

Течение хронического миелолейкоза у пациента с панрезистентной мутацией Т315I в фазе акселерации. Всегда ли необходима аллогенная трансплантация костного мозга при мутации Т315I?

Е. Н. Горюнова [1], Е. Г. Ломаиа [1], Ю. А. Алексеева [1], А. Ю. Зарицкий [1, 2]

РЕФЕРАТ

Indolent course of CML with pan-resistant mutation T315I in accelerated phase. Is bone marrow transplantation always necessary?

E. Goriunova [1], E. Lomaia [1], J. Alexeeva [1], A. Zaritsky [2]

SUMMARY

CML patient with mutation T315I in accelerated phase, resistant to 2 lines of tyrosine-kinase inhibitors and Aurora-kinase inhibitor, is described. The progression of disease was not rapid.

Other 5 patients with similar mutation are described with indolent course of the disease. Short review is presented about incidence of this mutation and its impact on the survival. Survival predominantly depends on the phase of the disease. Optimal treatment strategy is discussed.

Keywords:

chronic myeloid leukemia, imatinib, tyrosine kinase inhibitors, resistance, mutation T315I, *bcr-abl* mutations, allogeneic stem cell transplantation.

[1] Federal Almazov Centre of Heart, Blood and endocrinology, St.-Petersburg

[2] Medical Pavlov State University, St.-Petersburg

Контакты: haemat@spmu.rssi.ru

Принято в печать: 17 февраля 2009 г.

В статье представлено описание клинического течения хронического миелолейкоза (ХМЛ) у пациента в фазе акселерации с мутацией Т315I и резистентностью к терапии двумя линиями ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) и Аврора-киназы, а также наши наблюдения относительно еще 5 пациентов в различных фазах ХМЛ с резистентностью к иматинибу и ингибиторам тирозинкиназ II поколения, у которых не отмечается дальнейшего прогрессирования заболевания на фоне персистенции данной мутации. Приведен краткий обзор литературных данных о частоте возникновения мутации *bcr-abl*^{T315I} у иматиниб-резистентных больных, ее доле среди всех мутаций киназного домена гена *bcr-abl* и влиянии на выживаемость пациентов. Последние опубликованные данные показывают, что, несмотря на панрезистентность мутации Т315I к ИТК, выживаемость данной группы пациентов сопоставима как с продолжительностью жизни носителей других мутаций, так и с выживаемостью больных без мутаций гена *bcr-abl* и зависит преимущественно от фазы заболевания, что совпадает с нашими наблюдениями.

Обсуждаются вопросы сложности выбора оптимальной тактики терапии Т315I-позитивного варианта ХМЛ.

Ключевые слова

хронический миелолейкоз, иматиниб, ингибиторы тирозинкиназ, резистентность, мутации гена *bcr-abl*, мутация Т315I, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.

ВВЕДЕНИЕ

Иматиниб мезилат (Гливек; Novartis Pharmaceuticals, Швейцария) — первый ингибитор BCR-ABL-тирозинкиназы, обеспечивший беспрецедентно высокую эффективность и безопасность у пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ). 6-летний анализ результатов исследования IRIS у пациентов в хронической фазе (ХФ), получавших иматиниба мезилат (ИМ) в качестве первой линии терапии, продемонстрировал следующие данные: частота достижения полного гематологического и полного цитогенетического ответов составила 97 и 83 % соответственно, а прогрессиру-

вание заболевания в фазу акселерации (ФА) или бластного криза (БК) зарегистрировано всего у 7 % больных. Общая 6-летняя выживаемость пациентов была очень высокой и составила 88 %. В связи с этим в настоящее время ИМ является препаратом выбора в терапии ХМЛ. Однако исследование IRIS также выявило, что частота неудачи терапии ИМ даже в этой группе пациентов может достигать 20 %.¹ Наиболее важным из обсуждаемых механизмов резистентности к иматинибу является возникновение точечных мутаций в киназном домене ABL-тирозинкиназы, которые выявляются у 35–45 % больных, резистентных к иматинибу. При

[1] ФГУ Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург

[2] ГОУ ВПО Санкт-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

этом панрезистентная мутация Т315I обнаруживается у 50 % иматиниб-резистентных больных.^{2,3}

Появление ингибиторов ABL-тирозинкиназы II поколения (Дазатиниб, Нилотиниб), активных в отношении подавляющего большинства мутантных линий клеток ХМЛ, не решило проблему резистентности, связанной с мутацией *bcr-abl*^{T315I}.

Известно, что большинство АТФ-конкурентных ингибиторов тирозинкиназы (ИТК) прямо взаимодействует с треонином-315 — аминокислотным остатком в составе АТФ-связывающего сайта киназы, контролирующего доступ ИТК в свободный гидрофобный карман тирозинкиназы (так называемый gatekeeper), выполняя ключевую роль в образовании водородной связи. Мутация *bcr-abl*^{T315I} образуется в результате замены треонина в положении 315 на изолейцин (Thr³¹⁵ → Ile) в АТФ-связывающей части киназы ABL. Следствием этого является нарушение образования водородной связи, что вместе со стерическим несоответствием за счет дополнительной углеводородной группы в боковой цепи изолейцина приводит к невозможности связывания ИТК (ИМ, Дазатиниб, Нилотиниб, Босутиниб, INNO-406) с АТФ-карманом тирозинкиназы.^{2,4,5}

Как правило, мутации гена *bcr-abl* обнаруживаются у больных, резистентных к ИМ. Кроме того, вероятность появления новых мутаций киназного домена гена *bcr-abl* выше у больных, резистентных к двум и более ИТК, за счет селекции (отбора) нечувствительных мутировавших клеток, что подтверждается исследованиями *in vitro*.⁶⁻⁹ Однако при этом значимого повышения частоты детекции мутации Т315I на фоне последовательного применения второго и/или третьего ИТК (Нилотиниб, Дазатиниб, Босутиниб) не было отмечено. В частности, в М. D. Anderson Cancer Center (США) оценивались изменения мутационного статуса киназного домена *bcr-abl* у 112 иматиниб-резистентных пациентов, которым проводилась терапия ИТК II поколения в качестве второй линии терапии ХМЛ. В данном исследовании на фоне неэффективной терапии иматинибом было обнаружено 67 различных мутаций киназного домена *bcr-abl* у 61 (60 %) из 112 пациентов, из них мутация Т315I определялась у 10 пациентов и составляла 15 % всех мутаций. После последовательного лечения ИТК II поколения новые мутации киназного домена появились у 29 (26 %) из 112 пациентов, но только у 4 (4 %) из 112 была выявлена мутация Т315I, ее частота среди всех мутаций составила примерно 14 %.⁸

В то же время, по данным других авторов, мутация *bcr-abl*^{T315I} впервые была обнаружена у 70 % пациентов (с резистентностью к ИМ) после неэффективного лечения дазатинибом. Возможно, такая высокая частота выявления мутации Т315I связана с тем, что в данном исследовании преобладали больные с продвинутыми фазами ХМЛ и Ph(+), острым В-лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) *de novo*.^{9,10}

Клинический случай

Ниже представлена клиническая картина индолентного течения ХМЛ у пациента в ФА болезни с мутацией *bcr-abl*^{T315I} и резистентностью к ИТК.

Пациент В., 59 лет, наблюдается в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова с мая 2005 г. **Диагноз хронического миелолейкоза, Ph(+), хроническая фаза** установлен в апреле 2003 г. На момент верификации диагноза возраст пациента — 54 года, при цитогенетическом исследовании костного мозга выявлена t(9;22)(q34;q11) в 100 % метафаз, по данным миелограммы и гемограммы определялась хроническая фаза заболевания, отмечалась выраженная спленомегалия (при УЗИ размер селезенки 24 × 9,6 см, пальпаторно +10 см), группа риска по Sokal — 3.

Терапия: в течение 2 лет проводилась терапия гидреа по 500–2500 мг/сут с достижением и сохранением стабильного частичного гематологического ответа. Терапия ИМ в дозе 400 мг/

сут (по программе гуманитарной помощи GIPAP) была начата 20.05.2005 г. Полный гематологический ответ не был достигнут после 3 мес. терапии. При стандартном цитогенетическом исследовании 11.2005 г. после 6 мес. лечения отмечена клональная эволюция (табл. 1), в связи с которой установлено прогрессирование заболевания — **переход в ФА**. На фоне увеличения дозы гливека до 600 мг по данным миелограммы и гемограммы морфологически сохранялась хроническая фаза ХМЛ, однако к 12-му месяцу терапии определялась дальнейшая цитогенетическая прогрессия в виде появления новых клональных хромосомных изменений в Ph-позитивных клетках (см. табл. 1). Полный гематологический ответ не был достигнут.

Таблица 1. Результаты цитогенетических исследований костного мозга пациента В. за весь период наблюдения

Дата	Ph, % клеток	Метафаз	Кариотип
29.04.2003	100	20	46,XY, t(9;22)(q34;q11)
19.05.2005	100	30	46,XY, t(9;22)(q34;q11)
22.11.2005	100	14	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21
16.01.2006	100	20	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21
31.05.2006	100	30	45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21 ²⁰ 48–49,XY, t(9;22)(q34;q11), +5, +8, +16 ⁷
27.03.2007	100	20	45,X0, t(9;22)(q34;q11), -Y ¹⁵ 42–44,X0, t(9;22)(q34;q11) -Y, -4, -21, -22 ⁵
23.11.2007	100	19	45,X, t(9;22)(q34;q11), -Y ¹⁵ 45,XY, t(9;22)(q34;q11), -21 ⁴

В связи с гематологической и цитогенетической резистентностью к ИМ с октября 2006 г. по август 2007 г. (в течение 11 мес.) проводилась терапия ИТК II поколения. Полный гематологический и какой-либо цитогенетический ответы вновь не были достигнуты. Сохранились дополнительные хромосомные aberrации (см. табл. 1).

На фоне данной терапии методом прямого секвенирования был выполнен анализ мутационного статуса гена *bcr-abl*; **выявлена мутация Т315I** (07.2007 г.), которая наряду с клональной эволюцией, вероятно, была основной причиной резистентности к ИТК.

Учитывая наличие панрезистентной мутации гена *bcr-abl*, обсуждалось показание аллогенной трансплантации костного мозга (аллоТКМ) как радикального метода терапии для данной категории больных. Однако сиблингов у пациента нет, а от поиска HLA-совместимого неродственного донора костного мозга в Международном регистре он отказался. Кроме того, по шкале A. Gratwohl у него определялся высокий риск ТКМ (5 баллов).

В дальнейшем (с 08.2007 г. по 11.2007 г.) по программе клинического исследования пациенту проводилась терапия ингибитором Аврора-киназ (3 курса), который потенциально мог преодолевать резистентность к ИТК за счет блокирования BCR-ABL-независимых сигнальных путей пролиферации. Данная терапия была прекращена в связи с повторной гематологической токсичностью IV степени с развитием генерализованных инфекционных осложнений. Кроме того, гематологический и цитогенетический ответы не были достигнуты, а при молекулярно-генетическом исследовании сохранялась мутация *bcr-abl*^{T315I}.

С декабря 2007 г. по настоящее время пациенту проводится терапия реафероном А по 5 млн МЕ в сутки с сохранением стабильного частичного гематологического ответа без признаков гематологической прогрессии в ФА или БК.

Таким образом, в нашем случае, несмотря на первичную гематологическую и цитогенетическую резистентность к ИТК, наличие клональной эволюции и мутации *bcr-abl*^{T315I}, **у пациента не отмечалось прогрессии в фазу БК** за весь период наблюдения (68 мес.).

Под нашим наблюдением находится еще 5 больных ХМЛ с мутацией Т315I: 2 пациента в ХФ, 2 — в ФА, 1 — в фазе БК миелоидного типа. Продолжительность заболевания у этих больных составляет от 21 до 114 мес., а длительность наблюдения после обнаружения *bcr-abl*^{T315I} — от 11 до 24 мес. Ни у одного из них не удалось получить полный гематологический ответ на фоне терапии как ИМ, так и ИТК нового поколения. При этом ни у кого из них не отмечалось признаков дальнейшей прогрессии заболевания. Пациент в фазе БК умер от осложнений, связанных с аллоТКМ. Таким образом, наши наблюдения не подтверждают высокий риск быстрой прогрессии заболевания даже у больных с продвинутыми фазами ХМЛ после возникновения мутации *bcr-abl*^{T315I}.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее предполагалось, что наличие мутации T315I связано с быстрой прогрессией болезни и короткой выживаемостью.^{11,12} Однако последние опубликованные данные показывают что, несмотря на панрезистентность мутации T315I к ИТК, выживаемость данной группы пациентов сопоставима как с продолжительностью жизни носителей других мутаций, так и с выживаемостью больных без мутаций гена *bcr-abl*. В работе E. Jabbour и соавт. оценивалась выживаемость 186 больных ХМЛ, резистентных к иматинибу. Пациенты были разделены на три однородных по характеристикам группы: 1 — с наличием мутации *bcr-abl*^{T315I} (27 пациентов), 2 — с другими мутациями (77 пациентов), 3 — без каких-либо мутаций (82 пациента). В первой группе пациентов медиана наблюдения составила 29 мес. после неудачи терапии ИМ и 18 мес. от момента обнаружения мутации T315I. Летальность внутри групп иматиниб-резистентных пациентов с мутацией T315I, с другими мутациями и без мутаций гена *bcr-abl* была следующей: погибло 11/27 (41 %), 29/77 (38 %) и 32/82 (39 %) пациентов соответственно. В данном исследовании выживаемость больных ХМЛ не зависела от наличия или отсутствия мутаций, а также их вида. При этом длительность жизни пациентов с мутацией T315I в основном зависела от фазы заболевания в момент идентификации данной мутации. У большинства пациентов в ХФ отмечалось индолентное течение заболевания.¹³ Вероятно, это обусловлено тем, что мутировавший клон клеток, экспрессирующий *bcr-abl*^{T315I}, не обладает более высокой тирозинкиназной активностью и не имеет пролиферативного преимущества по сравнению с клетками — носителями дикого типа гена *bcr-abl* в экспериментах на животных.^{14,15} Однако исследования *in vitro* также показали, что продолжение терапии ИТК может привести к дальнейшей селекции резистентных клеток.¹⁴

Преодоление резистентности к терапии клеток с мутацией T315I является большой проблемой, и выбор терапевтической стратегии варианта ХМЛ с мутацией T315I очень сложен. С одной стороны, в биологическом плане T315I-позитивный ХМЛ не приобретает более агрессивного фенотипа и, следовательно, вероятность быстрой прогрессии болезни в его терминальную фазу (БК) — низкая. С другой стороны, терапия известными в настоящее время ИТК у подавляющего большинства больных данной группы неэффективна и вероятность достижения стабильного полного цитогенетического и, тем более, молекулярного ответов крайне низка, что не позволяет надеяться на долгожительство пациентов с мутацией T315I. Можно предположить, что продолжительность жизни этой группы пациентов будет такой же, как у больных ХМЛ до появления таргетных препаратов, и даже интерферона- α (т. е. препаратов, влияющих на естественное течение ХМЛ).

Считается, что наиболее эффективным методом эрадикации клона клеток с мутацией T315I является аллотГСК. Однако, учитывая результаты клинических и экспериментальных исследований, показавших, что течение варианта ХМЛ с мутацией T315I не более агрессивно, чем исходного заболевания, представляется, что при направлении пациен-

та на трансплантацию костного мозга требуется тщательное сопоставление риска и вероятности развития фатальных осложнений аллотГСК, с одной стороны, и рецидива/прогрессии ХМЛ — с другой. Возможно, у больных с высокой вероятностью возникновения тяжелых посттрансплантационных осложнений терапевтическая тактика должна быть такой же, как у пациентов, не подлежащих проведению аллотГСК, и включать применение экспериментальных средств с потенциальной активностью против мутации *bcr-abl*^{T315I} в рамках клинических исследований (МК-0457, РНА-739358, АТ9283, ОН012380 и др.)^{3,16,17}, лечение препаратами интерферона- α или сдерживающую терапию гидроксимочевинной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hochhaus A., Drucker B. J., Larson R. A. IRIS 6-Year Follow-Up: Sustained Survival and Declining Annual Rate of Transformation in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase Treated with Imatinib. *Blood* 2007; 110(11): 25.
2. Quintas-Cardama A., Cortes J. Molecular biology of BCR-ABL1-positive chronic myeloid leukemia. *Blood* Prepublished online Sep 30, 2008.
3. Jabbour E., Cortes J., Ghanem H. et al. Targeted therapy in chronic myeloid leukemia. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2008; 8(1): 99–110.
4. Gorre M. E., Mohammed M., Ellwood K. et al. Clinical Resistance to STI-571 Cancer Therapy Caused by BCR-ABL Gene Mutations or Amplification. *Science* 2001; 293: 876–80.
5. O'Hare T., Eide C. A., Deininger M. W. N. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2007; 110: 2242–9.
6. Kantarjian H., Giles F. et al. Nilotinib in Imatinib-Resistant CML and Philadelphia Chromosome-Positive ALL. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2542–51.
7. Talpaz M., Shah N. P., Kantarjian H. et al. Dasatinib in Imatinib-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 2531–41.
8. Cortes J., Jabbour E., Kantarjian H. et al. Dynamics of BCR-ABL kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia after sequential treatment with multiple tyrosine kinase inhibitors. *Blood* 2007; 110: 4005–11.
9. Shah N. P., Scaggs B. J., Branford S. et al. Sequential Abl kinase inhibitors therapy selects for compound drug-resistant BCR-ABL mutations with altered oncogenic potency. *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 2562–9.
10. Soverini S., Martinelli G., Colarossi S. et al. Mutations at residues 315 and 317 in the ABL kinase domain are main cause of resistance to dasatinib in Philadelphia-positive (Ph+) leukemia patients. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2006; 108: 836.
11. Nicolini F. E., Hayette S., Corm S. et al. Clinical outcome of 27 imatinib mesylate-resistant chronic myelogenous leukemia patients harboring a T315I BCR-ABL mutation. *Haematologica* 2007; 92: 1238–41.
12. Soverini S., Colarossi S., Gnani A. et al. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia-positive patients: by the GIMENA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 7374–9.
13. Jabbour E., Kantarjian H. et al. Characteristic and outcomes of patients with chronic myeloid leukemia and T315I mutation following failure of imatinib mesylate therapy. *Blood* 2008; 112: 53–5.
14. Miething C., Feihl S., Grundler R. et al. The Bcr-Abl mutations T315I and Y253H do not confer a growth advantage in the absence of imatinib. *Leukemia* 2006; 20: 650–7.
15. Griswold I. J., MacPartlin M., Deininger M. W. N. et al. Kinase Domain Mutants of Bcr-Abl Exhibit Altered Transformation Potency, Kinase Activity, and Substrate Utilization, Irrespective of Sensitivity to Imatinib. *Mol. Cell Biol.* 2006; 16: 6082–93.
16. Gontarewicz A., Balabanov S. et al. Simultaneous targeting of Auro-kinase and Bcr-Abl kinase by the small molecule inhibitor PHA-739358 is effective against imatinib-resistant BCR-ABL mutations including T315I. *Blood* 2008; 111: 4355–64.
17. Jabbour E., Cortes J., Giles F., Kantarjian H. Current Perspectives on the Treatment of Patients with Chronic Myeloid Leukemia: An Individualized Approach to Treatment. *Cancer J.* 2007; 6: 357–65.