study 9411 (SIMAL 9). *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 2013; 35: 509–513.
5. Raetz E.A., Bhatla T. Where do we stand in the treatment of relapsed acute lymphoblastic leukemia? *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2012; 129–136.
6. Locatelli F., Schrappe M., Bernardo M.E., Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012; 120: 2807–2816.
7. Hogan L.E., Meyer J.A., Yang J. i wsp. Integrated genomic analysis of relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia reveals therapeutic strategies. *Blood* 2011; 118: 5218–5226.
8. Harrison C.J. Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2013; 2013: 118–125.

9. Moorman A.V. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev.* 2012; 26: 123–135.
10. Stary J., Zimmermann M., Campbell M. i wsp. Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32: 174–184.
11. Harrison C.J., Moorman A.V., Barber K.E. i wsp. Interphase molecular cytogenetic screening for chromosomal abnormalities of prognostic significance in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a UK Cancer Cytogenetics Group Study. *Br. J. Haematol.* 2005; 129: 520–530.
12. Mullighan C.G., Su X., Zhang J. i wsp. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 470–480.
13. den Boer M.L., van Slegtenhorst M., De Menezes R.X. i wsp. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 125–134.
14. Mullighan C.G. Genomic profiling of B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 24: 489–503.
15. Roberts K.G., Morin R.D., Zhang J. i wsp. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012; 22: 153–166.
16. van der Veer A., Waanders E., Pieters R. i wsp. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood* 2013; 122: 2622–2629.
17. Roberts K.G., Morin R.D., Zhang J. i wsp. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell* 22: 153–166.
18. Tijchon E., Havinga J., van Leeuwen F.N., Scheijen B. B-lineage transcription factors and cooperating gene lesions required for leukemia development. *Leukemia* 2013; 27: 541–552.
19. Harvey R.C., Mullighan C.G., Chen I.M. i wsp. Rearrangement of CRLF2 is associated with mutation of JAK kinases, alteration of IKZF1, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115: 5312–5321.
20. Russell L.J., Capasso M., Vater I. i wsp. Deregulated expression of cytokine receptor gene, CRLF2, is involved in lymphoid transformation in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2009; 114: 2688–2698.
21. Mullighan C.G., Collins-Underwood J.R., Phillips L.A. i wsp. Rearrangement of CRLF2 in B-progenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. *Nat. Genet.* 2009; 41: 1243–1246.
22. Eide C.A., Adrian L.T., Tyner J.W. i wsp. The ABL switch control inhibitor DCC-2036 is active against the chronic myeloid leukemia mutant BCR-ABL T315I and exhibits a narrow resistance profile. *Cancer Res.* 2011; 71: 3189–3195.
23. Trageser D., Iacobucci I., Nahar R. i wsp. Pre-B cell receptor-mediated cell cycle arrest in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia requires IKAROS function. *J. Exp. Med.* 2009; 206: 1739–1753.
24. Joshi I., Yoshida T., Jena N. i wsp. Loss of Ikaros DNA-binding function confers integrin-dependent survival on pre-B cells and progression to acute lymphoblastic leukemia. *Nat. Immunol.* 2014; 15: 294–304.
25. Kuiper R.P., Waanders E., van der Velden V.H. i wsp. IKZF1 deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia* 2010; 24: 1258–1264.
26. Meyer C., Zur Stadt U., Escherich G. i wsp. Refinement of IKZF1 recombination hotspots in pediatric BCP-ALL patients. *Am. J. Blood Res.* 2013; 3: 165–173.
27. Martinelli G., Iacobucci I., Storlazzi C.T. i wsp. IKZF1 (Ikaros) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMEMA AL WP report. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 5202–5207.
28. Palmi C., Valsecchi M.G., Longinotti G. i wsp. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica* 2013; 98: 1226–1231.
29. den Boer M.L., Moqadam F.A., Lange-Turenhout E. i wsp. Expression pattern of miRNAs is not predictive for poor prognosis in BCR-ABL1-like childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2013; 122: 2631.
30. Harvey R.C., Mullighan C.G., Wang X. i wsp. Identification of novel cluster groups in pediatric high-risk B-progenitor acute lymphoblastic leukemia with gene expression profiling: correlation with genome-wide DNA copy number alterations, clinical characteristics, and outcome. *Blood* 2010; 116: 4874–4884.
31. Siponen M.I., Wisniewska M., Lehtio L. i wsp. Structural determination of functional domains in early B-cell factor (EBF) family of transcription factors reveals similarities to Rel DNA-binding proteins and a novel dimerization motif. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 25875–25879.
32. Perez-Andreu V., Roberts K.G., Harvey R.C. i wsp. Inherited GATA3 variants are associated with Ph-like childhood acute lymphoblastic leukemia and risk of relapse. *Nat. Genet.* 2013; 45: 1494–1498.
33. Kanhere A., Hertweck A., Bhatia U. i wsp. T-bet and GATA3 orchestrate Th1 and Th2 differentiation through lineage-specific targeting of distal regulatory elements. *Nat. Commun.* 2012; 3: 1268.
34. Horiuchi S., Onodera A., Hosokawa H. i wsp. Genome-wide analysis reveals unique regulation of transcription of Th2-specific genes by GATA3. *J. Immunol.* 2011; 186: 6378–6389.
35. Wei G., Abraham B.J., Yagi R. i wsp. Genome-wide analyses of transcription factor GATA3-mediated gene regulation in distinct T cell types. *Immunity* 2011; 35: 299–311.
36. Migliorini G., Fiege B., Hosking F.J. i wsp. Variation at 10p12.2 and 10p14 influences risk of childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia and phenotype. *Blood* 2013; 122: 3298–3307.
37. Maude S.L., Tasian S.K., Vincent T. i wsp. Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2012; 120: 3510–3518.
38. Funakoshi-Tago M., Tago K., Sumi K. i wsp. The acute lymphoblastic leukemia-associated JAK2 L611S mutant induces tumorigenesis in nude mice. *J. Biol. Chem.* 2009; 284: 12680–12690.
39. Mullighan C.G. JAK2 — a new player in acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2008; 372: 1448–1450.
40. Mullighan C.G., Zhang J., Harvey R.C. i wsp. JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009; 106: 9414–9418.
41. Roll J.D., Reuther G.W. CRLF2 and JAK2 in B-progenitor acute lymphoblastic leukemia: a novel association in oncogenesis. *Cancer Res.* 2010; 70: 7347–7352.
42. Lengline E., Beldjord K., Dombret H. i wsp. Successful tyrosine kinase inhibitor therapy in a refractory B-cell precursor acute

- lymphoblastic leukemia with EBF1-PDGFRB fusion. *Haematologica* 2013; 98: e146–148.
43. den Boer M.L. BCR-ABL-like ALL. EHA-SWG Scientific Meeting. New molecular insights in emerging therapeutic strategies in acute lymphoblastic leukemia (ALL). 28 February–2 March 2014. Lisbon, Portugal.
44. Kawajiri C., Tanaka H., Hashimoto S. i wsp. Successful treatment of Philadelphia chromosome-positive mixed phenotype acute leukemia by appropriate alternation of second-generation tyrosine kinase inhibitors according to BCR-ABL1 mutation status. *Int. J. Hematol.* 2014; 99: 513–518.
45. Aoe M., Shimada A., Muraoka M. i wsp. ABL kinase mutation and relapse in 4 pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia cases. *Int. J. Hematol.* 2014; 99: 609–615.
46. Pui C.H., Mullighan C.G., Evans W.E., Relling M.V. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? *Blood* 2012; 120: 1165–1174.