Genomic DNA breakpoints in MLL and translocation partner genes: correspondence to clinical parameters and treatment outcome in infants with acute leukemia

Grigory A. Tsaur[1], Claus Meyer[2], Anatoly M. Kustanovich[3], Alexander M. Popov[1], Tatiana O. Riger[1], Elena W. Fleischman[4], Olga I. Sokova[4], Yulia V. Olshanskaya[5], Elena A. Matveeva[5], Olga V. Streneva[1], Egor V. Shorikov[1], Leonid I. Saveliev[6], Rolf Marschalek[2], Larisa G. Fechina[1]

[1] Regional Children's Hospital N 1, Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg, Russian Federation
[2] Diagnostic Center of Acute Leukemia, Institute of Pharmaceutical Biology/ZAFES, Goethe-University of Frankfurt, Frankfurt/Main, Germany
[3] Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus
[4] N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center Russian Academy of Medical Science, Moscow, Russian Federation
[5] D. Rogachev Federal Research Institute of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation
[6] Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

Contact: Dr. Grigory A. Tsaur, Regional Children's Hospital N1, Ekaterinburg, Russian Federation
Phone/fax: +7 (343) 216 2517
E-mail: Grigory.Tsaur @gmail.com

Purpose

To evaluate the relation between genomic DNA breakpoints in MLL and translocation partner genes (TPG) and clinical parameters of infant AL.

Methods

87 infants (32 boys and 55 girls with median age of 4,9 mo) with MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia (ALL) (n=63), acute myeloid leukemia (AML) (n=22) and mixed phenotype acute leukemia (MPAL) (n=2) were included in the current study. Genomic DNA breakpoint detection in MLL gene and translocation partner genes (TPGs) was performed by long-distance inverse PCR (LDI-PCR). Exon-intron numbering of MLL gene was done according to I. Nilson et al, 1996.

Results

Majority of ALL cases was characterized by presence of MLL-AF4 fusion gene (FG) (n=35; 55%), less frequently MLL-MLLT1 (n=12; 22%), MLL-MLLT3 (n=8; 13%) and others were found. The most common breakpoint location within MLL gene in ALL patients was intron 11, detected in 31 cases (49%), less frequently breakpoints in intron 10 (n=13; 21%) and intron 9 (n=9; 14%) were found. The highest variability of MLL breakpoints was found in MLL-AF4-positive patients: only 15 of 35 (43%) had breakpoints in intron 11. The most stable pattern of MLL genomic DNA breakpoints was observed in MLL-MLLT1-positive patients: 9 of 14 (64%) had breakpoints in intron 11. In AML patients the most prevalent FG was MLL-MLLT3 (n=8; 36%). The most frequent breakpoint location was intron 9 (n=10; 45%), less often they were found in intron 10 (n=5; 23%) and 11 (n=4; 18%). The most stable pattern was revealed for MLL-MLLT10 FG: MLL breakpoints in 4 of 5 (80%) cases were found in intron 9. In TPGs the most frequent breakpoint locations were as follows: in AF4 – intron 3 (n=25; 69%) and intron 4 (n=7; 19%); in MLLT1 – non-coding region between ACER1 and MLLT1 (n=9; 60%) and intron 1 (n=5; 33%); in MLLT3 – intron 5 (n=13; 81%); in MLLT10 – intron 8 and intron 9 (n=2; 33% each); in EPS15 – intron 1 (n=3; 75%). The pattern of breakpoints locations in TPGs was similar in ALL, AML and MPAL cases. Distribution of DNA breakpoints in MLL gene was similar in boys and girls and did not depend on type of TPG. ALL patients who had breakpoints in intron 11 were significantly younger than all other patients (3,1 vs 5,6 mo p=0,035), mainly due to the difference to intron 9 patients (3,1 vs 6,6 mo p=0,040). We did not find any correlation between gender and initial white blood count to the MLL breakpoints distribution. In AML cases there was not any correlation between age, gender, initial white blood count and specific locations of breakpoints in MLL gene. We evaluated prognostic significance of MLL breakpoint locations in 46 cases of infant ALL homogenously treated by MLL-Baby protocol. 5-year EFS was significantly lower in patients with breakpoints in intron 11 (n=29) in comparison to patients with breakpoint localized from intron 7 to exon 11 (n=17) (0,16±0,07 vs 0,38±0,14 p=0,039). While cumulative incidence of relapse was remarkably higher in the first group of patients (0,74±0,09 vs 0,52±0,17 p=0,045). Median

follow-up time was 36 months (range 20–94). Although in Cox regression model including breakpoint location in intron 11 together with age, immunophenotype, initial white blood cell count, initial CNS involvement, type of MLL rearrangements, absolute blast number at day 8 of dexamethasone pro-phase, minimal residual disease (MRD) at time point 4 (TP4) of MLL-Baby protocol, the only significant covariate was the presence of MRD at TP4 (HR 5.994, 95% CI 2,209-16,263, p<0,001).

Conclusions

Among MLL TPG the most stable distribution of breakpoints was in MLLT1, the most heterogeneous in AF4 и MLLT10. The most common breakpoint position in MLL gene in infants with ALL was intron 11, in AML intron 9. Breakpoints in intron 11 of MLL gene led to significantly worse outcome in infants with ALL, treated by MLL-Baby protocol, although this parameter was overcome by MRD-positivity at TP4. The latter one was the only independent covariate in multivariate analysis. Our data provide additional information of molecular genetic features of MLL-rearranged infant AL.

Keywords

Acute leukemia, infants, 11q23/MLL rearrangements, MLL-Baby, treatment outcome.

Геномная точка разрыва в MLL и генах-партнерах: взаимосвязь с клиническими характеристиками и исходами терапии у детей первого года жизни с острыми лейкозами

Григорий А. Цаур[1], Клаус Майер[2], Анатолий М. Кустанович[3], Александр М. Попов[1], Татьяна О. Ригер[1], Елена В. Флейшман[4], Ольга И. Сокова[4], Юлия В. Ольшанская[5], Елена А. Матвеева[6], Ольга В. Стренева[1], Егор В. Шориков[1], Леонид И. Савельев[1, 6], Рольф Маршалек[2], Лариса Г. Фечина[1]

[1] Областная детская клиническая больница №1, Институт Медицинских клеточных технологий, Екатеринбург, Российская Федерация

[2] Диагностический центр острых лейкозов, Институт Фармацевтической биологии/ЗАФЕС, Университет имени В. Гете Франкфурта-на-Майне, Франкфурт-на-Майне, Германия

[3] Республиканский центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

[4] Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва, Российская Федерация

[5] Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва, Российская Федерация

[6] Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Российская Федерация

Цель

Оценить взаимосвязь между локализацией точек разрыва в геномной ДНК гена MLL и генов-партнеров с клиническими характеристиками острых лейкозов (ОЛ) у детей первого года жизни.

Методы

В исследование было включено 87 детей первого года жизни (32 мальчика и 55 девочек с медианой возраста 4,9 мес) с MLL-позитивным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) (n=63), острым миелоидным лейкозом (ОМЛ) (n=22), острым лейкозом смешанной линейности (n=2). Точка разрыва в геномной ДНК гена MLL и генов-партнеров была определена методом длинной инвертированной ПЦР. Нумерация экзонов и интронов гена MLL дана по работе I. Nilson et al, 1996.

Результаты

Наиболее частым химерным геном (ХГ) выявленным у пациентов с ОЛЛ был MLL-AF4 (n=35, 55%), реже выявлялись MLL-MLLT1 (n=13, 21%), MLL-MLLT3 (n=8, 13%) и другие ХГ. Наиболее частой точкой разрыва в ДНК гена MLL у пациентов с ОЛЛ являлся интрон 11 (n=31, 49%), менее часто разрывы локализовались в интроне 10 (n=13, 21%) и интрон 9 (n=9, 14%). Наибольшая вариабельность точек разрыва в ДНК гена MLL наблюдалась при наличии ХГ MLL-AF4: только 15 из 35 (43%) имели точку разрыва в интроне 11. Наиболее стабильный рисунок был характерен для пациентов с ХГ MLL-MLLT1:

в 9 из 14 случаев (64%) точка разрыва локализовалась в интроне 11. У пациентов с ОМЛ наиболее частым ХГ являлся MLL-MLLT3 (n=8, 36%), а самой частой точкой разрыва в геномной ДНК гена MLL – инрон 9 (n=10, 45%), реже обнаруживались точки разрыва в интронах 10 (n=5, 23%) и 11 (n=4, 18%). Наибольшая стабильность точек разрыва в ДНК гена MLL показана для ХГ MLL-MLLT10: 4 из 5случаев (80%) в интроне 9. Среди генов-партнеров MLL наиболее частыми локализациями точек разрыва являлись: в гене AF4 – интрон 3 (n=25, 69%) и 4 (n=7, 19%), в гене MLLT1 – некодирующий регион между генами ACER1 и MLLT1 (n=9, 60%) и интрон 1 (n=5, 33%), в гене MLLT3 – интрон 5 (n=13, 81%), в гене MLLT10 – интроны 8 и 9 (n=2, 33% в обоих случаях), в гене EPS15 – интрон 1 (n=3, 75%). Расположение точек разрыва в генах-партнерах MLL было сходным при ОЛЛ, ОМЛ и ОЛ смешанной линейности. Пациенты с ОЛЛ, у которых точка разрыва располагалась в интроне 11, были младше всех остальных (3,1 и 5,6 мес, соответственно, p=0,035), в первую очередь благодаря разнице в возрасте с пациентами с точкой разрыва в интроне 9 (6,6 мес, p=0,040). У пациентов с ОМЛ не было найдено взаимосвязи между возрастом, полом, инициальным лейкоцитозом, типом гена-партнера и распределением точек разрыва в ДНК гена MLL. При оценке прогностической значимости локализации точек разрыва в ДНК гена MLL у 46 детей первого года жизни с ОЛЛ, включенных в исследование MLL-Baby, было показано, что 5-летняя бессобытийная выживаемость (БСВ) у пациентов с точкой разрыва в 11 интроне (n=29) была достоверно ниже, чем у пациентов с локализацией точек разрыва, начиная с 7 интрона по 11 экзон (n=17) (0,16±0,07 и 0,38±0,14 p=0,039). Одновременно с этим кумулятивная вероятность развития рецидива была значительно выше в группе с точкой разрыва в 11 интроне (0,74±0,09 и 0,52±0,17 p=0,045). Медиана времени наблюдения составила 36 месяцев (диапазон 20-94 мес). В то же время при проведении многовариантного регрессионного анализа по методу Кокса с включением в модель точки разрыва в 11 интроне, возраста, иммунофенотипа, инициального лейкоцитоза, инициальной нейролейкемии, типа перестройки гена MLL, абсолютного количества бластных клеток на 8 день профазы и минимальной остаточной болезни (МОБ) в точке наблюдения 4 (ТН4) было показано, что единственным значимым фактором остается сохранение МОБ в ТН4 (Отношение опасности 5,994, 95% ДИ 2,209-16,263, p<0,001).

Заключение

Среди генов-партнеров MLL наиболее стабильное распределение точек разрыва в гене MLLT1, наиболее гетерогенное – в генах AF4 и MLLT10. Самой частой точкой разрыва ДНК гена MLL у детей первого года жизни с ОЛЛ являлся интрон 11, при ОМЛ – интрон 9. При ОЛЛ у детей первого года жизни, получавших лечение по протоколу MLL-Baby, наличие точки разрыва в ДНК гена MLL в интроне 11 вело к достоверно более низким показателям БСВ и более высокой кумулятивной вероятности развития рецидива. Однако в многофакторной модели риска единственным значимым показателем оставалось сохранение МОБ в ТН4. Таким образом, представленные данные дают дополнительную информацию о молекулярно-генетических характеристиках ОЛ, ассоциированных с перестройками гена MLL.

Ключевые слова

Острые лейкозы, дети первого года жизни, перестройки 11q23/MLL, MLL-Baby, исходы терапии.