

# **Die Bedeutung genetischer Veränderungen für die Prognose und Therapie der akuten myeloischen Leukämie (AML) des Erwachsenen**

**Konstanze Döhner**

**Klinik für Innere Medizin III,  
Universität Ulm**

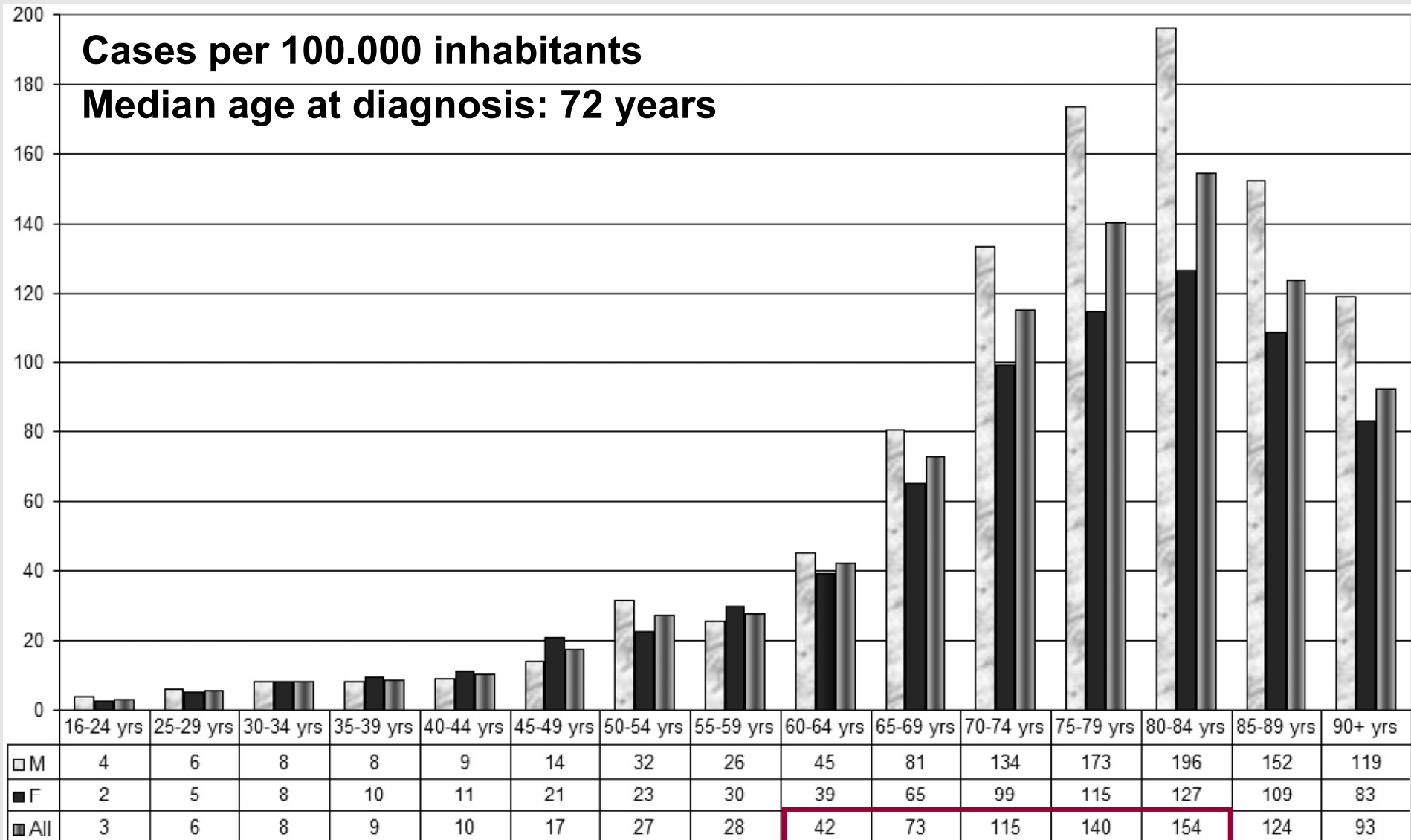
**Deutsch-Österreichische AML Studiengruppe  
AMLSG**



# Die Bedeutung genetischer Veränderungen für die Prognose und Therapie der AML

- **Diagnose**
- **2008 WHO Klassifikation**
- **Prognosefaktoren**
  - *genetische Veränderungen*
- **Neue Behandlungsstrategien**

# Inzidenz der AML in Schweden (1997-2005) in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht



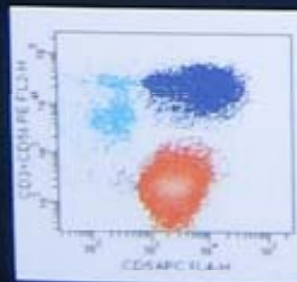
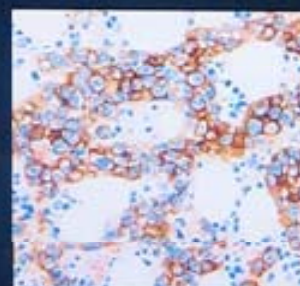
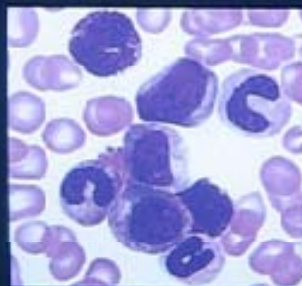
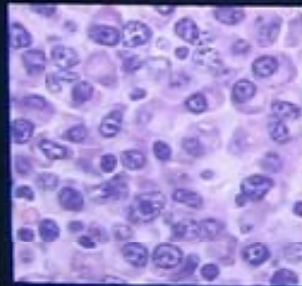
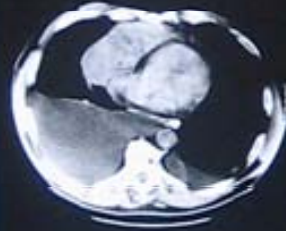
Juliusson G et al. *Blood*. 2009;113(18):4179-4187.

# Diagnose der AML

- **Anamnese:**  
u.a. Dauer der Blutbildveränderungen, Exposition gegenüber tox. Substanzen; vorangegangene Tumorerkrankungen; Komorbiditäten, Familienanamnese
- **Klinische Untersuchung:**  
u.a. Zeichen der häm. Diathese, Haut-, Gingiva-Infiltration, ZNS
- **Morphologie:**  
Blutausstrich, KM-Zytologie, KM-Biopsie (i.d.R. nur bei *Punctio sicca*)
- **Durchflusszytometrie (altern. Zytochemie)**
- **Zytogenetik (aus Knochenmark)**
- **Molekulargenetik (*NPM1, FLT3, CEBPA*)**

# WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues

Edited by Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe,  
Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jurgen Thiele, James W. Vardiman.



# WHO 2008 Klassifikation der AML und anderer myeloischer Neoplasien

- **AML with recurrent genetic abnormalities**
- **AML with myelodysplasia-related changes**
- **Therapy-related myeloid neoplasms**
- **AML not otherwise specified**
- **Myeloid sarcoma**
- **Myeloid proliferations related to Down syndrome (DS)**
- **Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms**

# WHO 2008

## AML mit rekurrenten genetischen Veränderungen

- AML with t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1*
- AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
- Acute promyelocytic leukemia with t(15;17)(q22;q12); *PML-RARA*
- 
- AML with t(9;11)(p22;q23); *MLLT3-MLL* [and t(v;11q23)]
- 
- AML with t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214*
- AML with inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVI1*
- AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13;q13); *RBM15-MKL1*
- \*AML with mutated *NPM1* (AML with cytoplasmic NPM1, NPMc+)
- \*AML with mutated *CEBPA*

\*Provisional entities

# Risikofaktoren

- **Alter**
- **Genetische Veränderungen**  
**Karyotyp, molekulare Marker**
- **Therapie-induzierte / sekundäre  
AML**

# Zytogenetische Risikogruppen

- **Niedrig-Risiko**

t(8;21), inv(16), t(15;17)

- **Intermediär-Risiko**

normaler Karyotyp

Aberrationen die nicht als Niedrig- oder Hoch-Risiko klassifiziert sind

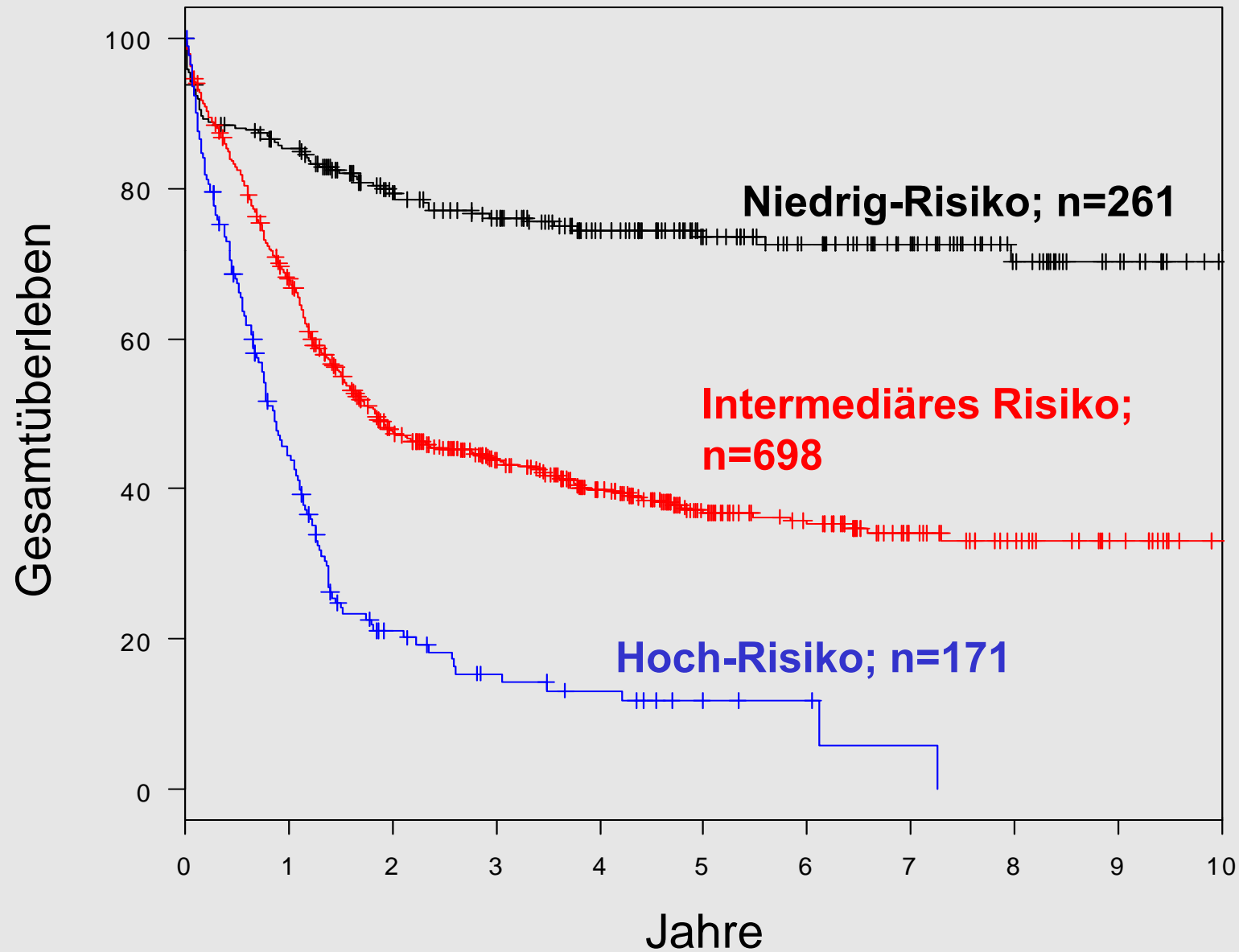
- **Hoch-Risiko**

inv(3)/t(3;3), t(6;9), t(v;11q23)

-5/5q-, -7, abn(17p), komplexer Karyotyp

# Überleben in Abhängigkeit der zytogenetischen Risikogruppe

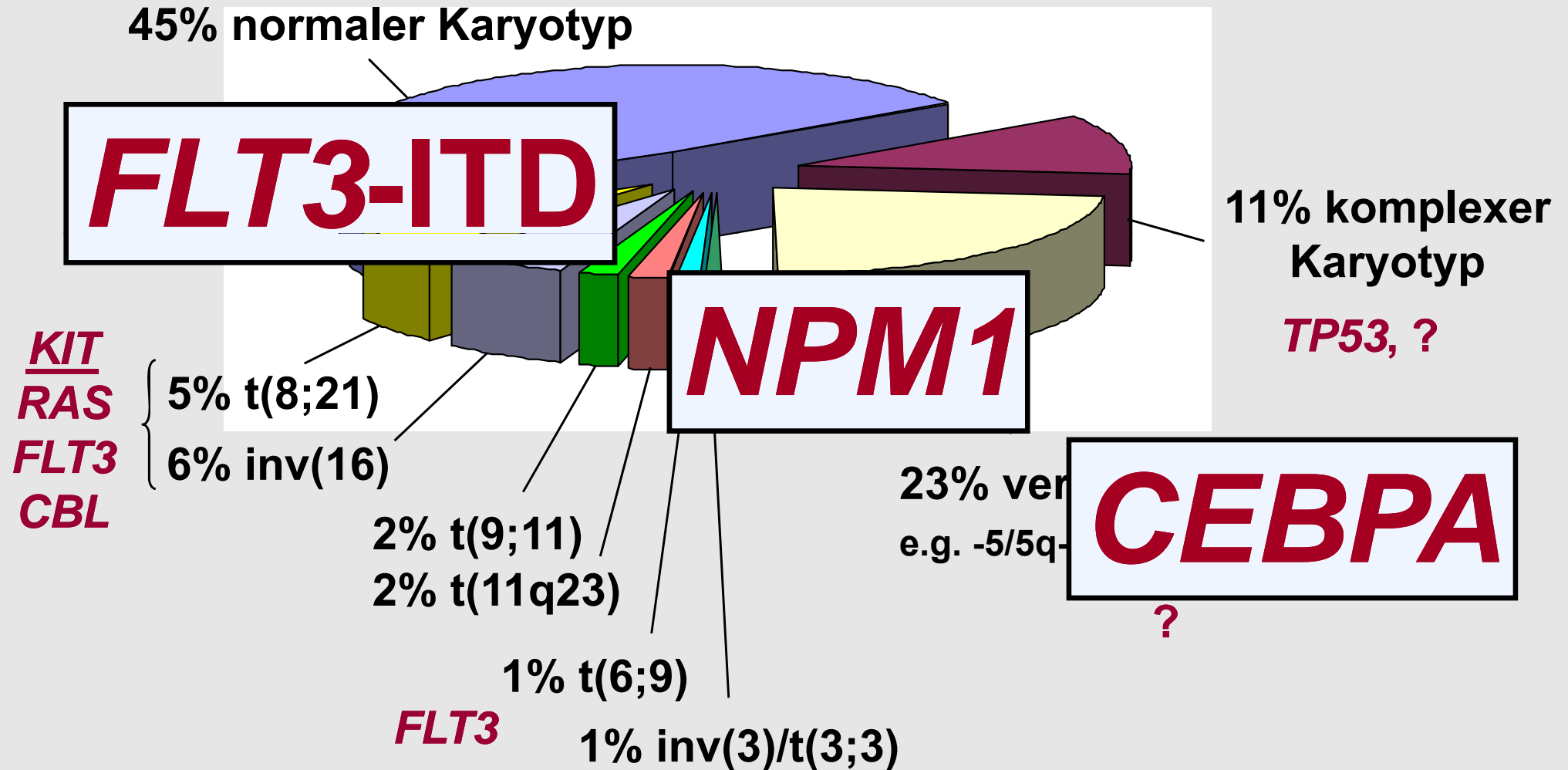
*AMLSG Therapiestudien (16-60 Jahre, n=1130)*



# Genetische Heterogenität der AML\*

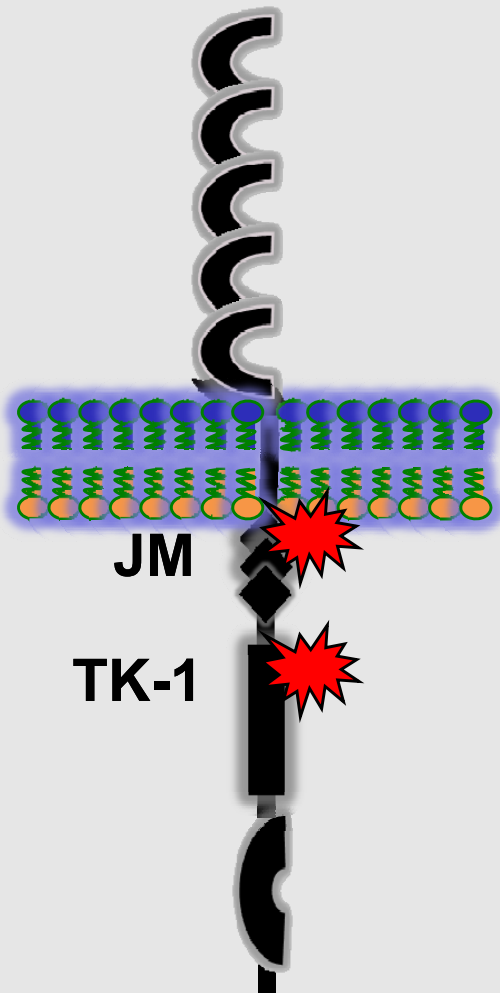
NPM1, CEBPA, FLT3, RUNX1,  
MLL, RAS, WT1, TET2, IDH1

45% normaler Karyotyp



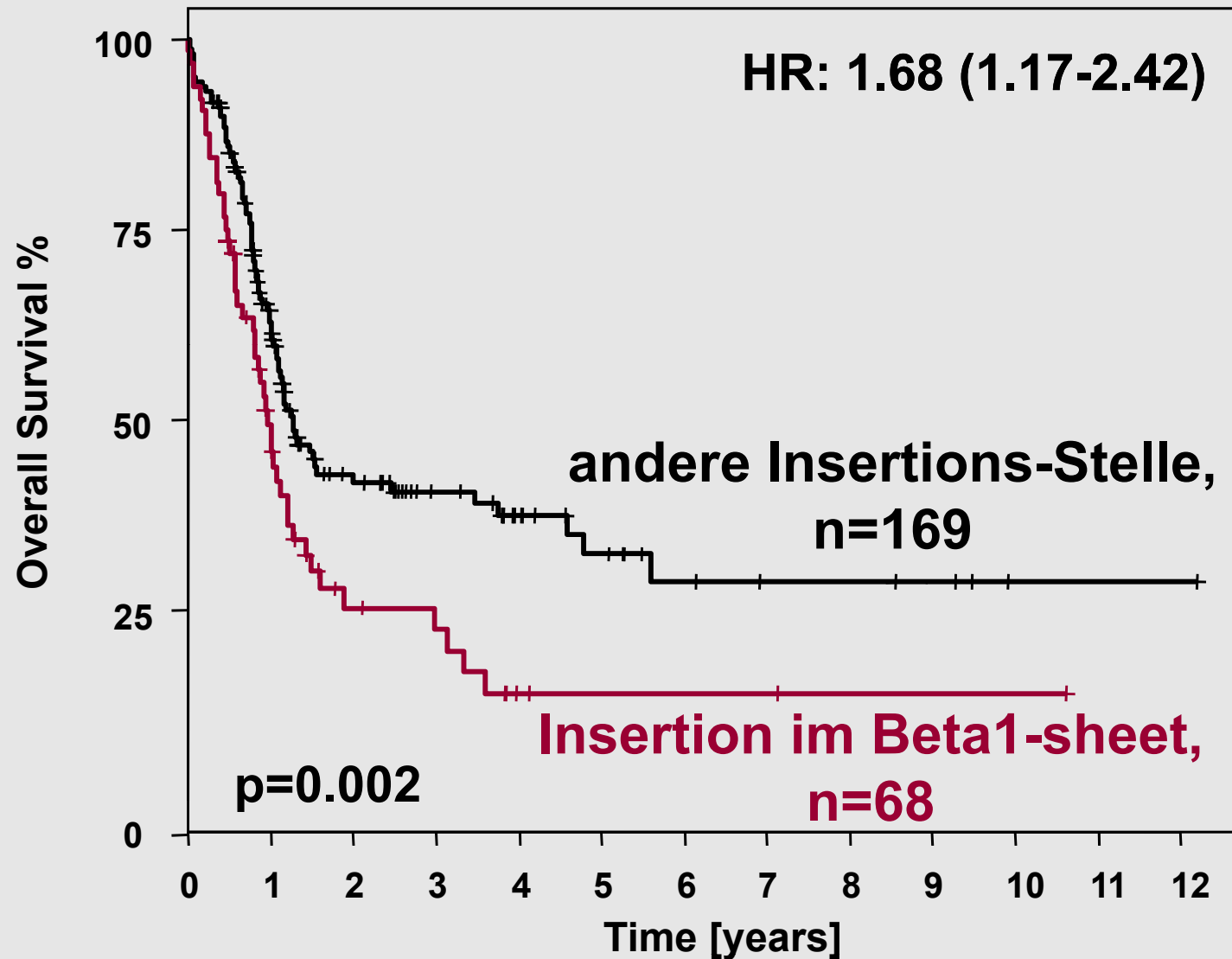
\*excl. APL

# FLT3 Internal Tandem Duplications (ITD)



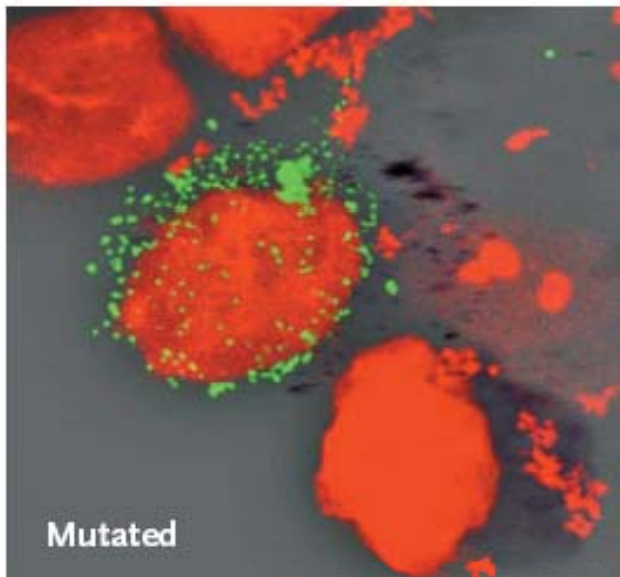
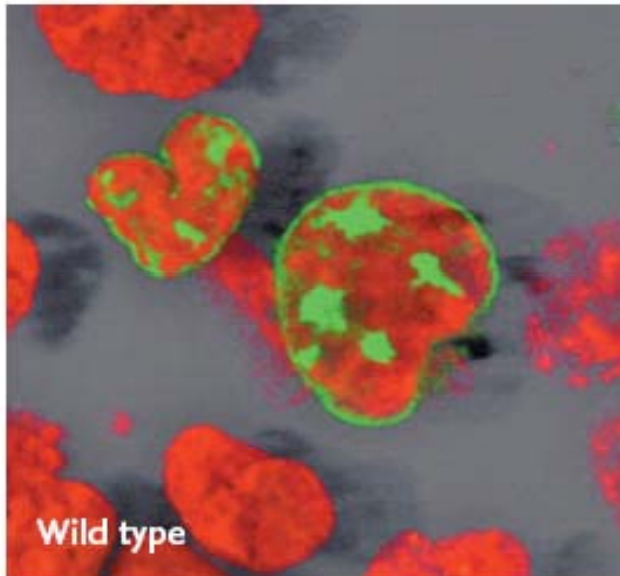
- In ~ 25% der erwachsenen AML
- Höchste Inzidenz in AML mit
  - normalem Karyotyp, ***NPM1* Mutationen (40%)**
  - t(15;17)(q21;q12); *PML-RARA* (40-45%)
  - t(6;9)(p23;q34); *DEK-NUP214* (75%)
- Klinisch assoziiert mit ungünstiger Prognose:
  - Mutante/Wildtyp ratio (mut/wt) prognostisch relevant (Whitman SP, et al. *Cancer Res* 2001; Thiede C, et al. *Blood*. 2002; Kottaridis PD et al. *Blood*. 2002; Gale R et al. *Blood*. 2008)
- ITD Insertions-Stelle (JM vs. TK-1 Domäne) (Breitenbuecher F, et al. *Blood*. 2009; Kayser S, et al. *Blood*. 2009)

# Prognostische Bedeutung der *FLT3*-ITD Insertion-Stelle



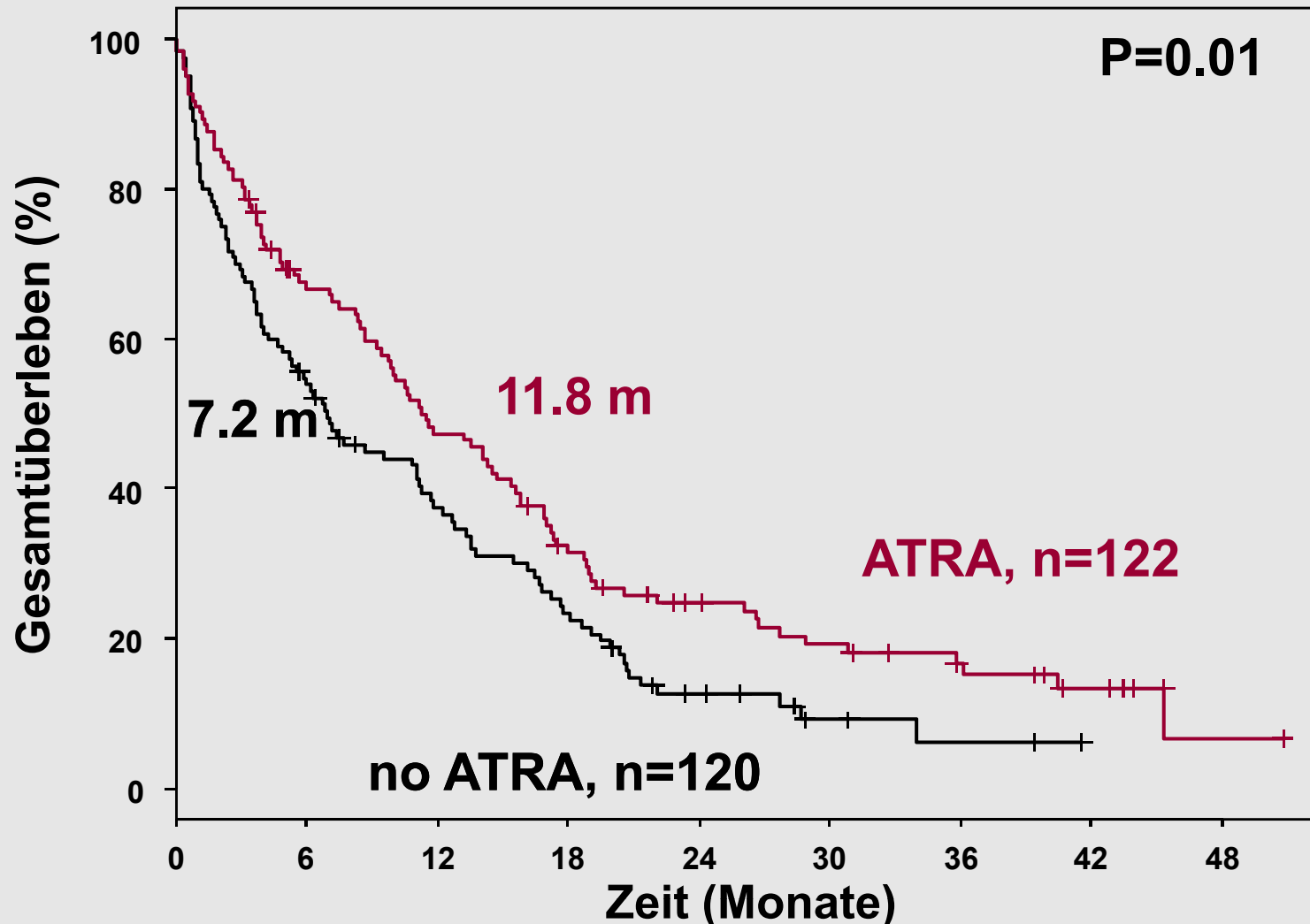
Kayser S, et al. *Blood*. 2009;114:2386-92  
Breitenbuecher F, et al. *Blood*. 2009;113:4063-73

# *NPM1* (Nucleophosmin) Mutation



- in ~ 25-35% der erwachsenen AML
- höchste Inzidenz in AML mit normalem Karyotyp (45-60%)
- Assoziation mit *FLT3*-ITD (40%), sog. *NPM1/FLT3*-ITD Genotypen
- Günstige Prognose, aber nur wenn wenn *FLT3*-ITD negativ!
- Mutationen → Transport des NPM1 Proteins ins Zytoplasma
- Typischer Immunophänotyp: hohe CD33 Expression, niedrige oder keine CD34 Expression
- Empirische Beobachtung: Wirksamkeit von „*all-trans Retinolsäure*“ (ATRA) als molekulare Therapie

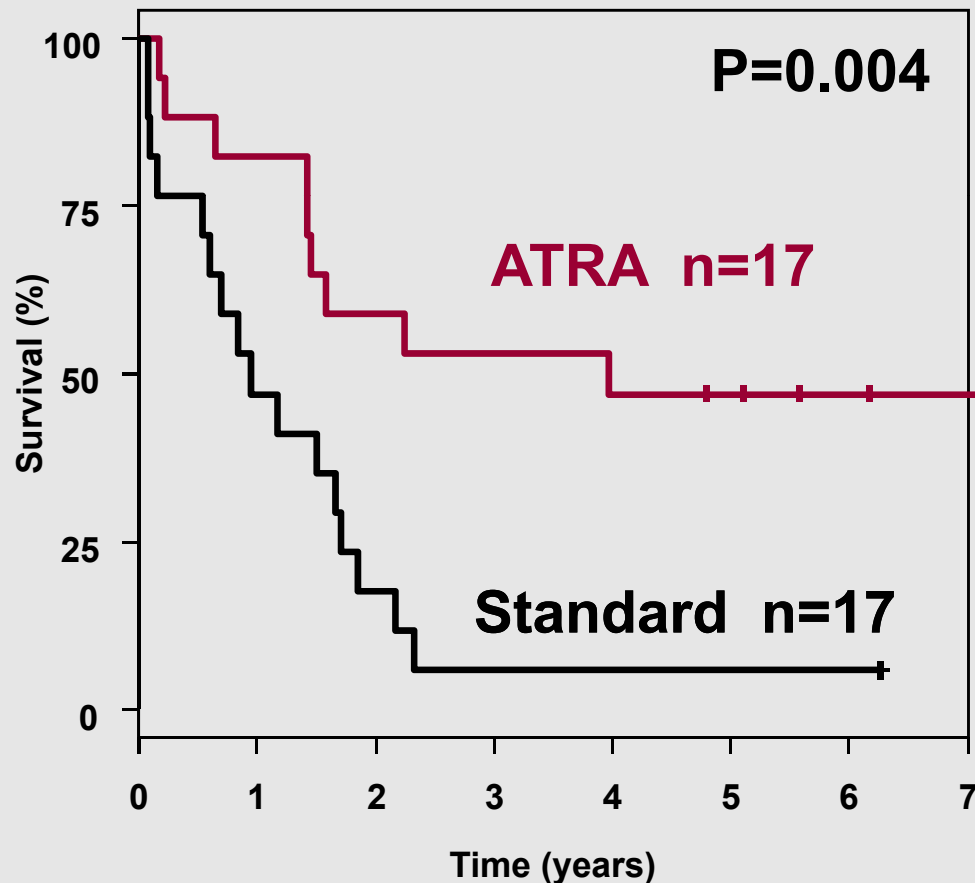
# Phase III Studie: Intensive Chemotherapie +/- ATRA als "first-line" Therapie bei AML Patienten >60 Jahre *AMLSG HD98B-Studie*



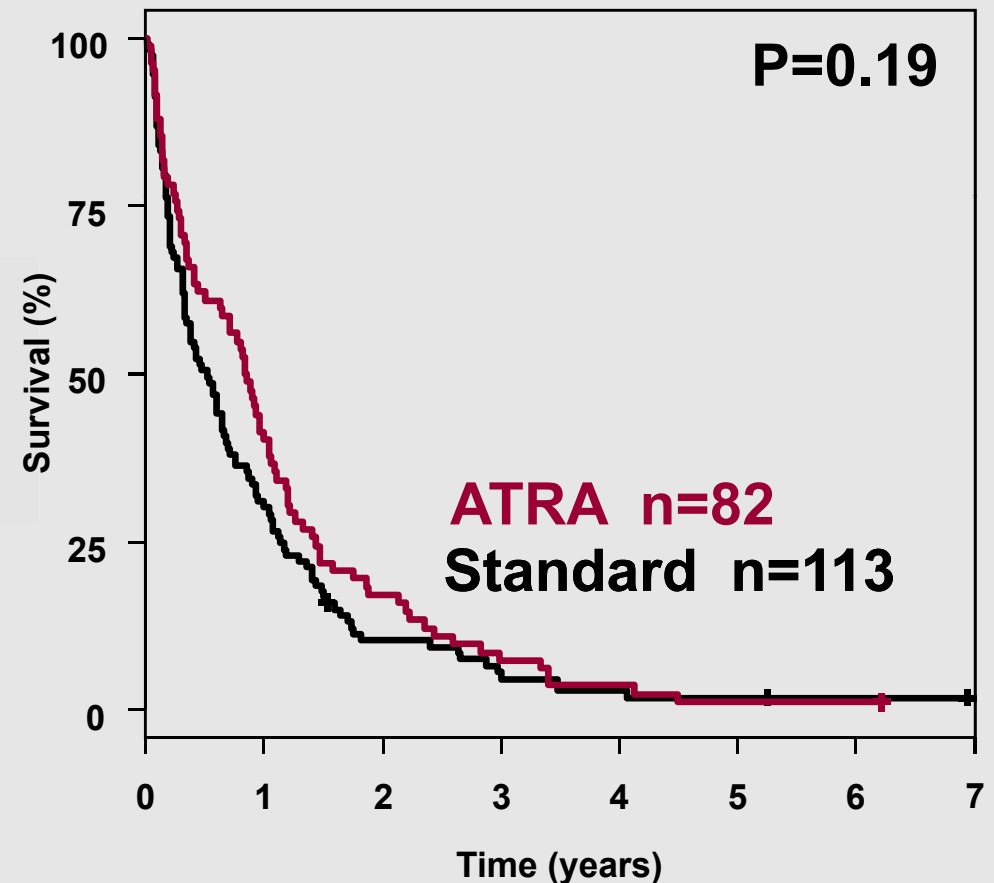
Schlenk RF et al. *Leukemia*. 2004;18:1798-1803.

# Günstiger Therapie-Effekt von ATRA bei der AML mit $NPM1^{mut}/FLT3-ITD^{neg}$ Genotyp

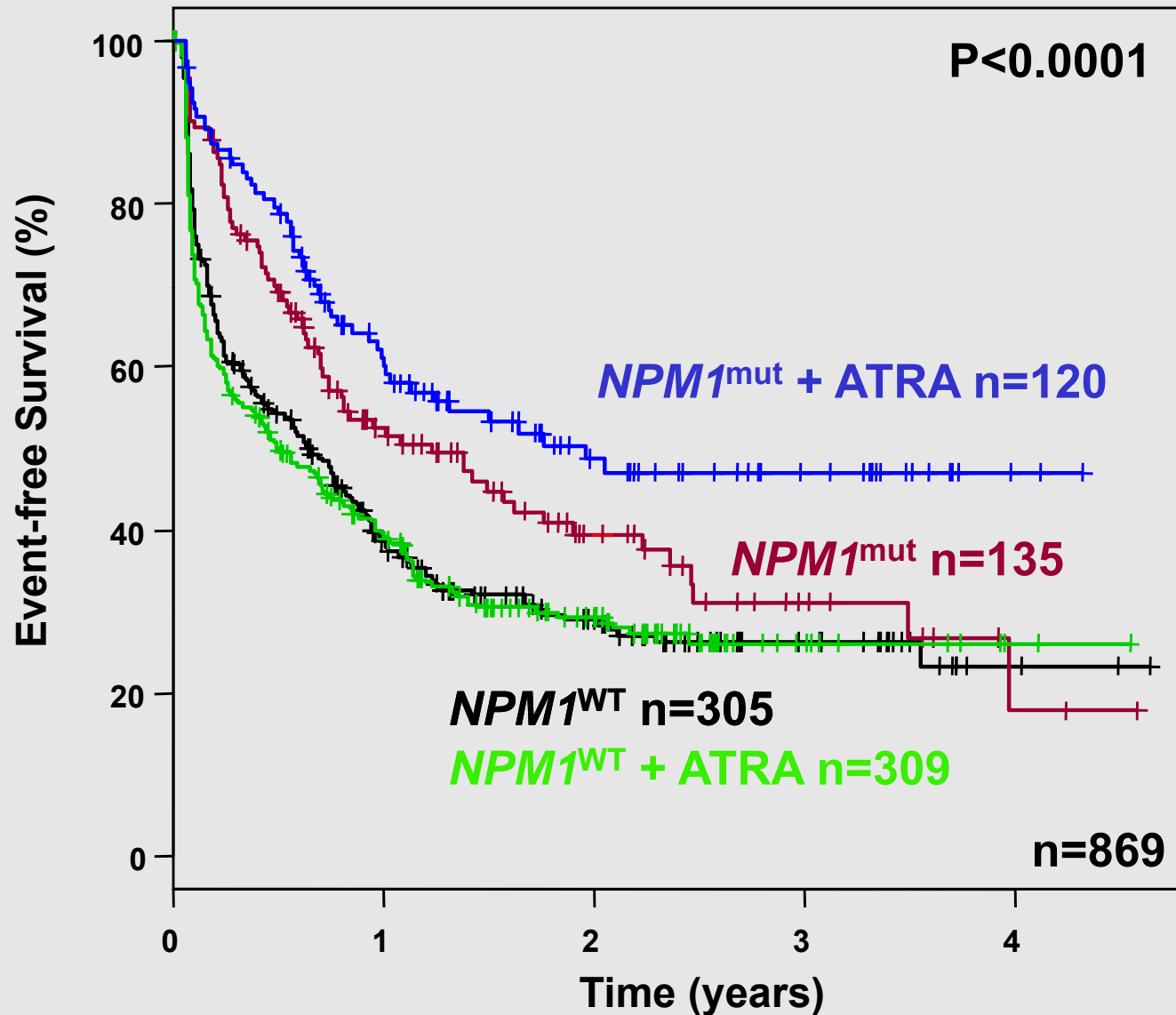
$NPM1^{mut}/FLT3-ITD^{neg}$



andere Genotypen

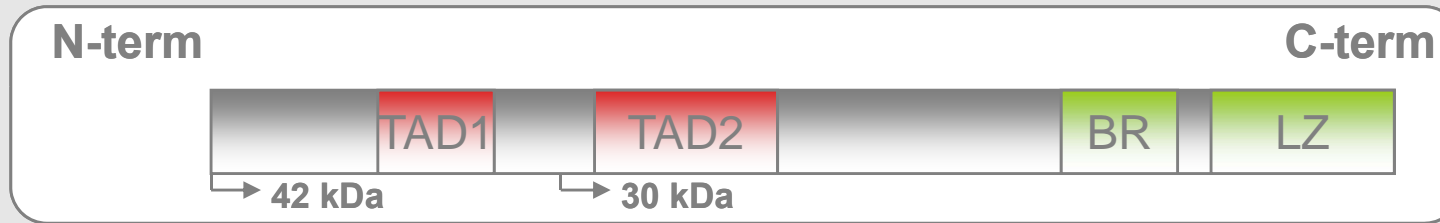


# ATRA Therapie-Effekt bei jüngeren AML Patienten mit *NPM1* Mutation (AMLSG 07-04)



Interim analysis 04-2009

# CEBPA Mutation



***N-terminale Mutation***

***C-terminale Mutation***

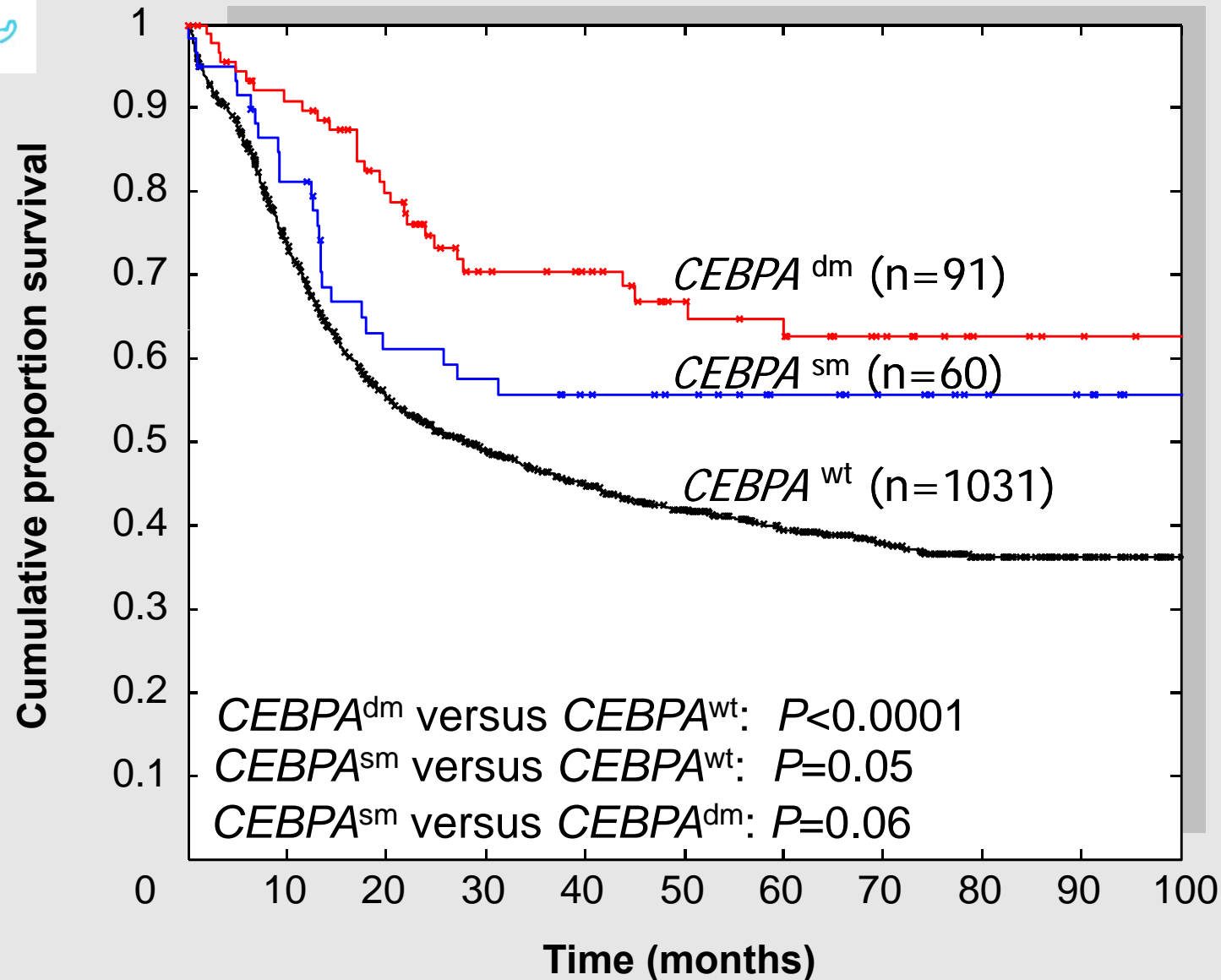
- in ~5% aller AML, überwiegend in AML mit normalem Karyotyp (10-15%) und in del(9q)-AML (~40%)
- Keimbahnmutationen in Fällen mit familiärer AML (Smith, NEJM 2004)
- günstige Prognose
- N-terminale und C-terminale Mutationen (sog. biallelische Mutationen), in ~2/3 der Fälle gleichzeitig vorkommend

# Prognostische Bedeutung biallelischer *CEBPA* Mutationen

## ***CEBPA* “single” versus “double” Mutationen: Biologische und klinische Unterschiede?**

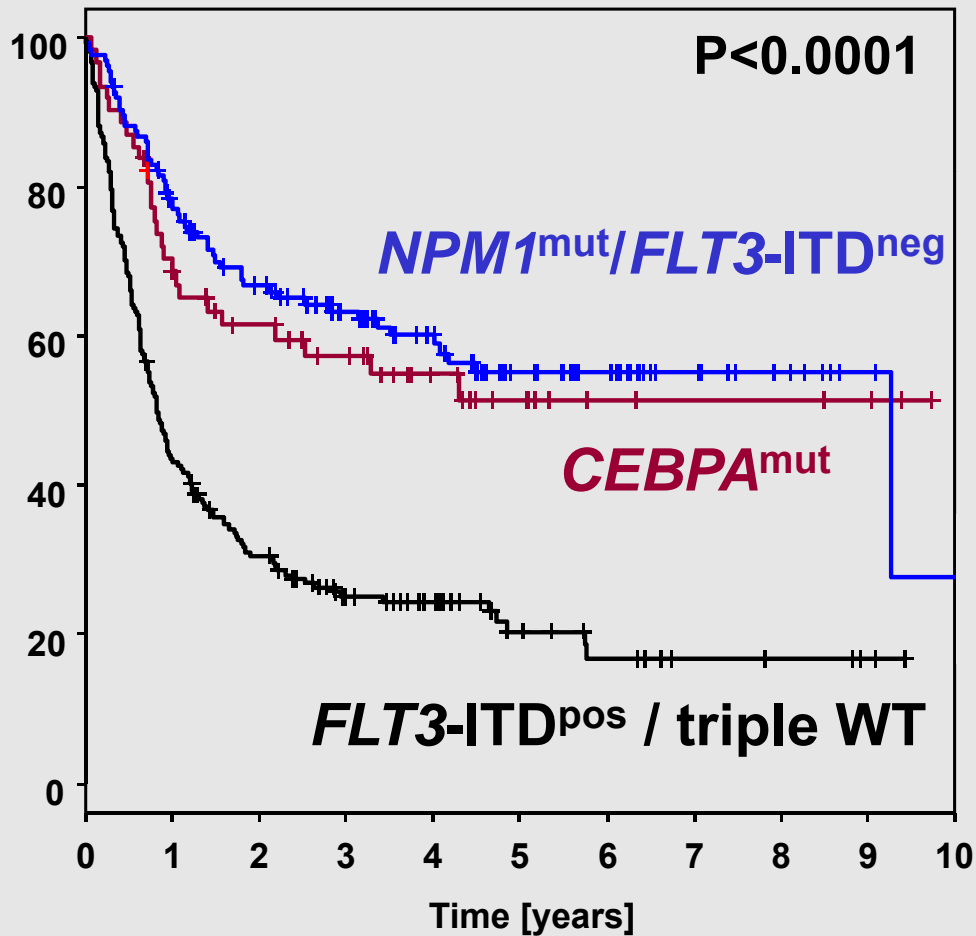
- **Analyse von 1182 jüngeren AML Patienten (16-60 yrs) mit normalem Karyotyp**
- **193 Patienten der HOVON SAKK Studie (Erasmus University), 989 Patienten der AMLSG Studien (Klinik für Innere Medizin III, ULM)**
- **Mutations-Status für *CEBPA*, *FLT3*<sup>ITD</sup>, *FLT3*<sup>TKD</sup>, *NPM1*, *NRAS***

# Prognostische Bedeutung biallelischer *CEBPA* Mutationen

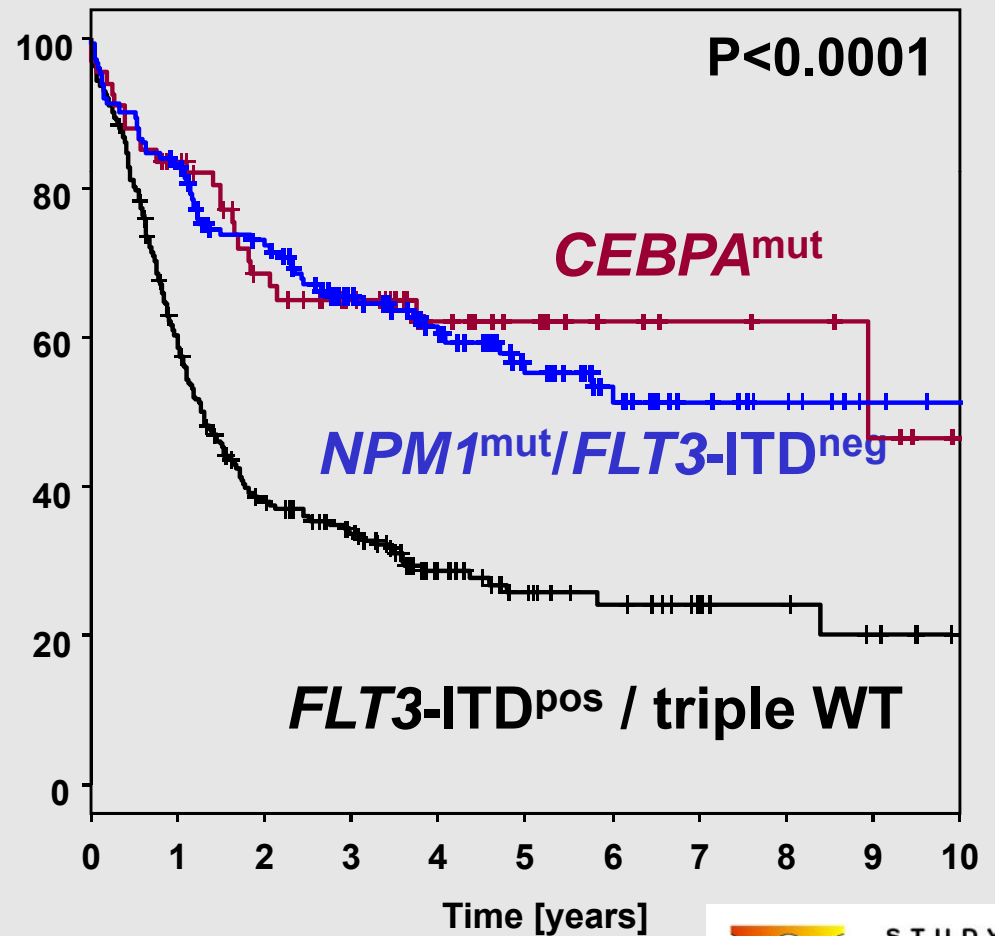


# Prognostische Bedeutung der *NPM1/FLT3-ITD/CEBPA* Genotypen bei der AML mit normalem Karyotyp

## Rezidiv-freies Überleben



## Gesamtüberleben



# Neue Risikoeinteilung der AML: European LeukemiaNet 2009

Genetic Group	Subsets
Favorable	<p>t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i></p> <p>inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i></p> <p><b>Mutated <i>NPM1</i> without <i>FLT3</i>-ITD (normal karyotype)</b></p> <p><b>Mutated <i>CEBPA</i> (normal karyotype)</b></p>
Intermediate-I	<p><b>Mutated <i>NPM1</i> and <i>FLT3</i>-ITD (normal karyotype)</b></p> <p><b>Wild type <i>NPM1</i> and <i>FLT3</i>-ITD (normal karyotype)</b></p> <p><b>Wild type <i>NPM1</i> without <i>FLT3</i>-ITD (normal karyotype)</b></p>
Intermediate-II	<p>t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i>; -Y, del(7q); +8;+11;+13; del(20q); +21, each occurring as sole abnormality or within a non-complex karyotype</p>
Adverse	<p>inv(3)(q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i></p> <p>t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i></p> <p>t(v;11q23); <i>MLL</i> rearranged</p> <p>-5 or del(5q); -7; abn(17p); complex karyotype (≥3)</p>

# Neue(re) Substanzen und “Molekular-zielgerichtete” Therapien

- **Tyrosinkinase-Inhibitoren (FLT3, KIT)**

z.B. PKC412, CEP-701, AC220, Sunitinib,  
Sorafenib, Dasatinib

- **Anti-CD33 Antikörper**

Gemtuzumab Ozogamicin

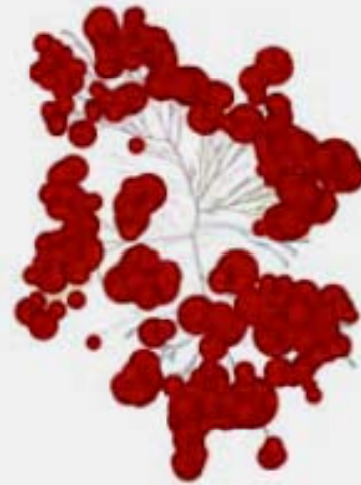
- **Demethylierende Substanzen**

Azacitidine, Decitabine

# Tyrosinkinase-Inhibitoren



AC220



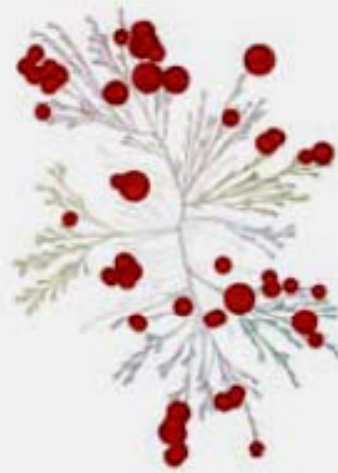
CEP-701



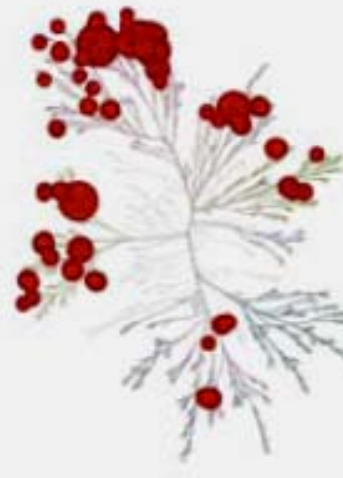
MLN-518



PKC-412



CGP-52421



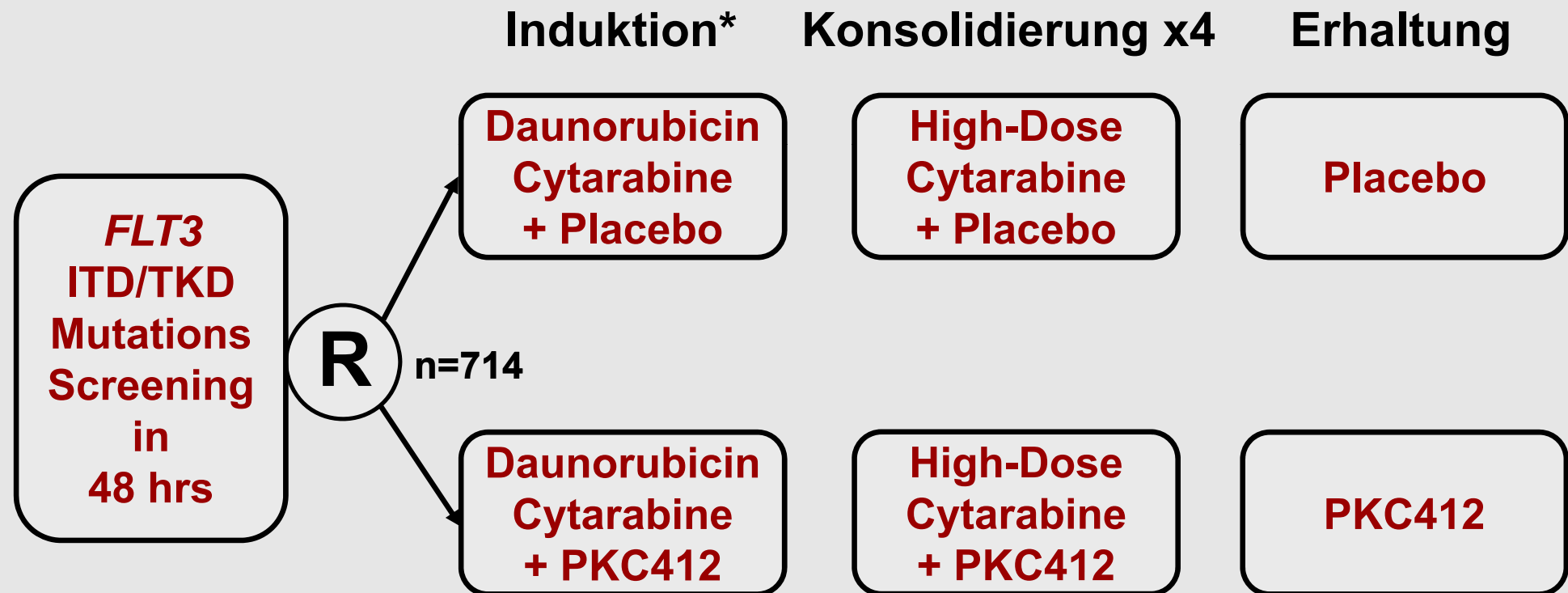
Sorafenib



Sunitinib

# Phase III Studie mit Chemotherapie + Midostaurin (PKC412) oder Placebo bei Patienten mit neu-diagnostizierter AML (< 60 Jahre) und *FLT3* Mutation

CALGB, **AMLSG**, CETLAM, ECOG, EORTC, GIMEMA, NCIC, OSHO, PETHEMA, SAL, SWOG

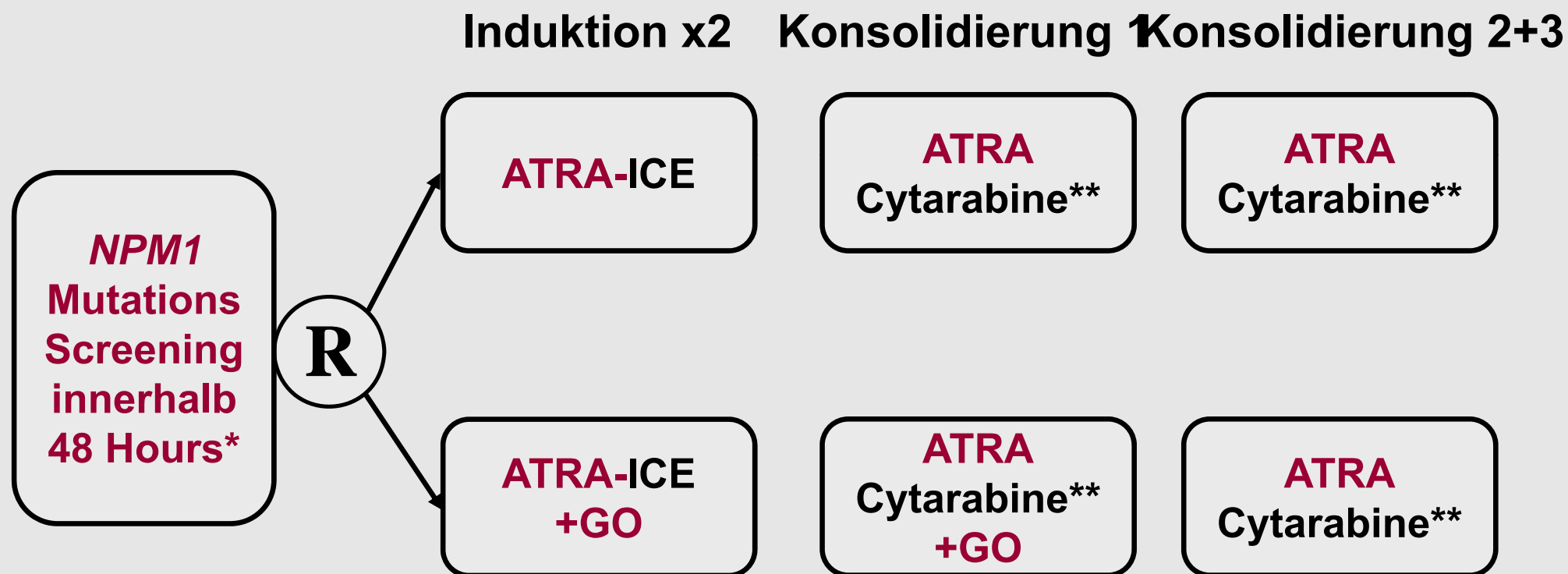


\*Hydroxyurea während der Screening Phase erlaubt

\*\*bei nicht Erreichen einer CR nach Induktion I kann eine 2. Induktion erfolgen

Allogene Transplantation bei Patienten mit einem HLA-kompatiblen Familienspender

# Phase III Studie: Chemotherapie in Kombination mit ATRA Mit oder ohne Gemtuzumab Ozogamicin (Mylotarg) Bei Patienten mit AML und *NPM1* Mutationen *AMLSG 09-09 (active)*



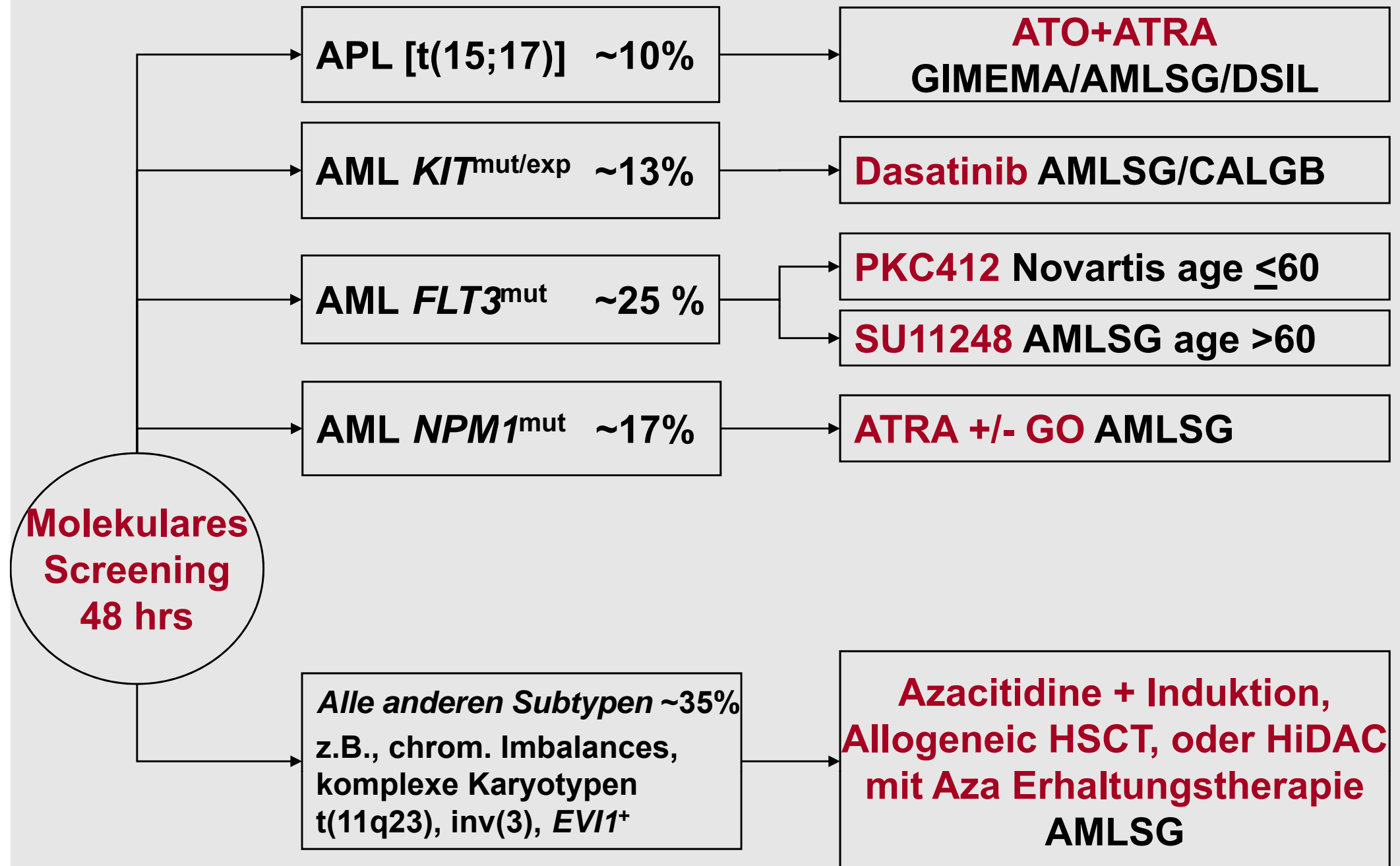
All adult patients eligible for intensive therapy, no upper age limit

\* Patients may receive hydroxyurea during screening phase

\*\* Cytarabine: 18-60yrs: 3g/m<sup>2</sup>, q12hr, d1-3; >60yrs: 1g/m<sup>2</sup>, q12hr, d1-3

PI: R.F. Schlenk

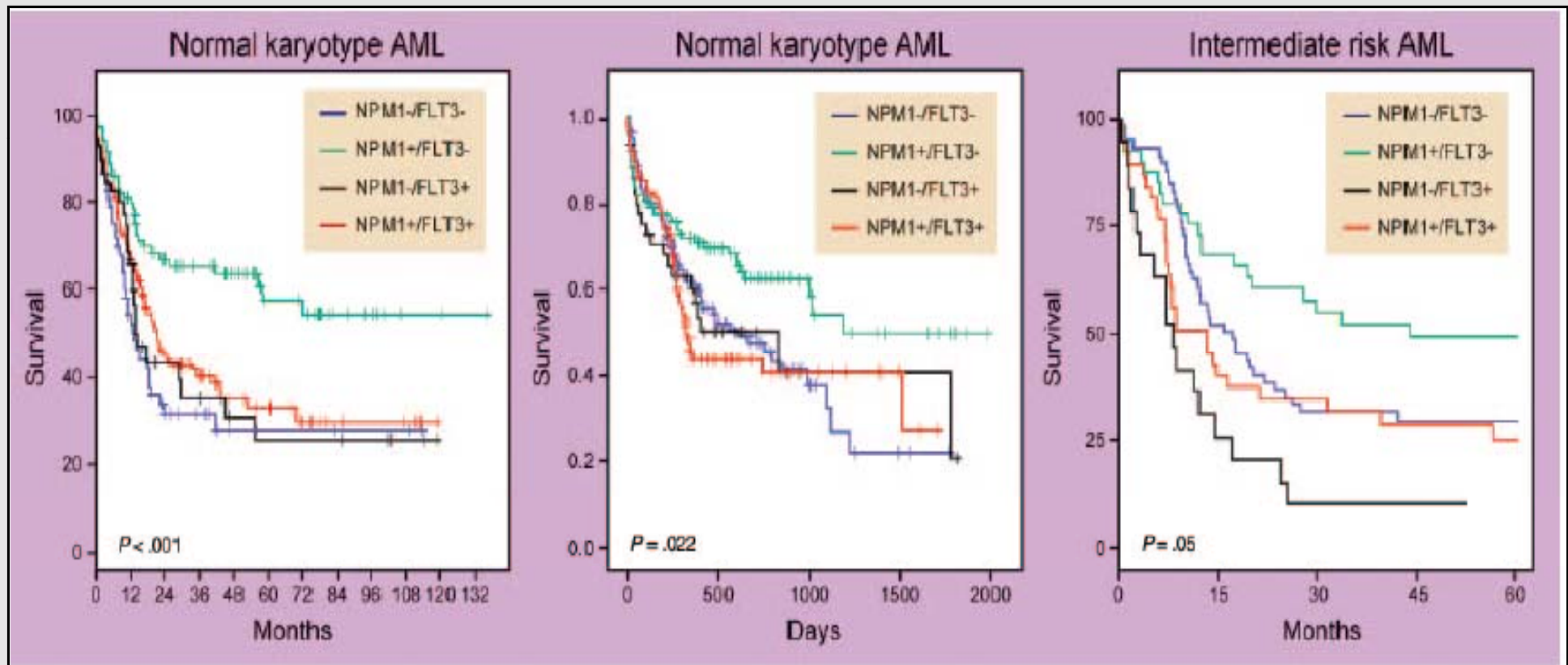
# Genotyp-Spezifische Therapien bei der AML





# Prognostische Bedeutung des *NPM1/FLT3-ITD* Genotyps bei der AML

## Gesamtüberleben in AML mit normalem Karyotyp oder intermediärem Risiko



*Döhner et al., Blood 2005*

*Schnittger et al., Blood 2005*

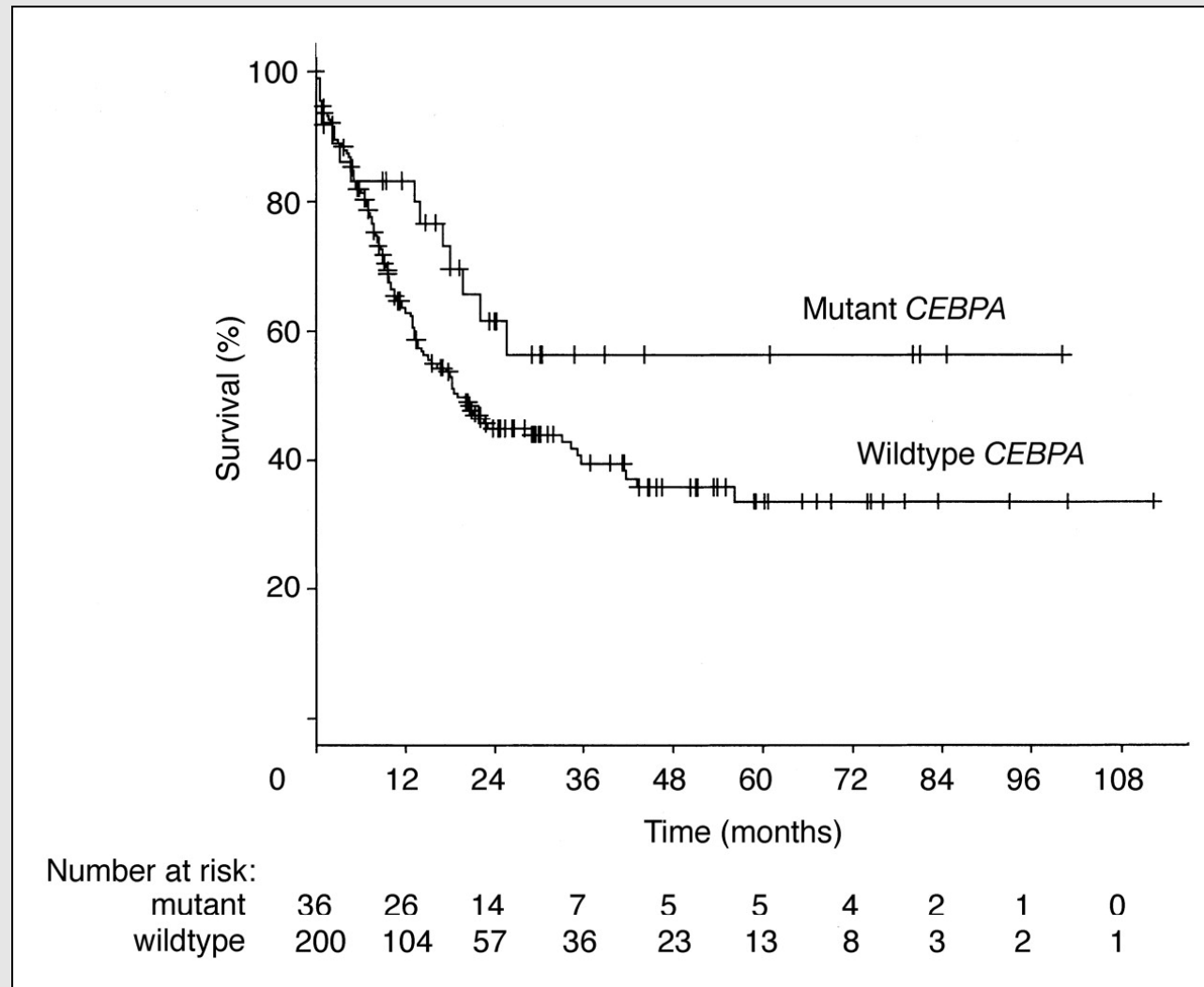
*Verhaak et al., Blood 2005*

*Gallagher et al., Blood 2005*

# Prognostische Bedeutung von *CEBPA* Mutationen

## *AML mit normalem Karyotyp*

Gesamtüberleben

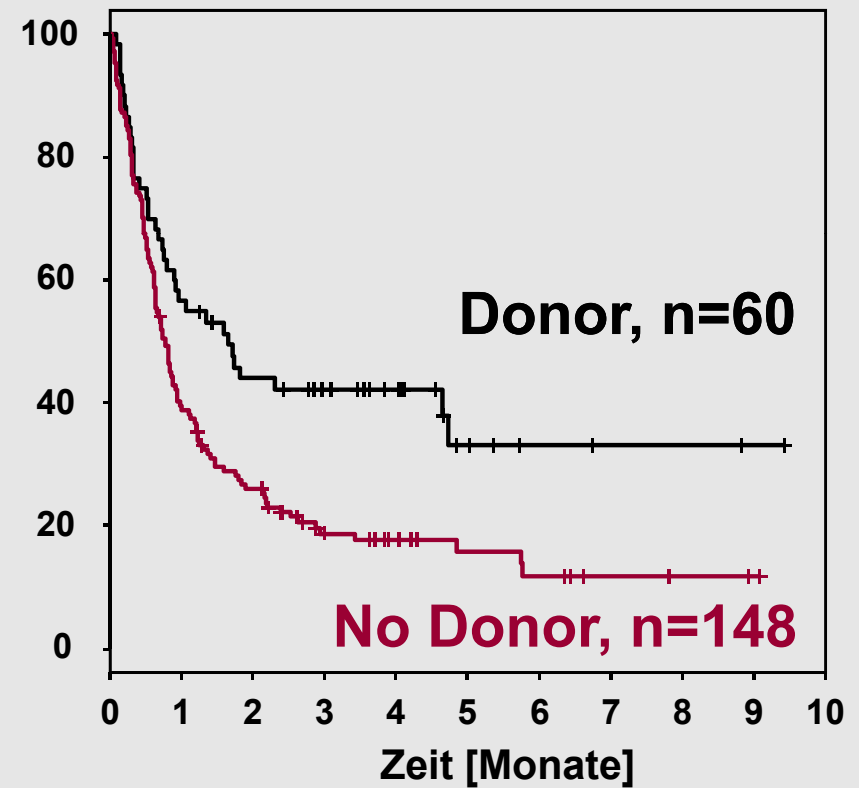
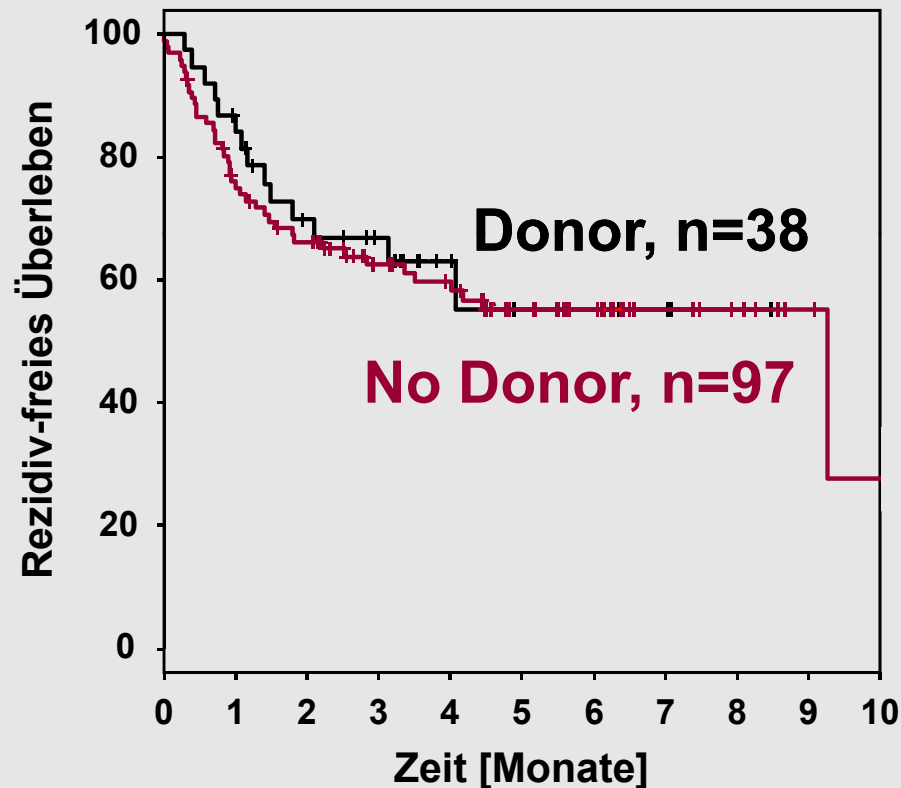


Fröhling S et al. JCO 2004;22:624-633

# Donor vs. no Donor Analyse in genetischen Subgruppen

***NPM1*<sup>mut</sup>/*FLT3-ITD*<sup>neg</sup>**

**Andere**



Number at risk:

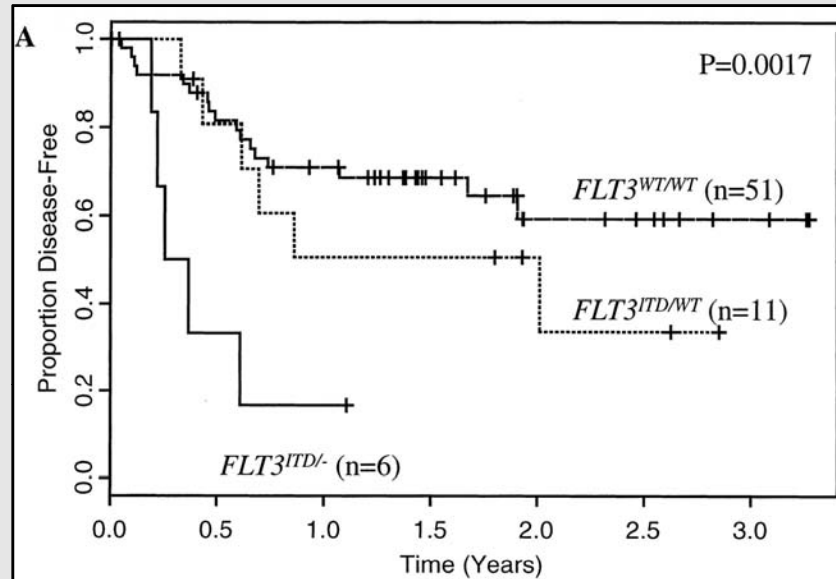
no-donor	97	71	60	46	41	28	19	10	7	3	1
donor	38	31	23	18	9	6	5	3	1	0	0

Number at risk:

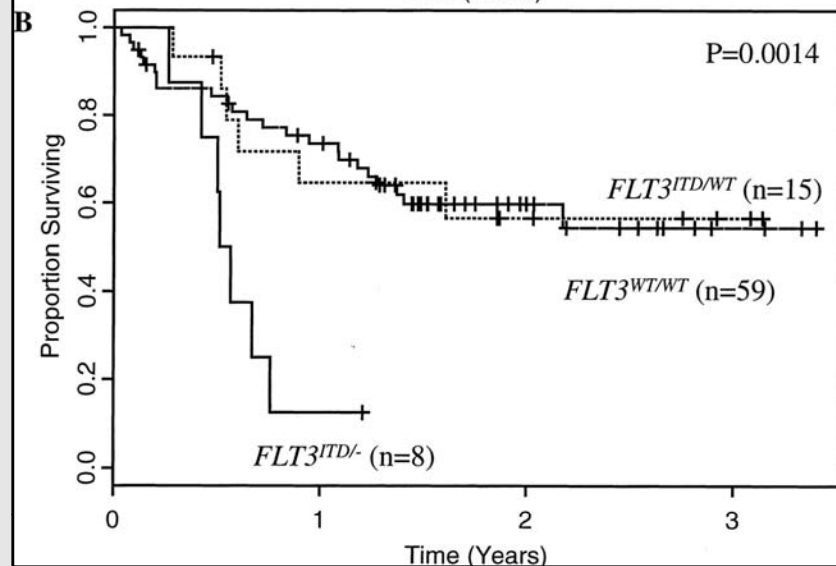
no-donor	148	57	36	19	13	8	6	3	2	1	0
donor	60	33	24	19	14	6	3	2	2	1	0

# Prognostische Bedeutung der *FLT3*-ITD Mutation

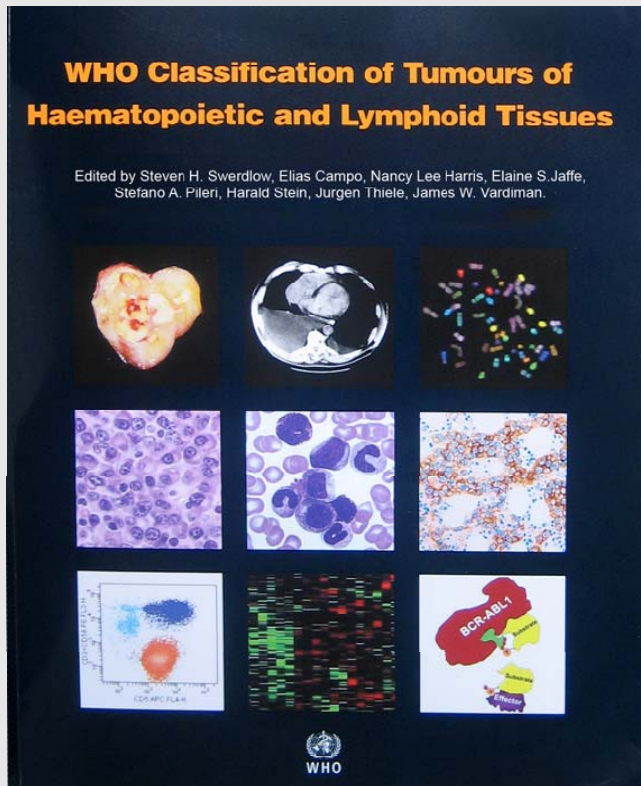
Erkrankungsfreies Überleben



Gesamtüberleben



# WHO Klassifikation 2008: Klinisch relevante Genmutationen der AML



## „New provisional entities“:

- **AML mit *NPM1* Mutationen im Kontext mit *FLT3*-ITD**
- **AML mit *CEBPA* Mutationen**

Swerdlow SH, et al.  
Lyon, France: IARC Press. 2008.