

MYELOID NEOPLASIA

MBD4 guards against methylation damage and germ line deficiency predisposes to clonal hematopoiesis and early-onset AML

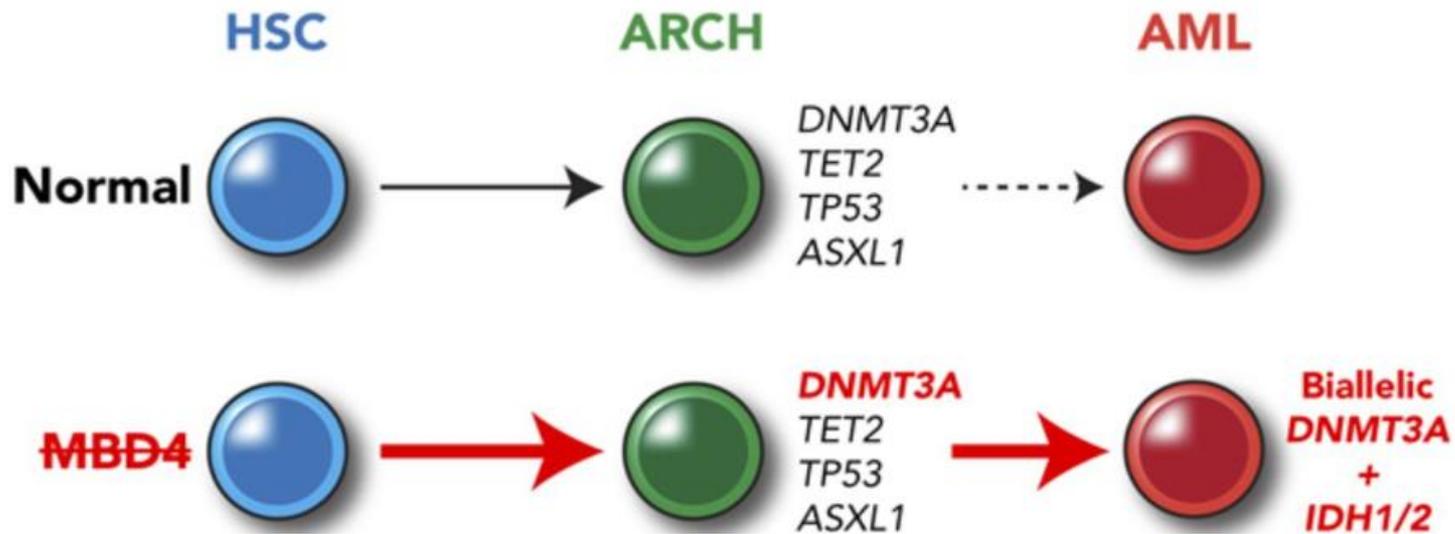
Mathijs A. Sanders,^{1,*} Edward Chew,^{2-5,*} Christoffer Flensburg,^{2,4} Annelieke Zeilemaker,¹ Sarah E. Miller,² Adil S. al Hinai,^{1,6} Ashish Bajel,^{3,5} Bram Luiken,¹ Melissa Rijken,¹ Tamara McLennan,⁷ Remco M. Hoogenboezem,¹ François G. Kavelaars,¹ Stefan Fröhling,⁸⁻¹⁰ Marnie E. Blewitt,^{4,7} Eric M. Bindels,¹ Warren S. Alexander,^{2,4} Bob Löwenberg,¹ Andrew W. Roberts,²⁻⁵ Peter J. M. Valk,^{1,†} and Ian J. Majewski^{2,4,†}

¹Department of Hematology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands; ²Division of Cancer and Haematology, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Parkville, VIC, Australia; ³Clinical Hematology, Peter MacCallum Cancer Center, Royal Melbourne Hospital, Parkville, VIC, Australia; ⁴Faculty of Medicine, Dentistry and Health Sciences, University of Melbourne, Parkville, VIC, Australia; ⁵Victorian Comprehensive Cancer Centre, Parkville, VIC, Australia; ⁶National Genetic Center, Royal Hospital, Ministry of Health, Muscat, Sultanate of Oman; ⁷Division of Molecular Medicine, The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Parkville, VIC, Australia; ⁸Division of Translational Oncology, National Center for Tumor Diseases Heidelberg and German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany; ⁹German Cancer Consortium, Heidelberg, Germany; and ¹⁰Section for Personalized Oncology, Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany

聖路加 抄読会

担当 若杉 / 平林 先生

5mC damage



ARCH: age related clonal hematopoiesis
=CHIP: clonal hematopoiesis of indeterminate potential

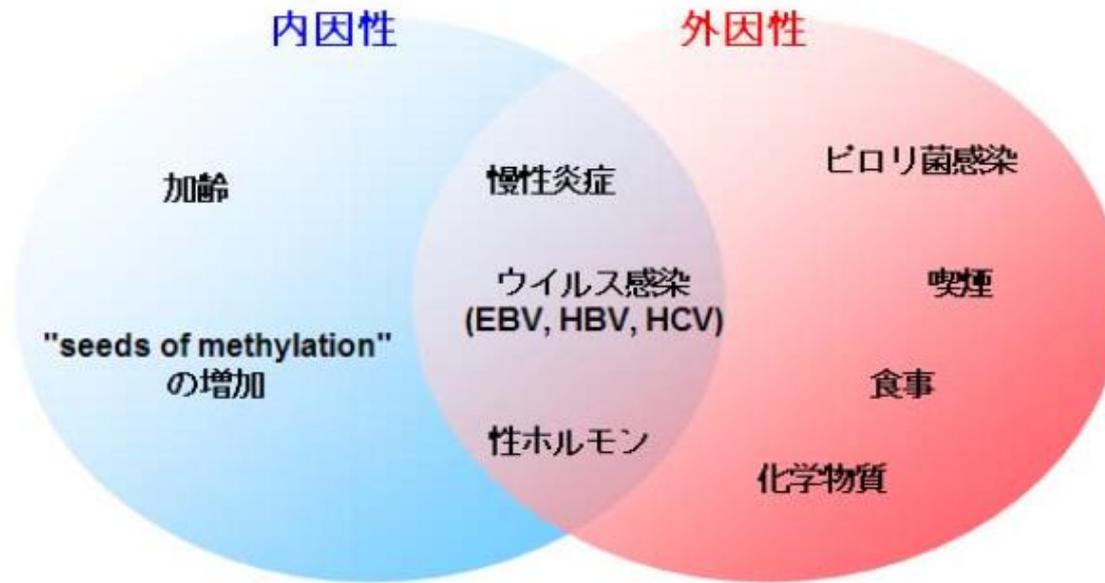
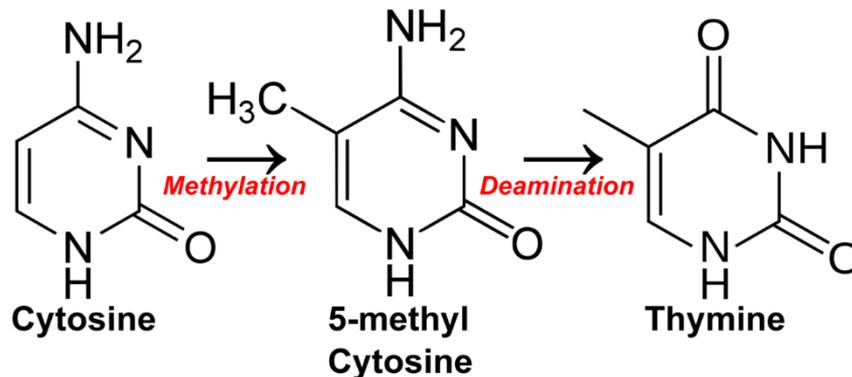


図 DNAメチル化異常を引き起こす要因

DNAメチル化異常を誘発する要因として最も古くから知られているものは、加齢である。その他に、大腸の炎症が持続する潰瘍性大腸炎、肝炎ウイルス感染などもDNAメチル化の促進因子であることが分かってきている。



ピリミジン塩基: チミン、シトシン、ウラシル

Abstract

- 5-mCのダメージは年齢とともに蓄積していく
- 5-mCのダメージと異なる組織の癌化との関連は不明瞭
- MBD4の欠損が3例の早期AMLの患者から発見
- 造血幹細胞のDNMT3Aの病的な変異はクローナルな造血やAMLの発症と関連
- MBD4の欠損は5-mCの修復機能に変異をもたらし散発性癌やAMLへの罹患と関連

EMC-AML-1

- 33歳 男性

AMLはtrisomy11を含み、NPM1,FLT3,CEBPA変異陰性
発症2年前大腸ポリープに対してポリペクトミーの既往
Ara-CとDNRの標準投与量に加え、Ara-C再投与で寛解
BU-CY投与後にHSCT実施
移植後2年3ヶ月で再発し

Salvage induction(高容量Ara-C,mitoxantrone,etoposide)寛解
allo HSCT行いGVHD、EBVの再活性化を経て寛解を得る
HSCT後2年で再発し死亡

WHEI-AML-1

- 31歳 女性

MDS様変化でmonosomy 7を含み、NPM1,FLT3,CEBPA変異陰性
高容量Ara-C,idarubicin,etoposideで治療開始し寛解を得る

2サイクルの(Ara-C,idarubicin,etoposide)地固め療法

姉妹からBU-CY後 allo HSCT施行

5週後には寛解を得られたが11週後に再発

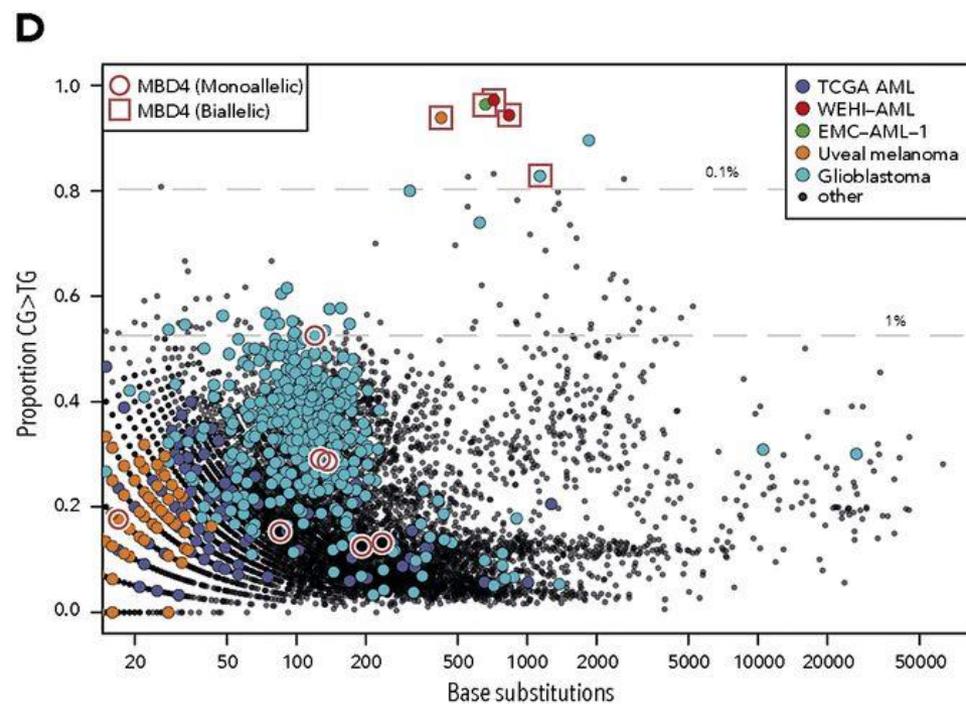
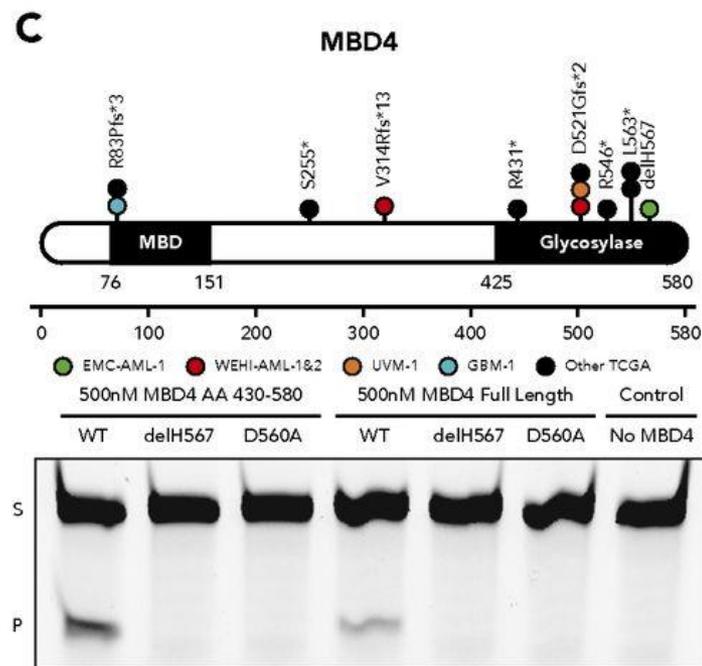
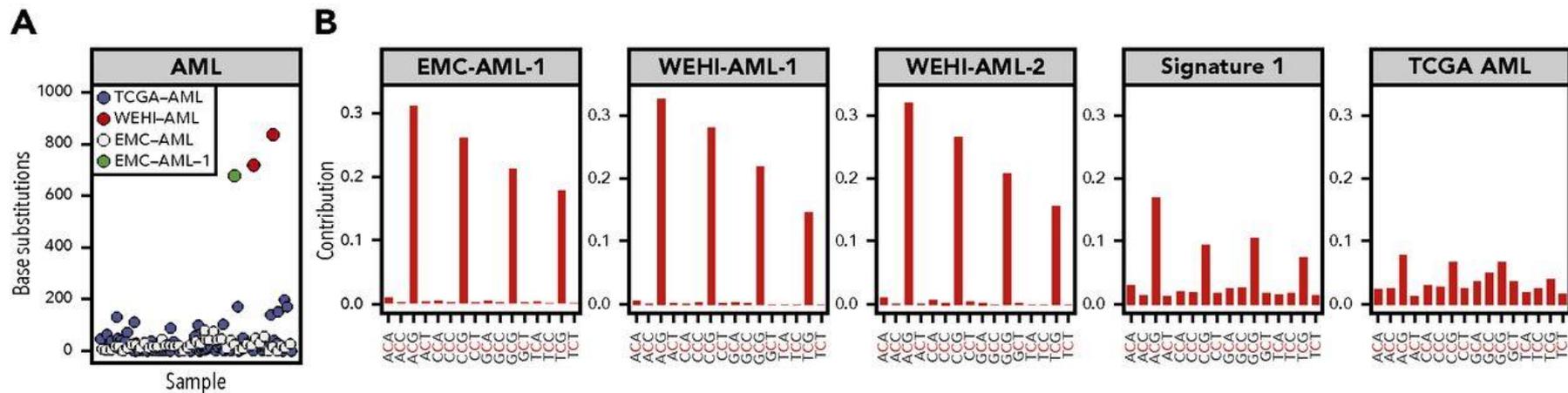
Salvage therapyとしてFLAG療法行うも再発から12ヶ月以内に死亡

WHEI-AML-2

- 30歳 女性 WHEI-AML-1の患者の妹
姉への末梢幹細胞輸血ドナー
月経過多、下行結腸や直腸のポリープからの出血による貧血あり
移植時には血算に異常なし
姉への移植後4年経過したのちに(34歳時)汎血球減少あり
MDS様変化を伴うAMLと診断(monosomy7)
NPM1,FLT3,CEBPA変異陰性
高容量Ara-C,idarubicin行い寛解得られた
FLU-CY-TBI後臍帯血移植行われ腸管にgrade1のGVHD
寛解継続しフォロー中

Methods

- 症例1-3について全ゲノムおよびエクソームの解析
- TCGA(The Cancer Genome Atlas)のMBD4およびCG>TG変異について評価
- Reduced representation bisulfite sequencing
- MBD4 wild-typeとKnockout miceに対して全ゲノム解析
- EMC-AML-1のSCDCsのゲノム解析
- MBD4 glycosylaseのactivity assay



Results

- Figure1-A,B

3例のAML(うち2例の同胞)

CG>TGとなる遺伝子変異

- Figure1-C

3症例のAMLでMBD4の機能欠失

MBD4:

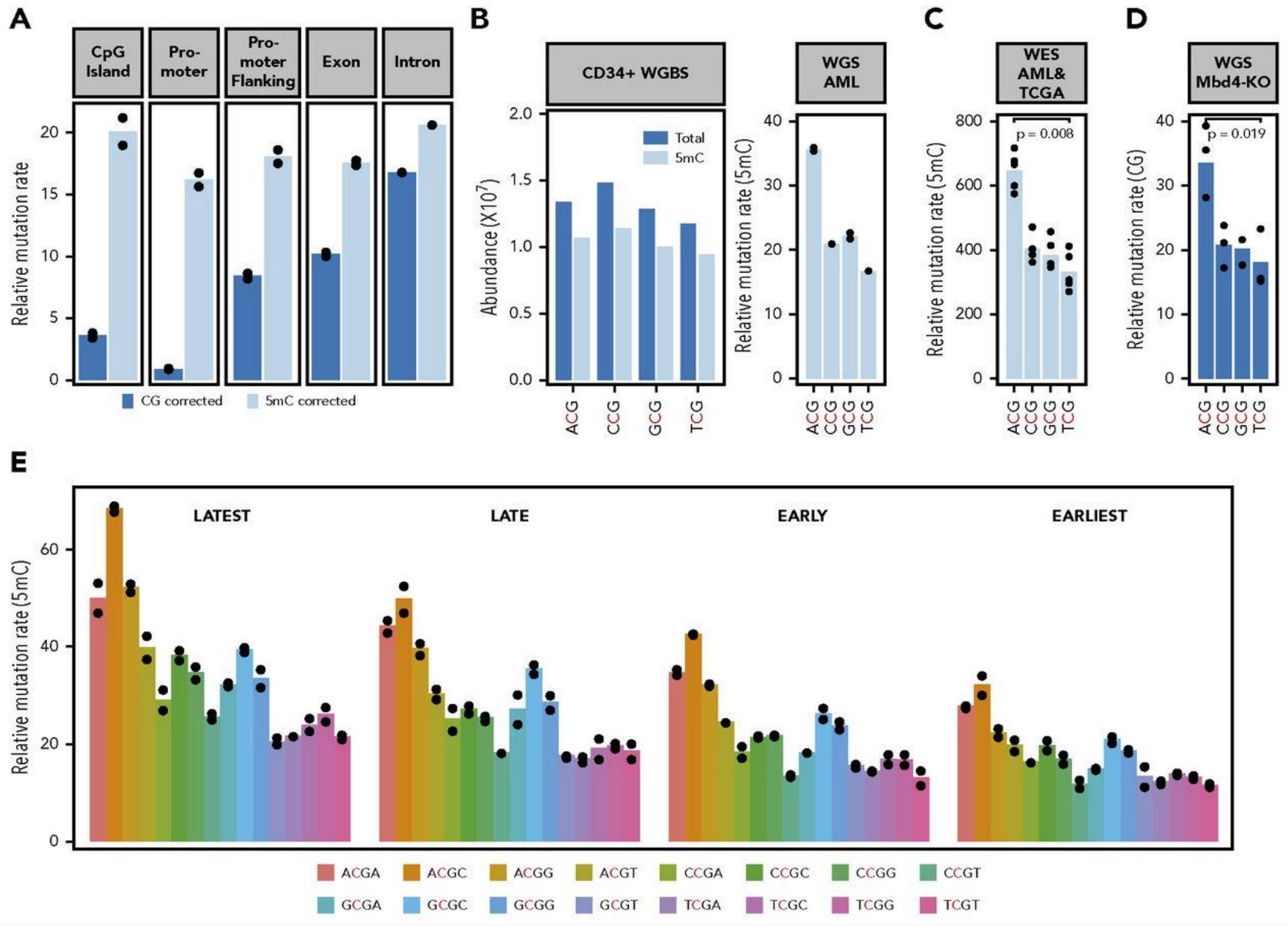
5-mCの脱アミノ化に対する修復

結腸の散発性癌のミスマッチ修復の異常に関連

- Figure1-D

がんデータベースよりMBD4欠失患者の患者を抽出

BiallelicなMBD4欠失に特異的にCG>TG変異を認めた



Results

- Figure2A

promoterやCG islandsのCG変異の割合は少ない

5-mCの量で修正した際に変異の出現は部位毎の差はない

- Figure2-B,C,D

ACGのtripletで変異を多く認めた

これらの傾向はMBD4欠失のAML以外の癌、knockout miceにも同様に認めた

- Figure2-E

細胞周期で後期の細胞/塩基配列がACGCとなる配列

ほどメチル化が起きやすい傾向にあった

Results

- Figure3

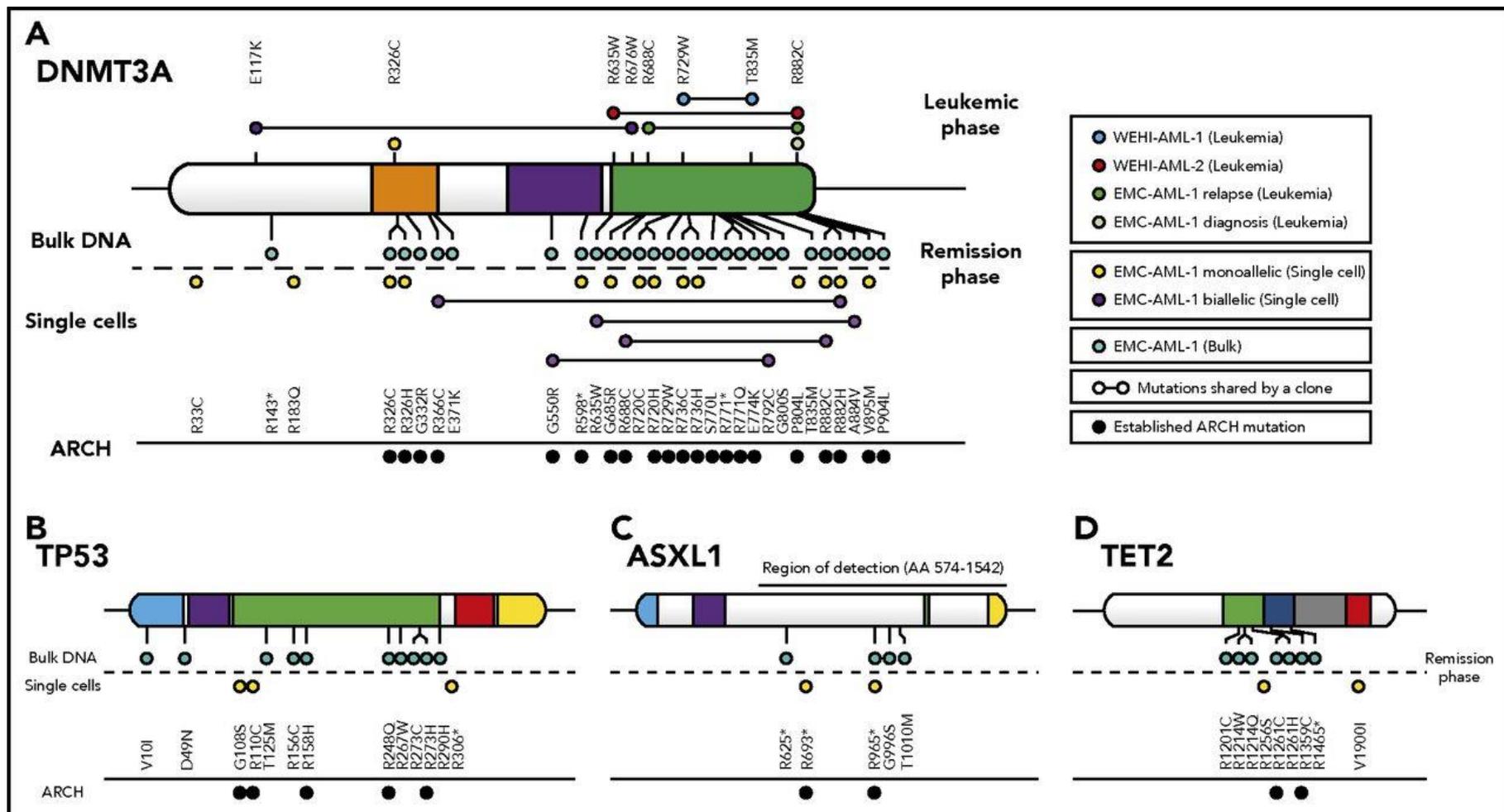
A:WHEI-AML1 B:EMC-AML-1 C:WHEI-AML2

DNMT3AやIDH1,2のCG>TGの変異

2例(A,B)で治療中、寛解期にもDNMT3A,IDH変異

DNMT3Aは造血幹細胞においてARCH(age related clonal hematopoiesis)に関連

これらの2例において治療後の寛解時期にも変異を認め
白血病発症に関連があると考えられる



Results

- Figure4 EMC-AML-1

白血病クローンは診断時、再発時にはdominant
寛解時DNMT3Aでは67%はmono-もしくはbiallelicにCG>TG変異

同様にARCHに関わるとされる

TP53,ASXL1,TET2でも変異を認めた

Discussion

- MBD4が5-mCのメチル化のダメージの修復に関わる
- MBD4のbiallelicな欠失はDNMT3Aの変異から早期のAML発症に関わる
- 加齢に伴いメチル化のダメージは蓄積するが、MBD4の欠失により早期に顕在化
- 様々なDNA修復機構がある中でMBD4の修復機構とAMLの発症の関連について明らかにした