

Die myeloproliferativen Neoplasien « Philadelphia-negativ »

Th. von Känel, P.-Y. Lovey, C. Mengis, S. Arcioni, Zentralinstitut der Spitäler, Spital Wallis, Sitten

Die myeloproliferativen Neoplasien (MPN) sind hämatopoetische klonale Erkrankungen, die in ihrer chronischen Phase durch einen Produktionsüberschuss an differenzierten hämatopoetischen Zellen gekennzeichnet sind. Die Philadelphia-negativen MPN umfassen 3 wichtige Hämopathien: die Polycythaemia vera (PV), die essenzielle Thrombozythämie (ET) und die primäre Myelofibrose (PMF). Sie kommen hauptsächlich bei Erwachsenen vor, mit einem Inzidenzspitzenwert zwischen dem 5. und 7. Lebensjahrzehnt. Die jährliche Inzidenz sämtlicher kombinierter Subtypen beträgt 6 Fälle auf eine Bevölkerung von 100'000 Personen.

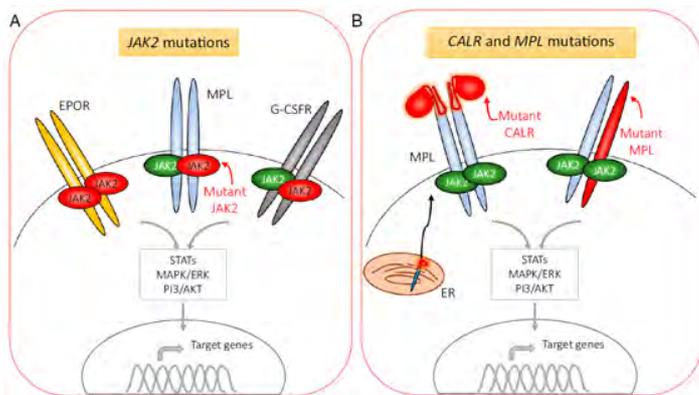


Abbildung 1 : Die Mutationen in *JAK2*, *MPL* und *CALR* verursachen über ein konstitutiv aktives Signal, das dem *JAK2* nachgeschaltet ist, eine exzessive Myeloproliferation [1]. *Erythropoietin receptor* (*EPOR*), *thrombopoietin receptor* (*MPL*), *granulocyte/macrophage colony-stimulating factor receptor* (*G-CSFR*), *MAPK/ERK* (mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases), *PI3/AKT* (phosphoinositide 3-kinase/serine/threonine kinase Akt), *STAT* (signal transducer and activator of transcription)

Im Verlauf des letzten Jahrzehnts sind im Verständnis der molekularen und zellulären Grundlagen der exzessiven Myeloproliferation grosse Fortschritte erzielt worden. Die Hauptmutationen und die sich gegenseitig ausschliessenden Mutationen in den MPN kommen in den Genen *JAK2*, *CALR* oder *MPL* von über 90 % der Patienten mit MPN vor. Diese Mutationen aktivieren konstitutiv die physiologischen Transduktionswege der Signale STAT, MAPK und PI3K, welche für die Hämatopoese verantwortlich sind (Abbildung 1). Da sie den myeloproliferativen Phänotyp induzieren, gelten sie als «phänotypische driver».

So ist das Vorhandensein einer Mutation in den Genen *JAK2*, *CALR* und *MPL* gemäss WHO 2016 zu einem wichtigen Kriterium für die Diagnose der MPN geworden [2]. Man findet nämlich in >95 % der Fälle von PV die Mutation V617F im Exon 14 des Gens *JAK2*; zudem sind in 3% der Fälle von PV im Exon 12 von *JAK2* verschiedene Mutationen gefunden worden. Bei ET und PMF ist die Mutation *JAK2* V617F in 50-60 % der Fälle vorhanden und in 30 % der Fälle kann eine Rasterverschiebungsmutation im Exon 9 des Gens *CALR* nachgewiesen werden. Schliesslich findet man bei 3 % der ET und in 8 % der PMF Mutationen im Exon 10 des Gens *MPL*, wobei die Mutationen W515L und W515K am häufigsten vorkommen (Abbildung 2).

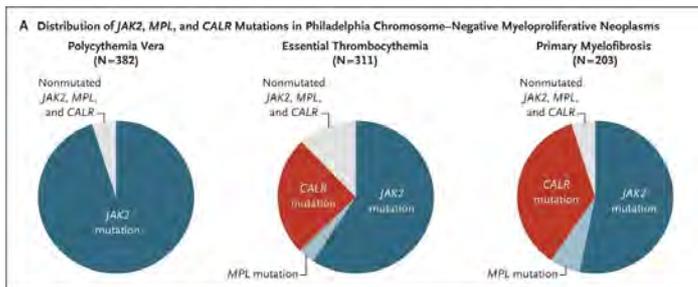


Abbildung 2 : Verhältnis der Mutationen von *JAK2*, *MPL* und *CALR* bei PV, ET und PMF (NEJM 2013;369:2379)

Bisher sind diese Mutationen mit verschiedenen Methoden nachgewiesen worden, inklusive PCR in Echtzeit für die Mutationen *JAK2* V617F und *MPL* W515L/K sowie Sanger-Sequenzierung für die Mutationen *CALR* Exon 9 und *JAK2* Exon 12. Diese Methoden haben mehrere Nachteile, insbesondere die schwache Sensibilität der Sanger-Sequenzierung und die Tatsache, dass PCR in Echtzeit die seltenen Mutationen in den ausgewählten Exons nicht nachweisen kann. Deshalb hat die Abteilung medizinische Genetik einen neuen Test entwickelt, mit dem es möglich ist, sämtliche Arten von Mutationen mit einer ausgezeichneten Sensibilität nachzuweisen. Der Test beruht auf einer Hochleistungs-Sequenzierung (auch bekannt als next generation sequencing oder NGS) (Abbildung 3) und sequenziert alle betreffenden Regionen in einer einzigen Reaktion, unabhängig von der klinischen Frage. Die Auswertung der Daten NGS beginnt mit der Analyse der Mutation *JAK2* V617F. Wenn diese Mutation vorhanden ist, erfolgt ein positiver Bericht. Ist diese Mutation nicht vorhanden, konzentriert sich die Auswertung anschliessend auf das Exon 12 von *JAK2* (bei einem Verdacht auf PV) oder auf das Exon 9 von *CALR* und das Exon 10 von *MPL* (bei Verdacht auf ET und PMF).



Abbildung 3 : 1. DNA-Extraktion: Isolation der DNA ausgehend von Vollblut; 2. Library-Preparation: Vorbereitung der zu bestimmenden Sequenzen in den betreffenden Genen und Hinzufügen von Barcodes zur Identifizierung der Proben; 3. NGS Sequencing: Hochleistungssequenzierung; 4. Bioinformatics Analysis: Analyse der durch Sequenzierung mit einer genomischen Referenz erhaltenen Daten und Generieren eines Ergebnisdatenblatts pro Probe.

Der Vorteil des NGS-Tests liegt in der Verbindung einer ausgezeichneten Sensibilität (0.5 % für die Mutation *JAK2* V617F, 1.5 % für die Mutationen *MPL* W515L/K und mindestens 10 % für alle anderen Mutationen) mit der Fähigkeit, Mutationen nachweisen zu können, nach denen normalerweise nicht gesucht wird (insbesondere diejenigen ausserhalb des Kodons 515 des Exons 10 von *MPL*). Zudem ist der Test im Vergleich zu den früheren Methoden rascher und günstiger: die Suche nach der Mutation *JAK2* V617F wird mit 215 TP (Taxpunkten) verrechnet; die Suche nach zusätzlichen Mutationen wird mit 100 TP für die Fälle von PV (*JAK2* Exon 12) und mit 315 TP für die Fälle von ET und PMF (*CALR* Exon 9 und *MPL* Exon 10) verrechnet. Dieser neue Test kann mit EDTA-Röhrchen von peripherem Blut ausgeführt werden.

Diese neuen Tests bilden Bestandteil der Diagnosekriterien der WHO für die MPN. Sie spielen auch eine prognostische Rolle. Das thrombotische Risiko bei einer ET ist zum Beispiel stark mit der Mutation *JAK2* verbunden, während die Mutation *CALR* bei einer PMF mit einer besseren Überlebensrate in Zusammenhang steht. Bei Anzeichen für ein Fortschreiten der Krankheit wird anlässlich der Diagnose und der Nachkontrolle die Knochenmark-Untersuchung mit einer zytogenetischen Analyse dringend empfohlen. Sie ermöglicht die Unterscheidung der verschiedenen Subtypen, insbesondere der ET von der PMF in der präfibrotischen Phase, oder das Erkennen der aus der PV mutierten ET *JAK2*, was in Bezug auf die Prognose und die Überlebensrate von Bedeutung ist [3].

Literatur

- 1) Nangalia J, Green AR. Myeloproliferative neoplasms: from origins to outcomes. *Blood* 2017;130(23):2475-2483
- 2) Arber DA et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-2405
- 3) Barbui T et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and indepth discussion. *Blood Cancer Journal* 2018;8:15

Kontaktpersonen

Dr. Thomas von Känel
Dr. med. Pierre-Yves Lovey
Dr. med. Catherine Mengis

thomas.vonkaenel@hopitalvs.ch
pyves.lovey@hopitalvs.ch
catherine.mengis@hopitalvs.ch