

Next-Generation Sequencing

Molekulare Charakterisierung einer Leukämie

Die Abgrenzung der chronisch myelomonozytären Leukämie (CMML) von ähnlichen Erkrankungen wie der CML ist noch im Fluss. Für ihre Charakterisierung kommen sensitive Next-Generation Sequenziermethoden zum Einsatz, die auch Ansätze für eine bessere Diagnostik liefern.

Die chronische myelomonozytäre Leukämie (CMML) tritt etwa gleich häufig auf wie ihr myeloisches Pendant (CML), ist aber weit weniger bekannt. Das liegt daran, dass ihre Abgrenzung von anderen (myelodysplastischen und -proliferativen) Erkrankungen des blutbildenden Systems noch im Fluss ist. Bisher besitzt sie nicht einmal eine eigene ICD-Ziffer. Die CMML tritt in der Regel im höheren Lebensalter auf und hat eine relativ schlechte Prognose. Als einzig Erfolg versprechende Therapie gilt derzeit die Knochenmark- bzw. Stammzelltransplantation, aber aufgrund der großen Belastung und des hohen Alters der betroffenen Personen profitieren nur wenige Patienten von diesem Ansatz.

Die Ursachen und molekularen Entstehungsmechanismen dieser bösartigen Erkrankung sind bislang nur wenig verstanden. Auch der Krankheitsverlauf lässt sich kaum vorhersagen. Die Diagnose erfolgt meist spät, wenn uncharakteristische klinische Symptome wie Gewichts- und Leistungsverlust auftreten und mehr als 1.000 monozytäre Zellen pro μl im peripheren Blut auftreten (s. Abbildung).

Ein Schlüssel zum besseren Verständnis könnten Genanalysen sein; in neueren Studien wurden unregelmäßig auftretende Mutationen identifiziert, die sich mit der CMML in Verbindung bringen lassen. Umfassende sowie vergleichende molekulargenetische Daten waren aber bisher nicht verfügbar. Um die Krankheit jedoch frühzeitig diagnostizieren und therapeu-

tisch wirksame Maßnahmen entwickeln zu können, sind detaillierte Kenntnisse auf molekularer Ebene erforderlich.

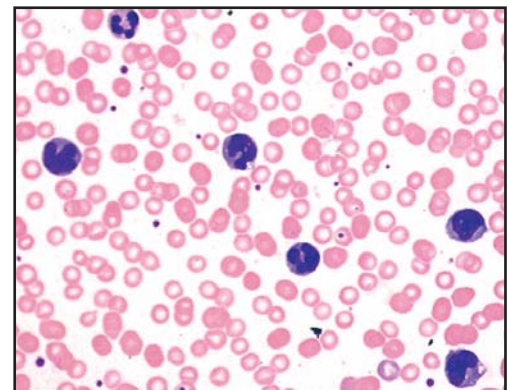
Molekulare Charakterisierung

Im Rahmen einer umfangreichen Studie hat das MLL Münchner Leukämie Labor nun definierte Bereiche aus dem Genom von insgesamt 81 CMML-Patienten mithilfe des Next-Generation Sequencing (NGS) untersucht: Neben der kompletten kodierenden Sequenz zweier mit CMML-assoziiierter Gene (RUNX1 und TET2) wurden aus fünf weiteren Genen (CBL, JAK2, MPL, NRAS und KRAS) spezielle Regionen sequenziert, die besonders häufig CMML-relevante Mutationen aufweisen (Hotspots). Das MLL setzte hierfür das Amplicon-basierte Genome Sequencer FLX-System von Roche (454 Life Sciences) ein, das eine tiefe Sequenzierung von Genomfragmenten und den hoch sensitiven Nachweis seltener Mutationen in komplexen Gewebeverbänden ermöglicht.

72,8% der untersuchten Patienten wiesen mindestens eine Genmutation auf (59 von 81). Im Durchschnitt lag die Mutationsrate sogar bei 1,6. Allein bei 44 Patienten ließen sich Mutationen detektieren, die mit konventionellen Sequenziermethoden nach Sanger nicht nachweisbar gewesen wären. So ergaben sich bei der CMML neue Einblicke auf molekularer Ebene. Mit einer medianen Mutationslast

von 43,2% lag z. B. die Mutationsrate im TET2 (Ten-Eleven Translocation-2)-Gen besonders hoch.

Bisherige Untersuchungen führten zu widersprüchlichen Ergebnissen, wie ein mutiertes TET2 das Gesamtüberleben eines CMML-Patienten beeinflusst. Das bisher einzigartige molekulare NGS-



Wenn bei der CMML solche monozytenähnliche Zellen massenweise im peripheren Blut auftreten, hat der Patient oft nur noch wenige Monate Überlebenszeit.

Quelle: MLL Münchner Leukämie Labor.

Screening der Arbeitsgruppe aus dem MLL könnte jetzt über die Bedeutung des TET2 weiteren Aufschluss geben und im Rahmen eines prognostischen Modells zukünftig neue therapeutische Optionen eröffnen. 🌸

*Dr. Alexander Kohlmann, Mag. Vera Großmann, Prof. Dr. Dr. Torsten Haferlach
MLL Münchner Leukämie Labor GmbH, München
alexander.kohlmann@mll-online.com*