

Arvelige varianter i ABCB1 genet påvirker børneleukæmi behandling

Introduktion til original artikel udgivet i *Journal of Pharmacogenomics* i august 2015 (e-publiceret i januar 2015)

Min forskning har overvejende fokus på akut lymfoblastær leukæmi (ALL) hos børn og single nukleotid polymorphisms (SNPs) i gener, der kan være involveret i transport eller omsætning af cellegiften Methotrexat (MTX). MTX er det mest dominerende medikament i den 2-2½-årige behandling.

Det aktuelle studie ser på udvalgte SNPs i genet ABCB1 og deres betydning for børneleukæmi behandling. ABCB1-genet bærer den genetiske kode for P-glycoprotein. P-glycoprotein er involveret i beskyttelse af celler både ved at kunne hindre transport ind i celler og ved at være aktiv i transport af blandt andet medikamenter ud af celler. Individuelle variationer i ABCB1-genet har vist at kunne ændre genekspression og/eller funktionalitet af P-glycoprotein. Overekspression af P-glycoprotein i tumorceller kan resultere i resistens over for blandt andet medikamenterne prednisolon, doxorubicin og vincristin, der bruges i den indledende behandling af børneleukæmi.

Tidligere forskning i reumatoid arthritis (leddegigt) har indikeret, at varianter i ABCB1-genet også kan påvirke effekt og bivirkninger i behandlingen af patienter, der kun har fået MTX. Trods det, at P-glycoprotein ikke tidligere er blevet sat i forbindelse med transport af MTX.

I det aktuelle studie blev 93 % (n = 522) af alle børn, der var blevet diagnosticeret med ALL i Danmark i en given periode inkluderet. De udvalgte SNPs (1199A->G (rs2229109), 1236C->T (rs1128503), 2677G->T/A (rs2032582) og 3435C->T (rs1045642) i ABCB1-genet var valgt ud fra, at tidligere studier havde angivet

en mulig effekt hos nogle sammenlignelige patientgrupper. De udvalgte SNPs blev kortlagt vha. pyrosekvensering.

Formål og resultater

Studiet skulle afdække flere problemstillinger:

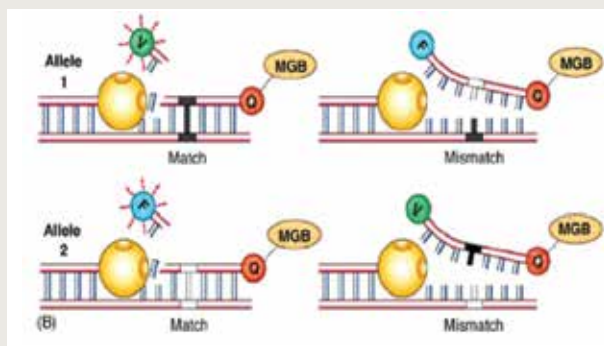
Er de undersøgte SNP-varianter hos børnene med leukæmi fordelt med samme frekvens som hos raske, eller kunne nogle varianter være indikation for sygdommen?

– Vi sammenlignede frekvensen af SNP-varianter i 200 blod-donorer fra Region Hovedstaden med gruppen af børn med leukæmi og fandt ingen forskel.

Er nogle af SNP-varianterne forbundet med større risiko for bivirkninger?

– Vi opdeltede børnene med leukæmi i grupper efter deres SNP-varianter og korrigerede sammenligningen for forskellige behandlingsprotokoller, immunfænotyper og køn (multivariantsanalyse) og fandt blandt andet, at risikoen for bivirkninger i form af knoglemarvssuppression (lavere hæmoglobin, trombocytter m.m.) under induktionsbehandlingen, hvor børnene overvejende får doxorubicin, vincristin og prednisolon, var mere udtalt hos børn med 3435TT end hos børn med hhv. 3435CT (P = 0,01) og 3435TT (P = 0,0001).

– Vi så også, at leverpåvirkning (højere niveauer af ALAT) efter MTX-højdosisebehandling var mere udtalt hos børn med 3435CC-variant end hos børn med enten 3435CT eller 3435TT (P = 0,03).



Pyrosekvensering

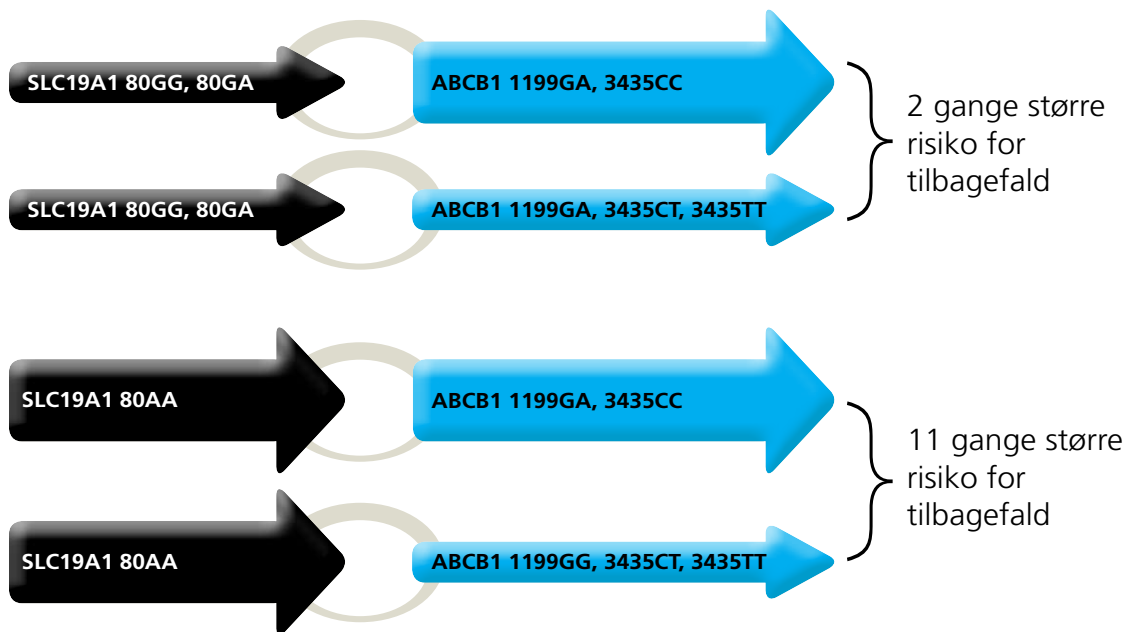
Figuren viser et eksempel på en patient med to forskellige alleler. Man designer prober, der passer til de mulige SNP-varianter, hvor hver probe har en unik farve, fx som her VIC(V) og FAM(F). Matcher proben, kløves den, og fluorescensen frigøres (til venstre). Til højre ses prober, der ikke matcher patientens sekvens, og proben kløves ikke, hvorved fluorescensen ikke frigøres.



Af bioanalytiker, MSc i laboratory science og ph.d. i medical science // Jannie Gregers Associate manager Novo Nordisk

LÆS MERE

Læs hele artiklen (evt. via www.pubmed.com): Polymorphisms in the ABCB1 gene and effect on outcome and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. Gregers, J., Gréen, H., Christensen, I.J., Dalhoff, K., Schroeder, H., Carlsen, N., Rosthøj, S., Lausen, B., Schmiegelow, K., Peterson, C.: *Pharmacogenomics J.* 2015 Aug;15(4):372-9.



Figur
De små sorte pile repræsenterer patienter med varianter i SLC19A1 gen, der ikke lige så effektivt transporterer MTX ind i cellerne som hos patienter med varianten vist med store sorte pile.

De store blå pile repræsenterer patienter med de varianter i ABCB1 gen, der formentligt får medikamenter mere effektivt ud af cellerne end hos patienter med varianter vist med små pile

NOMENKLATUR

2677G->T/A indikerer, at på nukleotid nummer 2677 i ABCB1s genkode har nogle individer et G, men der findes individer, der i stedet har enten et T og et A. Da man har en genalle fra begge sine forældre, er de mulige individuelle forskelle i dette tilfælde: GG, GA, GT, AA, TT og AT.

For at undgå misforståelser får hver nyfunden SNP et unikt rs-nummer. I forskellige databaser kan man slå dette nummer op og finde den helt nøjagtige placering af SNP'en i genomet.

SINGLE NUKLEOTID POLYMORFE (SNP)

Overalt i vores genom er der individuelle arvelige variationer – SNPs, hvor et enkelt nukleotid kan være forskelligt fra menneske til menneske. Mange gange har disse variationer ingen betydning, enten fordi de ikke resulterer i en aminosyreændring, eller fordi aminosyreændringen ikke har betydning for det opbyggede proteins funktion.

Er nogle af SNP-varianterne forbundet med bedre behandlings effekt?

– Vi opdelte børnene med leukæmi i grupper efter deres SNP-varianter og korrigerede sammenligningen for forskellige behandlingsprotokoller, immunfænotyper og køn og fandt, at risikoen for tilbagefald var 2,9 gange større hos børn med 1199GA-variant end hos børn med 1199GG-varianten ($P = 0,001$). Hos børn med højrisikoprotokol var risikoen for tilbagefald 4,3 gange større hos børn med 1199GA-variant end hos børn med 1199GG-varianten ($P = 0,0001$). Dette kunne skyldes, at børn i højrisikoprotokollen får mere doxorubicin, vincristin og prednisolon end børn i lavrisikoprotokoller. Der var ingen børn, der havde 1199AA-varianten.

– Hos børn med 3435CT og 3435TT var risikoen for tilbagefald henholdsvis 61% og 40% lavere end hos børn med 3435CC varianten ($P=0,02$).

Transporterer P-glycoprotein også medikamentet MTX ud af cellerne?

– Fra et tidligere studie af SNP 80G->A i SLC19A1-genet, der

koder for Reduced folate carrier, der transporterer MTX ind i cellerne, havde vi resultater for børnenes 80G->A-varianter. Da reduced folate carrier kun transporterer enten vitaminet folinsyre eller MTX ind i cellerne, ville man forvente, at risikoen for tilbagefald var uafhængig af SLC19A1-genet, hvis P-glycoprotein ikke var involveret i at transportere MTX ud af cellerne. Men vi kan se på pilefiguren, at der er en større risiko for tilbagefald mellem ABCB1-varianterne i den gruppe med den SLC19A1-variant, hvor reduced folate carrier mest effektivt får MTX ind i cellerne. Dette indikerer, at P-glycoprotein også er involveret i transport af MTX.

Konklusion

Vi har konkluderet, at der er statistisk signifikant sammenhæng mellem varianter i ABCB1-genet og henholdsvis bivirkninger og effekt af leukæmibehandling hos børn med ALL. Samtidig indikerer data, at P-glycoprotein kan være involveret i transport af MTX, og at ABCB1 1199G->A måske kan være en ny markør for fremtidig behandlingsstrategi af ALL. □

AFSLUTTENDE TANKER OM FAG OG FORSKNING

Hvad er eget fag/forskningsområde for bioanalytikere? Jeg mener, at bioanalytikere ud over materiale og metodeforskning også er selvsikrede til klinisk forskning. Det meste klinisk forskning er baseret på parakliniske resultater, som bioanalytikere producerer. Som bioanalytiker skal man sætte sig ind i det kliniske aspekt. Som lægelig aka-

demiker skal man sætte sig ind i det laboratoriemæssige aspekt. Begge faggrupper skal bruge tid på at sætte sig ind i statistiske test. Jeg vil opfordre bioanalytikere til også at se på muligheder for at producere klinisk forskning. I min opfattelse har bioanalytikere en for beskedne holdning til de resultater, som laboratorier bidrager med

til patientdiagnostik og -behandling. Jeg blev selv inspireret af, hvordan bioanalytikere i andre lande ser sig selv: I Am a Medical Laboratory Scientist – YouTube, [dur linket ikke, så søg på "I am a Medical Laboratory Scientist"](https://www.youtube.com/watch?v=...) på youtube.com.