

Anni Välimaa

ANO1- JA ENO1-GEENIEN MERKITYS AKUUTISSA LYMFOBLASTILEUKEMIASSA

Tampereen yliopisto

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Anni Välimaa

5/2024

TIIVISTELMÄ

Anni Välimaa: ANO1- ja ENO1-geenien merkitys akuutissa lymfoblastileukemiassa
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen lisensiaatin tutkinto-ohjelma
Toukokuu 2024

Akuutti lymfoblastileukemia on erityisesti lasten pahanlaatuinen verisairaus, jonka ilmaantumishuippu on 2–5 ikävuoden kohdalla. Vaikka lapsipotilaiden ennuste onkin nykyisillä hoitomenetelmillä hyvä, ei aikuispotilailla saada yhtä hyvää vastetta hoitoihin. Akuutin lymfoblastileukemian etiologia on vielä jokseenkin tuntematon, mutta geneettisillä tekijöillä on todettu olevan vaikutus taudin puhkeamiseen. Tutkimuksen kohteena olevalla ANO1-geenillä on jo aiemmissa tutkimuksissa osoitettu olevan yhteys moniin syöpätauteihin ja heikompaan ennusteeseen. Myös tutkittavana olevalla ENO1-geenillä on todettu olevan ennusteellisia yhteyksiä useisiin pahanlaatuisiin sairauksiin, kuten rintasyöpään. ANO1:n ja ENO1:n merkitys akuutissa lymfoblastileukemiassa on kuitenkin vielä epäselvä, minkä vuoksi tutkimus aiheesta on tarpeellinen.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää ANO1- ja ENO1-geenien ilmentymistä akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä sekä tutkia näiden geenien ennusteellista, diagnostista ja hoidollista merkitystä kyseisessä sairaudessa. Aineistona oli käytössä TARGET-data, jossa oli 161 tapausta ja Pohjoismainen aineisto, joka sisälsi 115 tapausta sekä panALL-geeniekspressiodatasetti. Aineistoista etsittiin tietoa geenien ilmentymisestä, valkosolujen määrästä sekä päätetapahtumista ja muista kliinisistä piirteistä. ANO1- ja ENO1-geenit jaettiin matalan ja korkean geeniekspressiotason ryhmiin. Tilastollisessa analyysissä oli käytössä IBM SPSS Statistics 29.0., jonka avulla aineistoista laskettiin tapahtumavapaat selviytymisajat ja kokonaiselossaoloajat sekä piirrettiin boxplot-kuvaajat geenien ilmentymisestä akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä.

ANO1-geenin tapahtumavapaa elossaoloaika tai kokonaiselossaoloaika TARGET-aineistossa sekä Pohjoismaisessa datassa eivät kummatkaan olleet tilastollisesti merkitseviä. ANO1-geenillä ei siis tässä tutkimuksessa löytynyt olevan tilastollisesti merkitsevää vaikutusta akuuttia lymfoblastileukemiaa sairastavien ennusteeseen. ENO1-geenillä puolestaan on tilastollisesti merkitsevä vaikutus TARGET-aineistosta laskettuun kokonaiselossaoloaikaan. TARGET-aineistossa ja Pohjoismaisessa datassa ei kuitenkaan ole tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ENO1-geenillä ja tapahtumavapailla elossaoloajoilla. Kummankaan geenin kohdalla ei ole tilastollisesti merkitsevää eroa matalan ja korkean geeniekspressiotason ryhmillä valkosolujen määrässä diagnoosihetkellä.

Tutkimus osoittaa yhteyden vain ENO1:n korkean geeniekspression ja huonomman kokonaiselossaoloajan välillä akuutissa lymfoblastileukemiassa. Muissa analyyseissä tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ei löytynyt. Koska aiemmissa tutkimuksissa yhteys ANO1:n ja ENO1:n sekä syöpäsairauksien välillä on kuitenkin havaittu, tarvitaan jatkotutkimuksia etenkin akuuttiin lymfoblastileukemiaan liittyen.

Avainsanat: akuutti lymfoblastileukemia, patologia, veritauti, genetiikka, ennuste, täsmähoito

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

SISÄLLYS

1. JOHDANTO	1
2. TUTKIMUSMETODI	3
2.1 AINEISTO	3
2.2 MENETELMÄT	3
3. TULOKSET	4
4. POHDINTA	14
5. LÄHTEET	17

1. JOHDANTO

Akuutti lymfoblastileukemia on pahanlaatuinen verisairaus, johon sairastuneet ovat usein lapsia (Onciu 2009). Insidenssi 0–14-vuotiailla lapsilla on 3–4/100 000 ja 1/100 000 yli 15-vuotiailla teollisuusmaissa (Onciu 2009, Jahnukainen et al. 2015). Alle 14-vuotiailla 34 % kaikista syöivistä on akuutteja lymfoblastileukemioita (Onciu 2009). Ilmaantuvuuden huippu on 2–5 ikävuoden kohdalla, mutta sairastuneista lapsista nykyisellä hoidolla jää pysyvään remissioon 85–90 % (Jahnukainen et al. 2015). Aikuispotilailla ennuste ei ole yhtä hyvä (Onciu 2009). Perinteiset hoitomenetelmät kemoterapialla aikuisiän potilailla eivät usein tuota tarvittavia tuloksia johtuen kemoterapiaresistenssistä ja vaikeuksista lääkehoidossa haittavaikutusten vuoksi (Aldoss et al. 2019). Myös taudin uusiutuminen heikentää ennustetta (Malard and Mohty 2020).

Etiologialtaan akuutti lymfoblastileukemia on vielä melko tuntematon, mutta geneettisillä tekijöillä näyttäisi olevan rooli taudin puhkeamisessa, mitä muun muassa kaksostutkimukset ovat osoittaneet (Jahnukainen et al. 2015). Myös ympäristötekijät, kuten ionisoiva säteily ja lapsuusiän infektiot ovat altistavia tekijöitä (Malard and Mohty 2020).

Tutkimuksen kohteena oleva ANO1-geenin koodaama proteiini, anoktamiini 1, mahdollistaa joidenkin kalsiumaktivoitujen ionikanavien toiminnan ja muun muassa aktivoi solunsisäistä kalsiumaktivoitua kloridikanavaa (ANO1 Gene-Anoctamin1. GeneCards. www.genecards.org). ANO1 toimii myös välittäjänä kloridi-ionien erityksessä sekretoivassa epiteelissä ilmäteissä, hikirauhasissa, suolistossa ja sylkirauhasissa sekä sitä on verisuonten ja ilmäteiden sileässä lihaksessa (Oh and Jung 2016). ANO1-geenin ilmentyminen on lisääntynyt monissa syöivissä ja siten sen uskotaan olevan osana monien pahanlaatuisten kasvainten kehittymisessä, jakautumisessa, metastasoinnissa sekä apoptoosissa (Oh and Jung 2016, Guo et al. 2022). Rintasyövässä, kaulan ja pään levyepiteelikarsinoomassa, ruokatorven levyepiteelikarsinoomassa, mahasyövässä ja kolorektaalisyövässä ANO1-geenin suurella ilmenemisellä on huono ennusteellinen merkitys (Zhang et al. 2021). ANO1:llä on siis jo osoitettuja yhteyksiä moniin syöpiin, mutta yhteyttä akuuttiin lymfoblastileukemiaan ei tiedetä vielä. ANO1-proteiinin on kuitenkin todettu olevan lupaava biomarkkeri pahanlaatuisten tuumorien tutkimiseen (Guo et al. 2022). Muun muassa

dietyylistilbestrolilla on löydetty olevan ANO1-proteiinia inhiboiva vaikutus ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä (Seo et al. 2021). Dietyylistilbestroli voisi siis toimia täsmähoitona syövissä, joissa ANO1:llä on suuri ekspressio.

ENO1-geeni puolestaan koodaa alfa-enolaasia, joka toimii glykolyyttisenä entsyyminä ja on lisäksi rakenteellinen linsiproteiini. Alfa-enolaasilla on myös rooli soluväliaineen hajoamisessa. (ENO1 enolase- 1 [Homo sapiens (human)]. National Center for Biotechnology Information. www.ncbi.nlm.nih.gov.) Tutkimukset ovat osoittaneet, että ENO1 on osallisena syöpäsolujen lisääntymisen sekä etäpesäkkeiden säätelyssä ja geenin ilmeneminen on suurentunut useissa syövissä maailmanlaajuisesti, kuten esimerkiksi rintasyövässä ENO1:n ekspressio on nelinkertaisesti upreguloitunut (Zhang et al. 2020). Onkin ehdotettu, että ENO1:n suurella ekspressiolla voisi olla diagnostista ja ennusteellista merkitystä useissa eri syövissä (Huang et al. 2022). ENO1-geenillä onkin jo muutamissa tutkimuksissa löydetty olevan yhteys akuuttiin lymfoblastileukemiaan. Esimerkiksi sekä hiiren että ihmisen pre-B-ALL-mallinnuksessa ENO1:n on todettu olevan upreguloitunut ja ENO1-geenin koodaaman proteiinin, alfa-enolaasin, ekspression on löydetty olevan positiivinen B-ALL-potilailla kontrolliryhmään verrattuna. (Martin-Lorenzo et al. 2018, Yu et al. 2022) ENO1-geenin hiljentämisellä on lisäksi löydetty olevan vaikutus tuumoriaineenvaihduntaan säätelemällä syöpäsolun kasvua ja indusoimalla syöpäsolun vanhenemista (Capello et al. 2016).

ANO1:n ja ENO1:n ennusteellinen ja diagnostinen merkitys akuutissa lymfoblastileukemiassa on kuitenkin toistaiseksi vielä epäselvä, minkä vuoksi tutkimusta aiheesta tarvitaan. Tämän tutkimuksen tavoitteena on tutkia ANO1- ja ENO1-geenien ilmentymistä taudin eri alatyypeissä sekä ennusteellista, diagnostista ja hoidollista merkitystä akuutissa lymfoblastileukemiassa.

2. TUTKIMUSMETODI

2.1 Aineisto

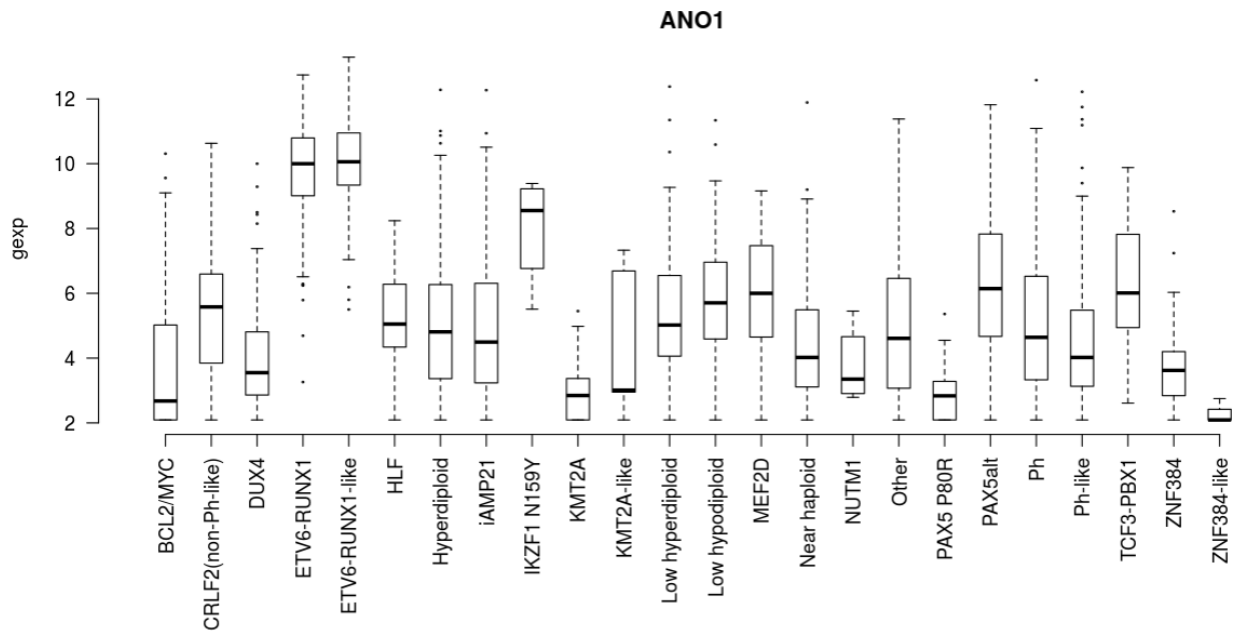
Tutkimusasetelma on retrospektiivinen havainnoiva tapaussarja. Koska tutkimus perustuu jo aiemmin kerättyyn dataan, ei tutkimus vaikuta potilaiden saamaan hoitoon tai ennusteeseen. Käytössä on TARGET-aineisto, jossa on 161 tapausta ja Pohjoismainen aineisto, joka sisältää 115 tapausta (Roberts et al. 2014, Liu et al. 2017). Aineistoihin on kerätty tietoa muun muassa geenien ekspressioista, valkosolumäärästä, päätetapahtumista sekä muista kliinisistä piirteistä. Päätetapahtumia ovat kuolema, relapsi ja syöpähoidoista aiheutuneet malignit tuumorit. Käytössä on myös panALL-geeniekspressiodatasetti, josta etsitään poikkeavasti ilmentyviä geenejä akuutissa lymfoblastileukemiassa ja sen eri alatyypeissä (Gu et al. 2019).

2.2 Menetelmät

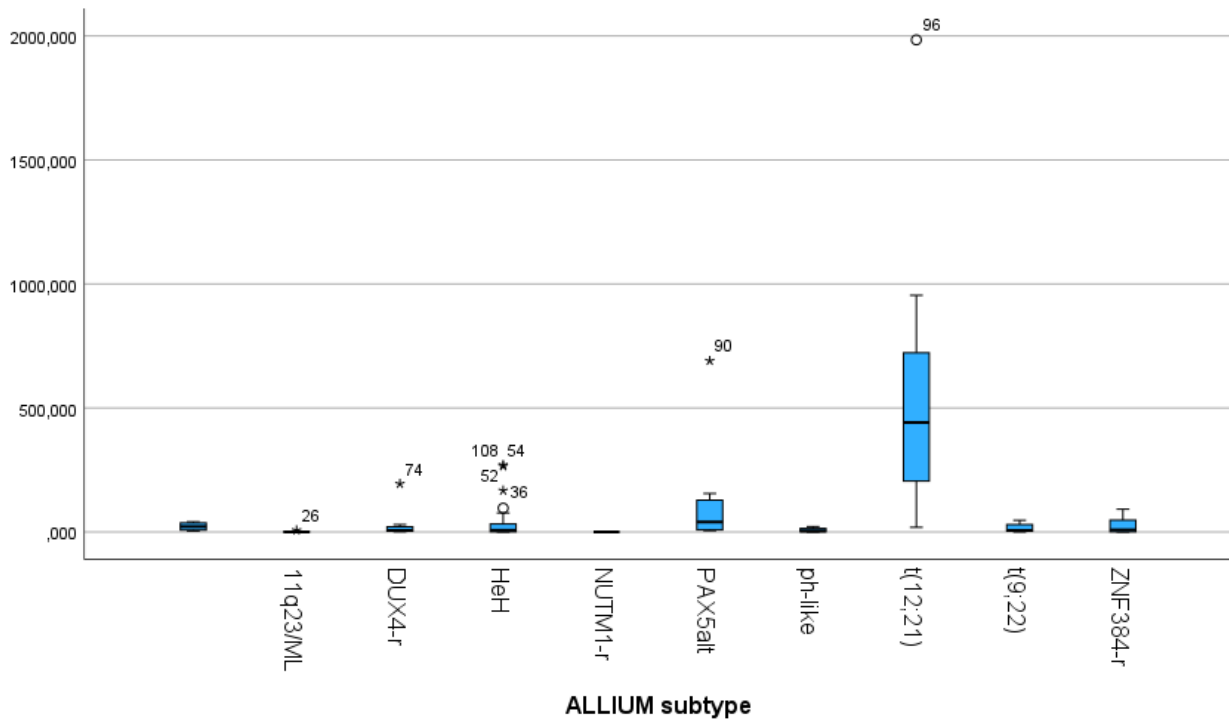
Tilastollisissa analyysissä käytössä on IBM SPSS Statistics 29.0. ANO1- ja ENO1-geenien ekspressioista laskettiin mediaanit ja geenien ekspressio jaettiin matalan ja korkean ekspressiotason ryhmiin kummassakin aineistossa. Matalan tason ekspressioryhmässä geenin ilmentyminen oli koko aineiston matalimmasta ekspressiosta mediaaniin asti ja korkean tason ekspressioryhmässä ilmentyminen oli mediaanista aineiston korkeimpaan ekspressioon. Käyttäen dikotomista jaottelua saatiin analysoitua taudin kliinistä käyttäytymistä, piirteitä ja ennustetta verrattuna geeniekspressiotasoon. Geenien tapahtumavapaassa selviytymisessä ja kokonaisuolosuhteissa käytettiin aikamääränä TARGET-aineistossa päiviä ja Pohjoismaisessa datassa kuukausia. Ryhmien välisiä eroja analysoitiin Kaplan – Meierin menetelmällä ja Logrank-testillä. Analyysissä p-arvoa < 0.05 pidettiin tilastollisesti merkitseväksi. Molemmissa aineistoissa vertailtiin myös valkosolujen määrää ANO1- ja ENO1-geenien ekspressioon käyttäen geeniekspression dikotomista jaottelua matalan ja korkean ekspressiotason ryhmiin. Valkosolut olivat numeerisena muuttujana. Analyysissä käytettiin Mann-Whitneyn U testiä. P-arvoa < 0.05 pidettiin tilastollisesti merkitseväksi. Lisäksi geeniekspression numeerista arvoa

ANO1- ja ENO1-geeneissä vertailtiin akuutin lymfoblastileukemian eri alatyyppeihin ja kyseisten geenien ilmaantumiseen alatyypeissä. Tuloksista tehtiin boxplot-kuvaaja.

3. TULOKSET

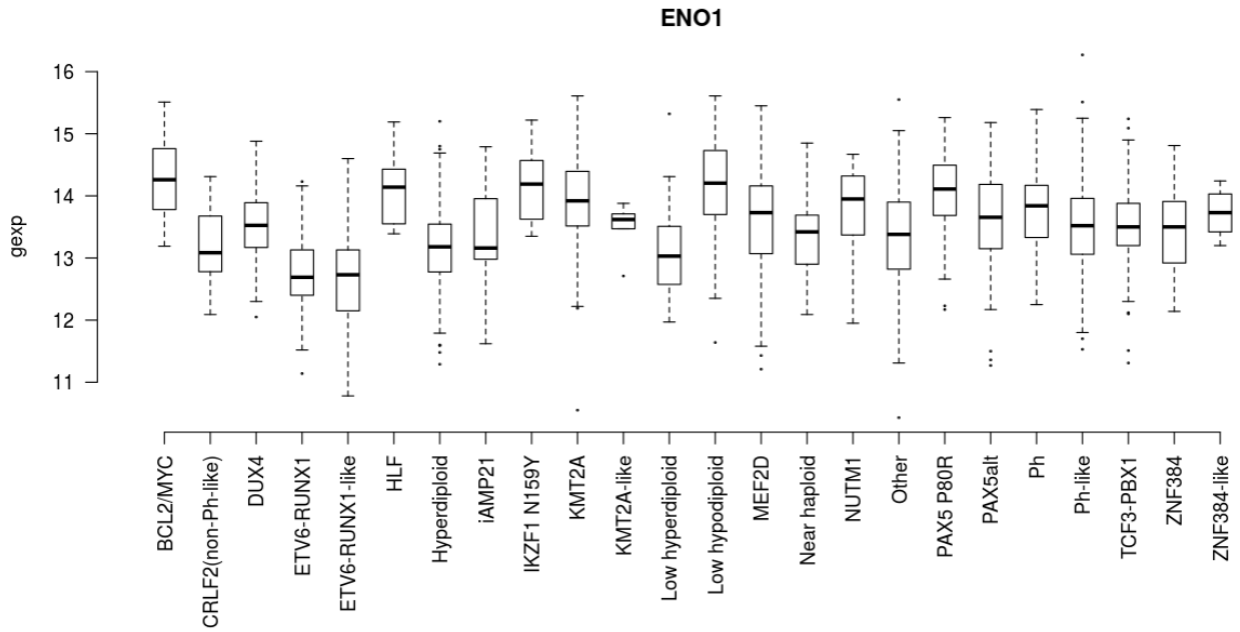


Kuva 1 ANO1-geenin geeniekspressio akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä (Gu et al. 2019).

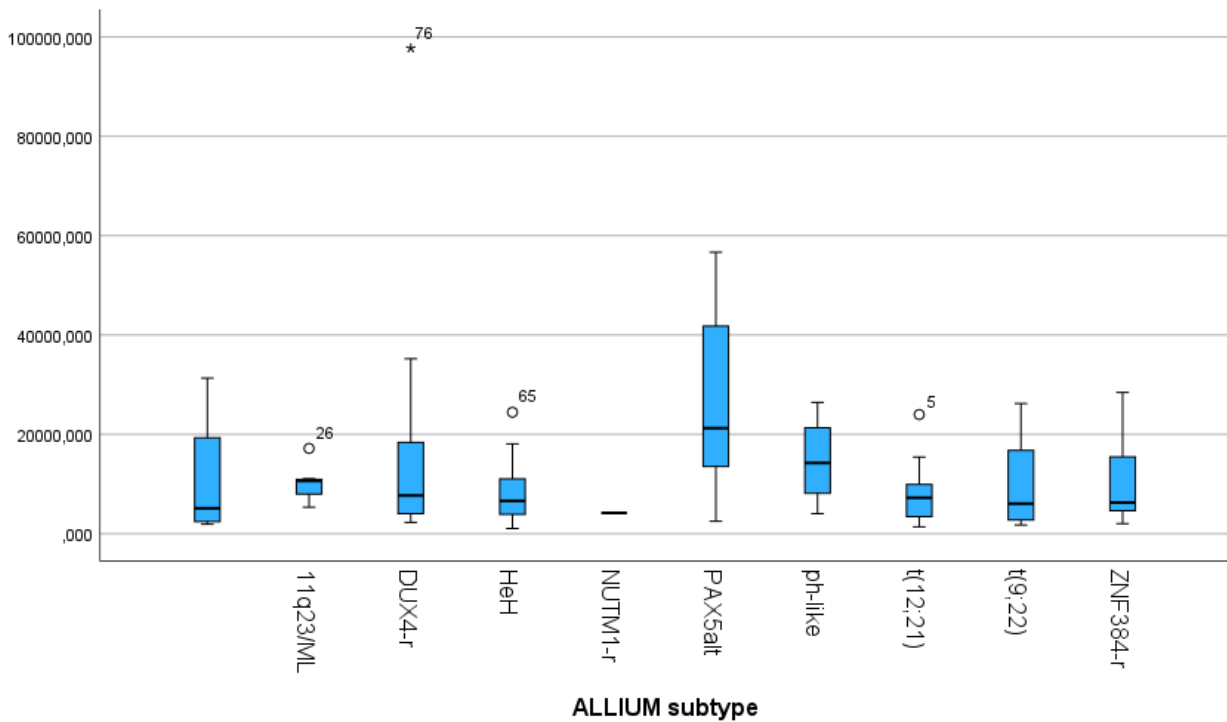


Kuva 2 ANO1-geenin ekspressio akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä Pohjoismaisessa aineistossa (Liu et al. 2017).

ANO1-geenin ekspressio Pohjoismaisessa aineistossa on suurinta akuutin lymfoblastileukemian alatyypissä, jossa on t(12;21)-muutos. Kyseisessä alatyypissä geeniekspression mediaani on noin 450 000. Muissa akuutin lymfoblastileukemian alatyypeissä Pohjoismaisessa aineistossa ANO1-geenin ilmeneminen on melko matalalla tasolla muutamia yksittäistapauksia lukuun ottamatta. Myös panALL-geeniekspressiodatasetissä t(12;21) eli ETV6-RUNX1 assosioituu suurempaan ANO1-ekspressioon. PanALL-datasetissä myös IKZF1 N159Y-alatyypissä ANO1-geenin ilmeneminen on suurempaa kuin muissa alaryhmissä.

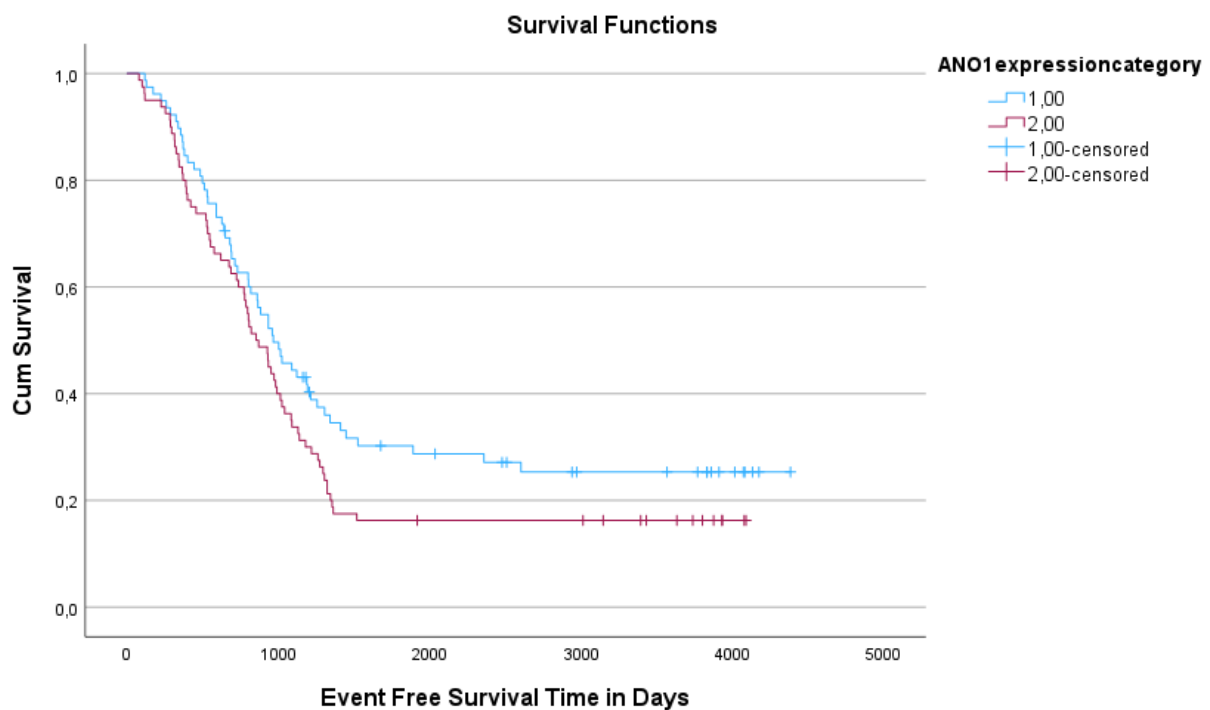


Kuva 3 ENO1-geenin geeniekspressio akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä (Gu et al. 2019).



Kuva 4 ENO1-geenin ekspressio akuutin lymfoblastileukemian eri alatyypeissä Pohjoismaisessa aineistossa (Liu et al. 2017).

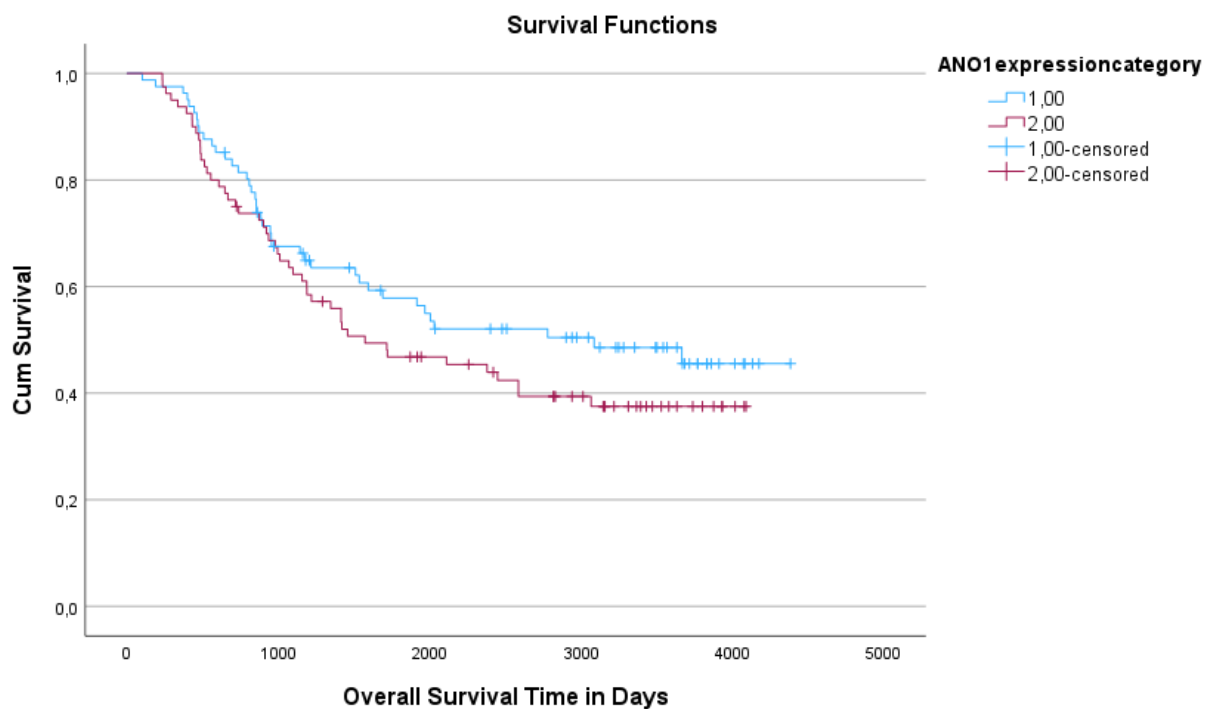
ENO1-geenin ekspressio Pohjoismaisessa aineistossa on suurta erityisesti PAX5alt-alatyypissä, jossa mediaani geenin ilmentymiselle on noin 22 000. Maksimiarvo on kuitenkin vielä suurempi. ENO1:n ilmentyminen on suurta myös ph-like-alaryhmässä. PanALL-geeniekspressiodatasetin tulokset vastaavat Pohjoismaisen aineiston tuloksia. Myös panALL-aineistossa ph-like-alatyypissä ENO1-geenin ilmentyminen on keskimääräistä suurempaa kuten PAX5alt-alaryhmässäkin. PanALL-geeniekspressiodatasetissa BCL2/MYC-alatyypissä ENO1-geenin ilmeneminen on myös korkea. Pohjoismaisessa aineistossa muissa akuutin lymfoblastileukemian alatyypeissä ENO1:n ilmentyminen on hiukan matalampaa.



Kuva 5 ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan kuvaaja TARGET-aineistosta. 1=matala ekspressio, 2=korkea ekspressio. P-arvo 0,103 (Roberts et al. 2014).

Taulukko 1 ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan Logrank-testi TARGET-aineistosta (Roberts et al. 2014).

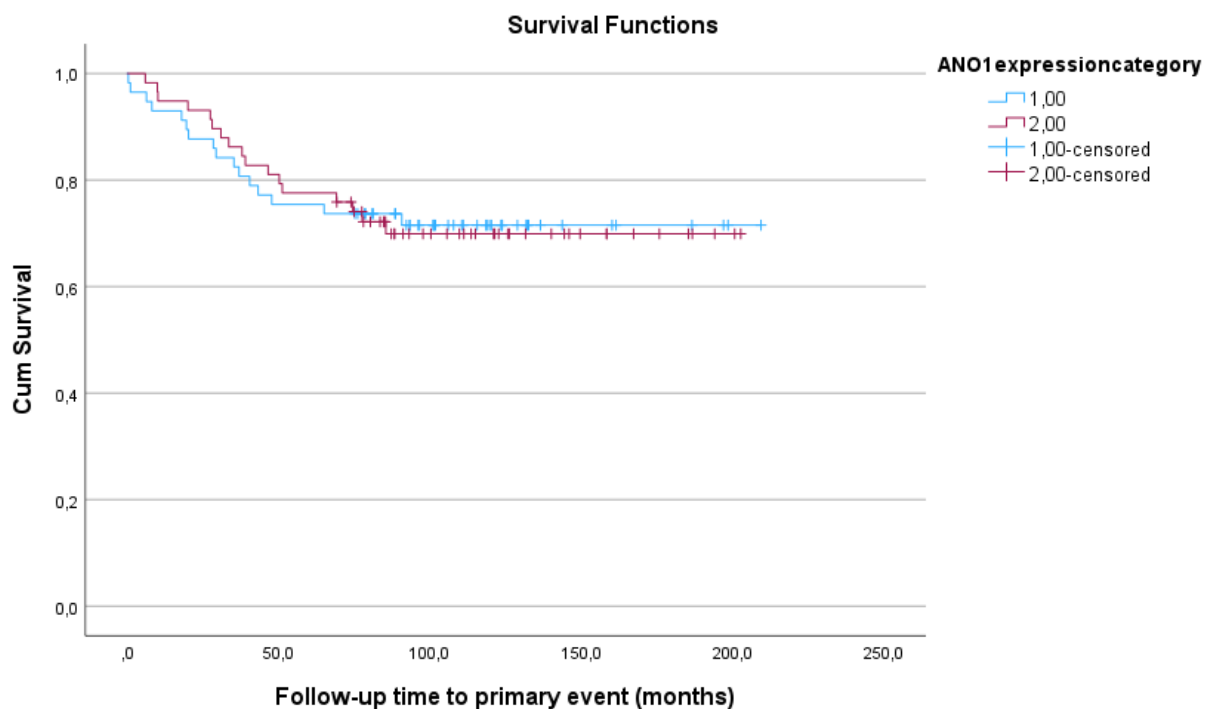
	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ANO1, EFS)	2,662	0,103



Kuva 6 ANO1-geenin kokonaiselossaoloajan kuvaaja TARGET-aineistosta. 1=matala ekspresio, 2=korkea ekspresio. P-arvo 0,233 (Roberts et al. 2014).

Taulukko 2 ANO1-geenin kokonaiselossaoloajan Logrank-testi TARGET-aineistosta (Roberts et al. 2014).

	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ANO1, OS)	1,420	0,233



Kuva 7 ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan kuvaaja Pohjoismaisesta aineistosta. 1=matala ekspressio, 2=korkea ekspressio. P-arvo 0,956 (Liu et al. 2017).

Taulukko 3 ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan Logrank-testi Pohjoismaisesta aineistosta (Liu et al. 2017).

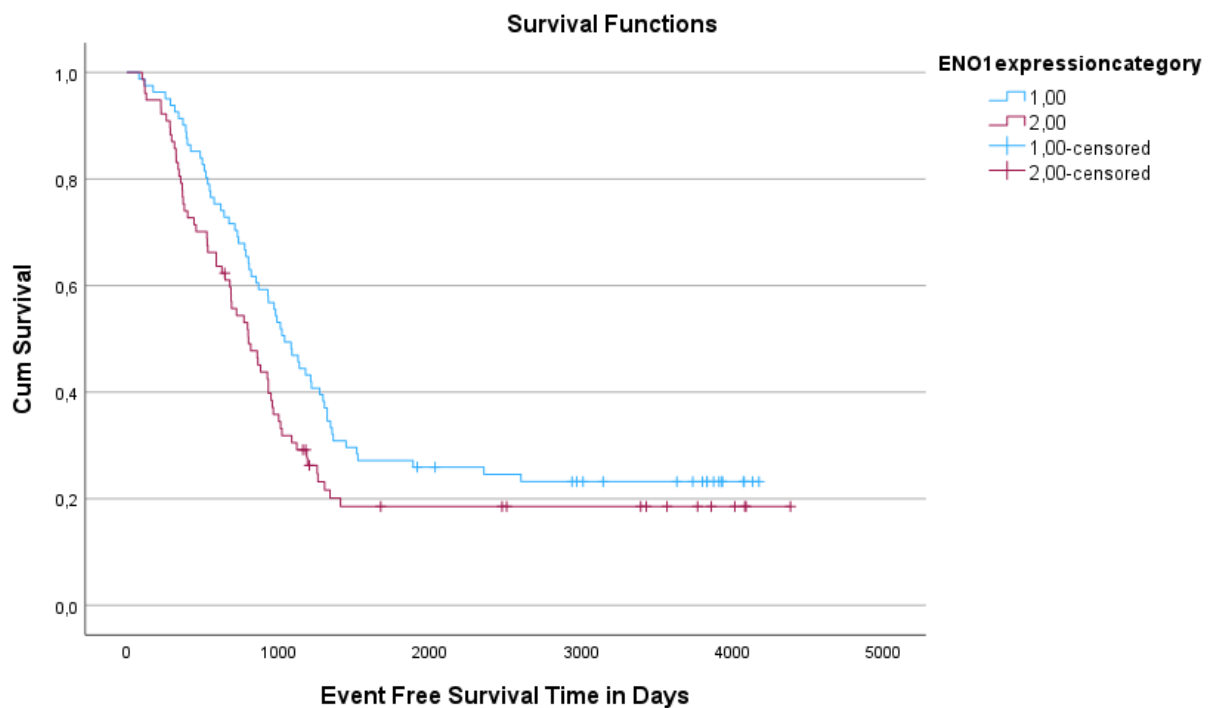
	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ANO1, EFS)	0,003	0,956

TARGET-aineistossa ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä oli 1747,067 päivää ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 1289,762 päivää. Mediaanien estimaatit olivat matalan tason geeniekspressioryhmässä 965,000 päivää ja korkean geeniekspression ryhmässä 851,000 päivää. Vaikka tapahtumavapaissa elossaoloajoissa on pieni ero ryhmien välillä, eivät tulokset silti ole tilastollisesti merkitseviä, sillä p-arvo on 0,103.

ANO1-geenin TARGET-aineiston kokonaiselossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä oli 2669,504 päivää ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 2223,625 päivää. Mediaanien estimaatit olivat matalan tason geeniekspressioryhmässä 3085,000 päivää ja korkean geeniekspression ryhmässä 1571,000 päivää. Analyysissä on pieni ero

kokonaiselossaoloajoissa eri geeniekspressiotasojen välillä, mutta se ei ole tilastollisesti merkitsevä, sillä p-arvo on 0,233.

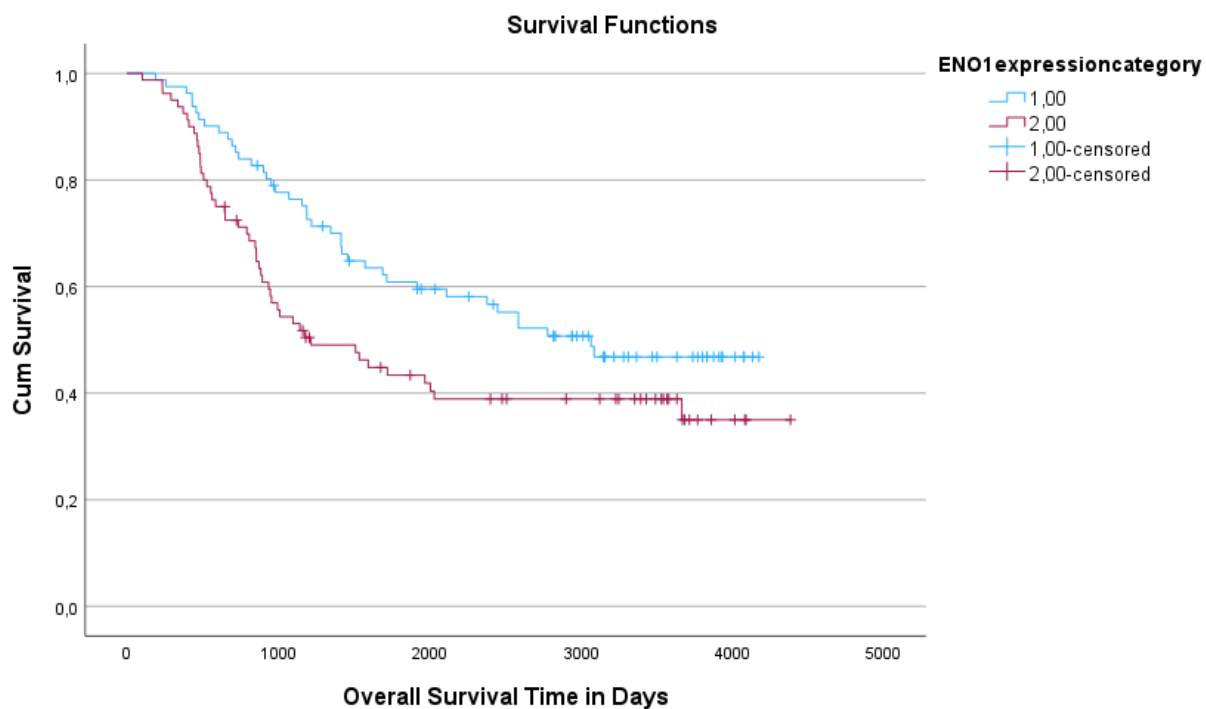
Pohjoismaisessa aineistossa ANO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä oli 158,729 kuukautta ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 154,360 kuukautta. Tapahtumavapaissa elossaoloajoissa on pieni ero ryhmien välillä, mutta tulokset eivät ole tilastollisesti merkitseviä, koska p-arvo on 0,956.



Kuva 8 ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan kuvaaja TARGET-aineistosta. 1=matala ekspressio, 2=korkea ekspressio. P-arvo 0,061 (Roberts et al. 2014).

Taulukko 4 ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan Logrank-testi TARGET-aineistosta (Roberts et al. 2014).

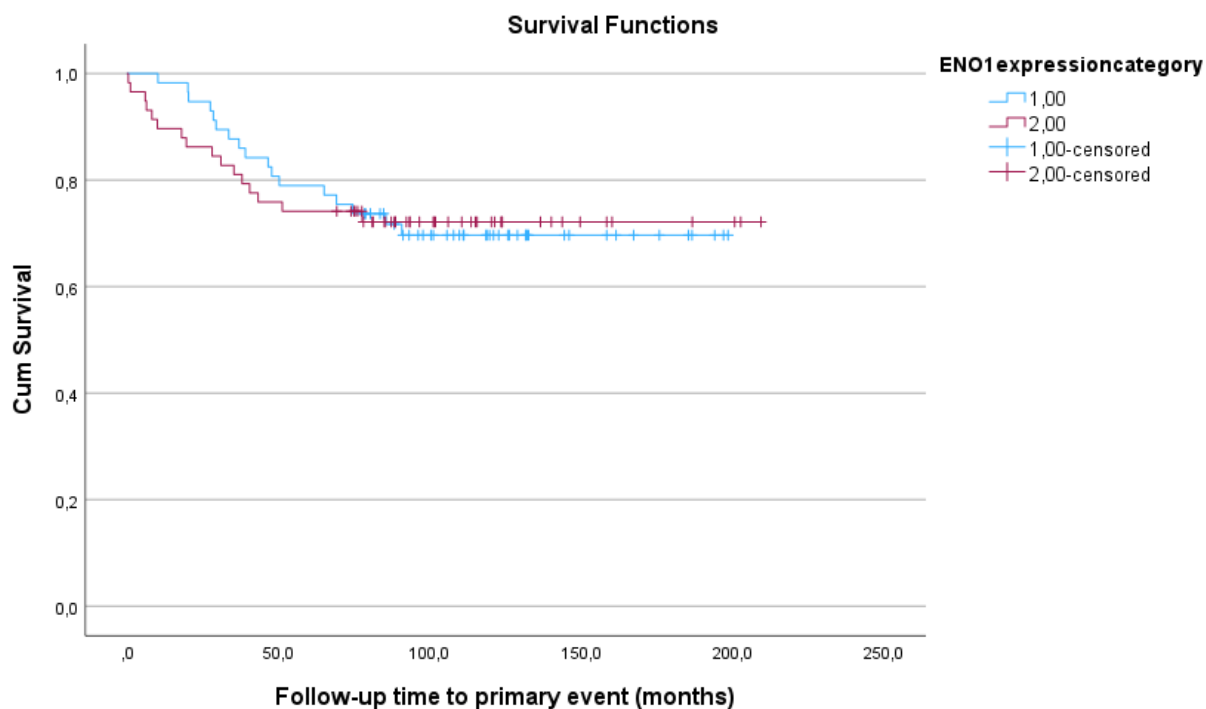
	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ENO1, EFS)	3,497	0,061



Kuva 9 ENO1-geenin kokonaiselossaoloajan kuvaaja TARGET-aineistosta. 1=matala ekspressio, 2=korkea ekspressio. P-arvo 0,037 (Roberts et al. 2014).

Taulukko 5 ENO1-geenin kokonaiselossaoloajan Logrank-testi TARGET-aineistosta (Roberts et al. 2014).

	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ENO1, OS)	4,343	0,037



Kuva 10 ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan kuvaaja Pohjoismaisesta aineistosta. 1=matala ekspressio, 2=korkea ekspressio. P-arvo 0,985 (Liu et al. 2017).

Taulukko 6 ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan Logrank-testi Pohjoismaisesta aineistosta (Liu et al. 2017).

	Khiin neliö	p-arvo
Logrank (ENO1, EFS)	0,000	0,985

TARGET-aineiston ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä oli 1658,272 päivää ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 1367,035 päivää. Mediaanien estimaatit olivat matalan tason geeniekspressioryhmässä 1040,000 päivää ja korkean geeniekspression ryhmässä 801,000 päivää. Tilastollisessa analyysissä on pieni ero tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvoissa ja mediaaneissa, mutta se ei ole tilastollisesti merkitsevä, sillä p-arvo on 0,061.

ENO1-geenin kokonaiselossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä TARGET-aineistossa oli 2688,000 päivää ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 2198,741 päivää. Mediaanien estimaatit olivat matalan tason geeniekspressioryhmässä 3065,000 päivää ja korkean geeniekspression ryhmässä 1214,000 päivää. P-arvo on 0,037, joten tulos on tilastollisesti

merkitsevää. ENO1-geenin kokonaiselossaoloajoissa on siis tilastollisesti merkitsevää ero matalan ja korkean geeniekspressiotason ryhmien välillä.

Pohjoismaisessa aineistossa ENO1-geenin tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvon estimaatti matalan geeniekspression ryhmässä oli 152,290 kuukautta ja korkean tason geeniekspressioryhmässä 158,392 kuukautta. Tilastollisessa analyysissä on pieni ero tapahtumavapaan elossaoloajan keskiarvoissa, mutta se ei ole tilastollisesti merkitsevää, sillä p-arvo on 0,985.

TARGET-aineistossa ANO1-geenin matalamman geeniekspressiotason ryhmässä valkosolujen määrä diagnosoitavalla oli keskimäärin 79,44. Korkeamman tason geeniekspressioryhmässä valkosolujen määrän keskiarvo diagnosoitavalla oli 82,58. Tulos ei ole tilastollisesti merkitsevää, sillä p-arvo on 0,669.

Pohjoismaisessa aineistossa ANO1-geenin matalamman geeniekspressiotason ryhmässä valkosolujen määrä diagnosoitavalla oli keskimäärin 61,51. Korkeamman geeniekspressiotason ryhmässä vastaava määrä oli 54,55. Testin tulos ei ole tilastollisesti merkitsevää, koska p-arvo on 0,263.

TARGET-aineistossa ENO1-geenin matalamman geeniekspressiotason ryhmässä valkosolujen määrä diagnosoitavalla oli keskimäärin 79,21. Korkeamman tason geeniekspressioryhmässä valkosolujen määrän keskiarvo diagnosoitavalla oli 82,81. Tulos ei ole tilastollisesti merkitsevää, sillä p-arvo on 0,624.

Pohjoismaisessa aineistossa ENO1-geenin matalamman geeniekspressiotason ryhmässä valkosolujen määrä diagnosoitavalla oli keskimäärin 57,37. Korkeamman geeniekspressiotason ryhmässä vastaava määrä oli 58,62. Testin tulos ei ole tilastollisesti merkitsevää, koska p-arvo on 0,840.

4. POHDINTA

Tässä tutkimuksessa tutkittiin ANO1- ja ENO1-geenien ilmentymistä taudin eri alatyypeissä sekä ennusteellista, diagnostista ja hoidollista merkitystä akuutissa lymfoblastileukemiassa. Lisäksi tutkittiin valkosolujen määrää diagnoosihetkellä. ANO1- ja ENO1-geenien diagnostinen ja ennusteellinen merkitys akuutissa lymfoblastileukemiassa on toistaiseksi epäselvä, minkä vuoksi tämä tutkimus aiheesta oli tarpeellinen.

ANO1-geenin ilmeneminen Pohjoismaisessa aineistossa oli suurinta akuutin lymfoblastileukemian alatyypissä, jossa on t(12;21)-muutos. Lukema vastaa panALL-geeniekspressiodatasetin tuloksia, jossa kyseisessä alatyypissä geeniekspression mediaani on korkeampi verrattuna muihin alatyyppeihin (Gu et al. 2019). Tutkimus t(12;21):stä on ollut runsasta ja B-ALL-potilailla t(12,21) on ollut usein merkinä suotuisammasta ennusteesta (Becker et al. 2017). Päinvastoin ENO1-geenin ekspressio ei ollut suurempi t(12;21)-alatyypissä Pohjoismaisessa datassa. Tämä vastaa myös aiempia tutkimustuloksia (Gu et al. 2019). PanALL-datasetissä IKZF1 N159Y-alatyypissä ANO1-geenin ilmeneminen on suurempaa kuin muissa alaryhmissä. Myös tästä akuutin lymfoblastileukemian alatyypistä on ollut paljon tutkimusta ja keskustelua ennusteellisena markerina. IKZF1 N159Y on usein yhdistetty huonompaan ennusteeseen pediatriisilla akuuttia lymfoblastileukemiaa sairastavilla potilailla (Stanulla et al. 2020).

PanALL-geeniekspressiodatasetissä BCL2/MYC-alatyypissä ENO1-geenin ilmeneminen oli korkea. Aiemmissä tutkimuksissa BCL2/MYC on liitetty huonompaan ennusteeseen etenkin double hit lymfoomassa (Shaoying et al. 2013). Pohjoismaisessa aineistossa ENO1-geenin ilmeneminen oli erityisen suurta PAX5alt-alatyypissä. PAX5alt-muutoksen on todettu jo aiemmissä tutkimuksissa olevan huonon ennusteen markeri etenkin, mikäli IKZF1-deleetioita on havaittavissa (Zhilian and Zhaohui 2022). Akuutin lymfoblastileukemian ph-like-alatyypissä ennuste on huono erityisesti nuorilla aikuisilla verrattuna lapsiin ja nuoriin (Tran and Loh 2016). Tutkimustulosten perusteella ENO1-geenin ekspressio oli korkea ph-like-alatyypissä.

ANO1-geenin vaikutus tapahtumavapaaseen elossaoloaikaan tai kokonaiselossaoloaikaan ei ollut tilastollisesti merkitsevää TARGET-datassa eikä Pohjoismaisessa aineistossa. Kummassakin aineistossa oli kuitenkin pienet muutokset elossaoloajoissa verratessa korkean geeniekspression

ryhmää matalan ekspressiotason ryhmään. Korkealla ekspressiolla oli siis trendi huonompaan ennusteeseen, kuten relapsiin tai kuolemaan. Aikaisemmissa tutkimuksissa ANO1-geenillä on todettu olevan huono ennusteellinen vaikutus useissa eri syöpätyypeissä. Yhteys huonoon ennusteeseen on löydetty esimerkiksi rinta- ja kolorektaalisyövässä sekä ruokatorven levyepiteelikarsinoomassa. (Zhang et al. 2021.) Tässä tutkimuksessa tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ei kuitenkaan löydetty, mikä voi johtua esimerkiksi datan tapausten pienestä lukumäärästä ja otosten erilaisesta rakenteesta. Vaikka tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ANO1-geenin korkealla ekspressiolla ja akuutin lymfoblastileukemian ennusteella ei löytynytäkään, tarvitaan aiheesta vielä lisää tutkimusta, sillä ANO1:stä on pidetty lupaavana biomarkkerina useille syöpätyypeille (Guo et al. 2022).

TARGET-aineistossa ja Pohjoismaisessa datassa ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ENO1-geenin eri geeniekspressioryhmien tapahtumavapaissa elossaoloajoissa. TARGET-aineistossa kokonaiselossaoloajoissa oli tilastollisesti merkitsevä ero korkean ja matalan geenin ilmentymisen ryhmissä. Korkeammassa ENO1-geeniekspression ryhmässä tapausten elossaoloaika oli siis tilastollisesti merkitsevästi lyhyempi kuin niillä tapauksilla, jotka kuuluivat matalamman geeniekspressiotason ryhmään. Tutkimuksen tulokset heikommasta kokonaiselossaoloajasta ja ennusteesta korkeammalla ENO1-ekspressiolla korreloivat aiempien tutkimustulosten kanssa. ENO1-geenin korkealla ilmentymisellä on useissa tutkimuksissa todettu olevan huono ennusteellinen merkitys monissa eri syövässä, kuten keuhkojen levyepiteelikarsinoomassa ja gliomassa (Song et al. 2014, Huang et al. 2021). Akuutista lymfoblastileukemian ja ENO1-geenin yhteydestä ei ole juurikaan tutkimuksia, eikä ENO1:n merkitystä ennusteeseen tiedetä vielä kovinkaan hyvin, minkä vuoksi tutkimusta etenkin akuuttiin lymfoblastileukemiaan liittyen tarvitaan vielä lisää. ENO1-geenillä saattaa olla potentiaalia biomarkkerina akuutin lymfoblastileukemian lisäksi myös muissa syöpätyypeissä.

TARGET-datassa ja Pohjoismaisessa aineistossa valkosolujen määrässä diagnoosihetkellä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa ANO1-geenin korkean ja matalan geenin ilmentymisen ryhmissä. Pohjoismaisessa datassa valkosolujen määrä diagnoosihetkellä oli jopa suurempi matalan tason geeniekspressioryhmässä kuin korkean ekspression ryhmässä. TARGET-datassa korkean ilmentymistason ryhmässä valkosolujen määrä oli suurempi. Myöskään ENO1-geenin kohdalla ei TARGET-aineistossa eikä Pohjoismaisessa datassa ollut tilastollisesti merkitsevää eroa valkosolujen

määrässä diagnoosihetkellä. Kuitenkin molemmissa aineistoissa valkosolujen absoluuttinen lukumäärä oli suurempi korkeamman geeniekspressiotason ryhmissä.

ANO1-geenin yhteys tapahtumavapaaseen elossaoloaikaan tai kokonaiselossaoloaikaan ei ollut tilastollisesti merkitsevä kummassakaan aineistossa. ENO1-geenin ja huonomman ennusteen välillä löytyi tilastollisesti merkitsevä yhteys TARGET-aineistosta tehdyssä kokonaiselossaoloaika-analyysissä, mikä vastaa aiemmin julkaistuja tutkimustuloksia (Song et al. 2014, Huang et al. 2021). Koska useissa aiemmissä tutkimuksissa ANO1- ja ENO1-geeneillä on löydetty olevan diagnostinen, ennusteellinen ja hoidollinen yhteys moniin syöpätauteihin, tarvitaan etenkin akuuttiin lymfoblastileukemiaan liittyen lisää tutkimusta, sillä tässä tutkimuksessa yhteyttä ei juurikaan ollut.

5. LÄHTEET

Aldoss, I., Forman, S. & Pullarkat, V. (2019). Acute Lymphoblastic Leukemia in the Older Adults. *Journal of Oncology Practice*, 15(2):67-75.

ANO1 Gene-Anoctamin1. (2023). *GeneCards; the Human Gene Database*.

Becker, M., Liu, K. & Tirado, C. (2017). The t(12;21)(p13;q22) in Pediatric B-Acute Lymphoblastic Leukemia: An Update. *J Assoc Genet Technol*. 2017;43(3):99-109.

Capello, M., Ferri-Borgogno, S., Riganti, C., Chattaragada, M. S., Principe, M., Roux, C., ... & Novelli, F. (2016). Targeting the Warburg effect in cancer cells through ENO1 knockdown rescues oxidative phosphorylation and induces growth arrest. *Oncotarget*, 7(5): 5598–5612.

ENO1 enolase-1 [*Homo sapiens* (human)]. (2023). *National Center for Biotechnology Information*.

Guo, S., Zhang, L. & Li, N. (2022). ANO1: More Than Just Calcium-Activated Chloride Channel in Cancer. *Frontiers*, 12:922838.

Gu, Z., Churchman, M. L., Roberts, K. G., Moore, I., Zhou, X., Nakitandwe, J., ... & Mullighan, C. G. (2019). PAX5-driven subtypes of B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. *Nature genetics*, 51(2), 296-307.

Huang, C. K., Sun, Y., Lv, L. & Ping, Y. (2022). ENO1 and Cancer. *Molecular Therapy Oncolytics*, 17; 24: 288–298.

Huang, W., Chen, G., Chen, S., Dang, Y., Deng, Y., Zhou, J., ... & He, J. (2021). The Indication of Poor Prognosis by High Expression of ENO1 in Squamous Cell Carcinoma of the Lung. *Journal of Oncology*. 2021: 9910962.

Jahnukainen, K., Kanerva, J., Taskinen, M. & Vettenranta, K. (2015). Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim. Viitattu 22.9.2022. Saatavilla: <https://www.oppiportti.fi/op/opk04599>

Liu, Y., Easton, J., Shao, Y., Maciaszek, J., Wang, Z., Wilkinson, M., ... & Mullighan, C. (2017). The genomic landscape of pediatric and young adult T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Nature genetics*, 49(8): 1211-1218.

Malard, F. & Mohty, M. (2020). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 395(10230):1146-1162.

Martin-Lorenzo, A., Auer, F., Chan, L. N., Garcia-Ramirez, I., Gonzalez-Herrero, I., Rodriguez-Hernandez, G., ... & Hauer, J. (2018). Loss of Pax5 exploits Sca1-BCR-ABL^{p190} susceptibility to confer the metabolic shift essential for pB-ALL. *Cancer Research*, 78(10): 2669–2679.

Oh, U. & Jung, J. (2016). Cellular functions of TMEM16/anoctamin. *Plügers Archiv European Journal of Physiology*, 468(3):443-53.

Onciu, M. (2009). Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 23(4), 655-74.

- Roberts, K., Li, Y., Payne-Turner, D., Harvey, R., Yang, Y., Pei, D., ... & Mullighan, C. (2014). Targetable Kinase-Activating Lesions in Ph-like Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of medicine*, 371: 1005-1015.
- Seo, Y., Jeong, S. B., Woo, J.H., Kwon, O. B., Lee, S., Oh, H.I., ... & Moon, U.Y. (2021). Diethylstilbestrol, a Novel ANO1 Inhibitor, Exerts an Anticancer Effect on Non-Small Cell Lung Cancer via Inhibition of ANO1. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7100.
- Shaoying, L., Pei, L., Young, K., Kanagal-Shamanna., Rashmi., Yin, C. & Medeiros, J. (2013). MYC/BCL2 Double-Hit High-Grade B-Cell Lymphoma. *Advances In Anatomic Pathology*, 20(5):p 315-326.
- Song, Y., Luo, Q., Long, H., Hu, Z., Que, T., Zhang, X., ... & Qi, S. (2014). Alpha-enolase as a potential cancer prognostic marker promotes cell growth, migration, and invasion in glioma. *Molecular Cancer*. 13:65.
- Stanulla, M., Cavé, H. & Moorman, A. (2020). IKZF1 deletions in pediatric acute lymphoblastic leukemia: still a poor prognostic marker? *Blood*, 135(4): 252–260.
- Tran, T. & L. Loh, M. (2016). Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Hematology The American Society of Hematology Education Program*, 2016(1): 561–566.
- Yu, R., Yang, S., Liu, Y. & Zhu, Z. (2022). Identification and validation of serum autoantibodies in children with B-cell acute lymphoblastic leukemia by serological proteome analysis. *Proteome Science*, 20(1):3.
- Zhang, C., Li, H., Gao, J., Cui, X., Yang, S. & Liu, Z. (2021). Prognostic significance of ANO1 expression in cancers. *Medicine*, 100(4):e24525.
- Zhang, J., Li, H., Miao, L. & Ding, J. (2020). Silencing of ENO1 inhibits the proliferation, migration and invasion of human breast cancer cells. *Jbuon*, 25(2):696-701.
- Zhilian, J. & Zhaohui, G. (2022). PAX5 alterations in B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Frontiers in Oncology*,12:1023606.