



Dana-Farber
Cancer Institute



HARVARD
MEDICAL SCHOOL

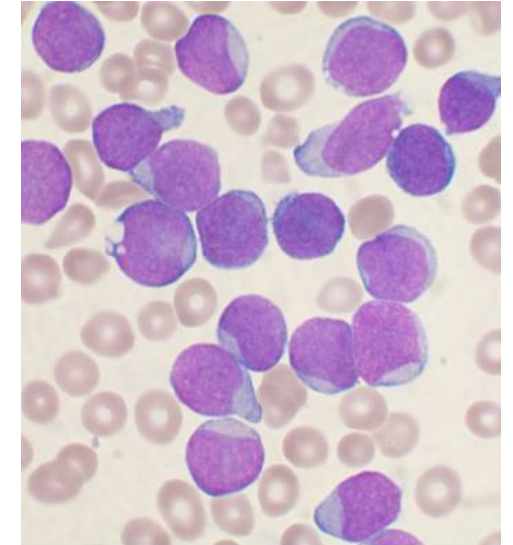
Валидация ксенотрансплантов онко-образцов пациентов (PDX) как моделей для оценки противолейкемической эффективности биоактивных молекул

Associate Director, Center for Pediatric Cancer Therapeutics

Андрей Кривцов, д.б.н.

Лейкозы

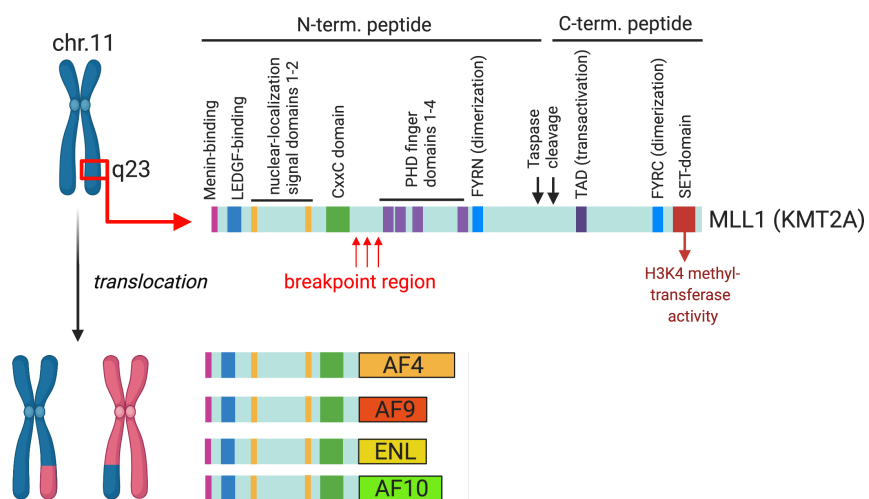
- Заболевание костного мозга при котором происходит неконтролируемая клональная пролиферация гемопоэтических клеток неспособных к полной дифференциации.
- В России болеет от 1,000 до 1,400 детей в год. Заболеваемость среди взрослых 3-10 на 100,000 человек.
- При отсутствии лечения, болезнь в течении недель или месяцев приводит к летальному исходу.
- Современные методы лечения обеспечивают выживаемость, в зависимости от типа лейкоза, 25 - 90% в течении 5 лет.
- Вероятность рецидива заболевания до 50%.



В-ОЛЛ

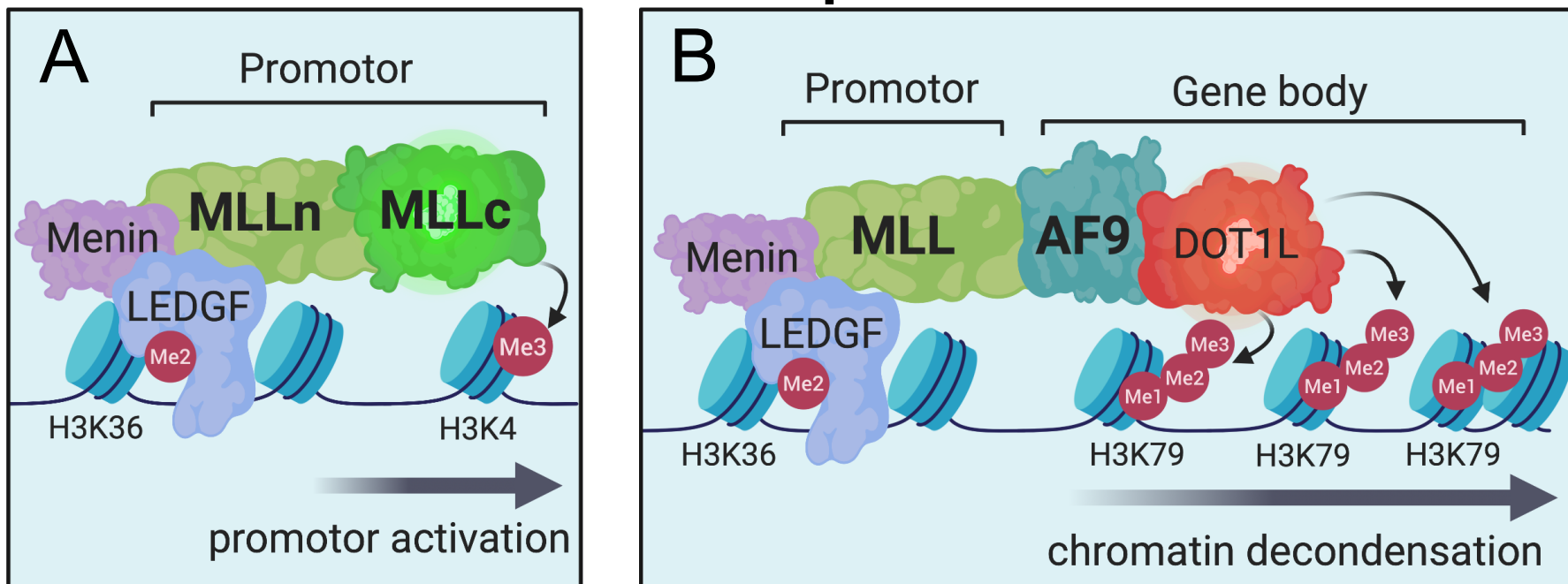
<https://en.wikipedia.org/wiki/Leukemia>

Лейкозы с транслокациями гена *MLL1* (*KMT2A*)



- Транслокации гена *MLL1* (Mixed Lineage Leukemia 1) обнаруживаются в 5-10% острых лимфоидных и миелоидных лейкозов. Поэтому, лейкозы с транслокацией *MLL1* выделяются в одну группу - лейкозы смешанных линий.
- Присутствие *MLL1*-транслокаций ассоциируют с плохим клиническим прогнозом, <50% выживаемость в течении 3 лет.
- Роль *MLL1* – поддержка активации промоторов генов путем катализации триметилирования лизинового остатка 4 на гистоне H3 (H3K4me3)
- Результатом хромосомных транслокаций *MLL1* всегда является экспрессия химерного онко-белка, который имеет на N-конце (8-11 экзонов) *MLL1*, и на C-конце один из > 80 остатков «белков партнеров». Химерный белок не имеет ферментативной активности *MLL1*

Механизм лейкозной трансформации MLL-химерами



MLL1 поддерживает промоторы в активном/открытом состоянии
Метилируя H3K4

MLL-химеры через ген-партнеров (AF10, AF17, ENL)
Рекрутируют метил-трансферазу DOT1L

Okada et al., *Cell* 2005

Krivtsov et al., *Cancer Cell* 2008

Bernt et al., *Cancer Cell* 2011

DOT1L – фермент, а значит возможно сделать специфичный ингибитор

Potent inhibition of DOT1L as treatment of MLL-fusion leukemia

2011-
2013

Scott R. Daigle, Edward J. Olhava, Carly A. Therkelsen, Aravind Basavapathruni, Lei Jin, P. Ann Boriack-Sjodin, Christina J. Allain, Christine R. Klaus, Alejandra Raimondi, Margaret Porter Scott, Nigel J. Waters, Richard Chesworth, Mikel P. Moyer, Robert A. Copeland, Victoria M. Richon, and Roy M. Pollock

Epizyme, Inc., Cambridge, MA

ClinicalTrials.gov

[Find Studies](#) [About Studies](#) [Submit Studies](#) [Resources](#) [About Site](#) [FHS Login](#)

[Home](#) > [Search Results](#) > Study Record Detail

Save this study

A Phase 1, Open-Label, Dose-Escalation & Expanded Cohort, Continuous IV Infusion, Multi-center Study of the Safety, Tolerability, PK & PD of EPZ-5676 in Treatment Relapsed/Refractory Patients With Leukemias Involving

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01684150

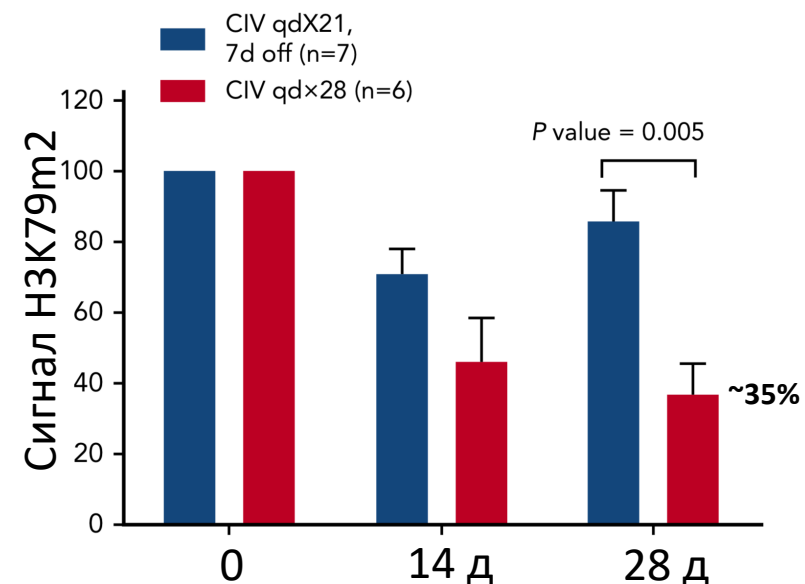
CLINICAL TRIALS AND OBSERVATIONS

The DOT1L inhibitor pinometostat reduces H3K79 methylation and has modest clinical activity in adult acute leukemia

Eytan M. Stein,¹ Guillermo Garcia-Manero,² David A. Rizzieri,³ Raoul Tibes,⁴ Jesus G. Berdeja,⁵ Michael R. Savona,⁶ Mojca Jongen-Lavrenic,⁷ Jessica K. Altman,⁸ Blythe Thomson,⁹ Stephen J. Blakemore,⁹ Scott R. Daigle,⁹ Nigel J. Waters,⁹ A. Benjamin Suttle,⁹ Alicia Clawson,⁹ Roy Pollock,⁹ Andrei Krivtsov,¹⁰ Scott A. Armstrong,¹⁰ Jorge DiMartino,¹¹ Eric Hedrick,⁹ Bob Löwenberg,⁷ and Martin S. Tallman¹

2016

А можем ли мы протестировать такие ситуации (недостаточная фармакодинамика) в пре-клинических испытаниях?



Создание коллекции лейкозов пациентов способных к трансплантации в иммунодефицитных мышах (PDX)

Преимущества:

1. «Не мышинная» болезнь, доктора обращают внимание.
2. Воспроизводят генетическое разнообразие пациентов.
3. Возможно получить PDX для лейкозов для которых не существует клеточных линий.
4. Возможность делать слепые «как клинические» испытания

Недостатки: Дорого

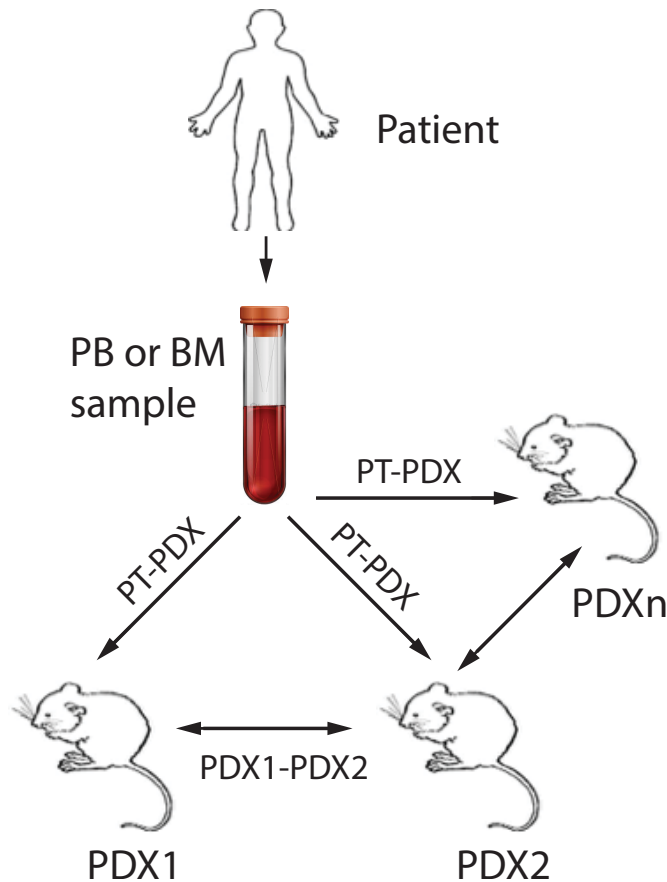
Непонятно: Насколько прижившиеся клетки лейкоза в мыши воспроизводят «особенности» клеток лейкоза пациентов?

Коллекция PDX в для пре-клинических испытаний

Трансплантировали образцы лейкозов от 202 пациентов в ~1475 NSG мышей
Лейкозы подбирали что бы сбалансировать: линию, возраст, статус.

Лейкоз	Новый диагноз	Рецидив	Рефракторный	вторичный лейкоз	Н/И	Детский	Взрослый	Н/И	всего	Энграфтмент
ОМЛ	25	19	9	2	1	8	48		56	45
ОЛСЛ	1	1				1	1		2	2
В-ОЛЛ	15	15	2			10	22		32	24
Т-ОЛЛ	42	4			24	32	33	5	70	48
Всего:	83	39	11	2	25	51	104	5	160	119

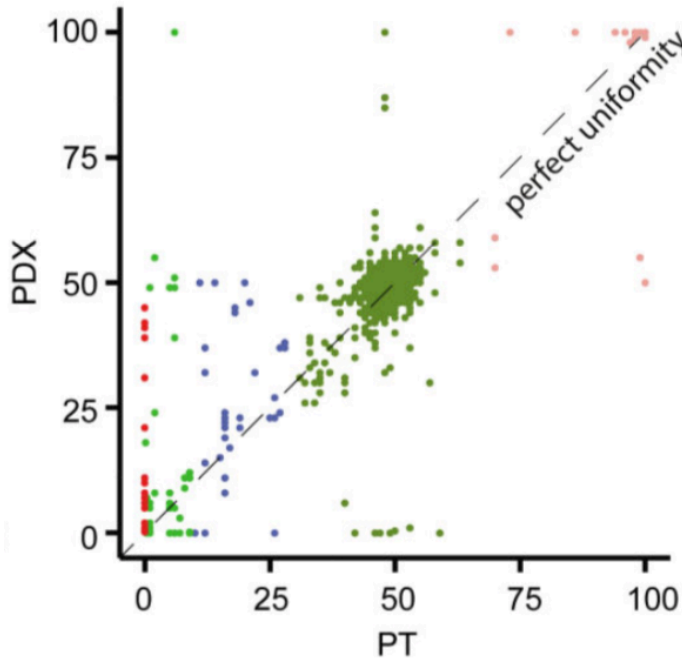
Насколько PDX воспроизводят генетические мутации клеток лейкоза пациентов?



Для ответа на это вопрос мы выбрали 69 образцов лейкозов пациентов и 103 парных PDX и отсеквенировали (>500x) экзоны 374 генов, 32 места геномных транслокаций и 272 РНК кодирующих предполагаемые химерные онко-белки

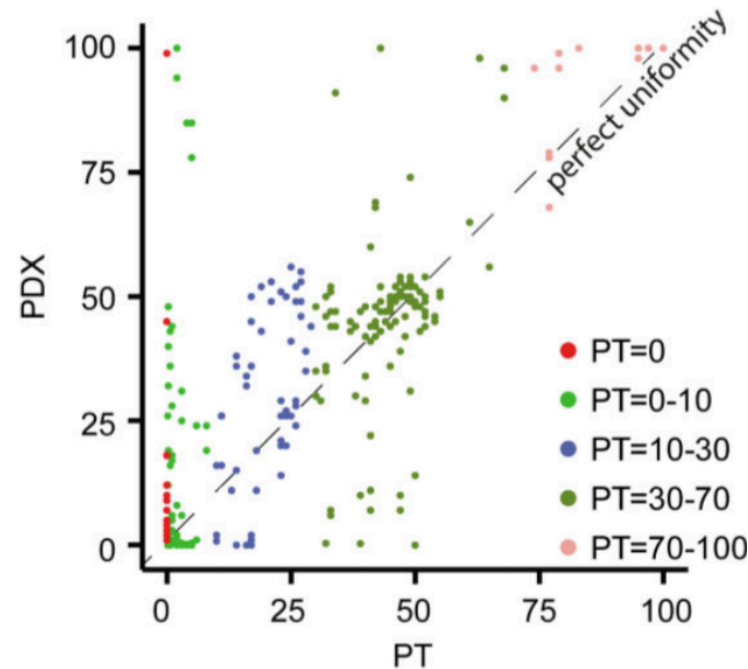
Частота мутированных аллелей в PDX, в целом воспроизводит мутированные аллели лейкозов

Мутации с неизвестной значимостью



PT среднее = 0.444
 PDX среднее = 0.455
 ($p < 10^{-5}$)

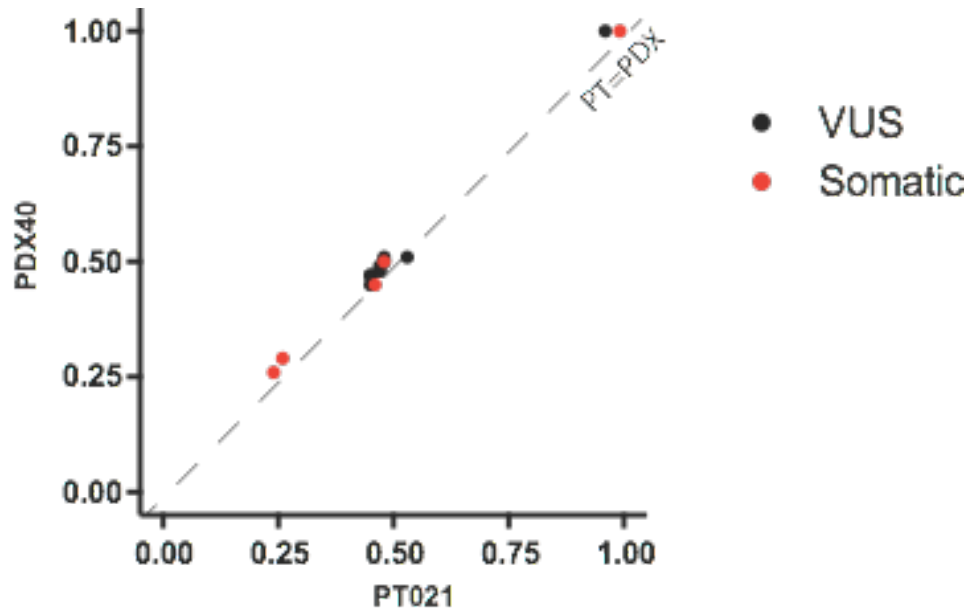
Соматические мутации с известной значимостью



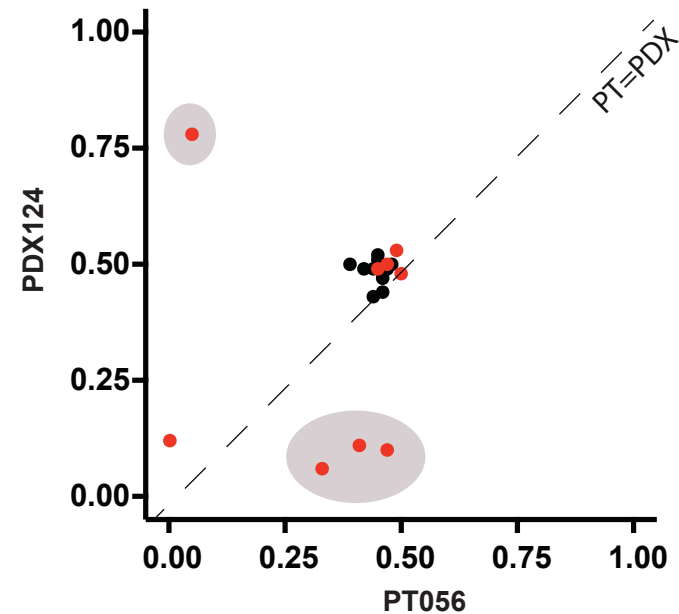
PT среднее = 0.292
 PDX среднее = 0.354
 ($p < 10^{-4}$)

категория	N	R ²	p-val	2x variability
0-10%	90	8E-07	0.9935	>90%
10-30%	51	0.2286	< 0.0001	45%
30-70%	120	0.1749	< 0.0001	13%
70-100%	14	0.3971	0.0157	0%

Примеры соответствия пар: лейкоз-PDX

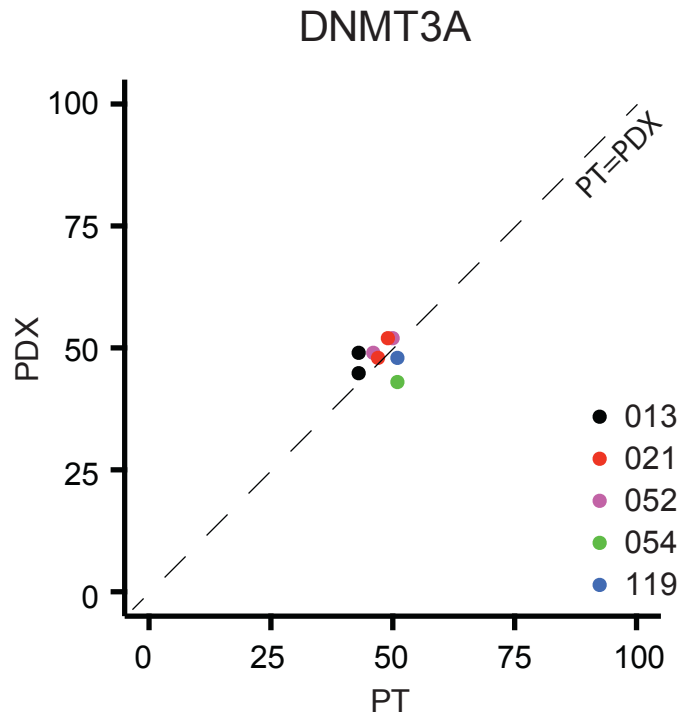


Точное воспроизведение
клональной архитектуры (50%)

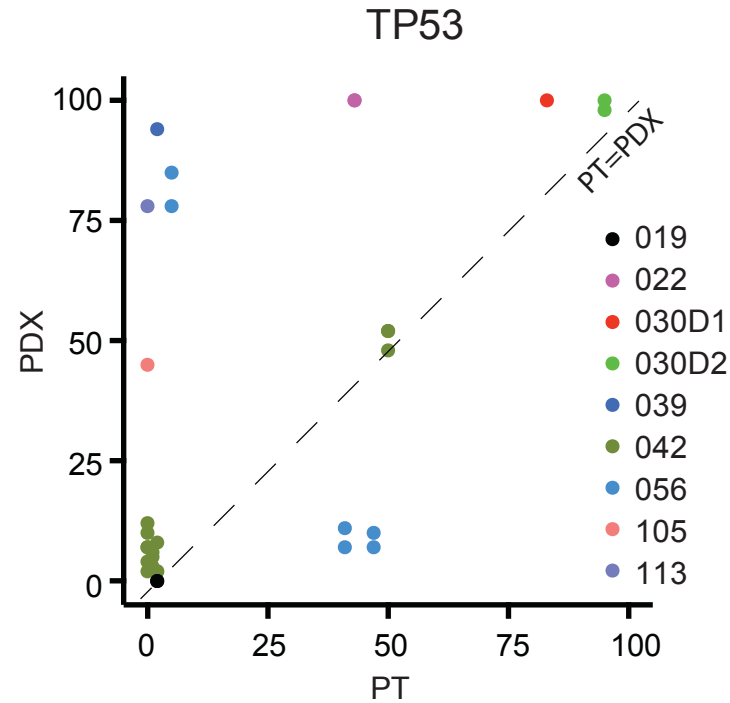


Нет воспроизведения
клональной архитектуры (50%)

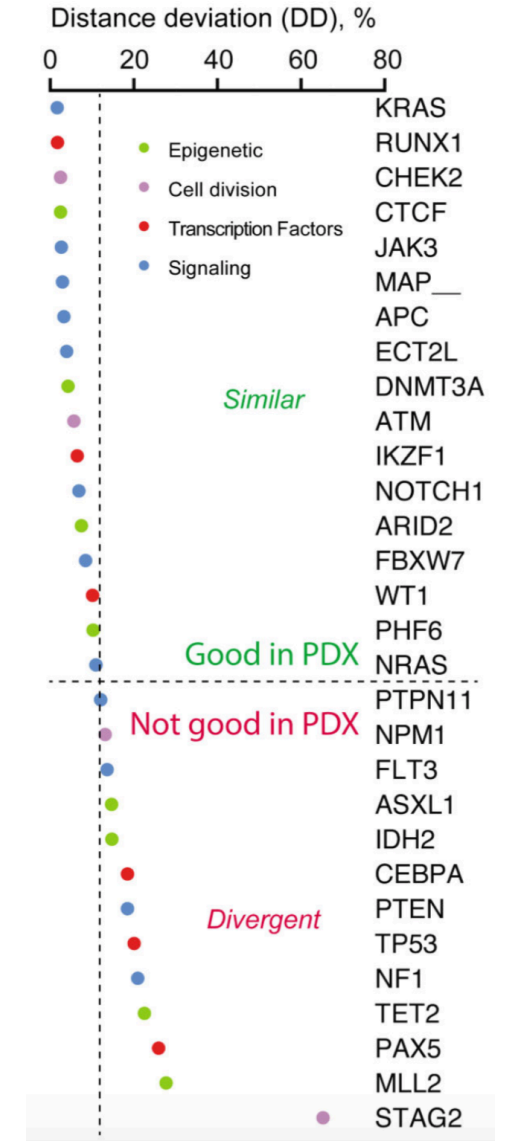
Приживаемость мутантных аллелей



Конкордный энграфтмент



дискордный энграфтмент



Выводы:

- PDX могут служить удобной модель для терапевтического таргетинга как минимум 17-ти мутантных аллелей.
- Используя нашу коллекцию PDX образцов мы участвовали в пре-клинические испытаниях >20 биоактивных соединений.
- Одно из таких биоактивных соединений – ингибитор MLL-Menin сейчас находится во второй стадии клинических испытаний

Продолжение работы:

- В настоящее время мы работаем над созданием коллекций приживляемых образцов пациентов с такими заболеваниями как: CMML, MDS, NPM, а так же пре-лейкемийных «гематологических состояний» как клональный гематопоз

Благодарности:

DFCI

Scott Armstrong

Zhaohui Feng

Florian Perner

Kathrin M. Bernt

Jayant Y. Gadrey

David Twomey

Lachelle Weeks

Athina Apazidis

MSKCC

Ross Levine

Eytan M. Stein

Martin S. Tallman

Kristina M. Knapp

Richard Koche

Xujun Wang