

IGVH und TP53 Status – wegweisend für Therapiewahl bei Chronisch lymphatischer Leukämie / CLL

CLL Diagnostik

Die Immunphänotypisierung zeigt bei CLL eine Koexpression der B-Zell-Antigene CD19, CD20, und CD23 mit CD5 bei schwacher Expression von CD20 und CD79b. Typischerweise ist eine Leichtkettenrestriktion (Igκ oder Igλ) und eine auffällige Verteilung der IGVH Schwerketten in der molekularen Fragmentlängenanalyse und/oder Durchflußzytometrie darstellbar. In der Zytologie des pB finden sich viele kleine, morphologisch reif wirkende Lymphozyten. Die Diagnose erfolgt gemäß WHO, wenn >5000/μl klonale B-Lymphozyten dieses Immunphänotyps im peripheren Blut über mindestens 3 Monate nachgewiesen werden. Liegt der Wert noch darunter und sind noch keine B-Symptome, Lymphadenopathie, Hepatomegalie, Splenomegalie, Zytopenie vorhanden, handelt es sich um eine Vorstufe, die als monoklonale B-Lymphozytose (MBL) bezeichnet wird, ähnlich dem MGUS vor Myelom oder M. Waldenström.

Krankheitsverläufe

Obwohl die Prognose bei CLL als eher „gut“ bezeichnet wird, treten individuell diametral unterschiedliche Krankheitsverläufe auf. Sie reichen von schnellem Progress und Tod binnen weniger Jahre bis hin zu einem kaum verminderten, langjährigen Überleben begleitet von „watch and wait“. Neben dem Alter, dem klinischen Binet Stadium und einem Beta-2 Mikroglobulinspiegel oberhalb von 3,5 mg/l, sind der IGVH-Status und Aberrationen von TP53, einem Tumorsuppressorgen auf Chromosom 17 (17p13.1),⁴ die zwei wichtigsten prognostischen Parameter IGVH-Status und TP53-Aberrationen bestimmen als „key predictors of outcome“ neben anderen Genmutationen die unterschiedliche Biologie bei CLL (ungünstig z.B. ATM, KRAS, MGA, POT1, NOTCH1, SF3B1, del11q, hoch komplexer Karyotyp > 5 Aberrationen).

IGVH-Status

Der IGVH-Status besteht bereits zu Beginn der Erkrankung und verändert sich im Krankheitsverlauf nicht mehr. Er ist für die initiale Prognose und Therapieentscheidung der CLL von allgemein anerkanntem Stellenwert („always“¹⁷). Als wichtiger Faktor zur Risikobewertung des Erkrankungsstatus⁴ beschreibt er das Ausmaß somatischer Hypermutationen der rearrangierten Immunglobulin-Schwerkettengene in der monoklonal expandierten B-Zellpopulation. 98-100% Sequenzidentität zur entsprechenden Keimbahnkonfiguration von IGVH gilt als Cut-off für „IGVH unmutiert“ versus „IGVH hypermutiert“. Ein unmutierter IGVH-Status, der bei ca. 50-60% der Patienten vorliegt, ist prognostisch ungünstig hinsichtlich OS, PFS und Therapieansprechen versus bisheriger Standardtherapien. Der IGVH-Status korreliert mit der mittleren Überlebenszeit ab dem Diagnosezeitpunkt (3,2-10 Jahre „unmutiert“ vs. 17,9-25,8 Jahre „hypermutiert“). Nach aktuell gängiger Einteilung¹⁸ ist eine Sequenzidentität von 97-97,99% zur entsprechenden Keimbahnkonfiguration von IGVH als „Borderline“ zu bezeichnen und eine prognostische Vorhersage nicht möglich.

Die genannten Cutoffs sind zwar Konsens in wichtigen Studien, differenzierte Betrachtungen zeigen jedoch eine kontinuierliche Verbesserung des OS proportional zum Grad der Hypermutation.

TP53 Mutationen und/oder Deletionen 17p13.1

sind von allgemein anerkanntem Stellenwert für die **Prognose und Therapieentscheidungen bei CLL** („always“¹⁷). Ein besonders hohes Progressionsrisiko ergibt sich bei ungünstiger Zytogenetik, d.h. z.B. Deletion 17p13.1 und/oder Punktmutation von TP53. TP53 liegt in 17p13.1 und ist bei 8-12% nicht vorselektierter B-CLL durch Punktmutation(en) geschädigt, oft in Kombination mit Deletionen 17p13.1, die bei 4-7% auftreten. Da beide Veränderungen (Mutation & Deletion) jederzeit neu auftreten können, muss jede neuerliche Therapieplanung, insbesondere bei Progress, die Bestimmung von TP53-Aberrationen mit beiden Methoden umfassen (Sequenzierung & FISH).³ Mutationen mit Variantenallelfrequenz (VAF) oberhalb von 10% sind ungünstig. Die klinische Signifikanz von TP53-Mutationen mit einer VAF von 5-10% wurde zwar noch nicht in prospektiven Studien evaluiert, neuere Erkenntnisse zeigen aber klar einen Trend zu einer analog-ungünstigen Bewertung¹⁰ und Selektion unter FCR.

Tabelle 1: Prognosefaktoren des CLL-IPI

Parameter CLL-IPI	Ungünstiger Faktor	Score	Hazard Ratio	P Wert
TP53 (17p)	Deletion oder Mutation	4	2,2	<0,0001
IgVH-Mutationsstatus	Unmutiert	2	2,6	<0,0001
Beta-2-Mikroglobulin	>3,5mg/L	2	2,0	<0,0001
Klinisches Stadium	Binet B/C oder Rai I-IV	1	1,6	<0,0001
Alter	>65 Jahre	1	1,7	<0,0001

Tabelle 2: CLL-IPI Risikogruppen

Risikogruppe	Score	OS nach 5 Jahren, %
Niedriges Risiko	0-1	93,2
Mittleres Risiko	2-3	79,3
Hohes Risiko	4-6	63,3
Sehr hohes Risiko	7-10	23,3

Erstlinientherapie¹ von CLL ohne Aberration von TP53, therapeutische Relevanz des IGVH-Status

Erstmals therapiebedürftige, körperlich fitte (go go) Patienten¹, jünger 65 Jahre, mit unmutiertem IGVH-Status profitieren ganz besonders von Ibrutinib (PFS, OS).⁵ Für IGVH hypermutierte Patienten, jünger 65 Jahre kann auch FCR eine Alternative darstellen. Für Patienten älter 65 Jahre wird Ibrutinib (verbessertes PFS)⁶ oder BR empfohlen.

Erstmals therapiebedürftigen, unfitten (slow go) Patienten¹ mit unmutiertem IGVH-Status wird Ibrutinib, Clb-Obi oder BR mit reduzierter Bendamustin-Dosis empfohlen.

Bei nur stabiler Erkrankung oder Progress besteht optional Zweitlinientherapie. Für Patienten, die eine PR oder CR erreichen, empfiehlt sich eher eine kontinuierliche Therapie.

Erstlinientherapie¹ von CLL *mit* Aberration von TP53

Erstmals therapiebedürftigen Patienten, ob „fit (go go)“ oder „unfit (slow go)“, wird unabhängig vom IGVH-Status Ibrutinib empfohlen. Bei stabiler Erkrankung oder Progress steht eine optionale Zweitlinientherapie an. Für Patienten, die eine PR oder CR erreichen, empfiehlt sich eine kontinuierliche Therapie. Sofern Ibrutinib individuell nicht geeignet scheint (NW, Allgemeinzustand), sind alternativ Venetoclax oder Idelalisib/Rituximab zu erwägen. Gebrechliche Patienten (no go) erhalten „best supportive care (BSC)“

Zweitlinientherapien

Der Algorithmus für die Rezidivtherapie hängt von Vortherapien, Alter und Komorbiditäten ab und findet sich schematisch in der Leitlinie zur CLL.¹

TP53 bei Zweitlinientherapie¹: CLL *ohne* Aberration von TP53

Unabhängig von „fit (go go)“ oder „unfit (slow go)“, wird nach Ibrutinib ein Wechsel auf Venetoclax/Rituximab empfohlen, in CR oder PR dann nur für fitte Patienten eine allogene SZT (falls möglich), ansonsten eine Erhaltungs-therapie. Ohne eine Ibrutinib Vortherapie kann bei Progress oder früh rezidivierter CLL auch Ibrutinib eine Alternative zu Venetoclax/Rituximab sein. Venetoclax plus Rituximab ist die bevorzugte Therapieoption für Patienten mit Spätrezidiv.^{7,1} Bei jeweils nur stabiler Erkrankung oder Progress wird eine optionale Drittlinientherapie durchgeführt.

TP53 bei Zweitlinientherapie¹, CLL *mit* Aberration von TP53

Unabhängig von „fit (go go)“ oder „unfit (slow go)“, wird entweder Ibrutinib oder Venetoclax/Rituximab empfohlen, in CR oder PR dann nur für fitte Patienten eine allogene SZT (falls möglich), ansonsten eine Erhaltungs-therapie. Bei jeweils nur stabiler Erkrankung oder Progress wird eine optionale Drittlinientherapie durchgeführt. Alle gebrechlichen Patienten (no go) erhalten „best supportive care (BSC)“

Molekulare Untersuchungen bei Verdacht auf Ibrutinib-Resistenz oder Venetoclax-Resistenz

Therapieinduzierte Resistenzen gegenüber *BTK* Inhibitoren wie z.B. Ibrutinib oder Dasatinib sind teils auf Mutationen des Gens *BTK* zurückzuführen. Die Mutation c.1421C>T für p.Thr474Ile ist mit Dasatinib-Resistenz assoziiert,¹⁴ während z.B. Mutationen c.1441T>G und c.1442G>C für p.Cys481Ser zur Resistenz versus Ibrutinib führen^{13,14}. Andere Mutationen finden sich im *BTK*-Adapterprotein *PLCG2*.

Therapieinduzierten Resistenzen gegenüber Venetoclax oder anderen *BH3* Mimetika liegen z.B. Mutationen im *BCL2/BAX* Weg zugrunde. Die Analyse eines Genpanels *BCL2, MCL1, BAX, BRAF* kann bei bereits begonnener Venetoclax Therapie und fehlendem Ansprechen bzw. neuerlichem Progress empfohlen werden. Nicht alle Resistenzentwicklungen können auf Mutationen in o.g. Genen zurückgeführt werden.¹⁵

Verbleibender Stellenwert der SZT in der Ära der gezielten Arzneimittel („Pathway Inhibitoren“): Die Leitlinie CLL misst der allogenen SZT vor allem noch Bedeutung bei CLL zu, die „resistent versus Chemoimmuntherapie und versus gezielten Arzneimitteln“ sind (genannt Hochrisiko-II). Gleiches gelte für Richter Transformation und guter Fitness. Bei Hochrisiko-I („resistent gegenüber Chemoimmuntherapie, TP53-Mutation, sensitiv gegenüber gezielten Arzneimittel“) könne „eine allogene Transplantation bei niedrigem Transplantationsrisiko (gut passender Spender, keine Komorbidität, <65 Jahre) erwogen werden“.

Mittlerweile liegen bei therapienaiven Hochrisiko CLL bereits vielversprechende Ergebnisse der Kombinationstherapie Ibrutinib/Venetoclax vor (MRD negative Remissionen).¹⁶

Methoden

IGVH: Multiplex PCR, bidirektionale Sanger-Sequenzierungen, Fragmentlängenanalysen zur Klonalitätsbestimmung. Durchführung und Bewertung von IGVH folgen den Empfehlungen des ERIC-Konsortiums.¹¹ Die Methode ist DAKKS akkreditiert und ERIC zertifiziert.

TP53: Immunmagnetische Anreicherung CD19+, massiv parallele Sequenzierung (next generation Sequenzierung, NGS), FISH 17p13.1 aus nativen Leukozyten (ergänzende Zytogenetik an Li.-Hep.-KM bleibt empfehlenswert zur Detektion hoch komplexer Karyotypen, außerdem eine FISH für 11q ATM). Die Methoden TP53 Sequenzierung und die FISH sind DAKKS akkreditiert, die TP53 Sequenzierung auch ERIC zertifiziert. Durchführung und Bewertung der TP53 Mutationsanalyse folgen den Empfehlungen des ERIC Konsortiums.¹² In der Regel werden Mutationen bis ~3% Signalanteil mit den verwendeten bioinformatischen Einstellungen detektiert.

Turnaround time: 1-2 Wochen für molekulare Analysen und FISH.

Material

Sequenzierung oder FISH: 2-10 ml peripheres EDTA-Blut
Zytogenetik: 2 ml Lithium-Heparin-Knochenmark

Kontakt

Molekulargenetik: Dr. Thomas Haverkamp, haverkamp@labmed.de
FISH: Dr. Daniela Ehling ehling@labmed.de

Literatur

- <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/chronische-lymphatische-leukaemie-cll/@/guideline/html/index.html>
- <http://tools.bat.inspire.org/arrest/assignsubsets//????>
- Campo et al, *Haematologica* 2018 Volume 103(12):1956-1968
- <https://www.qxmd.com/calculate/cll-ipi>) The International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 17:779-790, 2016. DOI:10.1016/S1470-2045(16)30029-8
- Shanafelt TD, Wang V, Kay NE, et al.: Ibrutinib-Rituximab or Chemoimmunotherapy for Chronic Lymphocytic Leukemia, *NEJM* 2019; 381:432 – 443
- Woyach JA, Ruppert AS et al.: Ibrutinib regimens versus Chemoimmunotherapy in older patients with Untreated CLL *NEJM* 2018; 379: 2517-2528
- Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst BF, et al. Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *NEJM* 2018;378:1107-1120, DOI:10.1056/NEJMoa1713976:
- Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, et al. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*, 2015;373:2425-2437. DOI:10.1056/NEJMoa1509388 and J. A. Burger et al.: Long-term efficacy and safety of firstline ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years follow-up from Phase 23 RESONATE-2 study *Leukemia* 2019, <https://doi.org/10.1038/s41375-019-0602-x> *Epub* 2019 Oct 18
- Projekt <http://www.ericll.org/wp-content/uploads/2019/06/ERIC-Project-on-TP53-Mutated-Minor-Clones-Analysis> und oral Talk Edinburgh 2019
- Rossi et al., *Blood* 2014 123:2139-2147; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-11-539726>
- Rosenquist et al., *Leukemia*. 2017 Jul;31(7):1477-1481. doi: 10.1038/leu.2017.125. *Epub* 2017 Apr 25.
- Malcikova et al., *Leukemia*. 2018 May;32(5):1070-1080. doi: 10.1038/s41375-017-0007-7. *Epub* 2018 Feb 2.
- Furman et al., *Blood* November 15, 2013 vol. 122 no. 21 4914
- Chang et al., 2013 ASCO Annual Meeting, Abstract Number: 7014
- Burger et al., 55th ASH Annual Meeting and Exposition, Session: 641, Oral Abstract 866
- Jain et al., *N Engl J Med* 2019; 380:2095-2103
- Hallek et al., *Blood* (2018) 131 (25): 2745-2760. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL
- R. Rosenquist et al., *Leukemia* volume 31, pages1477–1481(2017), „Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: updated ERIC recommendations“

Abkürzungen

BR	Bendamustin/Rituximab
BSC	Best Supportive Care
Clb-Obi	Chlorambucil/Obinutuzumab
CLL-IPI	Internationaler prognostischer Index bei CLL
CR	komplette Remission
FCR	Fludarabin/Cyclophosphamid/Rituximab
NW	Nebenwirkungen
OS	overall survival
PFS	Progressionsfreies Überleben
PR	partielle Remission
SZT	Stammzelltransplantation