

# Genexpressiederegulatie bij acute myeloïde leukemie: oorzaken, gevolgen en therapeutische relevantie

Gene expression deregulation in acute myeloid leukemia: causes, consequences and therapeutic relevance

dr. M. Luesink<sup>1</sup>

## Samenvatting

Op 24 juni 2013 promoveerde mw. drs. M. Luesink aan de Radboud Universiteit Nijmegen op haar promotieonderzoek, getiteld 'Gene expression deregulation in acute myeloid leukemia – causes, consequences, and therapeutic relevance', onder begeleiding van promotores dhr. prof. dr. J.H. Jansen en dhr. prof. dr. T.J.M. de Witte, en copromotor dhr. dr. B.A. van der Reijden. Hieronder zijn de belangrijkste bevindingen van het onderzoek weergegeven.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2014;11:134-6)

## Summary

The 24<sup>th</sup> of June 2013, M. Luesink defended her thesis entitled 'Gene expression deregulation in acute myeloid leukemia – causes, consequences, and therapeutic relevance' at the Radboud University Nijmegen under supervision of promotores professor J.H. Jansen, PhD, and professor T.J.M. de Witte, MD, PhD, and copromotor B.A. van der Reijden, PhD. The most important findings of this investigation are summarized in this report.

## Inleiding

Acute myeloïde leukemie (AML) is zowel klinisch als genetisch een heterogene ziekte. In leukemiecellen zijn diverse onderliggende genetische afwijkingen geïdentificeerd die de functie van belangrijke hematopoëtische transcriptiefactoren, signaaltransductiemoleculen en epigenetische regulatoren verstoren. Deze onderliggende genetische afwijkingen zijn sterk geassocieerd met de therapierespons en prognose van AML-patiënten, waardoor betere diagnostische classificatie en risicostratificatie mogelijk is. Dit heeft geleid tot de ontwikkeling van risicogestuurde behandelingen, waardoor de overleving van AML-patiënten is verbeterd. Desondanks overlijdt een aanzienlijk deel van de AML-patiënten nog steeds aan de gevolgen van de ziekte of behandeling, waardoor de ontwikkeling van nieuwe behandel mogelijkheden noodzakelijk is. Genetische afwijkingen in leukemiecellen kunnen een aangrijpingspunt zijn voor

de ontwikkeling van nieuwe behandelvormen. In dit proefschrift staat (de)regulatie van genexpressie tijdens de myeloïde differentiatie centraal. Kennis hieromtrent kan leiden tot verbetering van de prognostische classificatie en identificatie van nieuwe therapeutische 'targets' bij AML.

## De prognostische waarde van GATA2-expressie bij AML

'GATA binding protein 2' (GATA2) is een transcriptiefactor die betrokken is bij de regulatie van myeloïde differentiatie. In samenwerking met de afdeling Kinderoncologie-hematologie van het Erasmus MC hebben wij onderzoek gedaan naar deregulatie van GATA2 in een groot cohort pediatrische AML-patiënten (n=237). Bij 2,2% van de patiënten is een mutatie in het GATA2-gen aangetoond.<sup>1</sup> GATA2-mutaties komen met name voor bij patiënten met cytogenetisch normale (CN)-AML. De aanwezigheid van GATA2-mutaties bij CN-AML gaat ge-

<sup>1</sup>kinderarts in opleiding, Maastricht Universitair Medisch Centrum+, afdeling Kindergeneeskunde, P. Debyelaan 25, 6229 HX Maastricht, tel.: 043 387 65 43, e-mailadres: maaike.luesink@mumc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** acute myeloïde leukemie, chemokine, differentiatiesyndroom, microRNA, prognose, 'targeted' therapie, transcriptiefactor

**Keywords:** acute myeloid leukemia, chemokine, differentiation syndrome, microRNA, prognosis, targeted therapy, transcription factor

paard met mutaties in onder andere *NPM1*, *NRAS*, *CEBPA* en *WT1*, wat suggereert dat de combinatie van verschillende mutaties bijdraagt aan de ontwikkeling van AML. Analyse van een groot cohort van (CN-)AML-patiënten is nodig om de prognostische waarde van *GATA2*-mutaties bij AML te bepalen.

Met genexpressie-'arrays' hebben wij aangetoond dat bij 65% van de patiënten de expressie van *GATA2* bij diagnose hoger is dan in normaal beenmerg.<sup>1</sup> Normalisatie van *GATA2*-expressie werd gezien bij remissie van de ziekte, maar niet bij resistente ziekte. Dit wijst erop dat *GATA2* aberrant tot expressie komt bij AML. Door de heterogene expressie bij AML en de achtergrondexpressie in normale bloedcellen lijkt *GATA2* echter niet geschikt voor detectie van minimale restziekte. Wij hebben aangetoond dat hoge *GATA2*-expressie bij diagnose geassocieerd is met een slechte prognose bij kinderen met AML.<sup>1</sup> Bij multivariaatanalyse bleek dat hoge *GATA2*-expressie een onafhankelijke slecht-prognostische factor is voor de totale overleving (hazardratio [HR]=1,7; p=0,045), gebeurtenisvrije overleving (HR=2,1; p=0,002) en ziektevrije overleving (HR=2,3; p=0,004). De prognostische impact van *GATA2* is het meest uitgesproken bij specifieke AML-subgroepen, waaronder AML met FAB-M5-morfologie, *MLL*-translocaties, *inv(16)*, *FLT3-ITD* en *WT1*-overexpressie. Recente studies laten zien dat hoge *GATA2*-expressie ook is geassocieerd met een slechte prognose bij volwassenen met AML.<sup>2</sup> Wij veronderstellen dat *GATA2*-expressie zou kunnen bijdragen aan een betere risicostatificatie bij AML. Dit dient echter te worden getoetst in prospectieve studies.

### Regulatie van hematopoëtische transcriptiefactoren door microRNA-132

MicroRNA's zijn kleine, niet-coderende RNA-moleculen die de expressie van 'target'-genen 'down'-reguleren door blokkade van de translatie of afbraak van het 'messenger'-RNA van 'target'-genen. MicroRNA's zijn betrokken bij regulatie van de expressie van cruciale hematopoëtische transcriptiefactoren. Wij hebben de expressie van microRNA's tijdens de myeloïde differentiatie bestudeerd in myeloïde cellijnen en primaire myeloïde cellen. De expressie van microRNA-132 werd sterk geïnduceerd tijdens de uitrijping van myeloïde voorlopercellen tot granulocyten.<sup>3</sup> Wij hebben aangetoond dat microRNA-132 de expressie van *Wilms' Tumor 1 (WT1)* en *GATA2* kan reguleren, doordat beide hematopoëtische transcriptiefactoren directe 'target'-genen van microRNA-132 zijn.<sup>3</sup>

*WT1* en *GATA2* spelen een belangrijke rol in de regulatie van proliferatie, differentiatie en apoptose van myeloïde voorlopercellen. Deregulatie van beide transcriptiefactoren is geassocieerd met de ontwikkeling van myeloïde leukemie. Bij AML-patiënten worden zowel mutaties als overexpressie van *WT1* en *GATA2* beschreven.<sup>1</sup> Door regulatie van de expressie van *WT1* en *GATA2* zou microRNA-132 een belangrijke regulatoire rol kunnen spelen in de myeloïde. Daarnaast zou microRNA-132 een antileukemisch effect kunnen hebben, doordat microRNA-132 leukemiecellen met hoge *WT1*- en *GATA2*-expressie kan attaqueren.

### 'Targeted' therapie bij AML

Om de overleving van AML-patiënten te verbeteren, is ontwikkeling van nieuwe behandelingen die specifiek gericht zijn op de leukemiecellen ('targeted' therapie) van groot belang. Dit wordt reeds toegepast bij patiënten met acute promyelocytenleukemie (APL) waar met hoge dosis vitamine A ('all-trans retinoic acid'; ATRA) en/of arsenicum differentiatie en afbraak van leukemiecellen wordt geïnduceerd. Hierdoor is de overleving van APL-patiënten sterk verbeterd. Tijdens de inductiebehandeling overlijdt echter 5-17% van de patiënten door complicaties zoals bloedingen, infecties of het differentiatiesyndroom (DS). DS is een levensbedreigende aandoening die wordt gekenmerkt door een overmatige systemische inflammatoire respons met massieve infiltratie van differentiërende APL-cellen, met name in de longen. Wij hebben aangetoond dat de behandeling van APL-cellen met ATRA en/of arsenicum leidt tot een sterk verhoogde expressie en productie van chemokines, waardoor migratie en infiltratie van leukemische cellen wordt geïnduceerd.<sup>4</sup> Inductie van chemokines, integrines en adhesiemoleculen speelt een centrale rol in de pathogenese van DS.<sup>5</sup> De huidige behandeling van DS bestaat uit onderdrukking van de inflammatoire reactie met corticosteroiden. Dit lijkt echter met name effectief te zijn voor preventie en vroege behandeling van DS. Bij ernstige DS is het effect van corticosteroiden beperkt. Wij hebben aangetoond dat de sterk verhoogde expressie en productie van chemokines door APL-cellen na ATRA-behandeling niet wordt geremd door corticosteroiden.<sup>4</sup> Hierdoor kan infiltratie van APL-cellen in de long leiden tot een oncontroleerbare inflammatoire reactie. Het aberrante expressiepatroon van chemokines zou een aangrijpingspunt kunnen zijn voor de ontwikkeling van 'targeted' therapie met chemokine(receptor)antagonisten bij patiënten met DS.

## Aanwijzingen voor de praktijk

1. Deregulatie van de hematopoëtische transcriptiefactor *GATA2* treedt frequent op bij acute myeloïde leukemie (AML), waarbij zowel mutaties als overexpressie van *GATA2* voorkomen.
2. Hoge *GATA2*-expressie is een nieuwe onafhankelijke slecht-prognostische factor bij kinderen met AML die zou kunnen bijdragen aan verbetering van de risicostratificatie en risicogestuurde behandeling.
3. De hematopoëtische transcriptiefactoren *WT1* en *GATA2* zijn directe 'target'-genen van microRNA-132. Hierdoor zou microRNA-132 een belangrijke regulatoire rol kunnen spelen in de myelopoëse en een anti-leukemisch effect kunnen hebben.
4. Deregulatie van chemokines tijdens de behandeling van acute promyelocytenleukemie met ATRA en/of arsenicum is geassocieerd met de ontwikkeling van het differentiatiesyndroom, waarbij 'targeted' therapie met chemokine(receptor)antagonisten een effectieve behandelmogelijkheid zou kunnen zijn.

## Conclusie

In dit proefschrift beschrijven wij de regulatie van 2 belangrijke hematopoëtische transcriptiefactoren, *WT1* en *GATA2*, door microRNA-132. Deregulatie van beide transcriptiefactoren is geassocieerd met leukemie. Bij kinderen met AML hebben wij zowel mutaties als overexpressie van *GATA2* aangetoond. Wij hebben *GATA2* geïdentificeerd als nieuwe onafhankelijke slecht-prognostische factor. Dit kan bijdragen aan verbetering van de risicostratificatie en risicogestuurde behandeling. Deregulatie van genen in leukemiecellen biedt aanknopingspunten voor het ontwikkelen van 'targeted' therapie. Wij tonen aan dat deregulatie van chemokines tijdens de behandeling van APL geassocieerd is met de ontwikkeling van DS, waarbij 'targeted' therapie met chemokine-(receptor)antagonisten een effectieve behandelmogelijkheid zou kunnen zijn.

*De auteur stelt met plezier exemplaren van haar proefschrift ter beschikking aan belangstellenden.*

## Referenties

1. Luesink M, Hollink IH, Van der Velden V, et al. High *GATA2* expression is a poor prognostic marker in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;120:2064-75.
2. Vicente C, Vazquez I, Conchillo A, et al. Overexpression of *GATA2* predicts an adverse prognosis for patients with acute myeloid leukemia and it is associated with distinct molecular abnormalities. *Leukemia* 2012;26:550-4.
3. Luesink M, Nigten J, Knops GH, et al. The Wilms' Tumor 1 oncoprotein is targeted by microRNA-132 in myeloid cells. Submitted.
4. Luesink M, Pennings JL, Wissink WM, et al. Chemokine induction by all-trans retinoic acid and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia: triggering the differentiation syndrome. *Blood* 2009;114:5512-21.
5. Luesink M, Jansen JH. Advances in understanding the pulmonary infiltration in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010;151:209-20.

*Ontvangen 6 januari 2014, geaccepteerd 28 januari 2014.*