

Изменение экспрессии CD19 опухолевыми клетками при применении блинатумомаба у детей с рецидивами и рефрактерным течением В-линейного острого лимфобластного лейкоза

Е.В. Глуханюк, О.И. Илларионова, С.А. Кашпор, С.А. Плясунова, Н.В. Мякова, А.А. Масчан, А.М. Попов

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

Блинатумомаб представляет собой биспецифическое анти-CD3-анти-CD19-антитело, которое способно рекрутировать собственные Т-клетки пациента против В-клеток, экспрессирующих CD19, опосредуя их лизис. Один из значимых механизмов приобретенной резистентности к препарату – снижение экспрессии CD19 опухолевыми клетками вплоть до полной потери данного пан-В-линейного антигена. Целью работы была оценка изменения экспрессии CD19 у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) на остаточных опухолевых клетках или опухолевых клетках при рецидиве после лечения блинатумомабом. В исследование были включены 39 пациентов с рефрактерными формами или рецидивом В-линейного ОЛЛ, которые получали блинатумомаб. Минимальную остаточную болезнь (МОБ) определяли методом 8-цветной проточной цитометрии. Исследование показало, что снижение экспрессии CD19 на опухолевых клетках – одна из основных причин неудач CD19-направленной терапии. В то же время изменения экспрессии CD19 могут быть обратимыми: «CD19-негативная МОБ» не всегда была ассоциирована с отсутствием CD19 на опухолевых клетках при последующем рецидиве. В двух случаях диагностировали так называемое переключение линий и развитие ОМЛ в результате CD19-направленной терапии, причем оно происходило различными путями и зависело от биологических свойств опухоли. Снижение экспрессии CD19 приводило к необходимости использовать для мониторинга МОБ 10–12-цветную проточную цитометрию с расширенной панелью моноклональных антител к различным В-линейным и опухолево-ассоциированным антигенам.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, блинатумомаб, CD19, минимальная остаточная болезнь.

Changes in CD19 expression after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia

E.V. Gluhanyuk, O.I. Illarionova, S.A. Kashpor, S.A. Plyasunova, N.V. Miakova, A.A. Maschan, A.M. Popov

Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

Blinatumomab is a bispecific T-cell engager (BiTE) antibody construct targeting CD3 and CD19, resulting in T-cell-mediated lysis of malignant B cells. CD19 downexpression is shown to be one of the possible mechanisms of tumor cells adaptation and subsequent escape from treatment. The aim of the present study was to evaluate changes of CD19 expression on residual tumor cells in children with BCP-ALL treated with blinatumomab. 39 patients with relapsed/refractory BCP-ALL who completed at least one course of blinatumomab, were studied. MRD monitoring was performed by 8-color flow cytometry. In those children, who didn't respond and/or developed subsequent relapse, CD19 downexpression seems to be one of the significant pathways for tumor escape from blinatumomab – 50% of relapses were CD19-negative, and in 26.3% of all relapsed/resistant cases CD19-negative blasts were detected at least on MRD level. Rather frequent loss of CD19 could be a serious obstacle for flow cytometric MRD monitoring, but application of expanded antibodies panel and use of 10–12-color investigation allows residual blasts detection in nearly all cases.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, blinatumomab, CD19, minimal residual disease.

Контактная информация:

Попов Александр Михайлович, канд. мед. наук, заведующий лабораторией клеточной иммунологии и иммуногенеза НИИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России.

Адрес: 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, 1
Тел.: 8 (495) 287-6570

E-mail: uralcytometry@gmail.com

DOI: 10.24287/1726-1708-2017-16-4-21-26

Correspondence:

Alexander M. Popov, MD, PhD, Head of Cell immunology and immunogenesis laboratory, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.

Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1
Phone: +7 (495) 287-6570

E-mail: uralcytometry@gmail.com

Блинатумомаб представляет собой биспецифическое антитело, состоящее из двух одноцепочечных переменных фрагментов моноклональных антител против CD19 и ϵ -цепи CD3, которое способно рекрутировать Т-клетки пациента против опухолевых В-клеток, опосредуя их лизис [1]. В настоящее время препарат используется главным образом для лечения рефрактерных форм и рецидивов острого лимфобластного лейкоза из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ). Несмотря на обнадеживающие результаты – достижение полной или частичной ремиссии примерно у половины больных (56% – для взрослой когорты больных [2], 45% – для детской [3]), у существенной части пациентов происходят рецидивы или развивается рефрактерность к проводимой терапии. Один из значимых механизмов приобретенной резистентности к препарату – снижение экспрессии CD19 опухолевыми клетками вплоть до полной потери данного пан-В-линейного антигена [4]. Кроме того, потеря экспрессии CD19 значительно усложняет мониторинг минимальной остаточной болезни (МОБ), который необходим для контроля эффективности лечения [5].

Целью нашей работы была оценка изменения экспрессии CD19 у детей с ВП-ОЛЛ на остаточных опухолевых клетках или опухолевых клетках при рецидиве после лечения блинатумомабом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование, проводившееся с декабря 2015 по сентябрь 2017 года, были включены 39 пациентов (19 девочек и 20 мальчиков) с рефрактерной формой или рецидивом ВП-ОЛЛ, которые получали блинатумомаб в рамках противорецидивной терапии в качестве «мостика» к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Медиана возраста составила 8 лет (от 6 мес. до 21 года). У 5 (12,8%) пациентов были обнаружены различные аберрации в гене *KMT2A*, у 3 (7,7%) – транскрипт *ETV6-RUNX1*. Всем пациентам после одного или двух курсов блинатумомаба, преимущественно при наличии МОБ-негативной ремиссии, выполняли аллогенную ТГСК.

МОБ определяли в образцах костного мозга (КМ) в течение 5 часов с момента забора. Иммунофенотипирование опухолевых клеток в костном мозге производили методом 8-цветной проточной цитометрии на приборе *FACS Canto II* (*Becton & Dickinson* (BD), США). Настройку проточного цитометра проводили с использованием калибровочной системы *Comp Beads* (BD, США). Мониторинг стабильности работы прибора выполняли при помощи частиц *Cytometer Setup and Tracking* (BD, США). Использовались моноклональные антитела (МкАТ), меченные флуоресцеинизотиоцианатом (FITC), R-фикоэритрином (PE),

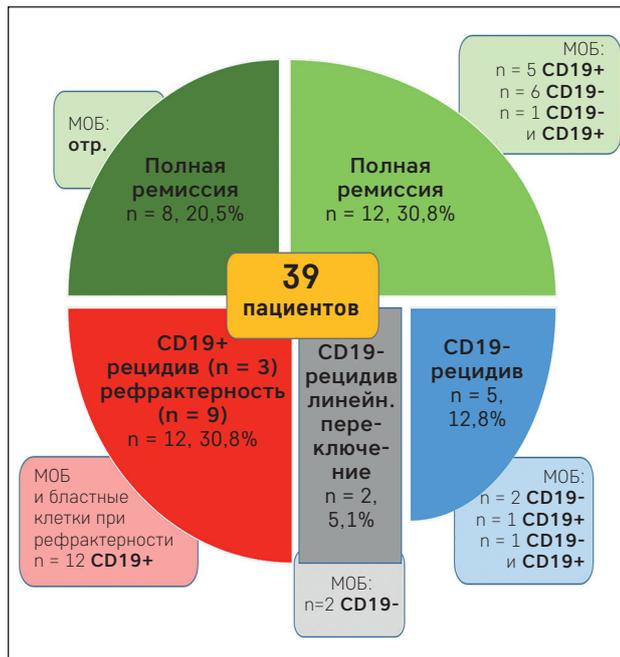
перидининхлорофилл-протеином (PerCP), аллофикоцианином (APC), красителями BV421 и BV510, а также тандемными конъюгатами PE с цианином 7 (Cy7), PerCP с цианином 5,5 (Cy5,5) и APC с Cy7 и AlexaFluor750. Для определения МОБ применяли моноклональные антитела к антигенам CD58 (AICD58-FITC, *Beckman Coulter* (BC), США), CD10 (HI10a-PE или HI10a-BV421, оба BD), CD45 (J33-APC-AlexaFluor750, BC), CD34 (8G12-PE-Cy7 или 8G12-APC, оба BD), CD20 (L27-PerCP, BD), CD19 (SJ25C1-APC, BD, или J3-119-PE-Cy7, BC) и CD38 (HIT2-BV510, BD). Окрашивание первично мечеными моноклональными антителами производилось согласно инструкции производителя. После инкубации суспензии костномозговых клеток с моноклональными антителами взвесь обрабатывали лизирующим раствором (*FACS Lysing solution*, BD), а затем отмывали фосфатно-солевым буфером (*Cell Wash*, BD). При определении МОБ применяли подход, описанный ранее [6], основанный на рекомендациях группы AIEOP-BFM [7]. После применения блинатумомаба для выделения В-клеток использовали дополнительные антитела к CD22 (HIB22-PE, BD) и CD24 (ML-5-BV510, BD) согласно рекомендациям, изложенным в работе *Cherian, et al.* [5], для снижения вероятности получения ложнонегативных результатов при анализе и интерпретации результатов иммунофенотипирования в случае потери CD19. Результат рассчитывали в виде процентного содержания опухолевых клеток среди всех ядросодержащих клеток костного мозга, которые определяли путем окраски ДНК-тропным красителем Syto 41 (*Thermo Fisher Scientific*, США). Образцы КМ считали МОБ-положительными при величине МОБ > 0,001%. Опухолевая популяция при диагностике рецидива и определении МОБ считалась CD19-положительной, если более 80% лейкоэмических бластов экспрессировали данный антиген.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полной клинико-гематологической ремиссии (ПР) достигли 27 (69,2%) из 39 пациентов. У 20 (51,3%) из 39 пациентов, включенных в исследование, удалось добиться продолжительной ПР (медиана длительности – 173 дня от завершения курса блинатумомаба) (рис. 1), при этом у 8 пациентов, достигших ПР, МОБ не обнаруживали ни после первого, ни после последующих курсов блинатумомаба, они были исключены из дальнейшего анализа. У остальных 12 пациентов МОБ выявляли по крайней мере однократно: у 5 пациентов бластная популяция всегда оставалась CD19-положительной, в 6 случаях хотя бы раз выявлялась CD19-негативная МОБ, а в одном случае в различное время у пациента детектировались как CD19-положительные, так и CD19-негативные резидуальные опухолевые клетки.

Рисунок 1

Группы пациентов в зависимости от исхода терапии и предшествующая МОБ с указанием ее иммунофенотипических характеристик (CD19+ или CD19-)



Из 39 пациентов 19 (48,7%) были либо резистентны к проводимой терапии (n = 9), либо развили костномозговой рецидив после окончания курса блинатумомаба (n = 10). Во всех случаях резистентности к блинатумомабу (9 пациентов) и в 3 случаях рецидива бластные (и предшествующие рецидиву резидуальные) клетки были CD19-позитивными. У 5 пациентов наблюдалось развитие CD19-негативного рецидива (рис. 2). Таким образом, частота развития CD19-негативного рецидива составила 50% всех случаев рецидива (5 из 10 случаев) и 26,3% всех случаев неудач (5 из 19). У двух пациентов с CD19-негативным рецидивом еще до его развития определялась МОБ с CD19-негативными бластными клетками; в одном случае у пациента в различное время детектировались как CD19-позитивные, так и CD19-негативные опухолевые клетки.

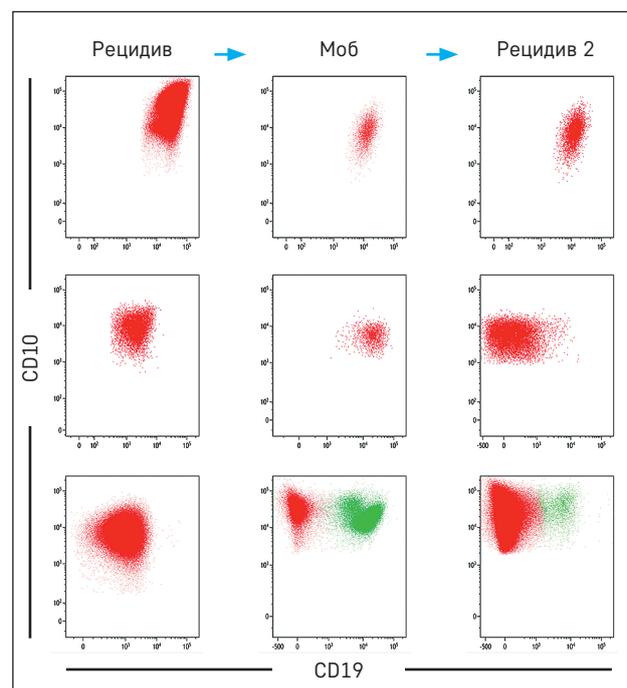
У двух пациентов с CD19-негативной МОБ зафиксирован рецидив по типу линейного переключения – с ВП-ОЛЛ на острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). Вероятно, такое переключение может происходить по разным причинам. Так, у одного пациента была обнаружена абберрация, приводящая к образованию транскрипта KMT2A-AFF1, для которого характерно линейное переключение, путем репрограммирования бластной популяции с лимфобластным фенотипом на миелоидный (рис. 3 А) [8, 9]. Во втором случае в костном мозге, по данным инициального иммунофенотипирования, выявлена минорная миелоидная бластная популяция, которая затем стала источником развернутого рецидива (рис. 3 Б).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

По механизму своего действия блинатумомаб – таргетный препарат, его применение является мощным селектирующим фактором для клеток, не экспрессирующих CD19. Данные, полученные в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, указывают на то, что потеря экспрессии CD19 бластными клетками не оказывает существенного влияния на их способности к выживанию и пролиферации [10]. Применение блинатумомаба может быть причиной снижения экспрессии или полной потери CD19, что является важнейшим механизмом «ускользания» от терапии блинатумомабом и ведет к возможности развития CD19-негативного рецидива. Описано несколько механизмов развития таких рецидивов (рис. 4): позитивная селекция предсуществующего CD19-негативного клона с последующей его экспансией; синтез дефектного рецептора CD19 с потерей таргетного (для «анти-CD19» части блинатумомаба) эпитопа в результате альтернативного сплайсинга мРНК CD19 [11]; нарушение механизма транспорта рецептора CD19 на поверхность клетки по причине дефицита CD81 – важного фактора созревания корцепторного комплекса CD19/CD21/CD81/CD225 [12].

Рисунок 2

Экспрессия CD19 при диагностике рецидива и развитии второго рецидива после применения блинатумомаба: экспрессия CD19 у части пациентов сохранялась (верхний ряд); у других пациентов развивался CD19-негативный рецидив вне зависимости от того, определялась CD19-позитивная (средний ряд) или CD19-негативная (нижний ряд) МОБ (опухолевые клетки показаны красным, нормальные В-линейные предшественники – зеленым)



Помимо CD19-негативных рецидивов, отдельно выделяют CD19-позитивные рецидивы и рефрактерность к блинатумомабу, имеющие принципиально иной механизм развития, связанный с дефектностью «CD3-составляющей». В исследовании по изучению предикторных факторов эффективности блинатумомаба у 42 взрослых пациентов с рефрактерной формой или рецидивом ВП-ОЛЛ [13] достоверную прогностическую значимость показал уровень содержания Т-регуляторных лимфоцитов (Т-reg) до начала курса лечения: в группе ответивших (22 пациента) средний уровень Т-reg составлял 4,82%; у неответивших (20 пациентов) – 10,25%. Уровень 8,525% явился «пограничным» и позволял разделить 100% ответивших и 70% неответивших пациентов. Важно также, что для успешного действия блинатумомаба имеет значение не столько первоначальный уровень CD3 и CD3/CD8-лимфоцитов, сколько способность препарата активировать экспансию Т-клеток [14, 15].

В настоящем исследовании использование блинатумомаба позволило достичь ремиссии примерно в половине случаев (52,5%), что в целом соответствует результатам исследований на взрослой и детской когортах больных [2, 3]. Следует отметить, что мониторинг МОБ методом проточной цитометрии позволил выделить особую группу больных, сохранявших

определяемую МОБ, однако не развивших рецидив в течение доступного срока наблюдения. В 7 из 12 таких случаев определялась CD19-негативная МОБ.

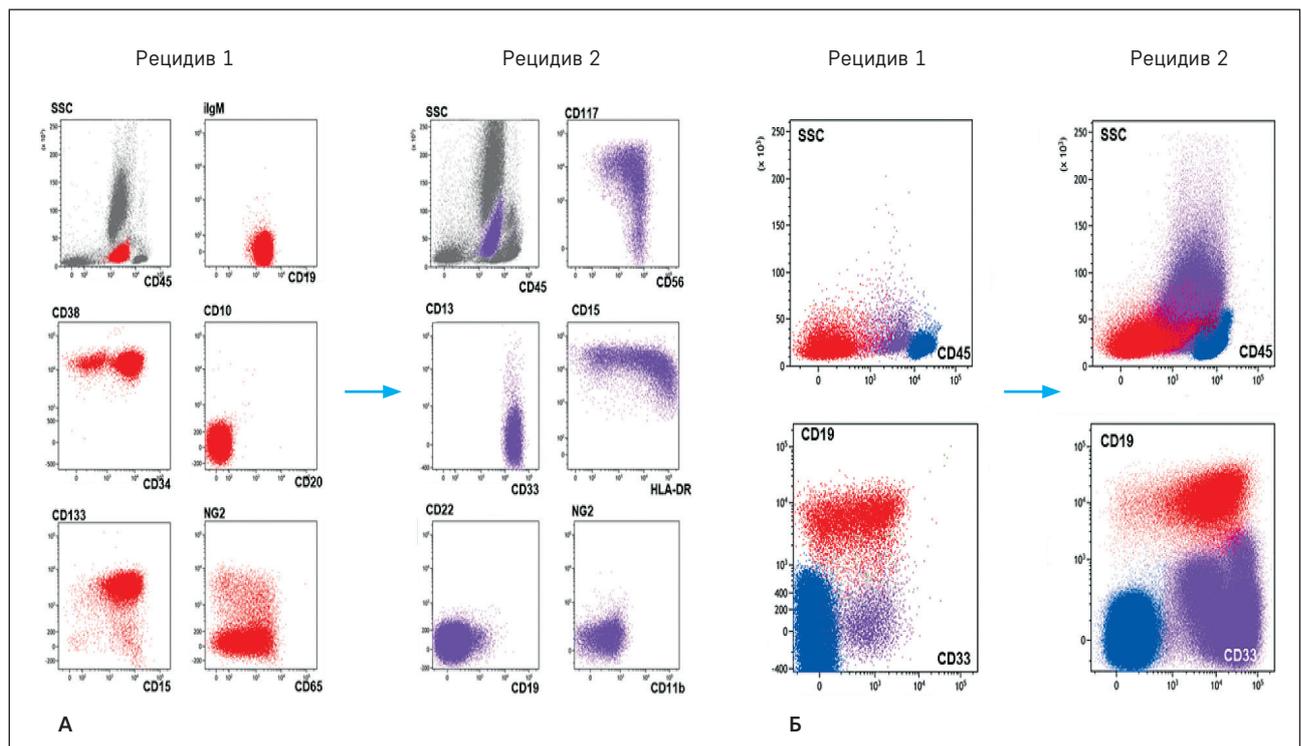
Выделения в отдельную группу заслуживают случаи рефрактерности к проводимой терапии (n = 9). Иммунофенотип бластных клеток таких пациентов как до, так и на протяжении, и после курса блинатумомаба оставался неизменным – CD19-позитивным. В случае CD19-позитивных рецидивов (n = 3) иммунофенотип бластных клеток предшествующей МОБ являлся также CD19-позитивным. Эти данные косвенно указывают на то, что в развитии данного типа рецидива/рефрактерности, по всей видимости, CD19-селектирующее действие блинатумомаба не играет важной роли.

В половине случаев рецидивов развивались CD19-негативные рецидивы (n = 5). Примечательно, что развитию CD19-негативного рецидива CD19-негативная МОБ предшествовала лишь в 3 из 5 случаев.

Хотя феномен переключения линий описан достаточно давно, частота таких сообщений существенно возросла после начала широкого использования CD19-направленной терапии [16]. Основные механизмы этого переключения – селекция предшествующей миелоидной популяции на фоне элиминации лимфоидной составляющей опухолевого клона и репрограммирование лейкоэмических клеток

Рисунок 3

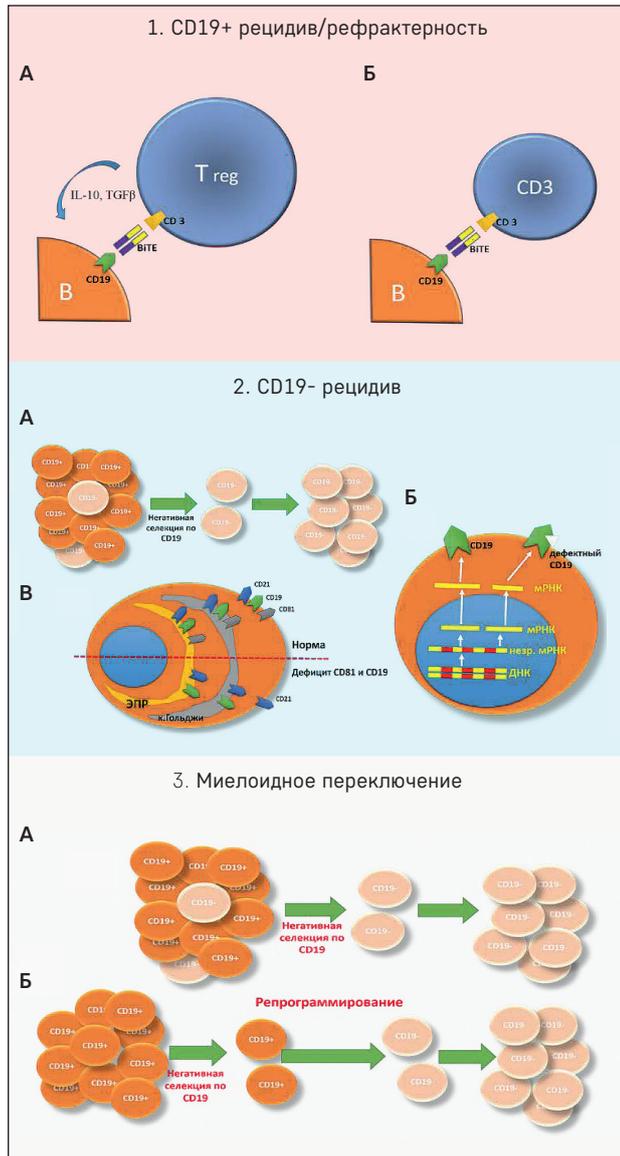
Переключение линий после применения блинатумомаба: А – у пациента с перестройкой гена *KMT2A* (химерный ген *KMT2A-AFF1*) бласты с лимфоидным фенотипом элиминировались, а при развитии 2-го рецидива определялись миелоидные бласты; Б – у пациента с отсутствием перестроек гена *KMT2A* при диагностике рецидива наряду с основной лимфоидной была выявлена минорная миелоидная опухолевая популяция; после применения блинатумомаба минорной стала лимфобластная составляющая, а миелоидная стала основной частью опухолевой популяции при развитии 2-го рецидива (бласты с фенотипом ОЛЛ показаны красным, с фенотипом ОМЛ – фиолетовым, зрелые Т-лимфоциты – синим, остальные клетки – серым)



при остром лейкозе (ОЛ), происходящих из наиболее ранних гемопоэтических предшественников [17, 18]. Первый путь наиболее характерен для случаев ОЛ со смешанным фенотипом (ОЛСФ), в том числе и при исходном доминировании лимфобластной составляющей. Репрограммирование бластов чаще встреча-

Рисунок 4

Механизмы развития рефрактерности и рецидивов при применении блинатумомаба



1. Механизмы развития CD19-положительного рецидива и рефрактерности: **А** – избыточный уровень Т-регуляторных лимфоцитов в CD3+ фракции лимфоцитов [13]; **Б** – недостаточная активация и экспансия CD3+ цитотоксических популяций [14, 15].

2. Механизмы развития CD19-негативного рецидива: **А** – позитивная селекция предсуществующей минорной CD19-негативной субпопуляции бластных клеток; **Б** – синтез дефектного CD19 с потерей целевого эпитопа в результате альтернативного сплайсинга мРНК [11]; **В** – нарушение транспорта CD19 на клеточную поверхность вследствие дефицита CD81 [12].

3. Механизмы развития рецидива по типу миелоидного переключения: **А** – первично смешанные опухоли; рецидивы в результате положительной селекции предсуществующих миелоидных клонов [16]; **Б** – рецидивы, клонально связанные с первичной опухолью, – рецидивы в результате репрограммирования [16, 17].

ется при ОЛ, ассоциированном с перестройками гена *KMT2A*. Данная генетическая aberrация приводит к образованию ОЛ со специфическими биологическими свойствами, имеющего общие черты как с ОЛЛ, так и с ОМЛ [8]. Большинство описанных случаев переключения линий происходили как раз при наличии перестроек региона 11q23. Применение CD19-ориентированных препаратов у этих пациентов становится определенным стимулом для опухолевых клеток к реализации дифференцировки в сторону не только ОЛЛ, но и ОМЛ. Интересно отметить, что в нашем исследовании два пациента с переключением линий ОЛ продемонстрировали оба возможных пути такого изменения иммунофенотипа.

Снижение экспрессии CD19 вплоть до полной потери данного антигена также существенно осложняет мониторинг МОБ при ВП-ОЛЛ методом проточной цитометрии. Выявление опухолевых бластов у таких пациентов обычно начинается с выделения всех CD19-положительных клеток с последующим анализом их иммунофенотипа [6, 7]. При появлении CD19-негативных бластов они не попадают в исходно выделенные В-клетки, что приводит к ложноотрицательным результатам [5]. Поскольку результаты определения МОБ являются как одним из главных показателей к назначению анти-CD19 терапии, так и основным методом контроля эффективности применения блинатумомаба, точность и воспроизводимость иммунофенотипирования крайне важны. *S. Cherian, et al.* предложили расширить панель антител для мониторинга МОБ путем добавления маркеров CD22 и CD24, что позволило точнее выделять все В-клетки, включая CD19-негативные бласты [5]. Однако такой подход нельзя признать универсальным. При ВП-ОЛЛ, ассоциированном с перестройками гена *KMT2A*, экспрессия обоих антигенов часто существенно снижена [19]. В то же время при ОЛЛ с *KMT2A*-перестройками блинатумомаб применяется достаточно часто, поскольку данная генетическая aberrация ассоциирована с высоким риском рецидива и рефрактерности к противоопухолевой терапии [9]. В целом снижение экспрессии CD19 под действием блинатумомаба определяет необходимость применения для мониторинга МОБ широкой панели антител в 10–12-цветных комбинациях.

ВЫВОДЫ

Снижение экспрессии CD19 на опухолевых клетках – одна из основных причин неудач CD19-направленной терапии. Изменения экспрессии CD19 могут быть обратимыми: CD19-негативная МОБ не всегда ассоциирована с отсутствием CD19 на опухолевых клетках при последующем рецидиве. Переключение линий и развитие ОМЛ в результате CD19-направлен-

ной терапии могут происходить различными путями в зависимости от биологических свойств опухоли. Снижение экспрессии CD19 приводит к необходимости использования для мониторинга МОБ 10–12-цветной проточной цитометрии с расширенной панелью моноклональных антител к различным В-линейным и опухолево-ассоциированным антигенам.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Не указан.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ORCID

Е.В. Глуханюк <http://orcid.org/0000-0003-2921-9770>

Н.В. Мякова <http://orcid.org/0000-0002-4779-1896>

А.А. Масчан <http://orcid.org/0000-0002-0016-6698>

А.М. Попов <http://orcid.org/0000-0002-0889-6986>

Литература

- Zugmaier G., Klinger M., Schmidt M., Subklewe M. Клинический обзор анти-CD19 BiTE® и ex vivo данных об анти-CD33 BiTE® в качестве примеров ретаргетирования Т-клеток при гематологических опухолях. 2016; 67: 58–66.
- Kantarjian H.M., Stein A.S., Bargaou R.C., et al. Blinatumomab Treatment of Older Adults With Relapsed/Refractory B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: Results From 2 Phase 2 Studies. *Cancer* 2016; 122 (14): 2178–85.
- Stackelberg A. Von., Locatelli F., Zugmaier G., et al. Phase I/Phase II Study of Blinatumomab in Pediatric Patients With Relapsed/Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Oncol* 2016; 34 (36): 4381–9.
- Ruella M., Maus M.V. Catch me if you can: Leukemia Escape after CD19-Directed T Cell Immunotherapies. *Comput Struct Biotechnol J* 2016; 14: 357–62.
- Cherian S., Miller V., McCullouch V., Fromm J.R., et al. A novel flow cytometric assay for detection of residual disease in patients with B-lymphoblastic leukemia/lymphoma post anti-CD19 therapy. *Cytom Part B Clin Cytom* 2016.
- Попов А.М., Белевцев М.В., Боякова Е.В., Вержбицкая Т.Ю., Мовчан Л.В., Фадеева М.С. Стандартизация определения минимальной остаточной болезни методом проточной цитометрии у детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом. Опыт работы российско-белорусской кооперативной группы. *Онкогематология* 2016; 11: 64–73.
- Dworzak M.N., Gaipa G., Ratei R., et al. Standardization of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Evaluation in Acute Lymphoblastic Leukemia: Multicentric Assessment Is Feasible. *Cytom Part B (Clinical Cytom)* 2008; 340: 331–40.
- Haddox C.L., Mangaonkar A.A., Chen D., Shi M., He R. Blinatumomab-induced lineage switch of B-ALL with t(4; 11) (q21; q23) KMT2A/AFF1 into an aggressive AML: pre- and post-switch phenotypic, cytogenetic and molecular analysis. *Blood Cancer J* 2017.
- Winters A.C., Bernt K.M. MLL-Rearranged Leukemias – An Update on Science and Clinical Approaches. *Front Pediatr* 2017; 5: 11–3.
- Weiland J., Pal D., Case M., et al. BCP-ALL blasts are not dependent on CD19 expression for leukaemic maintenance. *Leukemia* 2016; 30 (9): 1920–3.
- Fischer J., Paret C., Malki E., et al. CD19 Isoforms Enabling Resistance to CART-19 Immunotherapy Are Expressed in B-ALL Patients at Initial Diagnosis 2017; 40 (5): 187–95.
- Braig F., Brandt A., Goebeler M., et al. Resistance to anti-CD19/CD3 BiTE in acute lymphoblastic leukemia may be mediated by disrupted CD19 membrane trafficking. *Blood* 2016.
- Duell J., Dittrich M., Bedke T., et al. Frequency of regulatory T cells determines the outcome of the T-cell-engaging antibody blinatumomab in patients with B-precursor ALL. *Leukemia* 2017; (September 2016): 1–10.
- Nägele V., Kratzer A., Zugmaier G., et al. Changes in clinical laboratory parameters and pharmacodynamic markers in response to blinatumomab treatment of patients with relapsed/refractory ALL. *Exp Hematol Oncol* 2017; 6 (1): 14.
- Zugmaier G., Gukbuget N., Klinger M., et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood* 2015; 126 (24): 2578–84.
- Rayes A., Mcmasters R.L., O'Brien M.M. Lineage Switch in MLL-Rearranged Infant Leukemia Following CD19-Directed Therapy. *Pediatr Blood Cancer* 2016; 63 (6): 1113–5.
- Gardner R., Wu D., Cherian S., et al. Acquisition of a CD19-negative myeloid phenotype allows immune escape of MLL-rearranged B-ALL from CD19 CAR-T-cell therapy. *Blood* 2016; 127 (20): 2406–10.
- Jacoby E., Nguyen S.M., Fountaine T.J., et al. CD19 CAR immune pressure induces B-precursor acute lymphoblastic leukaemia lineage switch exposing inherent leukaemic plasticity. *Nat Commun* 2016; 7: 12320.
- De Zen L., Bicciato S., Kronnie G., Basso G. Computational analysis of flow-cytometry antigen expression profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia: an MLL/AF4 identification 2003; (October 2002): 1557–65.