Fortschritte in der Klassifikation der akuten lymphatischen Leukämien: Von FAB über MIC und REAL zu WHO

Progress in the Classification of Acute Lymphatic Leukemias:
From FAB via MIC and REAL to WHO

R. Schabath, R. Ratei, W.-D. Ludwig

Zusammenfassung: In der hier vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung der Klassifikation akuter lymphatischer Leukämien (ALL) beginnend mit der FAB-Klassifikation der 70er Jahre bis hin zu der derzeitigen WHO-Klassifikation dargestellt. Viele Fortschritte in der Therapie der akuten Leukämien (AL) sind direkt mit einer Verbesserung der diagnostischen Möglichkeiten verknüpft. So trägt die moderne Leukämiediagnostik in den letzten Jahren mehr und mehr zu einer biologisch orientierten Beschreibung des jeweils vorliegenden Leukämiesubtyps bei und ermöglicht gleichzeitig die Wahl einer zunehmend individualisierten Therapie. Weiterhin ermöglichen die derzeitigen diagnostischen Methoden bei vielen Patienten eine genaue Beurteilung des Therapieansprechens und ein Erkennen „minimaler Resterkrankung“ (MRD) und erlauben so eine gezielte Steuerung des Therapieverlaufs. Die Einbringung und Umsetzung dieser diagnostischen Möglichkeiten innerhalb der aktuellen WHO-Klassifikation der ALL wird in diesem Artikel dargestellt.

Schlüsselwörter: akute lymphatische Leukämie; akute Leukämien; Immunphänotypisierung.

Summary: The contemporary classification of acute lymphatic leukaemias (ALL) has evolved from the morphological FAB-classification in 1970 to the WHO nomenclature based on immunophenotypic and cytogenetic data almost 30 years later. Many advances in the therapy of ALL are directly linked to an improvement of the diagnostic possibilities. In recent years it has become clearly evident that comprehensive diagnostic procedure including immunophenotyping, cytogenetics and molecular biology essentially contributes to the detection and description of biologically relevant subtypes of ALL. This has led to a complex risk stratification strategy in the modern concepts of ALL therapy. More-

over, the meticulous diagnostic methods are applied to detect minimal residual disease (MRD) in order to monitor therapy response and to evaluate remission. The integration and the assessment of these recent diagnostic developments within the current WHO-classification will be assessed and represented.

Keywords: acute lymphatic leukemia; acute leukemia; immunophenotyping.

Eine moderne Klassifikation akuter Leukämien (AL) sollte, um im klinischen Alltag auf einen möglichst großen Prozentsatz der Patienten mit AL angewandt werden zu können, leicht reproduzierbar sein, neue Erkenntnisse über pathophysiologische Grundlagen der Leukämogenese berücksichtigen und das klinische Verhalten unterschiedlicher Subtypen der AL widerspiegeln [1–4]. Ziele der heute auf morphologischen, immunphänotypischen sowie zyto- bzw. molekulargenetischen Merkmalen basierenden Klassifikationen der AL sind deshalb die für das therapeutische Vorgehen und die prognostische Einschätzung der Erkrankung wichtige Unterscheidung akuter myeloischer (AML) von akuten lymphatischen Leukämien (ALL) und die Erkennung biologischer Subtypen, deren klinisches Erscheinungsbild und therapeutische Beeinflussbarkeit differieren [1].

Die erste international akzeptierte Klassifikation der AL war die in den Jahren 1974 bis 1975 erarbeitete und 1976 publizierte French-American-British (FAB)-Klassifikation [5]. Ausgangspunkt dieser Klassifikation waren klinische Ergebnisse, die deutliche Unterschiede im Therapieansprechen von AML und ALL auf Zytostatika zeigten. In der FAB-Klassifikation wurde deshalb versucht, objektive morphologische Kriterien für die Trennung dieser beiden Hauptgruppen der AL zu etablieren. Zu diesem Zweck wurden 6 Subtypen der AML und 3 Subtypen der ALL (L1–L3) definiert. Die Subtypen der ALL unterschieden sich hinsichtlich Zellgröße, Chromatinstruktur des Kernes, Kernform, Nukleoli und Basophilie des Zytoplasmas. Diese Klassifikation wurde 1981 durch einen Score ergänzt, der anhand Kern-Zytoplasma-Relation, Zahl bzw. Art der Nukleoli, Form der Kernmembran und Zellgröße versuchte, die Übereinstimmung in der Zuordnung der Subtypen L1–L3 durch

HELIOS Klinikum Berlin, Charité – Campus Berlin-Buch, Deutschland

Korrespondenz: Richard Schabath, HELIOS Klinikum Berlin, Robert-Rössle-Klinik, Medizinische Klinik m. S. Hämatologie, Onkologie und Tumorummunologie, Lindenberger Weg 80, 13122 Berlin, Deutschland

Fax: +49 30-94 17-1308

E-mail: schabath@rrk-berlin.de

unterschiedliche morphologische Befunder zu verbessern und dadurch die damals postulierte prognostische Bedeutung des L1- bzw. L2-Subtyps im Rahmen klinischer Studien zu nutzen [6]. Die in Studien zunächst berichteten Korrelationen zwischen L1- bzw. L2-Subtyp und Immunphänotyp, Alter, Remissionsrate bzw. Remissionsdauer wurden jedoch zunehmend in Frage gestellt und die morphologische Unterteilung der ALL konnte mit Ausnahme des seltenen L3-Subtyps (siehe unten) nicht zur Definition biologisch oder klinisch relevanter Untergruppen beitragen. Darüber hinaus wurde durch den zunehmenden Einsatz der Immunphänotypisierung und zyto-/molekulargenetischer Methoden bereits Anfang der 80er Jahre verdeutlicht, dass der L3-Subtyp zumeist mit einem reifen B-Zell Immunphänotyp und der t(8;14) assoziiert war, die Subtypen L1 bzw. L2 jedoch keine Korrelation mit zellbiologisch oder prognostisch relevanten immunphänotypischen bzw. genetischen Subtypen zeigten.

Die Entwicklung von monoklonalen Antikörpern (moAk) gegen eine Vielzahl lymphatischer und myeloischer Antigene hat in den zurückliegenden 20 Jahren entscheidend dazu beigetragen, die anhand Morphologie und Zytochemie nicht erkennbare biologische Heterogenität der ALL aufzuzeigen und gilt deshalb als Goldstandard für die Klassifikation der ALL. Sie erlaubt in den meisten Fällen eine eindeutige Zuordnung der Blasten zur T-, B- oder selten NK-Zellreihe. Im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Kompetenznetzes „Akute und Chronische Leukämien“ wird bei der immunologischen Diagnostik der AL derzeit deutschlandweit eine Vereinheitlichung der immunphänotypischen Diagnostik angestrebt (www.kompetenznetz-leukaemie.de). Das dort erarbeitete Basispanel, das neben einer initialen Linienzuordnung auch ein Erkennen der therapeutisch relevanten Subgruppen der AL ermöglicht, findet sich in Tabelle 1.

Parallel zur Entwicklung der immunologischen Diagnostik wurden insbesondere in der B-Linien ALL verschiedene zytogenetische Aberrationen beschrieben. Konsequenterweise wurde daraufhin anlässlich eines Workshops in Leuven (Belgien) im Jahre 1985 eine „Morphologic, Immunologic, and Cytogenetic“ (MIC)-Klassifikation der ALL erarbeitet, die im Wesentlichen auf der Korrelation zwischen klinisch relevanten Subtypen der B-Linien- bzw. T-Linien-ALL und den damals bereits identifizierten genetischen Aberrationen beruhte [7]. Diese MIC-Klassifikation sollte nach Identifikation neuer immunphänotypischer/genetischer Entitäten laufend erweitert werden. Darüber hinaus verfolgte sie erstmals das Ziel, Hämatologen neue Einblicke in die Pathogenese der ALL zu vermitteln und gleichzeitig Empfehlungen für die Identifizierung klinisch relevanter Subtypen und deren risikoadaptierte Behandlung zu geben. In dieser Klassifikation wurden vier immunphänotypische Subgruppen der B- und zwei immunphänotypische Subgruppen der T-Linien-ALL unterschieden, wobei sich in jeder Subgruppe der B-Li-

Tabelle 1 Konsensuspanel zur immunologischen Basisdiagnostik akuter Leukämien des Kompetenznetz Leukämie (cy = intrazytoplasmatisch, NK = Negativ-Kontrolle). 11 Dreifarbkombinationen zum Nachweis zytoplasmatischer (cy1–3) und membranständiger Antigene (1–8)

	FITC	PE	PE-Cy5
cy1	-NK	cy-NK	Cy-NK
cy2	TdT cy	cyCD79	cyCD3
cy3	MPO	CD34	CD45
1	NK	NK	NK
2	CD10	CD13	CD19
3	CD7	HLA-DR	CD33
4	kappa	lambda	CD19
5	CD2	CD1a	CD3
6	CD34	„7.1“	CD117
7	CD65	CD56	CD45
8	CD61	CD14	CD45

nien-ALL mehrere genetische Aberrationen fanden (Tab. 2). Leider wurde das ursprüngliche Ziel der MIC-Klassifikation der ALL – zeitnahe Aktualisierung durch Definition neuer Entitäten – nicht realisiert und erst die 1994 publizierte „Revised European-American Classification“ (REAL)-Klassifikation lymphatischer Neoplasien hat durch Berücksichtigung morphologischer, immunphänotypischer, genetischer und zusätzlich klinischer Merkmale der B-, T- und NK-Zell Neoplasien das Konzept der MIC-Klassifikation wieder aufgenommen [8]. Die REAL-Klassifikation hat inzwischen die vorausgegangenen Klassifikationen der Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) abgelöst und in den allerdings nicht sehr detailliert dargestellten Subgruppen der Vorläuferzell-B- bzw. Vorläuferzell-T-lymphoblastischen Leukämien/Lymphomen auch eine Klassifikation der ALL angestrebt. In dieser Klassifikation wurde bereits ausdrücklich darauf hingewiesen, dass für eine Unterscheidung der unreifen B- oder T-Zell-Neoplasien von AML mit minimaler myeloischer Differenzierung (FAB AML-M0) [9] unbedingt eine Immunphänotypisierung erforderlich ist. Die 1994 bereits bekannten und z. T. auch für die Stratifizierung der Therapie bei ALL genutzten genetischen Veränderungen wurden allerdings in dieser Klassifikation mit Ausnahme des Hinweises auf eine Umlagerung der Immunglobulin- bzw. T-Zell-Rezeptor Gene in Vorläuferzell-B- bzw. Vorläuferzell-T-lymphoblastischen Leukämien/Lymphomen nicht berücksichtigt. Die B-ALL wurde in der REAL-Klassifikation den peripheren B-Zell-Neoplasien zugeordnet und unter der Bezeichnung Burkitt-Lymphom subsummiert. Eine Zusammenfassung der in der REAL-Klassifikation erwähnten morphologischen, immunphänotypischen und genetischen Merkmale der Vorläuferzell-B- bzw. Vorläuferzell-T-lymphoblastischen Leukämien/Lymphomen findet sich in Tabelle 3.

Tabelle 2 MIC-Klassifikation der ALL (cy = intrazytoplasmatisch; S = membranständig; Ig = Immunglobuline)

Immunologie (Subtyp)	Immunphänotyp (typische Marker)	Chromosomale Anomalien	Morphologie (FAB-Subtyp)
<i>B-precursor ALL</i>			
- Prä-prä-B ALL	CD19 +; CD10/cyIg/Slg -	t(4;11)(q21;q23)	L1 oder L2
- Common ALL	CD19/CD10 +; cyIg/Slg -	t(9;22)(q34;q11) del(6q) t/del(9p) t/del(12p) t/dic(9;12)(p11-12;p11-12) hyperdiploid (>50 Chr.)	L1 oder L2
- Prä-B ALL	CD19/CD10/cyIg +; Slg -	t(1;19)(q23;p13) t(9;22)(q34;q11) del(6q) hyperdiploid (>50 Chr.)	L1 (selten L2) L1 oder L2
<i>B-ALL</i>	CD19/Slg +; CD10 ±	t(8;14)(24;q32) t(8;22)(q24;q11) t(2;8)(p12;q24)	L3
<i>Prä-T/T-ALL</i>	CyCD3/CD7 +	t(11;14)(p13;q11) t(10;14)(q24;q11) t(8;14)(q24;q11) del(6q) t/del(9p)	L1 oder L2

Tabelle 3 REAL-Klassifikation: morphologische, immunphänotypische und genotypische Merkmale der Vorläufer B-, T-lymphoblastischen Leukämien/Lymphome und des Burkitt-Lymphoms (cy=intrazytoplasmatisch; S=membranständig)

Subtyp	Morphologie	Phänotyp	Genotyp
Vorläufer B-	Lymphoblasten, häufig Mitosen, keine Korrelation mit Immunphänotyp	TdT ⁺ , CD19 ⁺ , CD79α ⁺ , CD22 ⁺ , CD20 ^{+/+} , CD10 ^{+/+} , HLA-DR ⁺ , CD34 ^{+/+} , SlgM ⁺ , cyIgM ^{+/+} , CD13/33 ^{+/+}	Immunglobulin (Ig) Schwerketten umgelagert, Ig Leichtketten und T-Zell-Rezeptor (TZR) Gene z.T. umgelagert; unterschiedliche zytogenetische Anomalien
Vorläufer T-	identisch mit Vorläufer B-	TdT ⁺ , CD7 ⁺ , (cy)CD3 ⁺ , unterschiedliche Expression anderer T-Zell-Antigene, B-Zell-Antigene; CD16/57 ^{+/+} ; αβ, γδ TZR-Moleküle ^{+/+}	unterschiedliche Umlagerungen der TZR Gene; Umlagerung der Ig Schwerketten ^{+/+} ; unterschiedliche zytogenetische Anomalien
Burkitt	L3: Zellen monomorph, mittelgroß mit runden Kernen und weitem basophillem Zytoplasma, z.T. kohäsives Verhalten, zytoplasmatische Vakuolen, viele Mitosen, Nachweis von Apoptose	SlgM ⁺ , CD19/20/22/79α ⁺ , CD10 ⁺ , CD5 ⁻ , CD23 ⁻	meistens Translokation von c-myc von Chromosom 8 auf Chromosom 14 {t(8;14)}, selten auf Chromosom 2 {t(2;8)} oder Chromosom 22 {t(8;22)}

Das durch MIC- und REAL-Klassifikation verfolgte Konzept, unreife sowie reife lymphatische Neoplasien anhand morphologischer bzw. histologischer Merkmale, Immunphänotyp und genetischer Aberrationen zu klassifizieren, wurde in der „World Health Organization“ (WHO)-Klassifikation von Tumoren hämatopoetischer und lymphatischer Gewebe konsequent weiterentwickelt [10]. Analog zur REAL-Klassifikation werden

Vorläufer B- und Vorläufer T-Zell-Leukämien (synonym B- und T-Linien ALL) als unreife Neoplasien von Burkitt Lymphom/Leukämie als reife B-Zell-Neoplasien abgegrenzt. Wesentliches Ziel der WHO-Klassifikation ist es, anhand morphologischer, zytochemischer bzw. histologischer Merkmale, Immunphänotyp und Genotyp die differentialdiagnostische Unterscheidung der verschiedenen Subtypen AL zu erleichtern und

gleichzeitig klinische Entitäten, häufig mit Bedeutung für die Therapieentscheidung und prognostischer Relevanz, zu beschreiben.

Weiterhin wurde erstmals eine von Pathologen entwickelte Klassifikation während der Erarbeitung Kliniken zur Diskussion vorgestellt (dem so genannten „Clinical advisory committee“ – CAC) [11]. Folgende drei Hauptfragen wurden dabei diskutiert: (1) Sollte die FAB-Einteilung mit den Termini L1, L2 und L3 beibehalten werden? Aufgrund der oben erwähnten mangelnden Korrelation von immunphänotypischen, zytogenetischen und klinischen Parametern mit den FAB-Kategorien L1–3 wurde eine weitere Verwendung dieser Termini nicht empfohlen. (2) Sind akute lymphatische Leukämien und lymphoblastische Lymphome als ein und dieselbe Erkrankung zu betrachten? Ja, biologisch handelt es sich um dieselbe Erkrankung mit unterschiedlichen Manifestationen. Der Begriff Leukämie sollte für Vorläuferzell-B- und T-lymphoblastische Leukämien reserviert werden. (3) Sollte die Zytogenetik in die Klassifikation mit einbezogen werden? Ja, als wichtiger prognostischer Faktor sollte die Zytogenetik fest integriert werden.

Die Grundzüge der WHO-Klassifikation von ALL bzw. Burkitt Lymphom/Leukämie werden im Folgenden kurz dargestellt und durch tabellarische Darstellungen illustriert. Auf die in der WHO-Klassifikation ebenfalls dargestellten epidemiologischen sowie klinischen Merkmale der entsprechenden Neoplasien und ihrer Prognose kann aus Platzgründen an dieser Stelle nur sehr knapp eingegangen werden.

Vorläufer-B-lymphoblastische Leukämien/ B-lymphoblastische Lymphome

Betroffen sind zumeist das Knochenmark und das periphere Blut (Vorläufer-B-lymphoblastische Leukämie). Gelegentlich präsentiert sich die Erkrankung mit nodalen oder extranodalen Manifestationen (Vorläufer-B-lymphoblastische Lymphome).

Die Morphologie entspricht dem L1- und L2-Subtyp der FAB-Klassifikation: Die Blasten zeigen ein monomorphes Bild. Sie sind klein- bis mittelgroß und besitzen einen schmalen Zytoplasmasaum. In den Zellkernen können sich wenig prominente Nukleoli finden. Vereinzelt wird eine Vakuolisierung gesehen. Die Lymphoblasten weisen in einigen Fällen zytoplasmatische Pseudopodi („Handspiegelformen“) auf. Zytochemisch sind die Blasten negativ für Myeloperoxidase und bieten nicht das für Myeloblasten typische intensive Muster nach der Sudan-Schwarz Färbung. Weiterhin kann PAS-Positivität mit einem die Zellkerne umgebenden Randsaum vorkommen.

Immunphänotypisch findet sich eine Positivität für TdT (terminale Desoxynukleotidyl-Transferase), HLA-DR, zytoplasmatisches CD79 α und CD19. Die Expression der B-lymphatischen Marker CD20 und CD22 sowie von CD45 ist variabel. Der Progenitormarker CD34 wird in ca. 60–70 % aller Vorläufer-B-lymphoblastischen Leukämien exprimiert. Die frühen myeloischen Antigene CD13 und CD33 können in einem Teil der Fälle aberrant nachgewiesen werden (so genannte My⁺ALL, siehe unten). Membranständiges Immunglo-

Tabelle 4 Immunologische ALL-Klassifikation nach EGIL (cy = intrazytoplasmatisch; S = membranständig)

	B-Linien-ALL				T-Linien-ALL			
	pro-B	common	prä-B	B	pro-T	prä-T	kortikale	reife
Progenitorzell-Antigene								
TdT	+	+	+	–	+	+	+	+/-
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	–	–	–
CD10	–	+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	–
B-Zell-Antigene								
CD19	+	+	+	+	–	–	–	–
CD22 (cy)	+	+	+	+	–	–	–	–
CD79 α	+	+	+	+	–	–	–	–
CyIgM	–	–	+	–	–	–	–	–
SIg	–	–	–	+	–	–	–	–
T-Zell-Antigene								
cyCD3	–	–	–	–	+	+	+/-	–
CD7	–	–	–	–	+	+	+	+
CD2	–	–	–	–	–	+	+	+
CD1a	–	–	–	–	–	–	+	–
SCD3	–	–	–	–	–	–	+/-	+

Tabelle 5 Genetische Veränderungen bei B-lymphoblastischen Leukämien

Zytogenetik	Genetische Veränderung	Häufigkeit Kinder/Erwachsene		Prognose	assoziierter Immunphänotyp
t(9;22)(q34;q11.2)	BCR/ABL	3–4 %	25–30 %	schlecht	c-ALL, prä-B-ALL
t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL	2–3 %	6 %	schlecht	pro-B-ALL
t(1;19)(q23;p13.3)	PBX/E2A	6 %	3 %	schlecht	prä-B-ALL
t(12;21)(p13;q22)	TEL/AML1	16–29 %	<1 %	gut	c-ALL, prä-B-ALL
Hyperdiploid (>50)		20–25 %		gut	
Hypodiploid		5 %		schlecht	

bulin wird nicht exprimiert. Der immunologische Reifegrad der Zellen korreliert mit genetischen Anomalien und dem klinischen Verlauf. Anders als die MIC- oder die auf dem Immunphänotyp basierende EGIL-Klassifikation („European Group for the Immunologic Classification of Leukemia“, Tab. 4) [12] subsumiert die WHO-Klassifikation in der Entität der Vorläufer-B-lymphoblastischen Leukämien drei immunphänotypische Subtypen: Die unreifste Subgruppe ist hierbei die frühe Vorläufer-B-lymphoblastische Leukämie (early precursor B-ALL, synonym nach EGIL: pro-B-ALL). Die Lymphoblasten exprimieren CD19, zytoplasmatisches CD22 und TdT. CD10 (das so genannte common-ALL-Antigen) und meist auch CD24 sind nicht nachweisbar. Dieser Immunphänotyp ist häufig mit der Translokation t(4;11) assoziiert. Beim intermediären Reifungsgrad, der so genannten common ALL, exprimieren die Blasten CD10. Bei der reifsten Form (prä-B-ALL) wird intrazytoplasmatisch IgM nachgewiesen.

Neben der immunologischen Einteilung der ALL nach Reifegraden erfolgt eine Gruppierung nach strukturellen Aberrationen und Ploidie (DNA-Gehalt und Chromosomenzahl der Zellen) (Tab. 5). Diese Einteilung ist prognostisch relevant und wird, insbesondere bei Kindern mit ALL, auch zur Stratifizierung der Therapie herangezogen. Zu den prognostisch günstigen Aberrationen zählen Hyperdiploidie mit 51–65 Chromosomen (entsprechend einem durchflusszytometrisch bestimmtem DNA-Gehalt 1.16 bis 1.6) und die Translokation t(12;21)(p13;q22). Als ungünstig werden folgende Translokationen und Aberrationen gewertet: (1) Die Translokation t(9;22) mit Fusion von BCR (22q11.2) und dem Tyrosinkinase-Gen ABL (9q34). (2) Die Translokation t(4;11) mit der Fusion des MLL-Gens (11q23) mit AF4 (4q21). Daneben sind zahlreiche weitere Translokationen mit Fusion des MLL-Gens mit anderen Partnern beschrieben – z. B. als Folge einer vorausgegangenen Therapie mit Etoposid –, die ebenfalls mit einer schlechten Prognose verbunden sind [13]. (3) Die Translokation t(1;19), bei der es zu einer Verbindung des Gens für den Transkriptionsfaktor E2A (19p13.3) mit PBX (1q23) kommt. Beim Vorliegen dieser Translokation findet sich meistens ein prä-B-ALL Immunphänotyp. (4) Hypodiploidie. Andere genetische

Anomalien wie del(6q), del(9p), del(12p), Hyperdiploidie mit weniger als 51 Chromosomen oder annähernde Tri- und Tetradiploidie sind mit einer intermediären Prognose assoziiert.

Vorläufer-T-lymphoblastische Leukämien/ T-lymphoblastische Lymphome

Der Anteil der Vorläufer-T-lymphoblastischen Leukämien/T-lymphoblastischen Lymphome beträgt ca. 15 % aller kindlicher ALL und 25 % der ALL des Erwachsenenalters.

Morphologisch dominieren auch hier die L1- und L2-Subtypen der FAB-Klassifikation. Die Zellen ähneln denen der Vorläufer-B-lymphoblastischen Leukämien/B-lymphoblastischen Lymphome. Die Blasten sind von mittlerer Größe mit hoher Kern-Plasma Ratio. Es finden sich mehr Mitosen als bei den Vorläuferzell-B-lymphoblastischen Leukämien. Bei den T-lymphoblastischen Lymphomen sind die Lymphknoten meist komplett infiltriert und die Kapsel beteiligt. Ein „Sternenhimmel“-artiges Bild wird gelegentlich gesehen. Die Lymphomzellen sind oft von Eosinophilen umgeben. Zytochemisch zeigen die T-Lymphoblasten fokale Positivität für saure Phosphatase.

Die immunphänotypische Klassifikation der Vorläufer-T-lymphoblastischen Leukämien/T-lymphoblastischen Lymphome basiert auf der Zuordnung der Blasten zu dem angenommen physiologischen Pendant in der normalen T-Zell-Entwicklung und Reifung im Thymus. Nach der EGIL-Klassifikation werden vier verschiedene Subtypen unterschieden: pro-T ALL, prä-T ALL, kortikale oder auch thymische ALL und die reife T-ALL (Tab. 4). In der GMALL (German ALL Studien-gruppe) werden pro- und prä-T ALL als eine Entität verstanden, in der WHO-Klassifikation werden sogar pro-, prä- und kortikale T-ALL zusammengefasst. Die Zellen exprimieren TdT, CD7 und zytoplasmatisches bzw. in reiferen Subtypen membranständiges CD3. CD2, CD3, CD4, CD5, und CD8 werden variabel exprimiert, wobei CD4 und CD8 koexprimiert werden können. Oft findet sich eine Positivität von CD10. Die myeloischen Antigene CD13 und CD33 (so genannte

My⁺ALL, siehe unten) sowie der Stammzellmarker CD117 (c-kit) sind in ebenfalls in einem Teil der Fälle nachweisbar. Die Expression des Markers CD1a charakterisiert die kortikale/thymische T-ALL. Die unterschiedlichen Differenzierungsgrade sind, wie bei den B-Vorläufer Leukämien, mit unterschiedlichen Prognosen und speziellen zytogenetischen Aberrationen verbunden [14]. In einem Drittel der Fälle liegen Translokationen vor, bei denen der alpha und delta T-Zellrezeptorloкус (14q11.2), der beta- (7q35) und der gamma T-Zellrezeptorloкус (7p14–15) betroffen sind und Interaktionen mit verschiedenen anderen Genen vorliegen. Betroffen sind die Transkriptionsfaktoren MYC (8q24.1), TAL1 (1p32), RBTN1 (11p15), RBTN2 (11p13), HOX (10q24) und das Gen der Tyrosinkinase LCK (1p34.3–35). In den meisten Fällen führt die Translokation zu einer Dysregulation der Transkription des Partnergens durch die Juxtaposition mit einer regulatorischen Region des T-Zellrezeptor-Locus.

Burkitt-Lymphom/Reife B-ALL

Das Burkitt-Lymphom, dem innerhalb der WHO-Klassifikation auch die reife B-ALL zugerechnet wird, ist durch seinen sehr aggressiven Verlauf gekennzeichnet. Extranodale Manifestationen, oft auch mit ZNS-Beteiligung, sind häufig. Man unterscheidet klinisch drei Varianten: (1) Das endemische Burkitt-Lymphom, das die häufigste Neoplasie in Äquatorial-Afrika und Papua-Neuguinea darstellt. Diese geographische Verteilung geht mit klimatischen Faktoren einher und korrespondiert mit dem Vorkommen der Malaria. (2) Das sporadische Burkitt-Lymphom, das weltweit verbreitet ist. Dessen Inzidenz ist mit 1–2 % aller Lymphome in Westeuropa und den USA eher gering. Diese Form hat jedoch mit 30–50 % einen hohen Anteil an den Lymphomen des Kindesalters. (3) Immundefekt-assoziierte Burkitt-Lymphome, die am häufigsten im Zuge einer HIV-Infektion auftreten. In Folge anderer Immundefekte sind Burkitt-Lymphome weit seltener.

Blasten der reifen B-ALL/BL zeigen typischerweise die FAB L3-Morphologie: mittelgroße Zellen mit runden Kernen und einem basophilen Zytoplasma mit ausgeprägter Vakuolisierung. Nahezu alle Zellen sind positiv für den Proliferationsmarker Ki-67. Immunphänotypisch findet sich eine Immunglobulin-Expression auf der Zelloberfläche mit kappa- oder lambda-Leichtkettenrestriktion und Positivität für die B-Linienmarker (z. B. CD19, CD20, CD22, CD24). TdT oder Progenitormarker sind in der Regel nicht nachweisbar.

Burkitt Lymphome/die reife B-ALL zeigen ein klonales Rearrangement der Gene für die schweren und leichten Ketten der Immunglobuline (Ig). Somatische Mutationen können gefunden werden. Alle Fälle zeigen eine Translokation des MYC-Gens (8q24) entweder zur Ig-Schwerkettenregion (14q32) oder weniger häufig zu den Ig-Leichtketten-Loci kappa (2q11) bzw. lambda (22q11).

Akute Leukämien mit unklarer Linienzuordnung (WHO: „Acute leukaemias of ambiguous lineage“)

Der routinemäßige Einsatz eines breiten Panels moAk gegen myeloische und lymphatische Differenzierungsantigene in der Diagnostik AL hat dazu geführt, dass AL mit immunphänotypischen Merkmalen unterschiedlicher hämatopoetischer Zellreihen (d. h. ALL mit Koexpression myeloischer Antigene, My⁺ ALL, bzw. AML mit Koexpression von T- oder B-lymphatischen Antigenen, Ly⁺ AML) zunehmend häufiger diagnostiziert wurden [1,15, 16]. Meistens handelt es sich um AL, die anhand morphologischer, zytochemischer sowie immunphänotypischer Merkmale eindeutig der myeloischen oder lymphatischen Zellreihe zugeordnet werden können, jedoch bei der Immunphänotypisierung eine für die Zellreihe bzw. Differenzierungsstufe aberrante Antigenexpression (My⁺ALL bzw. Ly⁺AML) zeigen. Die Häufigkeit der My⁺ ALL bzw. Ly⁺ AML variiert für My⁺ ALL zwischen 5 und 40 % und für Ly⁺ AML zwischen 10 und 25 % in Abhängigkeit von den eingesetzten moAk, den verwendeten Methoden für die Immunphänotypisierung, den für die Definition der Positivität einzelner Antigene gewählten Grenzwerten und dem untersuchten Patientenkollektiv. Von den My⁺ ALL bzw. Ly⁺ AML, deren Behandlung entsprechend ALL- bzw. AML-Protokollen erfolgt, müssen AL abgegrenzt werden, die (1) anhand morphologischer, zytochemischer sowie immunphänotypischer Merkmale nicht eindeutig der myeloischen oder lymphatischen Zellreihe zugeordnet werden können (undifferenzierte akute Leukämien, AUL), (2) gleichzeitig morphologische und/oder immunphänotypische Merkmale myeloischer und lymphatischer Zellen bzw. B- und T-lymphatischer Zellen aufweisen (biphänotypische akute Leukämien, BAL), oder (3) bei denen morphologisch zwei unterschiedliche Blastenpopulationen nachgewiesen werden können, die bei der Immunphänotypisierung myeloische und lymphatische oder B- und T-lymphatische Merkmale exprimieren (bilinéäre AL, AUL, BAL und bilinéäre AL werden in der WHO-Klassifikation unter der Bezeichnung akute Leukämien mit unklarer Linienzuordnung zusammengefasst, wobei eine eindeutige Unterscheidung zwischen My⁺ ALL bzw. Ly⁺ AML, BAL und bilinéäre AL, auch auf aufgrund widersprüchlicher Befunde in der Literatur, nicht in allen Fällen möglich ist. AL mit unklarer Linienzuordnung sind selten (< 4 % aller AL), treten bei Erwachsenen häufiger als bei Kindern auf und unterscheiden sich in ihren wesentlichen klinischen Merkmalen nicht von denen eindeutig zu klassifizierender AL. Für die immunphänotypische Charakterisierung der BAL wurde in der WHO-Klassifikation ein Score berücksichtigt, der Anfang der 90er Jahre vorgeschlagen und von der EGIL weiterentwickelt wurde [12, 17] (Tab. 6). In diesem Score werden je nach dem Grad der Linienpezifität der in der initialen Diagnostik analysierten myeloischen bzw.

Tabelle 6 Biphänotypische akute Leukämien: EGIL Score (cy = intrazytoplasmatisch; S = membranständig; TZR=T-Zell-rezeptor)

Punkte	B-Zell-Reihe	T-Zell-Reihe	Myeloische Reihe
2	cyCD79 α	CD3 (cy/S)	MPO
2	cyIgM	Anti-TZR $\alpha\beta$	
2	cyCD22	Anti-TZR $\gamma\delta$	
1	CD19	CD2	CD13
1	CD10	CD5	CD33
1	CD20	CD8	CD65s
1		CD10	CD117
0.5	TdT	TdT	CD14
0.5	CD24	CD7	CD15
0.5		CD1a	CD64

Eine BAL ist definiert durch einen Punktwert über 2 für die myeloische und eine der beiden lymphatischen Reihen

lymphatischen Antigene, die mittels eines standardisierten Panels moAk nachgewiesen werden sollten, unterschiedliche Punktwerte vergeben. Ausschlaggebend für diesen Score ist die als linienspezifisch geltende intrazytoplasmatische Expression von CD22, CD79 α (B-Zellreihe), CD3 (T-Zellreihe) und Myeloperoxidase (myeloische Zellreihe). Bedeutung für die Linienzuordnung besitzt auch der Nachweis von zytoplasmatischem IgM bzw. von intrazytoplasmatisch exprimierten Proteinen der T-Zell-Rezeptor Gene, Merkmale, die allerdings in unreifen Vorstufen der Vorläuferzell-B- bzw. Vorläuferzell-T-ALL fast immer fehlen.

Sowohl bei den BAL als auch bei den sehr seltenen bilineären AL finden sich häufig charakteristische genetische Aberrationen. Beschrieben wurden Assoziationen mit dem Philadelphia-Chromosom, 11q23-Anomalien, komplexen chromosomalen Anomalien und aberranten Umlagerungen der T-Zell-Rezeptor- bzw. Immunglobulin-Gene [18, 19]. Interessanterweise finden sich in BAL oder bilineären AL mit myeloischen und frühen T-lymphatischen Merkmalen keine charakteristischen genetischen Veränderungen. Als Ursprungszelle für AUL, BAL und bilineäre AL wird eine multipotente Stamm- bzw. Vorläuferzelle angenommen.

Die klinische Bedeutung des zuvor dargestellten Scores für die Diagnose der BAL und die bei AUL, BAL bzw. bilineären AL auftretenden genetischen Aberrationen müssen noch prospektiv im Rahmen kontrollierter multizentrischer Therapiestudien bei AML und AML untersucht werden.

Fazit

Die WHO-Klassifikation der akuten lymphatischen Leukämien stellt durch die konsequente Einarbeitung

von morphologischen, immunphänotypischen, zyto- und molekulargenetischen Befunden in ein diagnostisches Koordinatensystem einen wesentlichen Fortschritt gegenüber FAB-, MIC- und REAL-Klassifikation dar. Erkennung zellbiologischer Subtypen und deren risikoadaptierte Behandlung wird durch diese Klassifikation verbessert. Der konzeptionelle Ansatz der Klassifikation lässt Raum zur Eingliederung neuer Krankheitsentitäten und Berücksichtigung neuer Erkenntnisse in Diagnostik und Therapie.

Leider werden die in MIC- und EGIL-Klassifikation definierten immunphänotypischen Untergruppen in der WHO-Klassifikation unzureichend berücksichtigt. Diese Subtypen korrelieren häufig mit genetischen Befunden und klinisch relevanten Entitäten (z. B. pro-B-ALL, kortikale T-ALL). Daneben ist die Immunphänotypisierung ein schnelles, einfaches und relativ preiswertes Verfahren, das oft auch eine therapeutisch relevante Subklassifikation erlaubt, auch wenn die zyto- und molekulargenetische Diagnostik keine der Erkrankung zu Grunde liegende genetische Anomalie findet.

Aktuelle diagnostische Ansätze wie z. B. das „gene expression profiling“ mittels DNA-Microarrays werden mit Sicherheit zur Identifikation weiterer diagnostisch und therapeutisch relevanter Gene führen und wichtige Befunde für die Weiterentwicklung der WHO-Klassifikation erbringen [20–22].

Acknowledgement

Diese Arbeit wurde durch das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderte Kompetenznetz „Akute und Chronische Leukämien“ (Teilprojekt 4 – Immunphänotypisierung) unterstützt.

Literatur

1. Ludwig WD, Haferlach T, Schoch C. Classification of acute leukemias: Perspective 1. In: Pui CH, ed. *Treatment of acute leukemias: New directions for clinical research*. Totowa, NJ: Current Clinical Oncology; Humana Press Inc., 2003:3–41.
2. Look AT. Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 1997;278:1059–64.
3. Greaves M. Molecular genetics, natural history and the demise of childhood leukaemia. *Eur J Cancer* 1999;35:1941–53.
4. Rowley JD. The role of chromosome translocations in leukemogenesis. *Semin Hematol* 1999;36:59–72.
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33:451–8.
6. Bennett JM, Daniel MT, et al. The morphological classification of acute lymphoblastic leukemia: Concordance among observers and clinical correlations. *Br J Haematol* 1981;47:15.
7. Group FMCS. Morphologic, Immunologic, and Cytogenetic (MIC) Working classification of acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1986;23:189.
8. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361–92.
9. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *Br J Haematol* 1991;78:325–9.
10. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman J. *Tumors of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC press 2001.
11. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 1999;17:3835–49.
12. Bene MC, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, van't Veer MB. Proposal for the immunological classification of acute leukemias. *Leukemia* 1995;9:1783.
13. Secker-Walker LM, Moorman AV, Bain BJ, Mehta AB. Secondary acute leukemia and myelodysplastic syndrome with 11q23 abnormalities. EU Concerted Action 11q23 Workshop. *Leukemia* 1998;12:840–4.
14. Czuczman MS, Stewart CC, Frankel SR, Davelly FR, Powell BL, Szatrowski TP, Schiffer CA, Larson RA, Bloomfield CD. Value of immunophenotype in intensively treated adult acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia Group B study. *Blood* 1999;93:3931–3939.
15. Drexler HG, Thiel E, Ludwig WD. Review of the incidence and clinical relevance of myeloid antigen-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1991;5:637–45.
16. Ludwig WD, Raghavachar A, Thiel E. Immunophenotypic classification of acute lymphoblastic leukaemia. *Baillieres Clin Haematol* 1994;7:235–62.
17. Bene MC, Bernier M, Casasnovas RO, et al. The reliability and specificity of c-kit for the diagnosis of acute myeloid leukemias and undifferentiated leukemias. The European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL). *Blood* 1998;92:596–9.
18. Matutes E, Morilla R, Farahat N, et al. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica* 1997;82:64–6.
19. Legrand O, Perrot JY, Simonin G, et al. Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *Br J Haematol* 1998;100:147–55.
20. Yeoh EJ, Ross ME, Shurtleff SA, et al. Classification, subtype discovery, and prediction of outcome in pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Cancer Cell* 2002;1:133–43.
21. Ramaswamy S, Golub TR. DNA microarrays in clinical oncology. *J Clin Oncol* 2002;20:1932–41.
22. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531–7.