

**ОБЗОРЫ****REVIEWS**

## Цитогенетические и молекулярно-генетические факторы прогноза острых лимфобластных лейкозов

**А.В. Мисюрин**

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

## Cytogenetic and Molecular Genetic Prognostic Factors of Acute Lymphoblastic Leukemias

**AV Misyurin**

NN Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

**РЕФЕРАТ**

В обзоре представлены характерные и воспроизводимые при острых лимфобластных лейкозах (ОЛЛ) перестройки хромосом, которые можно обнаружить при стандартном цитогенетическом исследовании (окраска на G-полосы) или методом FISH. Более тонкие генетические изменения, недоступные для наблюдения цитогенетиков, выявляются с помощью современных методов молекулярно-биологической диагностики. Показано прогностическое значение цитогенетических и молекулярно-генетических маркеров ОЛЛ. Представлен минимальный набор клинически значимых молекулярных маркеров, которые целесообразно исследовать при ОЛЛ.

**Ключевые слова:** острый лимфобластный лейкоз, хромосомная аномалия, химерный онкоген, экспрессия гена, мутация гена.

**Получено:** 3 декабря 2016 г.

**Принято в печать:** 8 марта 2017 г.

*Для переписки:* Андрей Витальевич Мисюрин, канд. биол. наук, Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478; e-mail: and@genetechnology.ru

*Для цитирования:* Мисюрин А.В. Цитогенетические и молекулярно-генетические факторы прогноза острых лимфобластных лейкозов. Клиническая онкогематология. 2017;10(3):317–23.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-317-323

**ABSTRACT**

This review presents characteristic and reproducible chromosome rearrangements in acute lymphoblastic leukemia (ALL), which can be detected with a standard cytogenetic research (G-bands staining) or by FISH. More subtle genetic changes, inaccessible to the observation of cytogeneticists, are detected with the help of modern methods of molecular biological diagnosis. The prognostic value of cytogenetic and molecular genetic markers of ALL is shown in this article. A minimal set of clinically relevant molecular markers is presented, which it is advisable to investigate with ALL.

**Keywords:** acute lymphoblastic leukemia, chromosomal aberration, chimeric oncogene, gene expression, gene mutation.

**Received:** December 3, 2016

**Accepted:** March 8, 2017

*For correspondence:* Andrei Vital'evich Misyurin, PhD, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478; e-mail: and@genetechnology.ru

*For citation:* Misyurin AV. Cytogenetic and Molecular Genetic Prognostic Factors of Acute Lymphoblastic Leukemias. Clinical oncohematology. 2017;10(3):317–23 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-317-323

**ВВЕДЕНИЕ**

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) — неопластическое заболевание, которое характеризуется преимущественной клональной экспансией лейкозных клеток в костном мозге, лимфатических узлах, тимусе и селезенке. В основе развития ОЛЛ лежат разнообразные соматические дефекты генов,

в результате которых опухолевые клетки демонстрируют усиленную пролиферацию, удлинение срока жизни и сбой программы дифференцировки предшественников лимфопоэза [1, 2]. При ОЛЛ выявляются характерные и воспроизводимые у разных больных перестройки хромосом, которые квалифицированный цитогенетик легко может обнаружить с

помощью светового микроскопа с хорошим разрешением на препаратах дифференциально-окрашенных метафазных хромосом или методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) с использованием флуоресцентного микроскопа [3]. Современные методы молекулярно-биологической диагностики позволяют выявлять у больных ОЛЛ более тонкие генетические изменения, которые недоступны для наблюдения цитогенетиков [4, 5]. Ряд специфичных для ОЛЛ хромосомных aberrаций и молекулярных изменений был включен в обновленную классификацию опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2008 г. [5]. Генетические маркеры наряду с морфологическими, иммунологическими, цитохимическими характеристиками опухоли, а также клиническими данными используются в качестве критериев, позволяющих выделить различные формы ОЛЛ (Т-, В-линейные и их подварианты).

Цитогенетические и молекулярные маркеры служат независимыми прогностическими факторами ОЛЛ у детей и взрослых. В связи с этим у больных ОЛЛ цитогенетический и молекулярный анализы представляют собой обязательный компонент первичных диагностических мероприятий [6].

В 25–30 % случаев В-ОЛЛ у детей [7] и в 2–10 % — у взрослых наблюдается гиперплоидия [8, 9], при которой в ядрах лейкозных клеток содержится 51–67 хромосом вместо 46, как это должно быть в норме. При Т-ОЛЛ гиперплоидия встречается крайне редко.

Интересно, что распределение дополнительных хромосом при гиперплоидии не является случайным. В каждом втором наблюдении обнаруживаются дополнительные хромосомы 14, 6, 18, 4, 17 и 10, а хромосомы 8, 5, 11 и 12 выявляются несколько реже, причем у больных с модальным числом хромосом в опухолевых клетках от 57 и выше [10].

Гиперплоидия при ОЛЛ у детей — фактор благоприятного прогноза. Полные ремиссии (ПР) достигаются у всех больных, 5-летняя бессобытийная выживаемость составляет 71–83 %, а 5-летняя общая выживаемость достигает 90 % [11]. Наиболее высокие результаты лечения ОЛЛ с гиперплоидией у детей получены при обнаружении дополнительных хромосом 4, 10, 17 [12] и 4, 18 [13]. У взрослых больных ОЛЛ с гиперплоидией результаты лечения менее впечатляющие. Только отдельные авторы отмечают несколько лучший исход заболевания у таких больных, в то время как другие не находят преимуществ гиперплоидии в сравнении с иными цитогенетическими маркерами. При этом результаты, сравнимые по эффективности с лечением ОЛЛ с гиперплоидией у детей, не достигаются. Если на фоне гиперплоидии обнаруживаются также характерные для ОЛЛ транслокации t(9;22)(q34;q11), t(1;19)(q23;p13), то их негативное влияние полностью нивелирует благоприятное прогностическое значение гиперплоидии [13, 14].

Половина всех больных ОЛЛ с гиперплоидией имеет дополнительные хромосомные aberrации, такие как дупликации и нехватки 1q, del(6q), однако их влияние полагают нейтральным. Только изохромосома i(17)(q10), в результате которой опухолевая

клетка лишается одной из двух копий гена *TP53*, считается неблагоприятным прогностическим признаком [15]. Важно иметь в виду, что гиперплоидные лейкозные клетки плохо делятся при культивировании. Последнее служит одним из этапов подготовки биологического материала к проведению стандартного цитогенетического исследования (СЦИ). В связи с этим рекомендуется один из параллельных образцов костного мозга культивировать при СЦИ кратковременно, а также использовать для констатации гиперплоидии метода FISH с применением центромерных проб, проточной цитофлуориметрии с целью определить ДНК-индекс, а также микрочипы для оценки однонуклеотидных полиморфизмов (SNP; single nucleotide polymorphism) [16, 17].

Еще одним благоприятным прогностическим фактором считается транслокация t(12;21)(p13;q22), в результате которой формируется химерный онкоген *ETV6-RUNX1 (TEL-AML1)*. Эта транслокация обнаруживается у 25 % детей с пре-В-ОЛЛ. У взрослых этот маркер наблюдается редко. Для обнаружения t(12;21) используется метод FISH, а для детекции экспрессии химерного онкогена *ETV6-RUNX1* — обратнотранскриптазная полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР) [14, 18]. Прогноз у детей с t(12;21)(p13;q22) благоприятный. У 94 % носителей этой транслокации возможно достижение быстрого и раннего ответа на терапию. Одновременно с этой транслокацией у 75 % больных встречаются дополнительные генетические аномалии, чаще всего делеция 12p, приводящая к потере незатронутой транслокацией t(12;21) копии гена *ETV6* (55–70 % случаев), +21 (15–20 % случаев) и +der(21)t(12;21) (10–15 % случаев). У больных с del(12p) ухудшаются показатели выживаемости. В то же время результаты лечения больных с +der(21)t(12;21) хуже, чем с del(12p) и +21 [19].

При ОЛЛ взрослых наиболее частой хромосомной aberrацией является транслокация t(9;22)(q34;q11.2) — Филадельфийская хромосома (Ph), которую обнаруживают у 11–29 % больных [20]. Напротив, при ОЛЛ у детей Ph-хромосома — редкий маркер и встречается в 1–3 % случаев [14]. Прогноз как у взрослых, так и у детей с наличием этого маркера крайне неблагоприятный. Лишь у 5 % взрослых с Ph+ ОЛЛ отмечался противоопухолевый эффект при использовании только стандартной химиотерапии [21]. Единственным методом, дающим шанс на излечение, считается аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТСГК). Однако она чревата тяжелыми, иногда фатальными, осложнениями у половины больных [22]. Включение иматиниба в программы лечения позволяет повысить частоту ПР и улучшить показатели выживаемости больных после аллоТСГК [23]. Однако у ряда пациентов развивается резистентность к этому препарату, связанная с возникновением мутаций в киназном домене химерного онкогена *BCR-ABL1* — продукта транслокации t(9;22)(q34;q11) [21].

У 2 из 3 больных с Ph+ ОЛЛ обнаруживают дополнительные поломки хромосом, чаще всего еще одну копию Ph-хромосомы, а также -7 или потерю плеча 7p, аномалии 9p, +21, +8 и +X. Высокая гиперплоидия встречается у 15 % больных — носителей Ph-

хромосомы [24, 25]. Наличие подобных хромосомных поломок на фоне Ph-хромосомы не улучшает прогноз ОЛЛ — он остается неблагоприятным. Применение иматиниба менее эффективно при наличии Ph+. Потеря одной из хромосом 7 (-7) ассоциируется со снижением частоты ПР [26].

У 70 % детей с диагнозом ОЛЛ обнаруживают транслокации, вовлекающие локус 11q23, с разрывами гена *MLL*. С возрастом частота этих транслокаций снижается, вероятность их обнаружения у подростков и взрослых составляет 1–2 и 4–9 % соответственно [27]. Среди этих транслокаций самой частой является  $t(4;11)(q21;q23)/MLL-AFF1(AF4)$ , ее обнаруживают у 50 % больных. Реже встречается  $t(11;19)(q23;p13.3)/MLL-MLLT1(ENL)$ , еще реже —  $t(9;11)(p22;q23)/MLL-MLLT3(AF9)$ ,  $t(10;11)(p13-15;q14-21)/MLL-MLLT10(AF10)$  и др. [28, 29]. Транслокации  $t(4;11)$  и  $t(11;19)$  определяют плохой прогноз при ОЛЛ у детей и взрослых [30, 31]. У подростков при Т-ОЛЛ с  $t(11;19)$  прогноз более благоприятный, чем в сравнимой по возрасту группе больных В-ОЛЛ — носителей аналогичного цитогенетического маркера [30, 31]. Одновременно с транслокациями, затрагивающими локус 11q23, в ядрах опухолевых клеток больных при ОЛЛ могут наблюдаться дополнительные хромосомные поломки. У 30 % больных с  $t(4;11)$  обнаруживаются +X, +8,  $i(7)(q10)$ , аномалии 7p и 9p. В число вторичных хромосомных поломок, встречающихся синхронно с  $t(11;19)$ , входят +X, +8 и  $del(6q)$ . В настоящее время полагают, что эти дополнительные поломки никак не изменяют прогноз у больных с  $t(4;11)$  и  $t(11;19)$  [29].

Данные о прогностическом значении транслокации  $t(1;19)(q23;p13.3)/TCF3-PBX1$  противоречивы. Она обнаруживается у 1–3 % взрослых больных ОЛЛ и у 1–6 % детей. Эта транслокация может быть сбалансированной или несбалансированной, т. е.  $der(19)(1;19)$  и одна нормальная хромосома 1 или  $der(19)(1;19)$  и две нормальных хромосомы 1. Большинство больных ОЛЛ с  $t(1;19)$  имеют псевдодиплоидный кариотип и относятся к пре-В-клеточному подварианту. Ряд авторов полагают, что у взрослых больных ОЛЛ с этой транслокацией результаты лечения неудовлетворительные. Другие, напротив, считают, что этих пациентов следует отнести к группе относительно благоприятного прогноза. По-видимому, это связано с применением различных режимов химиотерапии. Например, использование для лечения ОЛЛ с  $t(1;19)$  режима гипер-CVAD существенно улучшает прогноз. При ОЛЛ у детей этот цитогенетический маркер служит независимым фактором высокого риска рецидивов с поражением ЦНС [32].

Результаты лечения признаются неудовлетворительными у больных В-ОЛЛ с внутривнутрихромосомной амплификацией хромосомы 21 ( $iAMP21$ ), которая обнаруживается у 2 % детей и у менее 0,5 % взрослых. Амплифицированный участок содержит ген *RUNX1*, в результате чего увеличивается количество копий этого гена. У больных ОЛЛ с этим маркером в 3 раза повышается риск рецидивов и в 2 раза — риск летального исхода [24].

Критерием неблагоприятного прогноза ОЛЛ служит наличие комплексного кариотипа, который определяется как присутствие в опухолевых клетках более 3–5 хромосомных нарушений [33].

Среди всех ОЛЛ 16–25 % приходятся на долю Т-ОЛЛ у взрослых [24] и 8–15 % — у детей [14]. У половины первичных больных Т-ОЛЛ обнаруживается нормальный кариотип, у 30–40 % — транслокации при участии содержащих Т-клеточные рецепторы (TCR) локусов 14q11 (*TCRA/TCRD*) или 7q34 (*TCRB*). У взрослых наиболее частой транслокацией этого типа является  $t(10;14)(q24;q11.1)$ , приводящая к гиперэкспрессии гена *TLX1 (HOX11)* и связанная с благоприятным прогнозом [34]. При Т-ОЛЛ у детей в 3–6 % случаев встречается  $t(1;14)(p32;q11.2)$ , вызывающая гиперэкспрессию гена *TAL1 (SCL)* из хромосомы 1 в связи с близким соседством с *TCRD* из хромосомы 14. К другой причине гиперэкспрессии *TAL1* относится криптическая делеция хромосомы 1, в результате которой образуется химерный слитный белок TAL1-STIL. Эта делеция охватывает 16–26 % случаев Т-ОЛЛ у детей.

В 20–30 % случаев Т-ОЛЛ у детей обнаруживают транслокацию  $t(5;14)(q35;q32)$ , сближающую гены *TLX3, BCL11B* и вызывающую гиперэкспрессию последнего [35]. Таким образом,  $del(1)$ ,  $t(5;14)$  и  $t(10;14)$  — наиболее частые маркеры Т-ОЛЛ у детей. Однако у взрослых они встречаются редко.

Криптическая амплификация сегмента хромосомы 9 приводит к слиянию генов *NUP214 (nucleoporin)* и *ABL1*. Последовательности амплифицированного гена *NUP214-ABL1* локализуются в субмикроскопических кольцевых экстрахромосомных ДНК (эписомах) [36]. Продукт этого химерного онкогена, белок NUP214-ABL1, является тирозинкиназой, по своим свойствам напоминающей BCR-ABL1. Он может быть ингибирован нилотинибом или дазатинибом [37].

С помощью FISH и микрочипов SNP можно обнаружить перестройки гена *CRLF2* в 7 % случаев ОЛЛ у детей и 50 % ОЛЛ, связанных с синдромом Дауна (DS-ALL). Ген *CRLF2* расположен в псевдоаутосомном регионе (PAR1) в локусах Xp22.3/Yp11.3 и кодирует подобный цитокиновым рецепторам фактор 2 (CRLF2; cytokine receptor-like factor 2), который также известен как тимический стромальный лимфопоэтиновый рецептор. Совместно с рецептором интерлейкина-7 (IL7R) CRLF2 формирует гетеродимерный рецептор тимического стромального лимфопоэтина. В результате хромосомной перестройки ген *CRLF2* переносится в локус генов тяжелых цепей иммуноглобулинов (*IGH-CRLF2*) или в результате фокальной делеции формирует химерный ген *P2RY8-CRLF2*. Оба вида хромосомных перестроек приводят к гиперэкспрессии белка CRLF2 на поверхности лимфообластов [38].

Данные о прогностическом значении цитогенетических маркеров приведены в табл. 1.

Большое значение в патогенезе ОЛЛ имеют субмикроскопические дефекты генов: микроделеции и микроисерции, а также точечные мутации. Многие из затрагиваемых этими мутациями генов играют ключевую роль в лимфоидной дифференцировке (*PAX5, IZKF1, EBF1* и *LMO2*), регулируют клеточный цикл (*CDKN2A/CDKN2B, PTEN* и *RB1*), отвечают за внутриклеточный сигналинг (*BTLA, CD200, TOX* и глюкокортикоидный рецептор NR3C1), являются регуляторами транскрипции и коактиваторами (*TBL1XR1, ETV6* и *ERG*). Виды и частота субмикроскопических генетиче-

Таблица 1. Прогностическое значение цитогенетических маркеров при остром лимфобластном лейкозе

Хромосомные аномалии и соответствующие гены	Дети		Взрослые	
	Частота	Клинический прогноз	Частота	Клинический прогноз
Высокая степень гиперпloidии	20–30 %	Благоприятный	7–8 %	Благоприятный, реже промежуточный
Гипопloidия	6 %	Промежуточный при числе хромосом 45; неблагоприятный при числе хромосом < 45	7–8 %	Неблагоприятный
Гаплоидия	0,4–0,7 %	Неблагоприятный	Редко	Неизвестно
t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1 (TEL-AML1)	22–26 %	Благоприятный	0–4 %	Неизвестно
t(9;22)(q34;q11.2)/BCR-ABL1	1–3 %	Неблагоприятный	11–29 %	Неблагоприятный
t(4;11)(q21;q23)/MLL-AF4	1–2 %; 55 % — младенцы	Неблагоприятный	4–9 %	Неблагоприятный
t(1;19)(q23;p13.3)/der(19)t(1;19)(q23;p13.3)/PBX1-TCF3 (E2A)	1–6 %	Промежуточный	1–3 %	Данные противоречивы
t(10;14)(q24;q11)/TCRA/TCRD-TLX1 (HOX11)	Редко	Неизвестно	0,6–3 %	Благоприятный
del(6q)	6–9 %	Нет прогноза	3–7 %	Промежуточный
Аномалии 9p	7–11 %	Неблагоприятный	5–15 %	Относительно благоприятный
Аномалии 12p	3–9 %	Нет прогноза	3–4 %	Неизвестно
Нормальный кариотип	31–42 %	Относительно благоприятный	15–34 %	Промежуточный

ских дефектов существенно различаются при разных подтипах ОЛЛ. Например, при ОЛЛ с перестройками гена *MLL*, возникающими в результате транслокаций t(4;11), t(11;19) и других, связанных с аномалиями хромосомы 11, субмикроскопические мутации крайне редки. Напротив, у больных ОЛЛ с t(9;22)/*BCR-ABL1* и t(12;21)/*ETV6-RUNX1* такие мутации встречаются очень часто [39].

Мутации гена *ERG* (ETS-related gene) встречаются исключительно у тех больных В-ОЛЛ, у которых отсутствуют хромосомные перестройки. В связи с этим В-ОЛЛ с нормальным кариотипом и мутациями гена *ERG* в настоящее время выделяют как отдельную форму лейкоза, отличающуюся благоприятным клиническим течением. В гене *ERG* у таких больных отсутствуют экзоны в средней его части, в результате чего в мутантном белке утрачиваются центральный ингибиторный и направляющий домены. Мутантный белок *ERG* служит конкурентным ингибитором нормального белка *ERG* [40].

Изменения транскрипционной регуляции лимфоидной дифференцировки возникают в результате мутаций генов *PAX5*, *IKZF1* и *EBF1* в 70 % случаев В-ОЛЛ [41]. Мутации гена *PAX5* затрагивают около 30 % больных В-ОЛЛ, при этом никакой связи этих мутаций с клиническими особенностями течения лейкоза не выявлено. Среди прочих мутаций особое значение при В-ОЛЛ имеют дефекты гена *IKZF1*, т. к. они связаны с неблагоприятным прогнозом. Делеции и точечные мутации *IKZF1* обнаруживают в 15 % случаев ОЛЛ у детей. Это характерный признак группы 2-го типа с неблагоприятным прогнозом. Ген *IKZF1* кодирует белок IKAROS, который необходим для дифференцировки лимфоцитов транскрипционным фактором, содержащим домен «цинковых пальцев». Мутации гена *IKZF1*, наблюдаемые у больных ОЛЛ, могут быть в виде протяженных делеций, в результате которых этот ген и соответствующая функция утрачиваются, либо в виде коротких внутригенных делеций 4–7 экзонов, приводящих к потере N-концевого ДНК-связывающего до-

мена «цинковых пальцев» и к экспрессии укороченной доминантно-негативной изоформы IK6 [41]. Мутации этого гена охватывают до 70 % *BCR-ABL1*-позитивных больных ОЛЛ, включая случаи развития заболевания *de novo* и эпизоды прогрессирования хронического миелолейкоза в лимфоидный вариант бластного криза. Эти мутации связаны с неблагоприятным прогнозом у *BCR-ABL1*-позитивных больных ОЛЛ [42]. С использованием моделей трансгенных животных показано, что делеции генов *PAX5* и *IKZF1* повышают вероятность развития ОЛЛ на фоне экспрессии химерного онкогена *BCR-ABL1*.

У больных ОЛЛ возникают хромосомные перестройки, приводящие к гиперэкспрессии гена *CRLF2*. Гиперэкспрессию этого гена вызывает также мутация p.Phe232Cys *CRLF2* [43]. Оказалось, что мутации гена *CRLF2* связаны с активирующими мутациями генов семейства Янус-киназ (*JAK1* и *JAK2*), которые несвойственны для ОЛЛ, за исключением Т-линейных форм. Чаще всего при этом обнаруживают миссенс-мутацию в положении R683 псевдокиназного домена *JAK2*, т. е. в стороне от известной мутации *JAK2V617F*, характерной для хронических миелолипролиферативных заболеваний. Подавляющее большинство случаев В-ОЛЛ с мутациями в *JAK1/2* имеет изменения гена *CRLF2* и наоборот, т. е. до 50 % больных ОЛЛ с мутациями *CRLF2* имеют также мутации в *JAK1/2*. Более того, мутации *CRLF2* и *JAK1/2* сочетаются также с мутациями/делециями *IKZF1*. Общий профиль экспрессии генов в лейкозных клетках таких больных совпадает с профилем экспрессии в опухолевых клетках при *BCR-ABL1+* ОЛЛ. Сочетание этих мутаций связано с неблагоприятным прогнозом ОЛЛ.

Недавние исследования показали, что у больных ОЛЛ чаще, чем точечные мутации, происходит изменение числа копий генов, ответственных за лимфоидную дифференцировку или же являющихся известными участниками процесса канцерогенеза (например, *PAX5*, *BCL11B*, *FBXW7*, *IKZF1*, *LEF1*, *WT1*, *PTEN1* и *NF1*). В одной из работ [44] было проведено

секвенирование по Сэнгеру 300 генов у каждого из 24 больных с диагнозом В- и Т-ОЛЛ в дебюте заболевания, в ремиссии и при рецидивах. Частота сэнгеровских мутаций (точечные замены, микроделеции и микроинсерции) в этом исследовании оказалась очень низкой (0–5 на исследуемый образец). Большинство мутаций, обнаруженных в дебюте заболевания, отсутствовало при констатации рецидивов, в т. ч. мутации генов сигнального пути Ras (*NRAS*, *KRAS*, *PTPN1*, *NF1*) и гена *PAX5*, ответственного за развитие В-лимфоцитов. При этом, напротив, делеции/мутации *IKZF1*, если они были в дебюте, то сохранялись и при рецидивах либо же возникали при рецидивах *de novo*. При рецидивах ОЛЛ у 20 % больных обнаружены также мутации или делеции гена *CREBBP*, который кодирует транскрипционный коактиватор — связывающий ацетилтрансферазу белок CREB. Мутации этого гена характерны для гипердиплоидного варианта ОЛЛ, прогноз которого благоприятный. Анализ мутаций *CREBBP* показал, что они затрагивают домен, отвечающий за гистонацетилтрансферазную активность. Мутантный белок *CREBBP* вызывает резистентность к глюкокортикоидам, следствием чего бывает неудача терапии. Для преодоления этой резистентности необходимо использовать вещества, модулирующие уровень ацетилирования гистонов, например ингибиторы гистондеацетилаз. Недавно было показано, что мутации гена *TP53*, которые редко бывают в дебюте ОЛЛ, обнаруживаются при рецидивах и связаны с неблагоприятным прогнозом.

Опубликовано несколько работ, посвященных поиску неизвестных ранее генетических дефектов при Т-ОЛЛ с использованием методов секвенирования нового поколения (NGS; next generation sequencing). Известно, что пик заболеваемости Т-ОЛЛ зарегистрирован у мальчиков-подростков, следовательно, патогенез этого заболевания связан с полом и началом полового созревания. В связи с этим у больных Т-ОЛЛ с помощью NGS было проведено глубокое секвенирование экзонов X-хромосомных генов. В результате были обнаружены мутации гена *PHF6*, который кодирует содержащий домен «цинковых пальцев» белок, являющийся, как полагают, транскрипционным фактором (PHD finger protein 6) [45].

В 2009 г. ученые из детского исследовательского госпиталя Святого Иуды описали вариант Т-ОЛЛ из ранних Т-клеточных предшественников (ETP-ALL; early T-cell precursor ALL), при котором в бластных клетках экспрессируется цитоплазматический CD3, но отсутствуют CD1 и CD8, а также слабо либо совсем не экспрессируется CD5. Кроме того, в этих клетках наблюдают aberrантную экспрессию маркеров стволовых клеток и миелоидной дифференцировки [46]. В дальнейшем было показано, что доля варианта ETP-ALL среди ОЛЛ у детей и взрослых составляет 10–15 %. Этот вариант связан с неудовлетворительным ответом на лечение уже в фазе индукции и низкими показателями бессобытийной выживаемости. При ETP-ALL отсутствуют обычные для Т-ОЛЛ активирующие мутации гена *NOTCH1* [47] и делеции *CDKN2A/B*, а также обычные хромосомные аномалии. С помощью глубокого секвенирования было обнаружено, что при этой форме Т-ОЛЛ возникают генетические дефекты,

которые затрагивают три известных регуляторных пути, а именно Ras и/или JAK-STAT, модификация гистонов и регуляция созревания гемопоэтических клеток. В 58 % случаев ETP-ALL найдены мутации, приводящие к потере функций, и доминантно-негативные мутации генов, работа которых нарушается и при других онкогематологических заболеваниях (*RUNX1*, *IKZF1*, *ETV6*, *GATA3* и *EP300*). Мутации *RUNX1* известны при миелоидных лейкозах, а *IKZF1* и *ETV6* описаны при В-ОЛЛ, однако ранее их не находили при других формах Т-ОЛЛ. Кроме того, при ETP-ALL найдены мутации генов *NRAS*, *KRAS*, *JAK1*, *NF1*, *JAK3*, *SH2B3*, *IL7R* и *EZH2*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обнаружение большого числа генетических дефектов при ОЛЛ позволило не только приблизиться к пониманию молекулярного патогенеза этой группы онкогематологических заболеваний, но и прояснить некоторые причины гетерогенности клинических проявлений и ответов на терапию у разных больных внутри, казалось бы, однородных нозологических форм, выделяемых на основе «классических» клинико-диагностических критериев. Кроме того, благодаря выявлению повторяющихся у многих больных ОЛЛ молекулярно-генетических маркеров можно внедрить цитогенетические и молекулярно-биологические методы в рутинную диагностическую практику, обеспечивающую клиницистов ценной информацией, позволяющей принимать оптимальные решения при выборе способов лечения.

Хотя опухолевые клетки у больных ОЛЛ генетически нестабильны и способны порождать новые клоны, которые иногда существенно отличаются от исходного варианта по набору мутаций, удалось выявить цитогенетические и молекулярно-генетические маркеры, которые присущи исходной опухолевой клетке и, следовательно, сохраняются у всех ее потомков. Благодаря этому уникальному свойству подобного рода маркеры позволяют оценивать объем опухолевой массы, проводить динамические наблюдения, регистрировать малейшие изменения количества опухолевых клеток — носителей характерных генетических поломок. Это дает возможность в дебюте заболевания оценивать степень первичного поражения, судить об эффективности лечения и своевременно обнаруживать первые признаки назревающего рецидива. Кроме того, систематическое изучение молекулярно-генетических маркеров позволило выявить те из них, с которыми связан благоприятный или неблагоприятный прогноз лечения ОЛЛ.

В настоящее время глубокие исследования генетических дефектов у больных ОЛЛ возможны только в крупных, хорошо оснащенных медицинских научных учреждениях. С другой стороны, возможно, в широкой клинической практике в этом обилии оцениваемых параметров и нет необходимости. Следует определить разумный минимум молекулярных маркеров, исследование которых при наличии относительно небольших ресурсов позволяет получать требуемый объем клинически значимой информации. Среди этих маркеров должны быть универсальные, с высокой

**Таблица 2.** Диагностическая панель молекулярных маркеров при острых лимфобластных лейкозах

Молекулярные маркеры ОЛЛ	
Определение уровня экспрессии	Гена <i>PRAME</i>
	Гена <i>WT1</i>
	Гена <i>BCR-ABL</i> типа p190 — t(9;22)(q34;q11)
	Гена <i>MLL-AF4</i> типа RS411, MV411, ALL-PO — t(4;11)(q21;q23)
	Гена <i>ETV6-RUNX1</i> — t(12;21)(p13;q22)
Гена <i>E2A-PBX1</i> — t(1;19)(q23;p13)	
Определение дупликации	Гена <i>MLL</i>
Определение Т- или В-клеточной клональности	TCR и BCR

частотой обнаружения в разных подвариантах ОЛЛ. Кроме того, важно включить в необходимый набор молекулярных маркеров те из них, для которых показана высокая прогностическая значимость.

Уже при подозрении на острый лейкоз и еще до выяснения его лимфоидной или миелоидной природы можно провести количественное определение экспрессии генов *PRAME* и *WT1*. Эти маркеры универсальны, они характерны как для ОЛЛ, так и для ОМЛ. Интенсивность экспрессии этих генов хорошо коррелирует с количеством опухолевых клеток, поэтому с помощью этих маркеров можно определять степень первичного опухолевого поражения, проводить мониторинг опухолевой массы для оценки эффективности лечения, обнаруживать молекулярный рецидив [48–51]. В минимальный набор молекулярных маркеров (табл. 2) следует включить такие факторы неблагоприятного прогноза, как частичную тандемную дупликацию гена *MLL*, химерные онкогены *BCR-ABL1* p190, *MLL-AF4* и *E2A-PBX1*. Хорошо доказанным фактором благоприятного прогноза является экспрессия химерного онкогена *ETV6-RUNX1*, поэтому его также целесообразно включить в панель маркеров ОЛЛ. Опухолевые клетки при ОЛЛ происходят из лимфоцитов, в которых могут быть обнаружены, охарактеризованы и использованы в качестве молекулярных маркеров претерпевшие клональную реарранжировку гены Т-клеточных рецепторов (при Т-ОЛЛ) и гены иммуноглобулинов (при В-ОЛЛ). Эти маркеры стабильны и позволяют с высокой чувствительностью и специфичностью определять минимальную остаточную болезнь при ОЛЛ.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Гематология: национальное руководство. Под ред. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 776 с.

- [Rukavitsyn OA, ed. Gematologiya: natsional'noe rukovodstvo. (Hematology: national guidelines.) Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2015. 776 p. (In Russ)]
- Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2013;381(9881):1943–55. doi: 10.1016/S0140-6736(12)62187-4.
- Shago M. Recurrent Cytogenetic Abnormalities in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Meth Mol Biol*. 2017;1541:257–78. doi: 10.1007/978-1-4939-6703-2\_21.
- Deshpande PA, Srivastava VM, Mani S, et al. Atypical BCR-ABL1 fusion transcripts in adult B-acute lymphoblastic leukemia, including a novel fusion transcript-e8a1. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(10):2481–4. doi: 10.3109/10428194.2016.1151512.
- McGregor S, McNeer J, Gurbuxani S. Beyond the 2008 World Health Organization classification: the role of the hematopathology laboratory in the diagnosis and management of acute lymphoblastic leukemia. *Semin Diagn Pathol*. 2012;29(1):2–11.
- Zerbini MCN, Soares FA, Velloso EDRP, et al. World Health Organization classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues, 2008: major changes from the 3rd edition. *Revista da Associacao Medica Brasileira*. 2011;57(1):6–73. doi: 10.1590/S0104-42302011000100019.
- Paulsson K, Johansson B. High hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromos Cancer*. 2009;48(8):637–60. doi: 10.1002/gcc.20671.
- Mrozek K, Harper DP, Aplan PD. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(5):1–20. doi: 10.1016/j.hoc.2009.07.001.
- Faderl S, Estrov Z. Residual disease in acute lymphoblastic leukemia of childhood: methods of detection and clinical relevance. *Cyt Cell Mol Ther*. 1998;4(2):73–85.
- Heerema NA, Raimondi SC, Anderson JR, et al. Specific extra chromosomes occur in a modal number dependent pattern in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Genes Chromos Cancer*. 2007;46(7):684–93. doi: 10.1002/gcc.20451.
- Woo JS, Alberti MO, Tirado CA. Childhood B-acute lymphoblastic leukemia: a genetic update. *Exper Hematol Oncol*. 2014;3(1):16. doi: 10.1186/2162-3619-3-16.
- Sutcliffe MJ, Shuster JJ, Sather HN, et al. High concordance from independent studies by the Children's Cancer Group (CCG) and Pediatric Oncology Group (POG) associating favorABL1e prognosis with combined trisomies 4, 10, and 17 in children with NCI Standard-Risk B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: a Children's Oncology Group (COG) initiative. *Leukemia*. 2005;19(5):734–40. doi: 10.1038/sj.leu.2403673.
- Moorman AV, Richards SM, Martineau M, et al. Outcome heterogeneity in childhood high-hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2003;102(8):2756–62. doi: 10.1182/blood-2003-04-1128.
- Forestier E, Johansson B, Gustafsson G, et al. Prognostic impact of karyotypic findings in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a Nordic series comparing two treatment periods. *Br J Haematol*. 2000;110(1):147–53.
- Raimondi SC, Pui CH, Hancock ML, et al. Heterogeneity of hyperdiploid (51-67) childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 1996;10(2):213–24.
- Pullarkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, et al. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*. 2008;111(5):2563–72. doi: 10.1182/blood-2007-10-116186.
- Oostlander AE, Meijer GA, Ylstra B. Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet*. 2004;66(6):488–95. doi: 10.1111/j.1399-0004.2004.00322.x.
- Rubnitz JE, Wichlan D, Devidas M, et al. Prospective analysis of TEL gene rearrangements in childhood acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 2008;26(13):2186–91. doi: 10.1200/JCO.2007.14.3552.
- Attarbaschi A, Mann G, Konig M, et al. Incidence and relevance of secondary chromosome abnormalities in childhood TEL/AML1+ acute lymphoblastic leukemia: an interphase FISH analysis. *Leukemia*. 2004;18(10):1611–6. doi: 10.1038/sj.leu.2403471.
- Pullarkat V, Slovak ML, Kopecky KJ, et al. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*. 2008;111(5):2563–72. doi: 10.1182/blood-2007-10-116186.
- Stock W. Advances in the treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2008;6(7):487–8.
- Fielding AK, Rowe JM, Richards SM, et al. Prospective outcome data on 267 unselected adult patients with Philadelphia-chromosome positive acute lymphoblastic leukemia confirms superiority of allogeneic transplantation over chemotherapy in the pre-imatinib era: results from the international ALL trial MRC KALLXII/ECOG2993. *Blood*. 2009;113(19):4489–96. doi: 10.1182/blood-2009-01-199380.
- Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a metaanalysis. *Leukemia*. 2005;19(8):1345–9. doi: 10.1038/sj.leu.2403838.
- Moorman AV, Richards SM, Robinson HM, et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood*. 2007;109(6):2327–30. doi: 10.1182/blood-2006-08-040436.
- Heerema NA, Harbott J, Galimberti S, et al. Secondary cytogenetic aberrations in childhood Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia are nonrandom and may be associated with outcome. *Leukemia*. 2004;18(4):693–702. doi: 10.1038/sj.leu.2403324.
- Wetzler M, Talpaz M, Estrov Z, Kurzrock R. CML: mechanisms of disease initiation and progression. *Leuk Lymphoma*. 1993;11(Suppl 1):47–50. doi: 10.3109/10428199309047863.
- Chessells JM, Swansbury GJ, Reeves B, et al. Cytogenetics and prognosis in childhood lymphoblastic leukaemia: results of MRC UKALL X. *Br J Haematol*. 1997;99(1):93–100.

29. Chessells JM, Harrison CJ, Kempinski H, et al. Clinical features, cytogenetics and outcome in acute lymphoblastic and myeloid leukaemia of infancy: report from the MRC Childhood Leukaemia working party. *Leukemia*. 2002;16(5):776–84. doi: 10.1038/sj.leu.2402468.
30. Moorman AV, Raimondi SC, Pui CH, et al. No prognostic effect of additional chromosomal abnormalities in children with acute lymphoblastic leukemia and 11q23 abnormalities. *Leukemia*. 2005;19(4):557–63. doi: 10.1038/sj.leu.2403695.
31. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, et al. Results of therapy for acute lymphoblastic leukemia in black and white children. *JAMA*. 2003;290(15):2001–7. doi: 10.1001/jama.290.15.2001.
32. Pui C-H, Chessells JM, Camitta B, et al. Clinical heterogeneity in childhood acute lymphoblastic leukemia with 11q23 rearrangements. *Leukemia*. 2003;17(4):700–6. doi: 10.1038/sj.leu.2402883.
33. Jeha S, Pei D, Raimondi SC, et al. Increased risk for CNS relapse in pre-B cell leukemia with the t(1;19)/TCF3-PBX1. *Leukemia*. 2009;23(8):1406–9. doi: 10.1038/leu.2009.42.
34. Mrozek K. Cytogenetic, molecular genetic, and clinical characteristics of acute myeloid leukemia with a complex karyotype. *Semin Oncol*. 2008;35:365–77. doi: 10.1053/j.seminoncol.2008.04.007.
35. Wetzler M, Dodge RK, Mrozek K, et al. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the cancer and leukemia Group B experience. *Blood*. 1999;93(11):3983–93.
36. Bernard OA, Busson-LeConiat M, Ballerini P, et al. A new recurrent and specific cryptic translocation, t(5;14)(q35;q32), is associated with expression of the Hox11L2 gene in T acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2001;15(10):1495–504. doi: 10.1038/sj.leu.2402249.
37. Graux C, Stevens-Kroef M, Lafage M, et al. Heterogeneous patterns of amplification of the NUP214-ABL1 fusion gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2009;23(1):125–33. doi: 10.1038/leu.2008.278.
38. Quintas-Cardama A, Tong W, Manshour T, et al. Activity of tyrosine kinase inhibitors against human NUP214-ABL1-positive T cell malignancies. *Leukemia*. 2008;22(6):1117–24. doi: 10.1038/leu.2008.80.
39. Krawczyk J, Haslam K, Lynam P, et al. No prognostic impact of P2RY8-CRLF2 fusion in intermediate cytogenetic risk childhood B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2013;160(4):555–6. doi: 10.1111/bjh.12130.
40. Hoelzer D. Personalized medicine in adult acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2015;100(7):855–8. doi: 10.3324/haematol.2015.127837.
41. Tsuzuki S, Taguchi O, Seto M. Promotion and maintenance of leukemia by ERG. *Blood*. 2011;117(14):3858–68. doi: 10.1182/blood-2010-11-320515.
42. Mullighan CG, Su X, Zhang J, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2009;360(5):470–80. doi: 10.1056/NEJMoa0808253.
43. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, et al. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature*. 2008;453(7191):110–4. doi: 10.1038/nature06866.
44. Yoda A, Yoda Y, Chiaretti S, et al. Functional screening identifies CRLF2 in precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(1):252–7. doi: 10.1073/pnas.0911726107.
45. Mullighan CG, Zhang J, Kasper LH, et al. CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2011;471(7337):235–9. doi: 10.1038/nature09727.
46. Van Vlierberghe P, Palomero T, Khiabani H, et al. PHF6 mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2010;42(4):338–42. doi: 10.1038/ng.542.
47. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):147–56. doi: 10.1016/S1470-2045(08)70314-0.
48. Weng AP, Ferrando AA, Lee W, et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science*. 2004;306(5694):269–71. doi: 10.1126/science.1102160.
49. Гапонова Т.В., Менделеева Л.П., Мисюрин А.В. и др. Экспрессия опухолеассоциированных генов PRAME, WT1 и XIAP у больных множественной миеломой. *Онкогематология*. 2009;2:52–5.  
[Gaponova TV, Mendeleeva LP, Misyurin AV, et al. PRAME, WT1 and XIAP tumor-associated genes expression in multiple myeloma patients. *Onkogematologiya*. 2009;2:52–5. (In Russ)]
50. Абраменко И.В., Белоус Н.И., Крячок И.А. и др. Экспрессия гена PRAME при множественной миеломе. *Терапевтический архив*. 2004;76(7):77–81.  
[Abramenko IV, Belous NI, Kryachok IA, et al. PRAME gene expression in multiple myeloma. *Terapevticheskii arkhiv*. 2004;76(7):77–81. (In Russ)]
51. Мисюрин В.А. Аутосомные раково-тестикулярные гены. *Российский биотерапевтический журнал*. 2014;13(3):77–82.  
[Misyurin VA. Autosomal cancer-testis genes. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2014;13(3):77–82. (In Russ)]
52. Мисюрин А.В. Основы молекулярной диагностики онкогематологических заболеваний. *Российский биотерапевтический журнал*. 2016;15(4):18–24. doi: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-18-24.  
[Misyurin AV. Essentials of the molecular diagnosis of oncohematological diseases. *Rossiiskiy bioterapevticheskyy zhurnal*. 2016;15(4):18–24. doi: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-18-24. (In Russ)]