

Haiju He

Dr. med

Characterization of hematopoietic and leukemia stem cells in adult B precursor acute lymphoblastic leukemia

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Anthony D. Ho

Das Hauptmerkmal der akuten lymphatischen Leukämie vom Typ B-Zell Vorläufer ist die Positivität für CD19. Daher stellen CD19 gerichtete Immuntherapien einen effektiven Therapieansatz dar, der hohe Remissionsraten verspricht. Jedoch erleiden viele Patienten ein Rezidiv nach anfänglichem Therapieerfolg. Zum Zeitpunkt des Rezidivs zeigen 25-66 % der betroffenen Patienten eine nun eine CD19⁻ Leukämie.

Um zu verstehen warum Patienten nach initialem CD19 gerichteten Immuntherapieerfolg dennoch ein Rezidiv erleiden, habe ich phänotypische unterschiedliche CD19⁻ Subkompartimente von verschiedenen Patienten auf ihre leukämische Beteiligung hin untersucht. Hierfür habe ich diese auf die jeweiligen leukämie-spezifischen klonalen Marker getestet. Zu diesem Zweck, habe ich bei BCR-ABL negative Patienten, spezielle Primer verwendet, die für das Leukämie spezifische Ig/TCR Rearrangement etabliert wurden. Bei BCR-ABL positive Patienten wurde mittels FISH Analyse das Vorhandensein des BCR-ABL Fusionsgens untersucht. Die CD34⁺CD38⁻CD19⁻ALDH⁺, CD34⁺CD38⁺CD19⁻ALDH⁺, CD34⁺CD38⁻CD19⁻ALDH⁻ und CD34⁺CD38⁺CD19⁻ALDH⁻ von 18 diagnostischen und 3 Rezidiv Proben wurden per FACS sortiert und mittels der oben erklärten Methoden auf ihre leukämische Beteiligung hin analysiert. CD34⁺CD38^{+/-}CD19⁻ALDH⁺ Zellen waren fast immer positiv für die entsprechenden Leukämie-Marker (sowohl in Diagnose- als auch Rezidiv-Proben). Dies deutet auf die Existenz von primitiven CD19⁻ leukämischen Zellen in beinahe allen untersuchten Patienten Proben. In 2/9 BCR-ABL positiven ALLs war das Stammzellangereicherte

Kompartiment CD34⁺CD38⁻CD19⁻ALDH⁺ Leukämiemarker positive. Dies deutet auf eine Beteiligung des Stammzellkompartiments in diesen Patienten. Die beiden Fälle können durch ihr hohes Expressionslevel an ALDH (*ALDH numerous B-ALL*) erklärt werden.

Passende Probenserien von Diagnose, verschiedenen Remissionszeitpunkten und Rezidiv (falls vorhanden) wurden von 6 Patienten analysiert. In den Remissionskontrollen konnten in den CD19⁻ Zellen entweder keine Leukämiezellen detektiert werden, wenn kein nachweisbares MRD-Level mehr vorhanden war. Oder sie co-existierten zusammen mit den CD19⁺ Leukämiezellen.

Durch funktionelle Analysen wie z.B. dem B-Zell Test, CFU Test oder Mastransplantationen, konnte gezeigt werden das nicht-leukämische CD34⁺CD38^{+/-}CD19⁻ALDH⁺ Zellen funktionell normal waren. Im Gegensatz dazu zeigten Leukämiezellen generell kein Potential um in den genannten *in vitro* Tests Kolonien zu bilden.

In Mastransplantationsversuchen brachten die isolierten und transplantierten CD19⁺ Zellen eines MLL positiven Patienten sowohl eine CD33^{high}CD19⁻ als auch eine CD19⁺ Leukämiezellpopulation hervor. In diesem Patient waren CD33^{low}CD19⁻ leukämische Zellen zu einem späteren Zeitpunkt detektierbar. Dieses Ergebnis zeigt die zelluläre Plastizität von eine CD19⁺ Zellen in MLL positiven B-ALLs. Hierdurch lässt sich auch ein Linien-Wechsel in MLL positiven Patienten belegen, welcher bereits durch andere Wissenschaftler berichtet wurde.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie eine leukämische Beteiligung von CD19⁻ Zellen in 24/24 untersuchten ALLs. Dies bietet eine plausible Erklärung für die ALL Rezidive nach einer CD19 gerichteten Immuntherapie. Die zelluläre Plastizität von CD19⁺ Zellen von MLL positiven B-ALL Patienten bietet eine weitere Erklärung für den Linien-Wechsel, was ebenfalls eine Art CD19⁻ Rezidiv darstellt.