# Hämatologie: Myeloproliferative Syndrome – Eine Kinase folgt der anderen

Jean-François Lambert, Michel A. Duchosal

Service d'hématologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne

### **Einleitung**

Myeloproliferative Syndrome (MPS) sind durch die autonome klonale Proliferation der hämatopoietischen Stammzellen, insbesondere des Knochenmarks, charakterisiert, wobei die bevorzugte Zelldifferenzierung syndromspezifisch erhalten bleibt [1]. Neben der vorherrschenden Zellinie können somit auch klonale Zellen in allen anderen (myeloischen, erythrozytären, megakaryozytären, lymphatischen) Zellinien vorliegen.

Die wichtigsten Vertreter der myeloproliferativen Syndrome sind die chronische myeloische Leukämie (CML), die Polycythaemia vera (PV), die essentielle Thrombozythämie (ET) und die idiopathische Myelofibrose (IMF). Bei aller Verschiedenheit der Erscheinungsbilder beobachtet man regelmässig eine Proliferation des Knochenmarks, welche nach einer gewissen Latenz in eine akute myeloische Leukämie übergehen kann. Trotz vieler Fortschritte im Bereich der Diagnostik bestehen therapeutisch beim MPS derzeit ausser der durch myeloablative Vorbehandlung vorbereiteten allogenen Transplantation hämatopoietischer Stammzellen keine kurativen Möglichkeiten.

# Die Rolle der Tyrosinkinasen bei den MPS

Das Philadelphia-Chromosom (9;22-Translokation) wurde 1960 bei der CML und bei bestimmten akuten lymphoblastischen Leukämien entdeckt. Als Folge einer Fusion des BCR- mit dem ABL-Gen kommt es zu einer konstitutionell erhöhten Aktivität der ABL-Tyrosinkinase. Dieses Enzym katalysiert die Phosphorylierung zahlreicher Effektormoleküle, die insbesondere das Zellwachstum induzieren. Dies führt zu einer Ak-

Abkürzungen

CML chronische myeloische Leukämie

EPO Erythropoietin

ET essentielle Thrombozythämie IMF idiopathische Myelofibrose

JAK2 Januskinase 2

MPS myeloproliferatives Syndrom

PV Polycythaemia vera

STAT signal transducer and activator of transcription:

Messengergruppe

TPO Thrombopoietin

tivierung der Zellteilung, einer Suppression der Apoptose sowie zu einem Adhäsionsverlust am medullären Stroma, was eine Ausschüttung von Vorläuferzellen der Neutrophilen ins periphere Blut bewirkt. Seit 1996 steht ein spezifischer BCR-ABL-Hemmer (Imatinib) zur oralen Therapie zur Verfügung. Er hat sich in der Behandlung der CML als sehr effizient erwiesen. Die Wirkung ist dosisabhängig und leider nach dem Absetzen der Therapie reversibel.

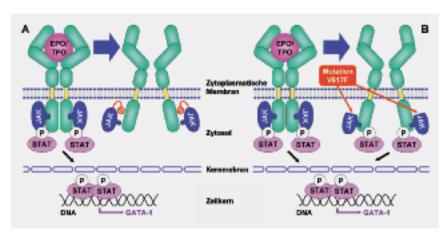
# Eine neue Tyrosinkinase, die bei den MPS, insbesondere bei der PV eine Rolle spielt

Vier Forschergruppen haben auf verschiedenen Wegen entdeckt, dass bei der Tyrosinkinase JAK2 (Januskinase 2) eine Mutation vorkommt, die zur Substitution von Valin durch Phenylalanin in Position 617 (V617F) führt. Diese Mutation erhöht die Aktivität der JAK2, und das kann genügen, um eine Polycythaemia vera herbeizuführen [2-5]. Schon früher hat man wegen der klonalen Vermehrung bei PV, ET und IMF vermutet, dass eine molekulare Veränderung vorliegt. Diese Beobachtung, zusammen mit der Entdeckung, dass bei einem Drittel der Patienten mit einer PV ein Verlust der Heterozygotie des Chromosoms 9 (9p24) besteht, hat Kralovics et al. dazu gebracht, in diese Richtung zu forschen, woraufhin die Forschergruppe auf die V617F-Mutation bei diesen Patienten stiess [2]. Baxter et al. haben das JAK2-Gen bei Patienten mit einer PV sequenziert und dabei die V617F-Mutation nachgewiesen [3]. Levine et al. haben 85 Tyrosinkinasen bei zahlreichen Patienten mit MPS geklont. Sie konnten die JAK2-Mutation ausschliesslich bei Patienten mit PV, ET und IMF belegen. Es gelang ihnen auch zu zeigen, dass es sich dabei um eine erworbene Mutation handelt [4]. Schliesslich haben James et al. siRNA-basierte JAK2-Inhibitoren eingesetzt, um den direkten Zusammenhang mit dem von Erythropoietin (EPO) unabhängigen Wachstum von Vorläuferzellen bei Patienten mit einer PV nachzuweisen [5].

Der molekulare Mechanismus zur Aktivierung der EPO- und Thrombopoietin-Rezeptoren steht in direktem Zusammenhang mit der Aktivität der JAK2; diese überträgt durch eine Messengergruppe (STAT, signal transducer and activator of transcription) das Signal zur Aktivierung der Transkription in den Zellkern. Die JAK2-Mutation befindet sich an der hemmenden Regulatordomäne und bewirkt eine anhaltende Aktivierung des Signalweges für EPO- und TPO-Rezeptoren, selbst bei fehlendem Liganden (Abb. 1 0) [6]. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Prävalenz von JAK2-V617F-Mutationen bei der PV nahezu 100% beträgt und sich bei der ET und bei der IMF in der Grössenordnung von 50% bewegt. In Tabelle 1 🚭 sind diese Beobachtungen zusammengefasst, wobei besonders auf die Bedeutung einer sensitiven Methode zur Früherfassung dieser Erkrankungen hingewiesen wird. Bei Studien zur Homozygotie bei der PV wurde festgestellt, dass sowohl Zellklone mit der Mutation auf einem als auch auf beiden Allelen vorkommen. Diese Homozygotie ist durch Rekombination bei der Mitose erworben. Dagegen findet man bei der ET und bei der IMF eine solche Homozygotie nicht, was darauf hinweisen könnte, dass eine Homozygotie bei diesen Erkrankungen deletär wirkt. Das Vorkommen von für diese Mutation heterozygoten Klonen erklärt, warum eine alleinige Sequenzierung für den Nachweis der Mutation weniger sensitiv ist als die allelspezifische PCR.

# Diagnostisches Vorgehen und Behandlung

Dank der Möglichkeit, die JAK2-V617F-Mutation in den Neutrophilen im peripheren Blut nachzuweisen, kann der Arzt nun diese Methode zur Abklärung der Ursache einer Erythrozytose



#### Abbildung 1

Signalweg der EPO- und TPO-Rezeptoren und die JAK2-V617F-Mutation.

Die EPO- und TPO-Rezeptoren sind Homodimere, bei denen der zytoplasmatische Teil durch das JAK2-Protein in Anwesenheit des Liganden phosphoryliert wird. Diese Aktivierung hat die Phosphorylierung von STAT zur Folge, welche dem Kern das Signal zur Proliferation übermittelt.

A) JAK2 verfügt über einen inhibitorischen Bereich, der die Reaktion unterbrechen kann, sobald der Ligand abgetrennt wird.

B) Die V617F-Mutation inaktiviert diesen hemmenden Bereich. Man vermutet, dass es damit zu einer autonomen Aktivierung von JAK2 ohne Bindung des Liganden kommen kann, wodurch ein verlängertes intrazelluläres Signal zur Proliferation übermittelt wird.

Tabelle 1. Prävalenz der JAK2-V617F-Mutation bei den MPS (nach Skoda et al. [7], mit freundlicher Genehmigung).

	PV	ET	IMF
Durch Sequenzierung	422/557	80/160	114/391
	(76%)	(50%)	(29%)
Durch allelspezifische PCR	71/73	8/16	29/51
	(97%)	(50%)	(57%)

oder Thrombozytose heranziehen. Die Methode ist in allen Universitätsspitälern der Schweiz verfügbar. Dieses neue Verfahren wird die minimalen diagnostischen Kriterien für diese Erkrankungen stark verändern, und man wird letztere in Zukunft prospektiv validieren müssen. Im folgenden möchten wir kurz zusammenfassen, welche Bedingungen zum gegenwärtigen Zeitpunkt hauptsächlich gegeben sein müssen, damit eine solche Untersuchung sinnvoll erscheint.

#### Verdacht auf eine PV

Ein Verdacht auf eine PV besteht, wenn das Hämoglobin bei Frauen >17 G/L bzw. >18,5 G/L bei Männern beträgt, ohne dass eine arterielle Hypoxie oder eine kardiopulmonale Erkrankung vorliegt. Der klinische Verdacht wird durch eine Neutrophilie, eine Thrombozytose oder eine Splenomegalie noch verstärkt. Wichtig ist es zu bedenken, dass die Messung des EPO wesentlich bleibt, um Erythrozythämien aufgrund eines erhöhten EPO zu erfassen (z.B. bei einer chronischen Hypoxie, einer Zystenniere, einem Hypernephrom, bei hyperaffinem Hämoglobin oder bei erhöhter Sensibilität auf eine Hypoxie bei vorliegender Mutation des von-Hippel-Lindau-Gens). Eine Abklärung auf ein beginnendes myeloproliferatives Syndrom, insbesondere auf eine PV, ist andererseits bei einer Portalvenenthrombose oder einem Budd-Chiari-Syndrom indiziert. Eine neue Studie zeigt, dass man in etwa 60% der Fälle mit einem Budd-Chiari-Syndrom ohne irgendwelche hämatologischen Befunde die V617F-Mutation finden kann [8].

## Verdacht auf eine ET

Bei einer Thrombozytose von >600 G/L, die länger als zwei Monate andauert, muss man zunächst eine chronische infektiöse Erkrankung oder einen Eisenmangel ausschliessen. Da die Häufigkeit der JAK2-Mutation bei der ET lediglich etwa 50% beträgt, ist der Test hier wenig sensitiv, jedoch spezifisch bei entsprechender Klinik. Mittels einer Knochenmarkpunktion lässt sich die starke Vermehrung reifer Megakaryozyten nachweisen, typischerweise ohne Dysplasie oder Fibrose. Eine BCR-ABL-Translokation sollte stets ausgeschlossen werden.

#### Verdacht auf eine IMF

Bei gleichzeitiger Thrombozytose (>400 G/L), Splenomegalie (>11 cm kraniokaudaler Durchmesser) und medullären Zellen im peripheren Blut (Myelozyten, Erythroblasten, Riesenthrombozyten) ist für den Nachweis einer Gewebefibrose eine Knochenmarkbiopsie indiziert.

#### **Behandlungsbasis**

Die Basis der PV-Therapie bilden eine Thromboseprophylaxe durch Plättchenaggregationshemmer (Acetylsalicylsäure), ein Aderlass, wenn keine Thrombozytose vorliegt, und Hydroxyharnstoff mit dem Ziel, den Hämatokrit zwischen 42 und 45% zu halten.

Die Behandlung der ET richtet sich nach dem Thromboserisiko. Das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen ist so tief wie möglich zu halten; ebenso ist es sinnvoll, Acetylsalicylsäure in geringen Dosen zu verschreiben. Eisenmangel gilt es zu vermeiden, da ein solcher die Plättchenbildung stimuliert. Bei Patienten mit mittlerem bis hohem Thromboserisiko muss man sich überlegen, ob man Hydroxyharnstoff zur Hemmung der Proliferation der Megakaryozyten und zur Verminderung der Plättchenzahl einsetzen will. Auch Anagrelid oder Interferon alpha kann man in zweiter Linie in Erwägung ziehen [9]. Bei jungen Patienten beugt eine Verminderung der Thrombozyten der Entwicklung einer Myelofibrose vor.

Bei der IMF existiert heute leider keine einfache wirksame symptomatische Therapie. Die IMF hat unter den MPS die schlechteste Prognose, und man sollte daher bei ansonsten gesunden Patienten frühzeitig eine allogene Transplantation der hämatopoietischen Stammzellen in Betracht ziehen.

### Zukünftige Entwicklungen

Die JAK2-V617F-Mutation wirft viele Fragen zu ihrer Rolle in der Pathogenese der MPS auf. Jede einzelne Form der MPS kann mit oder ohne diese Mutation auftreten, und die Mutation kommt bei MPS ganz unterschiedlicher biologischer und klinischer Prägung vor. In naher Zukunft werden Klassifikation und Therapie der MPS die Möglichkeit dieses Phänomens berücksichtigen müssen. Bei der CML können wir den Erfolg gezielter, die BCR-ABL-Tyrosinkinase hemmender Therapien (Imitanib, Nilotinib und Dasatinib) beobachten; man darf daher auch hoffen, dass uns dereinst für die Behandlung von MPS mit einer V617F-Mutation Medikamente zur Verfügung stehen werden, die spezifisch JAK2 oder dessen Signalweg hemmen.

#### Literatur

- 1 Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. Blood. 1951;6:372-5.
- 2 Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. N Engl J Med. 2005;352:1779–90.
- 3 Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet. 2005; 365:1054-61.
- 4 Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell. 2005;7:387–97.
- 5 James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythemia vera. Nature. 2005;434:1144–8.

- 6 Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Blood. 2006;107:4214–22.
- 7 Skoda R, Prchal JT. Chronic myeloproliferative disordersintroduction. Semin Hematol. 2005;42:181–3.
- 8 Patel RK, Lea NC, Heneghan MA, Westwood NB, Milojkovic D, Thanigaikumar M, et al. Prevalence of the activating JAK2 tyrosine kinase mutation V617F in the Budd-Chiari syndrome. Gastroenterology. 2006;130:2031–8.
- 9 Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, et al. Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. N Engl J Med. 2005; 353:33–45.

Korrespondenz:
Prof. Dr. med. Michel A. Duchosal
Service d'hématologie
Centre Hospitalier Universitaire
Vaudois BH10-517
Rue Micheli-du-Crest 24
CH-1011 Lausanne
michel.duchosal@chuv.ch