

in silico hämatologie

Anwendung mathematischer Modellierung zur Vorhersage des Behandlungserfolgs bei Leukämie

von Ingmar Glauche und Ingo Röder

Die chronische myeloische Leukämie (CML) macht etwa 20 % aller Leukämieerkrankungen im Erwachsenenalter aus. Verantwortlich dafür sind maligne Zellen, die das sogenannte BCR-ABL-Fusionsprotein produzieren, was allerdings mit Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) effektiv bekämpft werden kann. Mit dieser spezifischen Behandlungsform hat sich CML in ein Paradebeispiel für eine effiziente und zielgerichtete Tumorthherapie entwickelt. Basierend auf der Anwendung eines einzelzellbasierten mathematischen Modells, das CML als klonale Konkurrenz zwischen normalen und leukämischen hämatopoetischen Stammzellen beschreibt, schlagen wir unterschiedliche Ansätze zur weiteren Optimierung der CML-Therapie vor. Bei unseren Modellvorhersagen konzentrieren wir uns insbesondere auf Kombinationstherapien und patientenspezifische Protokolle zum Absetzen der Behandlung.

Chronische myeloische Leukämie als Modell-erkrankung

Chronische myeloische Leukämie (CML) ist eine tödliche Erkrankung des blutbildenden Systems, auf die etwa 20 % aller Leukämieerkrankungen im Erwachsenenalter entfallen. Im Gegensatz zu vielen anderen Leukämiearten ist bei dem Großteil der Patienten das Leukämie-auslösende Ereignis bekannt – bei etwa 95 % liegt eine charakteristische Translokation der Chromosomen 9 und 22 vor. Durch diese Translokation entsteht das BCR-ABL-Fusionsgen, das auf dem verkürzten Chromosom 22 kodiert ist, dem sogenannten „Philadelphia-Chromosom“, und das zur Expression des BCR-ABL-Onkoproteins, einer dauerhaft aktivierten Tyrosinkinase, führt. Das Tragen dieser Mutation in einer hämatopoetischen Stammzelle kann eine zunächst langsame, jedoch stetige Ausbreitung der leukämischen Zellpopulation zur Folge haben. Diese Ausbreitung geht mit einer Verdrängung der normalen Hämatopoese einher und führt letztendlich zur Ausbildung einer CML (Abbildung 1A). Aus der anfänglichen, in der Regel weitgehend symptomfreien chronischen Phase der Erkrankung entwi-

ckelt sich schließlich eine akute Blastenkrise, wobei die große Anzahl undifferenzierter peripherer Blutzellen die normale Blutfunktion erheblich einschränkt und unbehandelt zum Tod des Patienten führt. Diese Vielzahl unreifer weißer Blutkörperchen war namensgebend für eine ganze Familie von Tumorerkrankungen des blutbildenden Systems: Leukämie (griechisch *leuchaimia*, von *leukós* = weiß und *haima* = Blut).

In den letzten 10-15 Jahren hat sich die Behandlung und damit auch die Prognose von CML Erkrankungen erheblich verändert, sodass die Krankheit heute im Allgemeinen gut kontrolliert werden kann. Die Verfügbarkeit spezifischer Medikamente, der so genannten Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI), ermöglicht die gezielte Bekämpfung von Zellen mit dem BCR-ABL-Onkoprotein. Aufgrund dieser zielgerichteten Behandlung bleiben bei der TKI-Therapie, anders als bei klassischen Chemotherapien, gesunde Zellen weitgehend verschont (Abbildung 1B). Bereits die Einführung von TKI der ersten Generation, namentlich *Imatinib*, resultierte in einer deutlichen Verbesserung der Behandlungsprognose im Vergleich zu den vorangegangenen Therapiemöglichkeiten, wie der Behandlung mit Hydroxyurea, Interferon- α (IFN α) oder durch Knochenmarktransplantation. Die Überlebensrate der Patienten fünf Jahre nach Diagnose der CML stieg auf über 90 %. Die Entwicklung von TKI der zweiten (*Dasatinib*, *Nilotinib*) und dritten Generation (*Bosutinib*, *Ponatinib*) ermöglicht aktuell eine weitere Verbesserung des Therapieerfolgs, insbesondere im Hinblick auf die erfolgreiche Behandlung eines breiten Spektrums von sekundären Resistenzmutationen. Aufgrund der Verfügbarkeit und des Erfolgs einer Therapie zur gezielten Bekämpfung der Tumorzellen („targeted therapy“) entwickelte sich CML zu einem Musterbeispiel für die Behandlung zahlreicher Tumorentitäten.

Die molekulare Verlaufskontrolle der Tumorlast im peripheren Blut mit Hilfe quantitativer reverser Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR) zeigte, dass die Monotherapie mit *Imatinib* bei den meisten Patienten eine zweiphasige Abnahme

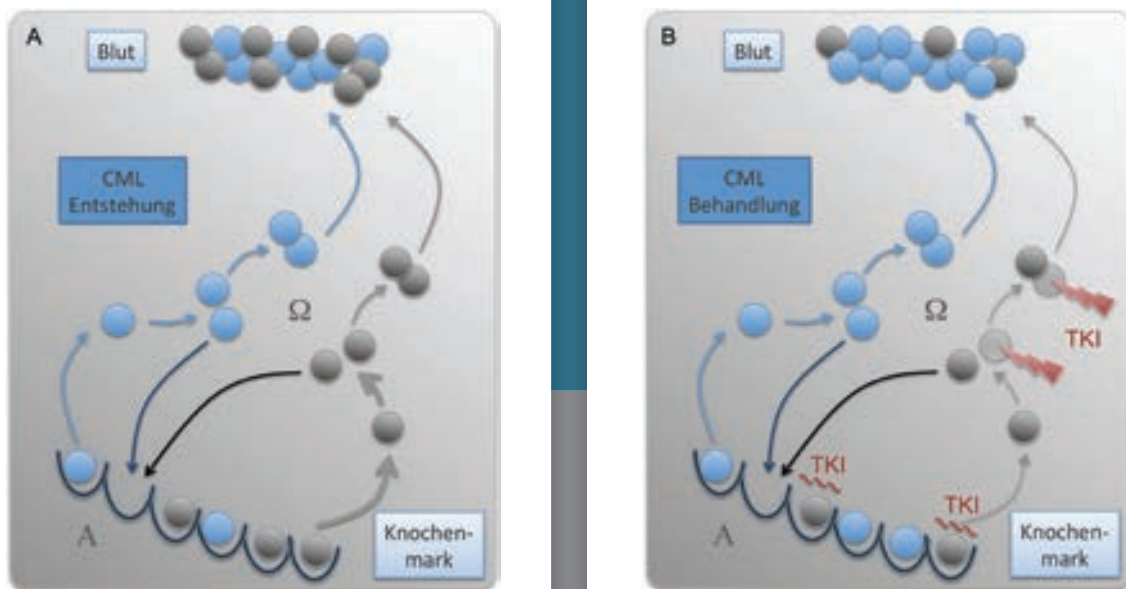


Abbildung 1: Chronische myeloische Leukämie (CML)

- A)** Normale (blaue) und leukämische (graue) Stammzellen werden regelmäßig aus ihren Knochenmarks-nischen aktiviert (unten, im Modell als *Signalumgebung A* bezeichnet) und teilen sich daraufhin (im Modell als *Signalumgebung Ω* bezeichnet). Während einige Zellen zu ihren Nischen zurückkehren, durchlaufen andere Zellen weitere Proliferations- und Differenzierungsschritte und tragen somit zum peripheren Blut bei. Durch eine erhöhte Aktivierung der leukämischen Zellen gegenüber den normalen Zellen verdrängt der leukämische Anteil sukzessive die normale Hämatopoese.
- B)** TKIs richten sich vor allem gegen aktivierte leukämische Zellen (durch rote Pfeile dargestellt) und bewirken dadurch eine deutliche Reduzierung der Tumorlast. Darüber hinaus sind leukämische Stammzellen unter TKI-Behandlung in einer Art Ruhezustand (durch rote Linien dargestellt), und können so über längere Zeiträume unentdeckt bleiben (Quelle: überarbeitet nach Glauche *et al.*, 2012).

der BCR-ABL-Transkriptmengen zur Folge hat (Abbildung 2A). Diese ist zu Beginn durch einen steilen Abfall der BCR-ABL-Transkripte gekennzeichnet, dem ein zweiter, mäßigerer Abfall folgt. Eine plausible Erklärung für den ersten, steilen Abfall ist die schnelle Beseitigung von teilungsaktiven BCR-ABL-positiven leukämischen Zellen. Im Gegensatz dazu repräsentiert der zweite Rückgang höchstwahrscheinlich das langsamere Aussterben der verbliebenen, deutlich weniger teilungsaktiven Leukämienstammzellen (LSC).

Die Mehrheit der Patienten spricht gut auf die TKI-Therapie an und oft wird eine vollständige zytogenetische bzw. sogar eine vollständige molekulare Remission erreicht (d. h., es können kaum, oft sogar keine leukämischen Zellen im peripheren Blut nachgewiesen werden). Allerdings bleibt offenbar bei den meisten Patienten eine Resterkrankung zurück, die selbst nach einer massiven und anhaltenden Reduzierung der Tumorlast über viele Jahre der Behandlung hinweg noch zum Rückfall führen kann. Während bei der Mehrzahl der Patienten nach dem Absetzen der TKI-Therapie ein Wiederanstieg der Tumorlast zu verzeichnen ist, konnte allerdings bei einigen Patienten nach Beendigung der Behandlung eine anhaltende molekulare Remission beobachtet werden (z. B. Mahon *et al.*, 2010). Diese Fälle deuten darauf hin, dass eine dauerhafte Heilung der Leukämie prinzipiell möglich ist. Außerdem unterstützen sie die

Ansicht, dass sich CML-Stammzellen nicht immer in einem, vor der Therapie geschützten (potenziell ruhenden) Zustand befinden, sondern über einen langen Zeitraum erfolgreich bekämpft werden können.

Obwohl sich die CML durch die TKI-Therapie zu einer beherrschbaren Erkrankung entwickelt hat, bleiben die Nebenwirkungen dieser Behandlung bestehen. Insbesondere sind die Auswirkungen einer andauernden TKI-Behandlung auf junge Patienten noch nicht umfassend bekannt. Des Weiteren stellen die hohen Kosten einer TKI-Therapie eine wirtschaftliche Belastung für das Gesundheitssystem dar. Damit bleibt die Frage bestehen, ob eine Kombination aus verschiedenen Medikamenten die Therapiewirkung bei dieser Krankheit mit dem Endziel einer vollständiger Heilung weiter verbessern kann oder ob bei ausgewählten Patienten die Therapie zu einem bestimmten Zeitpunkt mit geringem Risiko unterbrochen oder gar beendet werden kann.

Mathematische Modellierung der CML

Aus theoretischem, systembiologischem Blickwinkel betrachten wir die CML als ein klonales Wettbewerbsphänomen zwischen normalen hämatopoetischen und leukämischen Stammzellen, das mithilfe eines agentenbasierten Modellierungsansatzes im Computer simuliert werden kann. Diese Beschreibung, sowie die entsprechende mathematische Formulierung, wurden ursprünglich von Ingo Röder und Markus Löffler an der Universität

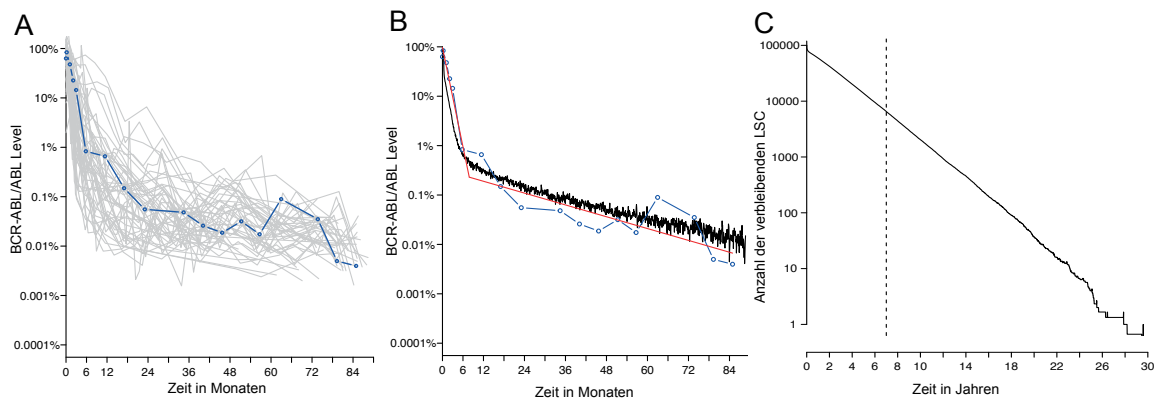


Abbildung 2: CML-Kinetik unter kontinuierlicher TKI-Behandlung

- A)** Individuelle Zeitverläufe von BCR-ABL Transkriptleveln bei CML-Patienten unter *Imatinib*-Behandlung mit der typischen zweiphasigen Abnahme. Der Zeitverlauf für einen einzelnen Patienten ist in blau dargestellt.
- B)** Eine bi-phasige Regression (rot) ist die Voraussetzung für eine simulierte Modellvorhersage des Therapieverlaufes für einzelne Patienten (schwarz).
- C)** Auf Basis des mathematischen Modellierungsansatzes wird die Anzahl der verbleibenden leukämischen Stammzellen für den betreffenden Patienten abgeschätzt. Dieser Wert ist ein maßgeblicher Faktor zur Abschätzung des Rückfallrisikos nach Absetzen der TKI-Therapie. (Quelle: überarbeitet nach Horn *et al.*, 2012).

Leipzig entwickelt, um unterschiedliche Phänomene der Stammzellregulation in Mäusen zu untersuchen (Roeder und Loeffler, 2002). Später wurde dieses Modell erfolgreich auf die humane Blutbildung übertragen, vor allem im Rahmen der Beschreibung der CML (Roeder *et al.*, 2006; Glauche *et al.*, 2012; Horn *et al.*, 2013). So konnten wir zeigen, dass bereits kleine Unterschiede der zellspezifischen Parameter von leukämischen und normalen Zellen zu einer langsamen, aber dauerhaften Verdrängung der normalen Zellen führen und auf dieser Grundlage die klinisch beobachtete chronische Phase der CML beim Menschen simulieren. Weiterhin nehmen wir an, dass bei der Behandlung von CML-Patienten mit dem TKI *Imatinib* einerseits eine zytotoxische Wirkung vorliegt und andererseits eine Verringerung der Proliferationsaktivität leukämischer Stammzellen bewirkt wird. Aus technischer Sicht erfolgte die Modellierung der zytotoxischen Wirkung durch eine selektive Auslöschung eines festen Prozentsatzes leukämischer Zellen je Zeitschritt, während die Proliferationsunterdrückung durch eine Verringerung der Aktivierung leukämischer Stammzellen in den Zellzyklus modelliert wird (siehe Abbildung 1B). Wir konnten zeigen, dass diese Annahmen hinreichend sind, um die typische zweiphasige Abnahme der BCR-ABL-Transkriptlevel bei TKI-behandelten CML-Patienten zu erklären (Abbildung 2A,B).

Therapiekombinationen zur Steigerung des langfristigen Erfolgs der TKI-Therapie

Die Kombination der TKI-Therapie mit einem den Zellzyklus stimulierenden Medikament ist eine potentielle Möglichkeit zur Wirkungssteigerung der Behandlung. Die Idee der Kombinationstherapie basiert auf der Annahme, dass die leukämischen Stammzellen durch die Aktivierung ihres Zellzyklus stärker auf die zytotoxische Wirkung der TKI ansprechen und somit zu einer schnelleren Reduzierung des verbliebenen leukämischen Klons führen. Marieke Essers und Andreas Trumpp von HI-STEM/DKFZ in Heidelberg beschreiben eine Zellzyklus-aktivierende Wirkung

von IFN α , die sich direkt auf die hämatopoetischen Stammzellen (HSC) von Mäusen auswirkt (Essers *et al.*, 2009). Obwohl diese Erkenntnisse in Mausexperimenten gewonnen wurden, beeinflussten sie nachhaltig die Diskussion über eine Verbesserung der TKI-Therapie bei CML-Patienten durch Zellzyklus-stimulierende Medikamente.

In Zusammenarbeit mit unseren Kollegen in Heidelberg griffen wir die Idee einer Kombinationstherapie aus TKI und einem ergänzenden Medikament zur Stimulierung der Zellzyklusaktivität hämatopoetischer Stammzellen auf. Am Beispiel von IFN α wendeten wir unser mathematisches Modell an, um den potentiellen Nutzen der Kombinationstherapie abzuschätzen (Glauche *et al.*, 2012). Wir untersuchten vor allem, inwiefern sich die verschiedenen Aktivierungswirkungen von IFN α auf leukämische Stammzellen des Menschen auswirken und wie unterschiedliche Zeitpunkte der Medikamentengabe den Erfolg der Therapie beeinflussen. Unser Modell deutet darauf hin, dass eine erfolgreiche Kombinationstherapie für CML-Patienten die parallele Verabreichung von TKI und IFN α in sich überschneidenden Zeitintervallen erfordert. Darüber hinaus verringert eine weniger häufige Verabreichung von IFN α zwar die Geschwindigkeit der Tumorreduktion, sie kann allerdings auch die potenziellen Nebenwirkungen und Risiken einer Kombinationstherapie abschwächen. Wir konnten zeigen, dass eine wöchentliche bzw. zweiwöchentliche Verabreichung von IFN α unter optimalen Bedingungen noch immer einen erheblichen Vorteil gegenüber der *Imatinib*-Monotherapie mit sich bringen kann und den voraussichtlichen Zeitraum bis zur vollständigen Tumoreradikation erheblich verkürzen würde. Selbst unter weniger günstigen Bedingungen (beispielsweise wenn IFN α beim Menschen keine Aktivierung der leukämischen Stammzellen bewirkt) sagt unser Modell voraus, dass durch die „gepulste“ IFN α -Therapie in Verbindung mit einer kontinuierlichen TKI-

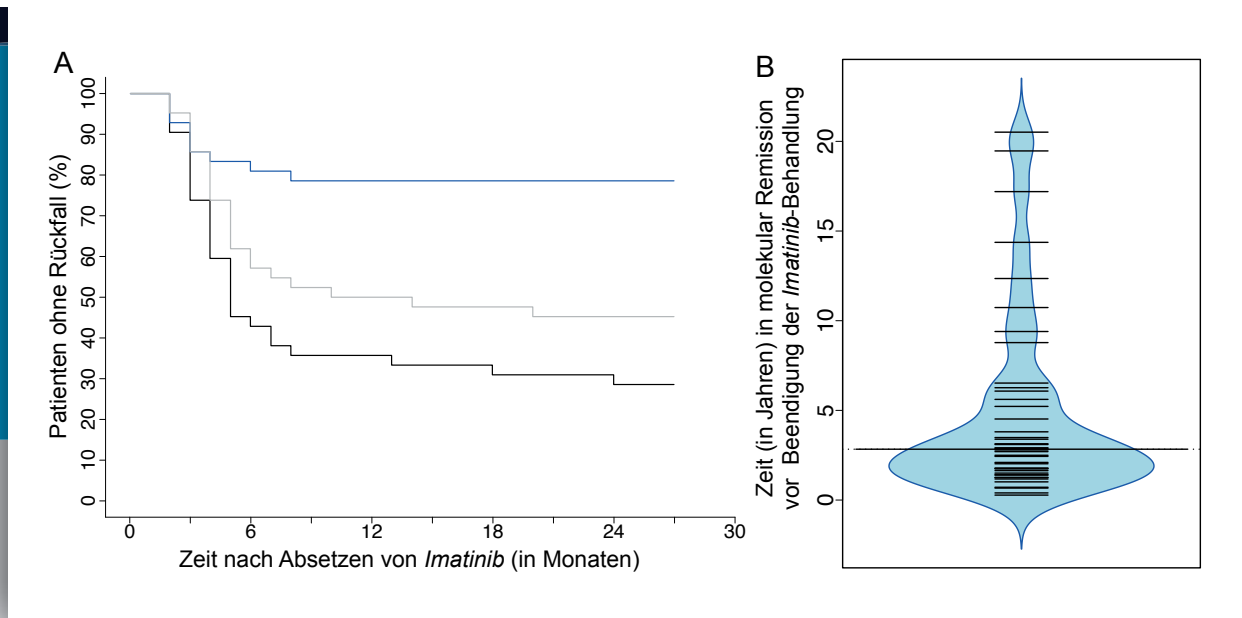


Abbildung 3:

- A)** Modellvorhersagen zur rückfallfreien Überlebenszeit von CML-Patienten nach Absetzen der *Imatinib*-Therapie: **schwarz** (Standardstrategie) – Absetzen der Therapie nach 2 Jahren in vollständiger molekularer Remission; **grau** – Therapieende nach 2,8 Jahren in vollständiger molekularer Remission (vergleiche Median in Abbildung 3B), **blau** (individualisierte Strategie) – Therapieende bei ausreichend niedrigen LSC-Zahlen basierend auf der Modellvorhersage
- B)** Geschätzte individuelle Wartezeiten in vollständiger molekularer Remission bis zum Absetzen der Therapie nach der individualisierten, modellbasierten Strategie. Mediane Behandlungszeit: 2,8 Jahre (Bereich: 0,3 – 20,5 Jahre) (Quelle: überarbeitet nach Horn *et al.*, 2013).

Verabreichung keine nachteiligen Auswirkungen im Vergleich zur herkömmlichen Standard-TKI-Monotherapie entstehen. Diese Erkenntnisse decken sich mit klinischen Ergebnissen, die bei Kombinationstherapien für eine geringere Dosierung und längere Zyklen der IFN α -Verabreichung zur Verringerung der Nebenwirkungen unter Beibehaltung der kurativen Zielstellung sprechen.

Schätzungen zur Resterkrankung und Vorhersage des optimalen Zeitpunkts für das Absetzen der Therapie

Es ist noch immer umstritten, ob bei einer anhaltenden molekularen Remission ein Absetzen der TKI-Therapie angezeigt ist oder nicht. Jüngsten klinischen Studien zufolge bleibt bei etwa 40 % der Patienten, die sich seit mindestens zwei Jahren in vollständiger molekularer Remission unter *Imatinib*-Therapie befinden, das zuvor erreichte molekulare Ansprechen erhalten, nachdem die Therapie abgesetzt wurde. Bei den verbleibenden 60 % wurde hingegen ein erneuter Anstieg der BCR-ABL-Transkripte beobachtet. Dabei können Rückfälle selbst bei Patienten auftreten, bei denen unter Therapie keine BCR-ABL-Transkripte im peripheren Blut nachgewiesen werden konnten. Gemeinsam mit Markus Löffler und Matthias Horn (Universität Leipzig) benutzen wir unsere mathematischen Modelle um zu analysieren, ob sich anhand des individuellen Therapieansprechens einzelner Patienten Vorhersagen für das Rückfallrisiko nach Beendigung der Therapie treffen lassen (Horn *et al.*, 2013). Vornehmlich war es unser Ziel, zu einer ausreichend präzisen Schätzung der verbliebenen Anzahl an Leukämienstammzellen zu gelangen, die für

das Rückfallrisiko nach Absetzen der Therapie den bestimmenden Faktor darstellt. Mit unseren Kooperationspartnern Andreas Hochhaus (Universitätsklinikum Jena) und Martin Müller (Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg) konnten wir anhand der Zeitverläufe der BCR-ABL-Transkriptlevel von CML-Patienten in der deutschen Kohorte der IRIS-Studie (7-jähriges follow-up) Modellparameter ermitteln, welche das individuelle Therapieansprechen einzelner Patienten adäquat beschreiben. Basierend auf diesen Anpassungen können wir mit den Modellen Vorhersagen für das patientenspezifische langfristige Ansprechverhalten unter *Imatinib*-Therapie ableiten (Abbildung 2B), sowie den individuellen Zeitraum für eine vollständige Eliminierung der verbliebenen Leukämienstammzellen abschätzen (Abbildung 2C). Anhand dieser Abschätzungen lassen sich wiederum Aussagen zum individuellen Rückfallrisiko nach Absetzen der *Imatinib*-Therapie für einzelne Patienten treffen. Ein simulationsbasierter Vergleich verschiedener Strategien zur Therapiebeendigung zeigt, dass unsere modellbasierten, patientenspezifischen Absetzzeiten der Anwendung eines festgelegten Absetzzeitpunktes (z. B. zwei Jahre in anhaltender, vollständiger molekularer Remission) deutlich überlegen sind. Abbildung 3A verdeutlicht, dass damit ein rückfallfreies Überleben möglicherweise bei bis zu 80 % der Patienten erreicht werden kann. Darüber hinaus geben unsere Ergebnisse Hinweise darauf, dass in Bezug auf den Zeitraum bis zum Absetzen der Therapie eine hohe Patientenheterogenität herrscht (Abbildung 3B). Während bei einigen Patienten ein sicheres Absetzen der Therapie bereits nach einem Jahr in vollständiger molekularer Remission als vertretbar angesehen wird, scheint bei anderen ein Zeitraum von zehn oder mehr Jahren erforderlich.

Ausblick

Laufende klinische Studien zu Kombinationstherapien (z. B. die CML-V-Studie) sowie zum kontrollierten Absetzen der TKI-Behandlung werden in naher Zukunft weitere Erkenntnisse bezüglich einer potenziellen Heilung der CML liefern und gleichzeitig wichtige Daten zur Validierung der mathematischen Krankheitsmodelle generieren. Durch die Anpassung der Modelle auf den Einzelfall, d. h. auf reale Patienten wird es möglich, den wahrscheinlichen Krankheitsverlauf besser vorher zu sagen und somit die Risikobewertung klinischer Eingriffe deutlich zu verbessern. In Zusammenarbeit mit unseren Partnern aus dem klinischen und experimentellen Bereich wollen wir die bestehenden mathematischen Modelle so weiterentwickeln, dass sie schließlich die klinische Entscheidungsfindung unterstützen können.

Partner:

- **Matthias Horn, Markus Löffler** (IMISE, Universität Leipzig)
- **Marieke Essers, Andreas Trumpp** (DKFZ, HI-STEM Heidelberg)
- **Andreas Hochhaus** (Universitätsklinikum Jena)
- **Martin Müller** (Medizinische Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg)
- **Rick Proschmann, Tino Rothe** (IMB, TU Dresden)

Weitere Informationen:

www.haematosys.de

Referenzen:

Essers MA, Offner S, Blanco-Bose WE, Waibler Z, Kalinke U, Duchosal MA, Trumpp A. (2009). IFN α activates dormant haematopoietic stem cells in vivo. *Nature* 458 (7240), 904-908.
Glauche, I., Horn, K., Horn, M., Thielecke, L., Essers, M.A., Trumpp, A., and Roeder, I. (2012). Therapy of chronic myeloid leukaemia can benefit from the activation of stem cells: simulation studies of different treatment combinations. *Br J Cancer*.

Horn, M., Glauche, I., Mueller, M.C., Hehlmann, R., Hochhaus, A., Loeffler, M., and Roeder, I. (2013). Model-based decision rules reduce the risk of molecular relapse after cessation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia. *Blood* 121, 378-384.

Mahon, F.X., Rea, D., Guilhot, J., Guilhot, F., Huguot, F., Nicolini, F., Legros, L., Charbonnier, A., Guerci, A., Varet, B., *et al.* (2010). Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* 11, 1029-1035.

Roeder, I., and Loeffler, M. (2002). A Novel Dynamic Model Of Hematopoietic Stem Cell Organization Based On The Concept Of Within-Tissue Plasticity. *Exp Hematol* 30, 853-861.

Roeder, I., Horn, M., Glauche, I., Hochhaus, A., Mueller, M.C., and Loeffler, M. (2006). Dynamic modeling of imatinib-treated chronic myeloid leukemia: functional insights and clinical implications. *Nat Med* 12, 1181-1184.

Kontakt:



Dr. Ingmar Glauche

Technische Universität Dresden
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus
Institut für Medizinische Informatik und Biometrie
Juniorgruppenleiter
ingmar.glauche@tu-dresden.de



Prof. Dr. Ingo Röder

Technische Universität Dresden
Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus
Institut für Medizinische Informatik und Biometrie
Direktor
ingo.roeder@tu-dresden.de

<http://tu-dresden.de/med/imb>