

急性髓性细胞白血病的分子遗传学研究进展

王龙¹ 徐燕丽^{1△}

[关键词] 急性髓性细胞白血病;正常核型;预后;分子遗传学

[中图分类号] R733.71 [文献标志码] A [文章编号] 1004-2806(2013)07-0509-04

Advances in molecular genetics of acute myeloid leukemia

Summary Genomics technology is widely applied in acute myeloid leukemia (AML) at present. A large number of abnormal genes associated with AML have been found in succession. However, there are 40% to 49% patients who were the normal karyotype (NK) in AML. For this reason, it is very important to supplement the molecular genetics studies to assess the prognosis of NK-AML patients. Therefore, new genes have the great significance in improving the prognosis of AML classification and guiding the diagnosis and treatment of NK-AML patients.

Key words acute myeloid leukemia; normal karyotype; prognosis; molecular genetics

急性髓性细胞白血病(AML)是一种异质性和克隆性的造血干细胞(HSC)疾病,由于HSC获得性异常遗传,使HSC异常自我更新、增殖和分化,故遗传物质异常导致AML发病。但40%~49%的AML患者为正常染色体核型^[1]。因此,对于正常核型AML患者的分子遗传学研究有重要意义。已经有许多影响正常核型AML患者预后的基因突变和基因表达变化被证实,如FMS样酪氨酸激酶3(FLT3)基因突变、核磷蛋白1(NPM1)基因突变、MLL基因部分串联重复(MLL-PTD)、髓系转录因子CCAAT增强子结合蛋白-A(CEBPA)基因突变及脑和急性白血病胞质(BAALC)基因过表达,其中NPM1和CEBPA提示预后良好,FLT3、MLL-PTD和BAALC提示预后不佳。最新的异常基因尤其是中危组基因的发现,一方面可以对正常核型AML的预后进行分层细化,从而更加完善其预后分层;另一方面可以通过总结特定的遗传学异常,并针对某些特殊的遗传学异常研发靶向治疗药物,从而改善正常核型AML的治疗方案。本文将近年来AML相关分子遗传学研究的进展做一综述。

1 DNA甲基转移酶3A

目前在哺乳动物中发现了4种DNA甲基转移酶(DNMTs),根据它们的结构和功能可以分为2大类:DNMT1和DNMT3。其中DNMT3又可以分为DNMT3A、DNMT3B、DNMT3L。DNMTs的主要功能是催化胞嘧啶转化为5-甲基胞嘧啶,其中DNMT3A和DNMT3B的功能是将甲基加入到未修饰的DNA中,而DNMT1的功能是在细胞分

裂后继续维持DNA甲基化^[2]。DNMT3是一种从头甲基化酶,对基因启动区CpG位点的侧翼序列有一定的倾向性。DNMT3A基因定位于染色体2p23,对富含CpG的片段甲基化效率不高,但具有较为精确的作用能力。基因启动区CpG岛的甲基化能够抑制下游基因的转录,从而引起下游基因沉默,当一些抑癌基因沉默时,就导致了肿瘤的发生。

对于500例再发AML患者的研究发现,14%的患者发现DNMT3A突变,其中有22.9%的患者为正常核型。具有DNMT3A突变的患者常具有以下特点:①年龄较大;②具有较高的白细胞计数和血小板计数;③预后危险分层属于中危组;④细胞遗传学上属正常核型,常伴有FLT-ITD(FLT3基因内部串联重复)、NPM1、蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型11(PTPN11)基因及异柠檬酸脱氢酶2(IDH2)突变,但很少伴有CEBPA突变;⑤是较差的总生存率(OS)和无复发生存率的独立预后因素;⑥可能成为微小残留病灶的潜在生物学标志^[3]。

有研究统计分析了280例初发AML患者的DNMT3A基因的外显子,发现23%的AML患者发生DNMT3A基因突变,更加特别的是在细胞遗传学改变上属中危组的AML患者,其DNMT3A突变率更高,而低危组的AML患者几乎没有DNMT3A突变。这说明正常核型AML中DNMT3A基因存在一定比例的突变^[4]。DNMT3A外显子23阳性在伊达比星或柔红霉素治疗下,较外显子23阴性者具有更好的无病生存率和OS^[5]。最近对398例小于60岁的AML患者的研究发现,有DNMT3A基因突变的患者,大剂量柔红霉素较标准剂量可以更好地提高患者的生存率,进一步说明DNMT3A基因可以用作AML的危险分层指标,并可以指导治疗^[6]。

¹南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)血液科(南京,210006)

[△]审校者

通信作者:徐燕丽, E-mail: xuyanli62@sohu.com

基于 DNMT3A 突变患者的特点, DNMTs 抑制剂地西他滨对 DNMT3A 基因突变的 AML 患者有效。地西他滨通过不可逆地抑制 DNMT3A 活性, 达到去甲基化作用, 使沉默基因恢复表达。

2 IDH

目前在哺乳动物中发现 3 种 IDH 同工酶, 根据它们的功能分为: ①依赖 NAD 的线粒体 IDH; ②依赖 NADP 的线粒体 IDH; ③依赖 NADP 的胞质 IDH。其中人类 IDH1 基因位于染色体 2q33.3, 依赖 NADP 并且定位于细胞质中; 人类 IDH2 基因位于染色体 15q26.1, 依赖 NADP 并且定位于线粒体中^[7]。IDH 蛋白为代谢酶, 当 IDH 基因发生突变时, 其蛋白失去生理性的酶功能, 并且产生新的酶, 即酮戊二酸转变成 2-羟化戊二酸, 作为一种致癌代谢产物的 2-羟化戊二酸, 能够促使白血病的发生。

Schnittger 等^[8]发现在 AML 中, IDH1 基因突变的结果是使酮戊二酸转变为 2-羟化戊二酸。该研究对 1 414 例 AML 患者的 IDH1 分析发现, 93 例 (6.6%) 发生 IDH1 突变, 且中危组 AML 有明显的 IDH1 基因突变。IDH1 突变常伴有 NPM1 突变和 MLL-PTD 突变。具有 IDH1 突变的患者有以下特点: ①常见于以 M₁ 为主的未分化型 AML; ②女性发病率高于男性; ③具有较低的完全缓解率 (CR)、较高的复发率和较短的 OS。

Thol 等^[9]分析了 272 例正常核型 AML 患者的 IDH2 基因, 约 12.1% 的正常核型 AML 患者可以检测到 IDH2 基因突变; 而在 130 例异常核型 AML 患者中, 只有 3.8% 的患者检测到 IDH2 基因突变。表明 IDH2 在正常核型 AML 患者中突变率高。Paschka 等^[10]研究发现, IDH1 和 IDH2 突变可以导致 AML 复发, 并且与伴有 NPM1 突变但不伴 FLT3-ITD 突变共同构成正常核型 AML 的预后不良因素, 这也细化了正常核型 AML 的危险分层。Rockova 等^[11]对 439 例 AML 患者多变量生存分析后发现, IDH2、CEBPADM 及 CD34 是中危组 AML 的预后因素, 并且可以将中危组 AML 细分为 2 个亚组, 这 2 个亚组有显著的生存特点, 5 年 OS 分别为 51.9% 和 14.9%。

总的来说, IDH1、IDH2 突变好发于正常核型 AML, 可作为中危组 AML 预后分层的一个重要指标。IDH 突变阳性患者的诱导缓解率低, 易复发, 完全缓解后应考虑行异基因造血干细胞移植治疗。

3 RAS

RAS 基因编码一系列的膜相关性蛋白, 通过大量的膜受体和配体的结合来调控信号转导。RAS 基因家族中有 3 类基因, 分别为 Kras (Kirsten ras)、Hras (Harvey ras) 和 Nras (Neuroblastoma ras), 其中 Nras 与 AML 相关^[12]。Ras 基因全长为

85 kb, P21(膜结合 G 蛋白)RAS 为一个编码含 495 个氨基酸的蛋白, 参与信号传导途径。当有信号刺激或 RAS 自身发生突变活化, 可以通过以下 2 条途径, 分别是诱导 PI3K/Akt 抗凋亡及 Raf/Mek/Erk 增殖, 使蛋白磷酸化, 最终发生 AML。

Bowen 等(2005)对 1 106 例 AML 患者的研究发现, 约有 11% 的患者发生 Nras 基因突变, 其中在具有 t(3;5)(q21-25;q31-q35) 的 AML 患者中过量表达, 而在 t(15;17)(q22;q21) 的 AML 患者中表达低下, 但 Ras 基因突变不影响临床上的 OS、CR 及复发率。Bacher 等(2006)对 2 502 例 AML 患者的研究发现, 有 Nras 基因突变者近 10.3%, 当伴有 FLT3-LM、MLL-PTD 和 NPM 基因突变时, Nras 基因突变会使患者有较好的 OS。综上分析, Nras 基因突变对于正常核型 AML 并无独立的预后意义, 但可与 FLT3-LM、MLL-PTD 和 NPM 基因突变共同构成预后良好的因素。

4 C-kit

C-kit 是一种原癌基因, 全长约 80 kb, 定位于染色体 4q11-12, 其编码分子量 145 KD 的酪氨酸激酶受体蛋白, 此蛋白由 3 部分组成, 一部分为 5 个 Ig 样基序的胞外区, 主要功能为结合配体干细胞因子 (SCF), 另一部分为能够传导信号的较短跨膜区, 最后一部分为含酪氨酸激酶活性的胞质区。其中 SCF 是一种重要的造血细胞因子, 其与 C-kit 的特异性结合可以使 C-kit 蛋白二聚体化, 还能使位于细胞膜内的酪氨酸残基磷酸化。这一过程将细胞外的信号转导到细胞内部, 引起细胞内信号改变, 从而调控正常造血细胞的增殖和分化。但此信号通路的异常活化, 易导致白血病的发生。

Cairoli 等(2006)对 67 例伴有 C-kit 基因突变的 t(8;21) AML 患者的研究发现, C-kit TKD816 基因突变对 t(8;21) AML 有不好的预后影响。Paschka 等(2006)对 61 例 inv(16) AML 成年患者和 49 例 t(8;21) AML 成年患者, 通过重复大剂量阿糖胞苷化疗后, 用高效液相色谱法和直接测序分析 KIT17 和 KIT8 基因的突变情况, 发现 KIT17 基因突变的患者具有高复发率, 对于 inv(16) AML 成年患者 KIT17 和 KIT8 基因突变都会降低 OS, 对于 t(8;21) AML 成年患者 KIT 基因突变会影响复发率。2010 年美国国立综合癌症网络 (NCCN) 对 AML 的预后分层中表示, 伴有 t(8;21)、inv(16) 或 t(16;16) 的患者, 如果有 C-kit 基因突变归为预后中等组。Park 等^[13]对 116 例诊断为核心结合因子 AML 患者的研究发现, 伴有 t(8;21) 的 AML 患者如果有 KIT17 基因突变, 其预后远远差于没有 KIT17 突变的患者; 但是对于 inv(16) 的 AML 患者, C-kit 的基因突变对预后无影响。因此, 当伴有 t(8;21) 的 AML 患者如果发生 KIT17 突变, 则表

示预后不良。

5 RUNX1

RUNX1 又称为 AML1, 全长为 260 kb, 由伴有 2 个不同启动子的 12 个外显子组成。每个启动子后面跟着启动密码子 ATG, 该基因定位于染色体 21q22。RUNX1 是白血病染色体易位最常见的靶位点, 对于胚胎期的造血干细胞和造血功能有重要的决定作用。RUNX1 属于 RUNX 转录因子蛋白家族, RUNX1 蛋白由 453 个氨基酸组成, 包含了许多有重要意义的区域, 同时具有转录活化和抑制的双重作用, 可以双向调节造血相关基因的表达^[14]。

Silva 等^[15] 研究表明, 在 AML 微分化型 (AML-M₀) 中会经常携带失去功能的突变基因 RUNX-1, 而 RUNX1 基因突变与 M₀ 型的形态学及明显的染色体异常有密切关系。在有 RUNX-1 突变的 AML-M₀ 样本中, B 细胞相关基因 (如一些 B 细胞受体复合物) 转录调控因子 RUNX3、ETS2、IRF8、PRDM1 和主要组织相容性复合体 (MHC) II 类基因明显上调, 表明在有 RUNX-1 突变的 AML 中, 骨髓和 B 细胞淋巴瘤的相关基因异常表达。根据这一特点可以将 AML-M₀ 细分为有 RUNX1 突变和无 RUNX1 突变, 也就是说 RUNX1 可能成为 AML-M₀ 的独立预后因素。Tang 等^[16] 对 470 例中国成人 AML 患者分析发现, 有 RUNX1 突变的患者常具有以下特点: ①以老年男性多见; ②常伴有 IDH 值的下降; ③多见于 FAB 分型中 AML 的 M₀ 和 M₁; ④会伴有 HLA-DR 和 CD34 的表达, 但不会同时伴有 CD33、CD15、CD19 及 CD56 的表达; ⑤常会伴有 MLL-PTD 突变, 但不伴有 NPM1 和 CEBPA 突变; ⑥具有较低的 CR 及存活率。因此, RUNX1 基因突变影响正常核型 AML 的预后, 且目前较多的结果表明 RUNX1 基因突变提示预后不良。

6 AXSL1

AXSL1 (additional sex comb-like 1) 基因位于染色体 20q11, 主要编码一些蛋白来调整染色质的重建。AXSL 蛋白可以调节干细胞的基因编码^[17]。最近抑癌基因 AXSL1 越来越多地发现于各种髓系恶性血液病中, 有研究分析了 501 例再发白血病患者, 其中 54 例 (10.8%) 发生 AXSL1 突变, 而在这 54 例中, 8.9% 的患者为正常核型。AXSL1 突变具有以下特点: ①年龄较大, 男性更多见; ②常伴有三倍体 8、RUNX1、HLA-DR 和 CD34 突变, 但很少同时出现复杂的细胞遗传学, 如 t(15; 17)、FLT3-ITD、NPM1 和 WT1 基因突变及 CD15、CD33 的表达; ③一般具有较短的 OS, 但 AXSL1 不是独立的预后因素; ④ AXSL1 突变可以改变 AML 患者的疾病进展^[18]。

7 PHF6

PHF6 (plant homeodomain finger protein 6) 基因位于人类性染色体 Xq26.3 上, 其编码含有 2 个锌指结构的蛋白^[19]。PHF6 蛋白位于细胞核内, 被认为是潜在的转录因子。在儿童和成人 AML 患者中, PHF6 突变较常见。最近有研究分析了 353 例 AML 患者, 10 例发生 PHF6 基因突变, 且 AML 患者中 PHF6 基因突变一般表现为框移突变和无意义突变。PHF6 基因突变一般有以下特点: ①男性患者多见; ②常伴有 IDH2、ASXL1、FLT3、CEBPA 及 Nras 突变; ③多见于 FAB 分型中 AML 的 M₀、M₁ 和 M₂^[20]。PHF6 突变的患者一般具有较差的 OS, 且提示预后不良^[6]。

8 展望

对正常核型 AML 基因的研究目前还有很多问题值得去探索, 有些基因的预后还存有争议, 需要大量的临床证据来证实。若能确定某些中危组基因, 对于患者的治疗指导作用有十分重大的意义, 对于将来的靶向药物的研发也有不可替代的作用。中危组基因的个体化治疗的制定, 也将为 AML 患者的治疗和预后带来新的方向。

参考文献

- [1] MROZEK K, MARCUCCI G, PASCHKA P, et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics; are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? [J]. *Blood*, 2007, 109: 431-448.
- [2] MCDEVITT M A. Clinical applications of epigenetic markers and epigenetic profiling in myeloid malignancies [J]. *Semin Oncol*, 2012, 39: 109-122.
- [3] HOU H A, KUO Y Y, LIU C Y, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications [J]. *Blood*, 2012, 119: 559-568.
- [4] LEY T J, DING L, WALTER M J, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363: 2424-2433.
- [5] LAROCHELLE O, BERTOLI S, VERGEZ F, et al. Do AML patients with DNMT3A exon 23 mutations benefit from idarubicin as compared to daunorubicin? [J]. *Oncotarget*, 2011, 2: 850-861.
- [6] PATEL J P, GONEN M, FIGUEROA M E, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366: 1079-1089.
- [7] 米瑞华, 吕晓东, 魏旭东, 等. 急性髓系白血病患者 IDH1 和 IDH2 基因突变的检测及其临床意义 [J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(9): 610-613.
- [8] SCHNITTGER S, HAFERLACH C, ULKE M, et al. IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML

- patients and are associated with intermediate risk karyotype and unfavorable prognosis in adults younger than 60 years and unmutated NPM1 status[J]. *Blood*, 2010, 116: 5486—5496.
- [9] THOL F, DAMM F, WAGNER K, et al. Prognostic impact of IDH2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2010, 116: 614—616.
- [10] PASCHKA P, SCHLENK R F, GAIDZIK V I, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28: 3636—3643.
- [11] ROCKOVA V, ABBAS S, WOUTERS B J, et al. Risk stratification of intermediate-risk acute myeloid leukemia; integrative analysis of a multitude of gene mutation and gene expression markers[J]. *Blood*, 2011, 118: 1069—1076.
- [12] BERMAN J N, GERBING R B, ALONZO T A, et al. Prevalence and clinical implications of NRAS mutations in childhood AML: a report from the Children's Oncology Group [J]. *Leukemia*, 2011, 25: 1039—1042.
- [13] PARK S H, CHI H S, MIN S K, et al. Prognostic impact of C-kit mutations in core binding factor acute myeloid leukemia [J]. *Leuk Res*, 2011, 35: 1376—1383.
- [14] 张寒, 郑胡镛. RUNX1 表观遗传机制在白血病发生中的作用研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18(2): 525—530.
- [15] SILVA F P, SWAGEMAKERS S M, ERPELINCK-VERSCHUEREN C, et al. Gene expression profiling of minimally differentiated acute myeloid leukemia: M0 is a distinct entity subdivided by RUNX1 mutation status[J]. *Blood*, 2009, 114: 3001—3007.
- [16] TANG J L, HOU H A, CHEN C Y, et al. AML1/RUNX1 mutations in 470 adult patients with de novo acute myeloid leukemia: prognostic implication and interaction with other gene alterations[J]. *Blood*, 2009, 114: 5352—5361.
- [17] CARBUCCIA N, TROUPLIN V, GELSI-BOYER V, et al. Mutual exclusion of ASXL1 and NPM1 mutations in a series of acute myeloid leukemias[J]. *Leukemia*, 2010, 24: 469—473.
- [18] CHOU W C, HUANG H H, HOU H A, et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations [J]. *Blood*, 2010, 116: 4086—4094.
- [19] BAKER L A, ALLIS C D, WANG G G. PHD fingers in human diseases: disorders arising from misinterpreting epigenetic marks[J]. *Mutat Res*, 2008, 647(1—2): 3—12.
- [20] VAN VLIERBERGHE P, PATEL J, ABDEL-WAHAB O, et al. PHF6 mutations in adult acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2011, 25: 130—134.

(收稿日期: 2012-06-16)

科技论文中插图的规范化

科技期刊中插图可大致分为两大类,即线条图和照片图,照片图又有黑白照片图和彩色照片图之分。

1 插图的位置

与表格一样,插图的编排应随文列出,出现在与图相呼应的词语,如:“见图×”或“(见图×)”或“如图×所示”后的自然段落之下,即要先见文字后见插图。

2 插图的精选

图的内容不可与文字、表格重复。在通读全文,掌握文章主题的基础上,帮助作者精选插图,删除一切可不要的插图。

3 图序与图题

按照国家标准,插图必须有图序和图题,缺一不可。图序即插图的序号。图序应按插图在文中出现的先后用从“1”开始的阿拉伯数字连续编号,如“图 1”、“图 2”等。如果一篇论文中只有 1 幅插图,则图序编为“图 1”。

图题指插图的名称。图题应准确得体,能准确反映主题的特定内容,具有专指性,让读者一目了然,快速了解插图信息。

图应具有“自明性”,即只看图、图题和图例,不阅读正文,就可理解图意。

图题连同图序居中间排小 5 号黑体(图序与图题之间空一字距)置于图下。