

A *CEBPA*-mutációk vizsgálata és prognosztikai jelentőségük akut myeloid leukémiában

Ifj. Nagy Béla^{1,@}, Gángó Ambrus², Rejtő László³, Krizsán Szilvia², Ujfalusi Anikó¹, Antal-Szalmás Péter¹

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Laboratóriumi Medicina Intézet, Debrecen

²Semmelweis Egyetem, MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

³Szabolcs-Szatmár-Bereg Megyei Kórházak és Jósa András Egyetemi Oktatókórház, Hematológia Osztály, Nyíregyháza

A molekuláris genetikai vizsgálatok nagyléptékű fejlődése az elmúlt években lehetővé tette a malignus myeloid kórképek háttérében álló genetikai eltérések detektálását. Ennek köszönhetően az akut myeloid leukémiában (AML) gyakoribb mutációk egyre teljesebb körű vizsgálata jelentősen javította a kórkép diagnosztikáját, prognosztikai értékelését, valamint a terápiára adott válasz és a relapszus valószínűségének előrejelzését. Az AML patogenezisében fontos szerepet játszanak a különböző transzkripciós faktorok genetikai eltérései, amelyek a hematopoetikus őssejt myeloid irányba történő differenciációját segítik elő. Ezen fehérjék közé tartozik a *CEBPA* (CCAAT/enhancer binding protein alpha) gén által kódolt, leucincipzár-motívumot tartalmazó transzkripciós faktor is. A *CEBPA* fehérje a granulocyták differenciációjában vesz részt, míg a mutációja a myeloid blastok kontrollálatlan proliferációját okozhatja. Sporadikus AML-ben a betegek körülbelül 5–10%-ában mutatható ki a *CEBPA* gén mutációja, leggyakrabban normál kariotípusú, általában éretlen morfológiájú *de novo* AML-ben. A *CEBPA* génnek csírvonalbeli és szomatikus mutációit különböztetjük meg. A familiáris AML egyik csoportjában („AML with germline *CEBPA* mutation”) a *CEBPA* génmutációk autoszomális domináns módon öröklődnek és jelenlétük minden esetben közel 100%-os penetranciával a betegség kialakulásához vezet. Két mutáció jelenléte (biállélikus forma) kedvező klinikai lefolyással társul, ami önálló entitásként szerepel az akut leukémiák 2016-os WHO-klasszifikációjában. Jelen összefoglaló közleményünkben a *CEBPA* génmutációk laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatát és annak klinikai, prognosztikai jelentőségét mutatjuk be.

Kulcsszavak: akut myeloid leukémia, *CEBPA*, prognosztika, Sanger-szekvenálás, génmutáció

Laboratory analysis and prognostic values of *CEBPA* gene mutations in acute myeloid leukemia

Due to the rapid development of molecular laboratory diagnostics, detection of genetic alterations in the background of malignant myeloid diseases has become available in the last couple of years. Hence, the wider range of analysis of mutations in acute myeloid leukemia (AML) has substantially improved the diagnosis of this disease, the evaluation of prognosis, and the indication of clinical response to therapy with the risk of relapse. In the pathomechanism of AML there are several mutations of key transcriptional factors, which propagate the differentiation of hematopoietic stem cell into myeloid lineage. Among these proteins, *CEBPA* (CCAAT/enhancer binding protein alpha) is one of these transcriptional factors containing a leucine zipper motif. Normally, *CEBPA* protein is involved in the differentiation of granulocytes, while its mutated form results in uncontrolled proliferation of myeloid blasts. In sporadic AML, *CEBPA* gene mutations can be detected in about 5–10% of cases, usually in undifferentiated *de novo* AML with normal karyotype. Germline and somatic *CEBPA* mutations may be generated. In familiar AML, germline *CEBPA* mutations are inherited in an autosomal dominant pattern and their presence has almost 100% penetration for the development of disease.

@ *Levelezési cím:* Dr. Nagy Béla, Debreceni Egyetem, ÁOK, Laboratóriumi Medicina Intézet, 4028 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.; Tel.: 52/340-006; E-mail: nagy.bela@med.unideb.hu

AML with biallelic *CEBPA* mutations shows a better prognosis and became a new entity in the 2016 WHO classification of acute leukemias. In this review, we summarize the main aspects of laboratory analysis of *CEBPA* gene mutations with their clinical and prognostic values.

Keywords: acute myeloid leukemia, *CEBPA*, prognosis, Sanger-sequencing, gene mutation

(Beérkezett: 2018. december 20.; elfogadva: 2019. február 23.)

Rövidítések

AML = akut myeloid leukémia; *CEBPA* = CCAAT/enhancer binding protein alpha; MDS = myelodysplasiás szindróma; MRD = minimális reziduális betegség; *GATA2* = GATA binding protein 2; *RUNX1* = Runt-related transcription factor 1; *FLT3* = fms-like tyrosine kinase 3; *NPM1* = Nucleophosmin 1; *IDH1* és *IDH2* = izocitrát-dehidrogenáz 1 és 2; PCR = polimeráz láncreakció; WES = teljes exomszekvenálás; OS = teljes túlélés; RFS = relapsusmentes túlélés; *FLT3^{ITD}* = *FLT3* internal tandem duplication

Az AML genetikai háttere

Az AML egy meglehetősen heterogén, agresszív lefolyású betegség, melynek hátterében a myeloid sejtek kontrollálatlan proliferációja és differenciációjának zavara áll. Incidenciája évente kb. 2–3/100 000 fő, mely az életkorral fokozatosan nő. Döntően *de novo* alakul ki, viszont az esetek kb. 20–25%-ban más myeloid betegségek, úgymint myelodysplasiás szindróma (MDS), illetve myeloproliferatív kórképek transzformációja vezethet AML-hez, továbbá terápia indukálta szekunder AML-ként kerülhet diagnosztizálásra [1].

Az AML diagnosztikája citológiai és szövettani, áramlási citometriai, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatokon alapszik. A diagnózis alapja a 20% feletti blastarány a perifériás vér- és/vagy a csontvelői mintában, és elengedhetetlen a betegminta áramlási citometriai analízise a kóros sejtek karakterizálása érdekében [2]. Az utóbbi vizsgálatok kiegészülve a molekuláris genetikai analízissel segítséget jelentenek a terápiára adott válasz értékelésében és a minimális reziduális betegség (MRD) megállapításában is.

Az AML-es esetek kb. 50%-ban kimutathatók kromoszómaaberrációk. A kromoszómák számbeli eltéréseivel nem járó esetek (transzlokációk, inverziók) egy része kedvező prognózisú. Ezek közé tartoznak a t(15;17), az inv(16), illetve t(16;16), valamint a t(8;21), melyek az összes AML-es esetek kb. 20%-át jelentik. A kedvező karyotípusú csoportban a betegek öt éves túlélése akár 60–80% is lehet [3]. A normál karyotípusú AML viszont egy meglehetősen heterogén csoport, amelyben a kezelés eredményessége betegenként eltérő lehet a detektálható génmutációktól függően. A mutációk olyan funkcionális fehérjék génjében (pl. sejtciklus szabályozók, szignál

transzdukciós faktorok, DNS-metilációt szabályzó fehérjék stb.) alakulhatnak ki, mely fehérjék megváltozott működése elősegíti az AML kialakulását vagy jelentősen befolyásolja annak prognózisát [4]. Idetartoznak a transzkripció szabályozásért felelős DNS-kötő fehérjék is, melyek a különböző gének átíródásának szabályozásában vesznek részt. Ezek közé sorolhatók a *CEBPA* (CCAAT/enhancer binding protein alpha), a *GATA2* (GATA binding protein 2) és a *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1) gén által kódolt fehérjék, melyek mutációi önmagukban, illetve egyéb mutációkkal társulva eltérő klinikai lefolyást eredményeznek AML-ben [4]. A *CEBPA* az AML diagnózis felállításakor vizsgálandó leggyakoribb prognosztikai markerek közé tartozik az *FLT3^{ITD}* (fms-like tyrosine kinase 3, „internal tandem duplication”) és a *NPM1* (Nucleophosmin 1) mutációkkal együtt [1, 2]. Emellett az „European Leukemia NET” 2017-es ajánlása értelmében a *RUNX1*, *ASXL1*, *TP53* génmutációk vizsgálata is fontos, mivel kedvezőtlen prognózissal társulnak [2]. Az *FLT3^{TKD}* (*FLT3* gén tirozinkináz domént érintő pontmutációja), valamint az *IDH1* és *IDH2* (izocitrát-dehidrogenáz 1 és 2) génmutációk ellentmondó eredményeket mutattak [1, 2, 4]. Ugyanakkor már léteznek olyan célzott terápiák, amelyek miatt fontos lehet a jövőben a vizsgálatuk.

Az AML-ben kimutatható különböző génmutációk jelenléte alapján a betegek három rizikócsoportba sorolhatók: kedvező, intermedier és kedvezőtlen csoportba [2], amit az 1. táblázatban foglaltunk össze. A kedvező csoportba sorolható betegek többek között *RUNX1-RUNX1T1* génfüziót, mutált *NPM1-t FLT3^{ITD}* mutáció hiányában vagy alacsony allélaránnyal (<0,5), illetve biállélus *CEBPA*-mutációt mutatnak. Az intermedier prognózisú személyek ezzel szemben *NPM1* génmutáció mellett magas *FLT3^{ITD}* allélaránnyal (≥0,5) rendelkeznek, vagy vad típusú *NPM1* társul alacsony *FLT3^{ITD}* allélaránnyal vagy vad típusú *FLT3* génstátusszal. Kedvezőtlen viszont azoknak a betegeknek a prognózisa, akiknek három vagy több független kromoszómarendellenessége van (pl. a 11q23-rendellenességek, del(5q) vagy -5, del(7q) vagy -7, inv(3) vagy t(3;3)). Ezek az összes AML kb. 30%-ában mutathatók ki. Ebbe a rizikócsoportba tartoznak még a *BCR-ABL1*-transzlokációt mutató, illetve a vad típusú *NPM1-t* és magas *FLT3^{ITD}* allélarányt mutató betegek is

1. táblázat. Az AML ELN által javasolt rizikócsoport-beosztása a citogenetikai és molekuláris genetikai eltérések alapján [2]

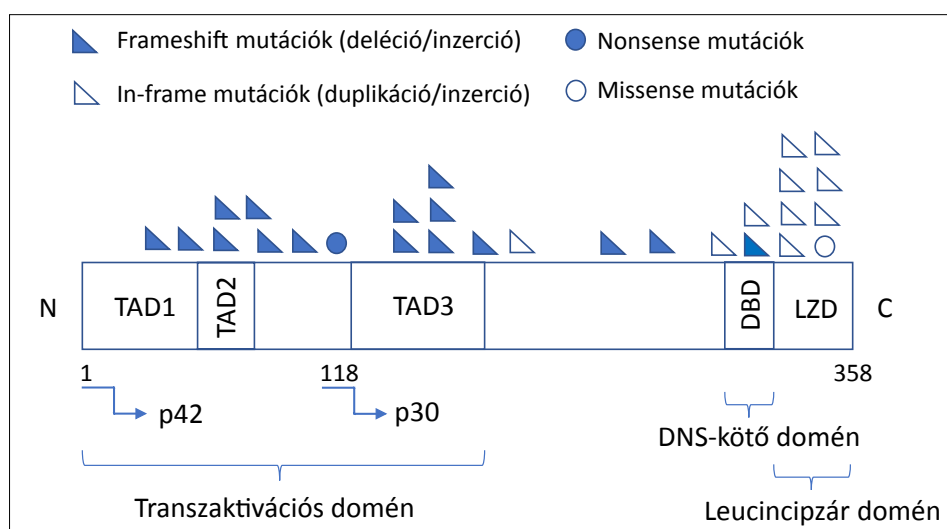
Rizikócsoport	Genetikai eltérés
Kedvező	t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) vagy t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutált <i>NPM1</i> , <i>FLT3-ITD</i> nélkül vagy alacsony <i>FLT3-ITD</i> allélaránnyal Biallélikus mutált <i>CEBPA</i>
Intermedier	Mutált <i>NPM1</i> és magas <i>FLT3-ITD</i> allélarány Vad típusú <i>NPM1 FLT3-ITD</i> nélkül vagy alacsony <i>FLT3-ITD</i> allélaránnyal (kedvezőtlen genetikai eltérések nélkül) t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLL3-KMT2A</i> Egyéb citogenetikai eltérés, mely kedvező vagy kedvezőtlen rizikócsoportba nem sorolható
Kedvezőtlen	t(6;9)(p23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); <i>KMT2A</i> -átrendeződés t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) vagy t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2,MECOM(EV11)</i> -5 vagy del(5q); -7; -17/abn(17p) Komplex kariotípus, monoszómális kariotípus Vad típusú <i>NPM1</i> és magas <i>FLT3-ITD</i> allélarány Mutált <i>RUNX1</i> Mutált <i>ASXL1</i> Mutált <i>TP53</i>

[2] (1. táblázat). A kedvezőtlen kariotípusú csoportban az ötéves túlélés kevesebb mint 20% [3].

A *CEBPA* gén és mutációtípusai

A *CEBPA* a 19-es kromoszóma hosszú karjáról expresszálódó, leucincipzár-motívumot tartalmazó 42 kDa-os transzkripciósfaktor (p42), amely a neutrophil granulocytákérésében vesz részt. A normál szerkezetű és működésű *CEBPA* fehérje a granulocytadifferenciációt szabá-

lyozza, míg mutációt hordozó rövidebb formája a myeloid blastok szabályozatlan proliferációját okozhatja [5]. A fehérjén belül az úgynevezett N-terminális régióban (5' szakasz) transzaktivációs domének találhatók (TAD1, TAD2), míg a C-terminális régióban (3' szakasz) a DNS-kötésért és a dimerizációért felelős bázikus leucincipzár domén (Basic Leucine Zipper Domain, bZIP) helyezkedik el (1. ábra). Ezek alapján a *CEBPA* gént érintő genetikai eltérések alapvetően két csoportba sorolhatók. Az első csoportba tartoznak a csírvonalbeli/öröklődő mutációk,



1. ábra. A *CEBPA* fehérje normál és kóros szerkezete, és génjének az N-, illetve C-terminális régiójában kialakuló különböző típusú mutációk elhelyezkedése. A csírvonalbeli mutációk a TAD1 és TAD2 régióban, míg a szerzett mutációk a DBD és LZD régióban alakulnak ki. (TAD = transzaktivációs domén; DBD = DNS-kötő domén; LZD = leucincipzár domén)

melyek az N-terminális régióra lokalizálódó kis out-of-frame deléciók/inzerciók vagy nonsense mutációk, amelyek korai STOP kodont eredményezve állítják le a fehérje szintézisét. Ennek következtében egy 30 kDa-os rövidebb forma is expresszáldódik (p30), ami túlsúlyba kerülve domináns gátló hatással bír a 42 kDa-os vad típusú fehérje (p42) működésére [6]. A másik csoportba a szomatikus/szerzett mutációkat soroljuk, elsősorban a C-terminális régiót érintő nagyobb in-frame duplikációk/inzerciók a bZIP doménban, amelyek következtében a fehérje nem képes a DNS-hez kötődni, illetve a dimerizáció is gátolt (1. ábra) [7, 8].

A mutáció megjelenési formáját tekintve lehet monoallélikus („single”) *CEBPA*-mutáció, vagy biallélikus („double”) *CEBPA*-mutáció (*CEBPA*-dm). Monoallélikus mutációkról beszélünk, amikor csak az egyik allél (N- vagy C-terminális) érintett. Ezek prognosztikai jelentőséggel nem rendelkeznek [1]. Ezzel szemben a 2016-os akut leukémiákra vonatkozó WHO-klasszifikáció alapján a biallélikus (*CEBPA*-dm) mutációk, amikor az N- és C-terminális egyaránt érintett, kedvező prognózissal járnak együtt [1].

A *CEBPA*-mutáció laboratóriumi diagnosztikája

Jelenleg erre a célra a legszélesebb körben alkalmazott laboratóriumi módszer a Sanger-féle bidirekcionális szekvenálás, melynek során a *CEBPA*-t kódoló gyakorlatilag teljes génszakaszt három primerpár segítségével „lefedve” tudjuk vizsgálni. Ugyanakkor a mutációk ily módon történő analizisét bizonyos metodikai körülmények limitálhatják, elsősorban a *CEBPA* gén magas GC nukleotid tartalma, ami a polimeráz láncreakció (PCR) lezajlását megghiúsíthatja. Ennek elkerülése érdekében a PCR reakció ún. GC enhancer reagenst tartalmazó kittel optimalizálható [9].

A három fragmens elektroferogramjainak értékelése során az első fragmensben látott genetikai eltérések (általában deléciók/inzerciók) a N-terminálisban, a harmadik fragmensben bekövetkezett nukleotidsorrend változások (általában duplikációk/inzerciók) a C-terminálisban kialakult mutációkat igazolják. A második fragmensben látott mutációk besorolásában a különböző adatbázisok (pl. <https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>, www.mutation-taster.org stb.) nyújthatnak segítséget. Tekintettel arra, hogy egy rendkívül nagy heterogenitású génről van szó [10], a nagyszámban leírt mutációk mellett évről évre további új mutációk kerülnek felismerésre, különösen a C-terminálisban látott, egymástól akár csak 1–1 nukleotid eltérést mutató komplex genetikai változások. Olyan is előfordulhat, hogy egy korábban mutációnak leírt genetikai eltérés később egy nem patogén természetes variánsnak bizonyul (pl. a 6 bázispáros duplikáció: c.584_589dupACCCGC, p.P196_P197insHP).

A jelentős hatással bíró mutációk mellett számos polimorfizmus is detektálható, melyek populációfüggő módon a betegek jelentős, akár 15–20%-ában is jelen vannak, vagyis gyakrabban, mint maguk a *CEBPA*-mutációk [11]. Nagy részük nem okoz aminosavcserét, ezért nem járnak a *CEBPA* fehérje megváltozott szerkezetével, és így klinikai jelentőségük nincsen [12]. A 2. táblázatban kerültek összefoglalásra két hazai diagnosztikai centrumban kimutatott leggyakoribb *CEBPA*-mutációk.

A Sanger-szekvenálás mellett a PCR-t követő kapilláris elektroferézis fragmenthossz analízis szintén alkalmas módszer az AML-es betegek vizsgálatára [13]. Ez a módszer akár 100%-os specificitás és 93%-os szenzitivitás mellett 1–5%-os alsó detektálási határral a *CEBPA*-mutációk szűrőmódszere lehet [13]. Bár a csúcsok magasságából a variáns allélfrekvencia megadható, ami előny a Sanger-szekvenálással szemben, ugyanakkor nem tudja meghatározni a pontos lokalizációt. Az újgenerációs szekvenálás (NGS) fokozatos elterjedése viszont kiválthatja a Sanger-

2. táblázat. Két hazai diagnosztikai centrumban (Simmelweis Egyetem I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet; Debreceni Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet) eddigiekben kimutatott *CEBPA*-mutációk típusai. A zárójelben a nukleotid sorrendben, illetve a fehérjeszerkezetben bekövetkezett változás látható, helyenként kiegészítve az adott mutáció COSMIC adatbázisban szereplő azonosítószámával

N-terminális <i>CEBPA</i> -mutációk	C-terminális <i>CEBPA</i> -mutációk
duplikáció (c.68dupC, p.H24fs, COSM18922)	inzerció (c.955_956ins45, p.T318_S319ins15).
duplikáció (c.230_237dupTCCTGGCC, p.D80fs)	komplex mutáció (c.690_701GCCCGTGCCAG>T, p.V232fs)
duplikáció (c.57dupG, p.Q20fs)	inzerció (c.926_927insCCCCGG, p.E309_T310insPR)
deléció (c.181_187delTCCATCG, Ser61Thrfs*97)	inzerció (c.938_939insTCT, p.K313N, COSM32738)
deléció (c.184_191delATCGACAT, I62Qfs*43)	deléció (c.916_934delGCAACGTGGAGACGCAGC, p.R306fs)
inzerció (c.246_247insC, p.Q83fs)	deléció (c.695_705delTGCCCGCCCG, p.V232fs)
deléció (c.134delA, p.P45fs)	deléció (c.611delC, p.P204fs, COSM29604)
deléció (c.135delA, p.P45fs)	deléció (c.917_936delins, p.R306fs)
inzerció (c.58_59insG, p.Q20fs)	duplikáció (c.926_928dup, p.K310fs)
inzerció (c.356_357insT, p.V119fs)	
inzerció (c.218_219insT, p.Q73fs)	

szekvenálást ezekben a genetikai vizsgálatokban is [14], mivel jóval nagyobb szenzitivitással bír (a szekvenálás mélységétől függően akár <1% vs. 15–20%). Egy myeloid génpanel keretén belül, bár a relapszus gyakorisága a *CEBPA*-mutáció vizsgálata akár több tucat egyéb AML-specifikus gén egyidejű analizisével elvégezhető, ez még csak kevés helyen érhető el a rutin laboratóriumi diagnosztikában [15]. Bár jelenleg a három leggyakoribb AML prognosztikai marker (*FLT3*, *NPM1*, *CEBPA*) vizsgálata az „elvárt” a rutindiagnosztikai laboratóriumok többségében, a szélesebb mutációs génpanelek használata tovább segítheti a betegek prognosztikai besorolását [16]. Ezen túlmenően a teljes exomszekvenálás (WES) a betegség klonális evolúciójának feltérképezését is lehetővé teheti az örökletes AML-es kórképek/családok esetében [17] (lásd később).

A *CEBPA*-mutációk klinikai jelentősége

Az utóbbi évek klinikai vizsgálatai és az AML-re vonatkozó legújabb irányelvek alapján a *CEBPA*-mutációk jelenléte jelentősen befolyásolja az AML klinikai kimenetelét [18]. Több mint 200 fős AML-es populáció (medián életkor 48,5 [23–72] év) eredményei alapján a *CEBPA*-dm betegek az első indukciós kezelés után nagyobb komplett remissziós arányt mutattak, mint a vad típusú személyek (87,5% vs. 61,0%) [19]. Ezen kedvező tendenciák akkor sem változtak, amikor a túlélési görbéket allogén csontvelő-transzplantációban részesült betegek körében is meghatározták [19]. A biállélikus *CEBPA*-mutációval rendelkező idősebb, legalább 60 éves betegek körében már szerényebb különbséget észleltek, de így is a komplett remisszió aránya magasabb (75%) volt, mint azokban a személyekben, akikben vad típusú *CEBPA* gént azonosítottak (59%) [20]. A teljes túlélést jelentősen befolyásolta a kettős *CEBPA*-mutáció jelenléte a mutációt nem mutatókkal szemben (471 nap vs. 278 nap), de a 3 éves túlélésben jelentős különbség már nem volt mérhető a biállélikus *CEBPA*-mutációt mutató betegek javára (18% vs. 17%) [20]. A *CEBPA*-dm betegek külön is összehasonlításra kerültek a *NPM1*-mutációt és vad típusú *FLT3*-t mutató (*FLT3*^{WT}) személyekkel, valamint egy harmadik, egyéb betegcsoporttal („other genotypes”), amibe az összes többi beteget sorolták. Bár a relapszus gyakorisága az első év végén a *NPM1*-mutációt hordozó csoportban volt a legkisebb (*NPM1*^{MUT}-*FLT3*^{WT} vs. *CEBPA*-dm vs. „other genotypes”: 44%, 56% és 62%), ez a különbség három év után már 66%, 67% és 78% volt. A *CEBPA*-dm és *NPM1*^{MUT}-*FLT3*^{WT} csoportokban a betegség hasonló lefolyást mutatott, ezért ezt a két csoportot összevonták és mint egy „kedvező rizikójú” csoportot kezelték tovább. Összehasonlítva az egyéb csoporttal, a két csoport teljes túlélése (OS) jelentős különbséget mutatott: a hároméves OS: 27% vs. 12% volt. Összességében az AML prognosztikai faktorok genetikai eltéréseinek együttes kombinációja (*CEBPA*-dm, *NPM1* mutáció és *FLT3*^{WT}) kedvezőbb

prognózist biztosított, mint az egyéb genotípusok kombinációja (57% vs. 33% az 1 éves túlélés esélye) [20].

A fiatalabb, 60 év alatti korcsoportot vizsgálva határozottabb volt a *CEBPA*-dm kedvező prognosztikai hatása, mivel a tízéves OS 81%, a 10 éves relapszusmentes túlélés (RFS) 66% volt [21]. Még fiatalabb felnőtt AML-es személyek körében (átlagéletkor a diagnóziskor 43 év) végzett tanulmány is megállapította, hogy a *CEBPA*-dm-betegeknek jobb (54%) a nyolcéves túlélése, mint a vad típusú, vagy az egy *CEBPA*-mutációt mutató betegeké (34% és 31%) [22]. Gyermekkorban a normál kariotípusú AML-es betegekben is hasonló volt a *CEBPA*-mutációk gyakorisága (12%), és a legjobb kimenetelt a *NPM1*^{MUT}/*FLT3*^{WT} negatív személyek mutatták [23]. A monoallélikus *CEBPA* pozitív személyek érdekes módon sokkal heterogénebb génextpressziós profilt mutattak és gyakrabban kialakult *FLT3*^{ITD} mutáció társulást mutattak, mint a vad típusú, vagy akár a *CEBPA*-dm egyének [24].

Kiemelendő, hogy az *FLT3*^{ITD} mutáció jelenléte akár a *CEBPA*-, akár a *NPM1*-mutációk kedvező prognózist lerontja [25]. A biállélikus *CEBPA*-mutációt hordozó egyének mintegy 20%-ában a sporadikus *GATA2* gént érintő mutáció kedvezőbb prognózist eredményez, ugyanakkor az *FLT3*-mutációval együtt ritkán fordulnak elő [26]. Mások szerint a *GATA2* gén státusz nem befolyásolta érdemben a *CEBPA*-dm és *FLT3*^{WT} betegek kedvezőbb életkilátásait [27].

Az allogén őssejt-transzplantáció megítélésekor a hagyományos rizikófaktorok (életkor, társbetegségek, obezitás stb.) mellett számos más tényezőt, pl. kezdeti nagy fehérvérsejtszám, az *FLT3*^{ITD}, *NPM1*, *CEBPA* gének mutációs státusza, perzisztáló reziduális leukémia, komplex kariotípus stb., is figyelembe kell venni, amik befolyásolják a betegség lefolyását, és az első remisszió utáni kezelési stratégia megválasztását (kemoterápia vagy allogén őssejt-transzplantáció). Egy közelmúltban publikált vizsgálat szerint azoknak a betegeknek, akik *FLT3*^{ITD}-pozitívak voltak, az allogén őssejt-transzplantáció jelentősen javította az életkilátásait (52 vs. 32 hónap a 10 éves követés alatt) [28]. A *CEBPA* gén státusz vonatkozásában a monoallélikus *CEBPA* vagy *CEBPA*^{WT} személyekben szintén az allogén csontvelő-transzplantációnak volt kedvezőbb hatása, míg a *CEBPA*-dm betegeknek a kemoterápia tűnt a választandó beavatkozásnak [28]. Egyelőre kevés információ áll rendelkezésre a *CEBPA*-mutáció és a csontvelő-transzplantáció alkalmazhatóságának további összefüggéseiről.

A *CEBPA*-génmutáció státusza meghatározza a különböző csontvelői sejtek immunfenotípus mintázatát is egy korábbi áramlási citometriai vizsgálat szerint [19]. A *CEBPA*-dm betegek csontvelői mintáiból „szortolt” myeloblastok magasabb CD34-, CD7-, és CD15-pozitivitást mutattak szemben az egy *CEBPA*-mutációra pozitív vagy a vad típusú személyek mintáival. *CEBPA*-dm jelenlétében a neutrophil granulocyták oldalra szórt fénytulajdonosságai (SSC) csökkentek voltak, míg az erythroidok CD117- és a monocyták CD64-pozitivitása emelkedettebb

volt, mint a másik két genetikai csoportban. Mindezen sejtfelszíni tulajdonságok tehát szoros összefüggésben állhatnak a betegségre jellemző genetikai eltérésekkel AML-ben [19].

Familiáris AML kialakulása „germline” *CEBPA*-mutációkkal

Bár az AML döntően sporadikus megjelenésű, megfigyelhető a familiáris formája is, melynek hátterében a *CEBPA*-mutáció autoszomális domináns módon öröklődő mutációi állnak. A kórkép fiatalokban, jellemzően 2–49 év között jelentkezik előzetes hematológiai megbetegedés, dysplasiás vagy pancytopeniás epizód nélkül. A „germline” *CEBPA*-mutációk közel 100%-os penetranciával okoznak *de novo* AML-t, ami kedvezőbb kórlefelvételt mutat. Nehéz megállapítani a valós prevalenciáját, ami feltehetően alábecsült a betegség változatos kialakulása és a családi anamnézisek hiánya miatt. A sporadikusnak tűnő *CEBPA*-mutációk kb. 10%-a utólagos vizsgálatok alapján valójában örökletesek [7]. A közelmúltban igazolták, hogy a familiáris AML progresszió egyes eseteiben nem ugyanazt a csírasejtes *CEBPA*-mutációt hordozó klón jelenik meg újra, hanem egy új, másik független klón válik detektálhatóvá. Így a visszatérő betegség igazából nem relapszus, hanem egy második *de novo* AML [17]. Tíz *CEBPA*-mutációra pozitív család WES alapú részletes kivizsgálása során kapott eredmények alapján a sporadikus monoallélikus *CEBPA*-mutációt hordozó AML több mutációt mutatott, mint a familiáris vagy sporadikus *CEBPA*-dm AML [17]. A *GATA2*- és a *WT1*-mutációk voltak a familiáris AML-ben látott leggyakoribb eltérések. Ezen túlmenően a monoallélikus *CEBPA*-mutáció jelenlétében a familiáris AML betegek kedvezőbb túlélési kilátásokat mutattak, mint a sporadikus esetek, míg a familiáris és sporadikus *CEBPA*-dm betegekben nem volt jelentős különbség. A relapszus bár sporadikus AML-ben hamarabb jelentkezett, szignifikánsan nem tért el a familiáris AML-től [17].

A familiáris MDS/AML kialakulásának hátterében számos autoszomális domináns módon öröklődő mutációk állnak, melyek alapján négy szindrómát különítünk meg: 1) a *CEBPA*-pozitív familiáris MDS/AML-t, 2) a *GATA2*-pozitív familiáris MDS/AML-t, 3) a familiáris vérlemezké-funkciózavar kapcsán kialakuló MDS/AML-t *RUNX1*-pozitivitással, és 4) a csontvelő-kimerüléssel járó kórképek *TERT* és *TERC* génmutációval, illetve egyéb gének, mint a *ANKRD26*, *ETV6*, *DDX41*, *SRP72* stb.) eltéréseivel [29, 30]. A fentiek tükrében bizonyos életkor alatt (pl. 40 év) érdemes lenne a *CEBPA*-mutáció csírvonalbeli eredetét tesztelni, mivel ezen öröklődő mutációkat hordozó esetek nagy részét hazánkban még nem ismerjük, a genetikai eltérések időbeni felismerése pedig biztosíthatja a vizsgált személy megfelelő nyomon követését, a csontvelő-transzplantáció egyéni elbírálását és a tünetmentes vérrokonok kiszűrését [29, 30]. Amennyiben a

CEBPA-mutáció örökletesnek bizonyul, a beteg testvére nem lehet donor.

Összefoglalás

A fentiekben bemutatott leggyakoribb és ebből következőleg napjainkban a legszélesebb körben vizsgált AML-es genetikai eltérések, köztük a *CEBPA* gén mutációinak analízise az elmúlt években hazánkban is a mindennapi rutindiagnosztika részévé vált, ami lehetővé teszi az AML-es betegek megfelelőbb egyéni állapotfelmérését, az MRD követését, a sporadikus és familiáris AML-es esetek elkülönítését, és az intenzív kemoterápia, valamint az őssejt-transzplantáció megítélését. Az NGS metodika és a mutációs génpanelek fokozatos elterjedésével egyre több genetikai eltérést lehet egyidejűleg megvizsgálni, segítve az adott malignus betegség hátterében álló bonyolult celluláris folyamatok, illetve a mutációk szerepének jobb megismerését. Ezért kell a széles körű vizsgálati profil fokozatosan elérhetővé tenni minden nagy klinikai központban a korszerű laboratóriumi diagnosztika és a megfelelő terápiás beavatkozások biztosítása érdekében.

Nyilatkozat: A cikk nem jelent meg más folyóiratban és nem áll publikáció alatt. A szerzők a szerzői útmutatót elolvasták.

Anyagi támogatás: Ifj. Dr. Nagy Bélát a Szodoray Lajos Ösztöndíj (Debreceni Egyetem, ÁOK) támogatta. Dr. Gárgó Ambrust az Új Nemzeti Kiválóság Program támogatta (ÚNKP-18-3-I-SE-48.).

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Szerzői munkamegosztás: Valamennyi szerző részt vett a közlemény megírásában, valamint az előzetes irodalmi adatok feldolgozásában.

Irodalom

- [1] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia, *Blood* 2016; 127: 2391–2405.
- [2] Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017; 129: 424–447.
- [3] Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, et al. National Cancer Research Institute Adult Leukaemia Working Group. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 2010; 116: 354–365.
- [4] Rajnai H, Király AP. Pathogenesis and genetic landscape of acute myeloid leukemia. [Az akut mieloid leukémia genetikai és patológiai sajátosságai.] *Magy Onkol.* 2017; 61: 21–28. [Hungarian]
- [5] Avellino R, Delwel R. Expression and regulation of *C/EBPα* in normal myelopoiesis and in malignant transformation. *Blood* 2017; 129: 2083–2091.

- [6] Kato N, Kitaura J, Doki N, et al. Two types of *C/EBPα* mutations play distinct but collaborative roles in leukemogenesis: lessons from clinical data and BMT models. *Blood* 2011; 117: 221–233.
- [7] Pabst T, Eyholzer M, Haefliger S, et al. Somatic *CEBPA* mutations are a frequent second event in families with germline *CEBPA* mutations and familial acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2008; 26: 5088–5093.
- [8] Pabst T, Mueller BU. Complexity of *CEBPA* dysregulation in human acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009; 15: 5303–5307.
- [9] Burnett AK, Hills RK, Green C, et al. The impact on outcome of the addition of all-trans retinoic acid to intensive chemotherapy in younger patients with nonacute promyelocytic acute myeloid leukemia: overall results and results in genotypic subgroups defined by mutations in *NPM1*, *FLT3*, and *CEBPA*. *Blood* 2010; 115: 948–956.
- [10] Konstandin NP, Pastore F, Herold T, et al. Genetic heterogeneity of cytogenetically normal AML with mutations of *CEBPA*. *Blood Adv*. 2018; 2: 2724–2731.
- [11] Leecharendkeat A, Tocharoentanaphol C, Auewarakul CU. CCAAT/enhancer binding protein- α polymorphisms occur more frequently than mutations in acute myeloid leukemia and exist across all cytogenetic risk groups and leukemia subtypes. *Int J Cancer* 2008; 123: 2321–2326.
- [12] Sarojam S, Raveendran S, Vijay S, et al. Characterization of *CEBPA* Mutations and Polymorphisms and their Prognostic Relevance in De Novo Acute Myeloid Leukemia Patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015; 16: 3785–3792.
- [13] Fuster O, Barragán E, Bolufer P, et al. Fragment length analysis screening for detection of *CEBPA* mutations in intermediate-risk karyotype acute myeloid leukemia. *Ann Hematol*. 2012; 91: 1–7.
- [14] Grossmann V, Schnitger S, Schindela S, et al. Strategy for robust detection of insertions, deletions, and point mutations in *CEBPA*, a GC-rich content gene, using 454 next-generation deep-sequencing technology. *J Mol Diagn*. 2011; 13: 129–136.
- [15] Nardi V, Hasserjian RP. Genetic Testing in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *Surg Pathol Clin*. 2016; 9: 143–163.
- [16] Thakral G, Vierkoetter K, Namiki S, et al. AML multi-gene panel testing: A review and comparison of two gene panels. *Pathol Res Pract*. 2016; 212: 372–380.
- [17] Tawana K, Wang J, Renneville A, et al. Disease evolution and outcomes in familial AML with germline *CEBPA* mutations. *Blood* 2015; 126: 1214–1223.
- [18] Fey MF, Buske C. ESMO Guidelines Working Group. Acute myeloblastic leukaemias in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2013; 24 Suppl 6: vi138–143.
- [19] Mannelli F, Ponziani V, Bencini S, et al. *CEBPA*–double-mutated acute myeloid leukemia displays a unique phenotypic profile: a reliable screening method and insight into biological features. *Haematologica* 2017; 102: 529–540.
- [20] Dickson GJ, Bustraan S, Hills RK, et al. The value of molecular stratification for *CEBPA*(DM) and *NPM1*(MUT) *FLT3*(WT) genotypes in older patients with acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2016; 172: 573–580.
- [21] Pastore F, Kling D, Hoster E, et al. Long-term follow-up of cytogenetically normal *CEBPA*-mutated AML. *J Hematol Oncol*. 2014; 7: 55.
- [22] Green CL, Koo KK, Hills RK, et al. Prognostic significance of *CEBPA* mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: impact of double *CEBPA* mutations and the interaction with *FLT3* and *NPM1* mutations. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 2739–2747.
- [23] Rubio P, Campos B, Digiorge JA, et al. *NPM1*, *FLT3* and *CEBPA* mutations in pediatric patients with AML from Argentina: incidence and prognostic value. *Int Hematol*. 2016; 104: 582–590.
- [24] Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, et al. Acute myeloid leukemia with biallelic *CEBPA* gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 570–577.
- [25] Port M, Böttcher M, Thol F, et al. Prognostic significance of *FLT3* internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and *CEBPA* gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2014; 93: 1279–1286.
- [26] Fasan A, Eder C, Haferlach C, et al. *GATA2* mutations are frequent in intermediate-risk karyotype AML with biallelic *CEBPA* mutations and are associated with favorable prognosis. *Leukemia* 2013; 27: 482–485.
- [27] Green CL, Tawana K, Hills RK, et al. *GATA2* mutations in sporadic and familial acute myeloid leukaemia patients with *CEBPA* mutations. *Br J Haematol*. 2013; 161: 701–705.
- [28] Kurosawa S, Yamaguchi H, Yamaguchi T, et al. Decision Analysis of Postremission Therapy in Cytogenetically Intermediate-Risk Acute Myeloid Leukemia: The Impact of *FLT3* Internal Tandem Duplication, Nucleophosmin, and CCAAT/Enhancer Binding Protein Alpha. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016; 22: 1125–1132.
- [29] Király AP, Kállay K, Marosvári D, et al. Clinical and genetic background of familial myelodysplasia and acute myeloid leukemia. [Familiáris myelodysplasiás szindróma és akut myeloid leukaemia klinikai és genetikai háttere.] *Orv Hetil*. 2016; 157: 283–289. [Hungarian]
- [30] Király AP, Kállay K, Gángó A, et al. Familial Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplasia in Hungary. *Pathol Oncol Res*. 2018; 24: 83–88.

A cikk a Creative Commons Attribution 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) feltételei szerint publikált Open Access közlemény, melynek szellemében a cikk bármilyen médiumban szabadon felhasználható, megosztható és újraközölhető, feltéve, hogy az eredeti szerző és a közlés helye, illetve a CC License linkje és az esetlegesen végrehajtott módosítások feltüntetésre kerülnek. (SID_1)