

*Г.А. Цаур^{1,2,3}, А.Е. Друй^{2,4},
Л.И. Савельев^{1,2,3}, Л.Г. Фечина^{1,2}*

ДИАГНОСТИКА BCR-ABL1-ПОДОБНОГО ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА

¹ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;

²ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»,
г. Екатеринбург, Российская Федерация;

³ГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский
университет», г. Екатеринбург, Российская Федерация;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии
им. Д. Рогачева», г. Москва, Российская Федерация

Термин «*BCR-ABL1*-подобный острый лимфобластный лейкоз» (ОЛЛ) в 2016 году был включен экспертами Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в качестве предварительной классификационной единицы в раздел В-лимфобластных лейкозов/лимфом современной классификации миелоидных новообразований и острых лейкозов [1]. Несмотря на это, на сегодняшний день отсутствует единая трактовка этого понятия, более того существуют два близких по своей сути термина, которые появились практически одновременно в 2009 году: собственно «*BCR-ABL1*-подобный ОЛЛ», введенный голландскими исследователями из Медицинского центра университета Эразма Роттердамского (Роттердам, Нидерланды) [2] и «Ph-подобный ОЛЛ», предложенный группой из США, объединившей ученых из госпиталя St Jude и Children's Oncology Group (COG) [3, 4].

Оба эти термина являются производными от набора использовавшихся зондов в двух разновидностях экспрессионных чипов высокой плотности U133A и U133 Plus 2 GeneChips, разработанных для транскриптомного анализа компанией Affymetrix (США). Группа под руководством M. den Boer (Нидерланды)

применила иерархический кластерный подход для анализа экспрессии 110 зондов [2], которые ранее показали высокую эффективность в выделении основных подгрупп ОЛЛ у детей: Т-линейного ОЛЛ, ОЛЛ с транслокациями $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, высокой гипердиплоидией (модальное число хромосом в опухолевых бластах 51-65), перестройками генов *TCF3* и *MLL* [5,6]. Исследователи из США, руководимые Ch. Mullighan, использовали для описания новой подгруппы ОЛЛ классификатор, построенный на основании т.н. предсказательного анализа биологических чипов (PAM — prediction analysis of microarrays), который был получен путем выбора значений экспрессии 257 зондов к генам, отличающих группу Ph-позитивного ОЛЛ от Ph-негативного среди пациентов высокой группы риска [3, 4]. Необходимо отметить, что общими в двух использованных классификаторах оказались всего 9 зондов к 7 генам (*CCND2*, *SH3BP5*, *ABL1*, *SOCS2*, *DUSP6*, *LST1*, *EGFL7*) [7]. Также интересно подчеркнуть, что многие из генов, использованных для выделения как группы *BCR-ABL1*-подобного, так и Ph-подобного ОЛЛ не имели какой-либо патогенетической связи с развитием В- или Т-лимфоцитов, а их вклад в развитие ОЛЛ не ясен [2, 8].

В чем же сходство и различия этих терминов?

Они оба характеризуют особую группу ОЛЛ из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ), для которой типичны следующие общие характеристики: профиль экспрессии генов, схожий со случаями с наличием транслокации $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, неблагоприятный прогноз при использовании традиционной терапии, применимость как для детей, так и для взрослых с ВП-ОЛЛ, существенно более частое выявление у этих пациентов делеций в гене *IKZF1*, внутрихромосомной амплификации участка длинного плеча хромосомы 21 (т.н. iAMP21 — intrachromosomal amplification of chromosome 21), а также более высокая частота встречаемости химерных генов с участием тирозинкиназ *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *CSFR1*, *CRLF2*, *JAK2*. В то же время имеются и существенные отличия *BCR-ABL1*-подобного и Ph-подобного

профиля экспрессии: разные математические алгоритмы (иерархический кластерный анализ и РАМ, соответственно), различия в этническом происхождении пациентов, которые были включены в анализ (европейцы и американцы с большой долей выходцев из Латинской Америки), неоднородные группы сравнения (все группы риска ОЛЛ и Ph-негативный ОЛЛ высокой группы риска исходя из возраста старше 12 лет для мальчиков и 16 лет для девочек, пола, инициального гиперлейкоцитоза, инициального нейролейкоза или поражения яичек, наличия перестроек гена *MLL*), разные генетические подгруппы, ассоциированные с тем или иным профилем экспрессии (более частое выявление $\text{dic}(9;20)(\text{p}11-13;\text{q}11)$ и сочетание с мутациями в *JAK2*, гиперэкспрессией и перестройками *CRLF2*, соответственно) [3, 7, 8, 9].

Интересно проследить эволюцию термина «Ph-подобный ОЛЛ» в американской научной литературе. Сразу после публикации работы M. den Boer, в которой впервые был предложен термин «*BCR-ABL1*-подобный ОЛЛ», группой COG в 2009-2010 использовался именно он [4, 10]. Но уже в 2012 году K. Roberts с соавт. впервые использовали термин «Ph-подобный ОЛЛ» [8], далее, на протяжении 2013 года, оба термина существовали вместе и использовались в виде «*BCR-ABL1*-подобный или Ph-подобный ОЛЛ» [11, 12], а, начиная с 2015 года, закрепился и используется термин «Ph-подобный ОЛЛ» [13-17]. Частично это связано с описанными выше различиями [7, 18], а, возможно, и с нежеланием делить пальму первенства с европейцами.

Мы, признавая имеющиеся между двумя классификаторами различия, в дальнейшем в большей степени сконцентрируемся на схожести этих подгрупп пациентов, и будем использовать рекомендованный ВОЗ термин «*BCR-ABL1*-подобный ОЛЛ».

Частота встречаемости BCR-ABL1-подобного ОЛЛ

Частота встречаемости *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ в европейских странах составляет 13-15% от всех случаев ОЛЛ у детей до 18 лет, если же убрать из расчетов случаи Т-линейного ОЛЛ, то эта величина увеличится до 15-19% от ВП-ОЛЛ [2, 19]. В США среди пациентов стандартной группы риска (со-

гласно критериям Национального института рака США, NCI), частота выявления *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии около 14% [17], что несколько ниже, чем у пациентов высокой группы риска (20%), сформированной как на основании инициальных показателей (возраст 10 лет и старше, лейкоцитоз выше $50 \times 10^9/\text{л}$, нейрорлейкоз, поражение яичек), так и величины минимальной остаточной болезни (МОБ) выше или равной 0,01% на момент окончания индукционной терапии по данным точной цитометрии [16].

У подростков и молодых взрослых данный тип ОЛЛ выявляется несколько чаще, по сравнению с детьми в возрасте до 15 лет. Так, в возрасте 16-20 лет частота обнаружения *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ составляет 21% от случаев ВП-ОЛЛ в США, достигая пика в 27% в возрастной группе 21-39 лет [13, 15], что несколько расходится с европейскими данными, показывающими наибольшую частоту в возрасте 16-20 лет (19-25%), и снижение у пациентов 21-39 лет (18-19%) [20, 21]. Однако, исследования у взрослых проведены на относительно небольшом количестве пациентов, поэтому должны приниматься во внимание с осторожностью.

Генетическая гетерогенность BCR-ABL1-подобного ОЛЛ

Несмотря на схожесть результатов экспрессионного анализа, который позволил охарактеризовать и выделить *BCR-ABL1*-подобный ОЛЛ, внутри себя эта группа крайне неоднородна.

Одним из типичных признаков *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ является высокая экспрессия белка *CRLF2*, которая тесно взаимосвязана с перестройками *CRLF2*, такими как *IGH-CRLF2* и *P2RY8-CRLF2*, а также с активирующими мутациями в сигнальном пути JAK-STAT. Гиперэкспрессия *CRLF2* также типична для пациентов с ОЛЛ при синдроме Дауна [22], у которых часто определяется *BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии генов [14]. Высокая экспрессия *CRLF2* более характерна для детей с ОЛЛ у выходцев из Латинской Америки, у которых чаще выявляется химерный ген *IGH-CRLF2* [23], по сравнению с лицами европейского происхождения, у которых преобладает *P2RY8-*

CRLF2 [9, 24, 25]. Также химерный ген *IGH-CRLF2* более типичен, чем *P2RY8-CRLF2* для взрослых пациентов с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ [21].

Изначально существовало мнение, что практически все случаи гиперэкспрессии *CRLF2* связаны с образованием химерных генов с участием этого гена [23], которые возникают вследствие транслокации *CRLF2* в хромосомный район 14q32 с образованием *IGH-CRLF2*, либо из-за фокальной делеции участка псевдоаутосомного региона PAR1 на X или Y хромосоме с образованием *P2RY8-CRLF2* или *CSF2RA-CRLF2*.

Однако позднее выяснилось, что это не совсем так. Группа AIEOP-BFM показала, что примерно в 20% случаев гиперэкспрессия *CRLF2* была связана с наличием дополнительных копий *CRLF2* в геноме [25]. Однако в этой работе не приводились данные, были ли в группе с дополнительными копиями *CRLF2* пациенты с высокой гипердиплоидией, для которой типично наличие трисомии (реже тетрасомии) X [26]. Это важно по той причине, что одна из копий *CRLF2* расположена на X хромосоме. Еще более высокие цифры были получены в США группами COG и St Jude. По их данным среди пациентов стандартной группы риска NCI с гиперэкспрессией *CRLF2* при *BCR-ABL1*-подобном ОЛЛ около 40% пациентов имели либо дополнительные копии гена *CRLF2*, либо дубликации X или Y хромосом. А суммарная доля *IGH-CRLF2* и *P2RY8-CRLF2* в этой группе составила всего 48,8% от числа пациентов с гиперэкспрессией *CRLF2* [17]. В группе высокого риска NCI доля пациентов с перестройками *CRLF2* была выше (80% от случаев с гиперэкспрессией *CRLF2*) за счет увеличения числа случаев с наличием *IGH-CRLF2* (почти 40% от случаев с гиперэкспрессией *CRLF2*) [16]. Более подробная информация о частоте встречаемости гиперэкспрессии *CRLF2*, химерных генов с участием *CRLF2*, активирующих мутаций в *JAK-STAT* у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска NCI дана в табл. 1

Таблица 1

Частота встречаемости гиперэкспрессии *CRLF2*, химерных генов с участием *CRLF2*, активирующих мутаций в *JAK-STAT* у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска NCI [16, 17]

Показатель	<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов стандартной группы риска NCI			<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов высокой группы риска NCI		
	абс	Доля от всей группы (n=139), %	Доля от случаев с гиперэкспрессией <i>CRLF2</i> (n=84), %	абс	Доля от всей группы (n=284), %	Доля от случаев с гиперэкспрессией <i>CRLF2</i> (n=155), %
Гиперэкспрессия <i>CRLF2</i>	84	60,4	—	155	54,6	—
Увеличение числа копий <i>CRLF2</i>	36	25,8	42,8	н.д.*	—	—
Всего перестроек <i>CRLF2</i>	41	29,5	48,8	124	43,7	80,0
Химерный ген <i>P2RY8-CRLF2</i>	36	25,8	42,8	63	22,2	40,6
Химерный ген <i>IgH-CRLF2</i>	5	3,6	5,9	61	21,5	39,4
Всего мутаций <i>JAK-STAT</i>	14	10,1	16,7	63	22,2	40,6
Мутации <i>JAK1</i>	—	—	—	10	3,5	6,5
Мутации <i>JAK2</i>	14	10,1	16,7	46	16,2	29,7
Мутации <i>IL7R</i>	—	—	—	8	2,8	5,2

Одним из краеугольных камней в изучении *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ стала совместная публикация Детского исследовательского госпиталя St. Jude и группы COG, в которой с использованием методов полногеномного и транскриптомного анализа было показано, что в группе пациентов с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ были обнаружены перестройки *ABL1*, *JAK2*, *PDGFRB*, *CRLF2* и *EPOR* [8]. В ходе этой работы был впервые найден химерный ген *EBF1-PDGFRB*, который в настоящее время считается одним из типичных представителей т.н. химерных генов *ABL1*-класса при этом типе ОЛЛ, а также впервые при

ВП-ОЛЛ описаны химерные гены *NUP214-ABL1* (ранее выявлявшийся при Т-линейном ОЛЛ [27]), *BCR-JAK2* (был описан при ОМЛ [28] и ХМЛ [29]), *STRN3-JAK2* и *RANBP2-ABL1*. Частота встречаемости химерных генов и мутаций, активирующих киназы у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска NCI приведена в табл. 2.

Таблица 2
Частота встречаемости химерных генов и мутаций, активирующих киназы у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска NCI [16, 17]

Показатель	<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов стандартной группы риска NCI			<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов высокой группы риска NCI		
	абс	Доля от всей группы (n=139), %	Доля от случаев без перестроек <i>CRLF2</i> (n=95), %	абс	Доля от всей группы (n=284), %	Доля от случаев без перестроек <i>CRLF2</i> (n=156), %
Общее количество случаев с наличием химерных генов и мутаций, активирующих киназы	13	9,4	13,7	113	39,8	72,4
Перестройки <i>ABL1</i>-класса (всего)	2	1,4	2,1	40	14,1	25,6
Химерные гены с участием <i>ABL1</i>	1	0,7	1,1	17	6,0	10,9
Химерные гены с участием <i>ABL2</i>	—	—	—	4	1,4	2,6
Химерные гены с участием <i>PDGFRB</i>	1	0,7	1,1	15	5,3	9,6
Химерные гены с участием <i>CSFR1</i>	—	—	—	4	1,4	2,6
Перестройки <i>EPOR</i> и <i>JAK2</i> (всего)	2	1,4	2,1	25	8,8	16,0
Химерные гены с участием <i>JAK2</i>	2	1,4	2,1	14	4,9	9,0
Химерные гены с участием <i>EPOR</i>	—	—	—	11	3,9	7,1

Показатель	<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов стандартной группы риска NCI			<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ у пациентов высокой группы риска NCI		
	абс	Доля от всей группы (n=139), %	Доля от случаев без перестроек <i>CRLF2</i> (n=95), %	абс	Доля от всей группы (n=284), %	Доля от случаев без перестроек <i>CRLF2</i> (n=156), %
Перестройки «других» киназ (всего)	1	0,7	1,1	2	0,7	1,3
Химерные гены с участием <i>NTRK3</i>	1	0,7	1,1	1	0,4	0,6
Химерные гены с участием <i>LYN</i>	—	—	—	1	0,4	0,6
Мутации <i>JAK-STAT</i> (всего)	2	1,4	2,1	23	8,1	14,7
Мутации <i>JAK1</i>	—	—	—	2	0,7	1,3
Мутации <i>IL7R</i>	2	1,4	2,1	14	4,9	9,0
Мутации <i>SH2B3</i>	—	—	—	7	2,5	4,5
Мутации <i>RAS</i> (всего)	6	4,3	6,3	19	6,7	12,2
Мутации <i>KRAS</i>	4	2,9	4,2	11	3,9	7,1
Мутации <i>NRAS</i>	2	1,4	2,1	6	2,1	3,8
Мутации <i>NF1</i>	—	—	—	1	0,4	0,6
Мутации <i>PTPN</i>	—	—	—	1	0,4	0,6
Мутации «других» киназ (всего)	—	—	—	10	3,5	6,4
Мутации <i>FLT3-ITD</i>	—	—	—	10	3,5	6,4

Еще одной повторяющейся находкой у пациентов с пациентами с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ, выявленной К. Roberts с соавт., стали активирующие мутации в *IL7R* и *FLT3* [8]. Так в частности это были небольшие вставки в трансмембранный домен рецептора интерлейкина 7, ведущие к его гиперэкспрессии (схожие мутации уже были ранее описаны при Т-ОЛЛ и ВП-ОЛЛ у детей [30-32], а также мутация *FLT3-ITD*, типичная для ОМЛ.

Несколько позднее все генетические находки при *BCR-ABL1*-подобном ОЛЛ были разделены на несколько подгрупп, исхо-

для из вовлечения тех или иных групп генов: первая подгруппа — химерные гены *ABL1*-класса, которым относят перестройки (химерные гены) собственно гена *ABL1*, а также *ABL2*, *CSF1R*, *PDGFRB*; вторая подгруппа — это перестройки (не мутации!) генов *EPOR* и *JAK2*, третья группа — перестройки *CRLF2*, которые могут изолированными или же сочетаться с мутациями в генах янус-киназ (*JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *IL7R*); четвертая подгруппа — т.н. «другие активирующие мутации в сигнальном пути JAK–STAT, куда входят мутации в *IL7R*, *FLT3*, *SH2B3*, *JAK1*, *JAK3*, *TYK2*, *IL2RB*, пятая подгруппа — мутации в сигнальном пути RAS, к которому относятся KRAS, NRAS, NF1, RPTN11 [13].

Относительная частота встречаемости различных генетических подгрупп у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска по критериям NCI представлена на рис. 1. и в табл. 3.

Таблица 3
Сравнение частоты встречаемости химерных генов и мутаций, активирующих киназы, у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска и МОБ [16, 17]

Показатель	Высокая группа риска NCI (n=884)	Стандартная группа риска NCI МОБ+* (n=505)	Стандартная группа риска NCI (n=1023)	p**
<i>BCR-ABL1</i> -подобный ОЛЛ	198 (22,4%)	86 (17,0%)	139 (13,6%)	<0,0001
Всего перестроек <i>CRLF2</i>	96 (10,9%)	29 (5,7%)	41 (4,0%)	<0,0001
Химерный ген <i>P2RY8-CRLF2</i>	40 (4,5%)	24 (4,8%)	36 (3,5%)	0,29
Химерный ген <i>IgH-CRLF2</i>	56 (6,3%)	5 (1,0%)	5 (0,5%)	<0,0001
Всего перестроек <i>CRLF2</i> с мутациями <i>JAK-STAT</i>	46 (5,3%)	17 (3,4%)	14 (1,7%)	<0,0001
Всего перестроек <i>CRLF2</i> без мутаций <i>JAK-STAT</i>	50 (5,7%)	12 (2,4%)	27 (2,6%)	0,001
Случаи без перестроек <i>CRLF2</i>	102 (11,5)	57 (11,3)	98 (9,6)	

Показатель	Высокая группа риска NCI (n=884)	Стандартная группа риска NCI МОБ+* (n=505)	Стандартная группа риска NCI (n=1023)	p**
Перестройки <i>ABL1</i> -класса***	35 (4,0)	5 (1,0)	2 (0,2)	<0,0001
Химерные гены с участием <i>JAK2</i>	9 (1,0)	5 (1,0)	2 (0,2)	0,029
Химерные гены с участием <i>EPOR</i>	11 (1,2)	—	—	<0,0001
Другие мутации <i>JAK-STAT</i> ****	12 (1,4)	6 (1,2)	2 (0,2)	0,0049
Мутации <i>RAS</i> *****	6 (0,7)	11 (2,2)	6 (0,6)	0,99
Перестройки и мутации «других» киназ*****	7 (0,8)	6 (1,2%)	1 (0,1)	0,028
Перестроек и мутаций не обнаружено	18 (2,0)	24 (4,8)	55 (5,5)	0,0001
Исследование не проведено	4 (0,5)	—	29 (2,8)	

Примечания:

* Величина МОБ>0,01% к окончанию индукции. ** Сравнение проведено между пациентами стандартной и высокой групп риска. *** Перестройки *ABL1*-класса включали в себя химерные гены с участием *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, *PDGFRB*. **** Другие мутации *JAK-STAT* включали в себя мутации в *IL7R*, *SH2B3*, *JAK1*. ***** Мутации *RAS* включали в себя мутации в *KRAS*, *NRAS*. ***** Перестройки и мутации «других» киназ включали в себя перестройки *NTRK3*, *LYN* и мутации *FLT3*.

Выделение генетических подгрупп стало особенно актуальным после появления информации об *in vitro* чувствительности и отдельных клинических случаях эффективности применения ингибиторов тирозинкиназ, и, частности, дазатиниба в комплексной терапии при наличии химерных генов *ABL1*-класса [13, 33], а также руксолитиниба при наличии активирующих мутаций в сигнальном пути *JAK-STAT* [13, 34].

Иногда все вышеперечисленные группы объединяют вместе, называя их «перестройками ведущими к активации (тирозин) киназ» (*(tyrosine) kinase-activating lesions*) или же «пере-

стройками киназ, на которые возможно таргетное воздействие» (*targetable kinase alterations*). С точки зрения классической молекулярной биологии объединять в одну группу киназ гены, кодирующие непосредственно тирозинкиназы, в частности *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *NTRK3*, *TYK2*, вместе с генами, отвечающими за биосинтез цитокинов, например, *CSFR1*, и даже цитокиновых рецепторов *EPOR*, *CRLF2*, не до конца корректно. Но это уже неизбежная данность.

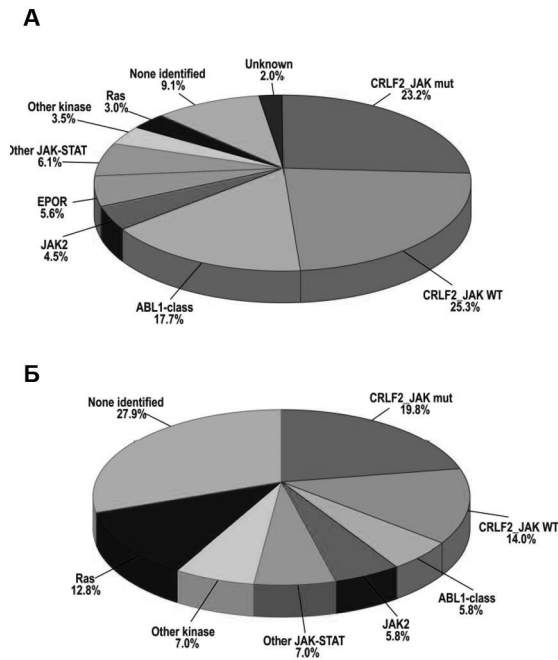


Рисунок 1. Относительная частота встречаемости различных генетических подгрупп у детей с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ в зависимости от группы риска по критериям Национального института рака (NCI). А. Пациенты высокой группы риска NCI. Б. Пациенты стандартной группы риска NCI. Дается по работе S. Reshmi с соавт [16].

Также хотелось бы отметить, что у 25-30% пациентов стандартной группы риска NCI и 10% пациентов высокой группы риска при наличии *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии отсутствуют перестройки в генах киназ и активирующие мутации [16, 17].

Способы диагностики *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ

На сегодняшний день существует несколько принципиальных подходов для диагностики данной подгруппы ОЛЛ. Связаны они, как разными технологическими платформами для диагностики *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ, так и с отличающимися целями и различными диагностическими мишенями. К числу последних относят: 1. Собственно *BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии генов; 2. Химерные гены с участием тирозинкиназ *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *NTRK3*, *TYK2*, цитокинов *CSFRI*, и цитокиновых рецепторов *EPOR*, *CRLF2*, которые могут быть мишенями для таргетной терапии; 3. Мутации в генах сигнального пути *JAK-STAT*, обуславливающие возможную чувствительность к ингибиторам *JAK2*; 4. Мутации в генах сигнального пути *RAS*; 5. Гиперэкспрессия гена и/или белка *CRLF2* и верификация перестроек с участием *CRLF2*.

*Выявление *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии генов.*

Первым в историческом плане появились два варианта экспрессионного анализа на биологических чипах высокой плотности от компании Affymetrix [2, 3], которые принято считать методами «золотого стандарта» [35]. Наборы зондов, выделяющие группу с *BCR-ABL1*-подобным профилем, опубликованы, и, казалось бы, ничто не мешает использовать эту технологию для рутинного скрининга пациентов, однако этот вариант продолжает использовать только исследовательская группа M den Boer [20], все же остальные переключились на другие способы детекции *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ [11, 12, 16, 17, 36, 37]. Связано это, на наш взгляд, со сложностью проведения самого экспрессионного анализа и, главное, оценки получаемых данных, также вклад вносит небольшое количество лабораторий, владеющих данной методикой, и отчасти — относительно высокая стоимость исследования, хотя последнее и не может являться определяющим фактором. Еще одной возможной причиной является возникновение новых технологий диагностики, с одной стороны упрощающих определение *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии (Taqman low-density array (TLDA) чипы низкой плотности, использующие технологию Taqman, ПЦР в режиме

реального времени, ПЦР-РВ), а с другой предоставляющие гораздо больший объем информации (таргетное секвенирование нового поколения, транскриптомный анализ).

Существенным шагом вперед в диагностике *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии стала работа R. Harvey с соавт., которые впервые показали, что в выделении группы *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ (она была обозначена как кластер R8) наибольшую роль играют 11 экспрессионных зондов к 7 генам (*BMPR1B*, *CRLF2*, *ADGRF1*, *GPR117*, *JCHAIN*, *LDB3*, *MUC4*) [10]. Позднее эта же группа предложила оценивать экспрессию 15 генов, также типичных для кластера R8 и описанных ими ранее с использованием технологии TLDA, разработанной компанией Applied Biosystems. Проведенная валидация этого метода показала, что предложенный классификатор обладал высокими показателями чувствительности и специфичности (93,0 и 89,7%, соответственно), а сопоставимость с результатами экспрессионного анализ чипах [3] составила 87,2% [12]. Основные различия были связаны с более частым выявлением перестроек с участием *CRLF2* чипами низкой плотности, использующими технологию Taqman [12]. Позднее в двух работах, опубликованных группой COG в 2017 и 2018 годах, использовали укороченную версию классификатора, состоящую из 8 генов, входящих в состав упомянутых выше 15 [16, 17]. А австралийская группа исследователей также на основе 15-генного классификатора R. Harvey [12] создали свой из 9 тоже с использованием технологии TLDA, из которого они исключили *CRLF2*, гиперэкспрессия которого наиболее часто выявлялась у выходцев из Латинской Америки, что не было типично для детей с ОЛЛ, проживающих в Австралии и Новой Зеландии [36]. Интересно, что еще 2017 году группа из MD Anderson Cancer Center в работе, описывающей в *BCR-ABL1*-подобный ОЛЛ у взрослых в США, еще использовали классификатор из 15 генов [38].

S. Chiaretti с соавт. на основании собственного ранее опубликованного анализа экспрессии генов, характерных для Ph-позитивного ОЛЛ [39-40] выделили группу генов, наиболее типичных для *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ [37]. Затем они срав-

нили полученные результаты с ранее опубликованными данными из работы R. Harvey с соавт [10] и отобрали 9 генов, которые встречались в обеих работах, к которым добавили экспрессию *CRLF2* [37]. В отличие от американских и австралийских исследователей S. Chiaretti с соавт. не использовали метод TLDA, а применили технологию ПЦР-РВ. При этом для каждого из 10 генов рассчитывали нормализованное значение экспрессии по формуле: $2^{(Ct \text{ исследуемый ген} - Ct \text{ контрольный ген})}$. На втором этапе, на основании анализа главных компонент каждой величине нормализованной экспрессии присваивался определенный коэффициент, использованный в итоговой формуле для получения суммарной величины экспрессии, позволяющей отнести пациента к группе *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ [37]. Перечень генов, использованных для создания всех вышеупомянутых классификаторов с использованием TLDA или ПЦР-РВ приведен в табл. 4.

Таблица 4
Комбинации генов, использованных для выделения подгруппы *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ

№ п/п	Название гена*	Хромосома, на которой расположен ген	R. Harvey с соавт [10]	R. Harvey с соавт, [12]	S. Reshmi с соавт [16]	S. Heatley с соавт, [36]	S. Chiaretti с соавт, [37]
1	<i>BMPR1B</i>	4	+	+	+	+	
2	<i>CRLF2</i>	X, Y	+	+	+		+
3	<i>ADGRF1 (GPR110)</i>	6	+	+	+	+	
4	<i>GPR117**</i>	—	+				
5	<i>JCHAIN (IGJ)</i>	4	+	+	+	+	+
6	<i>LDB3</i>	10	+	+	+	+	
7	<i>MUC4</i>	3	+	+	+	+	
8	<i>SPATS2L</i>	2		+	+	+	
9	<i>CA6</i>	1		+	+	+	
10	<i>NRXN3</i>	14		+	+	+	
11	<i>CHN2</i>	7		+		+	
12	<i>SEMA6A</i>	5		+			+
13	<i>PON2</i>	7		+			

№ п/п	Название гена*	Хромосома, на которой расположен ген	R. Harvey с соавт [10]	R. Harvey с соавт, [12]	S. Reshmi с соавт [16]	S. Heatley с соавт, [36]	S. Chiaretti с соавт, [37]
14	<i>S100Z</i>	5		+			
15	<i>TP53INP1</i>	8		+		+	+
16	<i>IFITM1</i>	11		+			+
17	<i>IFITM2</i>	11					+
18	<i>SOCS2</i>	12					+
19	<i>CD99</i>	X					+
20	<i>NUDT4</i>	12					+
21	<i>CD97</i>	19					+

Примечания:

* В скобках представлено название гена, использованное авторами статьи на момент публикации, при условии того, что оно отличается от современного по номенклатуре HGNS. ** Данный ген исключен из современной классификации генов.

В то же время, хочется отметить, что использование экспрессии *JCHAIN* в комбинации с другими экспрессионными маркерами для разделения пациентов с ОЛЛ с разным прогнозом впервые было использовано К. Hoffmann с соавт., которые еще в 2008 году на основании экспрессионного анализа на чипах предложили классификатор, состоящий из величины экспрессии трех генов *JCHAIN*, *GLUL* и *AZIN1*, оцениваемые методом ПЦР-РВ. Чувствительность метода для прогнозирования рецидивов у детей с ОЛЛ составила 69%, специфичность — 97%, диагностическая эффективность теста — 89% [41].

Химерные гены с участием тирозинкиназ *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *NTRK3*, *TYK2*, цитокинов *CSFR1*, и цитокиновых рецепторов *EPOR*, *CRLF2*. Для их выявления существует несколько диагностических подходов. Наиболее дешевым и несложным в исполнении методом является мультиплексная ПЦР, позволяющая выявить основные химерные транскрипты в РНК/кДНК, которые ранее были идентифицированы в ходе транскриптомного (чаще) или полногеномного (реже) анализа [13] (табл. 5).

Таблица 5

Химерные транскрипты с участием тирозинкиназ, цитокинов и цитокиновых рецепторов, выявляемые в ходе мультиплексной ПЦР у пациентов с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ [13, 42, 43]

Под-группа	Ген (3'), кодирующий киназу	Количество генов-партнеров	Перечень генов-партнеров (5')
<i>ABL1</i>	<i>ABL1</i>	13	<i>CENPC</i> , <i>ETV6*</i> , <i>FOXP1*</i> , <i>LSM14A</i> , <i>NUP153</i> , <i>NUP214*</i> , <i>RANBP2*</i> , <i>RCSD1*</i> , <i>SFPQ*</i> , <i>SNX1</i> , <i>SNX2*</i> , <i>SPTNA1*</i> , <i>ZMIZ1*</i>
	<i>ABL2</i>	3	<i>PAG1*</i> , <i>RCSD1*</i> , <i>ZC3HAV1*</i>
	<i>PDGFRB</i>	8	<i>ATF7IP*</i> , <i>EBF1*</i> , <i>ETV6</i> , <i>SNX29</i> , <i>SSBP2*</i> , <i>TNIP1</i> , <i>ZEB2*</i> , <i>ZMYND8</i>
	<i>PDGFRA</i>	1	<i>FIP1L1</i>
	<i>CSFR1</i>	3	<i>MEF2D</i> , <i>SSBP2</i> , <i>TBL1XR1</i>
<i>JAK2</i> и <i>EPOR</i>	<i>JAK2</i>	21	<i>ATF7IP</i> , <i>BCR*</i> , <i>EBF1</i> , <i>ETV6*</i> , <i>GOLGA5</i> , <i>HMBOX1</i> , <i>OFD1</i> , <i>PAX5*</i> , <i>PCM1</i> , <i>PPFIBP1</i> , <i>RFX3</i> , <i>SMU1</i> , <i>SNX29</i> , <i>SSBP2*</i> , <i>STRN3*</i> , <i>TERF2*</i> , <i>TPR</i> , <i>USP25</i> , <i>ZBTB46</i> , <i>ZNF274</i> , <i>ZNF340</i>
	<i>EPOR</i>	4	<i>IGH</i> , <i>IGK</i> , <i>LAIR1</i> , <i>THADA</i>
	<i>IL2RB</i>	1	<i>MYH9</i>
<i>CRLF2</i>	<i>CRLF2</i>	3	<i>CSF2RA</i> , <i>IGH</i> , <i>P2RY8*</i>
Другие	<i>LYN</i>	2	<i>GATAD2A</i> , <i>NCOR1</i>
	<i>TYK2</i>	3	<i>MYB*</i> , <i>SMARCA4</i> , <i>ZNF340</i>
	<i>PTK2B</i>	3	<i>KDM6A</i> , <i>STAG2</i> , <i>TMEM2</i>
	<i>NTRK3</i>	1	<i>ETV6*</i>
	<i>FLT3</i>	1	<i>ZMYM2</i>
	<i>FGFR1</i>	1	<i>BCR</i>
	<i>BLNK</i>	1	<i>DNTT</i>
	<i>DGKH</i>	1	<i>ZFAND3</i>
<i>CBL</i>	1	<i>KANK1</i>	

Примечания:

Жирным шрифтом выделены частые гены-партнеры. * Возможно определение в ходе мультиплексной ПЦР.

Часто параллельно с этим выявляют химерный ген *P2RY8-CRLF2* из геномной ДНК [44]. Также из геномной ДНК возможно определение химерного гена *EBF1-PDGFRB* [45]. Мультиплекс-

ная ПЦР позволяет верифицировать конкретный ген-партнер, что дает возможность оценить чувствительность (потенциально различную [18]) того или иного химерного гена к ИТК и ингибиторам *JAK2*. Несмотря на ограниченность репертуара выявляемых перестроек, этот метод активно применяется исследователями из разных стран, в т.ч. США, Японии и Нидерландов [9, 16, 17, 45]. Важно отметить, что обнаруживаемые перестройки являются маркером *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ, и не они не обнаруживаются у пациентов без *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии генов [18].

Еще одним распространенным и простым в исполнении методом является технология флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), которая позволяет перестройки основных генов *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *NTRK3*, *CSFRI*, *EPOR*, *CRLF2*, но за небольшим исключением наиболее частых генов-партнеров, таких как *ETV6*, *PAX5*, *P2RY8*, *IgH*, *IgK*, не в состоянии дать ответ, какой конкретно ген-партнер участвует в образовании химерного гена. Также недостатком является невозможность разделить перестройки двух близко расположенных генов *PDGFRB* и *CSFRI*, обе из которых описаны при *BCR-ABL1*-подобном ОЛЛ. Еще одним, общим с мультиплексной ПЦР, недостатком является то, что отрицательный результат этих исследований не исключает наличия *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ [35]. Также есть отдельные публикации, указывающие, что часть хромосомных aberrаций возникающих вследствие внутривитрихромосомных инверсий (например, инверсия *inv(9)*, ведущая к образованию химерного гена *PAX5-JAK2*) или внутривитрихромосомных делеций (например, делеции *del(X)(p22p22)* или *del(Y)(p11p11)*, ведущие к образованию химерного гена *P2RY8-CRLF2*) не выявляются методом FISH [35]. Однако, судя по всему, в большинстве случаев два вышеуказанных химерных гена могут быть выявлены этим методом [9, 24]. Тем не менее, FISH — это хорошая скрининговая технология, которая может стать отправной точкой для дальнейшего более детального изучения *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ. Данная диагностическая стратегия является основной английской группе MRC [24].

ко реже — изменения в *IL7R*, *JAK1*, *SH2B3*. Мутации в этих генах затрагивают относительно небольшие по протяженности участки. В генах *JAK2* и *JAK1* они преимущественно локализируются в псевдокинадном домене (рис. 2), в *IL7R* сконцентрированы в начале трансмембранного домена (рис. 3).

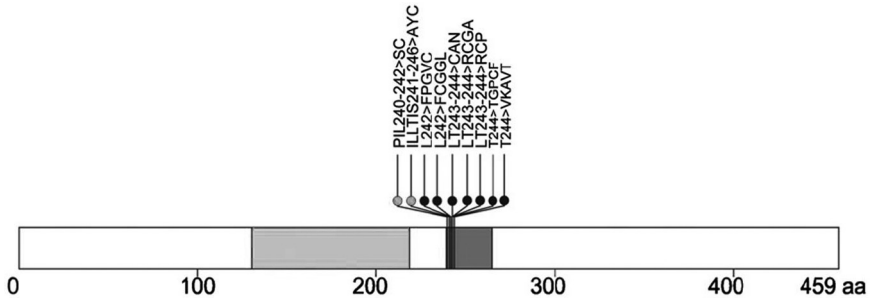


Рисунок 3. Схематичное изображение первичной структуры белка *IL7R* и локализация мутаций в трансмембранном домене (выделен зеленой заливкой). Желтыми точками обозначены делеции, черными — вставки. Дается по работе К. Roberts с соавт [8]

Наиболее простым способом выявления является секвенирование по Сэнгеру, которое может сочетаться с предварительной полногеномной амплификацией в тех случаях, когда количества имеющейся ДНК недостаточно [11]. Также вышеуказанные мутации могут быть выявлены при таргетном секвенировании [46]. Еще одним возможным вариантом выявления наиболее часто встречающихся мутаций, таких как R683G или T875D в гене *JAK2*, V658F в гене *JAK2* является метод аллельной дискриминации в ходе ПЦР-РВ, а скринингом для этих и других точечных замен можем являться технология высокоточного плавления [25]. Для скрининга на мутации в *IL7R*, где преобладают вставки/делеции, целесообразно использовать метод фрагментного анализа с последующим секвенированием по Сэнгеру полученные положительные результаты.

Мутации в генах сигнального пути RAS. Среди генов этой группы наиболее часто мутации выявляются в *KRAS* и *NRAS*, реже в *NF1* и *PTPN11*. Локализация мутаций идентична другим

опухолем — наиболее частые локализации — 12 и 13 кодоны *KRAS* и *NRAS* (рис 4). Технологии выявления схожи с группой мутаций в генах сигнального пути *JAK-STAT*: секвенирование, таргетное секвенирование, ПЦР-РВ на мутации в 12, 13, 61 кодонах *KRAS* и *NRAS*.

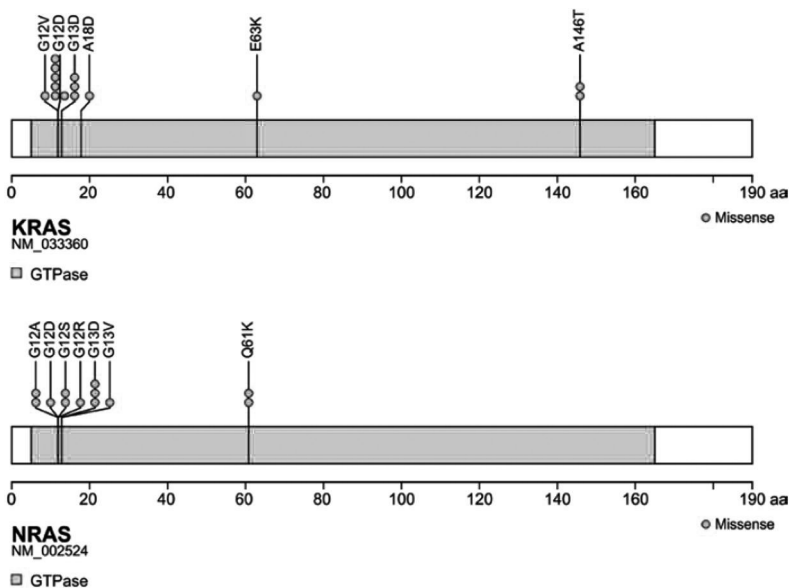


Рисунок 4. Схематическое изображение первичной структуры белков *KRAS* (сверху) и *NRAS* (снизу) с локализацией мутаций. Красными точками обозначены мутации (однонуклеотидные замены), ведущие к замене аминокислоты. Дается по работе К. Roberts с соавт [8]

Еще одно потенциально перспективное диагностическое направление — оценка активации онкогенных сигнальных путей, в частности *JAK-STAT* и *RAS* методом количественной оценки экспрессии генов. Компания Nanostring создала подобную экспрессионную панель, включающую 730 генов, принадлежащим к 13 каноническим онкогенным сигнальным путям, в том числе, 86 вовлеченных в сигнальный путь *JAK-STAT* и 142 — в каскад *RAS*. Кроме того, возможно создание экспрессионной панели с индивидуальным пользовательским дизайном с включением генов, используемых в упомянутом выше классификаторе для

выявления *BCR-ABL1*-подобных лейкозов, наряду с генами, кодирующими компоненты сигнальных путей JAK-STAT и RAS, что может быть положено в основу создания универсального диагностического инструмента, направленного на диагностику данного вида ОЛЛ. Однако данный способ диагностики не будут выявлять собственно мутации в генах.

Гиперэкспрессия гена и/или белка CRLF2 и верификация перестроек с участием CRLF2. Экспрессия белка *CRLF2* может быть оценена методом проточной цитометрии. Для этих целей есть коммерчески доступные антитела различных производителей. Данный метод лабораторной диагностики широко распространен и является простым в исполнении. Также возможна оценка экспрессии РНК *CRLF2* методом ПЦР-РВ из РНК/кДНК. Существует два варианта расчета гиперэкспрессии. В первом случае нормализованная экспрессия в образце, рассчитанная по формуле: $2^{(Ct\ CRLF2 - Ct\ \text{контрольный ген})}$ сравнивается с медианой нормализованной экспрессии во всех образцах ВП-ОЛЛ. Если экспрессия в образце превышает медиану величины экспрессии во всех образцах с ВП-ОЛЛ более чем в 20 раз, то образец относится к группе с гиперэкспрессией *CRLF2* [47]. Второй вариант — прямое сравнение пороговых циклов *CRLF2* и контрольного гена (например, *EEF2*) по формуле $Ct\ CRLF2 - Ct\ \text{контрольного гена}$. Если соотношение равно или менее 6 — в образце выявлена гиперэкспрессия *CRLF2* [16, 17]. Данный вариант анализа интегрирован в TLDA. При использовании классического способа выявления *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ экспрессионным анализом на микрочипах под гиперэкспрессией *CRLF2* понимают превышение 90-го перцентиля в группе ВП-ОЛЛ [19]. Выявление химерных генов *P2RY8-CRLF2* и *IgH-CRLF2* возможно методами FISH, таргетного секвенирования, а *P2RY8-CRLF2* — также мультиплексной или обычной ПЦР.

Комбинация BCR-ABL1-подобного ОЛЛ с делециями IKZF1. Взаимосвязь между делециями гена *IKZF1* и неблагоприятным прогнозом ВП-ОЛЛ у детей была показана для многих протоколов лечения исследовательскими группами из разных стран AIEOP-BFM, COG, DCOG, NOPHO, TPOG [48-53], а также в

рамках оригинального отечественного протокола ALL-MB 2008 [54]. Частота встречаемости делеций *IKZF1* у пациентов с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ колеблется в диапазоне 40-65% [13,19], что достоверно превышает этот показатель в группе ВП-ОЛЛ без *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии. Делеции *IKZF1* чаще выявлялись в сочетании с химерными генами с участием *ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *JAK2*, *CSFR1*, *EPOR*, *CRLF2* (78%), чем при мутациях в генах сигнальных путей JAK-STAT или RAS (33%). Комбинация делеции *IKZF1* с мутациями в генах, кодирующих другие факторы развития лимфоидных клеток (*ETV6*, *EBF1*, *ERG*, *PAX5*, *TCF3*), встречалась в 86% случаев *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ. Пациенты, которые имели сочетание *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ с делециями *IKZF1*, имели худшие показатели выживаемости по сравнению со всеми остальными группами [13].

Основываясь на этом, появились альтернативные способы выявления пациентов с неблагоприятным прогнозом, основанные на выявлении комбинации делеций *IKZF1* с делециями других генов без учета профиля экспрессии генов. Одна из таких комбинаций, предложенная группой AIEOP-BFM получила название *IKZF1*^{плюс}. Она включает в себя сочетание делеции *IKZF1* с делециями одного или более из числа следующих генов *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAX5*, а также делеций в псевдоаутосомном регионе *PARI*, при обязательном отсутствии делеций *ERG*. Даная комбинация показала высокую эффективность в выделении группы с неблагоприятным прогнозом, особенно в случае сохранения МОБ к окончанию 1-й консолидации на 78 день терапии при лечении по протоколу AIEOP-BFM ALL 2009 (рис. 5) [56].

Комбинация *IKZF1*^{плюс} используется для стратификации пациентов промежуточной группы риска и в современном протоколе AIEOP-BFM ALL 2017. Скорее всего, большинство пациентов, которых относят к группе *KZF1*^{плюс}, будут иметь и *BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии генов.

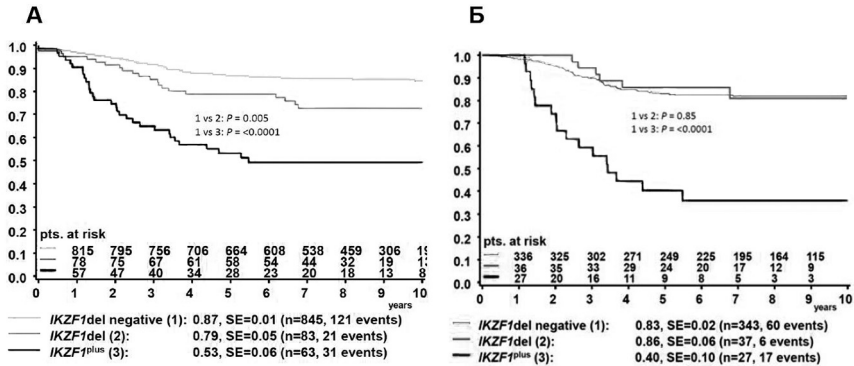


Рисунок 5. Прогностическое значение комбинации *IKZF1*^{плюс} в общей группе пациентов (А) и группе промежуточного риска (Б) протокола AIEOP-BFM ALL 2009 и *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии у пациентов с ВП-ОЛЛ. Дается по работе М. Stanulla с соавт [56]

Прогностическое значение *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии генов, делеций *IKZF1*, гиперэкспрессии *CRLF2*, активирующих мутаций *JAK-STAT* и химерных генов с участием киназ.

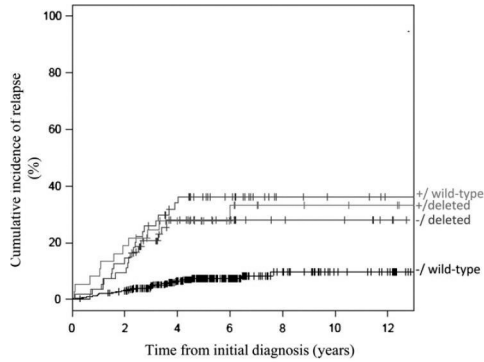
Отдельный вопрос связан с тем, какой именно генетический фактор вносит наибольший вклад в неблагоприятный прогноз *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ: собственно *BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии генов, делеции *IKZF1*, гиперэкспрессия *CRLF2*, химерные гены с участием *CRLF2*, активирующие мутации *JAK-STAT* или химерные гены с участием киназ.

Ранее неоднократно было показано, что *BCR-ABL1*-подобный профиль экспрессии связан с более тяжелым течением ОЛЛ у детей: такие пациенты чаще имеют инициальный гиперлейкоцитоз, замедленный клиренс бластов во время индукции, длительно сохраняют МОБ [2-4, 14, 16, 17, 36]. Поэтому неудивительно, что пациенты с *BCR-ABL1*-подобным профилем экспрессии имеют достоверно более низкие показатели выживаемости, в первую очередь, благодаря высокой частоте развития рецидивов. Одним из возможных путей преодоления недостаточной эффективности лечения в этой группе пациен-

тов стал т.н. риск-адаптированный подход, основанный на измерении МОБ. Группа из госпиталя St Jude, использовавшая в качестве порогового значения для перевода пациентов в группу высокого риска величину $МОБ \geq 1,0\%$ на момент окончания индукции, показала, что результаты терапии могут быть сопоставимы в группе с *BCR-ABL1*-подобным ОЛЛ и другими вариантами ВП-ОЛЛ. 10-летняя бессобытийная выживаемость пациентов на протоколе Total XV составила $86,6\% \pm 4,1\%$ и $81,7\% \pm 11,7\%$ соответственно ($p=0,41$) [14]. При этом необходимо отметить, что всем пациентам высокой группы риска была проведена трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Схожая стратегия с плановой ТГСК в 1-й ремиссии была использована и кооперативной австрало-новозеландской группой ANZCHOG, которая на протоколе ALL8, стратифицировала пациентов в группу высокого риска при наличии 1000 и более бластных клеток в периферической крови на 8 день монотерапии преднизолоном, отсутствии клинико-гематологической ремиссии на день 33 и высокой величине МОБ ($>5 \times 10^{-4}$) на день 79. Однако, данный вариант риск-адаптированного лечения не был столь эффективным для *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ. 5-летняя БСВ составила 34% и была достоверно ниже всех других подгрупп ВП-ОЛЛ, включая даже Ph-позитивный ОЛЛ [36].

Судя по всему, гиперэкспрессия *CRLF2* сама по себе не может служить прогностическим фактором [19, 24, 47], хотя эту точку зрения не разделяет группа COG. Но и они смогли показать прогностическое значение высокой экспрессии *CRLF2* только для пациентов группы высокого риска NCI [52]. В то время как наличие химерных генов с участием *CRLF2* значительно ухудшает прогноз ВП-ОЛЛ [25, 47, 52], особенно *IgH-CRLF2* [25]. Проведенный однофакторный анализ показал прогностическое значение *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии (относительный риск (ОР) 3,5, 95% доверительный интервал (ДИ) 2,2-5,7 $p < 0,001$), делеций *IKZF1* (ОР 2,8 95% ДИ 1,7-4,6 $p < 0,001$) и инициального лейкоцитоза выше $50 \times 10^9/\text{л}$ (ОР 2,3 95% ДИ 1,4-3,8 $p = 0,001$), но не гиперэкспрессии *CRLF2* (ОР 1,8 95% ДИ 1,0-3,5 $p > 0,05$) у пациентов на протоколах DCOG и COALL [19]. Вне зависимости от сочетания

BCR-ABL1-подобного профиля экспрессии с делециями *IKZF1* вероятность рецидива была достоверно выше по сравнению с ВП-ОЛЛ без данного профиля и без делеций (рис. 6). [13, 19].



<i>BCR-ABL1</i> -like	<i>IKZF1</i>	n	5-year CIR	p-value
+	wild-type	55	36%	<0.001
+	deleted	37	27%	<0.001
-	deleted	54	28%	<0.001
-	wild-type	361	7%	

Рисунок 6. Прогностическое значение комбинации делеций и *BCR-ABL1*-подобного профиля экспрессии у пациентов с ВП-ОЛЛ. Кумулятивная вероятность развития рецидива при ВП-ОЛЛ Дается по работу Arian van der Veer с соавт [19]

Также сложно ответить на вопрос об изолированном прогностическом значении химерных генов с участием киназ. Само по себе их наличие снижает БСВ ВП-ОЛ, что было показано японскими исследователями (рис. 7) [45].

Внутри группы *BCR-ABL1*-позитивного ОЛЛ наилучшие показатели 5-летней БСВ имели пациенты с мутациями *RAS* (85,7%±11,5%), другими мутациями *ЯК-СТАТ* (68,3%±9,9%) в то время прогноз пациентов с перестройками *CRLF2* и мутациями *ЯК-СТАТ*, а также с химерными генами с участием *EPOR/JAK2* был наименее благоприятный (38,8%±7,0% и 26,1%±8,5%, соответственно). (рис. 8 [13].

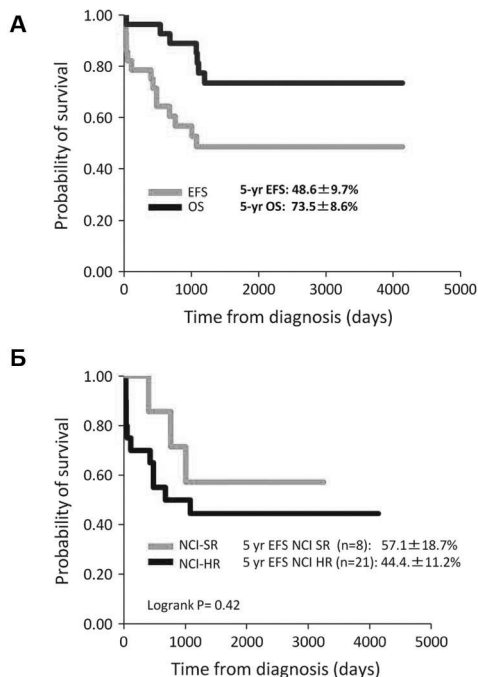


Рисунок 7. Прогностическое значение (БСВ) наличия химерных генов с участием киназ (А) и разделения по группа риска NCI (Б)

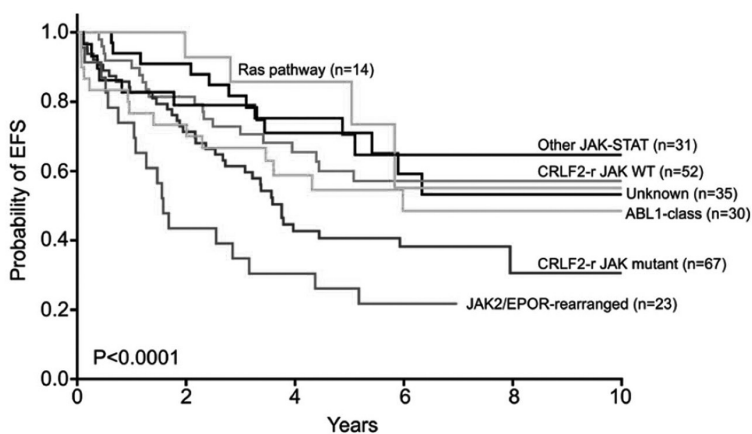


Рисунок 8. Прогностическое значение различных генетических подгрупп *VCR-ABL1*-подобного ОЛЛ у пациентов высокой группы риска. Дается по работе К. Roberts с соавт [13]

Диагностический алгоритм определения *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ

С нашей точки зрения, целесообразно разделить диагностический поиск на несколько этапов по аналогии с тем, как было предложено группой COG [16,17]. Первый этап — это взаимное исключение с т.н. неслучайными количественными и структурными генетическими абберациями при ВП-ОЛЛ у детей, такими как высокая гипердиплоидия ($n=51-65$), гиподиплоидный кариотип ($n<45$), а также транслокации $t(12;21)(p13;q22)/ETV6-RUNX1$, $t(1;19)(q23;p13)/TCF3-PBX1$, $t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1$, перестройки гена *MLL*, *iAMP21*. После исключения этих известных и прогностически значимых генетических перестроек остается группа пациентов с нормальными кариотипом или со случайными абберациями, которую стали называть «другие В-линейные ОЛЛ» (*B-other ALL*), на долю которой по разным данным приходится 25-35% от всех случаев ОЛЛ у детей [57, 58]. Именно она представляет наибольший интерес в плане выявления *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ, и именно ее целесообразно исследовать.

На втором этапе среди «других В-линейных ОЛЛ» выделяются пациентов с *BCR-ABL1*-подобным профилем экспрессии генов, выделенном по данным ПЦР-РВ. И уже внутри этой группы — на третьем этапе — прицельно проводится последовательный поиск химерных генов с участием *CRLF2* и киназ *ABL1*-класса (*ABL1*, *ABL2*, *PDGFRB*, *CSFR1*), а в случае негативного результата — на перестройки *EPOR*, *NTRK3*, *JAK2* методом FISH. Параллельно проводится ПЦР на наличие *P2RY8-CRLF2*. При выявлении перестроек *CRLF2* исследуются активирующие мутации в *JAK-STAT* методами ПЦР-РВ и секвенирования. При отсутствии каких-либо находок применяется транскриптомный анализ.

Также всем пациентам с *BCR-ABL1*-подобным профилем экспрессии генов необходимо определение делеций в гене *IKZF1*, а также в ряде других прогностически значимых генов, ответственных на развитие В-лимфоцитов, таких как *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAX5*, *ERG* и в псевдоаутосомном регионе *PAR1* для

оценки роли комбинации *IKZF1*^{плюс}.

Также вышеуказанный алгоритм целесообразно применять пациентам с высокой гипердиплоидией или *iAMP21* с сохранением МОБ на момент окончания индукционной терапии. Так как, с одной стороны, случаи *BCR-ABL1*-подобного ОЛЛ описаны и у пациентов высокой с гипердиплоидией, и при наличии *iAMP21* [7, 9, 16, 17], а с другой стороны данные о прогнозе при сочетании этих показателей *BCR-ABL1*-подобным профилем экспрессии в опубликованной литературе отсутствуют.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arber D., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M., Le Beau M. et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20): 2391-2405.

2. Den Boer M., van Slegtenhorst M., De Menezes R., Cheok M., Buijs-Gladdines J., Peters S. et al. A subtype of childhood acute lymphoblastic leukaemia with poor treatment outcome: a genome-wide classification study. *Lancet Oncol*. 2009; 10(2): 125-134.

3. Mullighan C., Su X., Zhang J., Radtke I., Phillips L., Miller C., et al. Deletion of *IKZF1* and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2009; 360(5):470-480,

4. Mullighan C., Zhang J., Harvey R., Collins-Underwood J., Schulman B., Phillips L. et al. JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106(23): 9414-9418.

5. Yeoh E., Ross M., Shurtleff S., Williams W., Patel D., Mahfouz R. et al. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell*. 2002; 1(2):133-143.

6. Ross M., Zhou X., Song G., Shurtleff S., Girtman K., Williams W. et al. Classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Blood*. 2003; 102(8): 2951-2959

7. Boer J., Marchante J., Evans W., Horstmann M., Escherich G., Pieters R. et al. *BCR-ABL1*-like cases in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a comparison between DCOG/Erasmus MC and COG/St.

Jude signatures. *Haematologica*. 2015; 100(9): e354-357.

8. Roberts K., Morin R., Zhang J., Hirst M., Zhao Y., Su X. et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012; 22(2):153-166.

9. Boer J., Steeghs E., Marchante J., Boeree A., Beaudoin J., Beverloo H. et al. Tyrosine kinase fusion genes in pediatric *BCR-ABL1*-like acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*. 2017; 8(3): 4618-4628

10. Harvey R., Mullighan C., Wang X., Dobbin K., Davidson G., Bedrick E. et al. Identification of novel cluster groups in pediatric high-risk B-precursor acute lymphoblastic leukemia with gene expression profiling: correlation with genome-wide DNA copy number alterations, clinical characteristics, and outcome. *Blood*. 2010; 116(23): 4874-4884.

11. Loh M., Zhang J., Harvey R., Roberts K., Payne-Turner D., Kang H. et al. Tyrosine kinase sequencing of pediatric acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group TARGET Project. *Blood*. 2013 ;121(3): 485-488.

12. Harvey R., Kang H., Roberts K., Atlas S., Bedrick E., Gastier-Foster J. et al. Development and validation of a highly sensitive and specific gene expression classifier to prospectively screen and identify B-precursor acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients with a Philadelphia chromosome-like ("Ph-like" or "*BCR-ABL1*-Like") signature for therapeutic targeting and clinical intervention. 55th ASH meeting, New Orleans, December 7-10, 2013. *Blood*, 122, 826

13. Roberts K., Li Y., Payne-Turner D., Harvey R., Yang Y., Pei D. et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2014; 371(11): 1005-1015.

14. Roberts K., Pei D., Campana D., Payne-Turner D., Li Y., Cheng C. et al. Outcomes of children with *BCR-ABL1*-like acute lymphoblastic leukemia treated with risk-directed therapy based on the levels of minimal residual disease. *J Clin Oncol*. 2014 ; 32(27): 3012-3020,

15. Tasian S., Hurtz C., Wertheim G., Bailey N., Lim M., Harvey R., et al High incidence of Philadelphia chromosome-like acute

lymphoblastic leukemia in older adults with B-ALL. *Leukemia*. 2017; 31(4): 981-984.

16. Reshmi S., Harvey R., Roberts K., Stonerock E., Smith A., Jenkins H. et al. Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2017; 129(25): 3352-3361.

17. Roberts K., Reshmi S., Harvey R., Chen I., Patel K., Stonerock E. et al. Genomic and outcome analyses of Ph-like ALL in NCI standard-risk patients: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*. 2018; 132(8): 815-824.

18. Boer J., den Boer M. BCR-ABL1-like acute lymphoblastic leukaemia: From bench to bedside. *Eur J Cancer*. 2017; 82: 203-218.

19. Veer van der A., Waanders E., Pieters R., Willemse M., Van Reijmersdal S., Russell L. et al. Independent prognostic value of *BCR-ABL1*-like signature and *IKZF1* deletion, but not high *CRLF2* expression, in children with B-cell precursor ALL. *Blood*. 2013; 122(15): 2622-2629.

20. Boer J., Koenders J., van der Holt B., Exalto C., Sanders M., Cornelissen J. et al. Expression profiling of adult acute lymphoblastic leukemia identifies a *BCR-ABL1*-like subgroup characterized by high non-response and relapse rates. *Haematologica*. 2015; 100(7): e261-264.

21. Herold T., Schneider S., Metzeler K., Neumann M., Hartmann L., Roberts K. et al. Adults with Philadelphia chromosome-like acute lymphoblastic leukemia frequently have *IGH-CRLF2* and *JAK2* mutations, persistence of minimal residual disease and poor prognosis. *Haematologica*. 2017; 102(1): 130-138.

22. Mullighan C., Collins-Underwood J., Phillips L., Loudin M., Liu W., Zhang J. et al. Rearrangement of *CRLF2* in B-progenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2009; 41(11): 1243-1246.

23. Harvey R., Mullighan C., Chen I., Wharton W., Mikhail F., Carroll A. et al. Rearrangement of *CRLF2* is associated with mutation of JAK kinases, alteration of *IKZF1*, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2010; 115(26): 5312-5321.

24. Schwab C., Enshaei A., Roberts K., Russell L., Harvey R., I-Ming L. et al. The frequency and outcome of Ph-like ALL associated abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukaemia treated on MRC UKALL2003 58th ASH meeting, San Diego, December 3-6, 2016. *Blood* 2016 128:2914;
25. Schmah J., Fedders B., Panzer-Grümayer R., Fischer S., Zimmermann M., Dagdan E. et al. Molecular characterization of acute lymphoblastic leukemia with high *CRLF2* gene expression in childhood. *Pediatr Blood Cancer*. 2017; 64(10). e26539
26. Moorman A., Richards S., Martineau M., Cheung K., Robinson H., Jalali G. et al. Outcome heterogeneity in childhood high-hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2003; 102(8): 2756-2762.
27. Graux C., Cools J., Melotte C., Quentmeier H., Ferrando A., Levine R. et al. Fusion of *NUP214* to *ABL1* on amplified episomes in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2004; 36(10): 1084-1089.
28. Cirmena G., Aliano S., Fugazza G., Bruzzone R., Garuti A., Bocciardi R. et al. A *BCR-JAK2* fusion gene as the result of a t(9;22) (p24;q11) in a patient with acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008; 183(2):105-108.
29. Griesinger F., Hennig H., Hillmer F., Podleschny M., Steffens R., Pies A. et al. A *BCR-JAK2* fusion gene as the result of a t(9;22) (p24;q11.2) translocation in a patient with a clinically typical chronic myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005; 44(3):329-33.
30. Shochat C., Tal N., Bandapalli O., Palmi C., Ganmore I., te Kronnie G. et al. Gain-of-function mutations in interleukin-7 receptor- α (*IL7R*) in childhood acute lymphoblastic leukemias. *J Exp Med*. 2011; 208(5): 901-908.
31. Zenatti P., Ribeiro D., Li W., Zuurbier L., Silva M., Paganin M. et al. Oncogenic *IL7R* gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet*. 2011; 43(10): 932-939.
32. Zhang J., Ding L., Holmfeldt L., Wu G., Heatley S.-L., Payne-Turner D. et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2012 ;481(7380): 157-163.
33. Roberts K., Yang Y., Payne-Turner D., Lin W., Files J.,

Dickerson K. et al. Oncogenic role and therapeutic targeting of ABL-class and JAK-STAT activating kinase alterations in Ph-like ALL. *Blood Adv.* 2017 ; 1(20): 1657-1671.

34. Tasian S., Assad A., Hunter D., Du Y. Loh M. A Phase 2 Study of Ruxolitinib with Chemotherapy in Children with Philadelphia Chromosome-like Acute Lymphoblastic Leukemia (INCB18424-269/AALL1521): Dose-Finding Results from the Part 1 Safety Phase 60th ASH meeting, San Diego, December 7-10, 2018 *Blood* 2018 132:555.

35. Siegele B.J., Nardi V. Laboratory testing in BCR-ABL1-like (Philadelphia-like) B-lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Am J Hematol.* 2018; 93(7): 971-977.

36. Heatley S., Sadras T., Kok C., Nievergall E., Quek K., Dang P. et al High prevalence of relapse in children with Philadelphia-like acute lymphoblastic leukemia despite risk-adapted treatment. *Haematologica.* 2017; 102(12): e490-e493.

37. Chiaretti S., Messina M., Grammatico S., Piciocchi A., Fedullo A., Di Giacomo F. et al. Rapid identification of *BCR/ABL1*-like acute lymphoblastic leukaemia patients using a predictive statistical model based on quantitative real time-polymerase chain reaction: clinical, prognostic and therapeutic implications. *Br J Haematol.* 2018; 181(5): 642-652.

38. Jain N., Roberts K., Jabbour E., Patel K., Eterovic A., Chen K. et al. Ph-like acute lymphoblastic leukemia: a high-risk subtype in adults. *Blood.* 2017; 129(5): 572-581

39. Chiaretti S., Li X., Gentleman R., Vitale A., Wang K., Mandelli F, et al Gene expression profiles of B-lineage adult acute lymphocytic leukemia reveal genetic patterns that identify lineage derivation and distinct mechanisms of transformation. *Clin Cancer Res.* 2005; 11(20): 7209-7219.

40. Haferlach T., Kohlmann A., Wiczorek L., Basso G., Kronnie G.T., Bene M.C. et al Clinical utility of microarray-based gene expression profiling in the diagnosis and subclassification of leukemia: report from the International Microarray Innovations in Leukemia Study Group. *Journal of Clinical Oncology.* 2010; 28: 2529–2537.

41. Hoffmann K., Firth M., Beesley A., Freitas J., Ford J.,

Senanayake S. et al. Prediction of relapse in paediatric pre-B acute lymphoblastic leukaemia using a three-gene risk index. *Br J Haematol.* 2008; 140(6): 656-664.

42. Ernst T., Score J., Deininger M., Hidalgo-Curtis C., Lackie P., Ershler W. et al. Identification of *FOXP1* and *SNX2* as novel *ABL1* fusion partners in acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 2011; 153(1): 43-46.

43. Soler G., Radford-Weiss I., Ben-Abdelali R., Mahlaoui N., Ponceau J., Macintyre E. et al. Fusion of *ZMIZ1* to *ABL1* in a B-cell acute lymphoblastic leukaemia with a t(9;10)(q34;q22.3) translocation. *Leukemia.* 2008; 22(6): 1278-1280

44. Chiaretti S., Brugnoletti F., Messina M., Paoloni F., Fedullo A-L., Piciocchi A. et al. *CRLF2* overexpression identifies an unfavourable subgroup of adult B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia lacking recurrent genetic abnormalities. *Leuk Res.* 2016; 41: 36-42.

45. Imamura T., Kiyokawa N., Kato M., Imai C., Okamoto Y., Yano M. et al. Characterization of pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with kinase fusions in Japan. *Blood Cancer J.* 2016; 6: e419.

46. Yap K., Furtado L., Kiyotani K., Curran E., Stock W., McNeer J. et al. Diagnostic evaluation of RNA sequencing for the detection of genetic abnormalities associated with Ph-like acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Leuk Lymphoma.* 2017; 58(4): 950-958.

47. Palmi C., Vendramini E., Silvestri D., Longinotti G., Frison D., Cario G. et al. Poor prognosis for *P2RY8-CRLF2* fusion but not for *CRLF2* over-expression in children with intermediate risk B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2012; 26(10): 2245-2253.

48. Kuiper R., Waanders E., van der Velden V., van Reijmersdal S., Venkatachalam R., Scheijen B. et al. *IKZF1* deletions predict relapse in uniformly treated pediatric precursor B-ALL. *Leukemia.* 2010; 24: 1258–1264.

49. Kuiper R., Schoenmakers E., van Reijmersdal S., Hehir-Kwa J., van Kessel A., van Leeuwen F. et al. High-resolution genomic profiling of childhood ALL reveals novel recurrent genetic lesions

affecting pathways involved in lymphocyte differentiation and cell cycle progression. *Leukemia*. 2007; 21: 1258–1266.

50. Mullighan C., Goorha S., Radtke I., Miller C., Coustan-Smith E., Dalton J. et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2007; 446: 758–764.

51. Dörge P., Meissner B., Zimmermann M., Moericke A., Schrauder A., Bouquin J.P. et al. *IKZF1* deletion is an independent predictor of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia treated according to the ALL-BFM 2000 protocol. *Haematologica*. 2013; 98: 428–432.

52. Chen I-M., Harvey R., Mullighan C., Gastier-Foster J. Wharton W., Kang H. et al., Outcome modeling with *CRLF2*, *IKZF1*, *JAK*, and minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a Children’s Oncology Group Study. *Blood*. 2012; 119(15): 3512-3522.

53. Palmi C., Valsecchi M.G., Longinotti G., Silvestri D., Carrino V., Conter V. et al. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica*. 2013; 98: 1226–1231.

54. Öfverholm I., Tran A.N., Heyman M., Zachariadis V., Nordenskjöld, M., Nordgren et al. Impact of *IKZF1* deletions and *PAX5* amplifications in pediatric B-cell precursor ALL treated according to NOPHO protocols. *Leukemia*. 2013; 27: 1936–1939.

55. Цаур Г.А., Друй А.Е., Солодовников А.Г., Попов А.М., Шапочник А.П., Вахонина Л.В. и соавт. Делеции гена *IKZF1* – независимый прогностический фактор у детей с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников // Онкогематология. 2016; 11(4): 33-48.

56. Stanulla M., Dagdan E., Zaliouva M., Möricke A., Palmi C., Cazzaniga G. et al *IKZF1* plus defines a new minimal residual disease-dependent very-poor prognostic profile in pediatric b-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2018; 36(12): 1240-1249

57. Pui C.-H., Relling M., Downing J. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2004; 350(15): 1535-1548.

58. Pieters R., Carroll W.. Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am*. 2008; 55(1):1-20