

Année académique 2016 - 2017

FORMATIONS CONTINUES EN HEMATOLOGIE CLINIQUE

PRÉDISPOSITIONS HÉRÉDITAIRES AUX SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES ET LEUCÉMIES AIGUES MYÉLOBLASTIQUES

Dr Frédéric LAMBERT

Génétique moléculaire hémato-oncologique

Unilab Lg - LIEGE

frederic.lambert@chu.ulg.ac.be

OBJECTIFS ÉDUCATIONNELS

- 1. Eclairage sur une modification de la classification 2016 de l'OMS des tumeurs des tissus hématopoïétique et lymphoïde, partim LMA;**
- 2. Le concept de « prédisposition héréditaire » aux SMD/LMA;**
- 3. Apports des nouvelles technologies dans le diagnostic des syndromes de prédispositions héréditaires aux SMD et LAM;**
- 4. Implications cliniques; diagnostiques et thérapeutiques**

NÉOPLASIES MYÉLOÏDES ET LEUCÉMIES AIGUES :

Révision 2016 classification OMS

From www.bloodjournal.org by Friedel Nollet on July 31, 2016. For personal use only.

Review Series

THE UPDATED WHO CLASSIFICATION OF HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia

Daniel A. Arber,¹ Attilio Orazi,² Robert Hasserjian,³ Jürgen Thiele,⁴ Michael J. Borowitz,⁵ Michelle M. Le Beau,⁶ Clara D. Bloomfield,⁷ Mario Cazzola,⁸ and James W. Vardiman⁹



Myelodysplastic syndromes (MDS)

MDS with single lineage dysplasia

MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)

MDS-RS and single lineage dysplasia

MDS-RS and multilineage dysplasia

MDS with multilineage dysplasia

MDS with excess blasts

MDS with isolated del(5q)

MDS, unclassifiable

Provisional entity: Refractory cytopenia of childhood

Myeloid neoplasms with germ line predisposition

Acute myeloid leukemia (AML) and related neoplasms

AML with recurrent genetic abnormalities

AML with t(8;21)(q22;q22.1);*RUNX1-RUNX1T1*

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22);*CBFB-MYH11*

APL with *PML-RARA*

AML with t(9;11)(p21.3;q23.3);*MLLT3-KMT2A*

AML with t(6;9)(p23;q34.1);*DEK-NUP214*

AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2, MECOM*

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3);*RBM15-MKL1*

Provisional entity: AML with BCR-ABL1

AML with mutated *NPM1*

AML with biallelic mutations of *CEBPA*

Provisional entity: AML with mutated RUNX1

AML with myelodysplasia-related changes

Therapy-related myeloid neoplasms

AML, NOS

AML with minimal differentiation

AML without maturation

AML with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Pure erythroid leukemia

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis

RECLASSIFYING MYELODYSPLASTIC SYNDROMES: WHAT'S WHERE IN THE NEW WHO CLASSIFICATION AND WHY ?

- **Familial myeloid neoplasms**

Individuals with specific familial (constitutional) gene mutations have an increased risk of a variety of hematologic abnormalities, including thrombocytopenia as well as the development of MDS and acute leukemia.^{39,40} The WHO has proposed adding a chapter covering these disorders and their relationship to MDS and acute leukemias. This section will raise awareness of these associations and facilitate the identification of a possible underlying familial nature in patients diagnosed with myeloid neoplasms, thus allowing for the screening and early diagnosis of family members.

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES,

caractéristiques morphologiques sanguines et médullaires

- Signes d'appels: cytopénie(s) périphérique(s) (anémie, thrombopénie, neutropénie),
- **Signe cardinal: dysplasie médullaire entreprenant au moins 10% des cellules d'au moins une lignée myéloïde spécifique (érythroïde, granulocytaire ou mégakaryocytaire),**
- 50% des cas, diagnostic = diagnostic par exclusion,
- Observation et répétition des examens diagnostics (médullogramme) requis quand **critères objectifs** non présents d'emblée.

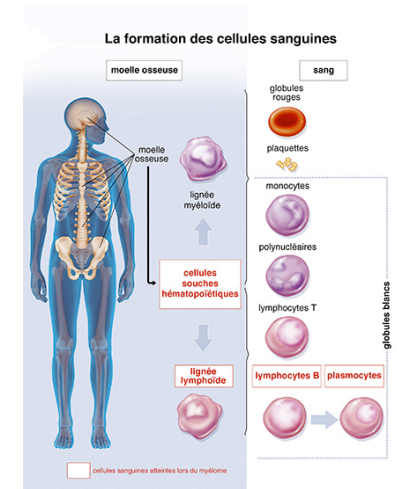
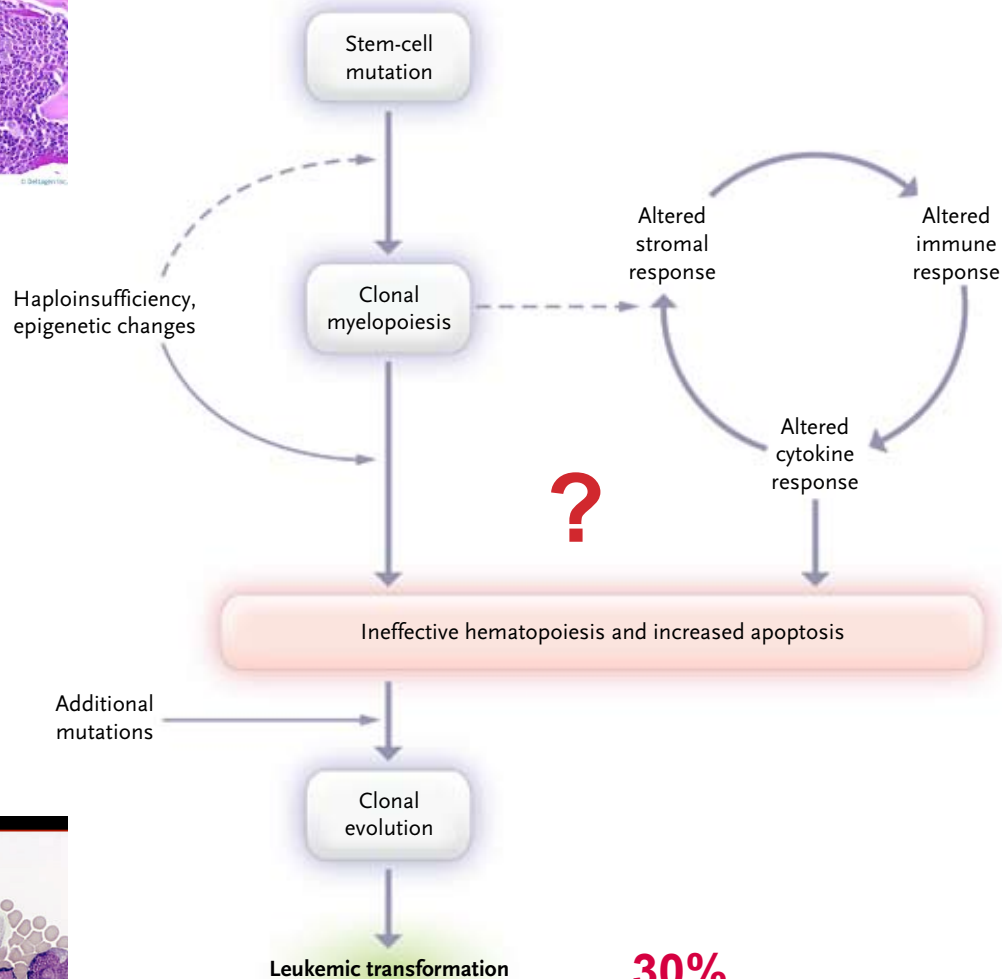
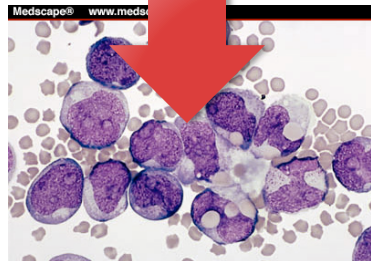
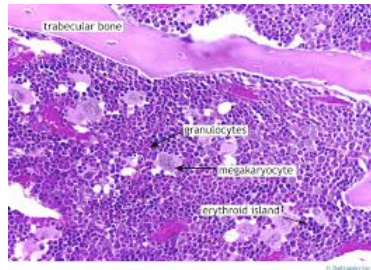
SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES,

étiologies ?

- Age, sénescence...
- Expositions aux toxiques: chimiothérapie, radiations ionisantes, tabac, exposition solvants pesticides
- Risque accru en association avec des « **syndromes génétiques** »
 - Dyskératose congénitales, anémie de Fanconi, neutropénie sévère congénitale, Diamond-Blackfan, Shwachman-Diamond,
- **Prédisposition héréditaire:**
 - « Familial platelet disorder with propensity to AML (FPD)/ AML » associé à des mutations germinales mono-allélique de *RUNX1* (21q22)
 - Nouveaux syndromes...

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES,

modèle physiopathologique

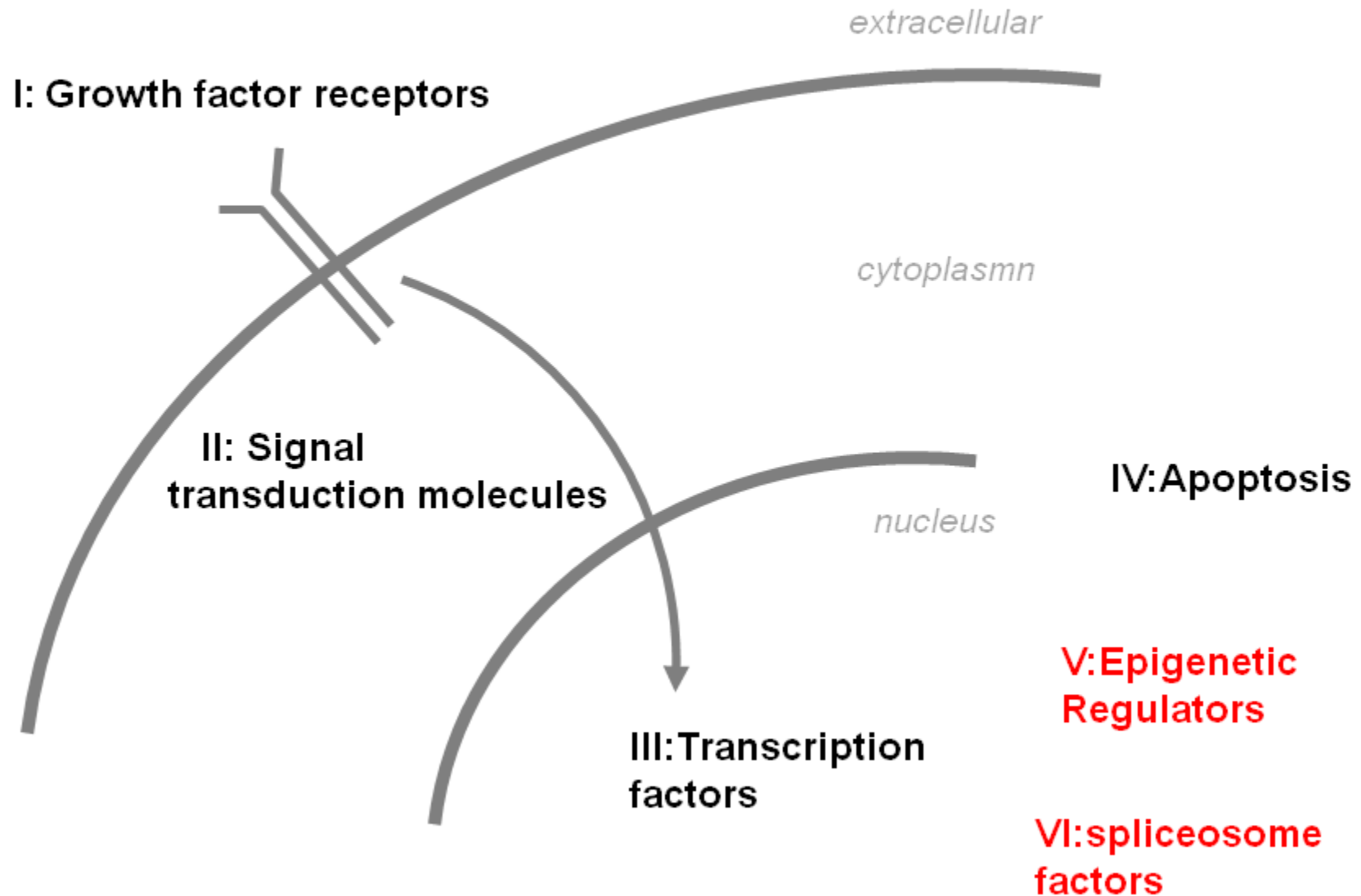


MUTATIONS SOMATIQUES RÉCURRENTES RÉCEMMENT DÉCOUVERTES DANS LES SMD

	Frequency of mutations (%)	Gene function	Prognosis
SF3B1	15-30%	Spliceosome	Favourable?
TET2	15-25%	DNA hydroxymethylation	Neutral
ASXL1	10-20%	Histone modifications	Unfavourable
RUNX1	5-15%	Transcription factor	Unfavourable
TP53	5-10%	Transcription factor	Unfavourable
DNMT3A	5-10%	DNA methylation	Unfavourable?
NRAS, KRAS	5-10%	Signal transduction	Unfavourable (low-risk syndromes)
SRSF2	5-10%	Spliceosome	Unfavourable
U2AF1	5-10%	Spliceosome	Unfavourable (low-risk syndromes)
BCOR-L1	5-6%	Transcription repressor	Unfavourable
ZRSR2	5%	Spliceosome	Neutral?
EZH2	3-7%	Histone modifications	Unfavourable
ETV6	3%	Transcription factor	Unfavourable
JAK2	3-4%	Signal transduction	Favourable?
IDH1, IDH2	4-5%	DNA hydroxymethylation and histone modifications	Unfavourable
UTX	1-2%	Histone modifications	Unfavourable?

Table 1: Recurrent somatic gene mutations in myelodysplastic syndromes

Biological classes of proteins that may be mutated in MDS



Adapted from Joop Jansen

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Des maladies acquises....

Mutations: Somatic

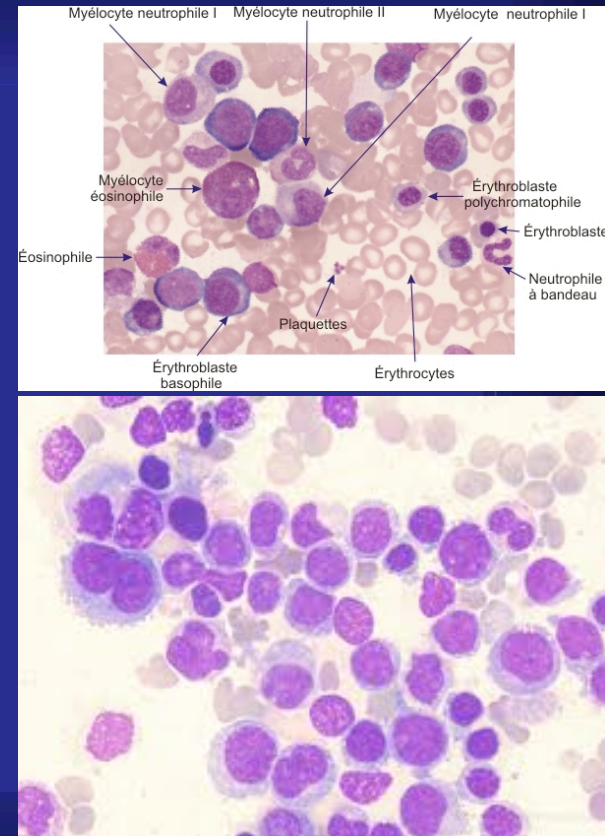
Somatic mutations

- Occur in nongermline tissues
- Are nonheritable



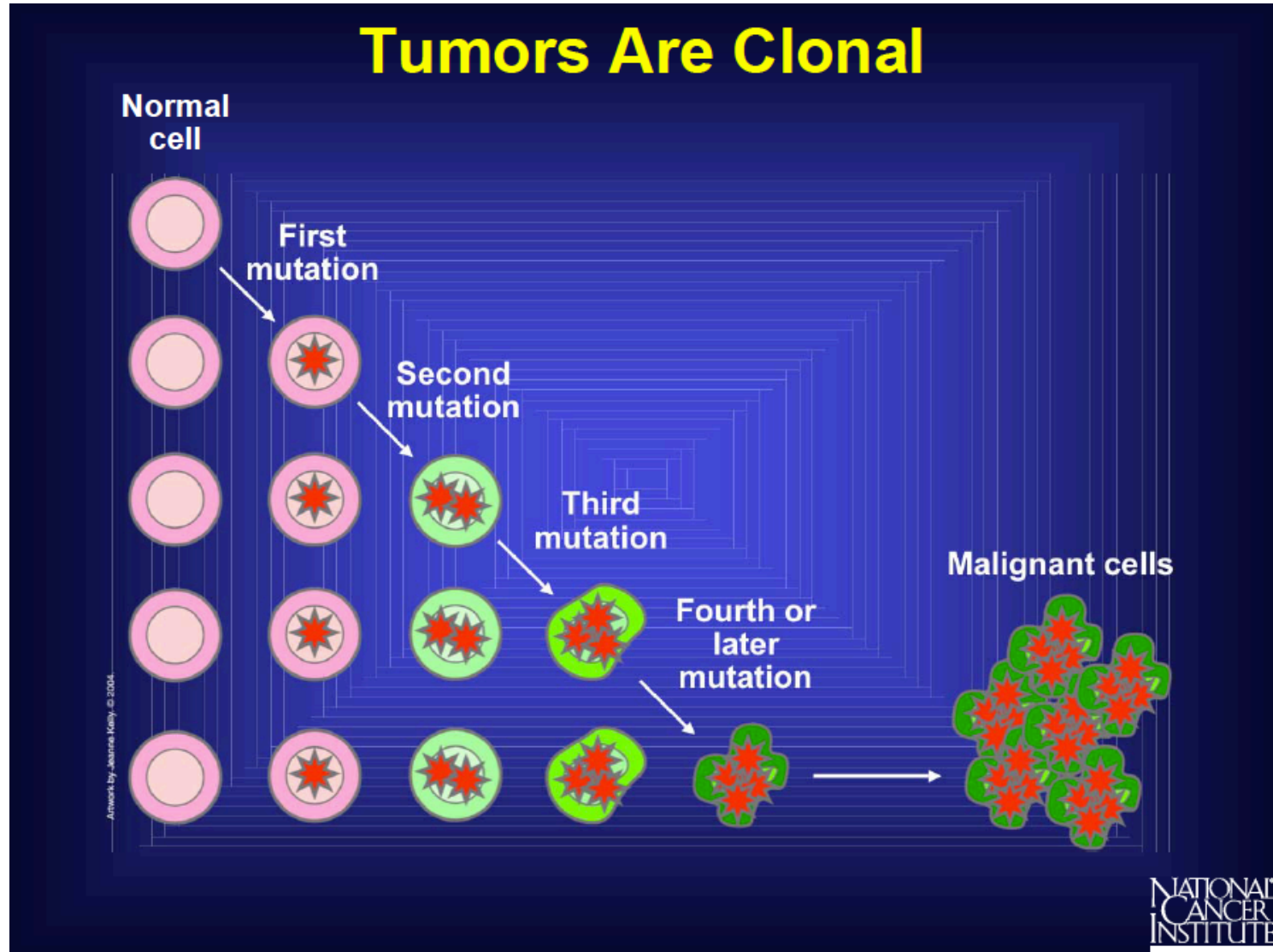
Somatic mutation
(e.g., breast)

➞ Nonheritable

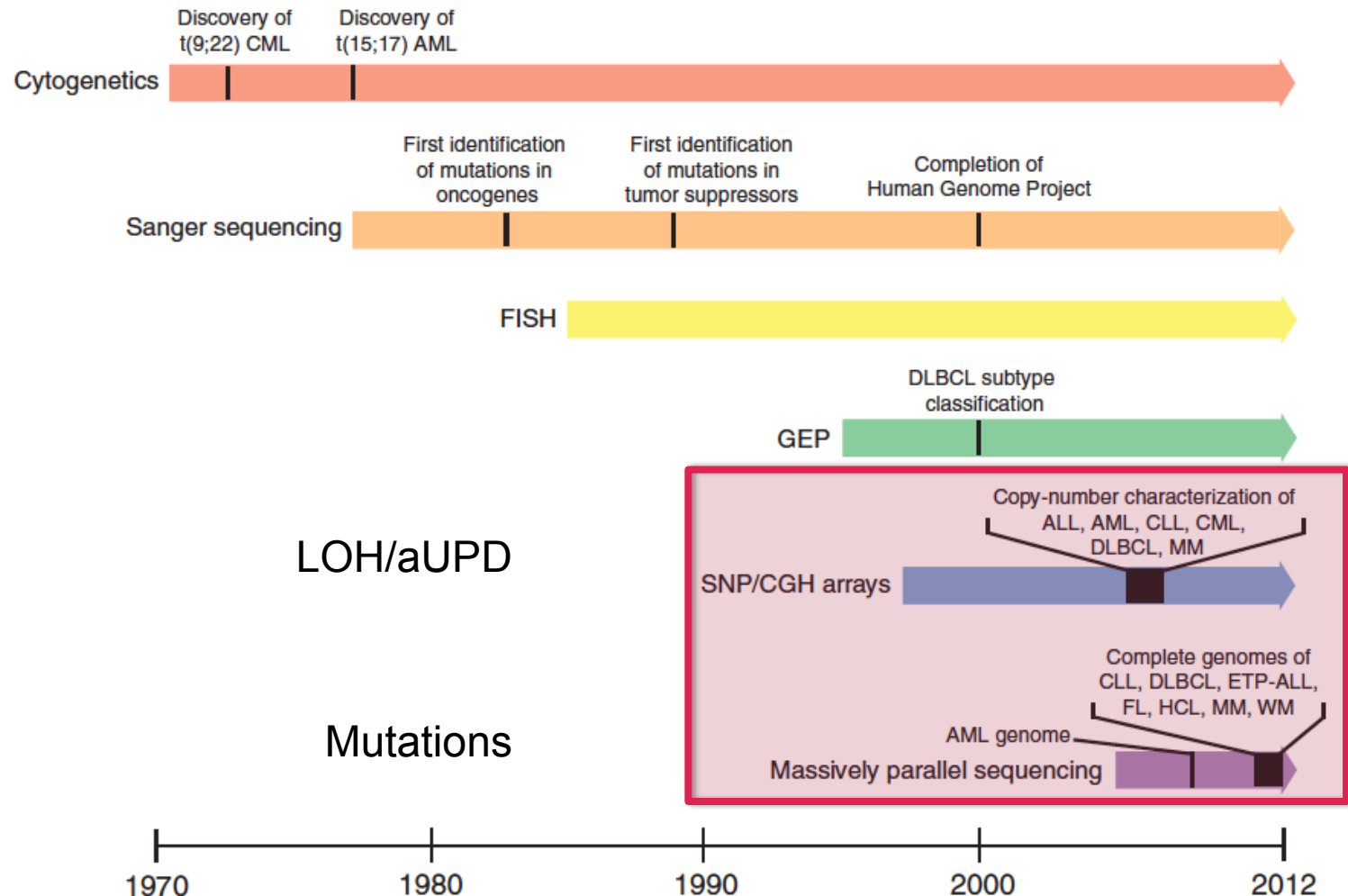


SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Des mutations acquises....



APPORTS DES « NOUVELLES » TECHNOLOGIQUES, hybridation génomique comparative (CGH) et Séquençage massif parallèle (SMP/NGS) ?



SÉQUENÇAGE MASSIF PARALLÈLE, basics

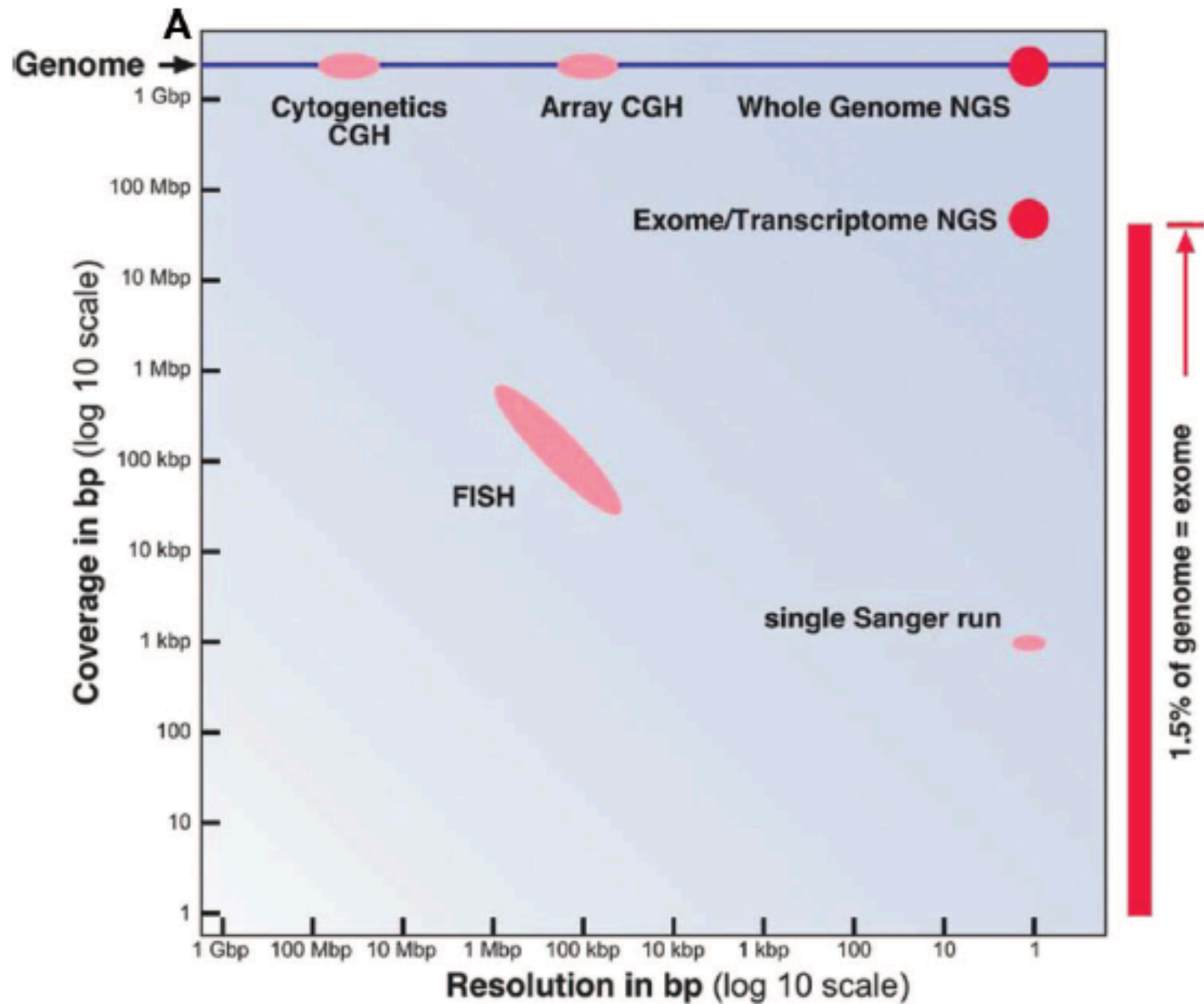


APPLICATIONS OF NEXT-GENERATION SEQUENCING

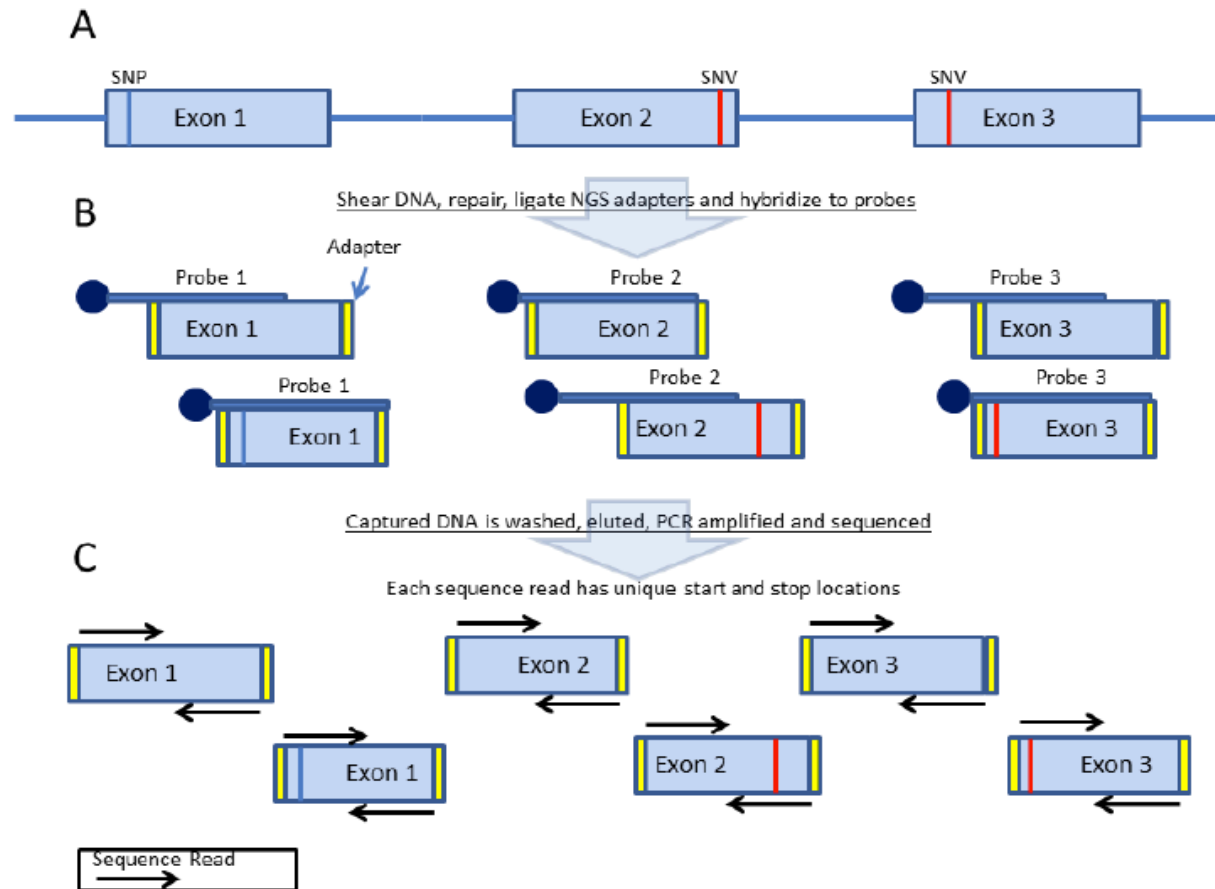
Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing

Matthew Meyerson, Stacey Gabriel and Gad Getz

doi:10.1038/nrg2841

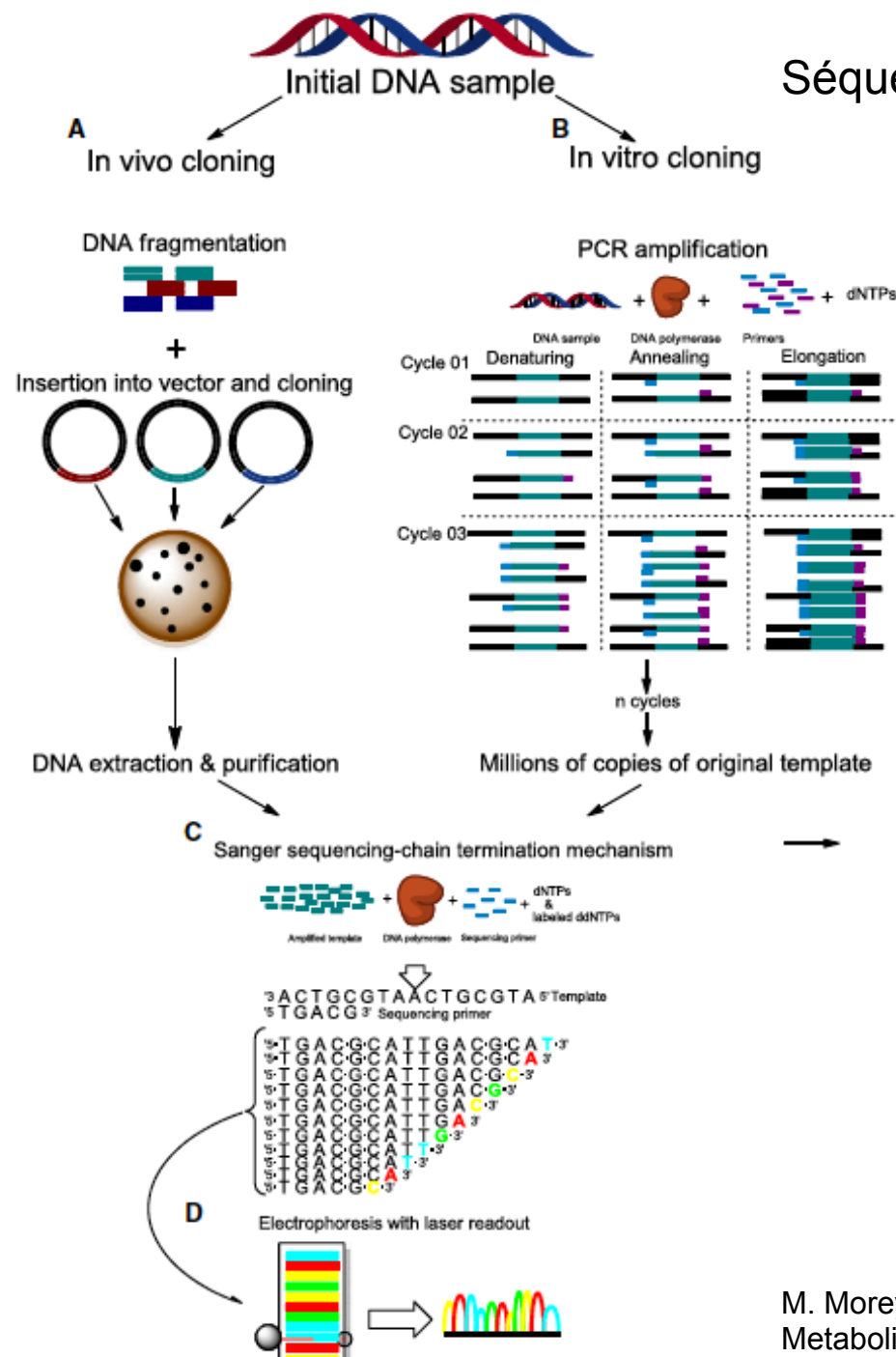


SAMPLE PREPARATION FOR PROBE-BASED TARGET ENRICHMENT



Exemple: Exome, grand panels

Séquençage classique



Clonal array generation

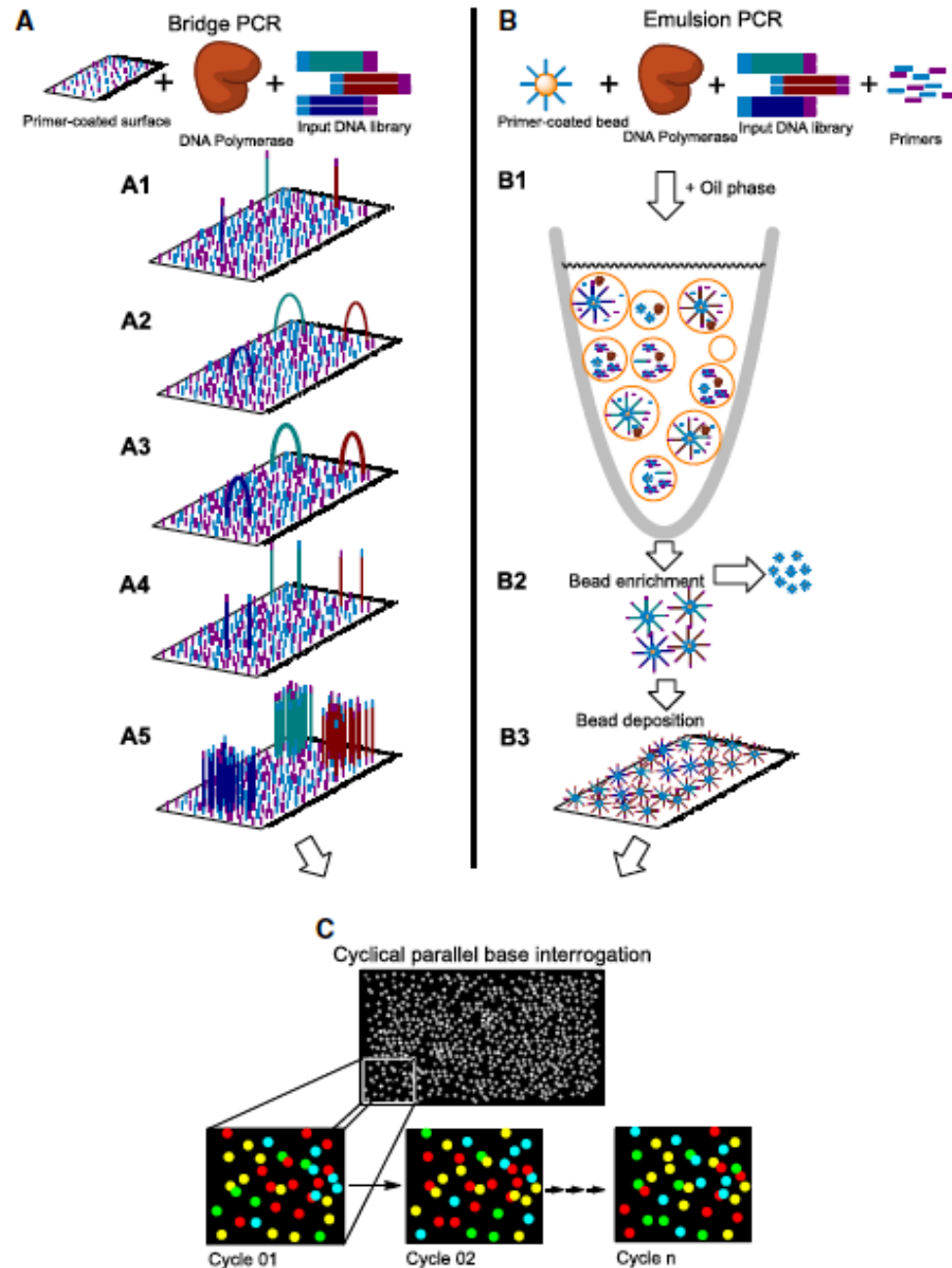


Fig 5. Schema of the current main approaches for clonal array generation.

Séquençage « NGS »

APPORTS DES TECHNIQUES DE SMP

- 1. Séquençage de de grandes quantité de paires de bases nucléotidique -> séquençage génomes complets ou exomes ou panels de multiples patients**
- 2. Détection de tous les types de variations du génome**
- 3. Fusion de plusieurs technologies (caryotypes électroniques / CNV, séquençage Sanger pour mutations, ...)**

SÉQUENÇAGE MASSIF PARALLÈLE (NGS)/ CGH: couverture/cibles

Clinical Utility in Rare Disease Diagnosis

New genes/disease associations; Detects CNVs

New genes/disease associations, significant number of VOUS

Low false negative rate due to complete coverage of coding regions, VOUS in multiple genes

Private mutations missed, cost effective and 70-90% clinical yield for specific diseases

Whole Genome Sequencing



Whole Exome Sequencing



Evidence Based Targeted Gene Panel



Site Specific Hotspot Mutations



Clinical Utility in Cancer Diagnosis

Complete characterization of tumor

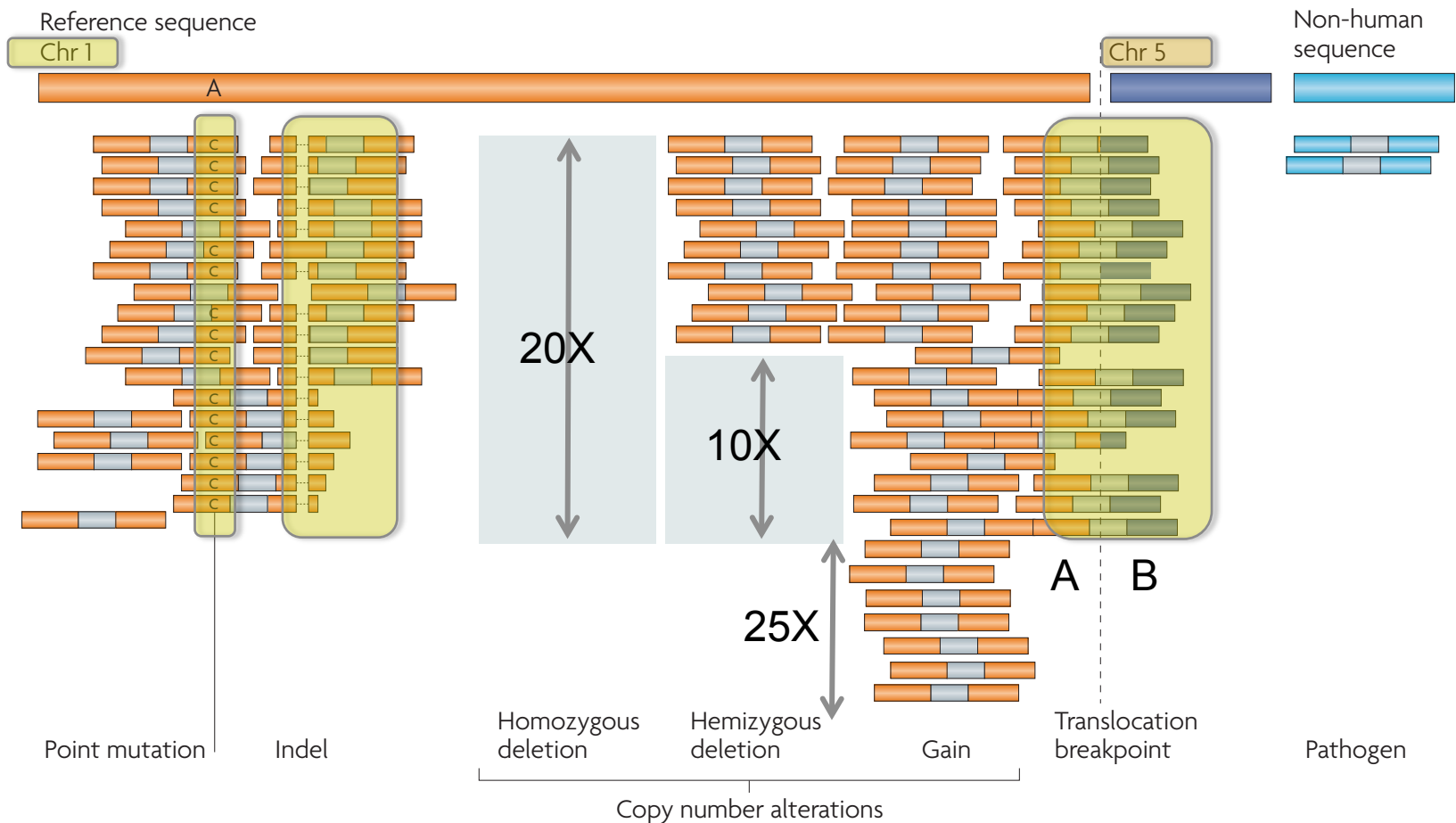
Identifies new cancer genes with therapeutic implications, causative chromosomal rearrangements not detected

Genetic profile useful for therapeutics, driver mutations in non-targeted genes may be missed,

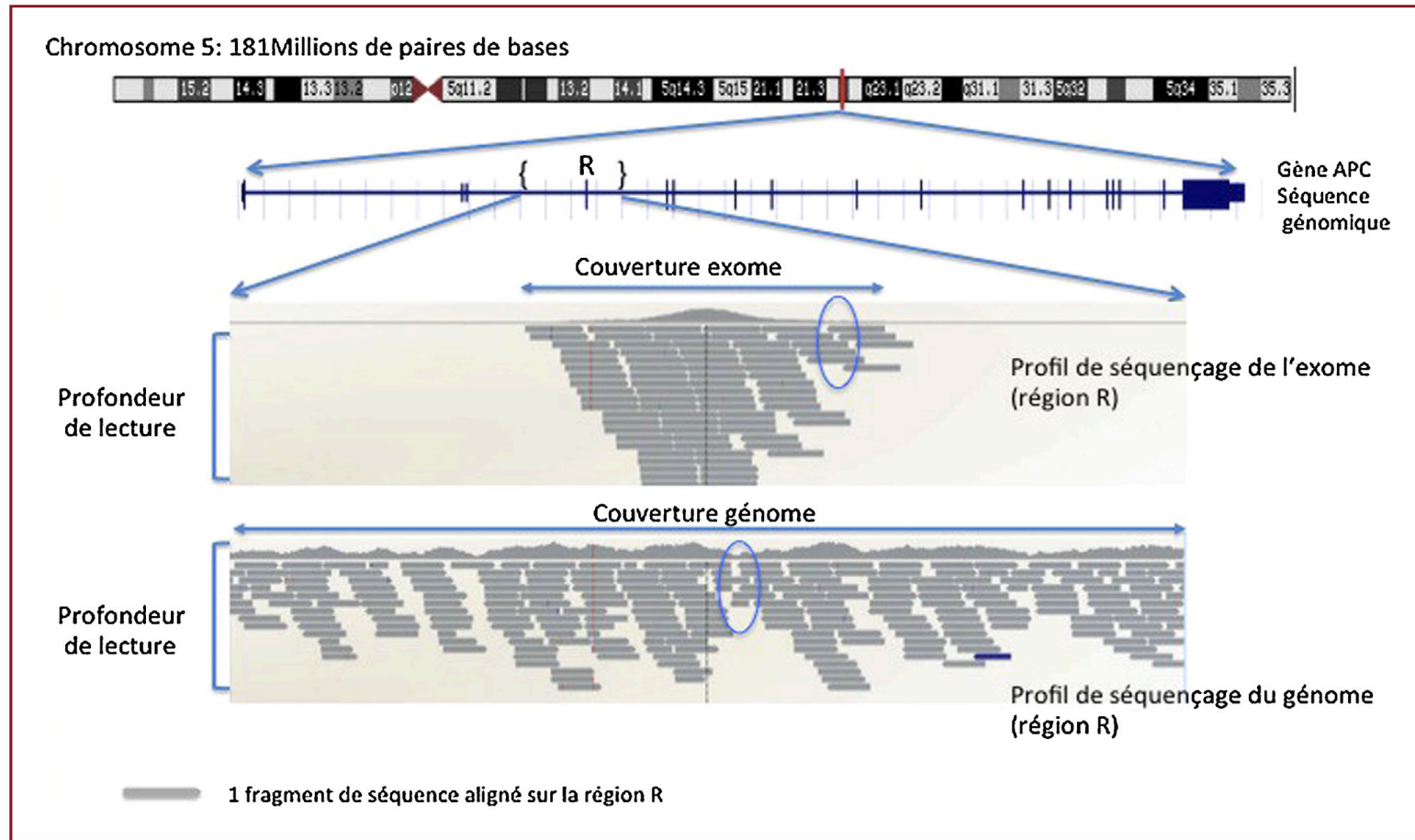
Interrogates only known clinically actionable mutations



SÉQUENÇAGE MASSIF PARALLÈLE (NGS)/ CGH: types de variations acquises détectables

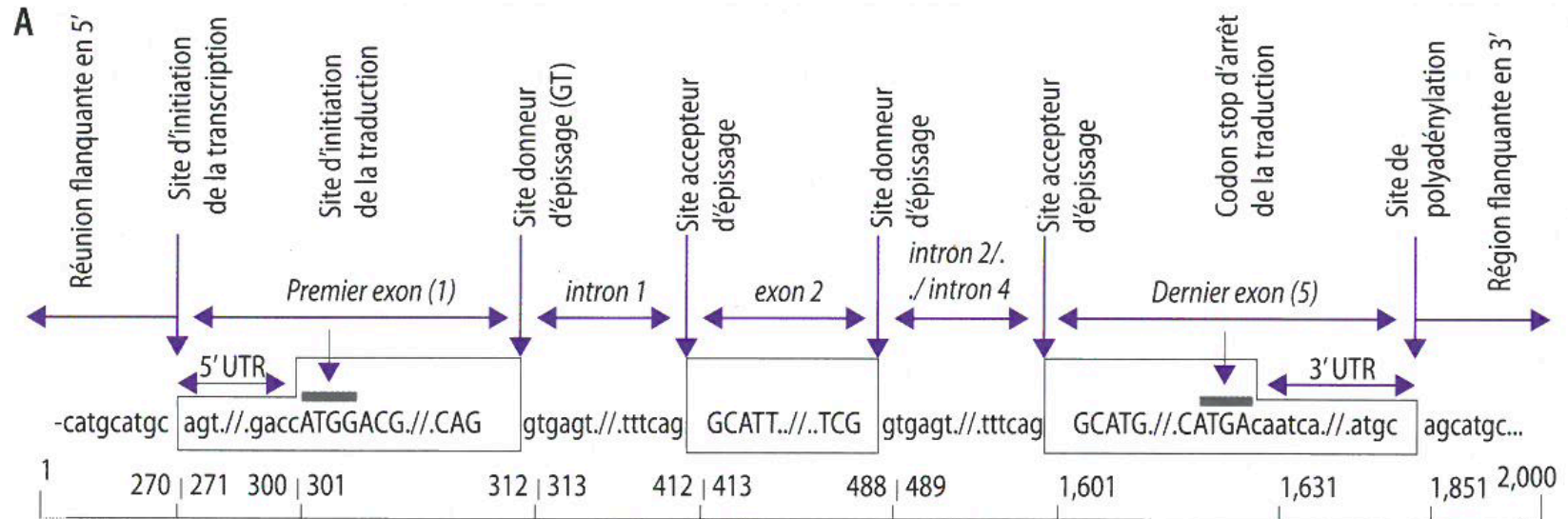


TERMINOLOGIE



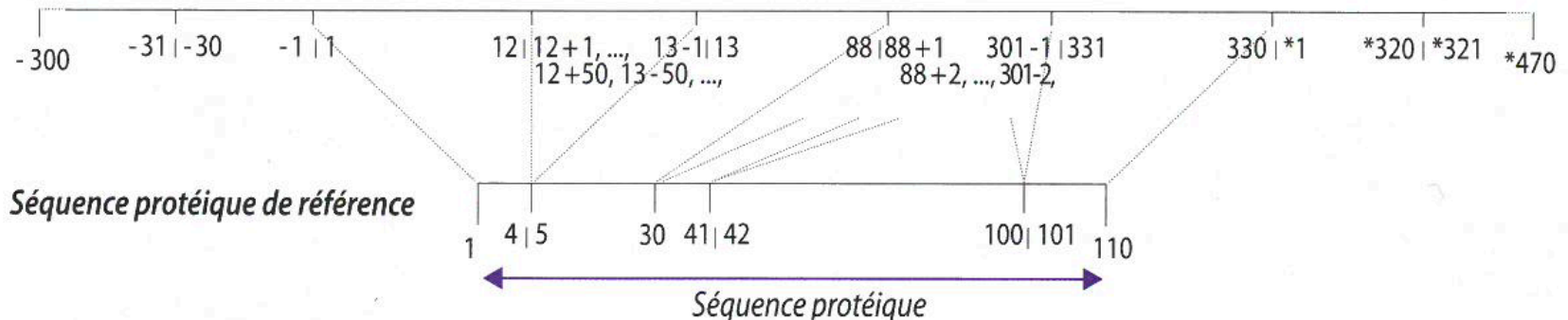
NOMENCLATURE DES VARIATIONS DE SÉQUENCE

F. Escande & E. Rouleau, Correspondances en Onco-Théragnostique; Vol. IV – n°3, 2015

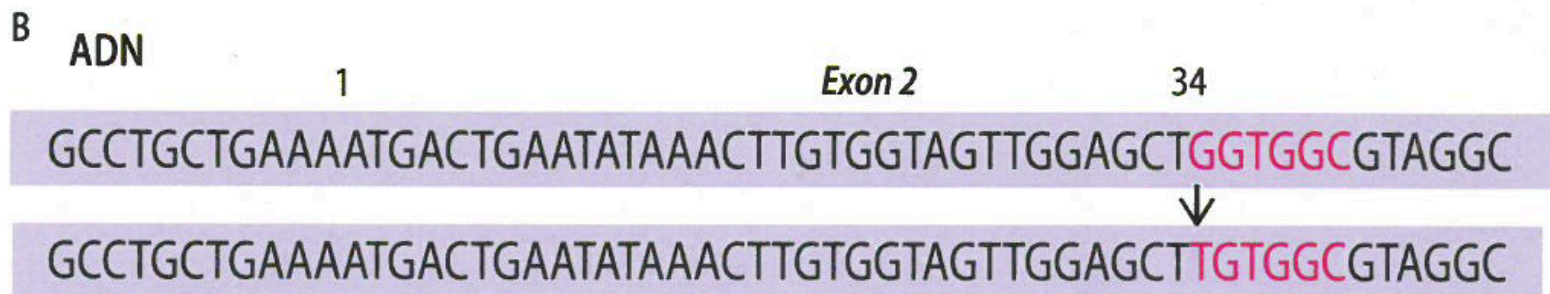


Séquence de référence génomique

Séquence codante de l'ADN de référence



NOMENCLATURE HGVS DES VARIATIONS DE SÉQUENCE



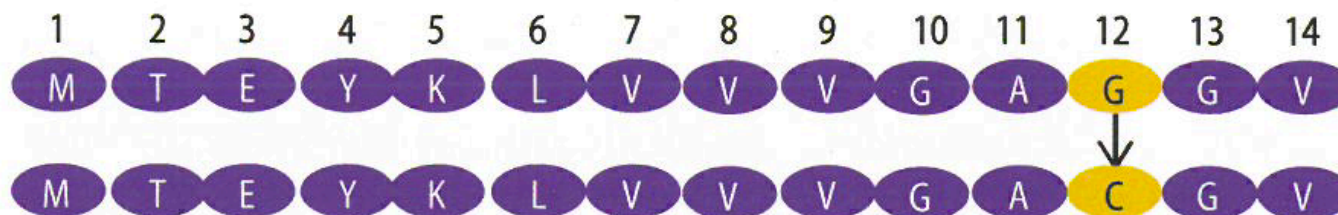
KRAS : NM_004985.4: c.34G>T

G donne T en position 34

Chr12(GRCh37):g.25398285G>T

Position génomique sur le chromosome 12

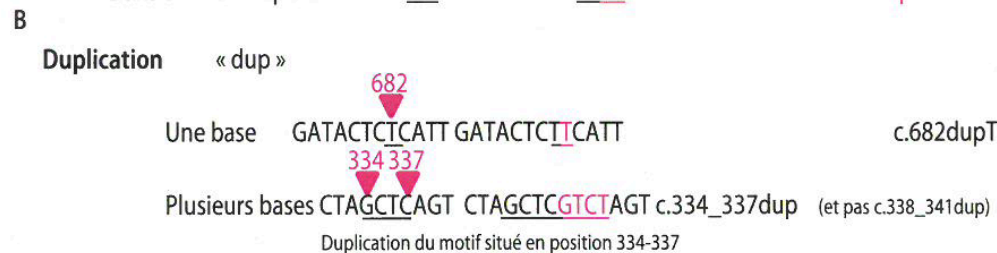
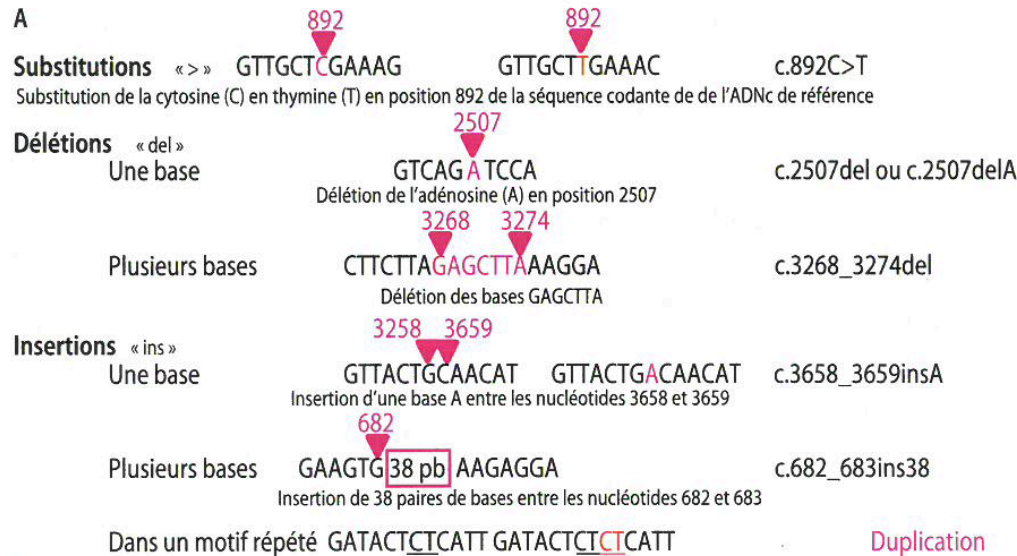
Protéine



KRAS : p.Gly12Cys

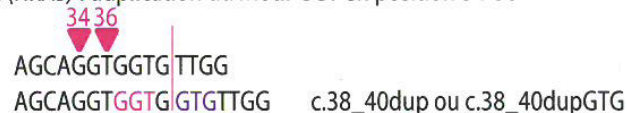
Glycine donne Cystéine en position 12

NOMENCLATURE HGVS DES VARIATIONS DE SÉQUENCE



« Règle du 3 ' »

Exemple NM_002524.4 (*NRAS*) : duplication du motif GGT en position 34-36



Exemple NM_00448.2 (*ERBB2*) : insertion du motif GCATACGTGATG entre les nucléotides 2310 et 2311



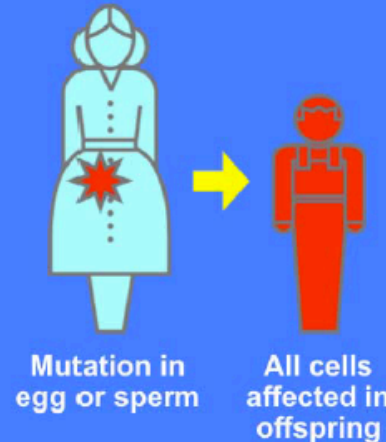
SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Des maladies acquises....mais pas toujours !

Mutations: Somatic and Germline

Germline mutations

- Present in egg or sperm
- Are heritable
- Cause cancer family syndrome

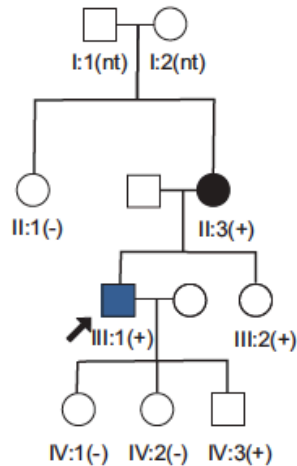


Adapted by Jeanne Kelly © 2004

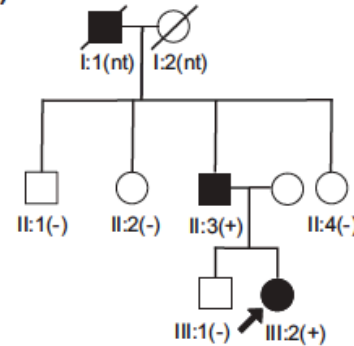
IDENTIFICATION DES PRÉDISPOSITIONS GERMINALES ?

- Observations cliniques (histoire familiale)

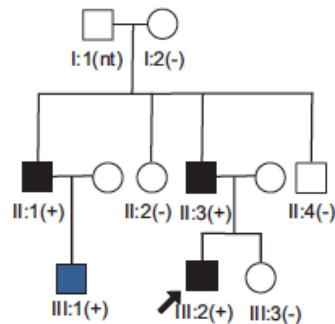
(a)



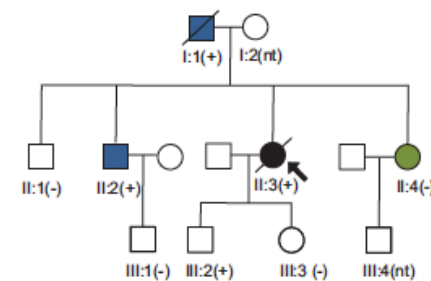
(b)



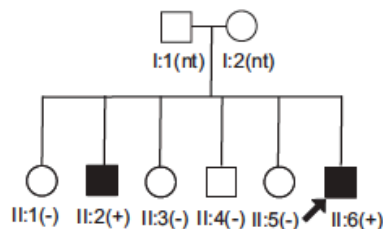
(c)



(d)

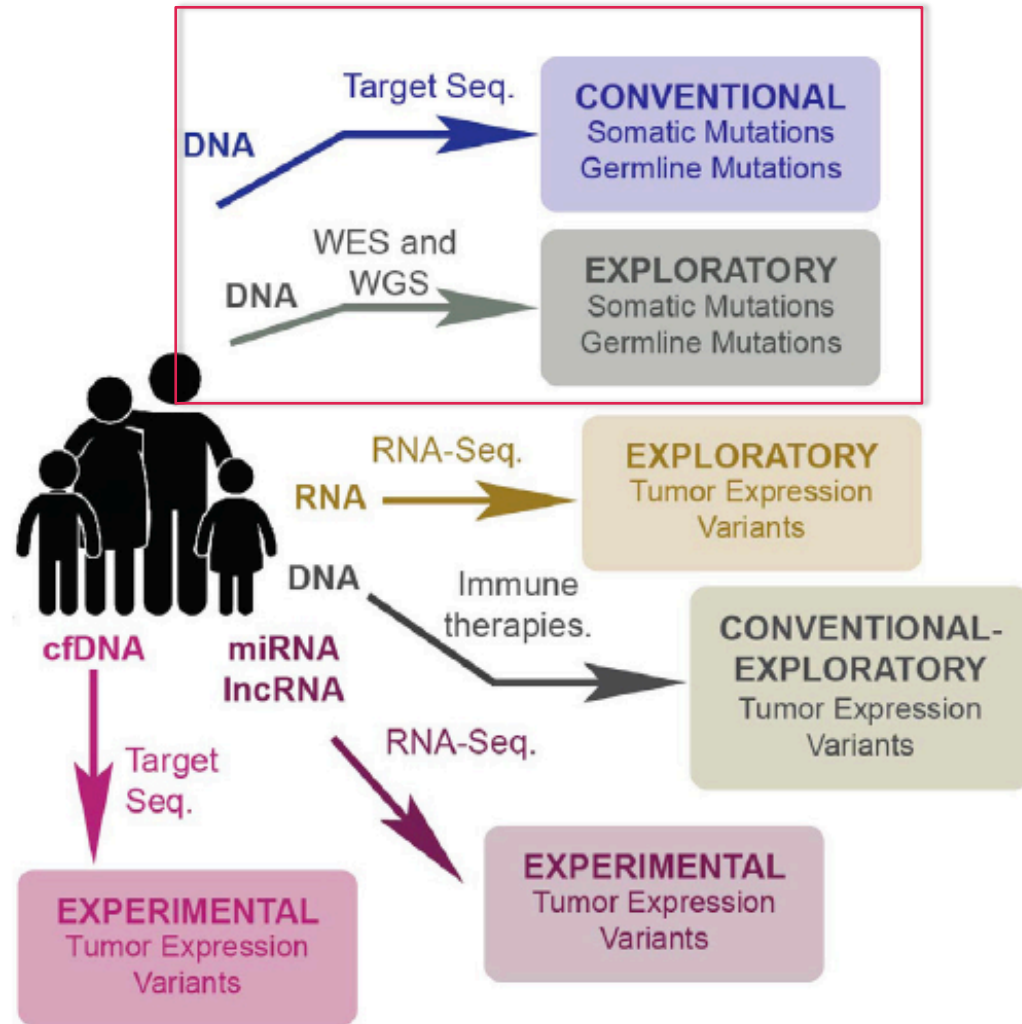


(e)



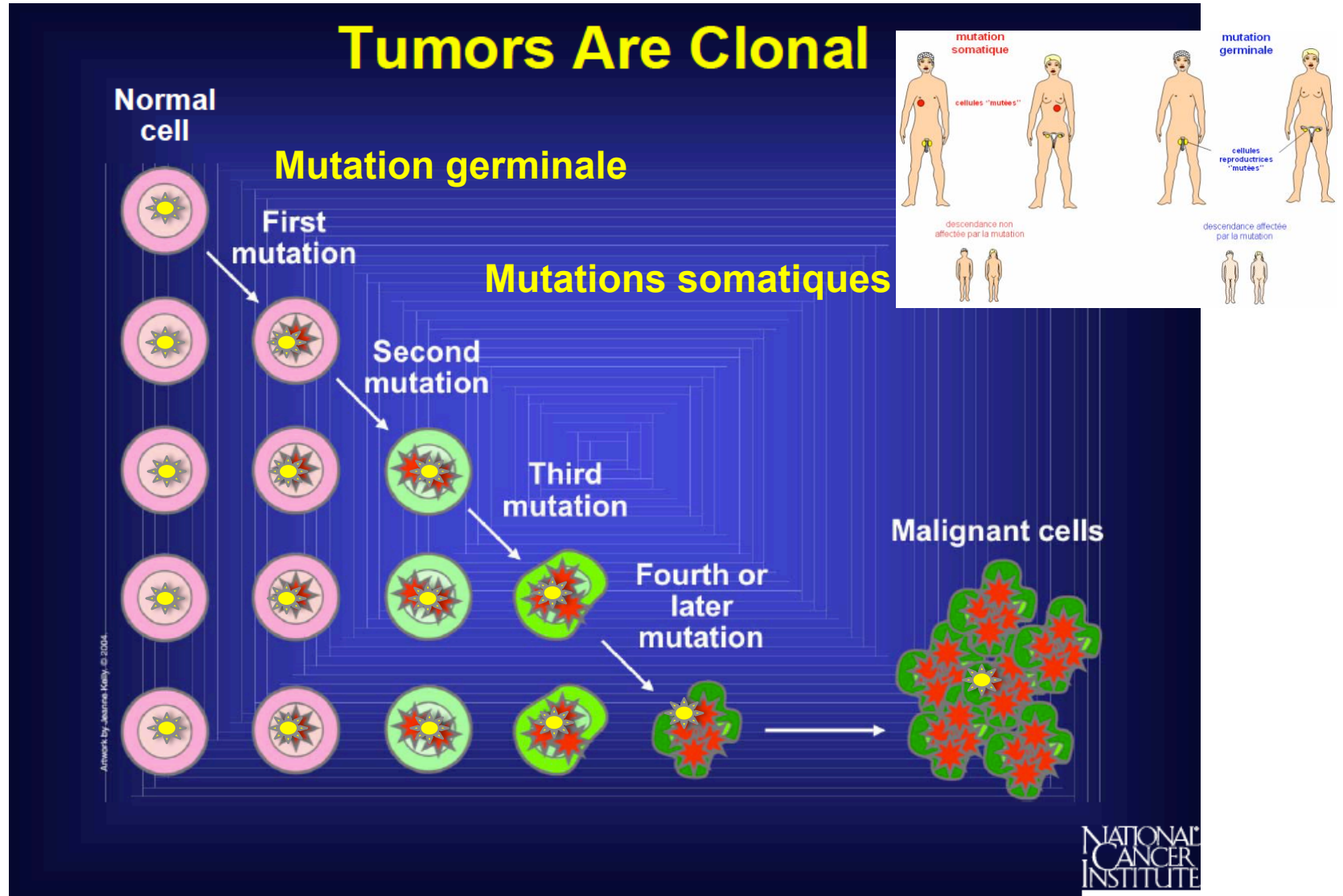
IDENTIFICATION DES PRÉDISPOSITIONS GERMINALES ?

- Avancées technologiques



SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Des mutations acquises....mais pas toujours !



PRÉDISPOSITIONS HÉRÉDITAIRES

1. Syndromes héréditaires d'insuffisance médullaire;
2. **Formes familiales (héréditaires) de syndrome myélodysplasique (SMD) et de leucémies aiguës myéloblastiques aiguës (LAM)**

BARRIÈRES LIMITANT L'IDENTIFICATION DES PORTEURS ?

- **Manque de connaissances des syndromes de prédispositions/ formes héréditaires par hématologues/généticiens;**
- **Erreur jugement: « formes héréditaires = enfants exclusivement » (anticipation)**
- **Accessibilité aux tests moléculaires complexes (panels NGS complets non disponibles);**
- **Source de l'ADN !!!: somatique vs germinale;**
- **Connaissance limitée histoire médicale familiale (migrations, évolutions sociétales);**
- **Réduction taille fratrie dans société occidentale**

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES, Quand pensez aux formes à prédisposition héréditaire ?

Best Practice & Research Clinical Haematology 28 (2015) 55–68

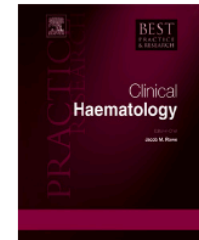


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Best Practice & Research Clinical Haematology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/beha



6

Genetic predisposition syndromes: When should they be considered in the work-up of MDS?



CrossMark

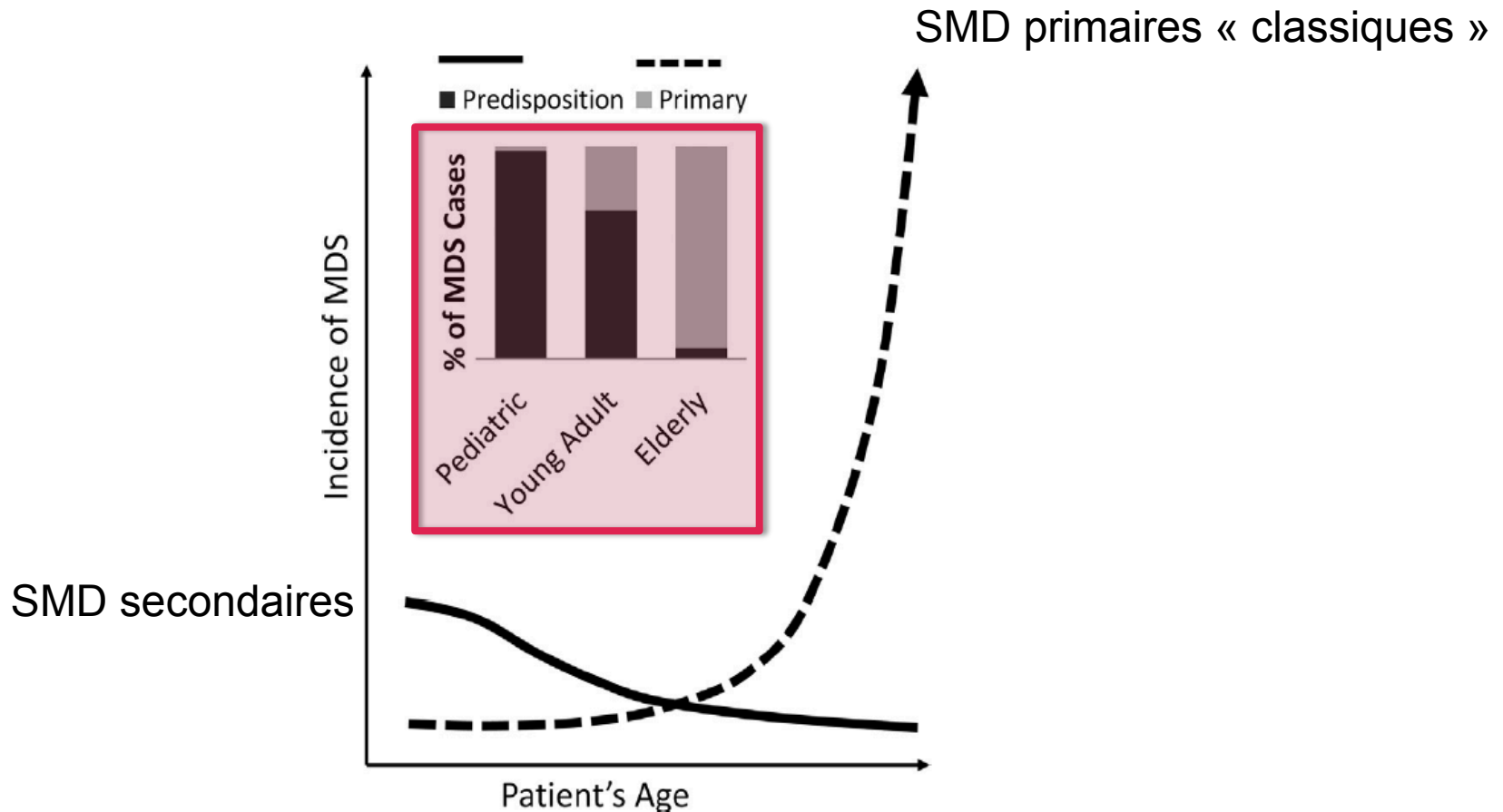
Daria V. Babushok, M.D., PhD., Fellow in Hematology-Oncology^{a, b, 1},

Monica Bessler, M.D., PhD., Professor in Hematology, Director^{a, b, *}

^a Comprehensive Bone Marrow Failure Center, Division of Hematology, Department of Pediatrics, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA

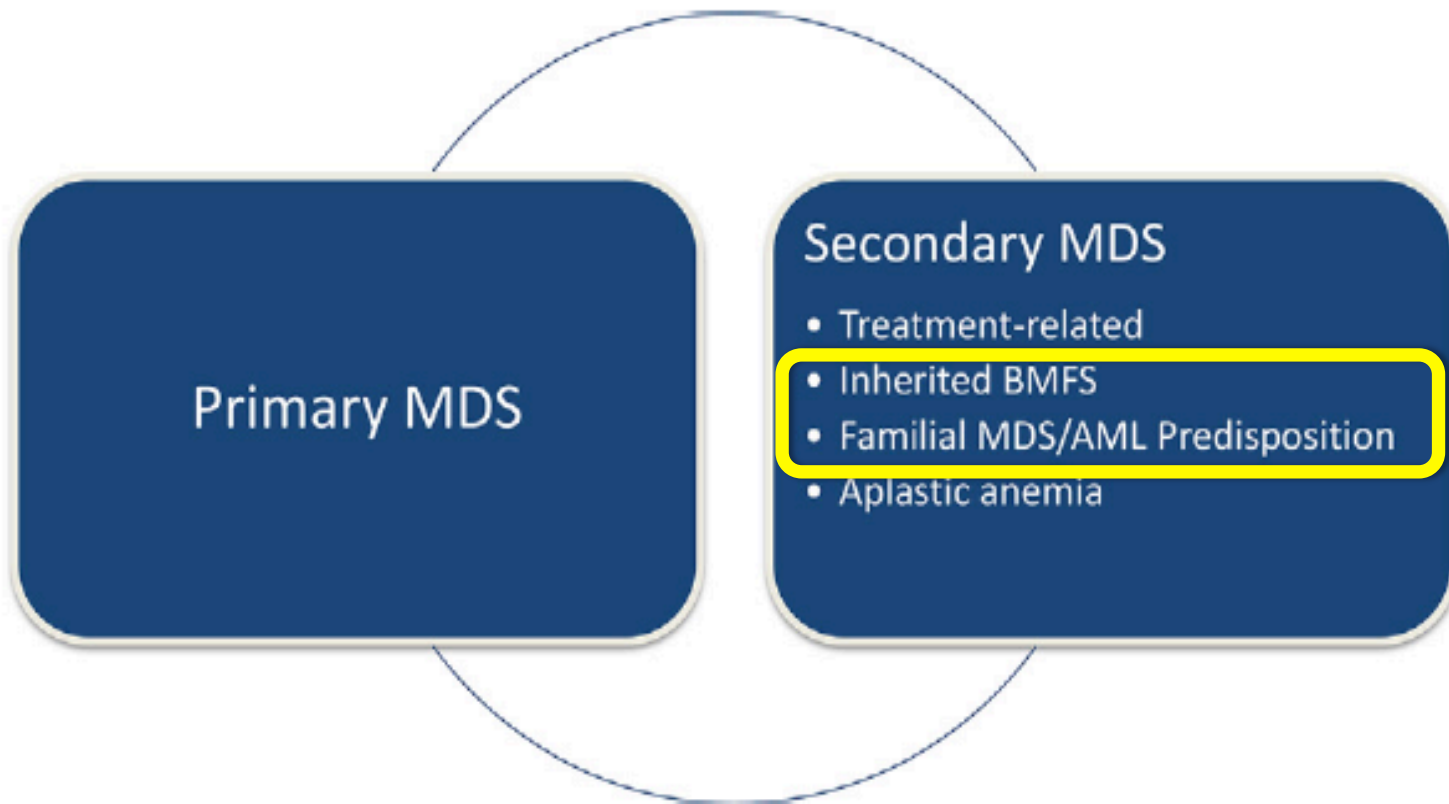
^b Division of Hematology, Department of Medicine, Hospital of the University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES, Quand pensez aux formes à prédisposition héréditaire ?



SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Quand pensez aux formes à prédisposition héréditaire ?
Deux grandes catégories de maladies



PRÉDISPOSITION FAMILIALE AUX SMD/AML (« SMD/AML HÉRÉDITAIRES »):

Syndrome	Pathogenesis	Inheritance	Known genes (inheritance)	Non-hematologic findings	Screening test	Cytogenetic abnormalities	Risk of MDS/AML
Familial acute myelogenous leukemia with mutated <i>CEBPA</i>	Transcription regulation	AD	<i>CEBPA</i>	None	<i>CEBPA</i> sequencing of non-leukemic cells	N/A	100%
<i>GATA2</i> Haploinsufficiency	Transcription regulation	AD	<i>GATA2</i>	Monocytopenia, non-tuberculous mycobacterial and viral infections, lymphedema	<i>GATA2</i> sequencing; bone marrow morphology and flow cytometry	Monosomy 7, Trisomy 8	50%
<i>RUNX1</i> -associated familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy	Transcription regulation	AD	<i>RUNX1</i>	None	<i>RUNX1</i> sequencing, including deletion and duplication testing	Trisomy 21	35%
Familial aplastic anemia/myelodysplastic syndrome with <i>SRP72</i> mutation	<i>SRP72</i> transcription factor	AD	<i>SRP72</i>	Congenital nerve deafness	<i>SRP72</i> sequencing	N/A	unknown

The disorders listed are the most common genetic predisposition syndromes for MDS/AML; the list is growing and additional syndromes are likely to be added in coming years. AD, autosomal dominant; AR, autosomal recessive; XLR, X-linked recessive; N/A, not available.

FORMES FAMILIALES DE SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Est-ce fréquent ?

- Incidence réelle inconnue, mais sous estimée...
- Pq ? Anamnèse familiale pas systématique, présentation clinique frustrée, ϕ « anticipation »
- Owen, 10 cas ff SMD/LMA $\rightarrow$ *RUNX1*, 50%
- Hahn, 13 familles $\rightarrow$ *GATA1*, 31%
- Pabst, *CEBPA* acquis 18/187 (9.6%) « *de novo* » AML, 2/18 (11%) mutations bi-allélique au Δ avec histoire familiale de LMA et mutation germinale
- Taskesen, mutation germinale *CEBPA*, 5/71 LMA (7%) avec *mut acquise identifiée au Δ*
- 1% AML, 7-11% LMA+ *CEBPA* acquis au Δ = *forme familiale de LMA*

DD entre formes sporadiques et syndromiques/familiales de SMD:

Quand penser a une forme à prédisposition génétique ?

Table I. Clinical detection recommendations.

We recommend a formal consultation with a genetics professional trained in cancer risk assessment for the following patients:

1. Any patient with acute leukemia (AML or ALL) or MDS with a first- or second-degree relative with AML, ALL, MDS, thrombocytopenia, a clinical bleeding propensity, macrocytosis, abnormal nails or skin pigmentation, oral leukoplakia, idiopathic pulmonary fibrosis, unexplained liver disease, lymphedema, atypical infections, immune deficiencies, or congenital limb anomalies
2. Any patient with a hematologic malignancy occurring at a young age (<45 years old) with a first-degree relative with any cancer occurring at a young age (<45 years old) or multiple first- and second-degree relatives with cancers (especially sarcoma, early onset breast cancer [<50 years old] and brain tumors)
3. Any healthy related stem cell donor (donating for a family member with a hematologic malignancy who requires an allogeneic stem cell transplant) who is found to have thrombocytopenia, a clinical bleeding propensity, macrocytosis, abnormal nails or skin pigmentation or oral leukoplakia, or fails to mobilize stem cells well using usual protocols

SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES:

Quand penser a une forme à prédisposition génétique ?

Clinical findings suggestive of a possible genetic predisposition syndrome in a patient with MDS.

- Early age of onset of MDS (e.g. 50 years and younger)
- Classical cytogenetic abnormalities (e.g. translocations of chromosome 1q, gains of 3q, isochromosome 7, isolated monosomy 7)
- Bi-allelic mutations in AML cells in genes associated with familial MDS/AML syndromes (*RUNX1, CEBPA*)
- Congenital malformations (e.g. congenital heart defect, radial or thumb anomalies)
- Unusually short stature or dysmorphic features
- Classical mucocutaneous findings (e.g. café-au-lait spots, nail dystrophy, skin hypopigmentation)
- Associated co-morbidities (e.g. pulmonary fibrosis, endocrinopathies, premature ovarian failure, lymphedema)
- Unusually severe complications of radiation or chemotherapy
- Family history:
 - MDS/AML
 - Cytopenias
 - Cancer
 - Early age of onset
 - Multiple, bilateral, or metachronous tumors
 - Rare cancers
 - Many individuals affected by a common tumor type
 - Unusually severe complications of chemotherapy or radiation
 - Congenital malformations
 - Pulmonary fibrosis
 - Consanguinity

FORMES FAMILIALES À PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE,

recommandations en matières de consultation génétique ?

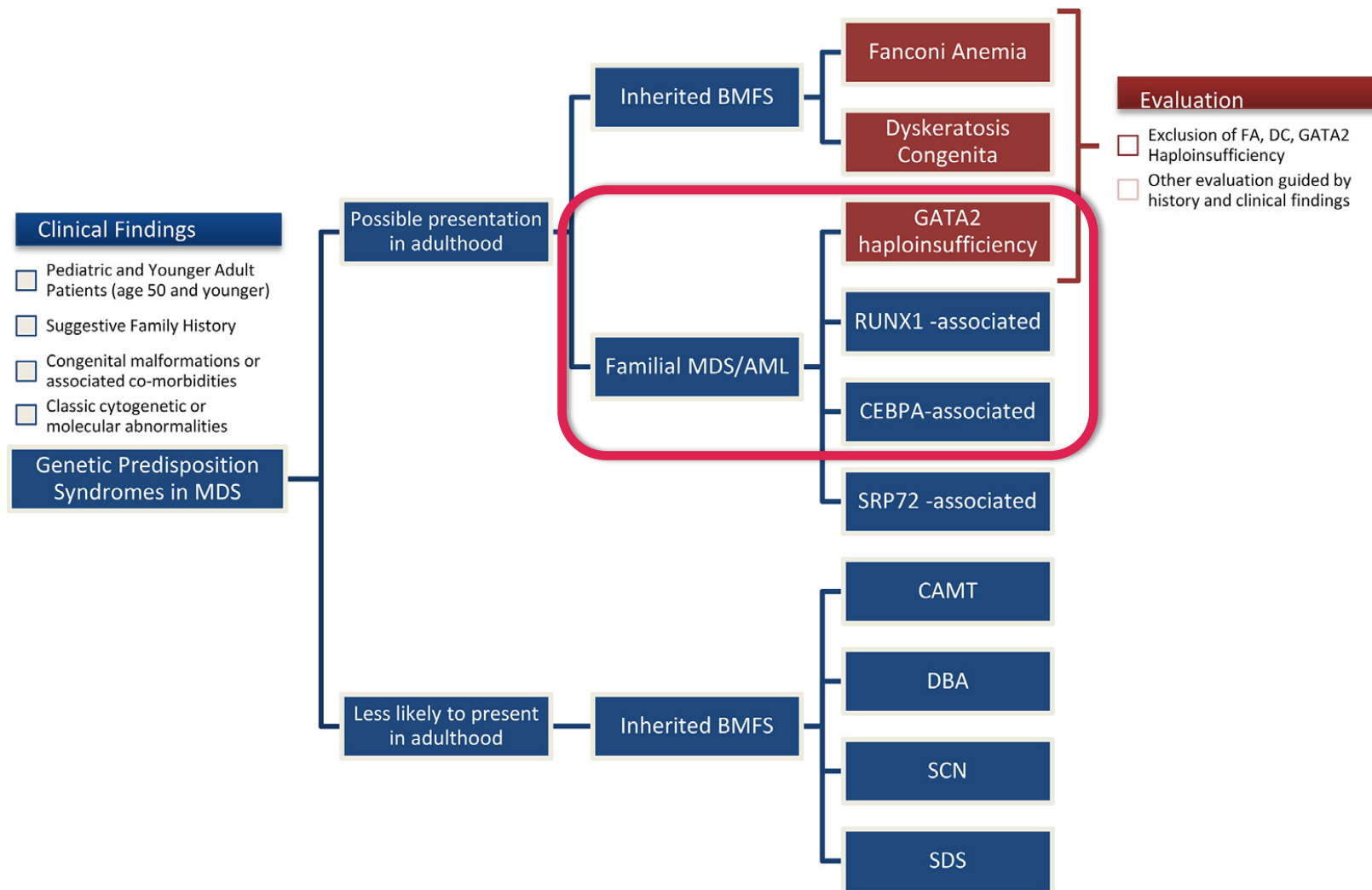
- Identification par hématologue sur base histoire familiale;
- Consultation génétique pour évaluation risque de cancer ?
- Etablissement d'un arbre généalogique/pédigrée
- Etablissement du diagnostic différentiel et de la forme la plus probable de prédisposition;
- Proposition d'un plan d'analyses génétiques;
- Indication HSCT -> test pour exclure donneur porteur mutation gène identique de prédisposition !!!
- Test via panel : **RUNX1/CEBPA/GATA2** recommandé
- Consultation pré-testing -> processus de consentement éclairé;
- Consultation post-test (explication des résultats)

SYNDROMES DE SMD/AML FAMILIALES :

Trois catégories

- **Formes avec tests « approuvés/commerciaux » existants;**
 - Forme familiale de désordre plaquettaire avec propension au développement de LAM (FPD/AML), impliquant *RUNX1*, *GATA2*, forme familiale d'AML avec mutation de *CEBPA*, *syndromes de déficit médullaire héréditaires* (*dyskératose congénitale, anémie de Fanconi, anomalie de maintenance télomérique*)
 - -> *analyse via panel de gènes*
- **Formes émergentes à valider dans nouvelles familles et/ou requérant de nouveaux tests diagnostiques;**
 - -> *analyse de trio/familles via exomes ou panel*
- **Formes sans base génétique (encore) identifiée**
 - -> *analyse de trio/familles via exomes ou panel*

SYNDROMES D'INSUFFISANCE MÉDULAIRE HÉRÉDITAIRES (BMFS)(ANEMIE DE FANCONI ET DYSKERATOSE CONGENITALE) ET **FORMES FAMILIALES DE SMD/AML, NON SYNDROMIQUES**



Prédispositions associées avec Thrombocytopénie et dysfonction plaquettaires: Mutations germinales de *RUNX1* and *ANKRD26*

- Familial Platelet Disorder With Propensity to AML (Germline *RUNX1* Mutations; Online Mendelian Inheritance in Man #601399)
- Thrombocytopenia 2 (Germline *ANKRD26* Mutations) (Online Mendelian Inheritance in Man #610855)

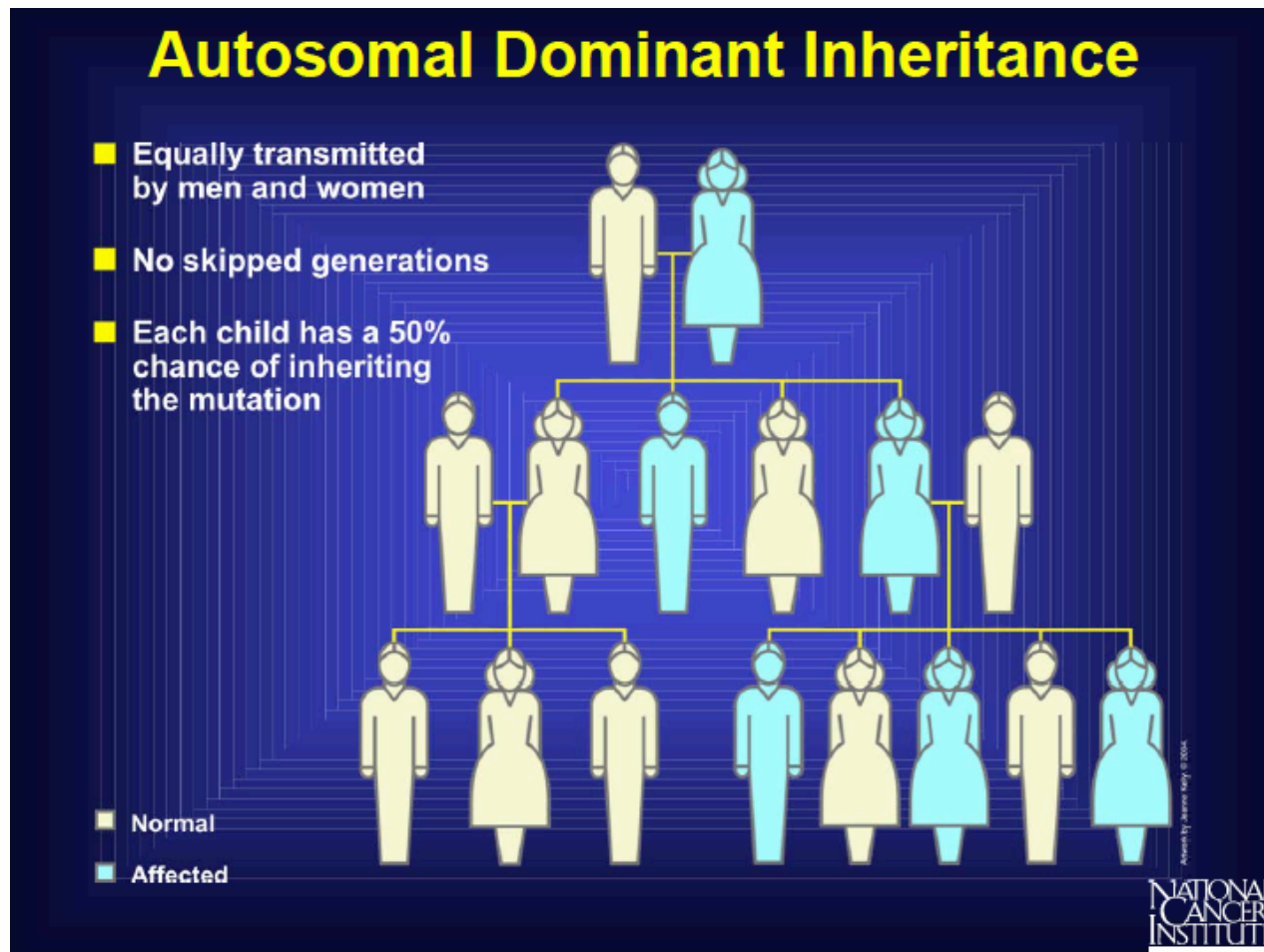
« Familial MDS/AML » avec mutations de *RUNX1*

- Mutations germinales, hétérozygote, *RUNX1*
- Facteur transcriptionnel « master régulateur » hématopoïétique
- Transmission: Autosomal Dominant (AD)
- Présentation clinique variable: tendance moyenne à modérée aux hémorragies
- Anomalie quantitative et/ou fonctionnelle plaquettaires
 - Thrombocytopénie variable, modérée avec PLT de taille N^{ll}.
 - Anomalies agrégation plaquettaire
- Tableau clinique variable d'un porteur à l'autre dans même famille (thrombocytopénie et saignement ou non).

Familial MDS/AML with Mutated ***RUNX1***

- Thrombocytopénie, saignements, aN agrégation plaquettaire *non obligatoires* pour poser diagnostic
- Incidence SMD/AML chez patients avec mutation germinale *RUNX1* > 40%;
- Age médian survenue: 33 (3-76);
- Phénotype AML: pas d'association FAB spécifique;
- aN cytogénétique variées;
- Phénotype: LAM, LAL-T

Transmission mode « Autosomal Dominant », (AD) ?



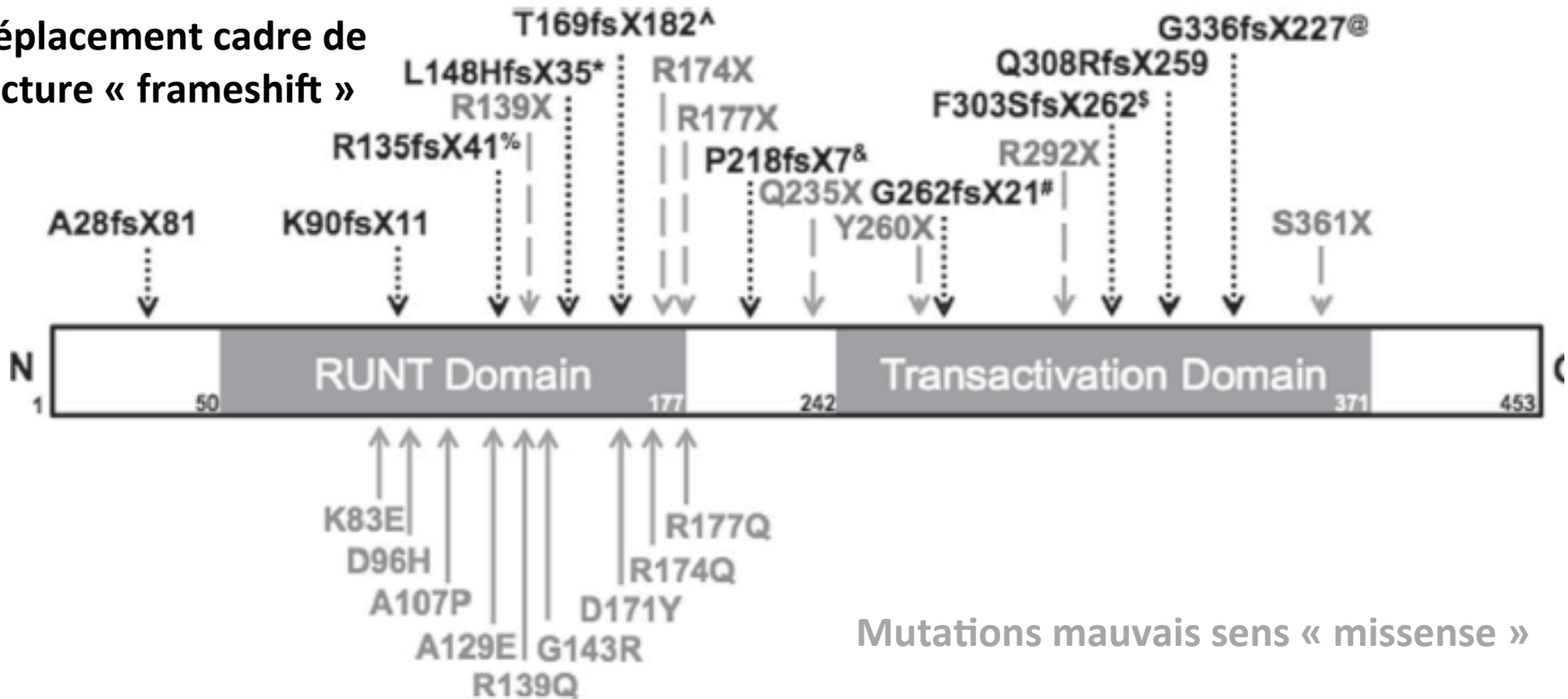
Répertoire des mutations de *RUNX1*

A Protéine

Point mutations in RUNX1

Mutations avec
déplacement cadre de
lecture « frameshift »

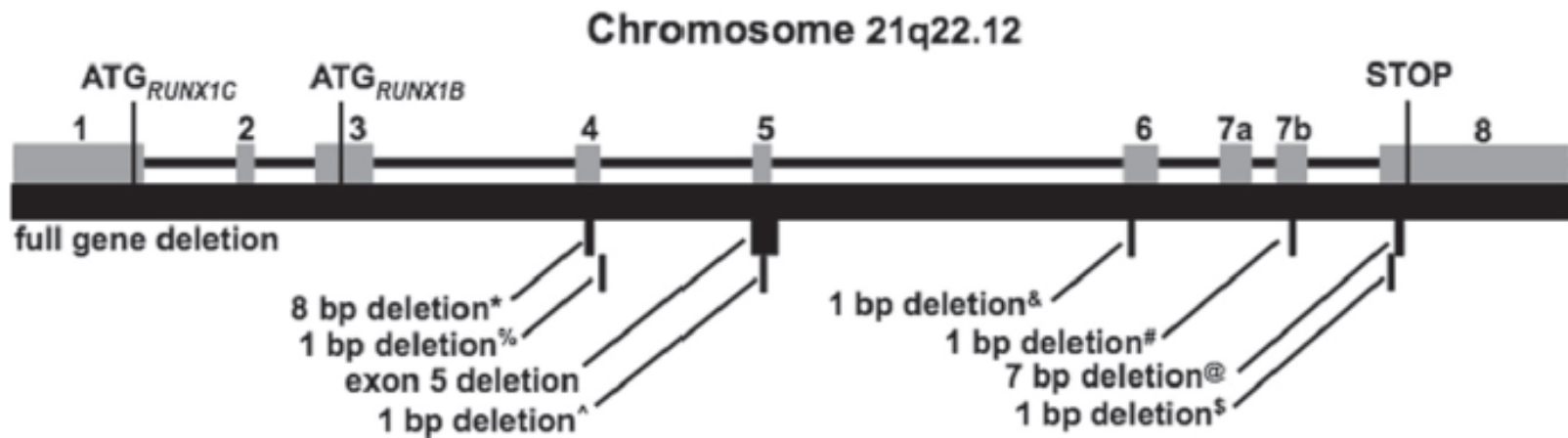
Mutations non sens « nonsense »



Répertoire des mutations de *RUNX1*

B Gène

Genomic rearrangements in *RUNX1*

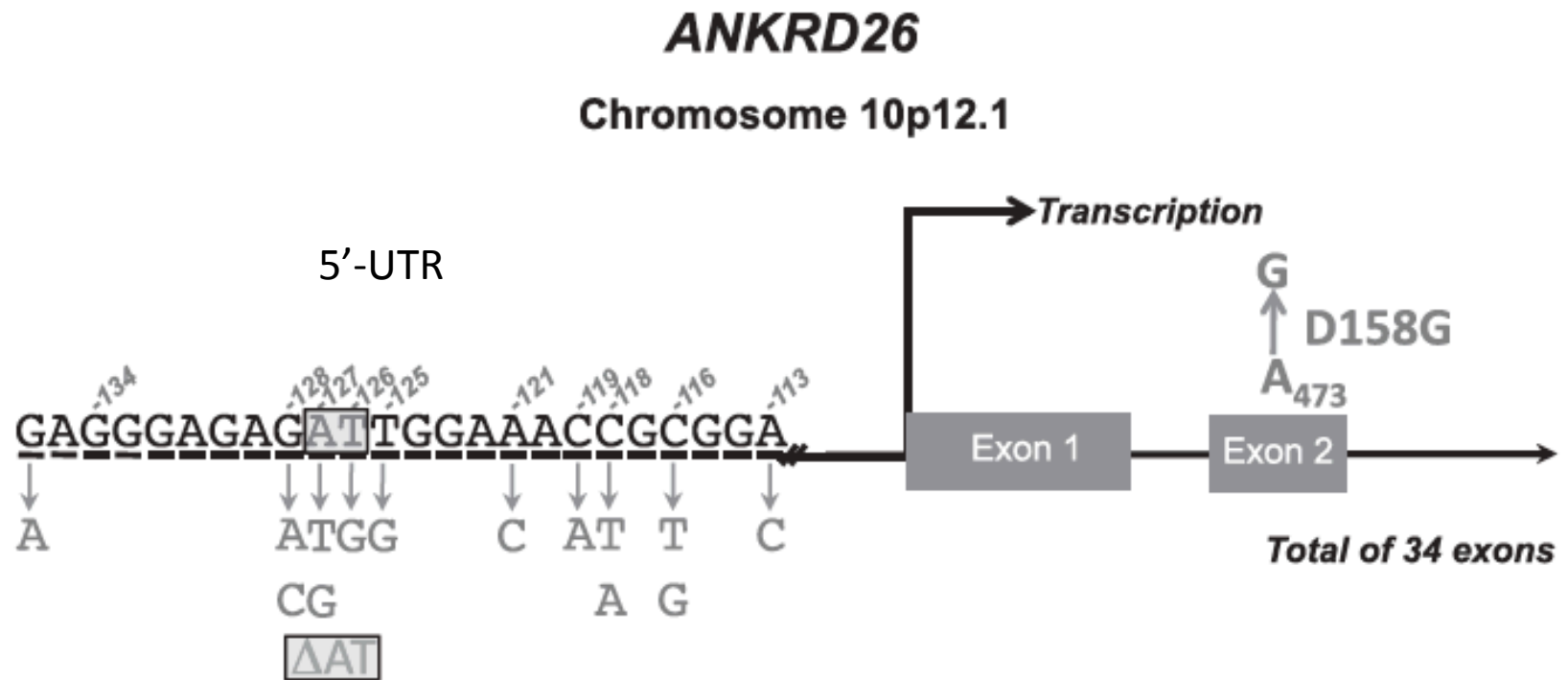


Mutations de type délétions

Prédispositions associées avec Thrombocytopénie et dysfonction plaquettaires: Mutations germinales de *RUNX1* and *ANKRD26*

- Familial Platelet Disorder With Propensity to AML (Germline *RUNX1* Mutations; Online Mendelian Inheritance in Man #601399)
- Thrombocytopenia 2 (Germline *ANKRD26* Mutations) (Online Mendelian Inheritance in Man #610855)

« Thrombocytopenia 2 », Prédispositions associées avec mutations germinales du gène *ANKRD26*, « Thrombocytopenia 2 »



« Thrombocytopenia 2 »

- Thrombocytopénie,
- Transmission AD,
- Taux TPO élevé, volume PLT NII,
- Déficit agrégation variable,
- Dysmégakaryopoïèse (mp MGK hypolobulés),
- > 20 familles, mutations ponctuelles et 1 délétion ds région 22 pb UTR gène *ANKRD26*,
- 1 famille mutation missense D158G exon 2
- Risque SMD/AML: 30X

PREDISPOSITION ASSOCIEE AVEC LYMPHEDEME ET
DYSFUNCTION IMMUNE ET MONOCYTAIRE:
MUTATIONS GERMINALE DE *GATA2*

- **Familial MDS/AML with Mutated *GATA2***
(Online Mendelian Inheritance in Man #137295)

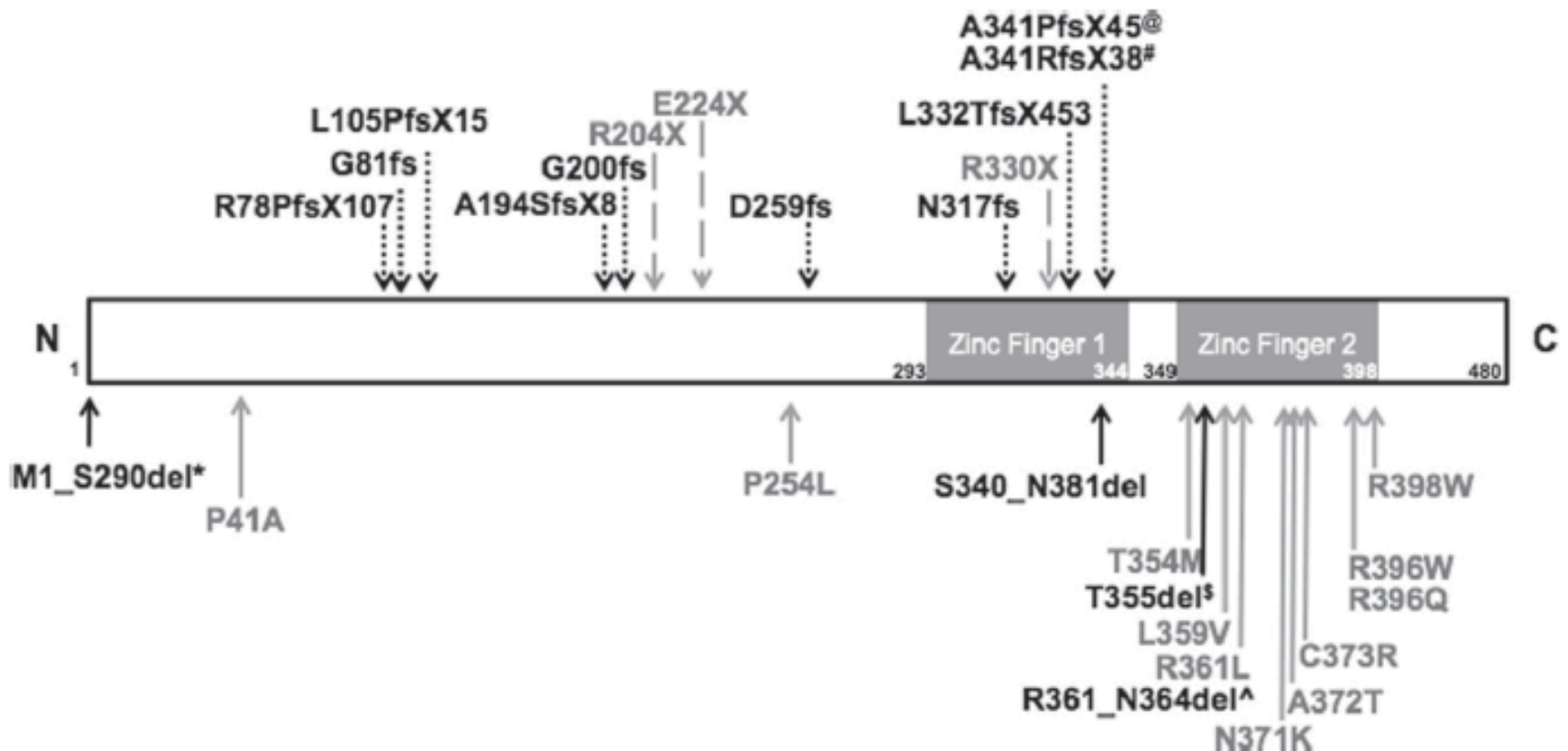
Familial MDS/AML avec Mutations de *GATA2* (OMIM #137295)

- Transmission AD
- Présentation clinique variable:
 - Pas de prodrome préalablement à SMD/AML;
 - Syndromes préalables:
 - MonoMAC syndrome:
 - réduction taux monocytes, natural killer (NK), cell.-B -> prédisposition infections récurrentes âge adulte (mycobactéries)
 - Syndrome d'Emberger:
 - lymphoedème, verrues, surdité
 - Risque de SMD/AML: 70% pt avec mutation germinale de *GATA2*

Familial MDS/AML avec Mutations de *GATA2*

A

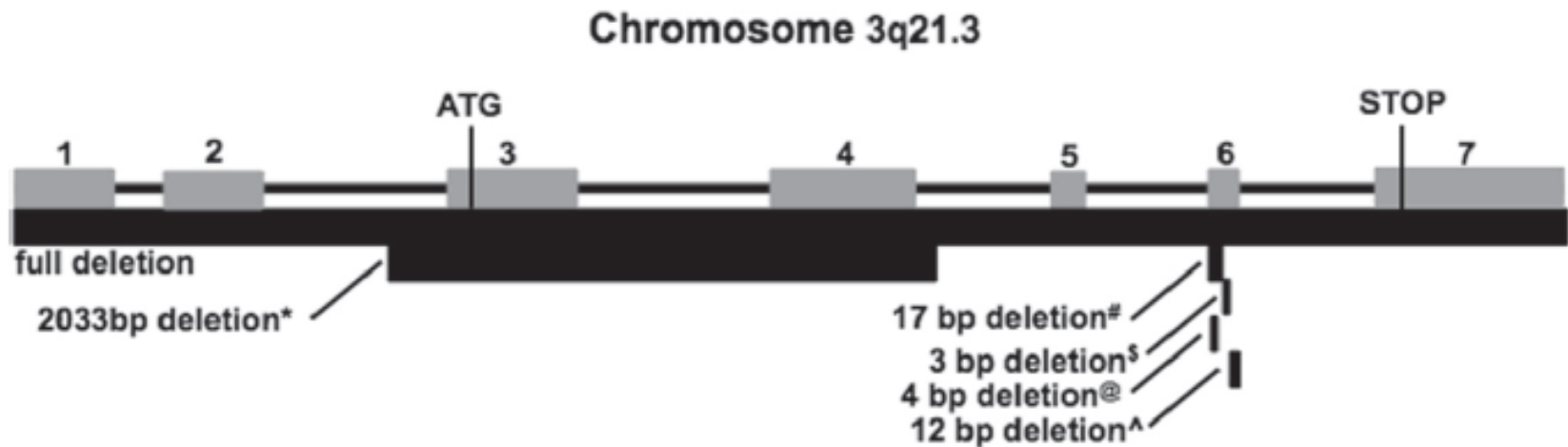
Point mutations in *GATA2*



Familial MDS/AML with Mutated *GATA2*

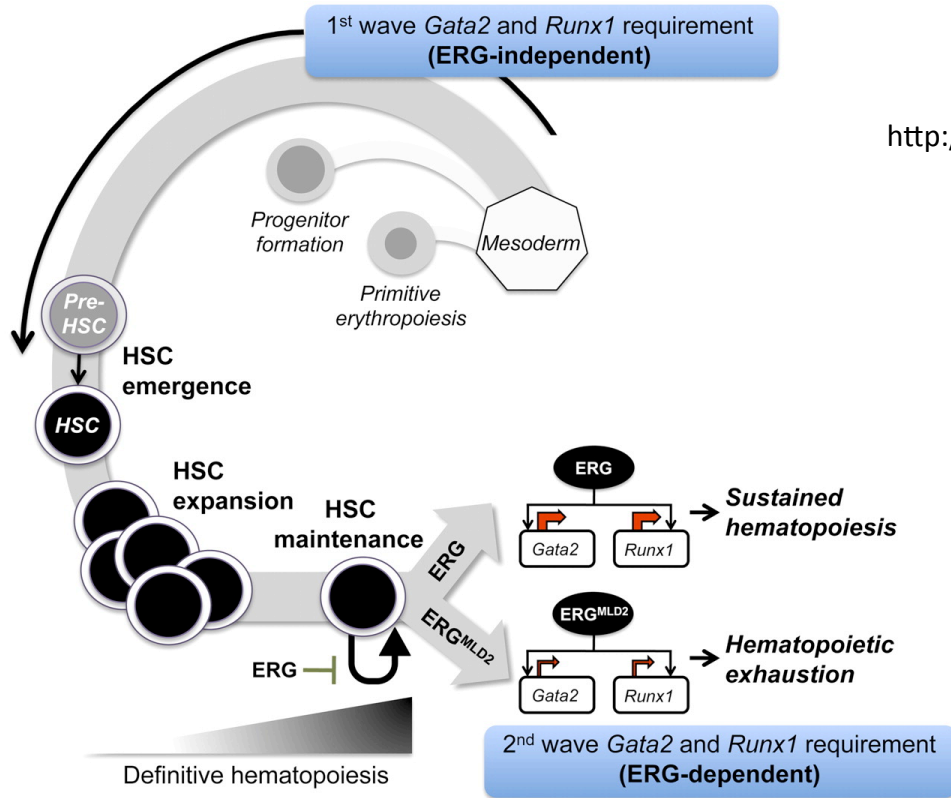
B

Genomic rearrangements in *GATA2*

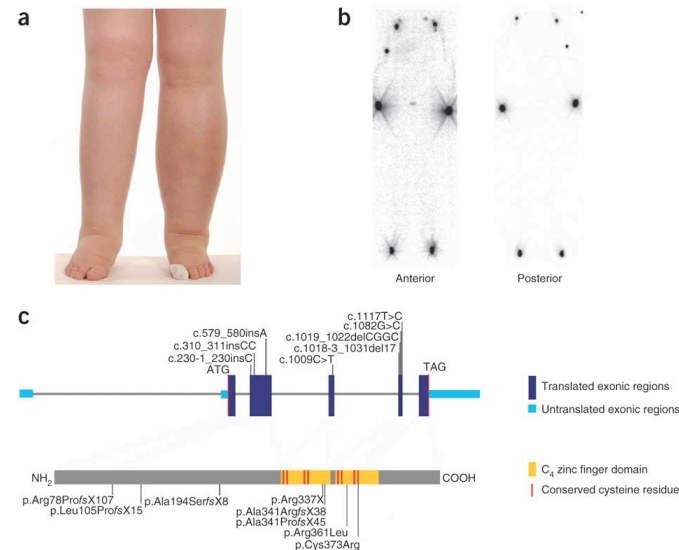


RUNX1 l'hématopoïèse; GATA2 est impliqué dans l'hématopoïèse et la lymphopoïèse

<http://genesdev.cshlp.org/content/25/3/251/F7.expansion.html>



29% patients Δ germinale GATA2, Δ ASXL1



PREDISPOSITION ASSOCIEE AVEC UN PRONOSTIC FAVORABLE : MUTATIONS GERMINALES DE *CEBPA*

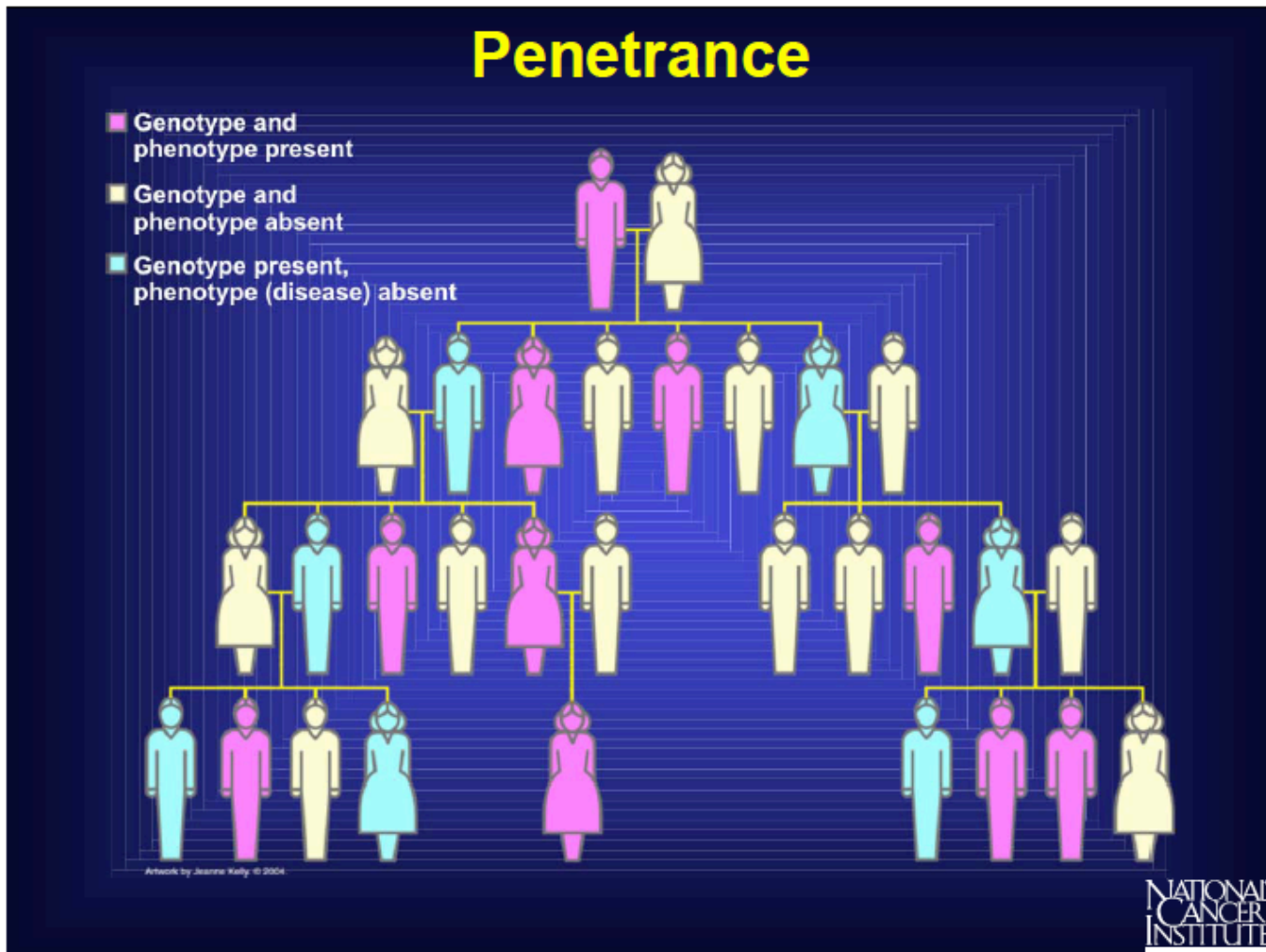
- **Familial AML With Mutated *CEBPA*** (Online Mendelian Inheritance in Man #116897)

Familial AML With Mutated *CEBPA* OMIM#116897

- LMA sans anomalies hématologiques préalables précédents
- Morphologie spécifique, FAB M1 ou M2, corps d'Auer, CD7 aberrant, caryotype An
- Age présentation variable: 2-59
- Transmission Autosomique Dominante (AD)
- *Pénétrance complète, 100% d'AML*
- Pronostic relativement bon: taux RC CT induction bon, rémissions longues
- Rechutes: AML secondaire vs seconde leucose ?
- Mutation germinales 5' CEBPA
- Acquisition seconde mutation 3' allèle N->
- Scénario inverse possible: 3'-> 5' ou 3'

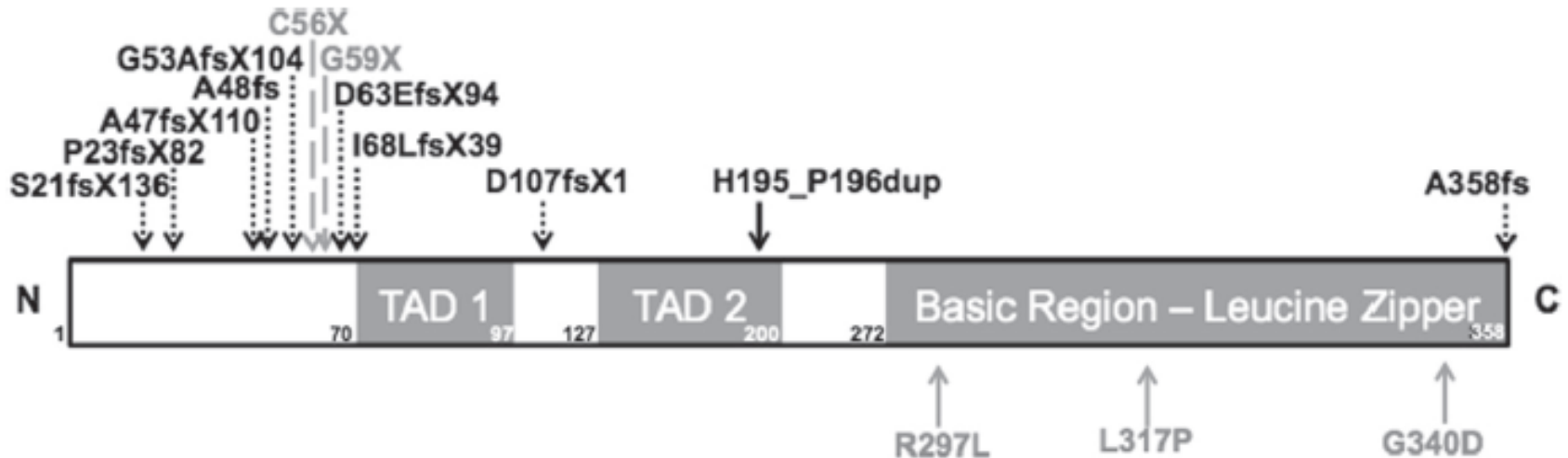
-> *modèle « two-steps » leucémogénèse*

Pénétrance

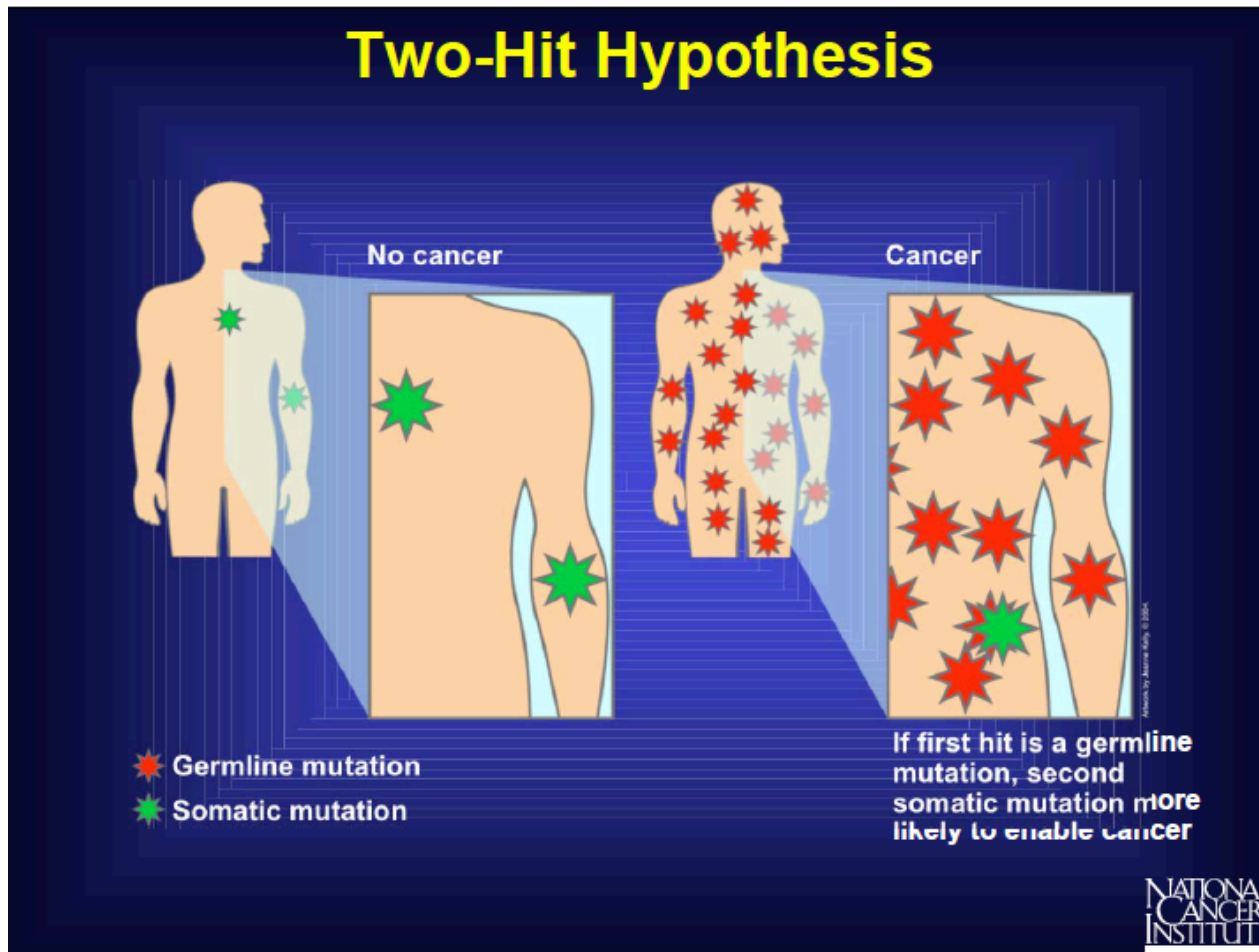


Familial AML With Mutated *CEBPA*

Point mutations in CEBPA



Modèle two-Hit de leucémogénèse

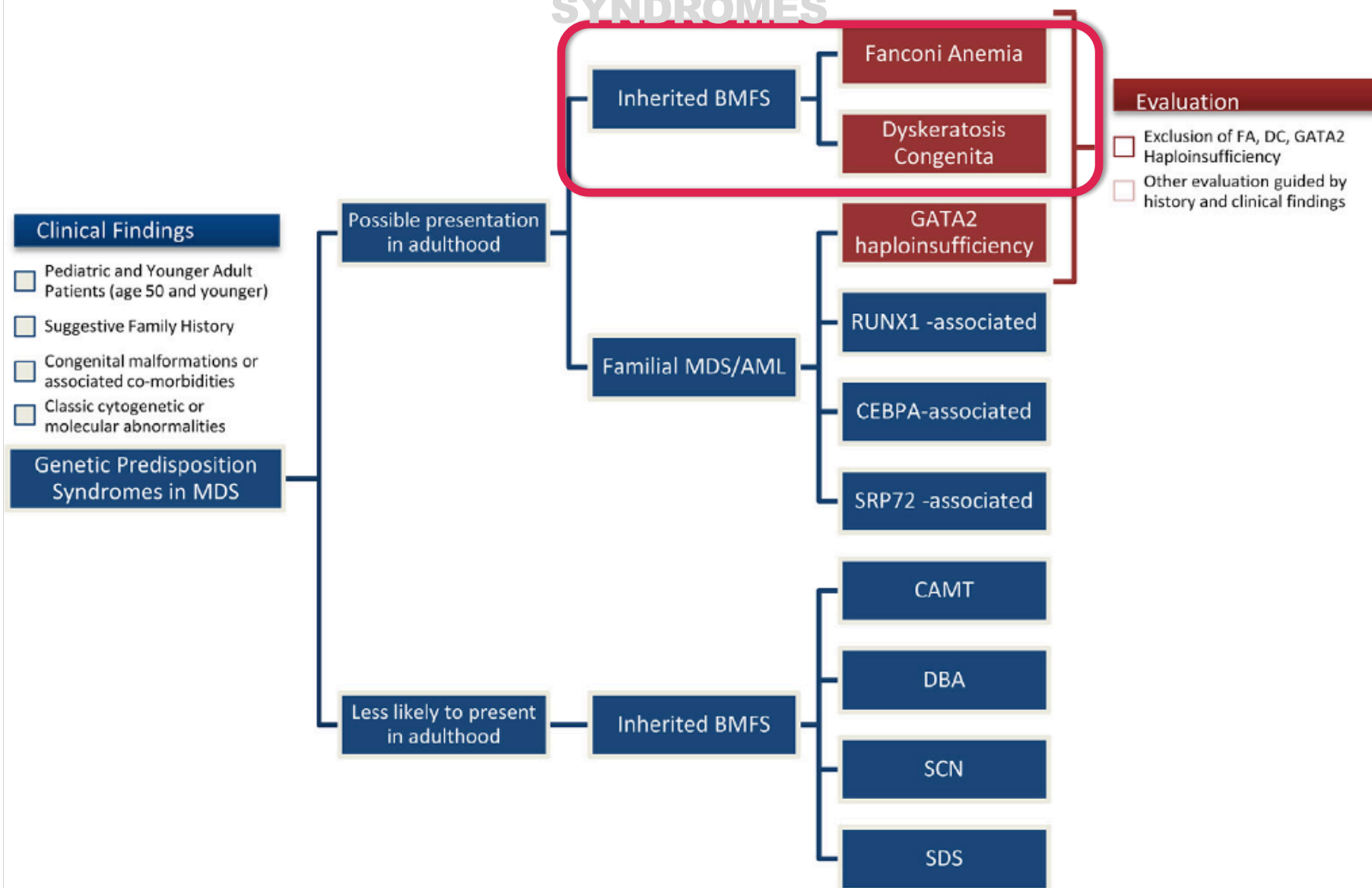


Syndromes d'insuffisance médullaire héréditaires (IBMFS)

Daria V. Babushok, Monica Bessler, Best Practice & Research Clinical Haematology 28 (2015) 55-68

Syndrome	Pathogenesis	Inheritance	Known genes (inheritance)	Non-hematologic findings	Screening test	Cytogenetic abnormalities	Risk of MDS/AML
Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia	Thrombopoietin signaling and stem cell maintenance	AR	<i>MPL</i>	None	MPL gene sequencing	Monosomy 7, Trisomy 8	Increased, rate unknown
Diamond-Blackfan Anemia	Ribosome biogenesis	AD, XLR	<i>RPS19, RPS17, RPS24, RPL35A, RPL5, RPL11, RPS7, RPS26, RPS10</i> (AD); <i>GATA1</i> (XLR)	Small stature, congenital anomalies (e.g. craniofacial, cardiac, skeletal, genitourinary)	Elevated erythrocyte adenosine deaminase and Hemoglobin F; genetic testing	N/A	1–20%
Dyskeratosis Congenita	Telomere maintenance	XLR, AD, AR	<i>DKC1</i> (XLR); <i>TERT, TERC, TINF2, RTEL1</i> (AD); <i>NOP10, NHP2, WRAP53, RTEL1, TERT, CTC1</i> (AR).	Nail dystrophy, abnormal skin pigmentation, oral leukoplakia, pulmonary fibrosis, hepatic fibrosis, cancer predisposition	Telomere length measurement	N/A	30%
Fanconi Anemia	Interstrand crosslink DNA repair	AR, XLR	<i>FANCA, FANCC, FANCD1/BRCA2, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG/XRCC9, FANCI, FANCI/BACH1/BRIP1, FANCL, FANCM, FANCN/PALB2, FANCO/RAD51C, FANCP/SLX4, FANQ (ERCC4)</i> (AR); <i>FANCB</i> (XLR).	Thumb and radius anomalies, café-au-lait spots, short stature, endocrinopathies, microcephaly, GU anomalies, hip dysplasia, cancer predisposition	Chromosome breakage studies	Dup 1q+, 3q+, – Deletion 7/7q, Deletion 11q, cryptic <i>RUNX1</i> rearrangements	40%
Severe Congenital Neutropenia	Various, including unfolded protein response, increased apoptosis of myeloid cells, impaired myeloid differentiation	AD, AR, XLR	<i>ELANE, CSF3R, GFI1</i> (AD); <i>HAX1, G6PC3</i> (AR); <i>WAS</i> (XLR)	<i>HAX1</i> : neurodevelopmental; <i>G6PC3</i> : cardiac and other	Gene sequencing; characteristic maturation arrest in myeloid differentiation.		21–40%
Shwachman-Diamond Syndrome	Ribosome biogenesis, mitotic spindle stability, and stress response	AR	<i>SBDS</i>	Short stature, pancreatic insufficiency, skeletal abnormalities		Ischr(7)(q10), del(20)(q11)	8.1–36%

HEREDITARY BONE MARROW FAILURE SYNDROMES (BMFS) (FANCONI ANEMIA AND DYSKERATOSIS CONGENITA) AND NON- SYNDROMIC FAMILIAL MDS/AML PRE-DISPOSITION SYNDROMES



Telomere Biology Disorders and Inherited Bone Marrow Failure Syndromes (BMFS)

- Dyskératose congénitale (DC)
- *Triade diagnostique* « classique »: dystrophie unguéale, leucoplasie orale, anomalie pigmentation cutanée,
- Fibrose pulmonaire ou hépatique, vieillissement anticipé, et/ou prédisposition cancers tête et cou et ano-génitaux
- Parfois, présentation tout à fait similaire « ff SMD/AML »
- Mutations gènes impliqués dans maintenance télomérique (*TERT*, *TERC*)
- Transmission AD (rares familles AR)
- Pénétrance variable: absence de phénotype fréquente, ff SMD/AML isolée sans signes/symptômes d'alerte préalables

-> ! patient SMD/AML avec histoire familiale de SMD isolé ou antécédent personnel/familial cytopénie, carcinome cell. squameuse tête et cou, pathologie hépatique et/ou pulmonaire peut-être = dyskératose congénitale

Telomere Biology Disorders and Inherited Bone Marrow Failure Syndromes (BMFS)

- Phénomène d' « **anticipation** »:

= phénotype de + en + sévère et/ou prématuré de génération en génération

- Pathologies liées biologie des télomères:

= chaque génération successive: télomères de + en + court -> instabilité génomique croissante -> développement + en + précoce BMFS -> SMD/AML

- Mécanisme: ?
- Implications cliniques: Δ individu affecté possible avant apparition phénotype / parent porteur !!!

Le phénomène d' "anticipation"

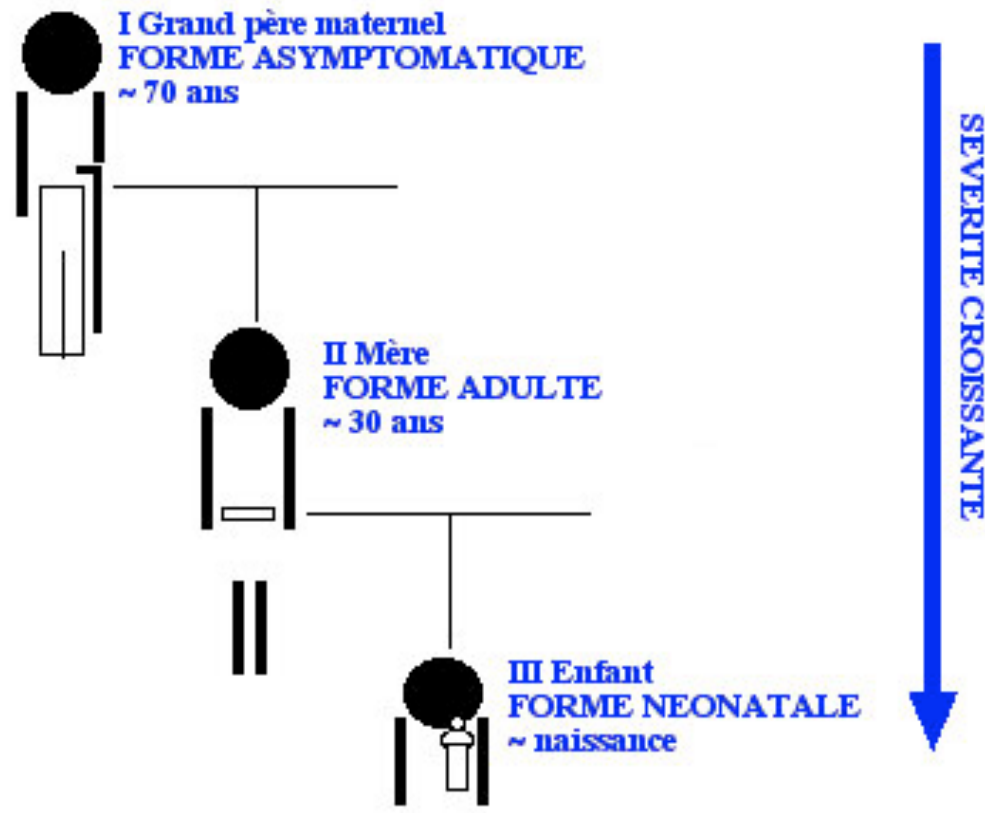
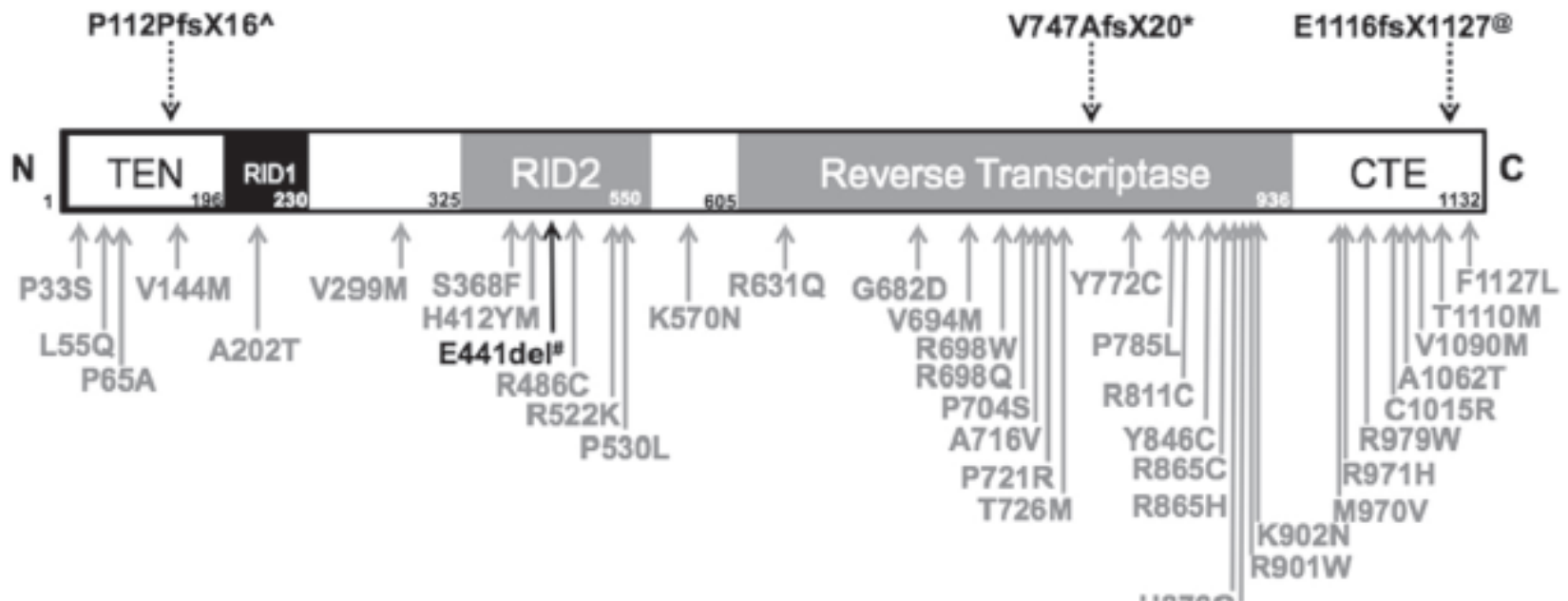


Illustration de la notion d'anticipation

Telomere Biology Disorders and Inherited Bone Marrow Failure Syndromes

A

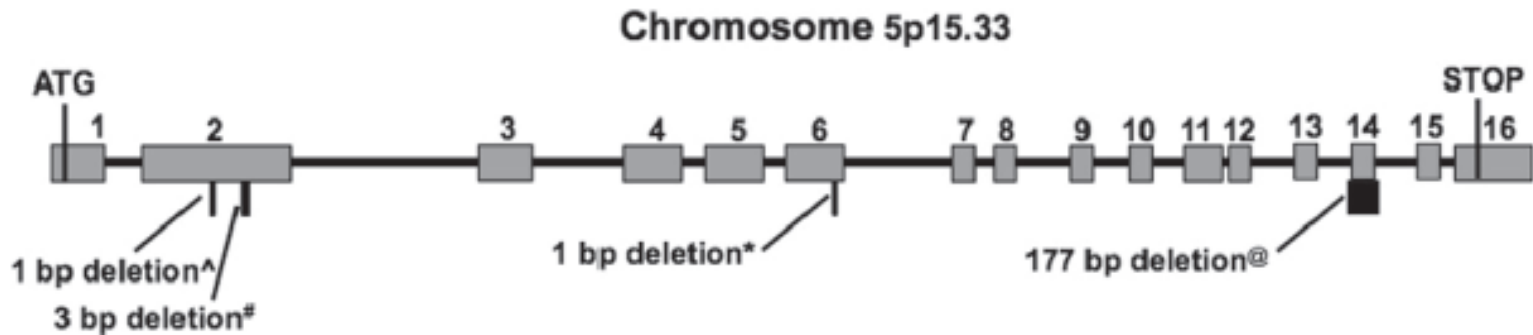
Point mutations in TERT



Telomere Biology Disorders and Inherited Bone Marrow Failure Syndromes

B

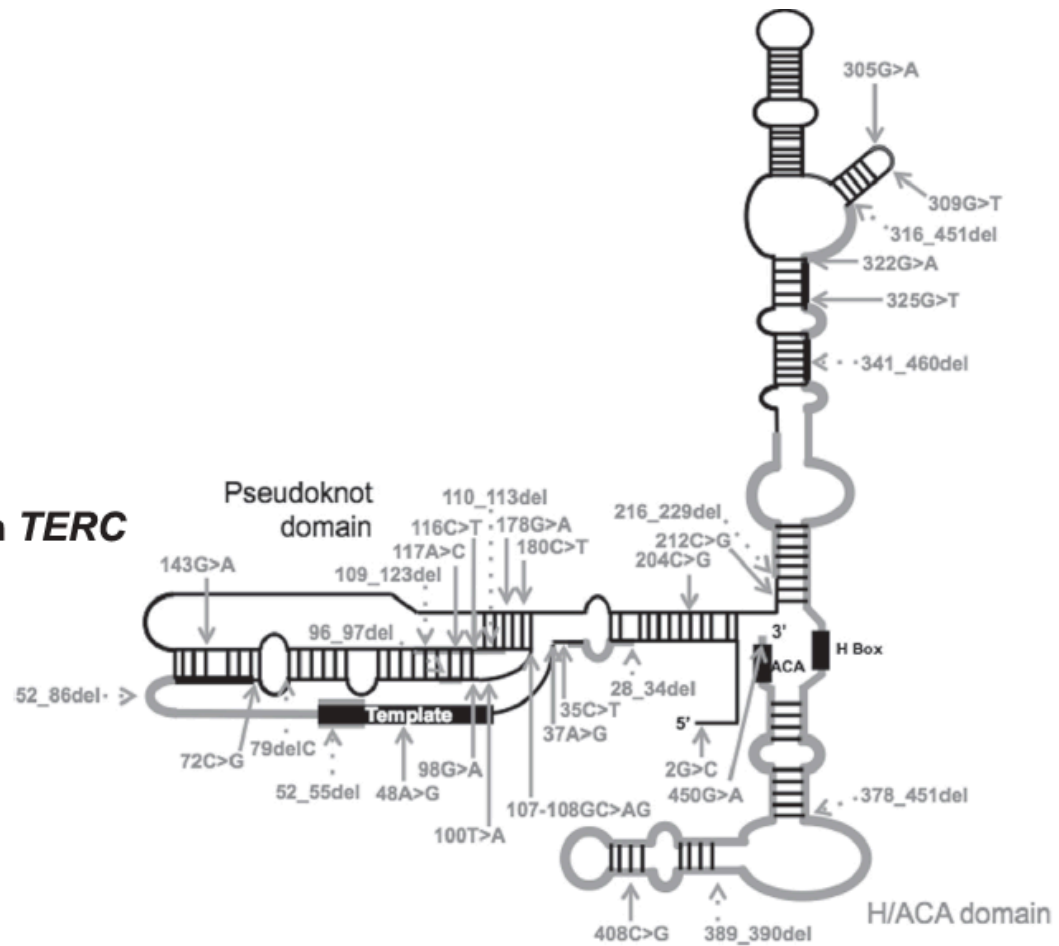
Genomic rearrangements in *TERT*



Telomere Biology Disorders and Inherited Bone Marrow Failure Syndromes

C

Point mutations in *TERC*



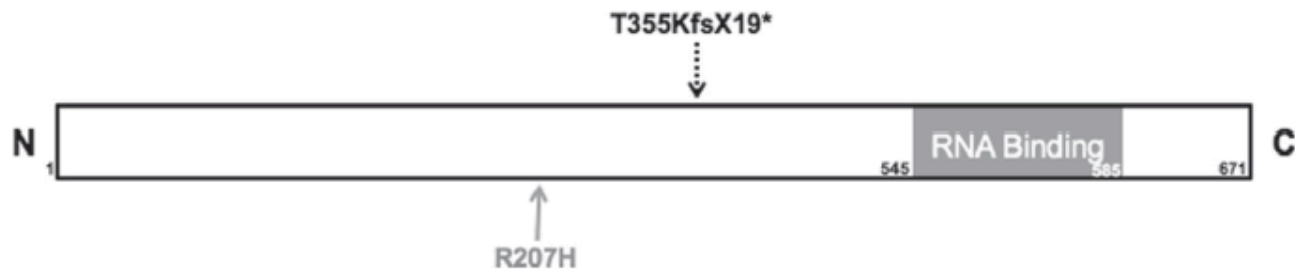
EMERGING TOPICS IN FAMILIAL MDS/AML

- **Familial Aplastic Anemia/MDS With SRP72 Mutation** (OMIM #602122)

Familial Aplastic Anemia/MDS With *SRP72* Mutation

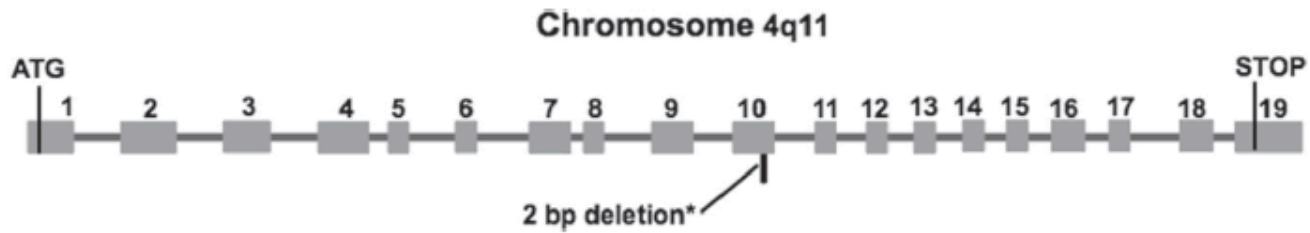
A

Point mutations in *SRP72*

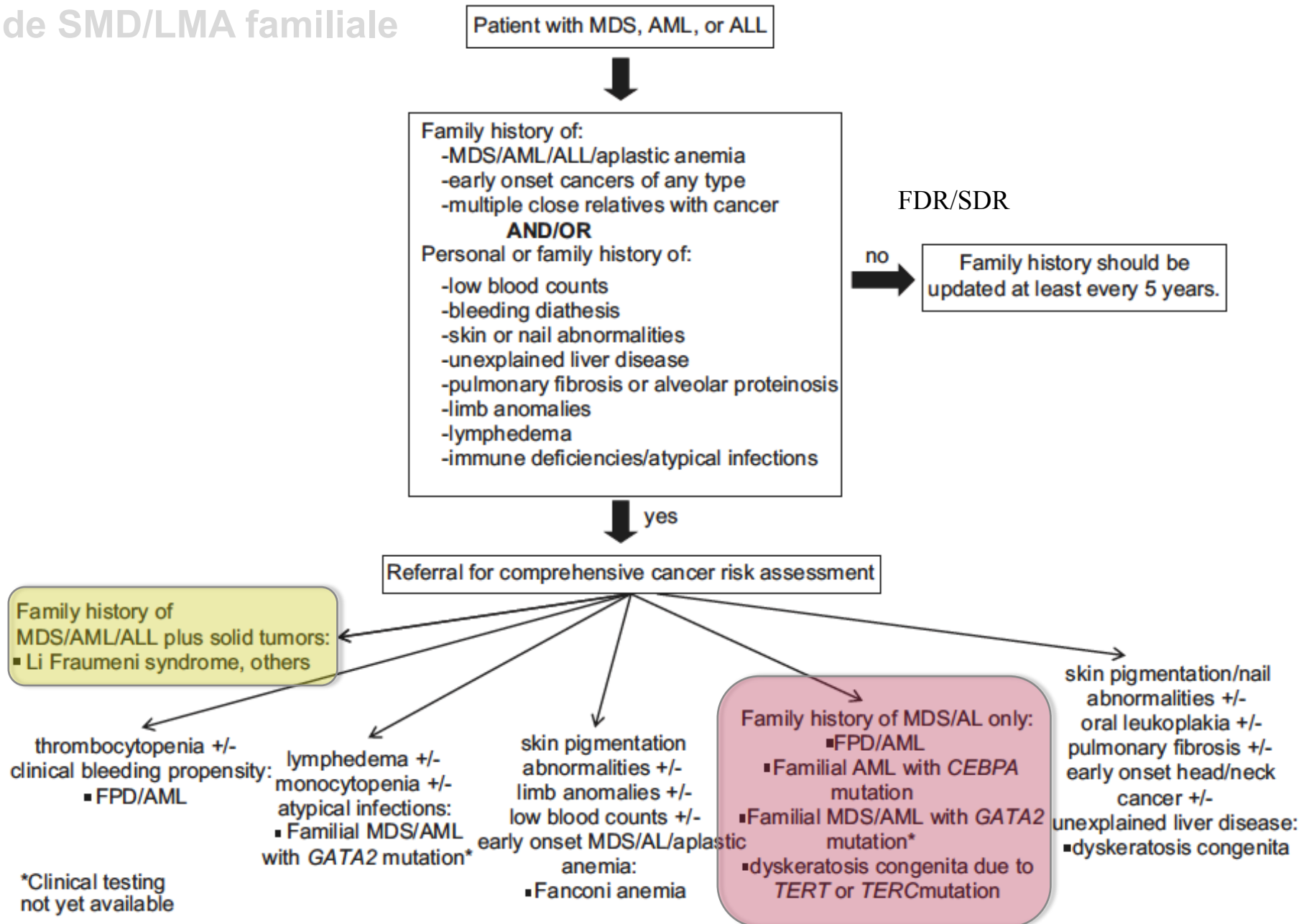


B

Genomic rearrangements in *SRP72*

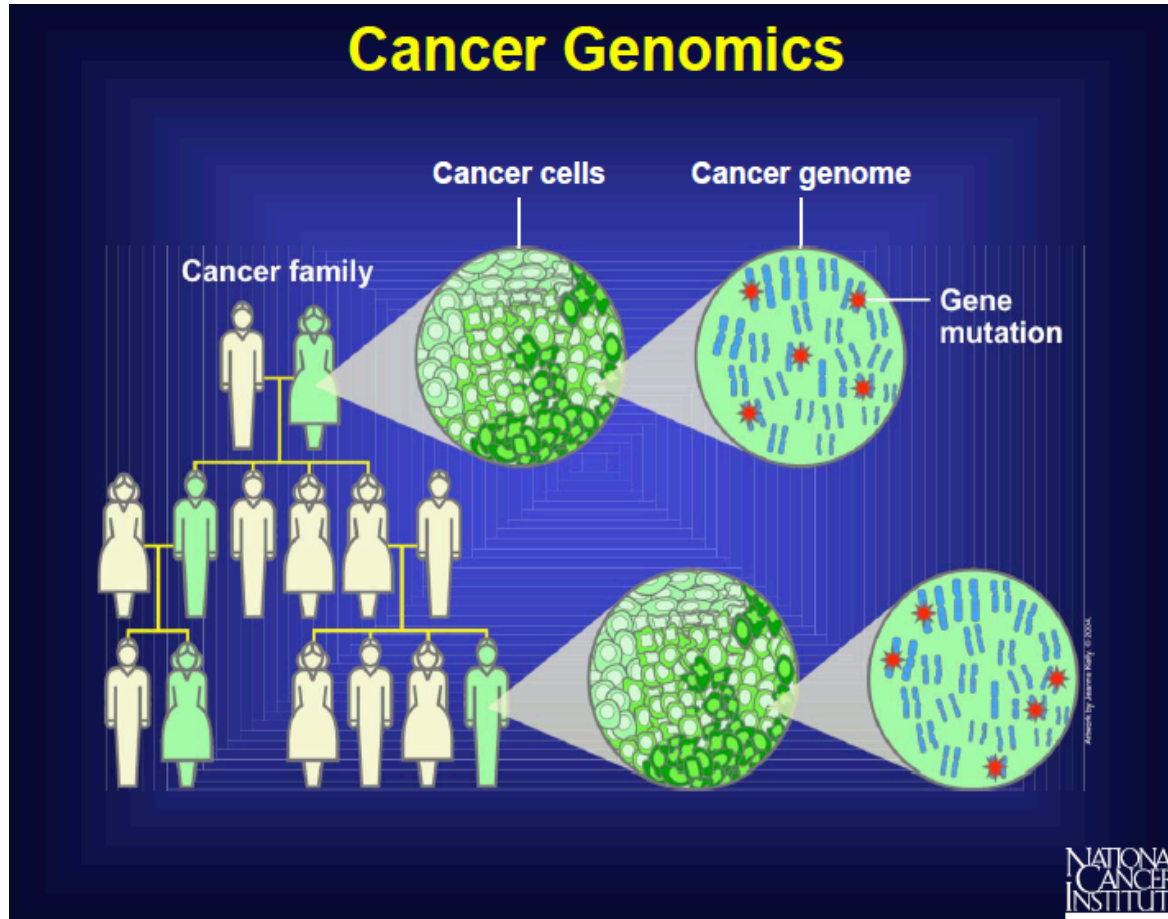


Etablissement du diagnostic différentiel et de la forme la plus probable de SMD/LMA familiale



RECONNAÎTRE LES FORMES FAMILIALES DE PRÉDISPOSITIONS AUX SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES/LMA:

pourquoi ?



RECONNAÎTRE LES FORMES FAMILIALES DE PRÉDISPOSITIONS AUX SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES/LMA: *pourquoi ?*

Clinical significance of an underlying genetic predisposition syndrome in a patient with MDS.

- Choice of MDS therapy
- Considerations for HSCT
 - Timing of transplant
 - Choice of conditioning regimen
 - Donor selection
 - Unique transplant-related complications
- Prognosis
- Cancer surveillance
- Pre-implantation genetics
- Genetic counseling of patient and family

RECONNAÎTRE LES FORMES FAMILIALES DE PRÉDISPOSITIONS AUX SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES/LMA:

pourquoi ?

- Reconnaître les porteurs asymptomatiques apparentés-> **exclusion comme donneur pour allo-HSCT**;
- Suivi hématologique des porteurs « sains » pour **détecter progression clonale et évolution vers AML**;
- Adresser les familles à la consultation de génétique pour évaluer le risque préconceptionnel;
- Seule une minorité de cas conduit à l'identification de la cause génétique -> recherche pour identification de nouveaux gènes de susceptibilité;
- Séquencage systématique -> identification de nouveaux gènes candidates dans les régions codantes et non codantes -> amélioration connaissance physiopathologie ff SMD/LMA ;
- Découverte de nouvelles altérations somatiques récurrentes -> nouvelles cibles thérapie ciblée et/ou diagnostic précoce

RECONNAÎTRE LES FORMES FAMILIALES DE SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES/ LMA:

pourquoi ?

Practice points

- In children and younger adults, MDS is strongly associated with cytotoxic exposures, classic hereditary BMFS and non-syndromic familial MDS/AML syndromes.
- A diagnosis of a genetic predisposition syndrome in a patient with MDS may have immediate practical implications for decisions for MDS therapy, HSCT considerations (including timing of transplant, donor selection, conditioning regimen, and expected toxicities), cancer surveillance, and genetic counseling of patient and their family.
- Because of the risk for life-threatening toxicities with inappropriate therapy, all pediatric and adult MDS patients under the age of 50 years, without a history indicative of treatment-related MDS, should be evaluated for an underlying predisposition syndrome and tested to exclude FA, DC and *GATA2* haploinsufficiency.
- Clinical history suggestive of an underlying genetic predisposition syndrome includes a personal or family history of cytopenias, congenital anomalies and associated clinical conditions, family history of MDS/AML at a young age, and signature cytogenetic and molecular findings.
- With the increased integration of molecular testing and next-generation sequencing in clinical practice, we anticipate that more adult patients presenting with MDS will be diagnosed with a genetic predisposition syndrome; cautious interpretation of any identified gene mutations will be an ongoing challenge.

Formes familiales de prédispositions aux Syndromes myélodysplasiques/LMA, *quels types de prélèvements, source d'ADN ?*

- Recherche mutation(s) germinale(s) chez patients SMD/AML;
- Mutations somatiques récurrentes affectent gènes identiques aux formes familiales -> sang périphérique/moelle déconseillés;
- Sources alternatives d'ADN germinal:
 - fibroblastes cutanés;
 - cellules épithéliales buccales (frottis, ~~salive~~) (risque de contamination cell.sanguines, lymphocytes)
 - remarque: patients greffés HSCT -> fibroblastes obligatoires pour analyse génotype du RECEVEUR
- Problème: culture in vitro fibroblastes -> TAT 2 - 4 semaines

Guidelines cliniques pour le suivi:

Table II. Clinical management guidelines for patients and their families with familial MDS/AL predisposition syndromes.

Syndrome	At diagnosis	At follow-up
Familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy	1. Complete blood count with differential 2. Bone marrow biopsy with aspirate and cytogenetic analysis 3. HLA typing of the patient and all full siblings* 4. Consider platelet aggregation assays	1. Complete blood count with differential every 6 months 2. Clinical examination every 6 months 3. Annual bone marrow biopsy or with any worrisome change in complete blood count 4. Consultation with hematology prior to any surgical or invasive procedure regarding the need for platelet transfusions 5. Consideration of an allogeneic HSCT if a patient: • develops a regular transfusion requirement • develops a clonal cytogenetic abnormality • develops dysplasia or overt bone marrow malignancy • has a severe bleeding tendency
Familial AML with mutated <i>CEBPA</i>	1. Complete blood count with differential 2. Bone marrow biopsy with aspirate and cytogenetic analysis 3. HLA typing of the patient and all full siblings*	1. Complete blood count with differential every 6 months 2. Clinical examination every 6 months 3. Annual bone marrow biopsy or with any worrisome change in complete blood count 4. Consideration of an allogeneic HSCT if a patient: • develops a regular transfusion requirement • develops a clonal cytogenetic abnormality • develops dysplasia or overt bone marrow malignancy
Familial MDS/AML with <i>GATA2</i> mutation	1. Complete blood count with differential 2. Bone marrow biopsy with aspirate and cytogenetic analysis 3. HLA typing of the patient and all full siblings* 4. If additional organ system abnormalities associated with germline <i>GATA2</i> mutations are identified (e.g. primary lymphedema, sensorineural deafness, atypical infections or pulmonary alveolar proteinosis), consider referral for appropriate subspecialty care	1. Complete blood count with differential every 6 months 2. Clinical examination every 6 months 3. Annual bone marrow biopsy or with any worrisome change in complete blood count 4. Consideration of an allogeneic HSCT if a patient: • develops a regular transfusion requirement • develops a clonal cytogenetic abnormality • develops dysplasia or overt bone marrow malignancy • develops recurrent severe infections

Formes familiales de prédispositions aux Syndromes myélodysplasiques/LMA,

indications d'allogreffe HSCT?

- **Pénétrance incomplète -> évaluation risque progression vers leucose malaisée;**
- **Variabilité du risque (hétérogénéité mutations, épigénétique, ...)**
- **Indications allo-HSCT limitées individus à risque élevé:**
 - aggravation cytopénie(s), besoins transfusionnels;
 - tendance aux hémorragies
 - Elévation blastose, dysplasie multi-lignées, anomalies cytogénétique clonale
- **Eviter utilisation cellules souches d'un donneur familial porteur de la mutation prédisposante à la ff SMD/AML (délais de prise de greffe, rejet, leucémie dérivée du donneur, survie mauvaise).**
- **Famille suspecte ff SMD/AML SANS mutation identifiée: choix du donneur ?**

Syndromes myélodysplasiques/LMA, *perspectives ?*

IDENTIFICATIONS DE NOUVEAUX GENES CANDIDATS

Inherited and Somatic Defects in *DDX41* in Myeloid Neoplasms

Highlights

- *DDX41* represents a class of tumor suppressor genes in myeloid neoplasms
- Somatic missense mutations in *DDX41* can be found in AML
- Germline *DDX41* mutations predispose to somatic *DDX41* mutations as a secondary hit
- *DDX41* expression is haploinsufficient in cases with del(5q) involving *DDX41* locus

Authors

Chantana Polprasert,
Isabell Schulze, ...,
Carsten Müller-Tidow,
Jaroslaw P. Maciejewski

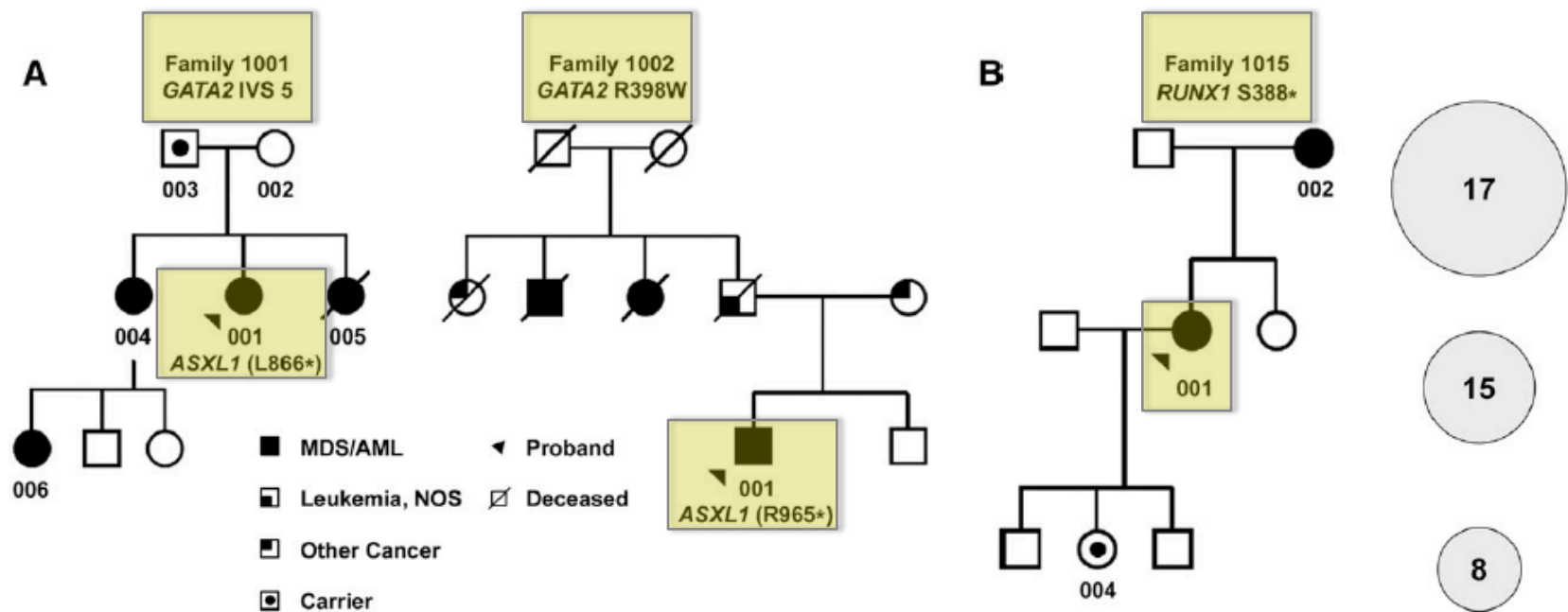
Correspondence

carsten.mueller-tidow@uk-halle.de
(C.M.-T.),
maciejj@ccf.org (J.P.M.)

In Brief

Polprasert et al. identify germline *DDX41* mutations in adult familial acute myeloid leukemia syndrome and somatic *DDX41* mutations in sporadic myeloid neoplasms, and show that *DDX41* lesions display altered pre-mRNA splicing and

APPORTS DES TECHNIQUES DE SMP DANS L'IDENTIFICATION DES MUTATIONS GERMINALES DE PRÉDISPOSITION



Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia

Jane E. Churpek,¹ Khateriaa Pyrtel,² Krishna-Latha Kanchi,³ Jin Shao,² Daniel Koboldt,^{2,4} Christopher A. Miller,³ Dong Shen,⁵ Robert Fulton,³ Michelle O'Laughlin,³ Catrina Fronick,³ Iskra Pusic,⁴ Geoffrey L. Uy,⁴ Evan M. Braunstein,⁶ Mark Levis,⁶ Julie Ross,⁷ Kevin Elliott,² Sharon Heath,² Allan Jiang,⁴ Peter Westervelt,^{2,4} John F. DiPersio,^{2,4} Daniel C. Link,^{2,4} Matthew J. Walter,^{2,4} John Welch,^{2,4} Richard Wilson,^{2,3} Timothy J. Ley,^{2,4} Lucy A. Godley,¹ and Timothy A. Graubert⁸

¹Section of Hematology/Oncology, Center for Clinical Cancer Genetics, The University of Chicago, Chicago, IL; ²Siteman Cancer Center, ³The Genome Institute, and ⁴Division of Oncology, Department of Medicine, Washington University, St Louis, MO; ⁵Medimmune/AstraZeneca, Gaithersburg, MD; ⁶Sidney Kimmel Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, MD; ⁷Department of Medicine, University of Minnesota, Minneapolis, MN; and ⁸Massachusetts General Hospital Cancer Center, Boston, MA

Key Points

- Known pathogenic germ line variants in 12 genes can explain nearly 30% of families with inherited predisposition to MDS/AML.

Familial clustering of myelodysplastic syndromes (MDSs) and acute myeloid leukemia (AML) can be caused by inherited factors. We screened 59 individuals from 17 families with 2 or more biological relatives with MDS/AML for variants in 12 genes with established roles in predisposition to MDS/AML, and identified a pathogenic germ line variant in 5 families (29%). Extending the screen with a panel of 264 genes that are recurrently mutated in de novo AML, we identified rare, nonsynonymous germ line variants in 4 genes, each segregating with MDS/AML in 2 families.

progression to MDS/AML in these familial cases

cases and asymptomatic carriers, we identified recurrent

line GATA2 mutations, and recurrent mutations in other known MDS/AML drivers.

Mutations in genes that are recurrently mutated in de novo AML were underrepresented in the familial MDS/AML cases, although the total number of somatic mutations per exome was the same. Lastly, clonal skewing of hematopoiesis was detected in 67% of young,

asymptomatic RUNX1 carriers, providing a potential biomarker that could be used for surveillance in these high-risk families. (*Blood*.

ANALYSE DE CINQ FAMILLES AVEC UN PANEL DE 12 GÈNES

Table 1. Pathogenic germ line variants detected by targeted sequencing

Family	Subject	Gene	Transcript	Coding change	Substitution	Genotype	Protein	dbSNP ID	MAF
1001	001	GATA2	NM_001145661.1	Intronic	c.1017+572 (C>T)	Heterozygous	None	None	0
	002					Wild-type			
	003					Heterozygous			
	005					Heterozygous			
	006					Heterozygous			
1002	001	GATA2	NM_001145661.1	Missense	c.1192 (C>T)	Heterozygous	p.R398W	rs387906629	0
1003	001	GATA2	NM_001145661.1	Missense	c.1061 (C>T)	Heterozygous	p.T354M	rs387906631	0
	003					Heterozygous			
1011	001	SBDS	NM_016038.2	Missense	c.506 (G>A)	Heterozygous	p.R169H	rs113993996	0
	001	SBDS	NM_016038.2	Splice	c.258+2 (T>C)	Heterozygous	e2+2	rs113993993	0.002
	001	FANCA	NM_000135.2	Missense	c.1340 (C>T)	Heterozygous	p.S447L	rs149551759	0.0002
	001	FANCA	NM_000135.2	Splice	c.3349-3 (C>T)	Heterozygous	e34-3	rs373861415	0.0001
1015	001	RUNX1	NM_001754.4	Nonsense	c.1163 (C>A)	Heterozygous	p.S388*	None	0
	002					Heterozygous			
	004					Heterozygous			

n= 59 (17 familles)

Mutations germinales = 5 familles (30%)

ANALYSE DE FAMILLE PAR NGS

Table 2. Characteristics of patient cohort selected for tumor/normal sequencing

Subject	Relationship	Age, y	RMG*	Exome	Gene	Protein	WHO classification	Karyotype
1001-001	Proband	24	X	X	<i>GATA2</i>	Intronic	RCMD	Normal
1001-005	Sister	21	X	X	<i>GATA2</i>	Intronic	AML with MDS-related features	Normal
1002-001	Proband	48	X	X	<i>GATA2</i>	p.R398W	RCMD	add(3)(q21), +8, del(12)(p11.2p13)
1003-003	Father	68	X	X	<i>GATA2</i>	p.T354M	AML with MDS-related features	Normal
1006-001	Proband	71	X		Unknown	NA	RCMD	Normal
1006-005	Maternal first cousin	61	X		Unknown	NA	RAEB-I	Normal
1010-009	Niece	44	X		Unknown	NA	MDS, unclassified	t(12;17;13) (q24.1;q23;q14.1)
1012-001	Proband	30	X		Unknown	NA	AML NOS (AML-M6a)	Normal
1014-001	Proband	65	X		Unknown	NA	AML NOS (AML-M6)	Normal
1015-001	Proband	37	X	X	<i>RUNX1</i>	p.R388X	MDS with isolated del(5q)	del(5q)
1015-002	Mother	49	X	X	<i>RUNX1</i>	p.R388X	AML with MDS-related features	Normal
1015-004	Daughter	18		X	<i>RUNX1</i>	p.R388X	Unaffected carrier	Not done
1016-001	Proband	54	X		Unknown	NA	AML NOS (AML-M6)	Unknown
1019-001	Proband	14		X	<i>RUNX1</i>	p.W279X	Hypoplastic without overt dysplasia	Normal
1019-003	Father	54		X	<i>RUNX1</i>	p.W279X	Unaffected carrier	Not done
1020-004	Aunt	86	X		Unknown	NA	RAEB-II	+8
1021-001	Proband	7	X	X	<i>RUNX1</i>	p.R204X	RAEB-I	del(7q)
1021-003	Father	40		X	<i>RUNX1</i>	p.R204X	Unaffected carrier	Not done
1021-004	Uncle	35		X	<i>RUNX1</i>	p.R204X	Unaffected carrier	Not done
1021-005	Paternal grandmother	61	X	X	<i>RUNX1</i>	p.R204X	RAEB-I	Normal
1022-001	Proband	41		X	<i>RUNX1</i>	p.L472fsX123	Unaffected carrier	Not done
1022-005	Daughter	8		X	<i>RUNX1</i>	p.L472fsX123	Unaffected carrier	Not done
1022-007	Brother	46		X	<i>RUNX1</i>	p.L472fsX123	Unaffected carrier	Not done
1024-001	Proband	50		X	<i>RUNX1</i>	p.Y260X	Dysmegakaryopoiesis	del(11q23), -Y
1024-005	Daughter	19		X	<i>RUNX1</i>	p.Y260X	Unaffected carrier	Unknown
1024-007	Daughter	12		X	<i>RUNX1</i>	p.Y260X	AML	t(2;11)(q31;p15)

Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia

Jane E. Churpek,¹ Khateriaa Pyrtel,² Krishna-Latha Kanchi,³ Jin Shao,² Daniel Koboldt,^{2,4} Christopher A. Miller,³ Dong Shen,⁵ Robert Fulton,³ Michelle O'Laughlin,³ Catrina Fronick,³ Iskra Pusic,⁴ Geoffrey L. Uy,⁴ Evan M. Braunstein,⁶ Mark Levis,⁶ Julie Ross,⁷ Kevin Elliott,² Sharon Heath,² Allan Jiang,⁴ Peter Westervelt,^{2,4} John F. DiPersio,^{2,4} Daniel C. Link,^{2,4} Matthew J. Walter,^{2,4} John Welch,^{2,4} Richard Wilson,^{2,3} Timothy J. Ley,^{2,4} Lucy A. Godley,¹ and Timothy A. Graubert⁸

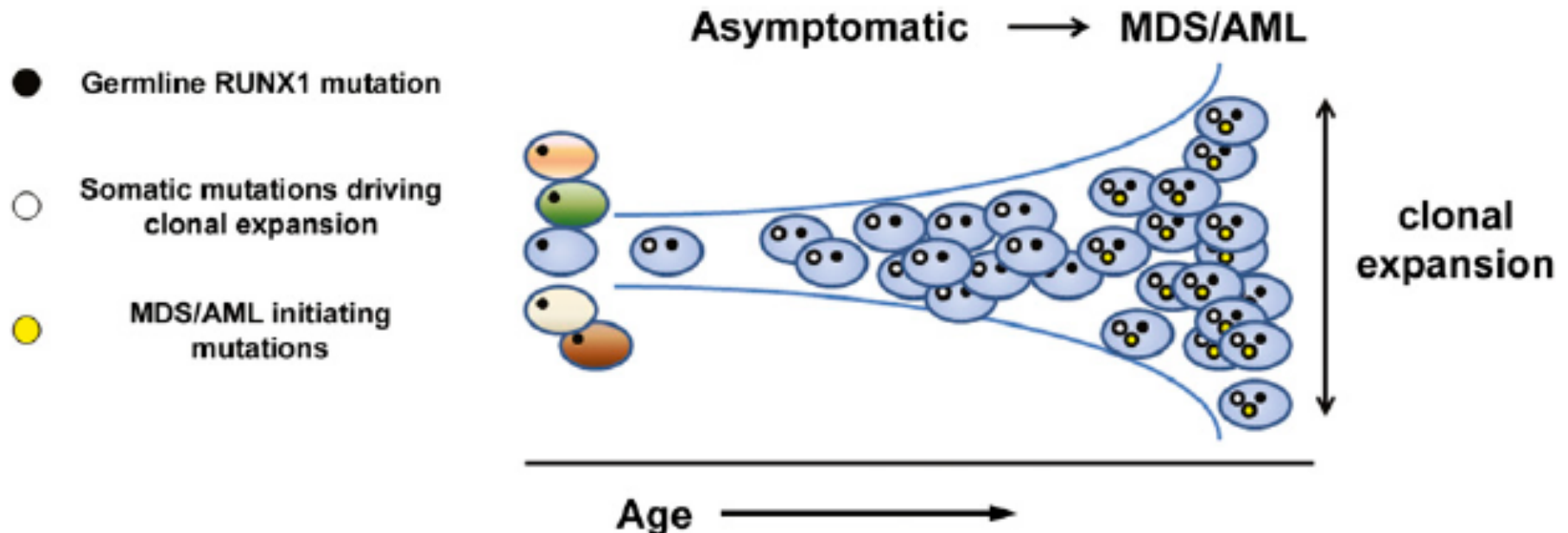
¹Section of Hematology/Oncology, Center for Clinical Cancer Genetics, The University of Chicago, Chicago, IL; ²Siteman Cancer Center, ³The Genome Institute, and ⁴Division of Oncology, Department of Medicine, Washington University, St Louis, MO; ⁵Medimmune/AstraZeneca, Gaithersburg, MD; ⁶Sidney Kimmel Cancer Center, Johns Hopkins University, Baltimore, MD; ⁷Department of Medicine, University of Minnesota, Minneapolis, MN; and ⁸Massachusetts General Hospital Cancer Center, Boston, MA

Key Points

germ line *RUNX1* mutations develop detectable clonal hematopoiesis with a cumulative risk of >80% by age 50 years.

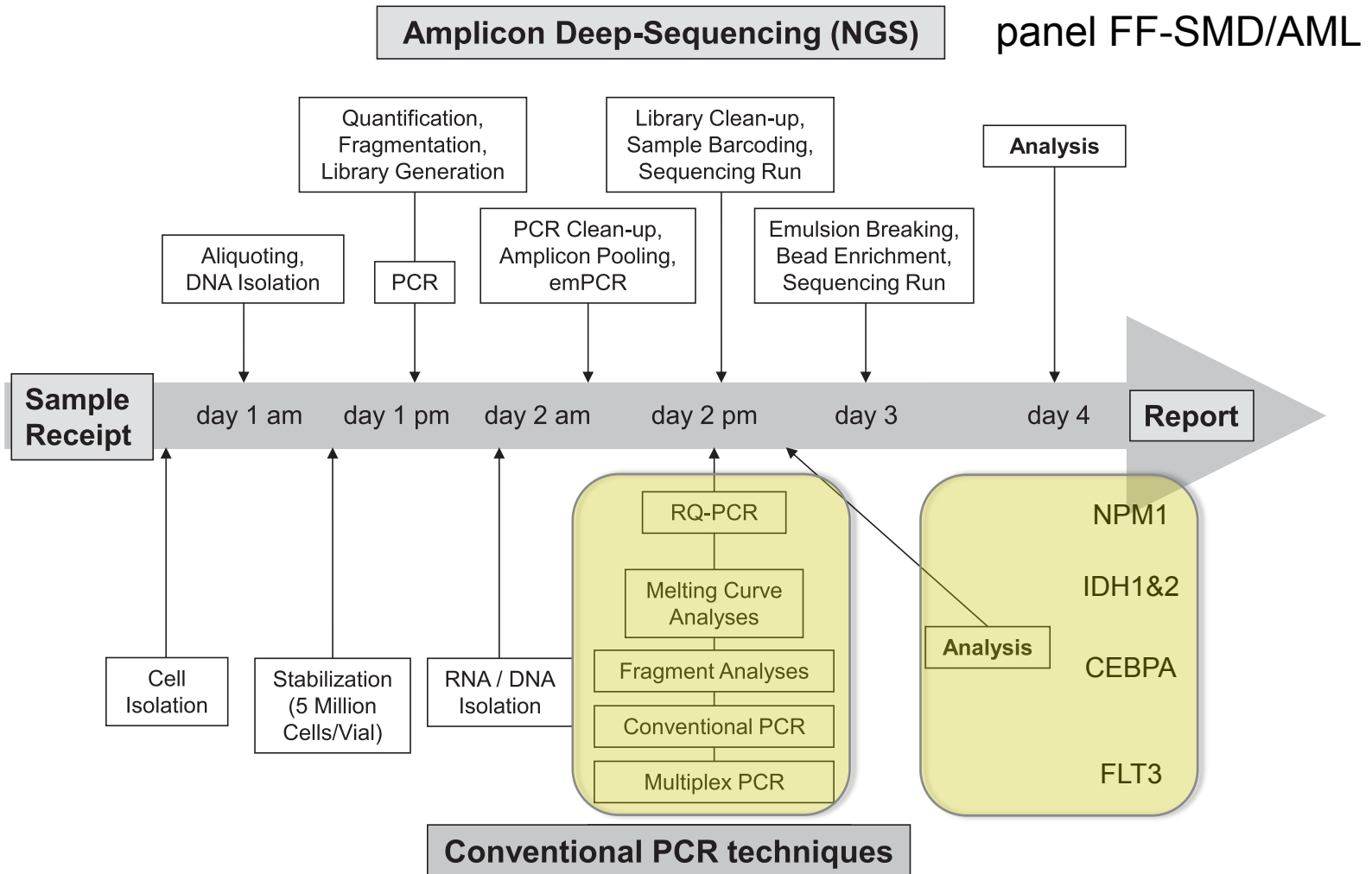
Familial clustering of myelodysplastic syndromes (MDSs) and acute myeloid leukemia (AML) can be caused by inherited factors. We screened 59 individuals from 17 families with 2 or more biological relatives with MDS/AML for variants in 12 genes with established roles in predisposition to MDS/AML, and identified a pathogenic germ line variant in 5 families (29%). Extending the screen with a panel of 264 genes that are recurrently mutated in de novo AML, we identified rare, nonsynonymous germ line variants in 4 genes, each segregating with MDS/AML in 2 families. Somatic mutations are required for progression to MDS/AML in these familial cases. Using a combination of targeted and exome sequencing of tumor and matched normal samples from 26 familial MDS/AML cases and asymptomatic carriers, we identified recurrent frameshift mutations in the cohesin-associated factor *PDS5B*, co-occurrence of somatic *ASXL1* mutations with germ line *GATA2* mutations, and recurrent mutations in other known MDS/AML drivers. Mutations in genes that are recurrently mutated in de novo AML were underrepresented in the familial MDS/AML cases, although the total number of somatic mutations per exome was the same. Lastly, clonal skewing of hematopoiesis was detected in 67% of young, asymptomatic *RUNX1* carriers, providing a potential biomarker that could be used for surveillance in these high-risk families. (*Blood*.

Formes familiales de prédispositions aux Syndromes myélodysplasiques/ LMA, une *physiopathologie complexe*



Syndromes myélodysplasiques/LMA, *perspectives au CHU de Liège?*

Time Table for Molecular Diagnostics



Formes familiales de prédispositions aux Syndromes myélodysplasiques/LMA, *quelles analyses réaliser ?*

Panel NGS actuel (partiel)

Gène	Chromosome	Exons
<i>ABL1</i>	9	4-9
<i>ASXL1</i>	20	12
<i>BCOR</i>	X	4-13
<i>BCORL1</i>	X	2-13
<i>BIRC3</i>	11	6-9
<i>CALR</i>	19	9
<i>CBL</i>	11	8-9
<i>CBLB</i>	3	9-10
<i>CBLC</i>	19	9-10
CEBPA	19	1
<i>CSF1R</i>	5	22
<i>CSF3R</i>	1	14;17
<i>DNMT3A</i>	2	2-23
<i>ETNK1</i>	12	3
<i>ETV6</i>	12	1-8
<i>EZH2</i>	7	2-20
<i>FBXW7</i>	4	9-12
<i>FLT3</i>	13	14-15;20
<i>GATA1</i>	X	2-6
GATA2	3	2-6
<i>HIF2A</i>	2	12
<i>HRAS</i>	11	2-4
<i>IDH1</i>	2	4
<i>IDH2</i>	15	4
<i>IKZF1</i>	7	2-8
<i>IL7R</i>	5	6
<i>JAK1</i>	1	14;17
<i>JAK2</i>	9	12;14
<i>JAK3</i>	19	4;11;13;15-16
<i>KIT</i>	4	2;8-9;11;13-14;17
<i>KRAS</i>	19	2-4
<i>LNK</i> (<i>SH2B3</i>)	12	2;5;7-8
<i>MPL</i>	1	10
<i>NF1</i>	17	1-58
<i>NOTCH1</i>	9	25-28;34
<i>NOTCH2</i>	1	25-28;34
<i>NPM1</i>	5	11
<i>NRAS</i>	1	2-4
<i>PDGFRA</i>	4	12;14;18
<i>PHD2</i> (<i>EGLN1</i>)	1	1-5
<i>PHF6</i>	X	2-10
<i>PRPF8</i>	17	2-43
<i>PTPN11</i>	12	3-13
<i>RAD21</i>	8	2-14
<i>RhoA</i>	3	2-5
RUNX1	21	1-6
<i>SETBP1</i>	18	3 hotspots exon 4 : (AA 180 à 260 ; 603 à 714 ; 800 à 935)
<i>SF3B1</i>	2	6;9;13-16
<i>SMC1A</i>	X	2;11;16-17
<i>SMC3</i>	10	10;13;19;23;25-28

TECHNIQUE(S) D'ANALYSE(S) DEMANDEE(S)
☐ **Caryotype^A**
☐ **FISH^A**
☐ **Array-CGH^B**
DONNEES CLINIQUES (OBLIGATOIRE)

SHP
Bilan pré-felle
Mucosité 7

☐ **Diagnostic**
☐ **Rechute**
☐ **Suivi, traitement par :**

☒ **Prégrefe / Postgrefe**
☐ **allo** → ☐ **XX**
☐ **auto** → ☐ **XY**
☐ **Date de début du traitement :**

☒ **Date :** 21/11/2016

☐ **LEUCEMIE LYMPHOBLASTIQUE AIGUE (LLA)**
☐ **B**
☐ **T**
☐ **Biphénotypique**
☐ **Non connu**
☐ **Phénotype ambigu**
☐ **LEUCEMIE MYELOBLASTIQUE AIGUE (LMA)**
☐ **de novo**
☐ **SMD avec dysplasie**
☐ **Therapy related**
☐ **Non connu**
☐ **Phénotype ambigu**
☐ **SYNDROME MYELODYSPLASIQUE (SMD)**
☐ **Cytopénie**
☐ **réfractaire unilignée**
☐ **SMD Sq-**
☐ **Cytopénie**
☐ **réfractaire multilignées**
☐ **SMD inclassifiable**
☐ **AREB**
☐ **AR avec Ring**
☐ **Sidérobastes (ARRS)**
☐ **Non connu**
☐ **...% blastes médullaires**
☐ **NEOPLASIE MYELOPROLIFERATIVE (NMP)**
☐ **Leuc. Myéioide Chronique (LMC)**
☐ **Leuc. Chronique à Neutrophiles (LCN)**
☐ **Polycythémie Vraie - Maladie de Vaquez (PV)**
☐ **Thrombocythémie Essentielle (TE)**
☐ **Myélofibrose Primitive (joindre rapport biopsie médullaire)**
☐ **Syndrome d'Hyperéosinophilie (SHE)/Leucémie Chronique à Eosinophiles (LCE)**
☐ **Mastocytose Systémique (MS) (joindre rapport biopsie médullaire)**
☒ **OVERLAP SYNDROME « MDS/MPN »**
☐ **LMC atypique**
☐ **LMMC**
☐ **JMML**
☐ **ARRS-T**
☒ **SMD/NMP-U**
☐ **LEUCEMIE LYMPHOIDE CHRONIQUE (LLC) - LEUCEMIE PROLYMPHOCYTAIRE (LPL)**
☐ **B** ☐ **T** ☐ **Non connu**
☐ **LEUCEMIE A TRICHOLEUCOCYTES (LT/HCL)**
☐ **LEUCEMIES A GRANDS LYMPHOCYTES GRANULEUX (LGL)**
☐ **LYMPHOME HODGKINIEN**
☐ **LYMPHOME NON HODGKINIEN (LNH)**
☐ **B :** ☐ **Folliculaire (LF)** ☐ **T**
☐ **Non connu**
☐ **Diffus à Larges Cellules (DLBCL)**
☐ **Autre :**

☐ **MACROGLOBULINEMIE DE WALDENSTROM (WM) - LYMPHOME LYMPHOPLASMOCYTAIRE (LPL)**
☐ **GMOI - MYELOME MULTIPLE (MM) :** si taux de plasmocytes <10% (.....%) : Caryotype, FISH et CGH non réalisées.

☐ **AFFECTION NON HEMATOLOGIQUE :**

REGLES INAMI

A Règle nouvel article 33 INAMI : pour le suivi : maximum 6x/an la 1^{ère} année ; 4x/an de la 2^{ème} à la 5^{ème} année ; 1x/an après la 5^{ème} année ; maximum 2 prélèvements/bilan de suivi.

B Uniquement réalisable sur une liste limitative de pathologies (contacter le laboratoire de Cytogénétique).

CONTACTS

dispa.genetique@chu.uhg.ac.be

Cytogénétique

Dr M.JAMAR / Dr Sc. C.HERENS / Dr Sc. JH.CABERG / Secrétariat : 04/366.25.61

Génétique clinique

Dr V.BOURS / Dr S.GAILLEZ / Secrétariat : 04/366.71.24

 Fichier téléchargeable à l'adresse : <http://www.chuuliege.be/unilab/formulaires>

MQ.A11.66 - version 1 - Page 2/2

LEJOLY Natalya le 30/07/2015

COMPLET

Prélevé à l'extérieur

Norm :

Adresse :

Né(e) le :

Date de prélèvement : 12/05/2016 12:54

Date d'édition : 13/05/2016

Notre référence : 1605-14425

Analyse	Résultat 12/05/2016 12:54	Résultat précédent 1509-12954 08/09/2015 14:06	Intervalle de référence	Unité
MEDULLOGRAMME				
Conclusions				
<i>Frottis plutôt pauvre où les trois lignées médullaires sont présentes à tous les stades de maturation.</i> <i>La lignée rouge est proportionnellement hyperplasée; elle montre des signes de dysérythropoïèse avec atypies nucléaires et cytoplasmiques et défauts d'hémoglobinisation; cf Perls.</i> <i>La lignée granulocytaire est peu représentée et sans grandes particularités morphologiques.</i> <i>Les mégakaryocytes sont assez nombreux; formes hypo- et monolobées visualisées; formes à matériel nucléaire séparé; rares micromégakaryocytes.</i> <i>Pas de blastes visualisés.</i> <i>Moelle de cellularité très moyenne présentant des signes de dysplasie au niveau des lignées rouge et mégakaryocytaire sans excès de blastes.</i>				
Typage				
Lymphocytes (%)	30.0			%
Lympho. T totaux (CD2)	96.0	94.0		%
Lympho. T helper (CD4)	52.0	48.0		%
Lympho. T supresseur (CD8)	37.0	39.0		%
Lympho. T matures (CD3)	93.0	91.0		%
Lympho. T activés (CD3+DR+)	1.0	0.0		%
Lympho. B totaux (CD19)	3.0	4.0		%
Lympho.NK	5.0	6.0		%
Rapport T4/T8	1.41	1.23		
Lymphosum	101	101		%
<i>Les populations et sous-populations T sont normalement représentées.</i> <i>La population NK est peu représentée.</i> <i>La population B est nettement sous-représentée.</i>				
* En sous-traitance + - En dehors des valeurs de références t Téléphoné Avec l'expression de nos sentiments confraternels. Sous accréditation ISO 15189 - BELAC 371-MED				



Centre Hospitalier Universitaire de Liège

Domaine Universitaire du Sart Tilman - B35 - 4000 LIEGE 1

www.chuliege.be

Agréation :

N° 8.62700.18.998

CENTRE DE GENETIQUE

Agréation : 8.62990.19.996 art.33 & bis

Génétique clinique - 04/366.71.24

Biochimie génétique - 04/366.76.95 - fax 04/366.84.74

Cytogénétique - 04/366.25.61 - fax 04/366.29.74

Génétique moléculaire - 04/366.24.78

Biologie moléculaire hématologique - 04/366.25.61

Prescrit par DOCTEUR DRESSE MARIE- FRANCOISE

16509893698 LCIT

Impression du: 14/10/2016 à 12:00

Réf du labo: 14-160512-0071

Votre Réf: 1605-14425

Protocole DUPLICATA

CHR DE LA CITADELLE
Service de Biologie Clinique
Boulevard du 12è de Ligne, 1
4000 LIEGE - BELGIQUE

Date du prélèvement: 12/05/2016 12:54

Date de réception: 12/05/2016 14:27

Date de validation: 15/09/2016 14:56

1/3

BIOLOGIE MOLECULAIRE HEMATOLOGIQUE

Echantillon

Moelle

Renseignements cliniques

Syndrome myélodysplasique.

Premier prélèvement reçu le 08/09/2015.

PCR Qualitatives

NGS ciblé Haloplex Illumina

Mutations diverses

(1)

*Mutation du gène GATA2 identifiée

[GEN_BMH_NGS_Haloplex...]

(1) MSD/AML Héritaire

Technique:

Séquençage de nouvelle génération (NGS), d'une librairie de gènes cibles d'intérêts dans les pathologies myéloïdes, créée par capture par hybridation sur support solide (Haloplex/Agilent).

Détails: <http://www.genomics.agilent.com/article.jsp?pageId=3081&requestid=408690>

Commentaires

Nous avons réalisé l'analyse par séquençage massif parallèle (NGS) d'un panel de gènes d'intérêt dans le cadre de la mise au point diagnostique/pronostique de votre patient (Forme familiale de SMD/AML).

La librairie de régions d'intérêts séquencées comportait les (fragments) des gènes suivants:
CEBPA ; ETV6 ; GATA1 ; GATA2 (exons 2 à 6) ; JAK2 ; MPL ; RUNX1.

Métrie/paramètres particuliers: lors du run de séquençage la couverture était < à 500X.

Les variants suivants ont été identifiés :

-1) c.1111A>C; p.Asn371His de GATA2; VAF 40%.

Niveau cDNA: NM_001145661.1:c.1111A>C

Niveau gDNA: Chr3(GRCh38):g.128481851T>G

Niveau protéique: p.Asn371His

Il s'agit donc d'une transversion de A> C dans l'exon 6 entraînant une substitution faux-sens. L'Asn à la position 371 est changée en His.

La mutation p.Asn371His mise en évidence n'apparaît pas dans les bases de données classiques. Elle affecte toutefois le domaine "Zinc Finger 1" de la protéine encodée par le gène GATA2.

In silico les éléments suivants de pathogénécités sont identifiés:

Nucléotide très conservé (phyloP: 7.99 [-20.0;10.0])

Acide aminé très conservé jusqu'à Mouche drosophile (sur 12 espèces)

Ecart physico-chimique entre Asn et His peu important (Dist. de Grantham: 68 [0-215])

Variation située dans les domaines protéiques :

Zinc finger, GATA-type

Transcription factor, GATA-2/3

Align GVGD: C65 (GV: 0.00 - GD: 68.35)

SIFT: Deleterious (score: 0, median: 3.45)

MutationTaster: disease causing (p-value: 1)

Eu égard aux éléments de la clinique qui nous ont été transmis, à la blastose médullaire normale, la VAF aux alentours de 50%, la monosomie 7 concomitante et les données du génotypage supra, le tableau est compatible avec le diagnostic de SMD/AML à prédisposition familiale (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM #137295).

Deux syndromes sont associés à la présence de mutation germinale dans ce gène: le syndr MonoMAC, et le syndr d'Emberger.

Le risque de développer un MDS et/ou une AML est estimé à 50-70%.

Nous attirons également votre attention sur l'importance d'orienter le patient vers la consultation de conseil génétique afin:

NGS ciblé Haloplex Illumina (2)
Mutations diverses * Mutation du gène GATA2 identifiée
Commentaires

Nous avons réalisé l'analyse par séquençage massif parallèle (NGS) d'un panel de gènes d'intérêt dans le cadre de la mise au point diagnostique/pronostique de votre patient (Forme familiale de SMD/AML).

La librairie de régions d'intérêts séquencées comportait les (fragments) des gènes suivants:
CEBPA ; ETV6 ; GATA1 ; GATA2 (exons 2 à 6) ; JAK2 ; MPL ; RUNX1.

Métrie/paramètres particuliers: lors du run de séquençage la couverture était < à 500X.

Les variants suivants ont été identifiés :

-1) c.1111A>C; p.Asn371His de GATA2; VAF 40%.

Niveau cDNA: NM_001145661.1:c.1111A>C

Niveau gDNA: Chr3(GRCh38):g.128481851T>G

Niveau protéique: p.Asn371His

Il s'agit donc d'une transversion de A> C dans l'exon 6 entraînant une substitution faux-sens. L'Asn à la position 371 est changée en His.

La mutation p.Asn371His mise en évidence n'apparaît pas dans les bases de données classiques. Elle affecte toutefois le domaine "Zinc Finger 1" de la protéine encodée par le gène GATA2.

In silico les éléments suivants de pathogénécités sont identifiés:

Nucléotide très conservé (phyloP: 7.99 [-20.0;10.0])

Acide aminé très conservé jusqu'à Mouche drosophile (sur 12 espèces)

Ecart physico-chimique entre Asn et His peu important (Dist. de Grantham: 68 [0-215])

Variation située dans les domaines protéiques :

Zinc finger, GATA-type

Transcription factor, GATA-2/3

Align GVGD: C65 (GV: 0.00 - GD: 68.35)

SIFT: Deleterious (score: 0, median: 3.45)

MutationTaster: disease causing (p-value: 1)

Eu égard aux éléments de la clinique qui nous ont été transmis, à la blastose médullaire normale, la VAF aux alentours de 50%, la monosomie 7 concomitante et les données du génotypage supra, le tableau est compatible avec le diagnostic de

SMD/AML à prédisposition familiale (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM #137295).

Deux syndromes sont associés à la présence de mutation germinale dans ce gène: le syndr MonoMAC, et le syndr d'Emberger.

Le risque de développer un MDS et/ou une AML est estimé à 50-70%.

Nous attirons également votre attention sur l'importance d'orienter le patient vers la consultation de conseil génétique afin:

- 1) D'évaluation le risque pour le patient de développer un "cancer/AML";**
- 2) D'assurer le suivi hématologique des membres de la famille porteurs de la mutation;**
- 2) Le mode de transmission étant autosomal dominant, en cas de greffe familiale programmée chez le patient, d'exclure des donneurs potentiels, les porteurs de la mutation identifiée.**

Je reste à votre disposition pour tous renseignements complémentaires.

CONCLUSION PRATIQUE:

Attention au choix lors de la sélection des donneurs familiaux potentiels.

Formes familiales de prédispositions aux Syndromes myélodysplasiques/ LMA, *perspectives ?*

Collaboration accrue clinique – génétique – laboratoires !!!

Research agenda

- Identification of genes and pathways underlying development of MDS.
- Identification of familial MDS/AML predisposition syndromes.
- Identification of modifier genes that may determine the penetrance and age of onset of BMF and MDS in patients with a genetic predisposition syndrome.
- Epidemiologic studies of predisposition syndromes, including disease penetrance.
- Optimal surveillance and timing of HSCT in patients with MDS predisposition syndromes.
- Identification of therapeutic targets to prevent progression, and to treat and reverse disease.

CONCLUSIONS

1. **Nouvelle catégorie de pathologies myéloïdes dans la mise à jour 2016 de la WHO: « myeloïd neoplasms with germline predispositions »;**
2. **« PrédispositionS héréditaireS » aux SMD/LMA *via* mutations germinales;**
3. **Deux catégories à distinguer:**
 1. Syndromes d'insuffisance médullaire héréditaires
 2. Formes familiales de SMD/AML
4. **Les nouvelles technologies de séquençage massif parallèle permettent le diagnostic via les approches d'exome ou d'analyse de panels de gènes;**
5. **La mise en évidence des mutations germinales requièrent un prélèvement de tissu somatique, non tumoral;**
6. **Implications; diagnostiques, cliniques et thérapeutiques**
7. **Thérapeutique:**
 1. Exclusion des donneurs potentiels de HSC porteurs des mutations
 2. Surveillance hématologique des porteurs;
 3. Pharmacogénomique: toxicités

MERCI !!!

