

Statusartikel

Ugeskr Læger 2020;182:V04200299

Klonal hæmatopoiese som mulig risikofaktor for hjerte-kar-sygdom

Peter Riis Hansen^{1, 2}

Hjertemedicinsk Afdeling, Herlev-Gentofte Hospital

2) Institut for Klinisk Medicin, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet

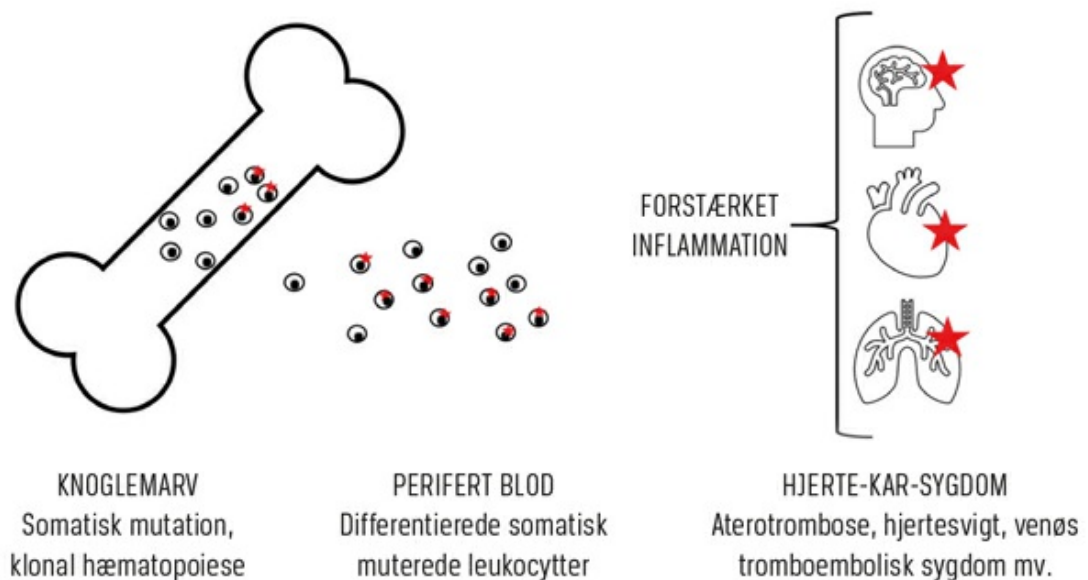
Ugeskr Læger 2020;182:V04200299

HOVEDBUDSKABER

- Aldring medfører akkumulering af somatiske mutationer, som kan bevirke klonal hæmatopoiese.
- Clonal hæmatopoiesis of indeterminate potential er en risikofaktor for hjerte-kar-sygdom, formentlig pga. øget inflammation.
- Klonal hæmatopoiese kan blive et mål for fremtidig forebyggelse og behandling af hjerte-kar-sygdom.

Alderen er den vigtigste risikofaktor for hjerte-kar-sygdom (HKS), hvilket ikke alene kan forklares af den med alderen ophobede eksponering for traditionelle risikofaktorer for HKS, f.eks. rygning, hypertension og hyperkolesterolemie [1]. Aterosklerose, som er en kerneårsag til HKS, er en kronisk inflammatorisk sygdom, der er karakteriseret ved akkumulering af leukocytter (makrofager, lymfocytter, neutrofile granulocytter mv.) i arterievæggen, ligesom aldring ledsages af lavgraderet systemisk inflammation, der er en veldokumenteret risikofaktor for HKS og andre aldersrelaterede lidelser, f.eks. cancer og neurodegenerative sygdomme [2, 3]. Ud over en kumuleret byrde af f.eks. infektioner og miljømæssige påvirkninger kan mange andre faktorer bidrage til aldersbetinget inflammation, f.eks. epigenetiske forandringer, DNA-skade og oxidativt stress, men nærmere mekanismer bag relationen mellem aldring, inflammation og HKS er hidtil ikke blevet beskrevet. Nu tyder nye epidemiologiske og eksperimentelle data på, at aldersbetinget erhvervelse af somatiske mutationer i hæmatopoietiske stamceller med såkaldt klonal hæmatopoiese (KH) via aktivering af inflammatoriske mekanismer bidrager til aldersrelateret risiko for HKS (**Figur 1**) [4-6]. Denne nyopdagede risikofaktor for HKS har fået en del opmærksomhed, og det er fundet relevant at give en kort status på området.

FIGUR 1 / Skematisk fremstilling af sammenhængen mellem klonal hæmatopoiese og hjerte-kar-sygdom.



SOMATISKE MUTATIONER I DET HÆMATOPOIETISKE SYSTEM

Aldring ledsages af et øget antal erhvervede (dvs. ikkearvelige) somatiske mutationer i de fleste af organismens celler, hvilket antageligt er en tilfældig proces, der starter allerede i fostertilstanden og medfører, at hvert individ udgøres af en mosaik af genetisk forskellige celler [7, 8]. Det gælder ikke mindst for det hæmatopoietiske system, og skønt de fleste af disse somatiske mutationer har ringe fænotypisk effekt (eller medfører celledød), kan de give vitale fordele og medføre ekspansion af en celleklon, der udgår fra en enkelt muteret stamcelle, dvs. KH. Mutationen findes ofte i et enkelt såkaldt leukæmi-driver-gen som giver risiko for progression til hæmatologisk cancer, f.eks. akut leukæmi eller myelodysplastisk syndrom, hvilket sædvanligvis kræver erhvervelse af flere mutationer i celleklonen [9, 10]. I 2014 viste tre uafhængige undersøgelser, at KH sjældent forekom før 40-50-årsalderen, men at prævalensen steg hos ældre f.eks. til 10% af alle over 65 år og 20% af alle over 90 år [11-13]. De somatiske mutationer lå hyppigt i kendte driver-gener for hæmatologisk cancer, specielt generne for de epigenetiske regulatorer DNA-metyltransferase 3a (*DNMT3A*), ten-eleven-translocation-2-methylcytosin dioxygenase (*TET2*) og additional sex combs like1 (*ASXL1*), de såkaldte DTA-mutationer, samt sjældnere Januskinase 2 (*JAK2*), som indgår i intracellulær signaltransduktion [4-6, 11-13]. De tre førstnævnte mutationer fører formentlig til nedsat enzymaktivitet, mens *JAK2*-mutationen medfører konstitutiv aktivering af *JAK2*-enzymet. I disse undersøgelser var KH forbundet med en tifold øget risiko for

udvikling af hæmatologisk cancer, men den absolutte risiko var $< 1\%$ pr. år [11, 12]. Langt de fleste personer med KH udvikler derfor aldrig hæmatologisk cancer, og denne tilstand, hvor det perifere blodbillede er normalt, betegnes nu som clonal haematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) eller aldersrelateret KH [14]. De rapporterede prævalenstal for KH afhænger af den anvendte leukocyt-DNA-sekventeringsmetode og af, om der f.eks. kun undersøges for somatiske mutationer i kendte driver-gener for hæmatologisk cancer, som i visse undersøgelser kun har udgjort en mindre andel af det samlede antal klonale tilfælde. I dag anvendes der oftest next generation-sekventering af et panel af udvalgte sekvenser i DNA fra leukocytter i perifert blod, da den er langt mere sensitiv end tidligere anvendte helexomsekventeringer. CHIP-diagnosen kræver, at frekvensen af muteret variantallel (variantallelfrekvensen (VAF)) er $> 2\%$, svarende til, at $> 4\%$ af de perifere leukocytter har mutationen hos de formodede heterozygote bærere [14]. Denne skæringsgrænse for VAF blev primært fastsat ud fra fejlraten ved de dengang anvendte sekventeringsteknikker, og det bemærkes, at der med mere sensitiv teknik siden er fundet KH med meget lav VAF hos stort set alle raske 50-70-årige [15]. De tidligere undersøgelser, hvor man kun detekterede VAF $> 2\%$, har derfor selektionsbias, og betydningen af mindre kloner er uvis. Desuden viser nyere forskning, at prævalensen af de specifikke genvarianter i driver-generne stiger omtrent lineært med alderen, og at det herudover er den præcise karakter af enkelt nukleotidmutationerne i disse gener, som bestemmer stamcellernes fitness mhp. klonal ekspansion [16].

KLONAL HÆMATOPOIESE OG HJERTE-KAR-SYGDOM

Epidemiologisk evidens

De fleste undersøgelser viser en VAF-afhængig overdødelighed ved CHIP, og hæmatologisk cancer bidrager hertil, om end man i en nyligt publiceret dansk undersøgelse ikke fandt mortalitetsforskel hos ældre tvillingepar, som var diskordante for CHIP-mutationer [11, 12, 14, 17]. Allerede i 2013 viste Østerbrounderundersøgelsen en øget risiko for HKS i form af myokardieinfarkt og venøs tromboemboli hos personer med CHIP og *JAK2*-V617F-mutationen [18]. I en af de tidligere nævnte undersøgelser fra 2014 var overdødeligheden ved CHIP (langt hovedparten DTA-mutationer) også mest betinget af HKS, med hazard ratio ved VAF $> 10\%$ efter justering for de traditionelle risikofaktorer på 1,9 for død af HKS, 2,0 for incident iskæmisk hjertesygdom og 2,6 for incident iskæmisk apopleksi [12]. Ved VAF $< 10\%$ var disse fund dog ikke signifikante, og som anført er betydningen af mindre kloner uvis. Den CHIP-associerede risiko for HKS blev derpå underbygget i en serie case-kontrolundersøgelser, hvor man f.eks. fandt, at risikoen for myokardieinfarkt hos personer, der var < 50 år og havde CHIP (specielt mutationer i *TET2*, *DNMT3A*, *ASXL1* og *JAK2*), var fire gange større end hos kontrolpersoner, ligesom CHIP var forbundet med øget koronararteriekalcifikation bedømt på CT [19]. Effektstørrelsen for HKS-risikoestimatet ved

CHIP var mindst lige så stor som estimeret for de enkelte traditionelle risikofaktorer. Desuden er CHIP med *JAK2-V617F*-mutationen som anført associeret til venøs tromboembolisk sygdom (dyb venøs trombose og lungeemboli) [18, 20]. Patienter med *JAK2-V617F*-mutationen og regulær myeloproliferativ neoplasi, f.eks. essentiel trombocytose eller polycytaemia vera, har også øget risiko for arteriel og venøs trombose, hvilket er forbundet med inflammatorisk aktivering og forhøjet perifert leukocyttal [20-22]. Isolerede neutrofile granulocytter fra disse patienter viser efter stimulation en øget dannelse af neutrophil extracellular traps (NETs), hvilket kan bidrage til trombedannelse, og dette respons hæmmes ved behandling af patienterne med JAK-hæmmeren ruxolitinib [20]. Alder og inflammation er også risikofaktorer for hjertesvigt. Man har hos ældre med svært hjertesvigt efter tidligere myokardieinfarkt fundet CHIP hos 18,5%, oftest med mutationer i *DNMT3A* og *TET2*, hvilket var ledsaget af øget risiko for død og genindlæggelse med forværret hjertesvigt [23]. Alder og inflammation er ligeledes associeret med aortastenose, og i en nyligt publiceret undersøgelse blev der påvist CHIP hos en tredjedel af alle ældre patienter, som havde aortastenose og blev behandlet med kateterbåren aortaklapsubstitution [24]. Disse patienter med CHIP havde markant øget mortalitet efter klapindgrebet, og flowcytometrisk undersøgelse af blod fra patienterne med *DNMT3A*-mutationen viste tegn til proinflammatorisk T-celle-polarisering [24].

Ekspimentel evidens

Mekanismer bag sammenhængen mellem KH og HKS er i de seneste år undersøgt i genmanipulerede musemodeller. Ligesom ved *TET*-mutationer hos mennesker er genetisk ablation af *TET2* i murine hæmatopoietiske celler årsag til KH, og i 2017 fandt man, at transplantation af *TET2*-deficiente knoglemarvsceller til lavdensitetlipoproteinreceptor (LDLr)-deficiente (aterosklerosedisponerede) mus medførte forøget aterosklerose på trods af et normalt perifert blodbillede og uændrede kolesteroltal [19, 25]. In vitro viste *TET2*-deficiente makrofager opregulering af proinflammatoriske cytokiner, specielt øget NLRP3-inflammasommedieret sekretion af interleukin (IL)-1- β , og den forværrede aterosklerose hos *TET2*-deficiente mus blev reduceret ved behandling med NLRP3-hæmmer [19, 25]. Tilsvarende medførte knoglemarvstransplantation med *TET2*-deficiente celler til *TET2*-vildtypemus en progressiv forværring af hjertefunktionen i musemodeller for iskæmisk eller noniskæmisk hjertesvigt med øget myokardiel ekspresion af IL-1- β og favorabel effekt af behandling med NLRP3-hæmmer [6, 26]. Transplantation af knoglemarv fra mus med *JAK2-V617F*-mutationen til LDLr-deficiente mus giver også forøget aterosklerose med øget NLRP3-aktivering og ekspresion af inflammatoriske cytokiner (bl.a. IL-1- β) i makrofager [27]. Mus med *JAK2-V617F*-mutationen (som har polycytaemia vera-lignende fænotype) udvikler spontant lungeemboli og transplantation af hæmatopoietiske celler fra dem til *JAK2*-vildtypemus medfører forværret eksperimentel dyb venøs trombose, hvilket afhænger af NET-dannelse og kan blokeres af behandling med ruxolitinib [20]. Desuden medfører transplantation af *JAK2-V617F*-deficiente knoglemarvsceller myokardiel

inflammation og forværret hjertefunktion i musemodeller for hjertesvigt [28].

PERSPEKTIVER

Genomsekventering er i dag rutinediagnostik, f.eks. hos patienter, hvor man har mistanke om hæmatologisk cancer, solide tumorer (analyse af cellefrit DNA i blodet) og medfødte sygdomme, eller personer, som får foretaget genetisk screening eller DNA-undersøgelse af ren nysgerrighed. Skønt meget tyder på, at KH bidrager kausalt til HKS, er der uafklarede spørgsmål til betydningen af f.eks. KH uden kendte driver-mutationer, arvelige (germline) mutationer ved KH, samspil mellem KH og traditionelle HKS-risikofaktorer (rygning, diabetes, hyperkolesterolemie mv.) og inflammatoriske biomarkører (f.eks. P-højsensitivt C-reaktivt protein (hsCRP)) samt konsekvenser af CHIP for diagnostik og behandling af HKS. Der er således ingen evidens for optimal klinisk håndtering af risikoen for HKS ved CHIP, og effekten af konventionel profylaktisk behandling, f.eks. med statiner, er uvis. Screening for CHIP hos uselekterede individer mhp. risikostratificering for HKS kan derfor ikke anbefales, men påvisning af CHIP bør føre til skærpet kontrol og behandling af de traditionelle risikofaktorer for HKS, særligt hos yngre personer med høj VAF [4-6]. På baggrund af samspillet mellem CHIP, inflammation og HKS er det imidlertid bemærkelsesværdigt, at man med målrettet antiinflammatorisk behandling har dokumenteret effekt ved HKS. Således viste Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcome Study (CANTOS) i 2017, at behandling med canakinumab, som er et monoklonalt antistof rettet imod IL-1- β , nedsatte risikoen for nye ateroskrotiske tilfælde hos patienter med tidligere myokardieinfarkt og let inflammatorisk aktivering (P-hsCRP-koncentration > 2 mg/l) [29]. I et præliminært substudium fra CANTOS fandt man CHIP hos 8,8% af patienterne, heraf hovedparten med *TET2*-mutationer, og hos disse var risikoen for nye ateroskrotiske tilfælde øget, mens den gavnlige effekt af canakinumab var signifikant større hos dem end hos den samlede studiepopulation [30]. Blokering af IL-1- β kan derfor have terapeutisk værdi ved *TET2*-muteret CHIP, hvilket er i tråd med, at de eksperimentelle data viste forværret aterosklerose og øget IL-1- β -ekspression ved *TET2*-deficiens [19, 25].-ekspression ved *TET2*-deficiens [19, 25].

KONKLUSION

Aldring medfører uvægerligt akkumulering af somatiske mutationer i hæmatopoietiske stamceller, hvilket kan medføre KH. CHIP forekommer hyppigt hos ældre, og personer med disse kloner har øget risiko for at få hæmatologisk cancer, men den absolutte risiko herfor er lille, og det er i de senere år blevet klart, at CHIP også er risikofaktor for HKS. Relationen mellem CHIP og HKS er epidemiologisk velunderbygget, og genetiske musemodeller tyder på kausale mekanismer med øget inflammatorisk respons fra leukocytter, som bærer disse mutationer. CHIP fremstår derfor som en væsentlig bidrager til aldersrelateret HKS via et

forstærket inflammatorisk respons. Der findes ingen evidensbaseret behandling af den CHIP-relaterede risiko for HKS, og yderligere forskning afventes til afklaring af diagnostiske og behandlingsmæssige aspekter af KH, herunder mulighed for præcisionsmedicin rettet imod effekter af specifikke somatiske mutationer.

KORRESPONDANCE: *Peter Riis Hansen*. E-mail: prh@dadlnet.dk

ANTAGET: 30. juni 2020

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 17. august 2020

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR: Findes i artiklen publiceret på Ugeskriftet.dk

SUMMARY

Clonal haematopoiesis is possibly a risk factor for cardiovascular disease

Peter Riis Hansen

Ugeskr Læger 2020;182:V04200299

The ageing process is associated with somatic mutations in haematopoietic stem cells, which can lead to clonal haematopoiesis. Recently, clonal haematopoiesis has emerged as a risk factor for cardiovascular disease, and the underlying mechanisms likely involve heightened inflammatory responses in leukocytes derived from mutated clones. This review outlines the concept of clonal haematopoiesis of indeterminate potential and summarises epidemiological and experimental evidence, which support the notion that clonal haematopoiesis-mediated inflammation contributes to cardiovascular disease.

LITTERATUR

1. Wang JS, Bennett M. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res* 2012;111:245-59.
2. Ferruci L, Fabbri E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature Rev Cardiol* 2018;15:505-22.
3. Furman D, Campisi J, Verdin E et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Med* 2019;25:1822-32.
4. Fuster JJ, Walsh K. Somatic mutations and clonal hematopoiesis: unexpected potential new drivers of age-related cardiovascular disease. *Circ Res* 2018;122:523-32.
5. Jaiswall S, Libby P. Clonal hematopoiesis: connecting ageing and inflammation in cardiovascular disease. *Nature Rev Cardiol* 2020;17:137-44.
6. Yura Y, Sano S, Walsh K. Clonal hematopoiesis: a new step linking inflammation to heart failure. *JACC Trans Sci* 2020;5:196-207.

7. Forsberg LA, Gisselson D, Dumanski JP. Mosaicism in health and disease – clones picking up speed. *Nature Rev Genet* 2017;18:128-42.
8. Zhang L, Vijg J. Somatic mutagenesis in mammals and its implications for human disease and aging. *Ann Rev Genet* 2018;52:397-419.
9. Martincorena I, Campbell P. Somatic mutations in cancer and normal cells. *Science* 2015;349:1483-9.
10. Welch JS, Ley TJ, Link DC et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 2012;150:264-70.
11. Genovese G, Köhler AK, Hindsaker RE et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *New Engl J Med* 2014;371:2477-87.
12. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 2014;371:2488-98.
13. Zie M, Lu C, Wang J et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med* 2014;20:1472-8.
14. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood* 2015;126:9-16.
15. Young AL, Challen GA, Birman BM et al. Clonal haematopoiesis harbouring AML-associated mutations is ubiquitous in healthy adults. *Nat Commun* 2016;7:12484.
16. Watson CJ, Papula AL, Poon GYP et al. The evolutionary dynamics and fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Science* 2020;367:1449-54.
17. Hansen JW, Pedersen DA, Larsen LA et al. Clonal hematopoiesis in elderly twins: concordance, discordance, and mortality. *Blood* 2020;135:261-8.
18. Nielsen C, Birgens HS, Nordestgaard BG et al. Diagnostic value of JAK2 V617F somatic mutation for myeloproliferative cancer in 49 488 individuals from the general population. *Br J Haematol* 2013;160:70-9.
19. Jaiswal SM, Natarajan P, Silver AJ et al. Clonal hematopoiesis and risk of atherosclerotic cardiovascular disease. *New Engl J Med* 2017;377:1111-21.
20. Wolach O, Sellar RS, Martinod K et al. Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Science Trans Med* 2018;10:eaan8292.
21. Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis. *Blood* 2013;122:2176-84.
22. Hasselbalch HC, Bjørn ME. MPNs and inflammatory diseases: the evidence, consequences, and perspectives. *Mediators Inflamm* 2015; 2015:102476.
23. Dorsheimer L, Assmus B, Rasper T et al. Association of mutations contributing to clonal hematopoiesis with prognosis in chronic ischemic heart failure. *JAMA Cardiol* 2019;4:25-33.
24. Mas-Peiro S, Hoffman J, Fichtischerer S et al. Clonal haematopoiesis in patients with degenerative aortic valve disease undergoing transcatheter aortic valve implantation. *Eur Heart J* 2020;41:933-9.
25. Fuster JJ, MacLauchlan S, Zuriaga MA et al. Clonal hematopoiesis associated with TET2 deficiency accelerates atherosclerosis development in mice. *Science* 2017;355:842-7.
26. Sano S, Oshima K, Wang Y et al. Tet2-mediated clonal hematopoiesis accelerates heart failure through a mechanism involving the IL-1 β /NLRP3 inflammasome. *J Am Coll Cardiol* 2018;71:875-86.
27. Wang W, Liu W, Fidler T et al. Macrophage inflammation, erythrophagocytosis, and accelerated atherosclerosis in Jak2V617F mice. *Circ Res* 2018;123:e35-47.
28. Sano S, Wang Y, Yura Y et al. JAK2V617F-mediated clonal hematopoiesis accelerates pathological remodeling in murine heart failure. *JACC Basic Trans Sci* 2019;4:684-97.

29. Ridker PM, Everett BM, Thuren T et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *New Engl J Med* 2017;377:1119-31.
30. Svensson EC, Madar A, Cambell CD et al. TET2-driven clonal hematopoiesis predicts enhanced response to canakinumab in the CANTOS trial: an exploratory analysis. *Circulation* 2018;138(suppl 1):A15111.