

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

BRIEF REPORT

PHD2 Mutation and Congenital
Erythrocytosis with Paraganglioma

Charline Ladroue, M.Sc., Romain Carcenac, B.Sc., Michel Leparrier, M.D.,
Sophie Gad, Ph.D., Claire Le Hello, M.D., Françoise Galateau-Salle, M.D.,
Jean Feunteun, Ph.D., Jacques Pouysségur, Ph.D., Stéphane Richard, M.D., Ph.D.,
and Betty Gardie, Ph.D.

הצגת מקרה

- בן 30, הופנה לברור עקב המטוקריט בגבול עליון של נורמה. מעבדה אישרה קיום אריטרוציטוזיס, אך לא נמצאה סיבה ספציפית. טופל בהקזות דם.
- בנוסף אובחן יתר לח"ד קל שטופל בנורמיטן.
- בגיל 43 בסונר בטן התגלתה מסה פארא-אאורטלית. המסה אושרה ב CT וב MRI. בהמשך נכרת גידול סולידי, 3.5×3.5 ס"מ, אשר במיקרוסקופ הציג מאפיינים של פאראגנגליומה.
- לאחר הניתוח לח"ד חזר לנורמה והנורמיטן הופסק. ערכי המטוקריט התייצבו בטווח הנורמה בלי צורך בהקזות דם נוספות.

הצגת מקרה (2)

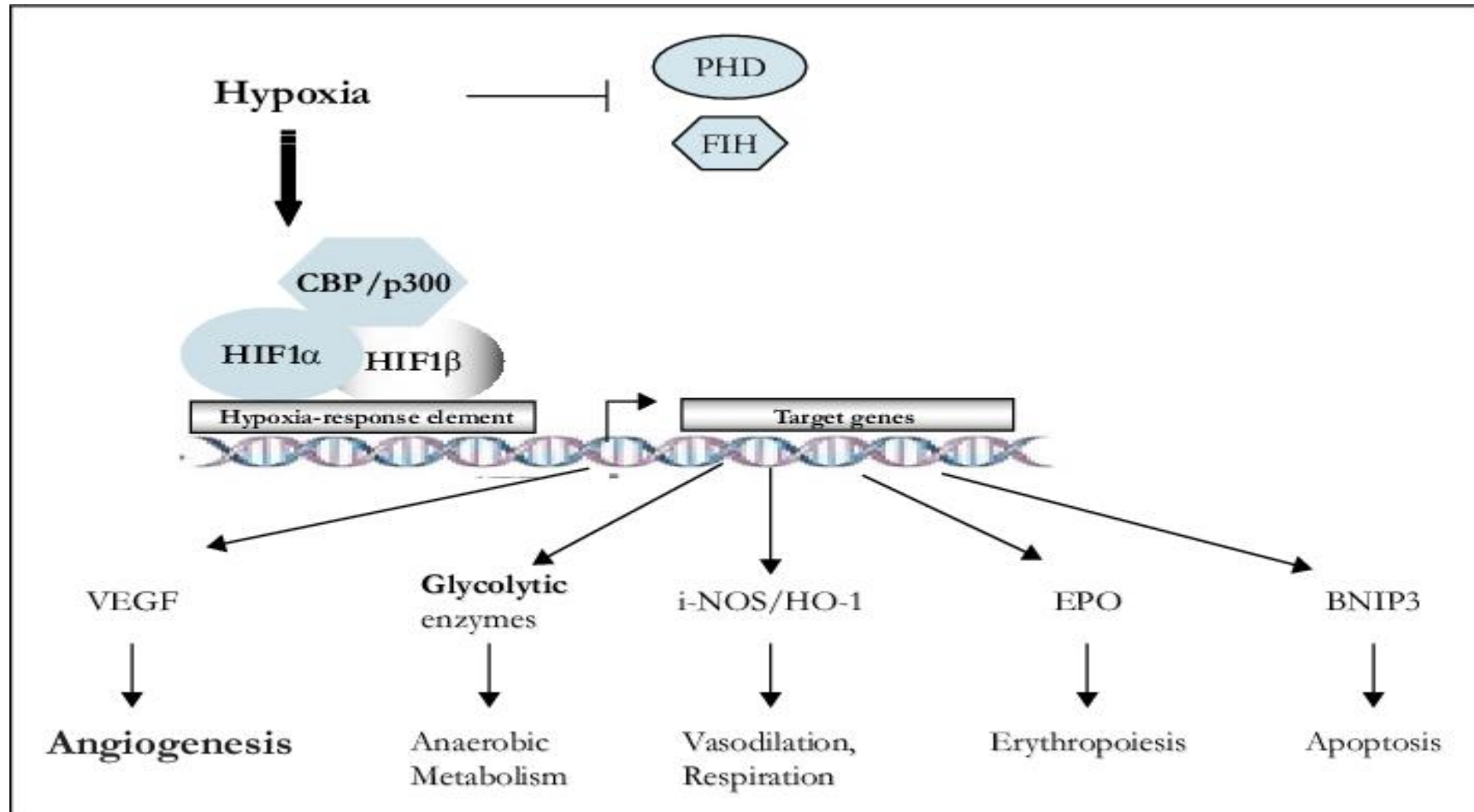
- כעבור שנתיים הפרשת מטנפרינים בשתן עלתה לגבול העליון של הנורמה מלווה בעליית המטוקריט. עלה חשד להישנות.
- בוצע מיפוי I131-MIBG אשר אישר חשד זה.
- בוצע ניתוח שני בו נכרת בשלמות גידול שני בעל מאפיינים זהים לגידול הראשון.
- החולה נותר עם לח"ד מעט מוגבר הדורש טיפול תרופתי וכן המטוקריט מוגבר הדורש הקזות תקופתיות.
- CT ו MIBG חוזרים לא הדגימו הישנות גידול על אף הפרשה מוגברת עד פי שתיים מן הנורמה של מטנפרינים בשתן.
- לא זוהו מוטציות ב VHL,SDHB,SDHC,SDHD.

מה הקשר ???

Hypoxia inducible factor (HIF)

- רגולציה תקינה של משק החמצן חיונית להישרדות. HIF הוא פקטור שעתוק שמפעיל hypoxia inducible genes, ושמור מאוד לאורך האבולוציה.
- הוא בעל תפקיד מרכזי בהומאוסטאזיס של חמצן בזמן ההתפתחות העוברית ולאחר הלידה אך גם מעורב בתהליכים פתולוגיים כמו אריתרוציטוזיס, התפתחות גידולים, אנגיוגנזה ושליחת גרורות.
- HIF הוא הטרודימר α/β המורכב מתת יחידה אלפא המווסתת בצורה הדוקה ($1\alpha, 2\alpha, 3\alpha$), ומתת יחידה בטא המיוצרת קונסטיטוטיבית.

חלבוני HIF הם פקטורי שעתוק של גנים המעורבים
באנגיוגנזה, יצור כדוריות דם אדומות, מטבוליזם תאים,
פרוליפרציה והישרדות.



- Germ line mutations בגנים המעורבים במסלול HIF תוארו בהקשר לסינדרומים החושפים חולים או למחלות גידוליות או לפוליציטמיה משפחתית.
- החולים חולקים פגם ב oxygen sensing system.

המוטציות הגורמות לפאראנגליומה שידועות עד היום

TABLE 1. Hereditary tumor syndromes that include paraganglioma or pheochromocytoma

Syndrome, OMIM classification	Causative gene	Gene locus	Maternal imprinting	Protein product	Protein function	Mechanism	Catecholamine production by tumors	Phenotype
NF1	<i>NF1</i>	17q11.2	-	Neurofibromin	GTP hydrolysis	Tumor suppressor	+	Pheochromocytoma/ sympathetic paraganglioma
VHL	<i>VHL</i>	3p25-26	-	VHL	Suppressor of transcription elongation	Tumor suppressor	+	Pheochromocytoma/ sympathetic paraganglioma
MEN1	<i>MENIN</i>	11q13	-	Menin	Transcription regulation	Tumor suppressor	+	Pheochromocytoma
MEN2	<i>RET</i>	10q11.2	-	RET	Tyrosine kinase receptor	Proto-oncogene	+	Pheochromocytoma
PGL1	<i>SDHD</i>	11q23	±	Succinate dehydrogenase subunit D	Regulation of mitochondrial ATP production	Tumor suppressor	+	Pheochromocytoma/ sympathetic and parasympathetic ^a paragangliomas
PGL2	Unknown	11q13.1	±	Unknown	Unknown	Unknown	-	Parasympathetic ^a paragangliomas
PGL3	<i>SDHC</i>	1q21	-	Succinate dehydrogenase subunit C	Regulation of mitochondrial ATP production	Tumor Suppressor	-	Parasympathetic ^a paragangliomas
PGL4	<i>SDHB</i>	1p36.1-35	-	Succinate dehydrogenase subunit B	Regulation of mitochondrial ATP production	Tumor suppressor	+	Pheochromocytomas/ sympathetic and parasympathetic ^a paragangliomas

^a Parasympathetic paragangliomas: intercarotid, jugular, tympanic, intravagal, etc.

VHL

- קיום מוטציה הטרזיגוטית מולדת בחלבון VHL שהוא tumor suppressor gene גורמת למחלת VHL.
- זוהי מחלה A/D הגורמת לגידולים עשירים בכלי דם ובכלל זה המנגיובלסטומה של הרשתית ומערכת עצבים מרכזית, RCC, פאוכרומוציטומה / פאראנגגליומה, PNETs.
- קיום מוטציה הומוזיגוטית מולדת בחלבון VHL גורמת ל Chuvash congenital polycythemia שהיא מחלה A/R. להומוזיגוטים למוטציה יש אריטרוציטוזיס ויצור מוגבר של EPO. אין נטייה מוגברת לגידולים.
- חלבון VHL מוסת את הפירוק התקין של חלבונים כגון HIF.

SDH

- SDH is essential for aerobic energy production. mutations cause mitochondrial complex II destabilization.
- SDH genes are also tumor suppressor genes.

Genetic defects cause mitochondrial dysfunction making the cell functionally hypoxic



Activation of hypoxia response genes (HIF- hypoxia inducible factor)



Stimulation of angiogenesis pathway (VEGF)



Tumor formation.

FH

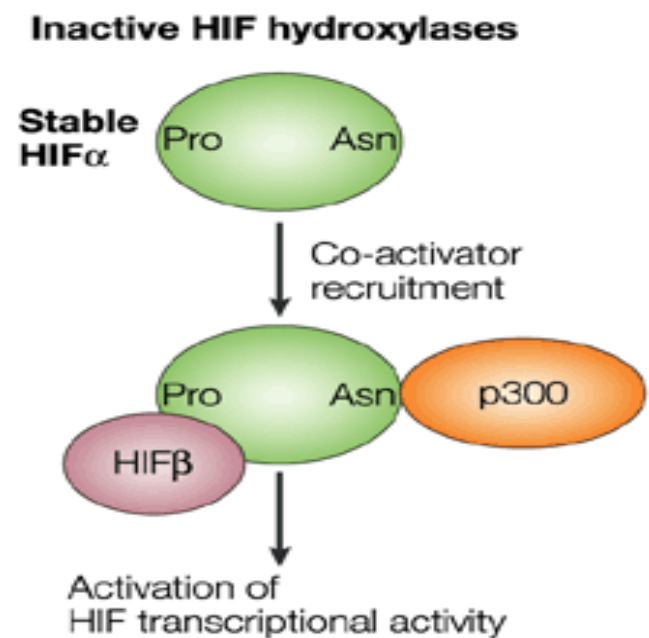
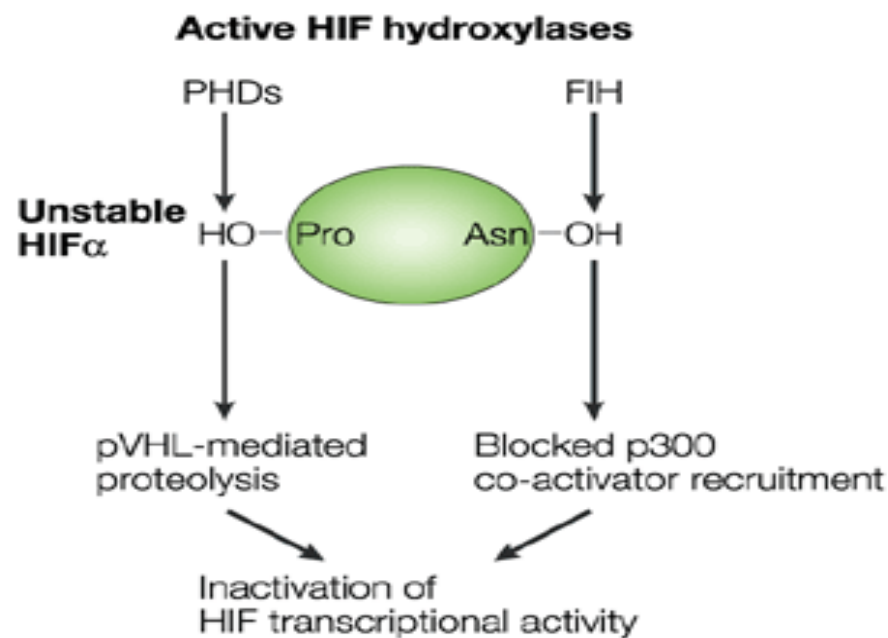
- מוטציה בגן נוסף המקודד לאנזים מיטוכונדריאלי fumarate hydratase (FH), המשתתף במעגל קרבס נמצאה אף היא כחלק מסינדרום פאוכרומוציטומה/ פאראגנגליומה כמו גם כגורם להתפתחות RCC.
- בגידולים עם מוטציה ב FH וב SDH הצטברות הסובסטרט fumarate או succinate, מעכבת תפקוד PHD ובכך גורמת ביטוי יתר של HIF.

כעת שחקן חדש בתמונה

- גם לחלבוני PHD - prolyl hydroxylase domain יש תפקיד מרכזי ברגולציה HIF.
- Germ line mutations ב PHD2 דווחו בחולים עם familial erythrocytosis אך לא בהקשר של גידולים.
- כאן לראשונה מתואר חולה עם erythrocytosis ו recurrent paraganglioma ומוטציה חדשה ב PHD2.

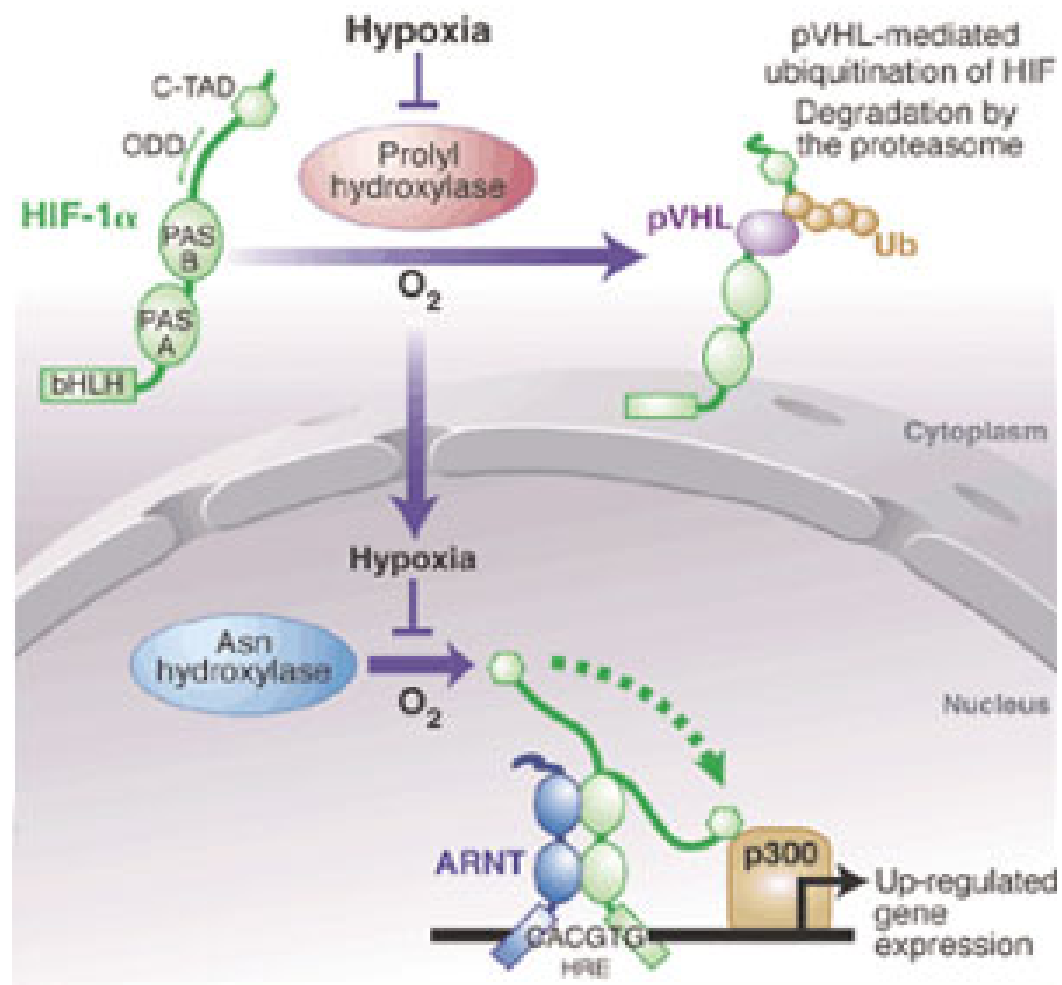
תנאי מתח חמצן תקין

- בתאי יונקים קיימת משפחה של חלבוני PHD הממוספרים 1-3, מתוכם PHD2 (שנקרא גם EGLN1) נחשב כסנסור חמצן קריטי המסמן את חלבון $HIF1\alpha$ להשמדה.
- בתנאי מתח חמצן תקין, אנזימי PHD 1-3 מנצלים חמצן כסובסטרט להידרוקסילציה של שיירי פרולין על פני $HIF1\alpha$. ההידרוקסילציה מתווכת את קישור VHL ל $HIF1\alpha$ ואת פירוקו בפרוטאזום.
- P300 הוא קופקטור חיוני לפעולת HIF.
- FIH - מנצל חמצן לצורך הידרוקסילציה של שיירי אספרגין על פני HIF ובכך נמנע קישור p300. הרגולציה HIF – p300 מתווכת ע"י FIH באופן תלוי חמצן.



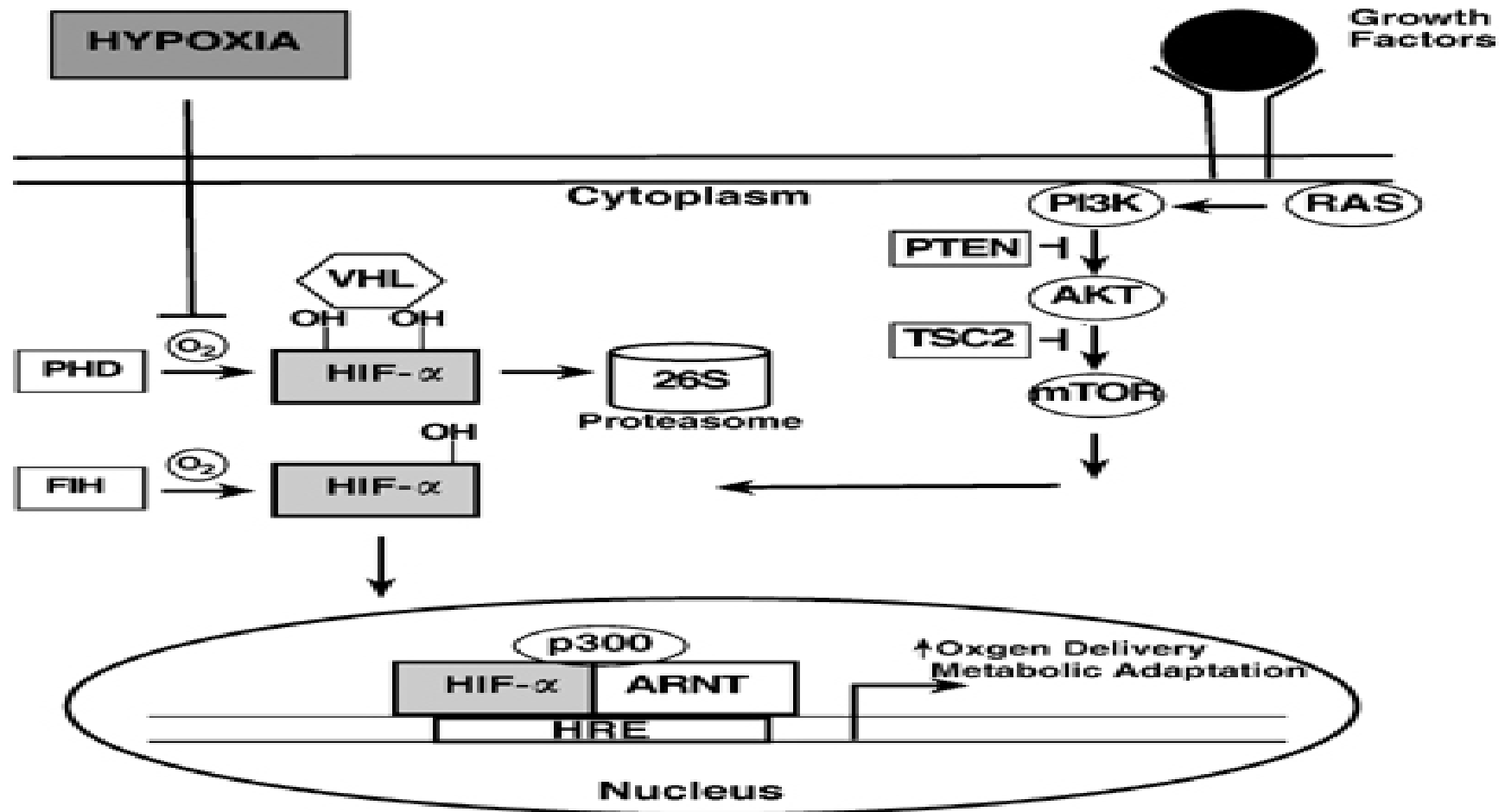
תנאי מתח חמצן נמוך - היפוקסיה

- מתח חמצן נמוך מעכב גם הפעלת PHD וגם פעילות (FIH-1) factor inhibiting HIF-1
- במצב זה יציבות HIF והקופקטור שלו p300/CBP עולה.
- בתנאי היפוקסיה או אובדן VHL - חלבון HIF מיוצב, עובר טרנסלוקציה לגרעין שם הוא עובר דימריזציה לחלבון ARNT.
- הדימר נקשר ל hypoxia response elements (HREs), באיזורים רגולטורים של גני המטרה.
- מוטציה ב PHD2 פוגעת בתפקודו ובכך גורמת לייצוב חלבוני HIF α .



בתאי גידול

- HIF activity can also be induced in tumor cells through activation of the PI-3 kinase/Akt-signaling pathway.
- Growth factor signaling, oncogenic Ras activation, or inhibition of negative regulators, including PTEN and TSC2 can activate the PI-3 kinase/Akt pathway and induce HIF activity in tumor cells.



סיכום

- למסלול PHD2-VHL-HIF יש תפקיד חיוני באריתרופויזיס. הפרעה במסלול עשויה לגרום אריתרוציטוזיס בעוד ששינויים אחרים עשויים לגרום להתפתחות גידולים – hypoxia driven tumors.
- בבדיקת הגידול הדגימו loss of heterozygosity של wild type PHD2 כלומר לגן זה עשוי להיות תפקיד כ tumor supressor gene.
- העבודה מציעה ש PHD2 הוא גן מועמד להתפתחות פאראגנגליומות וכי יש לחשוב על בדיקת סטטוס נשאות במשפחות בהן לא זוהו מוטציות אחרות.

SPECIAL FEATURE

Clinical Case Seminar

Rationale and Evidence for Sunitinib in the Treatment of Malignant Paraganglioma/Pheochromocytoma

Anthony M. Joshua, Shereen Ezzat, Sylvia L. Asa, Andrew Evans, Reuben Broom, Marc Freeman, and Jennifer J. Knox

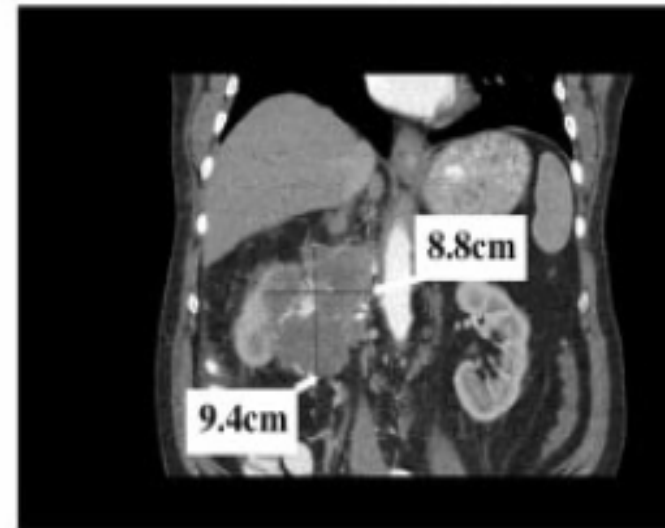
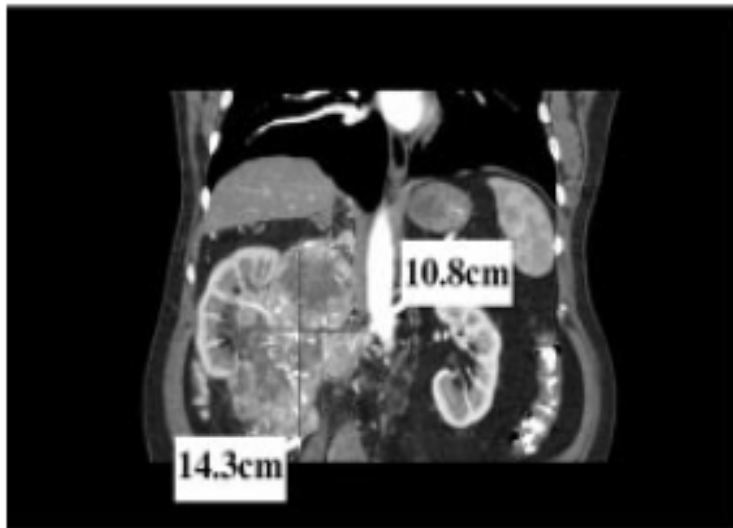
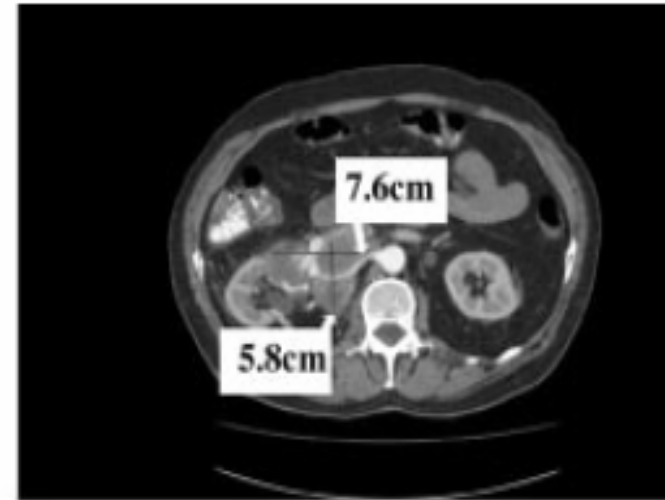
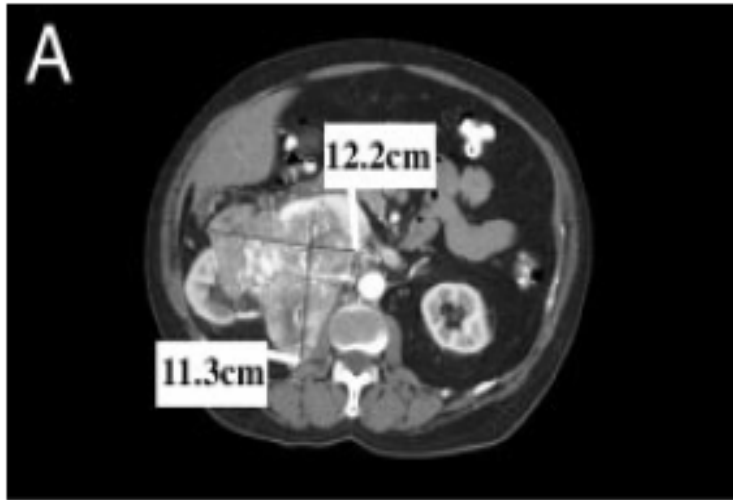
Department of Medical Oncology (A.M.J., S.E., R.B., J.J.K.), Princess Margaret Hospital, University Health Network, M5G 2M9 Toronto, Ontario, Canada; and Departments of Pathology (S.L.A., A.E.) and Radiology (M.F.), University Health Network, M5G 2C4, Toronto, Ontario, Canada

(J Clin Endocrinol Metab 94: 5–9, 2009)

Case Report 1

- בן 55, כאבים במותן ימין חודשיים. בסונר מסה בכלייה ימין. ב CT מסה כלייתית גדולה, וסקולרית, מתמשכת לרטורופריטונאום. ב MRI מסה של 16 ס"מ הפולשת ל IVC ולמבנים רנו- וסקולרים בקרבה גדולה לתריסריון. מיפוי עצמות ו CT חזה ללא ממצאים.
- ללא סימפטומים אנדוקרינים המכוונים לעודף קטכולאמינים.
- ללא היסטוריה משפחתית מכוונת ל MEN או סינדרום אחר.
- ביופסיה- high grade carcinoma.
- אבחנה משוערת- עשוי להתאים ל RCC.
- הוחל טיפול ב suntinib במינון מקובל עם כוונה לנתח במידה ותהיה תגובה.

- ת.ל.- נויטרופניה חולפת, פריחה, יתר לח"ד שטופל ב ACEI.
- לאחר שני טיפולים חלפו כאבי המותן וב CT נצפתה הקטנה של המסה.
- לאחר ששה מחזורי טיפול המסה נמדדה 9.4 ס"מ (תגובה חלקית).
- הטיפול הופסק שלושה שבועות לפני ניתוח.
- עבר כריתה רדיקלית של כלייה ימין ובלוטות איזוריות. נמצא כי המסה פלשה לכלי דם.
- בבדיקה היסטולוגית- פאראגנגיוליומה.
- נמצאה מוטציה ידועה ב SDHB. שלילי ל VHL.
- לאחר 5 שבועות הוחל שוב טיפול ב suntinib, אך כעבור שני מחזורים נצפתה עדות ברורה להתקדמות הגידול והטיפול הופסק.



Case Report 2

- בן 28, אובחן עם פאראגנגליומה של 7 ס"מ בשלפוחית השתן. עבר כריתה חלקית של שלפוחית השתן.
- ללא הסטוריה משפחתית מכוונת.
- איסוף שתן למטנפרינים היה מוגבר עד פי ארבע מן הגבול העליון של הנורמה.
- בניתוח פאראגנגליומה פולשת למוסקולריס פרופריה ולשומן סביב שלפוחית השתן ובלוטות לימפה נגועות.
- טופל בקרינה וכמותרפיה ואבד למעקב.
- כעבור שנה פיזור מטסטטי נרחב כולל גרורות לחוליות. עבר ניתוח עמ"ש וקרינה לחוליות.

- לאחר מכן הוחל טיפול ב-sunitinib, עם תגובה חלקית משמעותית כעבור שני טיפולים. לאחר ששה טיפולים הושגה תגובה כמעט מלאה.
- נתגלתה מוטציה חדשה ב-SDHB.
- כעבור 40 שבועות טיפול המחלה עדיין יציבה.

Case Report 3

- בת 41, כאבים במותן שמאל.
- ב CT מסה של 15 ס"מ מעל הכלייה קולטת ב MIBG.
- עלייה פי 33 במטנפרינים בשתן.
- נכרתה פאראגנגליומה עם מעורבות בלוטות לימפה פרי-אאורטליות.
- לא נתגלו מוטציות ב SDHB, SDHD, VHL, RET.
- רמיסיה ביוכימית נמשכה שנה. ב CT חוזר גרורות לחזה. בעקבות קליטה חיובית ב octreoscan הוחל טיפול ב SRL לחצי שנה ללא תגובה.
- לאחר שלושה מחזורי טיפול ב sunitinib נצפתה ירידה של 90% במטנפרינים בשתן ותגובה חלקית בממצאים בריאות.
- לאחר 40 שבועות טיפול המחלה עדיין נסוגה.

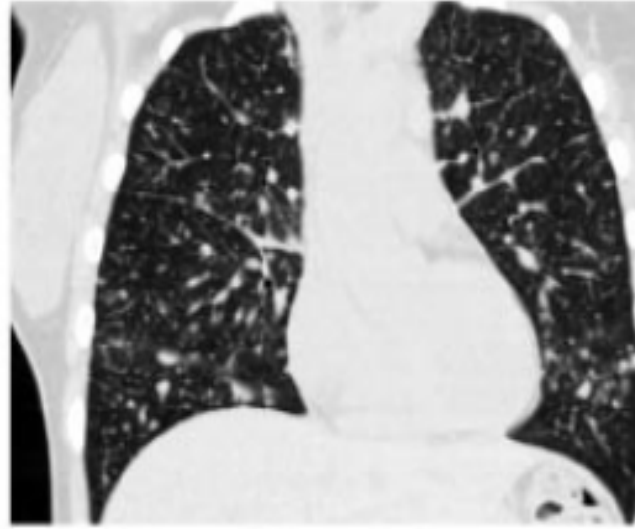
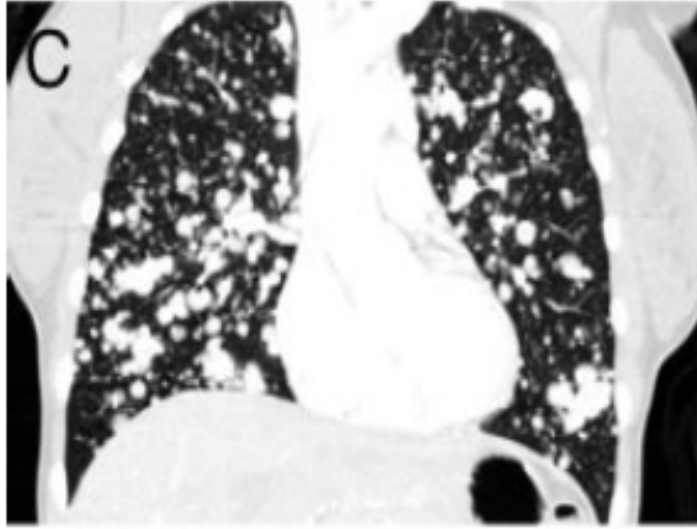


TABLE 1. Characteristics of patients described in this report

Patient	Histology	Previous systemic treatments	Molecular results	Course on sunitinib including toxicities	Duration of response on sunitinib (wk)
1	Metastatic paraganglioma, involving 1/1 lymph node, 10% Ki67 index. chromogranin, S100, tyrosine hydroxylase positive	None	SDHB exon 4 (I127S)	Neutropenia, rash, hypertension	24 ^a
2	Metastatic paraganglioma involving 4/4 lymph nodes, chromogranin, synaptophysin positive, Ki67 index 5–10%	Chemotherapy (cisplatin ± etoposide) + radiation to pelvis	SDHB exon 6 (C189F)	Mild anorexia, diarrhea, hypothyroidism	40 (ongoing)
3	Metastatic paraganglioma, 1/25 nodes positive, synaptophysin, chromogranin, tyrosine hydroxylase positive, Ki67 index 20%	Sandostatin, FAK inhibitor	No mutation in SDHB, -C, and -D or RET	Hypertension ^b	40 (ongoing)

All patients started at the standard dose of 50 mg (4 wk on, 2 wk off). FAK, Focal adhesion kinase.

^a Patient 1 required an 8-wk break in the perioperative period before restarting at a lower dose that proved ineffective.

^b Required treatment with prazosin 5 mg for control of hypertension (Labetalol and Amlodipine relatively ineffective).

- עד היום טיפולים לפאראגנגליומה גרורתית כללו ניתוח חוזר, איזוטופים.
- הנסיון עם משלבים כמותרפים כמו CVD (ציקלופוספמיד, וינקריסטין, דקרביזין) ואחרים מוגבל ובמחיר טוקסיות גדולה.
- Sunitinib הוא תכשיר פומי, multitargeted TKI, עם פעילות נוגדת אנגיוגנזה וגידולים. הוא פועל נגד PDGFR, VEGFR, KIT, FLT3.
- ב RCC יעילותו מבוססת.
- הוא ניתן במינון מקובל של 50 מ"ג (4 שבועות טיפול ושבועיים הפסקה) על פי סיבולת החולה.
- תופעת לוואי שיש לשים לב אליה היא התפתחות יתר לח"ד. בנוסף יתכנו היפותירואידיזם, נויטרופניה, טרומבוציטופניה, שלשול, LV dysfunction.

