

# Akute lymphatische Leukämie der Erwachsenen

Harald Rieder<sup>1</sup>, Thomas Flohr<sup>2</sup>

- 1) AG Tumorgenetik, Institut für Klinische Genetik, Klinikum der Philipps-Universität, Marburg  
 2) MRD-Labor, Institut für Human-genetik, Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg

## Zusammenfassung

Bei der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) der Erwachsenen gehören genetische Analysen der Leukämiezellen zur Basis der diagnostischen Sicherung der Erkrankung. Die Befunde sind feste Bestandteile der Planung einer risikoadaptierten Therapie und sie werden zur Überprüfung des Therapieerfolges herangezogen. Aus genetischer Sicht ist die ALL sehr heterogen. Es bestehen enge Beziehungen zwischen Mutation, Phänotyp und Prognose der Erkrankung. Die Philadelphia-Translokation stellt die häufigste Veränderung dar und ist mit einer äußerst ungünstigen Prognose verbunden. Mit dem ABL-Tyrosinkinasehemmer Imatinib eröffnete sich erstmals die Möglichkeit einer gegen die Mutation zielgerichteten Behandlung der Ph-positiven ALL. Die Aufdeckung genetischer Veränderungen und die Aufklärung der zellbiologischen Abläufe bei der Leukämieentstehung und -progression sind Voraussetzung zur Entwicklung weiterer molekularer Therapieansätze. Die Prüfung auf residuelle Leukämie mit klonospezifischen genetischen Markern stellt eine neue Dimension bei der frühzeitigen Identifizierung von drohenden Rezidiven dar.

## Schlüsselwörter

Akute lymphatische Leukämie; Philadelphia-Translokation; Tyrosinkinasehemmer, minimale Resterkrankung; Therapiestudie;

## Summary

Genetic analyses are basic in the diagnosis of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). The findings are integral part of a risk adapted therapy, and are used for disease monitoring. ALL is highly heterogeneous from a genetic point of view. There are strong relations between mutations, phenotype and prognosis of the disease. The Philadelphia translocation represents the most frequent genetic change and is associated with an extremely unfavorable prognosis. The tyrosine kinase inhibitor Imatinib for the first time offers the opportunity of a treatment directed against the mutation in Ph-positive ALL. The identification of mutations and the clarification of the cellular biological processes of leukemia initiation and progress are prerequisite for the development of other causal molecular treatment. Monitoring of minimal residual disease by clonospecific genetic markers opened up a new dimension of an early detection of an imminent relapse.

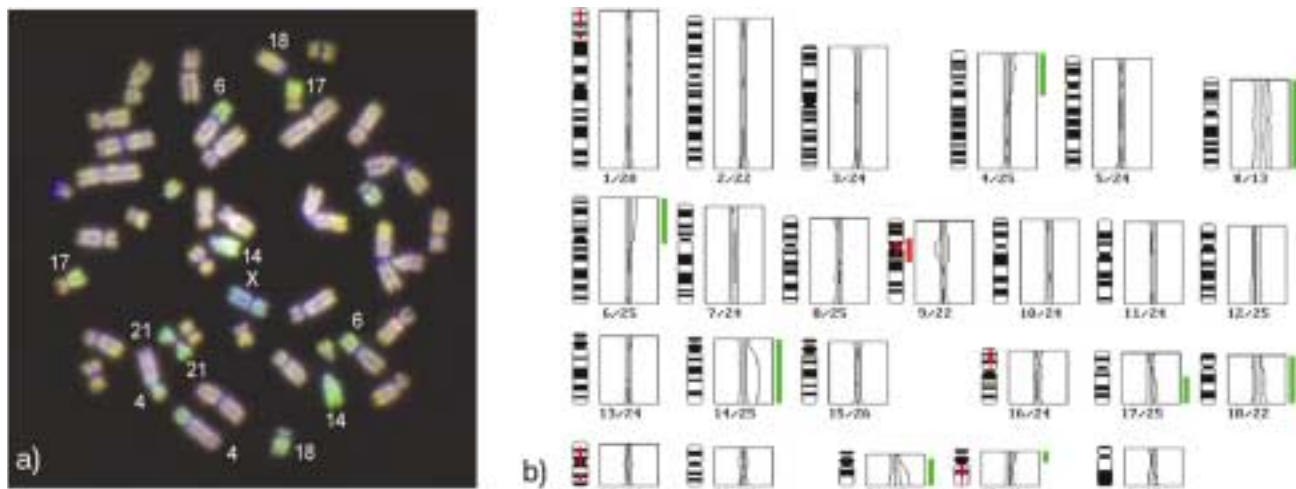
## Keywords

Acute lymphoblastic leukemia; Philadelphia translocation; tyrosine kinase inhibitor; minimal residual disease; therapy study;

## Einleitung

### Definition, Epidemiologie und Ätiologie

Die akute lymphatische Leukämie (ALL) des Erwachsenen ist charakterisiert durch die Proliferation und Akkumulation unreifer Vorläuferzellen der lymphatischen Zellreihe. Die Inzidenz der ALL zeigt ein Maximum von 4,3/100 000 in der Altersgruppe bis 5 Jahre, ein Minimum von etwa 0,5/100.000 in den Altersgruppen von 35 bis 45 Jahren, und steigt auf etwa 2,5/100.000 in der Altersgruppe mit 85 Jahren (McNally et al., 1997; National Cancer Institute, 2000). Damit gehört die ALL bei den Erwachsenen insgesamt zu den eher selteneren Malignomen. Zigarettenrauchen scheint mit einem erhöhten Risiko für eine ALL verbunden zu sein (Sandler et al., 1993). Die Inzidenzzunahme im höheren Erwachsenenalter deutet auf die Leukämie als Folge des Alterungsprozesses hin, infolge dessen eine Akkumulation genetischer Schädigungen erfolgt, die in der malignen Entartung einer lymphopoetischen Vorläuferzelle mündet. Bei bis zu 2,3% der Patienten mit ALL ist ein vorausgegangenes Malignom beschrieben. Bei bis zu 10% der Fälle mit einer Leukämie als Zweitneoplasie nach vorausgegangener Chemo- und/oder Strahlentherapie handelte es sich um eine ALL (Fonatsch et al., 1982; Archimbaud et al., 1987; Kapelushnik et al., 1991; Lennard et al., 1991; Auxenfans et al., 1992; Bokemeyer et al., 1992; GFCH, 1994; Pagano et al., 1999).



**Abb 1a) Metaphase und b) Profile der Fluoreszenz-Verhältnisse nach vergleichender genomischer Hybridisierung (CGH) bei einem Patienten mit hoch-hyperdiploidem Karyotyp;**

Die Chromosomen X, 14, 18 und 21 weisen komplette und die Chromosomen 4, 6 und 17 partielle Zugewinne auf (Abweichungen in den kurzen Arme der akrozentrischen Chromosomen, in den Zentromer- und Telomerbereichen sowie Unterrepräsentationen in den mit ! gekennzeichneten Chromosomenregionen werden nicht als tumorassoziierte Veränderungen berücksichtigt).

### Klassifikation

Die morphologische Klassifikation nach der French-American-British (FAB) Cooperative Group unterscheidet zwischen den Subgruppen L1, L2 und L3. Klinisch bedeutsam ist die Subgruppe L3. Sie ist assoziiert mit der immunphänotypisch definierten reifen B-ALL (Bennett et al., 1976; Gassmann et al., 1996). Die morphologische Diagnose einer ALL erfordert immer eine Bestätigung durch die Immunphänotypisierung. Nach immunologischen Kriterien wird eine ALL der B- und T-Zelllinie getrennt. Innerhalb der ALL der B-Zelllinie wird unterschieden zwischen B-Vorläufer- und reifer B-ALL. Die B-Vorläufer-ALL umfasst weiter die Untergruppen pro-B-, c- und prä-B-ALL. Die wichtigsten Subgruppen der T-Linien-ALL sind die pro- und prä-T-ALL sowie die reiferen Gruppen kortikale und reife T-ALL (Bene et al., 1995). Mit 76% macht die ALL der B-Zellreihe den größten Anteil aus. Dabei entfallen etwa 11% auf die pro-B-, 51% auf die c- und etwa 10% auf die prä-B-ALL. Die reife B-ALL umfasst etwa 4% der Fälle. Der T-Zellreihe sind ca. 24% der ALL zuzuordnen (Gökbuget et al., 1998).

### Therapie und Prognose

Mit risikoadaptierten Therapiestrategien erreichen derzeit insgesamt 70-90% der Patienten eine komplette Remission (CR), das rezidivfreie Überleben liegt bei 25-50%. Insbesondere bei der reifen B-ALL führte die Gabe kurzer, aggressiver Therapien zu einer Erhöhung der CR-Rate auf 70-80% und des rezidivfreien Überle-

bens nach fünf Jahren auf 50-60% (Hoelzer et al., 1996). Eine weiterhin extrem schlechte Prognose weisen t(9;22)/BCR-ABL-positive Patienten mit einer Gesamtüberlebensrate von unter 10% auf. Eine kurative Option bietet hier die allogene KMT, die die Rate des krankheitsfreien Überlebens auf bis zu 30% steigern kann (Barrett et al., 1992). Die Behandlung der erwachsenen ALL-Patienten erfolgt in Deutschland in der Regel im Rahmen der multizentrischen ALL-Studien des Erwachsenen (German Multicenter ALL Study Group = GMALL).

### Gen- und Chromosomendefekte

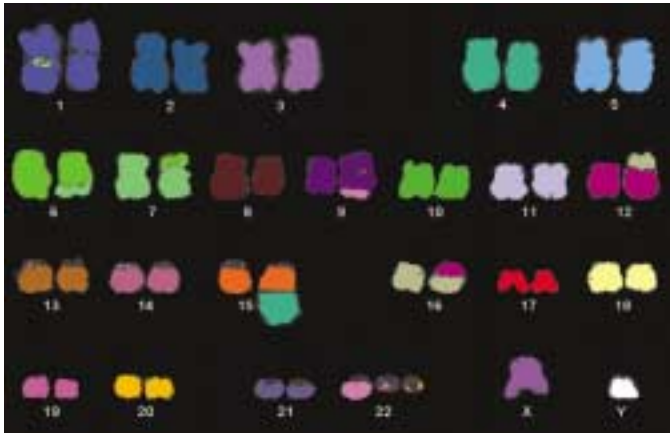
#### Ploidieveränderungen

Bei 2-9% der erwachsenen ALL Patienten findet sich ein hoch-hyperdiploider Karyotyp mit 51-65 Chromosomen. Es besteht eine enge Assoziation mit einer c-ALL. Mit absteigender Häufigkeit sind die Chromosomen X, 21, 4, 6, 14, 8, 10 und 17 überzählig vorhanden (Abbildung 1). Eine Vermehrung der Chromosomenzahl in den nahezu triploiden (66-80 Elemente) oder nahezu tetraploiden (81-103 Elemente) Bereichen ist mit 2-4% der Fälle eher selten. Ein nahezu tetraploider Karyotyp ist mit einem T-Linien-Immunphänotyp assoziiert (Rieder et al., 1993; Groupe Français de Cytogénétique Hématologique, 1996; Secker-Walker et al., 1997; Faderl et al., 2000). Bislang ist nicht klar, welche Bedeutung der exzessiven Vermehrung der Chromosomendosis bzw. der Bevorzugung einzelner Chromosomen bei den chromosoma-

len Zugewinnen bei der Entstehung der ALL zukommt. ALL-Blasten mit einem hoch-hyperdiploiden Karyotyp zeichnen sich durch besondere Eigenschaften aus. Sie akkumulieren in höherem Maße als andere ALL-Zellen Methotrexat, reagieren empfindlicher auf Mercaptopurin, Thioguanin, Cytarabin sowie L-Asparaginase und sind vermehrt anfällig für Apoptose (Whitehead et al., 1992; Kaspers et al., 1995; Hongo et al., 1997; Whitehead et al., 1998; Ito et al., 1999). Ein hypodiploider Karyotyp (< 46 Chromosomen) wird bei 4-9% der erwachsenen ALL-Patienten gefunden. In den meisten Fällen liegt eine B-Vorläufer-ALL vor. Der Verlust von genetischem Material und der daraus folgende Fehlbestand von potentiellen Tumorsuppressorgenen könnte bei der hypodiploiden ALL als Erklärungsmodell für die Leukämieentstehung dienen. Entsprechende Untersuchungen, die diese Hypothese belegen, stehen noch aus (Faderl et al., 1998).

#### Isolierte numerische Chromosomenaberrationen

Ganzzahlige Aberrationen einzelner Chromosomen ohne weitere numerische und/oder strukturelle Veränderungen sind mit weniger als 0,5% bei der ALL der Erwachsenen äußerst selten. Bisher wurden nur eine Trisomie 8 sowie eine Monosomie 7 als isolierte primäre Chromosomenanomalie bei der ALL beobachtet (Rieder et al., 1993; Groupe Français de Cytogénétique Hématologique, 1996; Secker-Walker et al., 1997; Faderl et al., 2000).



**Abb 2**  
Vielfarbiges Karyogramm einer Knochenmarks-Metaphase eines ALL-Patienten nach Hybridisierung mit verschiedenfarbig markierten Sonden für den gesamten Chromosomensatz (24Xcyte, Fa. MetaSystems) in Falschfarbendarstellung

Es liegen mit den Translokationen t(9;22), t(6;7), t(12;16), der(15)t(4;15) und einer Verdoppelung des Ph-Chromosoms komplexe Karyotypveränderungen vor.

### Strukturelle Chromosomenveränderungen

Über 40 unterschiedliche wiederkehrende strukturelle Chromosomenveränderungen sind bei der ALL der Erwachsenen beschrieben (Huret, 2002). Die Häufigkeit der einzelnen Aberrationen beträgt dabei nicht selten weniger als 1% (Tabelle 1). Dabei treten Rearrangements der T-Zellrezeptorkettengene sowie der Immunglobulin-Genkluster in unterschiedlicher Kombination auf. Sie sind Ausdruck des lymphatischen Ursprungs der Leukämie und Folge eines fehlerhaften Verlaufs der physiologischen Rekombination dieser Genorte (illegitime Rekombination). Eine Besonderheit der strukturellen Chromosomenveränderungen stellen Isochromosomen ganzer Chromosomenarme dar. Denn sie gehen mit einer Kombination von Verlust und Zugewinn chromosomalen Materials einher. Hierzu gehören die Isochromosomen i(7q), i(9q), oder i(17q) (Martineau et al., 1996). Welche Bedeutung der Bildung von Isochromosomen bei der ALL zukommt, ob der Zugewinn oder der Verlust von chromosomalem Material die pathogenetisch ausschlaggebende Veränderung darstellt, ist bisher nicht bekannt.

### BCR/ABL-Onkogen

Die Philadelphia-Translokation t(9;22)(q34;q11) ist die häufigste Chromosomenaberration bei der ALL der Erwachsenen. Sie wird bei 20-30% der Patienten gefunden und zeigt eine mit dem Alter zunehmende Inzidenz. Sie wird nahezu ausschließlich bei der ALL der B-Vorläuferzellen beobachtet

mit einer Häufigkeit von 43% bei der c-, 34% bei der prä- und 6% bei der pro-B-ALL. Mit 69-76% überwiegen die Fälle mit einem p190<sup>BCR/ABL</sup>-Transkript, bei 21-28% der Fälle liegt ein p210<sup>BCR/ABL</sup>-Rearrangement vor und bei etwa 3% werden beide Transkripte gefunden (Maurer et al., 1991; Westbrook et al., 1992; Secker-Walker et al., 1997; Taylor et al., 1997; Rieder et al., 1998; Gleissner et al., 2001). Unabhängig von dem jeweiligen Bruchpunkt sind die BCR/ABL-Proteine Tyrosin-Phosphokinasen, die aufgrund ihrer sterischen Komposition und der Interferenz regulatorischer Protein-Domänen konstitutiv aktiv sind. Die funktionalen Sequenzen des BCR/ABL-Proteins sind Ausgangspunkte für eine Vielzahl von Protein-Protein-Interaktionen. Dies weist bereits auf eine Beteiligung zahlreicher nachgeschalteter intrazellulärer Signaltransduktionswege (Faderl et al., 1999; Deininger et al., 2000). Bei 30-75% gesunder Personen konnten unter Verwendung hochsensitiver PCR-Verfahren p210<sup>BCR/ABL</sup>- und/oder p190<sup>BCR/ABL</sup>-Transkripte nachgewiesen werden (Biernaux et al., 1995; Bose et al., 1998). Daher dürfte die Philadelphia-Translokation alleine nicht für die Ausprägung des Vollbildes einer Leukämie ausreichen. Bei 41-86% der Ph-positiven ALL Patienten treten zusätzliche Chromosomenaberrationen auf (Abbildung 2). Zu den häufigsten wiederkehrenden Zusatzaberrationen gehören 9p-Anomalien, ein hochhyperdiploider Karyotyp sowie eine Monosomie 7 (Rieder et al., 1991; Johansson et al., 1994; Groupe Français de Cytogénétique Hématologique,

1996; Rieder et al., 1996). Ferner finden sich bei über einem Drittel der Ph-positiven ALL Patienten homozygote Deletionen des p16<sup>INK4a</sup>-Tumorsuppressorgens (Rieder et al., 2001). Bisher ist nicht klar, welche Rolle diesen oder anderen genetischen Veränderungen neben dem BCR/ABL-Transkript bei der Entstehung der Ph-positiven ALL zukommt. Die Entwicklung von synthetischen Verbindungen, die in der Lage sind, mit Adenosin-Triphosphat (ATP) oder dem Substrat-Protein um die Bindungsstelle im katalytischen Zentrum der BCR/ABL-Tyrosinkinase zu konkurrieren, bietet völlig neue kausale Therapieansätze bei der Ph-positiven ALL. Die am meisten erfolgversprechende Verbindung stellt Imatinib dar. Diese Substanz hemmt die ABL-Tyrosinkinase bereits in mikromolaren Konzentrationen. Die Hemmung der Tyrosinkinaseaktivität resultiert in der Veränderung der Transkription verschiedener Gene, die in die Kontrolle von Zellzyklus, Zelladhäsion und Organisation des Zytoskelets involviert sind. Folge ist der programmierte Zelltod der Ph-positiven Zelle (Druker et al., 1996; Beran et al., 1998; Mahon et al., 2000). Anhand charakteristischer Gen-Expressionsprofile können Imatinib-sensitive und -resistente Ph-positiven ALL-Patienten unterschieden werden (Hofmann et al., 2002).

### MLL-Fusionsgene

Mit 3-7% stellt die Translokation t(4;11)(q21;q23) die zweithäufigste strukturelle Chromosomenveränderung dar. Es besteht in der Regel eine pro-B-ALL mit Koexpression von

Tab 1 Primäre strukturelle Chromosomenaberrationen bei der ALL der Erwachsenen

Chromosomen-aberrationen	Gene	Immun-phänotyp	Häufigkeit
<b>TCR-b-Genlocus (7q34-35)</b>			
t(1;7)(p32;q35)	TAL1/TCR-b	T-	<1%
t(1;7)(p34;q35)	LCK/TCR-b	T-	<1%
t(7;9)(q35;q32)	TCR-b/TAL2	T-	<1%
t(7;9)(q35;q34)	TCR-b/TAN1	T-	<1%
t(7;10)(q35;q24)	TCR-b/HOX11	T-	<1%
t(7;11)(q35;p13)	TCR-b/RHOM2		
<b>TCR-a/d-Genlocus (14q11)</b>			
t(1;14)(p32-34;q11)	TAL1/TCR-d	T-	<1%
t(8;14)(q24;q11)	MYC/TCR-a	T-	<1%
t(10;14)(q24;q11)	HOX11/TCR-d	T-	1-3%
t(11;14)(p13;q11)	RHOM2/TCR-d	T-	2-3%
t(11;14)(p15;q11)	RHOM1/TCR-d	T-	<1%
inv(14)(q11q32.1)	TCR-a/TCL1	T-	<1%
inv(14)(q11;q32.3)	TCR-a,d/IGH	T-	<1%
<b>Immunglobulin-Genloci (2p11, 14q32, 22q11)</b>			
t(2;8)(p11;q24)	IGK/MYC	B-	<1%
t(8;14)(q24;q32)	MYC/IGH	B-	2-4%
t(8;22)(q24;q11)	MYC/IGL	B-	<1%
<b>CDKN2A/p16<sup>INK4a</sup>-Gen (9)(p21-22)</b>			
del/der/t(9p21-22)	CDKN2A	c-/prä-B-/T-	7-15%
<b>ABL-Gen (9q34)</b>			
t(9;22)(q34;q11)	ABL/BCR	c-/prä-B-	20-30%
t(9;12)(q34;p13)	ABL/ETV6	c-	<1%
<b>MLL-Gen (11q23)</b>			
t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL	pro-B-	3-7%
t(11;19)(q23;p13.3)	MLL/ENL	pro-B-/präT-	<1%
<b>ETV6-Gen (12p13)</b>			
t(9;12)(q34;p13)	ABL/ETV6	c-	<1%
t(12;21)(p13;q22)	ETV6/AML1	c-	2-3%
<b>E2A-Gen (19p13)</b>			
t(1;19)(q23;p13)	PBX1/E2A	prä-B-	2-4%
t(17;19)(q22;p13)	HLF/E2A	prä-B-	<1%
<b>andere Chromosomenregionen</b>			
t(4;11)(q21;p15)	NUP98/RAP1GDS1	T-	<1%
5q-Deletionen	?	prä-T-	<1%
6q-Deletionen	?	c-/prä-B-/T-	4-6%
t(6;14)(p21;q32)	CCND3/IgH	c-	<1%
i(7)(q10)	?	c-/prä-B-/T-	<1%
dic(7;9)(p11;p11-12)	?	c-/prä-B-	~1%
i(9)(q10)	?	c-/prä-B-/T-	~1%
dic(9;12)(p11-12;p11-12)	?	pro-B-/c-/prä-B-	~1%
dic(9;20)(p11-12;q11-12)	?	c-/prä-B-	~1%
del(12)(p11-13)	?	c-/prä-B-	4-5%
i(17)(q10)	?	pro-B-/T-	~1%

CD65. Zudem liegen häufig exzessiv hohe Leukozytenzahlen vor. Auf molekularer Ebene kommt es zu einer Fusion des in der Chromosomenbande 11q23 lokalisierten MLL-Gens mit dem AF 4 Gen aus Chromosomenbande 4q21. Weitere Translokationen mit Beteiligung der Chromosomenbande 11q23 und dem MLL-Gen wie die Translokationen t(11;19)(q23;p13.3), t(6;11)(q27;q23) oder t(1;11)(p32;q23) kommen bei der ALL der Erwachsenen selten vor (Huret, 2002). Die Aufklärung der biologischen Wirkung der Fusionsgene steht noch aus.

#### CDKN2A-Deletionen

Veränderungen von Chromosom 9 mit Verlust oder Rearrangement des kur-

zen Armes werden bei 7-15 % der erwachsenen Patienten mit ALL beobachtet (Groupe Française de Cytogénétique Hématologique, 1996; Secker-Walker et al. 1997). In der Chromosomenbande 9p21 sind die Gene für die zyklinabhängigen Kinase-Inhibitoren 2A (CDKN2A) und 2B (CDKN2B) lokalisiert. Für CDKN2A werden die Synonyme multiples Tumorsuppressorgen 1, MTS1, und Inhibitor (p16) der zyklinabhängigen Kinase 4 (CDK4), p16<sup>INK4a</sup>, gebraucht, wovon p16<sup>INK4a</sup> in der Regel verwendet wird. Gleichmaßen wird p15<sup>INK4b</sup> anstelle der Bezeichnungen CDKN2B und MTS2 benutzt. Hauptmechanismen der Inaktivierung von p16<sup>INK4a</sup>/p14<sup>ARF</sup> und von p15<sup>INK4b</sup> sind homozygote und hemizygoten Deletionen, die

Hypermethylierung der Promoterregionen und seltener intragenische Mutationen. Auffällig häufig sind Veränderungen von p16<sup>INK4a</sup> bei der T-ALL. So werden homozygote Verluste von p16<sup>INK4a</sup> bei 58 % der Fälle gefunden. Intragenische missense Mutationen werden auf etwa 7% geschätzt. Bei über 90% der Patienten mit T-ALL kommt es auf DNA-, mRNA- oder Proteinebene zu einer Inaktivierung von p16<sup>INK4a</sup> und p15<sup>INK4b</sup>. Verluste beider Allele von p16<sup>INK4a</sup> finden sich bei etwa 20% der Patienten mit B-Vorläufer-ALL. Intragenische Mutationen sind bei 2,4% der Patienten mit prä-B-ALL beschrieben (Ruas et al., 1998; Omura-Minamisawa et al., 2000).

#### MYC-Genaktivierung

Die reife B-ALL macht etwa 4% aller Fälle der ALL der Erwachsenen aus. Die Blasten sind durch eine starke Expression von Immunglobulinen an der Zelloberfläche (slg) charakterisiert und weisen fast immer eine L3-Morphologie auf. Bei etwa 85% der Fälle wird eine Translokation t(8;14)(q24;q32) aufgedeckt. Weniger häufig sind die Varianten t(2;8)(p12;q24) mit einer Häufigkeit von 5% und die Translokation t(8;22)(q24;q11) mit einer Häufigkeit von etwa 15%. In jedem Fall kommt es zur Rekombination des MYC-Locus in der Chromosomenbande 8q24. Dabei sind die Gencluster der Immunglobulin-Ketten involviert, in 14q32 das Gen für die schwere Kette, in 2p12 für die leichte Kappa-Kette und in 22q11 für die leichte Lambda-Kette. Die durch diese Translokationen verursachte Dys-

regulation der Expression des Proto-Onkogens MYC wird als entscheidender Faktor bei der onkogenen Transformation der betroffenen B-Zelle angesehen (Zech et al., 1976; Van den Berghe et al., 1979; Hecht et al., 2000). Bei etwa 60% der Patienten mit B-ALL und 8q24-Translokationen finden sich zusätzliche Chromosomenveränderungen (Berger et al., 1989; Kornblau et al., 1991; Lai et al., 1989). Diese sind zum großen Teil komplexer Natur und umfassen ganz überwiegend unbalancierte Chromosomenaberrationen in Form von Zugewinnen und Verlusten von chromosomalem Material. Eine besondere Zusatzaberration stellt die für das follikuläre Lymphom typische Translokation t(14;18)(q32;q21) dar, da sie mit einer äußerst ungünstigen Prognose der B-ALL-Patienten einherzugehen scheint. Dabei geht man heute davon aus, dass lymphoblastische Leukämien mit L3-Morphologie und einer Translokation t(14;18) sekundär transformierte follikuläre Lymphome sind, die neben einer primären t(14;18) sekundär eine Burkitt-Translokation akquiriert haben (Gluck et al., 1986; Thangavelu et al., 1990; Fiedler et al., 1991; Karsan et al., 1993). Die prognostische Bedeutung anderer genetischer Zusatzaberrationen für Patienten mit reifer B-ALL ist bisher nicht bekannt.

#### **Molekulare Verlaufskontrolle und Erfassung minimaler Resterkrankung – Prognoseverbesserung und Bedeutung für die Therapie**

Der Einsatz intensiver Polychemotherapie nach zeitlich festgelegten Schemata führt bei 60 bis 80% der erwachsenen Patienten zu einer kompletten klinischen Remission, das bedeutet, die Leukämiezellzahlen fallen im Verlauf der ersten Behandlungswochen unter die Nachweisgrenze konventioneller diagnostischer Verfahren (< 1-5 % maligne Zellen im Knochenmark). Eine Reduktion der Blastenzahl um ca. zwei Zehnerpotenzen bedeutet jedoch, dass noch ein erheblicher Anteil residueller Leukämiezellen im Patienten vorhanden sein kann, ohne dass diese mit gängigen Nachweismethoden (Morphologie, Immunophänotypisierung, Zyto-

genetik oder Southern Blot Analyse) identifiziert werden können (Campa et al., 1995; Feroni et al., 1997; Feroni et al., 1999).

Der Einsatz etablierter und validierter PCR-Protokolle ermöglicht derzeit die Detektion der BCR-ABL-Transkriptmenge, die in etwa der Transkriptionsmenge einer einzelnen Zelle entspricht, und erlaubt somit eine sehr viel sensitivere Erfassung minimaler residueller Erkrankung (minimal residual disease, MRD). Als Markersystem für die MRD-Untersuchung eignet sich neben dem Nachweis leukämiezellspezifischer chromosomaler Aberrationen (Fusionsgen-Diagnostik) insbesondere die Identifizierung und quantitative Analyse klonspezifischer Immunglobulin und T-Zellrezeptor Genrearrangements (Bruggemann et al., 2000; Nakao et al., 2000). Durch die Verwendung geeigneter genetischer Marker kann daher das individuelle Ansprechen auf die Chemotherapie durch die PCR-Diagnostik direkt erfasst und dieser Parameter als wesentliches Element der Remissionsüberwachung und Therapiestratifizierung genutzt werden. Bisherige Untersuchungen weisen eindeutig darauf hin, dass dem MRD-Nachweis erhebliche prognostische Bedeutung zukommt. So ist ein hohes Rezidivrisiko in der Regel assoziiert mit einer hohen persistierenden MRD-Last nach der Induktionstherapie oder mit einem ansteigenden MRD-Verlauf unter Therapie. Demgegenüber stehen deutlich niedrige Rezidivraten bei Patienten mit negativem MRD-Befund bzw. niedriger und abfallender MRD-Kinetik (Brisco et al., 1996; Van Dongen et al., 1998; Hoelzer et al., 2000). Zielgedanke einer zukünftig therapiebegleitenden MRD-Diagnostik ist es, die Informationen über den MRD-Status in ein individualisiertes Therapiekonzept umzusetzen. Standardrisikopatienten, mit negativem MRD-Befund, könnten hiernach von einer kontrollierten Therapiereduktion profitieren. Für Hochrisikopatienten mit persistierend hohen MRD-Werten käme demgegenüber eine Intensivierung der Therapie in Betracht.

#### **Ausblick**

Bei der ALL der Erwachsenen gehören genetische Analysen der Leukämiezellen zur Basis der diagnostischen Sicherung der Erkrankung. Die Befunde sind feste Bestandteile der Planung einer risikoadaptierten Therapie und sie werden zur Überprüfung des Therapieerfolges herangezogen. Mit der Aufdeckung neuer genetischer Veränderungen und dem zunehmenden Verständnis der zellbiologischen Abläufe bei der Leukämieentstehung und -progression rücken kausale molekulare Therapieansätze immer weiter in den Bereich des Möglichen.

Weiterführende Informationen und Kontaktadressen zur Thematik können unter folgender Internet-Adresse bezogen werden: <http://www.kompetenznetz-leukaemie.de>

#### **Danksagung**

Ein Teil dieser Arbeit entstand im Rahmen des durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Teilprojektes „Zentrale Zytogenetik“ des Kompetenznetz „Akute und chronische Leukämien“, Förderkennzeichen 01GI9974.

#### **Literatur**

- Archimbaud E, Charrin C, Ffrench M, Fiere D, Viala J-J (1987) Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia following radiotherapy for carcinoma of the cervix. *Acta Haematol* 77:238-240.
- Auxenfans E, Morel P, Lai JL, Sartiaux C, Detournignies L, Bauters F, Fenaux P (1992) Secondary acute lymphoblastic leukemia with t(4;11): Report on two cases and review of the literature. *Ann Hematol* 65:143-146.
- Barrett AJ, Horowitz MM, Ash RC, Atkinson K, Gale RP, Goldman JM, Henslee-Downey PJ, Herzig RH, Speck B, Zwaan FE, Bortin MM (1992) Bone marrow transplantation for Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 79:3067-3070.
- Bene CM, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, Van 't Veer MB (1995) Proposals for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 9:1783-1786.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel M-T, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C (1976) Proposals for the classification of the acute leukemias: French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Br J Haematol* 33:451-458.
- Beran M, Cao X, Estrov Z, Jeha S, Jin G, O'Brien S, Talpaz M, Arlinghaus RB, Lydon NB, Kantarjian H (1998) Selective inhibition of cell proliferation and BCR-ABL phosphorylation in acute lymphoblastic leukemia cells expressing Mr

- 190,000 BCR-ABL protein by a tyrosine kinase inhibitor (CGP-57148). *Clin Cancer Res* 4:1661-1672.
- Berger R, Le Coniat M, Derré J, Vecchione D (1989) Secondary chromosomal abnormalities of band 13q34 in Burkitt lymphoma-leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 1:115-118.
- Biernaux C, Loos M, Sels A, Huez G, Strykmans P (1995) Detection of major bcr-abl gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals. *Blood* 86:3118-3122.
- Bokemeyer C, Freund M, Schmoll H-J, Rieder H, Fonatsch C (1992) Secondary lymphoblastic leukemia following treatment of a malignant germ cell tumour. *Ann Oncol* 3:772.
- Bose S, Deininger M, Goratybor J, Goldman JM, Melo JV (1998) The presence of typical and atypical BCR-ABL fusion genes in leukocytes of normal individuals: Biologic significance and implications for the assessment of minimal residual disease. *Blood* 92:3362-3367.
- Brisco MJ, Hughes E, Neoh SH, Sykes PJ, Bradstock K, Enno A, Szer J, McCaul K, Morley AA (1996) Relationship between minimal residual disease and outcome in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 87:5251-5256.
- Bruggemann M, Droese J, Bolz I, Luth P, Pott C, von Neuhoff N, Scheuring U, Kneba M (2000) Improved assessment of minimal residual disease in B cell malignancies using fluorogenic consensus probes for real-time quantitative PCR. *Leukemia* 14:1419-1425.
- Campana D, Pui C-H (1995) Detection of minimal residual disease in acute leukemia: Methodologic advances and clinical significance. *Blood* 85:1416-1434.
- Deininger MWN, Goldman JM, Melo JV (2000) The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 96:3343-3356.
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB (1996) Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 2:561-566.
- Faderl S, Kantarjian HM, Talpaz M, Estrov Z (1998) Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 91:3995-4019.
- Faderl S, Kantarjian HM, Thomas DA, Cortes J, Giles F, Pierce S, Albitar M, Estrov Z (2000) Outcome of Philadelphia chromosome-positive adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 36:263-273.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Obrien S, Kurzrock R, Kantarjian HM (1999) Mechanisms of disease - The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 341:164-172.
- Fiedler W, Weh HJ, Zeller W, Fonatsch C, Hillion J, Larsen C, Wörmann B, Hossfeld DK (1991) Translocation (14;18) and (8;22) in three patients with acute leukemia/lymphoma following cytotoxic/centroblastic non-Hodgkin's lymphoma. *Blut* 63:282-287.
- Fonatsch C, Burchrichter H, Schaadt M, Kirchner HH, Diehl V (1982) Translocation t(8;22) in peripheral lymphocytes and established lymphoid cell lines from a patient with Hodgkin's disease followed by acute lymphatic leukemia. *Int J Cancer* 30:321-327.
- Feroni L, Coyle LA, Papaioannou M, Yaxley JC, Sinclair MC, Chim JS, Cannell P, Secker-Walker LM, Mehta AB, Prentice HG, Hoffbrand AV (1997) Molecular detection of minimal residual disease in adult and childhood acute lymphoblastic leukaemia reveals differences in treatment response. *Leukemia* 11:1732-1741.
- Feroni L, Harrison CJ, Hoffbrand AV, Potter MN (1999) Investigation of minimal residual disease in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia by molecular analysis. *Brit J Haematol* 105:7-24.
- Gassmann W, Löffler H, Ludwig WD, Schwartz S, Maurer J, Fonatsch C, Rieder H, Haferlach T, Thiel E, Gökbuget N, and Hoelzer D (1996) Diagnostic problems in T-ALL - morphological and cytochemical analysis of the diagnostic review panel of the German Multicenter ALL Study group. *Blood* 88, S1 155b.
- GFCH (1994) Groupe Francais de Cytogénétique Hématologique - Acute leukemia treated with intensive chemotherapy in patients with a history of previous chemo- and/or radiotherapy: Prognostic significance of karyotype and preceding myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 8:87-91.
- Gleissner B, Rieder H, Thiel E, Fonatsch C, Janssen LAJ, Heinze B, Schwartz S, Janssen JWG, Schoch C, Maurer J, Gökbuget N, Hoelzer D, Bartram CR (2001) Prospective BCR-ABL analysis by polymerase chain reaction (PCR) in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: reliability of PCR and comparison with cytogenetic data. *Leukemia* 15:1834-1840.
- Gluck WL, Bigner SH, Borowitz MJ, Brenckmann WD (1986) Acute lymphoblastic leukemia of Burkitt's type (L3 ALL) with 8;22 and 14;18 translocations and absent surface immunoglobulins. *Am J Clin Pathol* 85:636-640.
- Gökbuget N, Hoelzer D (1998) Akute lymphatische Leukämie des Erwachsenen. *Onkologie* 4:778-790.
- Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (1996) Cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia: Correlations with hematologic findings and outcome. A collaborative study of the Groupe Francais de Cytogénétique Hématologique. *Blood* 87:3135-3142.
- Hecht JL, Aster JC (2000) Molecular biology of Burkitt's lymphoma. *J Clin Oncol* 18:3707-3721.
- Hoelzer D, Gökbuget N (2000) Recent approaches in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Crit Rev Oncol Hematol* 36:49-58.
- Hoelzer D, Ludwig WD, Thiel E, Gassmann W, Löffler H, Fonatsch C, Rieder H, Heil G, Heinze B, Arnold R, Hossfeld D, Büchner T, Koch P, Freund M, Hiddemann W, Maschmeyer G, Heyll A, Aul C, Faak T, Kuse R, Ittel TH, Gramatzki M, Diedrich H, Kolbe K (1996) Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 87:495-508.
- Hofmann WK, De Vos S, Elashoff D, Gscheidmeier H, Hoelzer D, Koeffler HP, Ottmann OG (2002) Relation between resistance of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia to the tyrosine kinase inhibitor ST1571 and gene-expression profiles: a gene-expression study. *Lancet* 359:481-486.
- Hongo T, Yajima S, Sakurai M, Horikoshi Y, Hanada R (1997) In vitro drug sensitivity testing can predict induction failure and early relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 89:2959-2965.
- Huret J-L (2002) Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. Internet <http://www.infobiogen.fr/services/chromcancer>
- Ito C, Kumagai M, Manabe A, Coustansmith E, Raimondi SC, Behm FG, Murti KG, Rubnitz JE, Pui CH, Campana D (1999) Hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia with 51 to 65 chromosomes: A distinct biological entity with a marked propensity to undergo apoptosis. *Blood* 93:315-320.
- Johansson B, Mertens F, Mitelman F (1994) Secondary chromosomal abnormalities in acute leukemias. *Leukemia* 8:953-962.
- Kapelushnik J, Dubé I, Wilson P, Greenberg M (1991) Acute lymphoblastic leukemia with t(4;11) translocation after osteogenic sarcoma. *Cancer* 67:2887-2889.
- Karsan A, Gascoyne RD, Coupland RW, Shepherd JD, Phillips GL, Horsman DE (1993) Combination of t(14;18) and a Burkitt's type translocation in B-cell malignancies. *Leuk Lymphoma* 10:433-441.
- Kaspers GJL, Smets LA, Pieters R, Van Zantwijk CH, van Wering ER, Veerman AJP (1995) Favorable prognosis of hyperdiploid common acute lymphoblastic leukemia may be explained by sensitivity to antimetabolites and other drugs: Results of an in vitro study. *Blood* 85:751-756.
- Kornblau SM, Goodacre A, Cabanillas F (1991) Chromosomal abnormalities in adult non-endemic Burkitt's lymphoma and leukemia: 22 new reports and a review of 148 cases from the literature. *Hematol Oncol* 9:63-78.
- Lai JL, Fenaux P, Zandecki M, Nelken B, Huart JJ, Deminatti M (1989) Cytogenetic studies in 30 patients with Burkitt's lymphoma or L3 acute lymphoblastic leukemia with special reference to additional chromosome abnormalities. *Ann Genet* 32:26-32.
- Lennard A, Jackson GH, Carey PJ, Bown N, Middleton P, Proctor SJ (1991) Secondary acute lymphoblastic leukaemia with 4:11 translocation following treatment for Hodgkin's disease: Case report and review of the literature. *Leukemia* 5:624-627.
- Mahon FX, Deininger MW, Schultheis B, Chabrol J, Reiffers J, Goldman JM, Melo JV (2000) Selection and characterization of BCR-ABL positive cell lines with differential sensitivity to the tyrosine kinase inhibitor ST1571: diverse mechanisms of resistance. *Blood* 96:1070-1079.
- Martineau M, Clark R, Farrell DM, Hawkins JM, Moorman AV, Secker-Walker LM (1996) Isochromosomes in acute lymphoblastic leukaemia: i(21q) is a significant finding. *Genes Chromosomes Cancer* 17:21-30.

- Maurer J, Janssen JWG, Thiel E, van Denderen J, Ludwig W-D, Aydemir U, Heinze B, Fonatsch C, Harbott J, Reiter A, Riehm H, Hoelzer D, Bartram CR (1991) Detection of chimeric BCR-ABL genes in acute lymphoblastic leukemia by the polymerase chain reaction. *Lancet* 337:1055-1058.
- McNally RJ, Rowland D, Roman E, Cartwright RA (1997) Age and sex distributions of hematological malignancies in the U.K. *Hematol Oncol* 15:173-189.
- Nakao M, Janssen JWG, Erz D, Seriu T, Bartram CR (2000) Tandem duplication of the FLT3 gene in acute lymphoblastic leukemia: a marker for the monitoring of minimal residual disease. *Leukemia* 14:522-524.
- National Cancer Institute (2000) SEER Cancer statistics review, 1973-1997. [http://seer.cancer.gov/Publications/CSR1973\\_1997](http://seer.cancer.gov/Publications/CSR1973_1997)
- Omura-Minamisawa M, Diccianni MB, Batova A, Chang RC, Bridgeman LJ, Yu J, Pullen J, Bowman WP, Yu AL (2000) Universal inactivation of both p16 and p15 but not downstream components is an essential event in the pathogenesis of T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res* 6:1219-1228.
- Pagano L, Pulsoni A, Tosti ME, Annino L, Mele A, Camera A, Martino B, Guglielmi C, Cerri R, Dibona E, Invernizzi R, Castagnola C, Bassan R, Mele L, Todeschini G, Leone G, Mandelli F (1999) Acute lymphoblastic leukaemia occurring as second malignancy: report of the GIMEMA Archive of Adult Acute Leukaemia. *Brit J Haematol* 106:1037-1040.
- Rieder H, Bonwetsch C, Janssen LAJ, Maurer J, Janssen JWG, Schwartz S, Ludwig W-D, Gassmann W, Bartram CR, Thiel E, Löffler H, Gökbuget N, Hoelzer D, Fonatsch C (1998) High rate of chromosome abnormalities detected by fluorescence in situ hybridization using BCR and ABL probes in adult acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 12:1473-1481.
- Rieder H, Fonatsch C, Hoelzer D, and Hasenburger T (2001) High rate of homozygous p16 deletions in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Annals of Hematology* 80, suppl. II, S31.
- Rieder H, Freund M, Fonatsch C (1991) Abnormalities of the short arm of chromosome 9 – A nonrandom secondary aberration in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Cancer Genet Cytogenet* 53:139-142.
- Rieder H, Ludwig WD, Gassmann W, Maurer J, Janssen JWG, Gökbuget N, Schwartz S, Thiel E, Löffler H, Bartram CR, Hoelzer D, Fonatsch C (1996) Prognostic significance of additional chromosome abnormalities in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 95:678-691.
- Rieder H, Ludwig W-D, Gassmann W, Thiel E, Löffler H, Hoelzer D, Fonatsch C (1993) Chromosomal abnormalities in adult ALL: Results of the BMFT ALL/AUL study group. *Recent Results Cancer Res* 131:133-147.
- Ruas M, Peters G (1998) The p16<sup>INK4a</sup>/CDKN2A tumor suppressor and its relatives. *Biochim Biophys Acta* 1378:F115-F177.
- Sandler DP, Shore DL, Anderson JR, Davey FR, Arthur D, Mayer RJ, Silver RT, Weiss RB, Moore JO, Schiffer CA, Wurster-Hill DH, McIntyre OR, Bloomfield CD (1993) Cigarette smoking and risk of acute leukemia: Associations with morphology and cytogenetic abnormalities in bone marrow. *JNCI* 85:1994-2003.
- Secker-Walker LM, Prentice HG, Durrant J, Richards S, Hall E, Harrison G (1997) Cytogenetics adds independent prognostic information in adults with acute lymphoblastic leukaemia on MRC trial UKALL XA. *Br J Haematol* 96:601-610.
- Taylor PRA, Irving J, Brown N, Proctor SJ (1997) Incidence of Ph-1 positive ALL in unselected, population-based study of adult ALL. *Br J Haematol* 97:937-938.
- Thangavelu M, Olopade O, Beckman E, Vardiman JW, Larson RA, McKeithan TW, Le Beau MM, Rowley JD (1990) Clinical, morphologic, and cytogenetic characteristics of patients with lymphoid malignancies characterized by both t(14;18)(q32;q21) and t(8;14)(q24;q32) or t(8;22)(q24;q11). *Genes Chromosomes Cancer* 2:147-158.
- Van den Berghe H, Parloir C, Gosseye S, Englebienne V, Corn G, Sokal G (1979) Variant translocation in Burkitt lymphoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1:9-14.
- Van Dongen JJM, Seriu T, Panzer-Grümayer ER, Biondi A, Pongerswillemse MJ, Corral L, Stolz F, Schrappe M, Masera G, Kamps WA, Gadner H, Vanwering ER, Ludwig WD, Basso G, Debruijn MAC, Cazzaniga G, Hettlinger A, Vanderdoes-vandenberg A, Hop WCJ, Riehm H, Bartram CR (1998) Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet* 352:1731-1738.
- Westbrook CA, Hooberman AL, Spino C, Dodge RK, Larson RA, Davey F, Wurster-Hill DH, Sobol RE, Schiffer C, Bloomfield CD (1992) Clinical significance of the BCR-ABL fusion gene in adult acute lymphoblastic leukemia: A cancer and leukemia group B study (8762). *Blood* 80:2983-2990.
- Whitehead VM, Vuchich MJ, Cooley LD, Lauer SJ, Mahoney DH, Shuster JJ, Payment C, Koch PA, Akabutu JJ, Bowen T, Kamen BA, Ravindranath Y, Emami A, Look AT, Beardsley GP, Pullen DJ, Camitta B (1998) Accumulation of methotrexate polyglutamates, ploidy and trisomies of both chromosomes 4 and 10 in lymphoblasts from children with B-progenitor cell acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group study. *Leuk Lymphoma* 31:507-519.
- Whitehead VM, Vuchich MJ, Lauer SJ, Mahoney D, Carroll AJ, Shuster JJ, Esseltine DW, Payment C, Look AT, Akabutu J, Bowen T, Taylor LD, Camitta B, Pullen DJ (1992) Accumulation of high levels of methotrexate polyglutamates in lymphoblasts from children with hyperdiploid (>50 chromosomes) B-lineage acute lymphoblastic leukemia: A pediatric oncology group study. *Blood* 80:1316-1323.
- Zech L, Haglund U, Nilsson K, Klein G (1976) Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J Cancer* 17:47-56.

**Korrespondenzadresse**

PD Dr. med. Harald Rieder  
AG Tumorgenetik  
Institut für Klinische Genetik  
Klinikum der Philipps-Universität  
Bahnhofstr. 7  
35037 Marburg  
Tel. 06421 2862986  
Fax 06421 2863984  
riederh@mail.uni-marburg.de