

Akute Hochrisiko-Leukämie bei Kindern

Auf der Suche nach neuen therapeutischen Optionen



Dieser Junge gehört nicht zur Gruppe der Hochrisiko-Leukämie-Patienten und konnte erfolgreich therapiert werden.

Die Entartung einer Zelle zur Krebszelle kann verschiedene Ursachen haben. Jede Zelle des Menschen besitzt 46 Chromosomen (einen doppelten Chromosomensatz von 22 verschiedenen Chromosomen und die beiden Geschlechtschromosomen XX oder XY). Neben punktuellen Veränderungen der Erbsubstanz (Punktmutationen) können auch strukturelle Veränderungen einzelner Chromosomen vorliegen. So können zum Beispiel Chromosomenstücke fehlen (Deletion), verdoppelt sein (Duplikation), in falscher Orientierung im Chromosom vorliegen (Inversionen) oder ganze Chromosomenabschnitte ausgetauscht werden (chromosomale Translokation). Weitere Ursachen sind die Fehlregulation ganzer genetischer Programme sowie jede denkbare Kombination aus genetischen Veränderungen und Fehlregulationen.

Interessanterweise findet man bei Krebserkrankungen des blutbildenden Systems, den Lymphom- und Leukämie-Erkrankungen, vor allem einen Typ genetischer Veränderungen, die so genannten rezi-

proken chromosomalen Translokationen. Dabei sind ganze Chromosomen-Arme zwischen völlig verschiedenen Chromosomen ausgetauscht. Ein Subtypus dieser Chromosomentranslokationen ist die Ursache für rund 80 Prozent der akuten lymphatischen Leukämien (ALL) und 50 Prozent der akuten myeloischen Leukämien (AML) bei Säuglingen. Hierbei wird eine Kopie des MLL-Gens (Chromosom 11, Bande q23) ^{1/1} so mit einem Gen auf einem anderen Chromosom verknüpft, dass durch diesen reziproken Austausch zwei neue Hybridgene entstehen. Dadurch entarten die Zellen zur Krebszelle. Im Rahmen des Zentrums für Arzneimittelforschung, -Entwicklung und -Sicherheit (ZAFES) arbeiten Prof. Dr. Thomas Klingebiel und Prof. Dr. Rolf Marschalek daran, Diagnostik und Therapie für diese Kinderleukämie-Erkrankung zu optimieren sowie neue therapeutische Optionen zu erarbeiten.

Das MLL-Gen (11q23) und seine Translokationen

Das MLL (mixed lineage leukemia)-Gen auf Chromosom 11 des Menschen enthält die Information für ein Protein, das nach neuesten Erkenntnissen unseren Zellen eine wesentliche Eigenschaft verleiht: Es gibt jeder Zelle ihre spezifische »Identität«. Dazu bildet das MLL-Protein mit anderen Proteinen zusammen im Zellkern einen großen Proteinkomplex, der für vielfältige Aufgaben in der »Chromatin-Regulation« notwendig ist ^{2/}. Das Chromatin unserer Chromosomen kann verschiedene Zustandsformen einnehmen; davon erlaubt nur »aktives Euchromatin« das Ablesen (Expression) der dort kodierten Gene. Inaktive Bereiche unserer Chromosomen bezeichnet man als Heterochromatin. Nur durch das Zusammenspiel dieser übergeordneten Chromatinkontrolle können in unterschiedlichen Geweben verschiedene Gene ausgeprägt, das heißt in Proteine umgesetzt werden. Die Kombination der vorhandenen Pro-

teine entscheidet über die biologischen Eigenschaften eines Gewebes. Alle bislang identifizierten reziproken chromosomalen Translokationen des MLL-Gens haben eine Gemeinsamkeit: Sie führen zur Ausprägung einer akuten Leukämie. Rund 50 verschiedene Translokationen sind inzwischen bekannt ¹, und jedes Jahr werden weitere fünf bis zehn entdeckt. Die bisher untersuchten Translokationen finden alle in einer kleinen Teilregion des MLL-Gens statt, die deshalb als Bruchpunktregion bezeichnet wird. Ursache solcher Chromosomentranslokationen sind DNA-Strangbrüche ^{3/}: Die Zelle versucht diesen DNA-Schaden zu reparieren und verursacht im Laufe des Reparaturprozesses die chromosomalen Translokationen, gewissermaßen als Ergebnis einer fehlgeleiteten DNA-Reparatur. Aus Sicht der Krebszellen scheint die Translokation von Vorteil zu sein: Sie wachsen ungehemmt und überwuchern die gesunden Nachbarzellen. Es entsteht eine aggressive Form von Leukämie (AML oder ALL), die nahezu therapieresistent ist. Derzeit liegen die Heilungschancen dieser Leukämieform trotz intensiver Therapie im Bereich von nur 15 bis 20 Prozent.

Diagnostik und Therapie

Um chromosomale Translokationen des MLL-Gens im Blut von Leukämie-Patienten zu diagnostizieren, sind weltweit verschiedene Standardtechniken im Einsatz. Diagnostik wird auf der Stufe ganzer Chromosomen, der Desoxyribonukleinsäure (DNA) oder der Ribonukleinsäure (RNA) durchgeführt. In Frankfurt ist eine neue, DNA-basierte Diagnostik-Methode entwickelt worden, die alle bekannten und bislang unbekannt MLL-Translokationen präzise identifizieren kann. Mit Hilfe dieser Technik sind seit Beginn des Forschungsprojekts, das von der Wilhelm-Sander-Stiftung finanziell unterstützt wird, im vergangenen Jahr bereits drei neue MLL-Translokationen entdeckt worden. In den kommenden Jahren

sollen an der Frankfurter Kinderklinik (ZKI) mehrere hundert Leukämiefälle aus aller Welt untersucht werden. Zentren in ganz Europa nutzen diesen Service inzwischen und senden ihre Patienten-Proben nach Frankfurt. Im Gegenzug erhalten sie wertvolle, molekulare Informationen über die Art der chromosomalen Translokation und über die DNA-Sequenz an den Chromosomenfusionsstellen. Aus dieser Information können Patientenspezifische Sonden (Oligonukleotide) generiert werden, die dazu dienen, Blutzellen mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion auf das Vorhandensein residueller Tumorzellen (MRD; minimal residual disease) zu untersuchen. Die Sensitivität dieser Technik ermöglicht es, eine einzige Tumorzelle unter 100 000 bis 1 000 000 normalen Zellen aufzuspüren und damit eine quantitative Aussage über die im Körper des Patienten verbliebenen restlichen Tumorzellen zu machen. Damit bekommen die behandelnden Ärzte eine direkte Kontrolle über Therapieerfolg oder -misserfolg.

Die klinische Umsetzung dieser molekularbiologischen Erkenntnisse gehört zum Schwerpunkt der Klinik III der Frankfurter Kinderklinik unter Leitung von Prof. Dr. Thomas Klingebiel. Eine optimierte Chemo- und Strahlen-Therapie sowie Stammzelltransplantationen sind bislang oft die einzige Option für die betroffenen Patienten. Gerade für eine Stammzelltransplantation ist die Suche nach einem geeignetem Spender ein Wettlauf mit der Zeit. Ist dieser identifiziert, sind die Aufbereitung und Charakterisierung des Transplantats wichtige Schritte, bevor die Stammzellen übertragen werden können. Nach der Transplantation müssen die Patienten intensiv überwacht und betreut werden, denn jede Transplantation birgt das Risiko einer »graft versus host disease« (GVHD), bei der das Fremd-Transplantat einen heftigen Immunangriff gegen den Patienten verursacht. Trotz Transplantation besteht aufgrund der Bösartigkeit der behandelten Leukämien auch weiterhin das Risiko eines Rückfalls. Deshalb werden Analysen durchgeführt, um die Zellen von Spender und Patienten vergleichend betrachten (Chimärismus-Untersuchungen) und anhand vorgegebener Parameter rechtzeitig geeignete

Schematisches menschliches Karyogramm



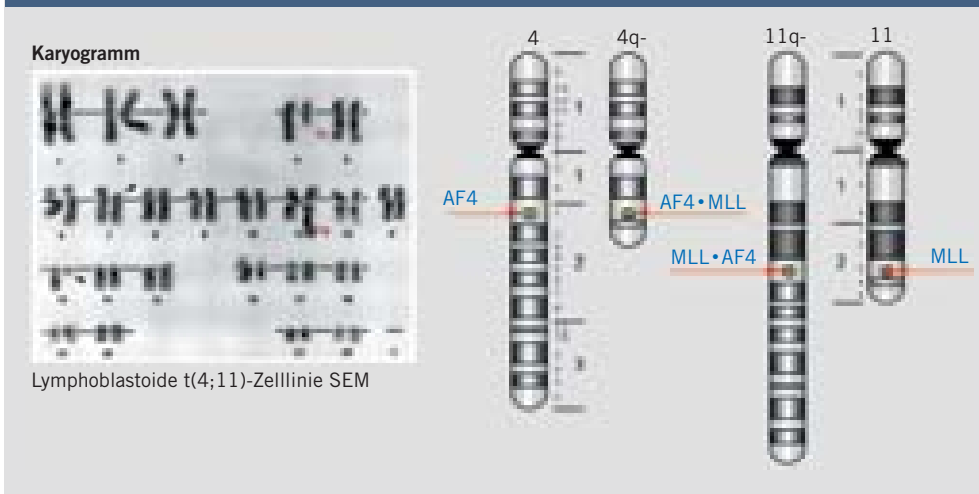
Einzelne Loci unseres Genoms, die zusammen mit dem MLL-Gen (orange; 11q23) reziproke chromosomale Translokationen eingehen können (weiß: bislang unbekannte Gene; gelb: bereits identifizierte Gene). Alle diese Translokationen findet man bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie (ALL) und mit akuter myeloischer Leukämie (AML).

Anzeige

Anzeige 07
Wiley

90 x 128 mm

Schematisches menschliches Karyogramm



Die beteiligten Gene auf den Chromosomen 4 und 11 (roter oder grüner Punkt): Durch die Translokation entstehen die beiden Fusionsgene AF4•MLL und MLL•AF4 (rot/grüne Punkte).

Die Autoren

Prof. Dr. Rolf Marschalek arbeitet seit 2000 am Institut für Pharmazeutische Biologie. Er ist Geschäftsführender Direktor des Instituts und Vorstandsmitglied des ZAFES.

Prof. Dr. Thomas Klingebiel ist Direktor der Klinik für Kinderheilkunde III.

Gegenmaßnahmen ergreifen zu können ^{14-6/}.

Da die Fallzahl der Patienten mit MLL-Translokationen relativ gering ist (rund 500 Kinder in Europa pro Jahr), ist es umso schwieriger, eine eindeutige therapeutische Vorgehensweise zu definieren. Zu groß sind die Unterschiede zwischen den verschiedenen Patienten, so dass jede Therapie individuell angepasst werden muss. Gemeinsam mit den Eltern wird vom behandelten Arzt eine therapeutische Gratwanderung verlangt. Diese Situation gilt es zu verbessern. Deshalb sind wir auf der Suche nach alternativen Strategien, um so eine verbesserte Heilungschance für die betroffenen Patienten zu erreichen.

Der krankheitsauslösenden Mechanismus

Die einzige therapeutische Option für Leukämie-Patienten mit MLL-

Translokationen ist eine Hochdosis-Chemotherapie in Kombination mit einer Knochenmarktransplantation. Eine Chemotherapie birgt stets ein hohes Risiko sowie Spätfolgen. Deshalb wird mit Hochdruck daran gearbeitet, die Achillesferse des Krankheitsmechanismus in diesen Leukämiezellen zu finden. Aus dem heutigen Kenntnisstand ist ableitbar, dass jede der rund 50 verschiedenen MLL-Translokation einen eigenen krankheitsauslösenden Mechanismus aufweist. Deshalb haben wir uns in Frankfurt auf eine der häufigsten MLL-Translokationen im Kindesalter spezialisiert. Die chromosomale Translokation t(4;11) (q21; q23) kommt vor allem bei Kleinkindern und Säuglingen vor und ist die Ursache von rund 80 Prozent der Leukämie-Erkrankungen von Kindern **2**. Durch diese chromosomale Translokation entstehen zwei reziproke Fusionsgene, das heißt Gene,

die aus zwei Genen zusammengesetzt sind: das MLL•AF4 und das AF4•MLL-Fusionsgen. In unseren Untersuchungen stehen deshalb die Funktionen dieser beiden Fusionsproteine, das MLL•AF4 und das AF4•MLL-Fusionsprotein, im Vordergrund. So greifen die Produkte dieser Fusionsgene nachhaltig in »normale Prozesse« in den betroffenen Zellen ein und sind dort für bestimmte Eigenschaften der Tumorzellen verantwortlich. Im Rahmen unserer eigenen Untersuchungen sind wir für diese spezielle Tumorerkrankung der t(4;11)-Translokation auf einen molekularen Schaltmechanismus gestoßen, der für die Leukämie-Entstehung wichtig ist. Zur Zeit wird dieser Schaltmechanismus intensiv erforscht, um biologische Testsysteme zu etablieren. Solche Testsysteme können anschließend dazu genutzt werden, in Kooperation mit Industriepartnern Screening-Experimente durchzuführen. Ziel ist es, eine »Leitsubstanz« zu identifizieren, die den fehlgeleiteten Schaltmechanismus für die Leukämie-Entstehung blockieren kann. Derartige Leitsubstanzen bilden die Grundlage für die Entwicklung neuer Medikamente.

Das langfristige Ziel dieser Arbeiten innerhalb des ZAFES ist es, den Krankheitsmechanismus vollständig aufzuklären, um daraus eine rationalbasierte Kausaltherapie abzuleiten, die das Überleben der betroffenen Patienten sichern könnte. Dieser Teil der Forschungsarbeiten wird von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Nationalen Netzwerk für Genomforschung (NGFN) und dem Verein Hilfe für krebskranke Kinder Frankfurt e.V. finanziell unterstützt. ♦

Literatur

/1/ Nilson I, Löchner K, Siegler G, Greil J, Beck JD, Fey GH, Marschalek R (1996). Exon/intron structure of the human ALL-1 (MLL) gene involved in translocations to chromosomal region 11q23 and acute leukemias. *Brit J Haematol* 93, 966–972 (1996)

/2/ Nakamura T, Mori T, Tada S, Krajewski W, Rozo-

vskaja T, Wassell R, Dubois G, Mazo A, Croce CM, Canaani E. (2002). ALL-1 is a histone methyltransferase that assembles a supercomplex of proteins involved in transcriptional regulation. *Mol Cell* 10, 1119–1128.

/3/ Gillert E, Leis T, Repp R, Reichel M, Hosch A, Breitenlohner I, Angermüller S, Borkhardt A, Harbott J,

Lampert F, Griesinger F, Greil J, Fey GH, Marschalek R. (1999). A DNA damage repair mechanism is involved in the origin of chromosomal translocations t(4;11) in primary leukemic cells. *Oncogene* 18, 4663–4671.

/4/ Koehl U, Beck O, Esser R, Seifried E, Klingebiel T, Schwabe D, Seidl C. (2003). Quanti-

tative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by PCR amplification of microsatellite markers and capillary electrophoresis with fluorescence detection: the Frankfurt experience. *Leukemia* 17, 232–236.

/5/ Krejci O, van der Velden VH, Bader P, Kreyenberg H, Goulden N,

Hancock J, Schilham MW, Lankester A, Revesz T, Klingebiel T, van Dongen JJ. (2003). Level of minimal residual disease prior to haematopoietic stem cell transplantation predicts prognosis in paediatric patients with acute lymphoblastic leukaemia: a report of the Pre-BMT MRD Study Group. *Bone Marrow Transplant* 32, 849–851.

/6/ Bader P, Duckers G, Kreyenberg H, Hoelle W, Kerst G, Lang P, Greil J, Niethammer D, Beck LF, Klingebiel T. (2002). Monitoring of donor cell chimerism for the detection of relapse and early immunotherapeutic intervention in acute lymphoblastic leukemias. *Hematol* 81 Suppl 2, 25–27.