



MUTAZIONI GERMINALI DI SH2B3 PREDISPONGONO AD UN DISORDINE MULTISISTEMICO CON PREDISPOSIZIONE A NEOPLASIE MIELOPROLIFERATIVE

Davide Leardini

Università di Bologna

Bologna, 3 Ottobre, 2023

XLVIII

CONGRESSO NAZIONALE

AIEOP

Bologna

2-4 Ottobre 2023

Il sottoscritto Davide Leardini

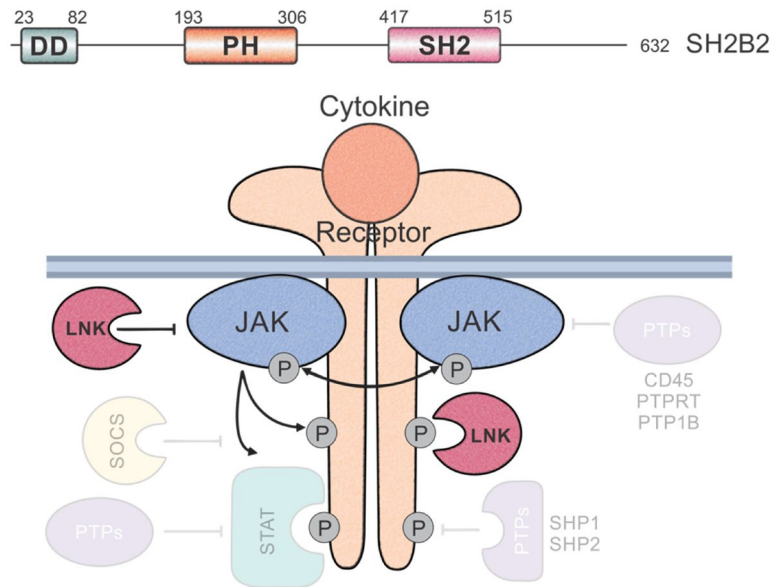
ai sensi dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 17 del Reg. Applicativo dell'Accordo Stato-Regione del 5 novembre 2009,

dichiara

X *che negli ultimi due anni NON ha avuto rapporti diretti di finanziamento con soggetti portatori di interessi commerciali in campo sanitario*

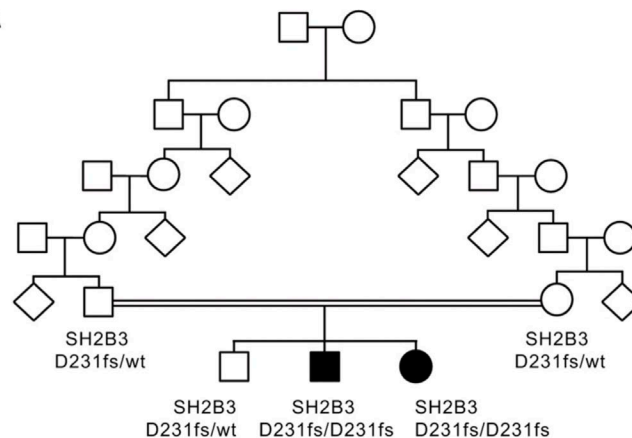
☐ *che negli ultimi due anni ha avuto rapporti diretti di finanziamento con i seguenti soggetti portatori di interessi commerciali in campo sanitario:*

-
-
-

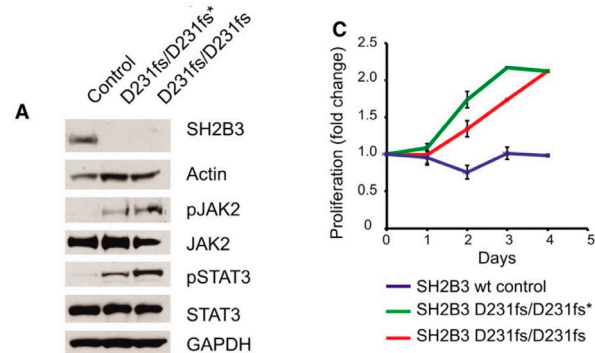


- Il gene SH2B adaptor protein 3 (SH2B3), noto anche come gene LNK, codifica per un regolatore negativo della segnalazione JAK2/STAT, che modula l'eritropoiesi e la megacariopoiesi.
- Questo circuito di feedback negativo è coinvolto nella regolazione delle condizioni in cui la via JAK/STAT è attivata, come la MPN.
- Mutazioni somatiche di SH2B3 sono state descritte nel 5-7% dei pazienti con MPN e in ALL ad alto rischio B-precursore.

A

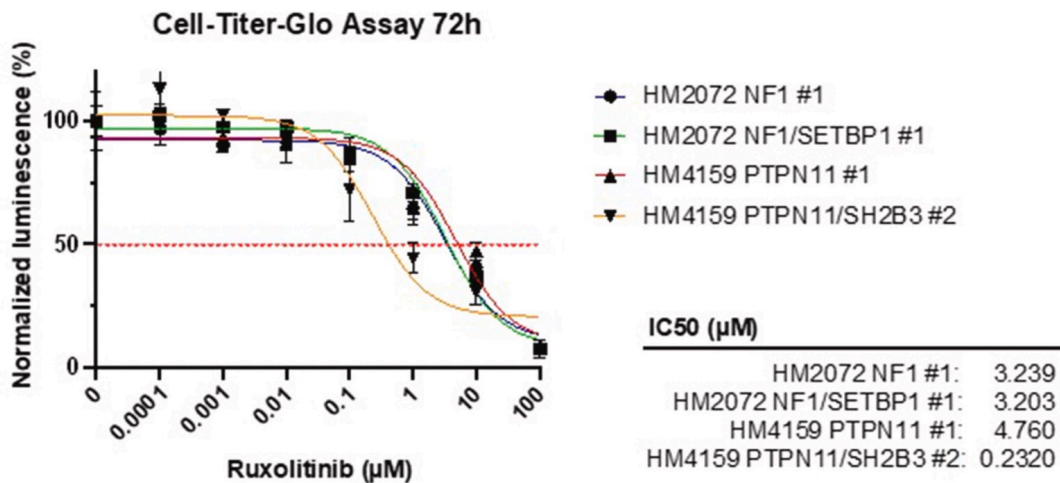


- Sono disponibili poche prove sul ruolo delle mutazioni germinali nello sviluppo e nella malattia di SH2B3, in particolare nei bambini.
- È stata riportata una parentela con due casi di pB-ALL.
- Nei pazienti mutanti SH2B3 è stata osservata un'elevata espressione della via JAK/STAT in SH2B3 e un vantaggio nella crescita.

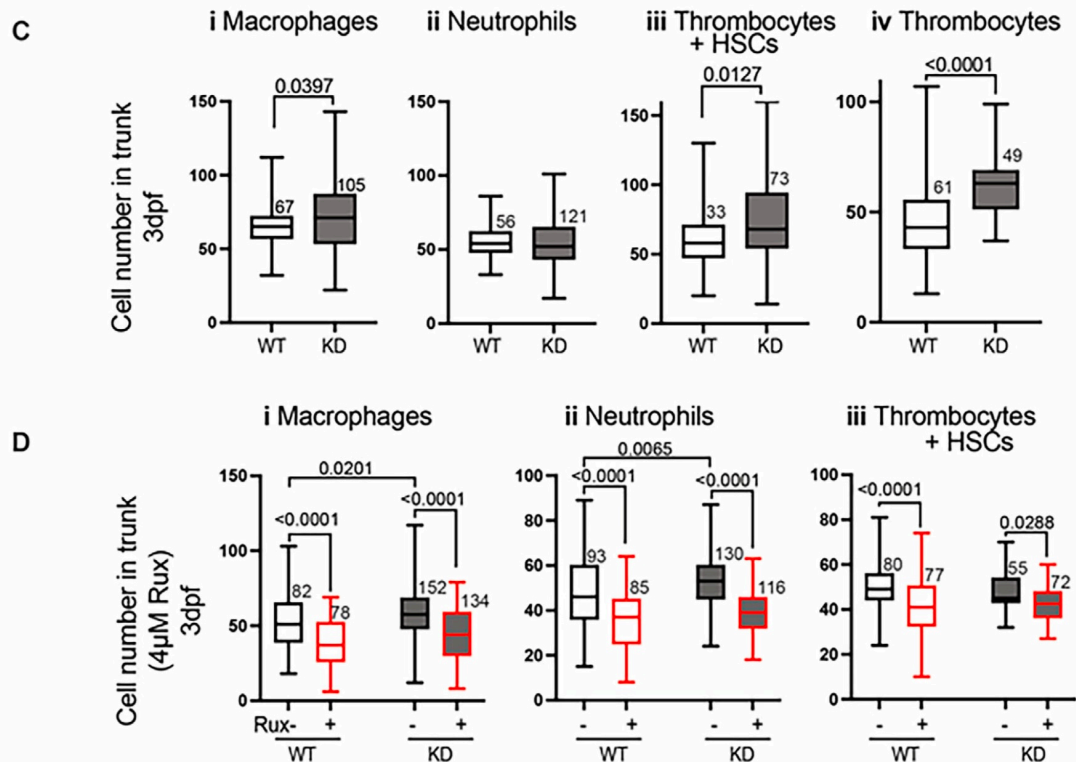


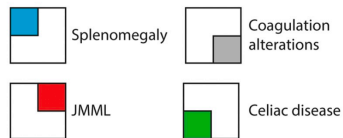
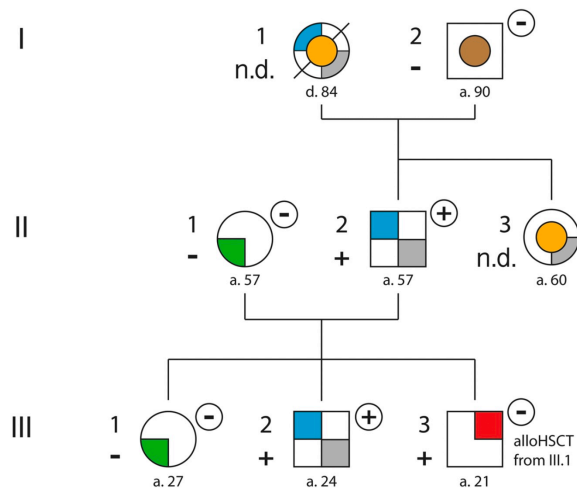
Case	Sex	Age at diagnosis	SH2B3 alteration (VAF%)	Configuration of SH2B3 alteration	Additional alterations	Cytogenetic abnormalities	Methylation profiles	Treatment	Outcome
1	M	4m	p.M211fs*57 (100%)	Germline	No	No	Low	Chemotherapy	Alive
2	M	0m	p.L438R (100%)	Germline	No	No	n/a	Chemotherapy	Alive

- Descritti due pazienti con SH2B3 come mutazione iniziale nella JMML
- Un modello in vitro di iPSC derivate da pazienti ha mostrato che le cellule mutanti SH2B3 sono più sensibili a ruxolitinib



- Il modello in vivo di editing genico CRISPR-Cas9 del pesce zebra sh2b3 manifesta un aumento significativo del numero di macrofagi e trombociti.
- Il trattamento dei pesci sh2b3 con l'inibitore JAK ruxolitinib ha intercettato il fenotipo mieloproliferativo.





+ *Cbl* germline mut
- *Cbl* germline WT
⊕ *SH2B3* germline mut
⊖ *SH2B3* germline WT
n.d. genetical status not determined

RESEARCH

Open Access



Immune dysregulation associated with co-occurring germline *CBL* and *SH2B3* variants

Francesco Baccelli¹, Davide Leardini^{1*}, Edoardo Muratore¹, Daria Messelodi², Salvatore Nicola Bertuccio², Maria Chiriaco³, Caterina Cancrini^{3,4}, Francesca Conti⁵, Fausto Castagnetti^{6,7}, Lucia Pedace⁸, Andrea Pession^{2,5}, Ayami Yoshimi⁹, Charlotte Niemeyer⁹, Marco Tartaglia¹⁰, Franco Locatelli⁸ and Riccardo Masetti^{1,2}

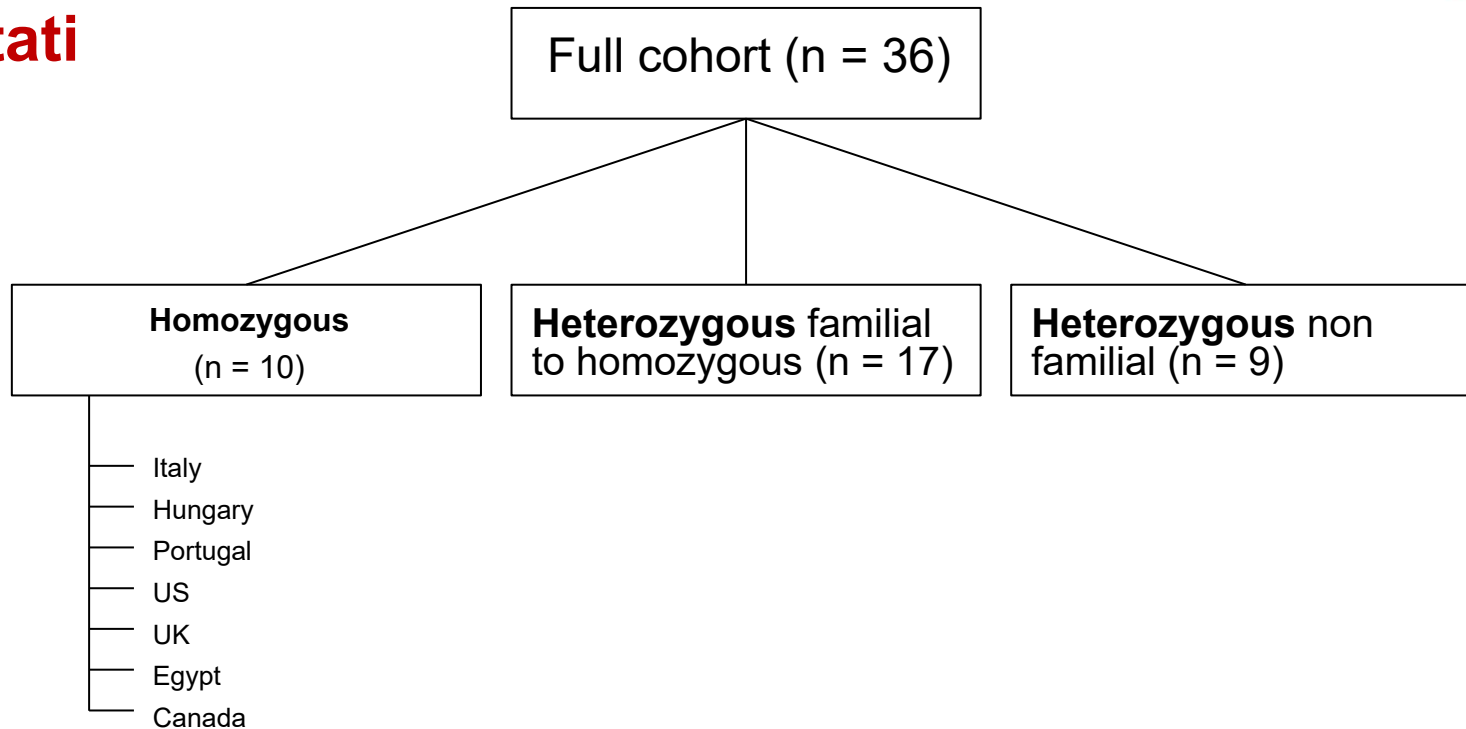
Lo studio

Obiettivo: descrivere la manifestazione clinica delle mutazioni germinali di SH2B3, sia omozigoti che eterozigoti.

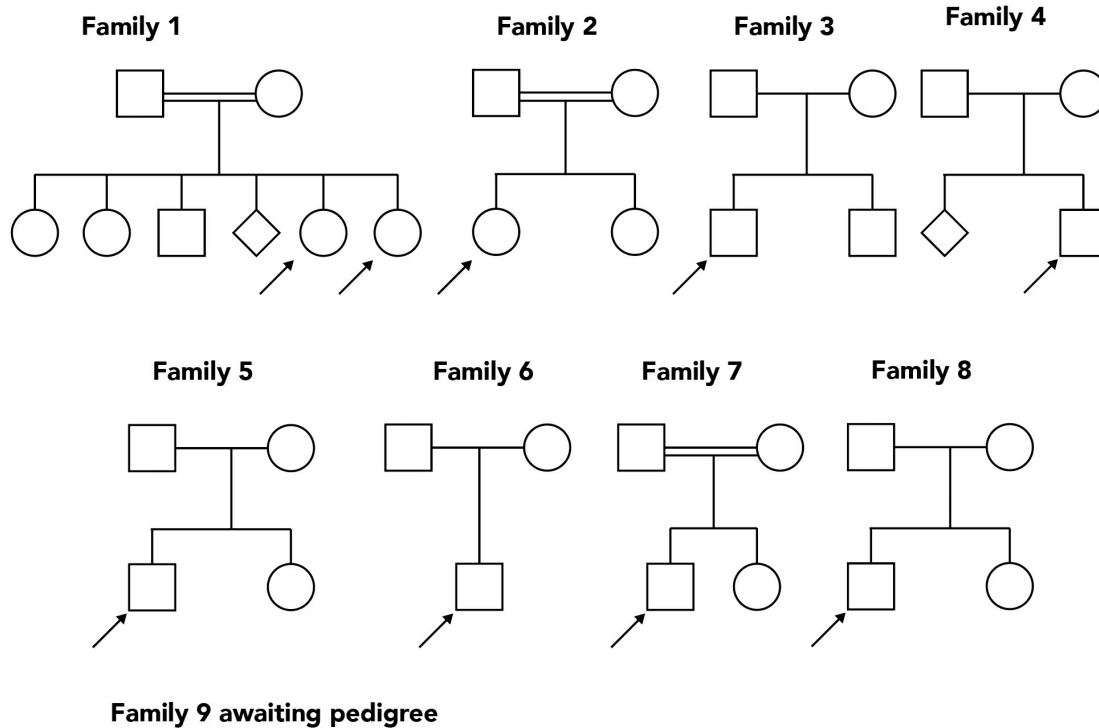
Metodi:

- Studio multicentrico e internazionale
- Raccolta di informazioni cliniche mediante un modulo elettronico di segnalazione dei casi (eCRF).
- Criteri di inclusione: conferma su cellule non ematopoietiche di una mutazione SH2B3 germinale omozigote ed eterozigote.

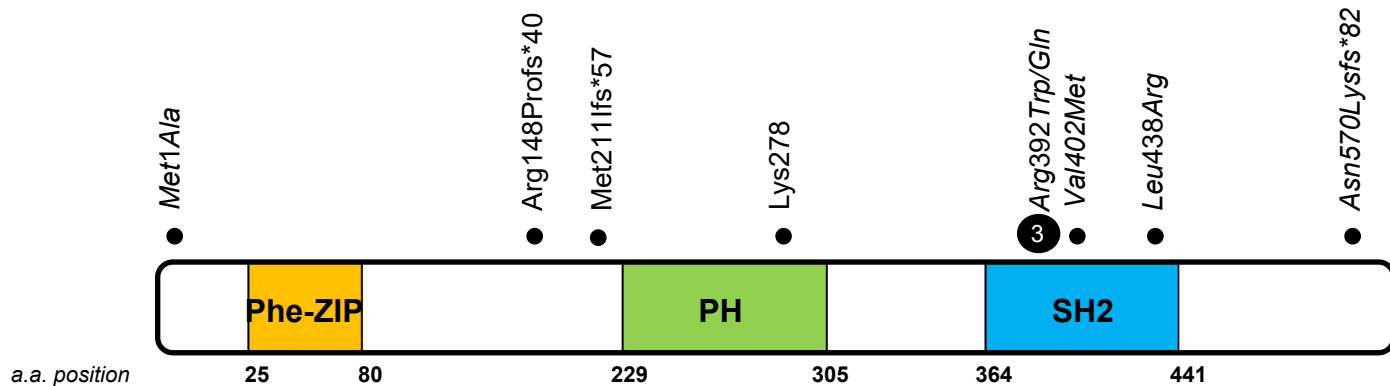
Risultati



Genealogie



Mutazione dei pazienti omozigoti



Phe-ZIP: Phenylalanine zipper

PH: Pleckstrin homology domain

SH2: SH2 domain

- Il dominio SH2 sembra essere un hotspot mutazionale.
- Nel dominio SH2 è sufficiente una mutazione di un singolo codone per dare origine al fenotipo della malattia.
- In altre mutazioni in altre parti della proteina ci sono mutazioni frameshift.

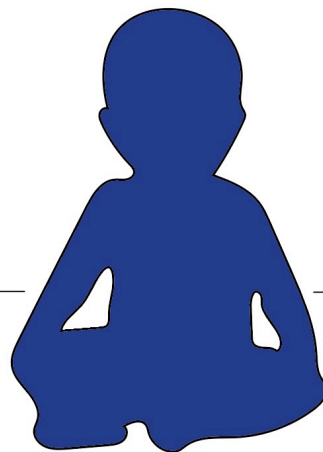
NON-HEMATOLOGICAL FEATURES

IUGR/SGA
(75%)

Growth retardation
(50%)

**Neurodevelopmental delay
/Cognitive impairment**
(50%)

Autoimmunity
(40%)



**HOMOZYGOUS SH2B3
GERMLINE MUTATIONS**

HEMATOLOGICAL FEATURES

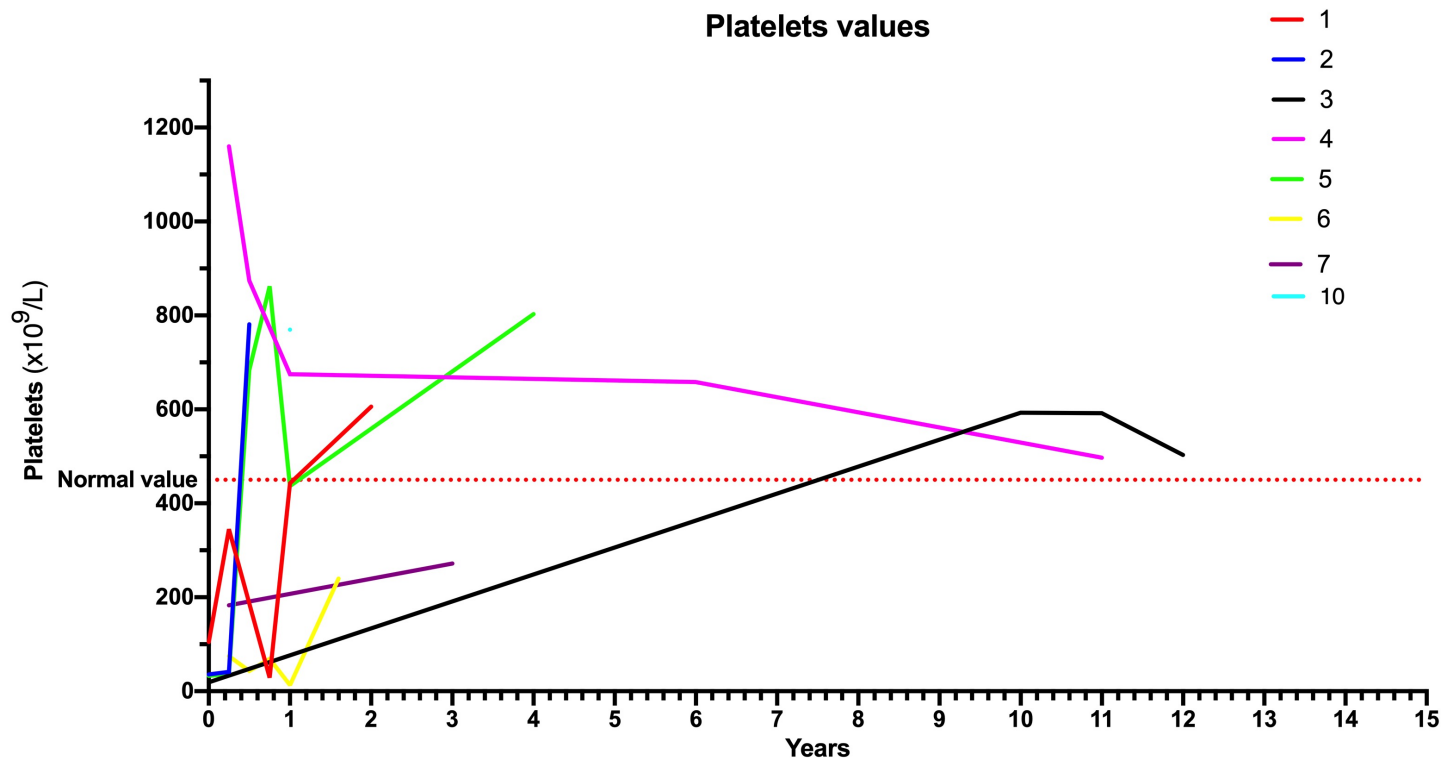
JMML-like phenotype
(splenomegaly, leukocytosis,
cytopenia, low-blast count,
negative for typical JMML mutations
and for KMT2A rearr.)
(80%)

Splenomegaly
(90%)

Thrombocytosis
(80%)

All patients alive at last follow-up

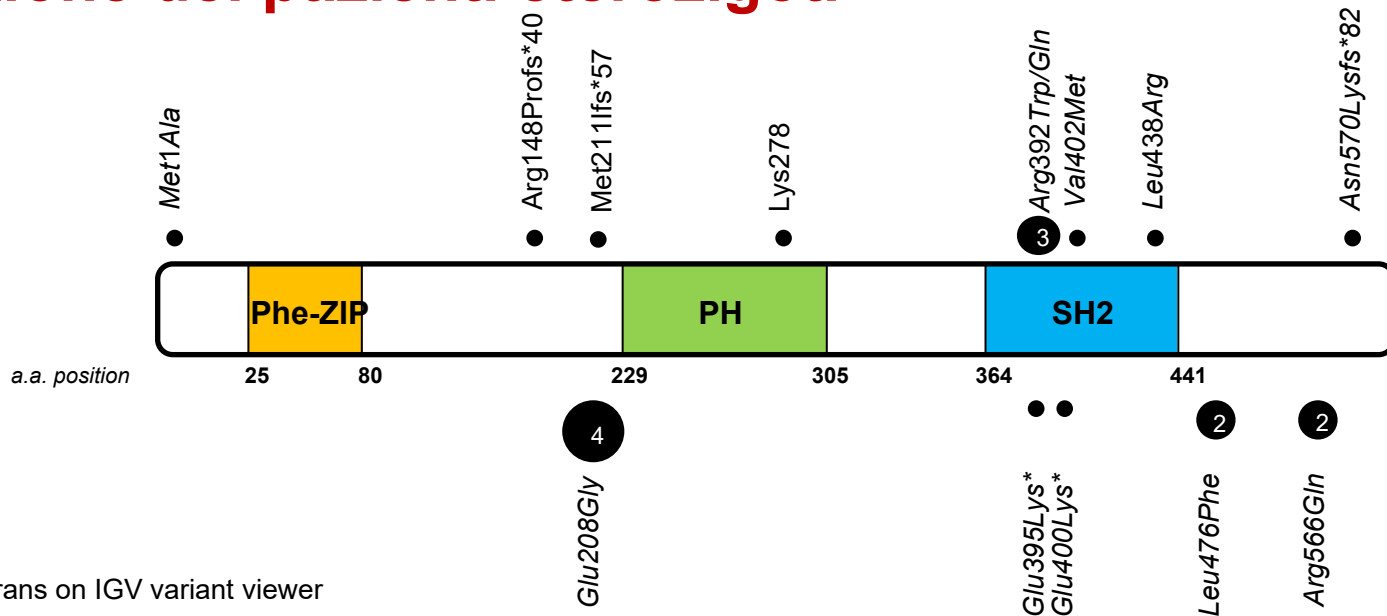
		JMML-like phenotype								Thrombocytosis			HSCT	
Mut	Sex	JMML-like	Age (y)	WBC (x10 ⁹ /L)	% blasts (PB/BM)	Platelets (x10 ⁹ /L)	Splenomegaly	Karyotype BM	Other somatic mutations (VAF %)	Thrombocytosis	Age (y)	Platelets (x10 ⁹ /L)	HSCT	Age (y)
p.Arg392Trp	F	+	0.1	39.72	6/7	121	+	Normal	/	+	1.9	606	+	0.7
p.Arg392Trp	F	+	0	101.1	2/2	35	+	Normal	SETD2 (34)	+	0.6	798	-	
p.Asn570Lysfs*82	F	+	0	N/A	11/N/A	19	+	Normal	SETBP1 (4)	+	10.0	593	+	13.4
p.Met1Ala	M	-					-	N/A	/	+	0.25	1160	-	
p.Leu438Arg	M	+	0	25	3/9	33	+	Normal	/	+	0.75	862	-	
p.Arg392Gln	N/A	+	0.33	102	5/4	75	+	Normal	/	-			+	1.3
p.M211IfsX57	M	+	0.33	132	6/4	183	+	Normal	/	-			+	1.1
p.Arg148Profs*40	M	+	0.25	N/A	N/A	N/A	+	Normal	/	+	1.0	1000	-	
p.Val402Met	M	-					+	Normal	/	+	0.25	780	-	
p.Lys278	M	+	0.1	170	0/2	46	+	Normal	/	+	0.1	770	-	
		8/10					9/10			8/10				



Mut	Neurodevelopmental features							Other features		Outcome (y)
	IUGR /SGA	Birth's week	Weight at birth (g)	Growth retardation	Neurodevelopmental delay /Cognitive impairment	Dysmorphisms	Brain MRI alteration	Autoimmune manifestation (y)	Other symptoms (y)	
p.Arg392Trp	+	38	1490	+	+	+	-			Alive (1.9)
p.Arg392Trp	+	40	2280	+	+	+	-			Alive (0.7)
p.Asn570Lysfs*82	+	36	2000	+	+	-	+ (ms)	Multiple sclerosis (9) Diabetes mellitus (10)		Alive (14.4)
p.Met1Ala	-	39	3570	-	-	-	+ (m)			Alive (12.0)
p.Leu438Arg	+	33	1490	-	+	+	+ (c)			Alive (5.0)
p.Arg392Gln	+	40	1800	+	+	-	-			Alive (1.7)
p.M211IfsX57	-	39	3350	-	-	-	-			Alive (3.1)
p.Arg148Profs*40	N/A	N/A	N/A	-	-	-	-	Alopecia areata (2) Autoimmune hypothyroidism (6)		Alive (6.0)
p.Val402Met	N/A	N/A	N/A	-	-	-	-	Autoimmune hypothyroidism (12) Raynaud syndrome (12) Autoimmune hepatitis (17) Diabetes mellitus (17)	Stroke (17)	Alive (17.0)
p.Lys278	+	40	2010	+	+	-	-	Autoimmune hypothyroidism (10) Morphea (11)		Alive (15.0)
	6/8			5/10	5/10	3/10	3/10	4/10		

Mutation	Relative	Hematological features	Other features
p.Arg392Trp	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Arg392Trp	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Asn570Lysfs*82	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Met1Ala	Mother	Severe thrombocytosis at the age of 15yo (>1.000.000/uL) (JAK2 negative)	Vitiligo, arthrosis of fingers and toes, Crohn disease
	Father	None	None
	Brother	Thrombocytosis at birth	None
p.Leu438Arg	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Arg392Gln	Mother	None	None
	Father	None	None
p.M211IfsX57	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Arg148Profs*40	Mother	None	None
	Father	None	None
p.Val402Met	Mother	N/A	N/A
	Father	N/A	N/A
p.Lys278	Mother	N/A	N/A
	Father	N/A	N/A

Mutazione dei pazienti eterozigoti



* Mutation in trans on IGV variant viewer

Phe-ZIP: Phenylalanine zipper

PH: Pleckstrin homology domain

SH2: SH2 domain

Mutation	Karyotype	Other mutations	Hematological features	Other features
p.Arg566Gln	Normal	CBL (germline)	Splenomegaly, autoimmune cytopenia	Coagulation alterations, dysmorphic features
p.Arg566Gln	Normal	CBL (germline)	Splenomegaly, autoimmune cytopenia	Coagulation alterations, dysmorphic features
p.Glu208Gly	Normal	JAK2 (somatic)	Polycythemia vera	None
p.Glu208Gly	Normal	JAK2 (somatic)	Polycythemia vera	None
p.Glu208Gly (VAF 52%)	Normal	None	Neutropenia with splenomegaly	Idiopathic juvenile arthritis
p.Leu476Phe (VAF 50%)	Monosomy 7	RUNX1, CSF3R, SETBP1 (somatic)	Hypoplastic MDS	Vitiligo
p.Glu208Gly (VAF 51%)	Normal	SF3B1, ASXL1, TET2 (somatic)	MDS-RS-MLD (WHO 2016) with hepato-splenomegaly	Autoimmune atrophic gastritis HP negative Autoimmune hemolytic anemia
p.Leu476Phe (VAF 49%)	N/A	TET2, KRAS, IDH2, SRSF2, ASXL1 (somatic)	CMML with splenomegaly	Urticaria dermatitis, Chron disease
p.Glu400Lys (VAF 44%) p.Glu395Lys (VAF 57%)*	Normal	None	Thrombocytosis	SGA

* Mutation in trans on IGV variant viewer

Conclusioni

- Mutazioni omozigoti di SH2B3 causano un disturbo multisistemico
- Ematologico → predisposizione al fenotipo JMML-like e alla trombocitosi
- Il fenotipo JMML-like è per lo più auto-risolutivo
- Non ematologico → ritardo di crescita, disturbi cognitivi, autoimmunità
- I pazienti eterozigoti familiari sono per lo più asintomatici
- I pazienti eterozigoti non familiari presentano un fenotipo ematologico con altre mutazioni somatiche/germinali aggiuntive

Prospettive future

- Creazione di un registro clinico di pazienti con mutazioni germinali SH2B3
- Aggiunta di SH2B3 al pannello genetico per l'analisi della JMML
- Definizione condivisa della gestione della JMML-like mutata in SH2B3
- Studi in vitro per il ruolo biologico e la risposta a ruxolitinib
- Trattamento dei pazienti con mutazione SH2B3 con inibitori della JAK



University of California
San Francisco



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE



CENTRO HOSPITALAR
UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
CENTRAL

the
children's
hospital at Westmead

The Sydney children's
Hospitals Network

Prof. Riccardo Masetti
Dr. Sara Cerasi
Dr. Nicola S. Bertuccio

Dr. Elliot Stieglitz

Dr. Kállay Krisztián
Miklós

Prof. Valeria Santini
Dr. Marco Raddi

Dr. Paula Kjollerstrom
Dr. Sara Batalha

Dr. Julie Curtin



Bambino Gesù
OSPEDALE PEDIATRICO
IRCCS

Department of Hematology/
Oncology and Cell and
Gene Therapy



UNIVERSITÀ
DI PAVIA



Bambino Gesù
OSPEDALE PEDIATRICO
IRCCS
Molecular Genetics and
Functional Genomics
Research Unit



MONASH
University



NHS
Great Ormond Street
Hospital for Children
NHS Foundation Trust



NHS
Royal Free London
NHS Foundation Trust
University College London Hospitals
NHS Foundation Trust

Prof. Piers Blombery

Prof. Franco Locatelli
Dr.ssa Lucia Pedace

Prof. Elisa Rumi

Dr. Marco Tartaglia
Dr. Simone Pizzi

Prof. Graham Lieschke

Dr. Anupama Rao

Dr. Andrew Innes

Dr. Jonathan Lambert

Prof. Siobhan Burns

Contatti per lo studio

Davide Leardini – davide.leardini3@studio.unibo.it

Riccardo Masetti – riccardo.masetti5@unibo.it