



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**SNP-Chip Array Analyse der Philadelphia-Chromosom-positiven akuten lymphatischen Leukämie**

Autor: Katharina Milena Raum  
Institut / Klinik: III. Medizinische Klinik  
Doktorvater: Prof. Dr. D. Nowak

Eine besondere Subgruppe der akuten lymphatischen Leukämie (ALL) mit hohem Risiko bei Kindern und Erwachsenen stellt die sogenannte Philadelphia-Chromosom positive ALL (Ph+ ALL) dar. Das Philadelphia-Chromosom entsteht durch eine Fusion zwischen Chromosom 9 und 22 und führt zur Entstehung des Genfusionsprodukts BCR-ABL1, welches durch eine dauerhaft aktive Tyrosinkinaseaktivität eine ungehemmte Zellproliferation induziert. Dieser Pathomechanismus wird bei der Ph+ ALL durch den Einsatz von leukämiezellspezifischen Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) erfolgreich therapeutisch genutzt. Dennoch bleibt die Ph+ ALL aufgrund häufiger Rezidive und Resistenzentwicklungen derzeit weiterhin eine Subgruppe mit ungünstiger Prognose, deren einzige kurative Behandlungsoption die allogene Stammzelltransplantation (SZT) darstellt. Allerdings zeigen auch die mit Chemotherapie, TKI und SZT behandelten Ph+ ALL Patienten immer noch eine hohe Heterogenität der klinischen Verläufe, die sich durch aktuelle Stratifizierungsparameter nicht erklären lässt. Auf der Suche nach korrespondierenden wegweisenden genetischen Veränderungen konnten in den letzten Jahren vorwiegend bei pädiatrischer ALL, durch die Anwendung molekularer Hochdurchsatzmethoden, wie z. B. genomweite Kopienzahlanalysen mittels „Single Nucleotide Polymorphism (SNP-) Arrays“ rekurrente genomische Deletionen der Leukämiezellen mit pathomechanistischer und prognostischer Bedeutung identifiziert werden. Der Einfluss dieser ALL-typischen genomischen Deletionen wurde in der Ph+ ALL Erwachsener, insbesondere im Kontext der allogenen SZT, noch nicht untersucht. Eine systematische Analyse und Berücksichtigung dieser neuen molekularen Marker bei der adulten Ph+ ALL könnte möglicherweise zu einer Verbesserung der aktuellen Risikostratifizierung und schließlich einer höheren Überlebensrate der Patienten beitragen.

Wir führten daher eine genomweite DNA-Kopienzahlanalyse bei 97 erwachsenen Patienten mit Ph+ ALL mittels Affymetrix SNP 6.0 Arrays durch, mit besonderem Fokus auf die sieben bekannten und am häufigsten betroffenen Genloci *IKZF1*, *CDKN2A/B*, *PAX5*, *ETV6*, *RB1*, *BTG1* und *EBF1*. Die Patienten wurden im Rahmen der Therapieoptimierungsstudie GMALL 07/2003 des deutschen Kompetenznetzes für Leukämien einheitlich mit Chemotherapie, dem TKI Imatinib sowie allogener SZT behandelt. In der Analyse der somatisch erworbenen Kopienzahlveränderungen in den Leukämiezellen wurden im Durchschnitt 11,22 genomische Aberrationen pro Patient detektiert. Die genomischen Läsionen wurden in elf Fällen mittels gepaarter SNP-Array Analyse mit Keimbahn-DNA aus Remissionsproben validiert. Des Weiteren wurden die o.g. sieben häufigsten Genloci in allen Proben mittels „Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)“ validiert. Als häufigste rekurrente genomische Deletion konnte *IKZF1* in 77 % der Fälle (75/97) identifiziert werden, gefolgt von *CDKN2A/B*-Deletionen in 45/97 Fällen (47 %) und Deletionen von *PAX5* in 43/97 Fällen (44 %). Die häufigsten rekurrenten Deletionen wurden zunächst in univariaten Analysen bezüglich ihres Einflusses auf Gesamtüberleben (OS), Ereignisfreies Überleben (EFS) und Rezidivfreies Überleben (RFS) überprüft. Hierbei zeigten sich u. a. signifikant ungünstige Effekte der *IKZF1*-Deletionen auf das RFS ( $p = 0,04$ ) und der *CDKN2A/B*-Deletionen auf OS ( $p = 0,01$ ), EFS ( $p = 0,008$ ) und RFS ( $p = 0,048$ ). Insbesondere zeigte sich ein starker Effekt der Gesamtanzahl der sieben häufigsten Deletionen in einer Leukämieprobe. Das Vorhandensein von zwei oder mehr versus keine oder eine der o.g. rekurrenten Deletionen war mit einer signifikant ungünstigen Prognose bezüglich OS ( $p = 0,03$ ), EFS ( $p = 0,008$ ) und RFS ( $p = 0,009$ ) assoziiert. Zur Evaluation der erhobenen molekularen Marker bezüglich ihrer Wertigkeit als unabhängige Stratifizierungsparameter wurde eine multivariate Analyse mittels Cox-Regression durchgeführt unter Einbeziehung aller aktuell relevanten klinischen und molekularen Kovariablen. Hierbei konnte neben dem stärksten klinischen Verlaufparameter „Erreichen einer kompletten Remission nach Induktionsphase 1“ die Deletion von *CDKN2A/B* erstmals als unabhängiger negativer molekularer Prognosemarker für RFS (Hazardratio = 2,8,  $p = 0,016$ ) und EFS (Hazardratio = 2,29,  $p = 0,01$ ) etabliert werden. Bezüglich des OS war die *CDKN2A/B*-Deletion der einzige unabhängige Risikofaktor (Hazardratio = 1,9,  $p = 0,049$ ).

Zusammenfassend zeigte sich, dass die bekannten, ALL-typischen rekurrenten genomischen Aberrationen in der Ph+ ALL Erwachsener in ähnlicher Häufigkeit vorkommen wie bei pädiatrischen Kohorten. Einzelne genomische Deletionen wie *IKZF1*, *CDKN2A/B*, *BTG1* u. A. zeigten hinsichtlich einzelner oder mehrerer Verlaufparameter in der univariaten Analyse negativen prognostischen Einfluss, der auch durch die allogene Stammzelltransplantation nicht aufgehoben wurde. Dies galt ebenso für die Anzahl rekurrenter Läsionen einer Probe. In der multivariaten Analyse erwies sich die genomische Deletion von *CDKN2A/B* erstmals als unabhängiger ungünstiger prognostischer Marker für die Ph+ ALL bei Erwachsenen. Dies könnte in Zukunft für eine verbesserte Risikostratifizierung für betroffene Patienten genutzt werden.