



Så kan smartare variation i medicinering ge patienterna **effektivare behandling vid KML**



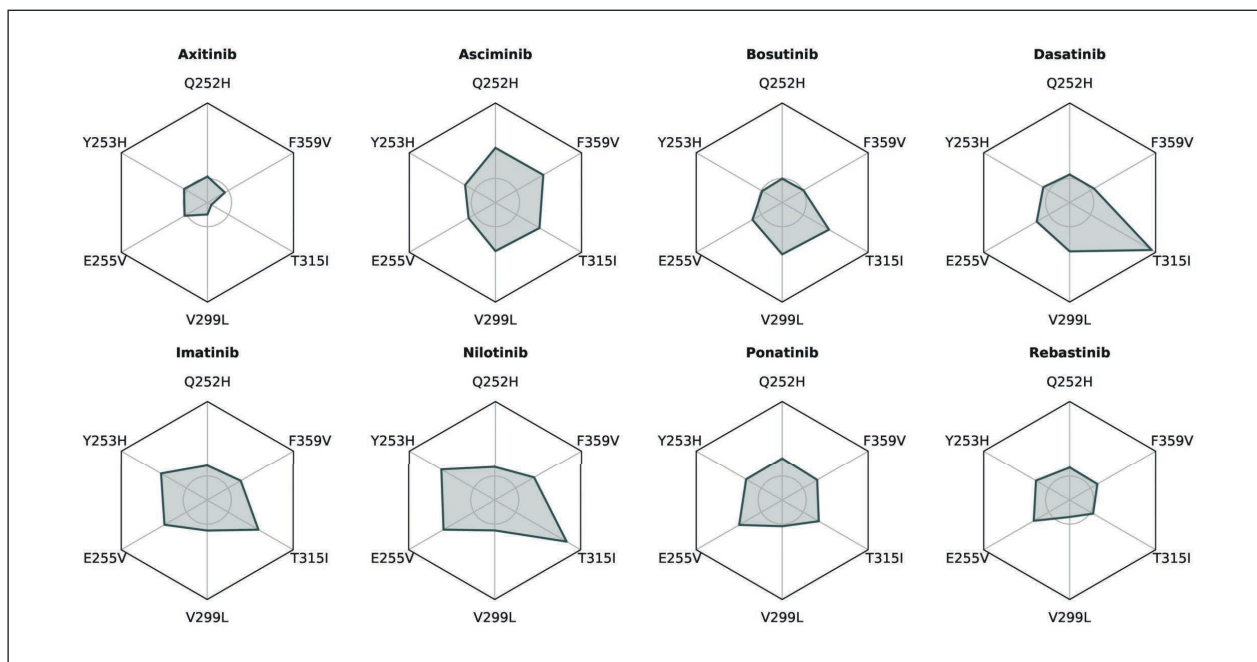
Genom att växla mellan eller kombinera olika läkemedel mot en speciell typ av leukemi, kan sjukdomen behandlas mer effektivt. Det visar Jonathan Lindström i sin avhandling från Linnéuniversitetet. Han har genom simulationer undersökt sjukdomen kronisk myeloisk leukemi (KML). **Jonathan Lindström** ville se hur olika typer av behandlingar påverkade risken för cancercellerna att bli resistenta, och redogör här för upplägget av studien och hur den nya kunskapen kan användas.

Det finns i dagsläget effektiva behandlingar för kronisk myeloisk leukemi (KML) och andra cancerformer som drivs av philadelphiakromosomen och tyrosinkinaset Bcr-Abl1. Tack vare att Bcr-Abl1 är centralt för cancerens tillväxt, kan man med hjälp av tyrosinkinashämmare (TKI) effektivt blockera tillväxtsignaleringen. För KML innebär det en drastisk minskning av cancerceller i blodet. Dock kan behandling med TKI normalt sett inte bota KML, och förr eller senare utvecklas en resistent variant som kräver modifierad behandling, och kan leda till att cancer övergår från den långsamma kroniska fasen till aggressiva och svårbehandlade slutfaser.

KML kan delas in i cancerstamceller (CSC), celler som kan dela sig obegränsat men som är få till antalet, och mer differentierade celler som sprider sig i blodomloppet men som inte själva kan ge upphov till en ny tumör. De differentierade cellerna är vad som främst orsakar direkta symptom när de konkurrerar med fungerande blodkroppar. Men det är CSC som i grunden producerar fler differentierade celler, och så länge det finns CSC kvar så kan cancer återkomma¹. Vid behandling med TKI påverkas tillväxten av alla cancerceller, men CSC elimineras inte av behandlingen utan de växer istället sakta i bakgrunden. Det finns alltså en kon-

stant eller långsamt växande population av CSC även under en effektiv behandling och förr eller senare kommer en CSC utveckla någon form av resistens, vilket marginellt eller drastiskt ökar dess tolerans mot behandlingen. Resistenta CSC kommer att växa snabbare, och potentiellt konkurrera ut de andra cancerstamcellerna; behandlingen har alltså skapat ett selektionstryck som driver evolutionen mot läkemedelsresistens. De differentierade celler som bildats från en resistent stamcell har samma behandlingstålighet, och när ett sådant skifte sker i stamcellspopulationen leder det till att en resistent cancer uppstår. Den vanligaste resistensanpassningen är en mutation i Bcr-Abl1 som minskar affiniteten för en eller flera TKI. Andra mekanismer som kan orsaka resistens är en uppregulering av Bcr-Abl1-produktionen vilket ökar tillväxtsignaleringen, eller en modifiering i transportörraktiviteten så att inhibitorer transporteras ut eller inte transporteras in i samma utsträckning².

Det finns fem olika TKI som används vid behandling av KML, imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib och ponatinib. Varje medicin har ett mer eller mindre unikt spektrum av mutationer i Bcr-Abl1 som kan orsaka resistens i någon utsträckning (Figur 1). Det gör att man ofta, men inte alltid, kan behandla en resistencancer genom att byta medicin till



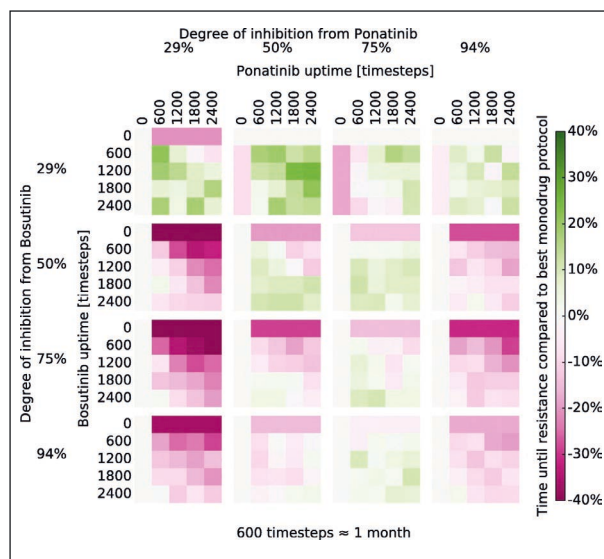
Figur 1. Mutationer i Bcr-Abl1 medför olika grader av resistens mot olika TKI[®]. Figuren visar 10-logaritmen av varje mutants IC50-värde relativt till IC50-värdet för celler med omuterad Bcr-Abl1. Den inre grå cirkeln visar gränsen för att ett övertag finns, det vill säga de mutationer som är utanför den medför resistens. Märk att den koncentration som kan uppnås med en viss medicin också påverkar vilka mutationer som blir behandlingsbara, med andra ord kan det gå att behandla en svagt resistent mutation om doseringen av inhibitorn är tillräckligt hög.

en av de andra. Ponatinib är unik då ingen enkel mutation (mer specifikt ingen förändring av endast en nukleotid) ger betydande resistens. Alla de andra är bland annat känsliga mot den så kallade gatekeeper-mutationen T315I. Ponatinib har dock mer allvarliga biverkningar och används därför bara om det är nödvändigt.

SÅ KAN RISKEN FÖR RESISTENS MINSKAS

De olika resistensanpassningar som kan uppstå är som sagt inte nödvändigtvis resistent mot samma TKI. Om man regelbundet byter behandling finns en möjlighet att eliminera små populationer av resistent CSC innan de hinner växa till sig ordentligt, genom att de exponeras mot en inhibitor de inte tål. För att undersöka om en sådan approach vore möjlig med de TKI som finns idag så designade vi en modell för att kunna simulera resistensevolution bland cancerstamcellerna. Vi antog att antalet stamceller är i stort sett konstant, men små variationer är tillåtna. Hur fort en CSC växer avgörs av vilket läkemedel och koncentration som används, tillsammans med en tabell av hur känsliga olika mutationer är mot olika mediciner, något som finns tillgängligt³. Vid varje delning finns en liten chans att en mutation uppstår, och modellen tar hänsyn till vilka specifika genetiska förändringar som kan ge ett visst resultat och hur sannolika de är. Risken att en viss mutation tar över CSC-populationen kommer att bero både på hur sannolikt det är att just den mutationen uppstår, och hur stort övertag den medför för cancercellerna under behandlingen.

Med den modellen på plats kunde vi testa olika sätt att växla behandling och se hur det påverkar hur lång tid det tar tills en resistensmutation nått en riskabel nivå⁴. Vi undersökte rotationer med alla kombinationer av två TKI.



Figur 2. Hur man växlar mellan två inhibitorer påverkar tiden tills resistens uppstår⁴. Figuren visar effekten av att växla mellan bosutinib och ponatinib vid olika koncentrationer (som i sin tur leder till olika grad av inhibition), och olika långa perioder med vardera läkemedlet. I de gröna områdena tar det i snitt längre tid för resistens att uppstå än för en ensam medicin vid samma koncentration.

Bäst effekt gick att uppnå när de två läkemedel som används inte hade ett överlappande mutationsspektrum. I praktiken innebar det att kombinationer med ponatinib oftast hade bäst effekt, särskilt imatinib-ponatinib och bosutinib-ponatinib (Figur 2). I bästa fall verkar genomsnittstiden till resistens kunna förlängas med knappt tio procent. I simuleringarna är det tydligt så att behandlingen avgör sanno-

likheten att vissa specifika mutationer tar fäste, vilket innebär att man i teorin kan påverka vilka mutationer som kan förväntas genom att välja ett rotationsprotokoll. Det skulle eventuellt kunna utnyttjas för att styra resistens mot något som kan behandlas.

EFFEKTIVA KOMBINATIONER

Axitinib och asciminib är två TKI som kanske skulle kunna användas för att behandla KML och andra Bcr-Abl1-positiva cancerformer. Axitinib är en TKI som verkar mot andra tyrosinkinaser men normalt sett inte har någon effekt på Bcr-Abl1. Dock har den visats vara effektiv mot just den problematiska gatekeeper-mutationen T315I⁵. Utöver den mest uppenbara användningen för att behandla en patient med mycket hög andel T315I-muterad cancer, gör det faktum att den inte behandlar omuterad Bcr-Abl1 att axitinib driver evolutionen ifrån T315I-muterad cancer på samma sätt som de andra TKI driver evolutionen mot resistent mutationer. Att direkt försöka utnyttja den effekten är antagligen riskabelt, då det skulle innebära att man praktiskt taget inte ger en effektiv behandling. Frågan är snarare om det går att kombinera axitinib med en annan TKI så att T315I inte har ett signifikant övertag och alltså inte utvecklas, samtidigt som kombinationen kan behandla omuterad Bcr-Abl1.

Asciminib är den senaste medicinen i en lång följd av försök att producera en Bcr-Abl1-inhibitor som binder till en annan plats på enzymet, till skillnad från andra TKI som binder till samma plats som ATP⁶. Två fördelar med en sådan inhibitor vore att:

1. Då den binder till en helt annan plats är risken betydligt mindre att den är känslig mot samma resistensmutationer.
2. Om man ger asciminib i kombination med ett ATP-bindande läkemedel tävlar de eventuellt inte med varandra på samma sätt, vilket kan leda till synergier.

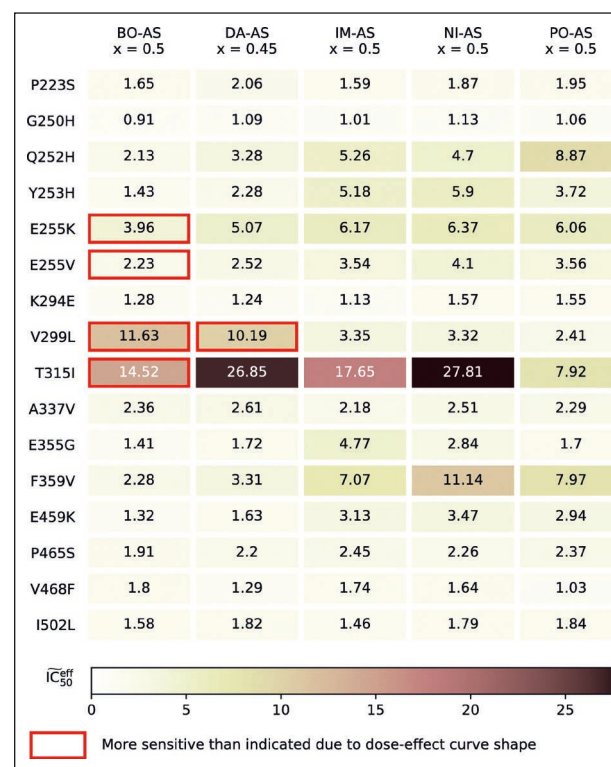
Det pågår ett flertal kliniska studier med asciminib, bland annat i kombination med andra TKI, och den verkar mycket lovande. Om asciminib har synergistiska effekter, hur borde den användas i kombination för bästa möjliga effekt, och finns det resistensmutationer som skulle kunna hota en sådan kombination?

För att studera dessa frågor utgick vi ifrån en enkel modell av interaktioner mellan inhibitorer⁷ och verifierade i en cellinje att asciminib mycket riktigt binder separat från de andra medicinerna och verkar ha en viss synergistisk effekt⁹. Med modellen av interaktioner och enkel simulerad farmakokinetik optimerade vi dosering och timing av två mediciner i kombination. I axitinibs fall var målet att minimera fördelen som T315I medför för en cancercell. För asciminib försökte vi minimera hur mycket medicin som behövdes för att uppnå samma effekt som med en ensam medicin. I axitinibs fall visar det sig att förmågan att vända evolutionstrycket ifrån T315I helt enkelt inte är stor nog för att T315I ska kunna förhindras (med rimliga doseringar av axitinib). Det utesluter inte att axitinib skulle kunna användas om man genom DNA-sekvensiering fastställt att en viss patient har en stor andel T315I, men det visar att axitinib troligen inte är användbar i någon slags allmän kombinationsterapi. Asciminib är å andra sidan mycket mer lovande. Att det

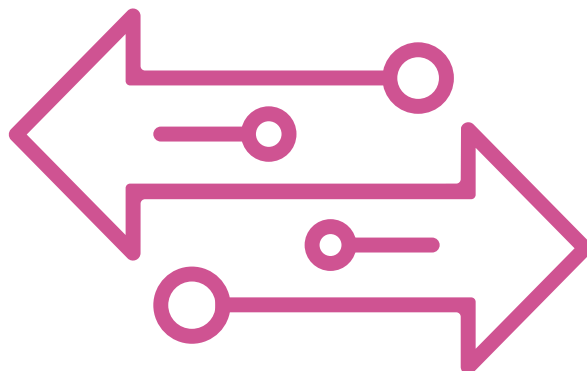
verkar finnas en synergistisk verkan mellan den och andra TKI gör att man borde kunna markant sänka den totala doseringen av inhibitorer och ändå nå samma effekt som med en ensam TKI. En minskning med så mycket som 50 procent kan potentiellt uppnås med en optimal kombination med asciminib och en av dagens mediciner. Alternativt kanske det är mer önskvärt att behålla högre dosering och ha en effektivare behandling, det kan inte denna modell avgöra. I kombinationer med dasatinib finns även en stor vinning i att ta den ena inhibitorn på morgonen och den andra på kvällen. Slutligen försökte vi härleda vilka mutationer dessa optimala kombinationer skulle kunna vara känsliga mot (Figur 3). Framförallt är det fortfarande T315I som skulle kunna vara riskabel, men även vissa andra mutationer och då främst på grund av en effekt där synergistiska kombinationer av läkemedel kan vara mer känsliga mot resistens i särskilda fall⁸. Märk dock att kombinationerna i figuren är optimerade för att minska dosen av mediciner som behövs, inte för att minimera risken för resistens.

FRAMTIDA MÖJLIGHETER

Min avhandling innehåller även ytterligare studier som ännu inte är tillgängliga i fullversion¹⁰. Bland annat testades att växla mellan ponatinib och imatinib i cellinjer, och det verkar ha viss skyddande effekt mot resistens även experi-



Figur 3. Beräknat IC₅₀ för olika mutationer under behandling med asciminib-kombinationer⁹. BO -- bosutinib, DA -- dasatinib, IM -- imatinib, NI -- nilotinib, PO -- ponatinib, AS -- asciminib. X anger doseringsration, till exempel innebär x = 0.45 för DA-AS kombinationen att 45 procent av den inhiberande effekten kommer från doseringen av dasatinib, och 55 procent från asciminib. De som inringats i rött ger potentiellt mer resistens än vad deras IC₅₀ ger sken av.



Det är egentligen osannolikt att växla mellan två inhibitorer skulle vara det bästa tänkbara sättet att förebygga resistens. En möjlighet vore att utforska ett större spann av möjliga behandlingar, till exempel genom genetiska algoritmer. En annan möjlighet vore att gå ifrån att bara växla blint.

mentellt. Även korta behandlingsuppehåll har studerats med en matematisk modell. Eventuellt kan det återställa känslighet för behandling om man tar hänsyn till att resistens kan uppstå genom fler mekanismer än enbart mutationer. Förhoppningsvis kommer dessa data publiceras inom en snar framtid.

Det är egentligen osannolikt att växla mellan två inhibitorer skulle vara det bästa tänkbara sättet att förebygga resistens. En möjlighet vore att utforska ett större spann av möjliga behandlingar, till exempel genom genetiska algoritmer. En annan möjlighet vore att gå ifrån att bara växla blint. Att sekventiera KML-patienter för att avslöja om de har någon resistensmutation och därefter välja en medicin man vet har effekt är en etablerad metod för att hantera utvecklad läkemedelsresistens.

Att inkludera sådana tester som en del i behandlingsprotokollet och placera dem där de har störst möjlighet att tidigt upptäcka en mutation vore också möjligt att undersöka med den här typen av datormodellering.

REFERENSER:

1. Franziska Michor, Timothy P. Hughes, Yoh Iwasa, et al. Dynamics of chronic myeloid leukaemia. *Nature*, 435(7046):1267–1270, June 2005.
2. Ami B. Patel, Thomas O'Hare, and Michael W. Deininger. Mechanisms of resistance to ABL kinase inhibition in chronic myeloid leukemia and the Development of next generation ABL kinase inhibitors. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 31(4):589–612, August 2017.
3. Sara Redaelli, Luca Mologni, Roberta Rostagno, et al. Three novel patient-derived BCR/ABL mutants show different sensitivity to second and third generation tyrosine kinase inhibitors. *American Journal of Hematology*, 87(11):E125–E128, October 2012.

4. H. Jonathan G. Lindström, Astrid S. de Wijn, and Ran Friedman. Stochastic modelling of tyrosine kinase inhibitor rotation therapy in chronic myeloid leukaemia. *BMC Cancer*, 19(1), May 2019.

5. Tea Pemovska, Eric Johnson, Mika Kontro, et al. Axitinib effectively inhibits BCR-ABL1(t315i) with a distinct binding conformation. *Nature*, 519(7541):102–105, February 2015.

6. Joseph Schoepfer, Wolfgang Jahnke, Giuliano Berellini, et al. Discovery of asciminib (ABL001), an allosteric inhibitor of the tyrosine kinase activity of BCR-ABL1. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(18):8120–8135, August 2018.

7. Ting-Chao Chou and Paul Talalay. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. *Advances in Enzyme Regulation*, 22:27–55, January 1984.

8. M. Hegreness, N. Shores, D. Damian, D. Hartl, and R. Kishony. Accelerated evolution of resistance in multidrug environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(37):13977–13981, September 2008.

9. H. Jonathan G. Lindström and Ran Friedman. The effects of combination treatments on drug resistance in chronic myeloid leukaemia: an evaluation of the tyrosine kinase inhibitors axitinib and asciminib. *BMC Cancer*, 20(1), May 2020.

10. Jonathan Lindström. Modelling the evolution of treatment-induced resistance in Ph+ leukaemias. Linnaeus University Press, Växjö, 2020. Dissertation (sammanfattning) Kalmar: Linnéuniversitetet, 2020.

JONATHAN LINDSTRÖM, PHD,
NYLIGEN UTEXAMINERAD FRÅN LINNÉUNIVERSITETET,
JONATHAN.LINDSTROM@LNU.SE

