

Mutationen, Marker und gezielte Therapien

BCR-ABL1-negative myeloproliferative Neoplasien

BCR-ABL1-negative Myeloproliferative Neoplasien sind klonale hämatopoetische Stammzellerkrankungen, welche durch die gesteigerte Proliferation einer oder mehrerer myeloischer Zellreihen im Knochenmark charakterisiert sind (1). Die Proliferation geht mit einer effektiven Ausreifung einher. Im Gegensatz hierzu stehen die myelodysplastischen Syndrome, welche als Hauptmerkmal eine ineffektive, dysplastische Hämatopoiese aufweisen. Die Hauptvertreter der *BCR-ABL1*-negativen Myeloproliferativen Neoplasien sind die Polycythaemia vera, die essentielle Thrombozythämie und die Primäre Myelofibrose.



Les néoplasies myéloprolifératives négatives pour *BCR-ABL1* sont des maladies de cellules souches hématopoïétiques clonales, qui sont caractérisées par une augmentation de la prolifération d'une ou de plusieurs lignées de cellules myéloïdes dans la moelle osseuse (1). La prolifération est accompagnée d'une maturation normale et efficace. Cela contraste avec les syndromes myélodysplasiques, ayant comme caractéristique principale, une hématopoïèse dysplasique inefficace. Les représentants principaux des néoplasies myéloprolifératives négatives pour *BCR-ABL1* sont la polyglobulie de Vaquez, la thrombocythémie essentielle et la myélofibrose primitive.

Die *BCR-ABL1*-negativen Myeloproliferativen Neoplasien (MPN) sind primär Erkrankungen des erwachsenen Menschen mit der höchsten Inzidenz zwischen dem 50. und 70. Lebensjahr (Inzidenz pro Entität ca. 1/100 000/Jahr) (1). Die häufigsten Komplikationen und die häufigste Todesursache sind kardiovaskuläre Ereignisse. Als weitere Komplikationen sind Blutungen, sowie die Progression in eine Myelofibrose (bei Polycythaemia vera (PV) und Thrombozythämie (ET)) oder eine akute myeloische Leukämie (sogenannte Blastenphase) zu erwähnen. Das Gesamtüberleben bei ET-Patienten entspricht fast dem der Normalbevölkerung. Im Vergleich ist das Überleben von Patienten mit Primärer Myelofibrose (PMF) deutlich kürzer. Die PV nimmt in dieser Hinsicht eine intermediäre Stellung ein.

Obwohl in der Klassifizierung der World Health Organization (WHO) 2008 auch zu den MPN gehörend, werden folgende Entitäten nicht in dieser Übersicht besprochen: die chronische myeloische Leukämie (*BCR-ABL1*-positiv), die chronische neutrophile Leukämie, die chronische eosinophile Leukämie, sowie die Mastozytose.

Pathogenese

Der klonale Ursprung der Hämatopoiese in MPN ist als Schlüsselmerkmal dieser Erkrankungen akzeptiert. Die klonale Hämatopoiese entsteht, wenn eine hämatopoetische Stamm- oder Progenitorzelle somatische Mutationen (siehe unten) erwirbt,



Dr. med.
Alexandre Theocharides
Zürich

welche zu einem kompetitiven Vorteil gegenüber normalen Zellen führen. Im Verlauf der Erkrankung können weitere klonale Aberrationen erworben werden, welche mit der Progression der MPN z.B. in eine akute myeloische Leukämie assoziiert sein können (2).

Mutationen in der Januskinase 2

Die *JAK2*-V617F-Mutation, welche 2005 erstmalig beschrieben wurde, ist die häufigste Mutation bei MPN (3–6). Sie findet sich im Exon 14, kommt bei fast allen Patienten mit PV und bei ca. 50% der Patienten mit ET und PMF vor. Die Mutation führt zu einer Aktivierung der Kinase, sowie des *JAK*-*STAT* Signalübertragungsweges. Die wenigen PV-Patienten ohne *JAK2*-V617F-Mutation tragen meistens eine Mutation im Exon 12 derselben Kinase (7). Im Gegensatz zu Patienten mit *JAK2* Exon 14-Mutationen haben Patienten mit Exon 12-Mutationen vorwiegend eine isolierte Vermehrung der Erythrozyten bei normalen Thrombozyten und Leukozyten.

Mutationen im Thrombopoietin-Rezeptor

Nach der Entdeckung der *JAK2*-Mutation wurden Mutationen im Thrombopoietin-Rezeptor (MPL) beschrieben (8,9). Diese Mutationen sind viel seltener, kommen nur bei ET- und bei PMF-Patienten (jeweils ca. 1% bzw. 5% der Fälle) vor und führen wie die *JAK2*-Mutationen auch zu einer Aktivierung des *JAK*-*STAT*-Übertragungsweges.

Mutationen in Calreticulin

Die Calreticulin (*CALR*)-Mutationen wurden erst acht Jahre nach der Entdeckung der *JAK2*-Mutationen beschrieben und finden sich bei der Mehrheit der ET- und PMF-Patienten ohne *JAK2*- und MPL-Mutationen (10,11). Insgesamt sind in der Zwischenzeit mehr als 30 *CALR*-Mutationen beschrieben worden. Auch *CALR*-Mutationen führen wie die *JAK2*- und die MPL-Mutationen zu einer Aktivierung des *JAK*-*STAT*-Übertragungsweges. Bemerkenswert ist jedoch, dass *CALR*-Mutationen nur bei MPN- und bei keiner anderen Tumor-Erkrankung bisher beschrieben wurden. *CALR* ist im Gegensatz zu *JAK2* auch keine Kinase, sondern ein molekulares Chaperon, welches im endoplasmatischen Retikulum Proteine faltet. Wie *CALR*-Mutationen zu einer MPN führen, wird

aktuell intensiv erforscht. Erste Daten zeigen, dass CALR-Mutanten wahrscheinlich über MPL, ebenfalls zu einer Aktivierung des JAK-STAT-Übertragungsweges führen (12). Dies würde erklären, warum MPN-Patienten mit CALR-Mutationen auch auf JAK-Inhibition ansprechen (siehe unten) (13).

Diagnose

Die Diagnose MPN erfolgt nach den WHO-Kriterien (Tab. 1) (1). Für die Diagnose ET und PMF ist eine Knochenmarksuntersuchung zwingend. Die WHO-Kriterien für die Diagnose PV können prinzipiell auch ohne Knochenmarksmorphologie erfüllt werden, jedoch empfehlen wir, auch bei Verdacht auf PV, die Durchführung einer Knochenmarksanalyse. Generell müssen sekundäre Ursachen einer Polyglobulie, Thrombozytose oder Myelofibrose ausgeschlossen werden. Bei ET und PMF muss zudem eine chronische myeloische Leukämie (CML) ausgeschlossen werden (fehlender Nachweis von *BCR-ABL1*).

Bei vermuteter PV (z.B. bei Polyglobulie) empfehlen wir als ersten diagnostischen Schritt die Bestimmung der *JAK2-V617F*-Mutation und des Erythropoietin-Spiegels (Abb. 1). Der Nachweis einer *JAK2*-Mutation in Kombination mit einem supprimierten Erythropoietin-Spiegel ist sehr suggestiv für eine PV. Bei Verdacht auf ET oder PMF und fehlendem Nachweis einer *JAK2*-Mutation wird zusammen mit der Knochenmarksuntersuchung die Suche nach einer CALR-Mutation empfohlen. Bei *JAK2*- und *CALR*-unmutierter ET / PMF ist die Suche nach einer *MPL*-Mutation angezeigt. Die weiteren Untersuchungen richten sich nach den WHO-Kriterien.

Anamnese und klinische Befunde

In diesem Artikel wird aus Platzgründen bewusst auf eine detaillierte Beschreibung der klinischen Manifestation der MPN ver-

zichtet. In den letzten Jahren ist die Aufmerksamkeit auf die sogenannten konstitutionellen Symptome bei MPN stetig gewachsen. Die Erfassung von Symptomen wie Appetitlosigkeit, Knochenschmerzen, Sättigungsgefühl, Fieber, Juckreiz etc. gehört heute zum wesentlichen Bestandteil der Anamnese bei MPN-Patienten und wird systematisch mit für MPN entwickelten Fragebögen (z.B. MPN 10) erfasst (14). Dies erlaubt die Objektivierung dieser Symptome und ist wesentlich in der Beurteilung des Ansprechens, insbesondere auf Therapien mit *JAK*-Inhibitoren (siehe unten).

Therapiestrategien bei *BCR-ABL1* negativen MPN Polycythaemia vera

Die Grundpfeiler der PV-Behandlung sind regelmässige Aderlässe und die tägliche Einnahme von Acetylsalicylsäure (ASS). In der CYTO-PV-Studie wurde gezeigt, dass kardiovaskulär bedingte Todesfälle signifikant weniger häufig in der Patientengruppe mit Ziel-Hämatokrit <45% auftraten als in der Patientengruppe mit Ziel-Hämatokrit 45–50% (15). Zudem zeigt die ECLAP-Studie, dass die Einnahme von ASS das Risiko thrombotischer Komplikationen gegenüber Placebo signifikant reduziert, ohne das Risiko schwerer Blutungen zu erhöhen (16). Wir empfehlen in unserer Klinik zudem die Einleitung einer zytoreduktiven Therapie bei Patienten > 60 Jahren und/oder bei Patienten mit thromboembolischen Ereignissen in der Anamnese. Die meisten Patienten, welche diese Kriterien erfüllen, erhalten eine Therapie mit Hydroxyurea (HU), welches die Ribonukleotidreduktase und somit die DNA-Synthese hemmt. Ein Problem stellen PV-Patienten mit HU-Resistenz bzw. Intoleranz dar. Diese können heutzutage nach Einholen einer Kostengutsprache mit dem *JAK*-Inhibitor Ruxolitinib behandelt werden. In der vor kurzem publizierten RESPONSE-Studie wurde gezeigt, dass

TAB. 1 Klassifikation der <i>BCR-ABL1</i> -negativen MPN nach WHO 2008			
Kriterien	PV ^a	ET ^a	PMF ^a
Major	1 Hb > 185 g/l (Männer) Hb > 165 g/l (Frauen) oder ^b	1 Tc ≥ 450 G/l	1 Proliferation atypischer ^c Megakaryozyten mit Retikulin- und/oder Kollagenfaserfibrose oder ^d
	2 <i>JAK2-V617F</i> oder <i>JAK2</i> exon 12	2 Proliferation grosser und reifer Megakaryozyten	2 Nicht CML, PV, PMF, MDS oder andere myeloische Neoplasie nach WHO
		3 Nicht CML, PV, PMF, MDS oder andere myeloische Neoplasie nach WHO	3 <i>JAK2-V617F</i> oder anderer klonaler Marker (z.B. <i>CALR</i> -, <i>MPL</i> -Mutationen) oder keine reaktive Myelofibrose
		4 <i>JAK2-V617F</i> oder anderer klonaler Marker (z.B. <i>CALR</i> -, <i>MPL</i> -Mutationen) oder keine reaktive Thrombozytose	
Minor	1 Trilineäre Myeloproliferation		1 Leukoerythroblastäres BB
	2 Tiefes EPO		2 Erhöhte Serum-LDH
	3 EEC		3 Anämie
			4 Splenomegalie

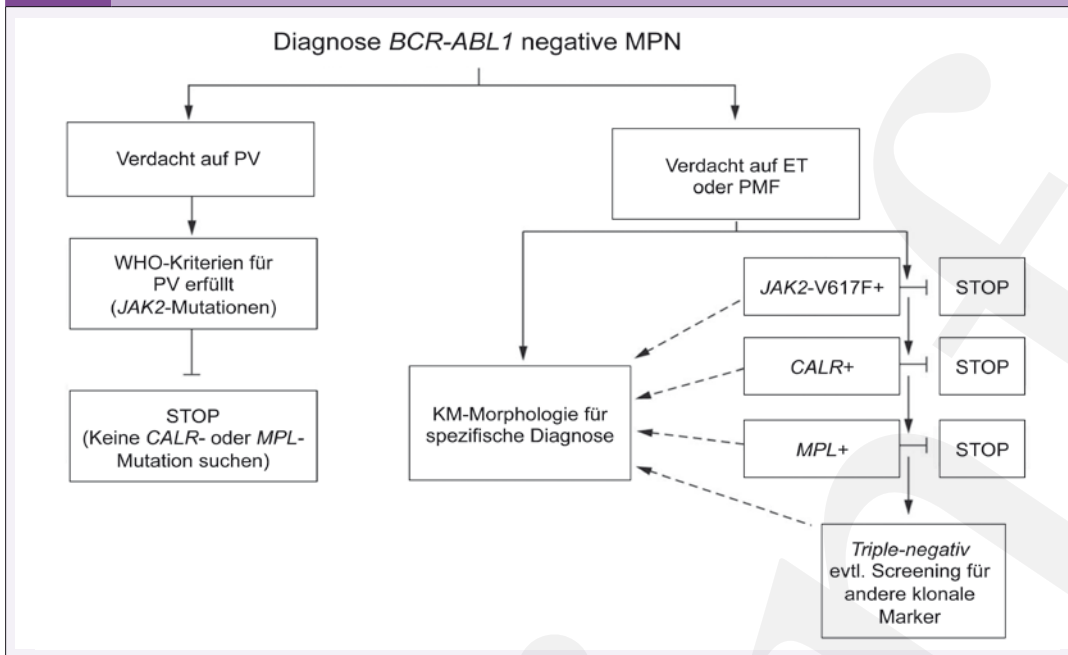
a: Diagnosestellung:

- PV: 2 Major und 1 Minor Kriterium oder 1. Major und 2 Minor Kriterien
- ET: All Kriterien
- PMF: Alle 3 Major Kriterien und 2 Minor Kriterien

b: oder Hb/Hkt >99% Perzentile vom Referenzwert für Alter/Geschlecht/Höhe des Wohnortes oder Erythrozytenmasse >25% über dem mittleren prädiktiven Wert oder Hb >170 g/l (Männer) / >150 g/l (Frauen) bei persistierender Erhöhung des Hb >20 g/l gegenüber Vorwerten, welche nicht auf eine Korrektur einer Eisendefizienz zurückzuführen ist

c: Kleine bis grosse Megakaryozyten mit aberrantem Kern/Zytoplasma-Verhältnis und hyperchromatischen und irregulär gelappten Kernen, sowie Megakaryozyten-Cluster

d: bei fehlender Retikulinfaserfibrose müssen die Veränderungen der Megakaryozytenc mit einer Hyperzellularität des Knochenmarks, einer gesteigerten Granulopoese und oft einer verminderten Erythropoese einhergehen (=präfibrotische PMF)

ABB. 1 Abklärungsalgorithmus bei *BCR-ABL1*-negativen MPN, nach (26)

Ruxolitinib verglichen mit der besten verfügbaren Therapie (meistens HU) in dieser Patientengruppe signifikant häufiger zur Kontrolle des Hämatokrits, zur Verringerung der Milzgrösse, sowie zur Symptomkontrolle führt (17). Folgestudien werden zeigen, ob eine JAK-Inhibitor-Therapie auch die Inzidenz von kardiovaskulären Komplikationen reduzieren kann.

Essentielle Thrombozythämie

Patienten mit ET erhalten wie PV-Patienten täglich Acetylsalicylsäure (ASS). Eine Ausnahme sind dabei Patienten mit sehr niedrigem Risiko für thromboembolische Komplikationen und Patienten mit erworbenem von Willebrand Syndrom (Blutungsgefahr bei Hemmung der Thrombozytenaggregation). In Analogie zur PV erhalten ET-Patienten, die älter als 60 Jahre sind und/oder mit thromboembolischen Ereignissen in der Anamnese, eine zytoreduktive Therapie. Diese erfolgt mit HU oder Anagrelid. Anagrelid senkt im Gegensatz zu HU spezifisch die Thrombozyten. In der PT-1-Studie wurde der Einsatz beider Substanzen bei ET-Patienten mit hohem Risiko für thromboembolische Komplikationen untersucht. Dabei zeigte sich eine höhere Rate an arteriellen Thrombosen und Hämorrhagien in der Anagrelid-Gruppe (18). In der acht Jahre später publizierten ANAHYDRET-Studie konnte dieser Unterschied jedoch nicht belegt werden (19). Ein möglicher Grund hierfür könnte die Verwendung unterschiedlicher Diagnosekriterien (WHO in der ANAHYDRET-Studie vs. Polycythemia Vera Study Group, PVSG, in der PT-1 Studie) für die ET sein. Eine Studie die diese Therapien nach WHO klassifizierter ET vergleicht ist nicht verfügbar. In der Schweiz sind beide Medikamente für die Primärtherapie der ET zugelassen.

Myelofibrose (Primär oder nach Transformation aus PV/ET)

Die Myelofibrose (MF) galt bis zur Zulassung von JAK-Inhibitoren als Problemkind der MPN. Im Vergleich zur PV und ET ist das Gesamtüberleben bei MF-Patienten deutlich niedriger und das Risiko einer Transformation in eine AML höher. Die Risikostratifi-

zierung erfolgt mit Hilfe des International Prognostic Scoring Systems (IPSS) (20). Patienten mit niedrigem Risiko benötigen meist keine Therapie. Patienten mit hohem Risiko leiden jedoch meist an ausgeprägten konstitutionellen Symptomen und Symptomen als Folge der häufig ausgeprägten Splenomegalie (extramedulläre Hämatopoiese bei Knochenmarkversagen). Beide Symptom-Cluster werden durch die Therapie mit dem JAK-Inhibitor Ruxolitinib günstig beeinflusst (21, 22). Zudem scheint Ruxolitinib auch das Gesamtüberleben von MF-Patienten mit ungünstigem Risiko gegenüber der besten zur Verfügung stehenden Therapie zu verlängern. Therapien mit HU und anderen zytoreduktiven Agenzien haben bei der MF seit der Einführung von Ruxolitinib an Bedeutung verloren. Des Weiteren werden Supportivmassnahmen wie Erythropoietin-Substitution, Transfusionen und in seltenen Fällen Milzbestrahlung und Splenektomie eingesetzt.

Die einzige Therapie mit kurativer Option bei MF ist die allogene hämatopoietische Stammzelltransplantation von einem verwandten oder unverwandten Spender. Diese wird in unserer Klinik vorwiegend bei Patienten mit MF und ungünstiger Prognose durchgeführt (maximales Alter: ca. 70 Jahre).

Ausblick

Die Entdeckung molekularer Marker hat das diagnostische Vorgehen bei MPN revolutioniert. Heutzutage gilt bei Nachweis einer Mutation in *JAK2*, *CALR* oder *MPL* und entsprechender Klinik, bzw. Laborbefunde die Diagnose einer MPN als gesichert. Die prognostische Relevanz dieser und weiterer molekularer Marker wird aktuell in grossen Patientenkohorten untersucht. *CALR*-Mutationen scheinen dabei bei ET und MF einen günstigeren Verlauf vorauszusagen (23). Prognose-Scores, welche molekulare Marker berücksichtigen, sind in Entwicklung und werden in Zukunft die Therapiestrategien wesentlich beeinflussen.

Der Einsatz von JAK-Inhibitoren als Primärtherapie der PV muss in prospektiven Studien mit der Standard-Therapie vergli-

chen werden. Bei der MF wird in zukünftigen Studien untersucht werden, ob die Gabe von Ruxolitinib früh im Krankheitsverlauf das Gesamtüberleben verbessern kann. Ein Hauptproblem der Therapie mit Ruxolitinib stellt die Hämatotoxizität, insbesondere die Thrombozytopenie aber auch die Anämie dar (21, 22). Neuere Substanzen wie ein anderer JAK-Inhibitor, Pacritinib, scheinen eine geringere Hämatotoxizität aufzuweisen, bzw. zu einer Verbesserung der Thrombozytopenie und/oder der Anämie bei MF-Patienten führen zu können.

Des Weiteren wird sich erweisen, ob die Interferon-Therapie bei MPN einen Stellenwert hat. Hierfür kommen in erster Linie PV- und MF-Patienten in Frage. Als komplett anderer und sehr interessanter Ansatz wurde vor kurzem der Einsatz des Telomerase-Inhibitors Imetelstat bei ET und MF vorgestellt (24, 25). Erstaunlicherweise konnte hiermit bei gewissen Patienten mit resistenter Erkrankung und multiplen Vortherapien ein deutliches Ansprechen verzeichnet werden. Ob diese aktuell noch experimentelle Therapie den Weg

in die klinische Routine finden wird, werden aktuell laufende und geplante Studien zeigen.

Mit der Entdeckung der JAK2-Mutation wurde die molekulare Ära bei MPN, aber auch in der gesamten malignen Hämatologie eingeläutet. Knapp über 10 Jahre danach sind molekulare Marker und molekulare Therapien wesentlicher Bestandteil dieser Krankheiten geworden. Weitere Meilensteine v.a. in der Therapie dieser Erkrankungen werden bestimmt in den nächsten 10 Jahren folgen.

Dr. med. Alexandre Theodorides

Klinik für Hämatologie, UniversitätsSpital
Rämistrasse 100, 8091 Zürich
Alexandre.Theodorides@usz.ch

Interessenkonflikt: Der Autor deklariert Honoraria von Janssen, Novartis und Orpha Swiss.

Take-Home Message

- ◆ *BCR-ABL1*-negative MPN sind genetisch durch *JAK2*-, *CALR*- und *MPL*-Mutationen charakterisiert
- ◆ Die Knochenmarksuntersuchung ist wesentlicher Bestandteil der Abklärung
- ◆ Das Risiko für kardiovaskuläre Komplikationen ist bei MPN erhöht und trägt massgeblich zu Morbidität und Mortalität bei
- ◆ Gezielte Therapien mit JAK-Inhibitoren können zu einer Verbesserung der Splenomegalie und der konstitutionellen Symptome führen
- ◆ In Zukunft werden molekulare Marker die Prognose und die Therapieentscheidungen mitbestimmen

Messages à retenir

- ◆ Les PNMs négatives pour *BCR-ABL1* sont génétiquement caractérisées par des mutations de *JAK2*, *CALR* et *MPL*.
- ◆ L'examen de la moelle osseuse est une partie essentielle de l'enquête.
- ◆ Le risque de complications cardio-vasculaires est élevé dans les PNMs et contribue de manière significative à la morbidité et la mortalité.
- ◆ Les thérapies ciblées avec des inhibiteurs de JAK peuvent conduire à une amélioration de la splénomégalie et des symptômes constitutionnels.
- ◆ À l'avenir, les marqueurs moléculaires aideront à déterminer le pronostic et les décisions de traitement

Literatur:

1. Swerdlow SH CE et al. WHO Classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. 2008
2. Lundberg P et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2014;123:2220-8
3. Kralovics R et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90
4. James C et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-8
5. Baxter EJ et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-61
6. Levine RL et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7:387-97
7. Scott LM et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007;356:459-68
8. Pikman Y et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3:e270
9. Pardanani AD et al. MPLW515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108:3472-6
10. Nangalia J et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* 2013;369:2391-405
11. Klampfl T et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013;369:2379-90
12. Marty C et al. Calreticulin mutants in mice induce an MPL-dependent thrombocytosis with frequent progression to myelofibrosis. *Blood*. 2015 Nov 25. pii: blood-2015-11-679571. [Epub ahead of print]
13. Patel KP et al. Correlation of mutation profile and response in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib. *Blood* 2015;126:790-7
14. Harrison CN et al. Health-related quality of life and symptoms in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib versus best available therapy. *Br J Haematol* 2013;162:229-39
15. Marchioli R et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2013;368:22-33
16. Landolfi R et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2004;350:114-24
17. Vannucchi AM et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *N Engl J Med* 2015;372:426-35
18. Harrison CN et al. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* 2005;353:33-45
19. Gisslinger H et al. Anagrelide compared with hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood* 2013;121:1720-8
20. Passamonti F et al. Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) predicts progression to acute myeloid leukemia in primary myelofibrosis. *Blood* 2010;116:2857-8
21. Harrison C et al. JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012;366:787-98
22. Verstovsek S et al. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* 2012;366:799-807
23. Rumi E et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood* 2014;124:1062-9
24. Baerlocher GM et al. Telomerase Inhibitor Imetelstat in Patients with Essential Thrombocythemia. *N Engl J Med* 2015;373:920-8
25. Tefferi A et al. A Pilot Study of the Telomerase Inhibitor Imetelstat for Myelofibrosis. *N Engl J Med* 2015;373:908-19
26. Tefferi A, Pardanani A. Genetics: CALR mutations and a new diagnostic algorithm for MPN. *Nature reviews Clinical oncology* 2014;11:125-6