

Myeloproliferative Neoplasien

# Klinische Relevanz neuer Mutationen

Unter den myeloischen Neoplasien wird eine Reihe von chronischen Erkrankungen der myeloischen Reihe zusammengefasst, deren Definition nach klinischen, morphologischen und molekularen Merkmalen in der aktuellen Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation festgelegt wurde. Ähnlich komplex wie das klinische Bild der myeloproliferativen Erkrankungen sind auch die genetischen Veränderungen. So wurden in den letzten Jahren weitere genetische Marker entdeckt, die mitunter deutlich spezifischer für eine bestimmte myeloproliferative Neoplasie sein können und somit klinische Relevanz erlangen könnten.



Parmi les néoplasmes myéloïdes, un certain nombre de maladies chroniques de la série myéloïde dont la définition a été établie par des caractéristiques cliniques, morphologiques et moléculaires se trouve dans la classification actuelle de l'Organisation mondiale de la Santé. Aussi complexe que la présentation clinique des néoplasmes myéloprolifératifs sont les modifications génétiques. Ainsi, ces dernières années d'autres marqueurs génétiques ont été découverts qui peuvent parfois être plus spécifique pour un certain néoplasme myéloprolifératif et qui pourraient gagner en pertinence clinique.

In der neuesten Ausgabe der WHO (World Health Organization)-Klassifikation von 2008 umfasst die Gruppe der Myeloproliferativen Neoplasien (MPN) 8 klinisch-pathologische Entitäten: Chronische Myeloische Leukämie (CML), Polycythämia vera (PV), Essentielle Thrombozytose (ET), primäre Myelofibrose (PMF), chronische Neutrophile Leukämie, chronische Eosinophile Leukämie nicht anderweitig spezifiziert, Mastozytose und MPN nicht klassifizierbar [1]. 1951 wurden die ersten 4 Entitäten von William Damashek erstmals als ‚myeloproliferative disorders‘ zusammengefasst [2] und werden deshalb auch als klassische MPN bezeichnet. Da die CML immer mit einer BCR-ABL1 Mutation assoziiert ist, werden vor allem die PV, ET und PMF immer wieder als „BCR-ABL negative MPN“ bezeichnet.

Heute gilt das Konzept eines abnormen Klons aus welchem je nach weiteren Mutationen spezifische Subklone entstehen. Neuerdings wird die Möglichkeit mehrerer unabhängig voneinander entstehender abnormer Klone diskutiert.

In den vergangenen Jahren wurden in chronischer oder blastärer Phase von MPN's verschiedene Mutationen beschrieben; dazu gehören Janus kinase 2 (JAK2), myeloproliferative leukemia virus (MPL), TET oncogene family member 2 (TET2), Additional Sex Combs like 1 (ASXL1), Casitas B-lineage lymphoma proto-oncogene (CBL), Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1, IDH2), IKAROS family zinc finger 1 (IKZF1), LNK und EZH2.



Dr. med. Thomas Lehmann  
St. Gallen

## JAK2 Mutation

JAK2 ist auf dem langen Arm des Chromosoms 9 lokalisiert (9p24) und besteht aus 25 Exons. Der JAK-STAT Signalübertragungsweg ist entscheidend für ein weites Spektrum zellulärer Prozesse, wie Proliferation, Überleben und Funktion der normalen Hämatopoiese. JAK2V617F wurde 2005 in MPN erstbeschrieben [3, 4]. Die Mutation resultiert aus einem Tausch von G zu T im Exon 14, was eine Nukleotidwechsel an Position 1849 und einen Ersatz von Valine durch Phenylalanin an Codon 617 bewirkt. In ET ist eine JAK2V617F Homozygotie sehr selten, bei PV wird dies hingegen häufig beobachtet. Dies wird mit der Möglichkeit einer mitotischen Rekombination erklärt, welche durch eine genetische Instabilität bei vorliegender JAK2V617F Mutation erleichtert wird [5]. In Mastransplantationsmodellen bewirkt die JAK2V617F Mutation einen PV ähnlichen Phänotyp; ET und PMF simulierende Erkrankungen können durch Manipulation der JAK2V617F Allelfrequenz induziert werden [6].

Nach heutigen Erkenntnissen scheint die JAK2V617F Mutation nicht das krankheitsinizzierende Ereignis zu sein. Es ist mit einer Prävalenz von ca. 95% bei PV, 50% bei ET und 60% bei PMF bei weitem die häufigste Mutation in BCR-ABL negativen MPN. Man findet sie aber auch bei ca. 50% der refraktären Anämien mit Ringsideroblasten und Thrombozytose (RARS-T) sowie selten in akuter Leukämie, Myelodysplastischem Syndrom oder CML. JAK2V617F positive MPN wurden assoziiert mit höherem Alter bei Diagnose, höherem Hämoglobinlevel (ET und PMF), Leukozytose (ET und PMF) und tieferer Thrombozytenzahl (ET) [7]. Bei leukämischer Transformation kann die JAK2V617F Mutation nicht mehr nachweisbar werden.

JAK2 Exon 12 Mutationen wurden erstmals 2007 beschrieben [8]. Mittlerweile sind über 10 verschiedene Mutationen beschrieben, die häufigste ist N542-E543del. JAK2 Exon 12 positive PV sind häufig heterozygot für die Mutation, sind charakterisiert durch prädominante Erythrozytose und jüngeres Alter bei Diagnose; der klinische Verlauf unterscheidet sich jedoch nicht von Patienten mit JAK2V617F positiver PV [9].

## MPL Mutation

MPL ist auf dem Chromosom 1p34 lokalisiert, kodiert für den Thrombopoietinrezeptor und ist der Schlüsselfaktor für Wachstum und Überleben der Megakaryozyten. Somatische MPL Mutationen sind selten und finden sich praktisch ausschliesslich in Patien-

ten mit ET oder PMF, wobei einige Fälle auch bei akuter Megakaryozytenleukämie beschrieben wurden. MPLW515L resultiert aus einem Austausch von G zu T im Exon 10 woraus eine Substitution von Tryptophan durch Leucin im Codon 515 resultiert. Diese Mutation wurde 2006 in Patienten mit JAK2V617F negativer PMF erstbeschrieben [10]. Inzwischen sind bei Patienten mit ET und PMF verschiedene MPL Mutationen im Exon 10 beschrieben. Alle bewirken eine konstitutive JAK-STAT Aktivierung. Sie können bei ca. 3% der Patienten mit ET beziehungsweise 10% mit PMF nachgewiesen werden. MPL positive ET wurde assoziiert mit höherem Alter, tieferem Hb, höherer Thrombozytenzahl, mikrovaskulären Symptomen, höherem Risiko für arterielle Thrombosen nach Diagnose. Einen Effekt auf das Überleben oder leukämische Transformation konnte jedoch nicht gezeigt werden [11].

**TET2 Mutation**

TET2 ist eines von drei homologen Proteinen, die wahrscheinlich epigenetisch an der Regulierung der Transkription beteiligt sind. Die Lokalisation ist auf dem Chromosom 4q24, ein breakpoint, der auch in anderen AML assoziierten Translokationen involviert ist. TET2 Mutationen wurden erstmals 2008 beschrieben, finden sich verstreut über die 12 Exons und sowohl in JAK2V617F positiven (ca.17%) wie auch negativen (ca. 7%) Patienten. Bei PV Patienten findet man die Mutation in ca. 16%, ET 5%, PMF 17% sowie bei 17% der MPN in blastärer Phase [12]. TET2 Mutationen können einer JAK2 V617F Akquisition vorangehen oder folgen. Die Präsenz einer TET2 Mutation scheint keinen Einfluss auf das Überleben, leukämische Transformation, oder Thromboserisiko in Patienten mit PV oder PMF zu haben.

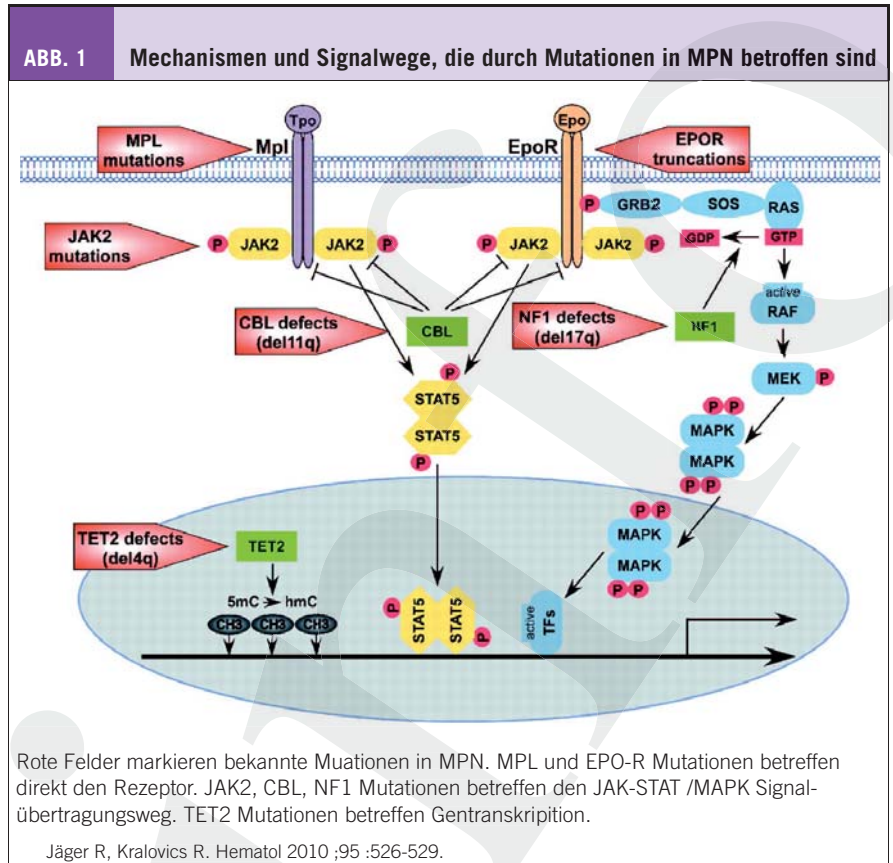
**ASXL1 Mutationen**

ASXL1 findet sich auf dem Chromosom 20q11, besteht aus 12 oder 13 Exons und wird in den meisten Hämatopoietischen Zellen exprimiert. In einer Studie mit 64 MPN Patienten fand sich eine heterozygote ASXL1 Mutation in ca. 8% [13]. Bei 63 Patienten mit leukämischer Transformation nach MPN wurde in 19% eine ASXL1 Mutation nachgewiesen, dabei fand sich bei einigen eine Koexistenz mit JAK2 oder TET2 [14].

Für Aussagen bezüglich des klinischen Impacts ist es noch zu früh.

**IDH Mutationen**

IDH1 ist auf dem Chromosom 2q33 lokalisiert und besteht aus 10 Exons; IDH2 auf dem Chromosom 15q26 und besteht aus 11 Exons. IDH Mutationen sind heterozygot und betreffen 3 spezifische Arginin-Stellen:



R132 (IDH1), R172 (IDH2), R140 (IDH2). Diese Mutationen wurden vor allem in post-MPN AML beschrieben. In einer Studie bei Patienten mit AML nach MPN fanden sich bei 5 von 63 Patienten (ca. 8%) eine IDH1 Mutation [14]. A. Green zeigte in einer Studie bei JAK2 positiven MPN mit leukämischer Transformation in 5 von 16 (31%) Patienten eine IDH Mutation, jedoch bei keinem von 180 Patienten mit PV oder ET [15]. Die bisherigen Daten legen nahe, dass IDH Mutationen relativ häufig bei MPN in blastärer Phase jedoch selten bei PMF in chronischer Phase und sehr selten in PV

TAB. 1 Neue Mutationen bei myeloproliferativen Neoplasien [2]			
Mutation	Lokalisation	Mutations Frequenz	Pathogenetische Relevanz
JAK2V617F	9p24	PV 96% ET 50% PMF 65%	Myeloproliferation
JAK2 Exon 12	9p24	PV3%	Erythroide Proliferation
MPL Exon 10 Myeloproliferative Leukemia virus oncogene	1p34	PV ? ET 3% PMF 10%	Megakaryocytaire Proliferation
TET2 TET oncogene family member 2	4q24	PV 16% ET 5% PMF 17%	Epigenetische Modulation der Transkription
ASXL1 Exon 12 Additional Sex Combs-like1	20q11.1	PV, ET, PMF ? Leukäm. Transf. 19%	Beteiligt an Regulation der Transkription
IDH1/IDH2 Exon4 Isocitrat Dehydrogenase	2q33.3/15q26.1	PV, ET? PMF 4% Leukäm. Transf. 20%	Akkumulation 2-hydroxyglutarat, mögliches Onkoprotein
IKZF1 IKAROS family zink finger 1	7p12	PV, ET, PMF ? Leukäm. Transf. 19%	Stört Tumor-Suppressor Aktivität des Wild-Typ Proteins

(2%) oder ET (1%) auftreten. Sie können in An- oder Abwesenheit einer JAK2, MPL oder TET2 Mutation auftreten.

### IKZF1 Mutation

IKAROS Familie Zink Finger 1 ist lokalisiert auf dem Chromosom 7p12, kodiert für IKAROS Transkriptionsfaktoren, welche entscheidend in der Differenzierung der Lymphozyten sind. IKZF1 Mutationen und Überexpressionen werden häufig in ALL gefunden. Eine 2009 am ASH gezeigte Studie zeigte bei Patienten mit leukämischer Transformation einer MPN eine IKZF Deletion in 19% [16].

Entgegen der CML zeigen sich die pathogenetischen Mechanismen in den BCR-ABL negativen MPN je länger je komplexer. Die Anzahl nachgewiesener verschiedener Mutationen nimmt laufend zu, ihre spezifische pathogenetische Relevanz ist jedoch häufig noch nicht klar. Einen Überblick über die betroffenen Mechanismen und Signalübertragungswege durch einige bekannte Mutationen zeigt Abbildung 1. Aufgrund der Annahme einer zentralen Rolle des JAK-STAT Signalweges wurden JAK-Inhibitoren entwickelt und werden aktuell in Studien geprüft bzw. sind wie beispielsweise Ruxolitinib (INCB018424) auf dem Weg in die Klinik.

#### Dr. med. Thomas Lehmann

Klinik für Hämatologie, Universitätsspital Basel  
Zentrum für Labormedizin, Frobergstrasse 4, 9001 St. Gallen  
tlehmann@uhbs.ch

#### Dr. med. Nathan Cantoni

Klinik für Hämatologie, Medizinische Universitätsklinik  
Kantonsspital Aarau, Tellstrasse 15, 5001 Aarau

#### Prof. Dr. med. Jakob R. Passweg

Klinik für Hämatologie, Universitätsspital Basel  
Petersgraben 4, 4031 Basel

#### Take-Home Message

- ◆ In der neuesten Klassifikation der WHO umfasst die Gruppe der Myeloproliferativen Neoplasien 8 klinisch-pathologische Entitäten
- ◆ Zu den zahlreichen neuen genetischen Mutationen gehören JAK2, MPL, TET2, ASXL1, IDH1/IDH2 und IKZF1
- ◆ Sie haben pathogenetische Relevanz. Für Aussagen bezüglich der klinischen Relevanz ist es noch zu früh

#### Message à retenir

- ◆ Dans la plus récente classification de l'OMS, le groupe des néoplasmes myéloprolifératifs inclut huit entités clinico-pathologiques
- ◆ Les nombreuses nouvelles mutations génétiques comprennent JAK2, MPL, TET2, ASXL1, IDH1/IDH2 et IKZF1
- ◆ Elles ont une pertinence pathogénique. Pour des conclusions concernant la pertinence clinique, il est encore trop tôt

#### Literatur:

1. Vardiman JW et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114:937-951.
2. Tefferi A. The history of myeloproliferative disorders: before and after Damashek. *Leukemia* 2008; 22:2-13.
3. James C et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434:1144-1148.
4. Kralovics R et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
5. Plo I et al. JAK2 stimulates homologous recombination and genetic instability: potential implication in the heterogeneity of myeloproliferative disorders. *Blood* 2008;112:1402-1412.
6. Tiedt R et al. Ratio of mutant JAK2V617F to wild-type JAK2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice. *Blood* 2008;111:3931-3940.
7. Vannucchi AM et al. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal. *Leukemia* 2008;22:1299-1307.
8. Scott LM et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007;356:459-468.
9. Passamonti et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasms associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* 2011;117(10):2813-2816.
10. Pikman Y et al. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3:e270.
11. Beer PA et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008;112:141-149.
12. Tefferi A et al. TET2 mutations and their clinical correlates in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Leukemia* 2009;23:905-911.
13. Carbuccia N et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2009;23:2183-2186.
14. Abdel-Wahab O et al. Genetic analysis of transforming events that convert chronic myeloproliferative neoplasms to leukemias. *Cancer Res* 2010;70:447-452.
15. Green A et al. Somatic mutations of IDH1 and IDH2 in the leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2010;362:369-370.
16. Jager R et al. Deletions of the Transcription Factor Ikaros in Myeloproliferative Neoplasms at Transformation to Acute Myeloid Leukemia. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2009;114:435.