

- gereis 血型系统[J]. 临床血液学(输血与检验), 2015, 28(12):1096-1100.
- [4] 徐姿,李树中,卞洁,等. 红细胞血型抗原的研究进展[J]. 临床血液学(输血与检验), 2016, 29(4): 345-350.
- [5] Storry J. Investigation into the Carrier Molecule of the Vel Blood Group Antigen[J]. Aabb Meeting, 2010, 16:28A-28A.
- [6] Rainer T. The effects of dithiothreitol-tested red blood cells with anti-Vel[J]. Transfusion, 2004, 44 (Suppl.):122A.
- [7] Wieckhusen C, Rink G, Scharberg EA, et al. Molecular Screening for Vel- Blood Donors in Southwestern Germany[J]. Transfus Med Hemother, 2015, 42: 356-360.
- [8] Costa DC, Dezan M, Santos T, et al. Screening for the SMIM1 * 64_80 del Allele in blood donors in a population from Southern Brazil [J]. Transfusion Med, 2016, 26:355-359.
- [9] Coghlan G, Zelinski T. The c. 64_80del SMIM1 allele is segregating in the Hutterite population[J]. Transfusion, 2016, 56:946-949.
- [10] Arnaud L, Kelley LP, Helias V, et al. SMIM1 is a type II transmembrane phosphoprotein and displays the Vel blood group antigen at its carboxyl-terminus [J]. Febs Letters, 2015, 589:3624-3630.
- [11] Haer-Wigman L, Stegmann TC, Solati S, et al. Impact of genetic variation in the SMIM1 gene on Vel expression levels[J]. Transfusion, 2015, 55:1457-1466.
- [12] Storry JR, Jöud M, Christophersen MK, et al. Homozygosity for a null allele of SMIM1 defines the Vel-negative blood group phenotype[J]. Nat Genetics, 2013, 45:537-541.
- [13] Issitt P. Phenotypic association between Ge and Vel [J]. Transfusion, 2014, 34 (Suppl):60S.
- [14] Banks J. Two new cases of anti-ABTI showing an association between ABTI and Vel [J]. Vox Sang, 2010, 87 (Suppl. 3):38.
- [15] Le Masne A, Vachée A, Horbey C, et al. Severe form of neonatal hemolytic disease by anti-Vel allo-immunization [J]. Arch Fr Pediatr, 1992, 49:899-901.
- [16] Geoff Daniels. Human Blood Groups[M]. 3rd edition, 2013: 500-502.
- [17] Cvejic A, Haer-Wigman L, Stephens JC, et al. SMIM1 underlies the Vel blood group and influences red blood cell traits[J]. Nat Genet, 2013, 45:542-545.

(收稿日期:2017-08-16)

表观遗传修饰与急性髓系白血病关系的研究进展*

白英英¹ 董昌虎² 晁旭² 翟冬芝¹ 郭雨晨¹ 崔胜楠¹ 李宏²

[关键词] 白血病,髓系,急性;表观遗传学修饰
doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.02.028
[中图分类号] R733.71 [文献标志码] A

Progress on relationship between epigenetic modification and acute myeloid leukemia

Summary Acute myeloid leukemia (AML) is a rather common disease, which is characterized by proliferation of impaired-function hematopoietic progenitor cells. In tradition standpoint, AML had been considered a genetic-alteration disease, but more and more experimental evidence showed that epigenetic modifications would play an important role in the development and maintenance of leukemia cells. In this article, we summarized the relationship of epigenetic alterations and acute myeloid leukemia.

Key words acute myeloid leukemia; epigenetic modifications

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种较为常见的疾病,主要为功能受损的造血祖细胞增殖活跃,这种改变导致血细胞分化成熟异常,由于缺乏有效治疗,患者通常在诊断的1年

以内死于感染,出血以及器官浸润。世界卫生组织^[1]将AML定义为一种造血祖细胞异质性克隆性疾病。传统意义上认为AML为一种基因改变导致的基因功能不可逆性损伤,可以导致增殖、分化、凋亡以及转录等异常,从而引起白血病的发生。但近几年,有相关报道认为AML表型与表观遗传学改变有关^[2-3]。事实上,表观遗传学改变在基因表达中同样扮演重要角色,一些研究表明:表观遗传

* 基金项目:陕西省科技厅自然科学基金(No:2017JM8176)
¹ 陕西中医药大学(陕西咸阳,712046)
² 陕西中医药大学第二附属医院血液科
通信作者:李宏, E-mail: sxefyf. ly@163. com

基因异常可以发生在信号通路调节增殖、迁移、生长、分化、转录以及死亡信号的过程中,这可能对恶性肿瘤的发生、发展至关重要。最重要的是,表观遗传修饰是可逆的,所以,基于表观遗传学改变的个体化治疗将会是治疗 AML 的一大突破。在这篇综述中,我们将会讨论近年来表观遗传学改变与 AML 的发病机制和治疗方面的关系。

1 表观遗传学

综上,那么到底什么是表观遗传学呢?表观遗传学的定义为非 DNA 序列改变引起基因表达过程中遗传信息的改变。表观遗传学改变可以通过多种分子机制建立:DNA 甲基化、组蛋白修饰、非编码 RNA(non-coding RNA, ncRNA)。多种分子机制间相互作用彼此影响。有趣的是,AML 患者的表观基因组研究显示了 DNA 甲基化改变、甲基化胞嘧啶氧化衍生物和组蛋白翻译后修饰的改变,后者包括赖氨酸甲基化、磷酸化以及乙酰化,提示恰恰是这些修饰作用在 AML 的发病机制上发挥着基础作用^[4]。

2 DNA 甲基化

在甲基转移酶(methyltransferases, DNMTs)^[5]催化的作用下,CpG 二核苷酸中胞嘧啶环的 5 端添加一个甲基,形成 5-甲基胞嘧啶的反应就是 DNA 甲基化。真核细胞中,DNA 甲基化一般存在于为 CpG 二核苷酸的组成部分胞嘧啶残基中^[6]。而 CpG 二核苷酸并不均一分布于基因组中,主要聚集于 CpG 岛(富表达 CpG 的短 DNA 区域)以及一些重复区域(如着丝粒和逆转座子)。在人类基因组中约有 13 000 非甲基化 CpG 岛,但发挥重要作用的只有少数甲基化 CpG 岛。如:相关启动子区域的甲基化 CpG 岛可形成稳定沉默,主要见于基因组印记和 X 染色体失活^[7]。相比之下,在组织中的甲基化 CpG 二核苷酸主要通过抑制假基因内 DNA 结合位点的识别从而避免细胞的异常转录。

启动子区域中的 DNA 甲基化可导致稳定的转录抑制和基因功能的丢失;相反地,出现在编码区的 DNA 甲基化则会引起基因的主动表达。推测上述两种关系可能是由于 DNA 甲基化导致的核小体稳定以及转录起始位点 DNA 甲基化引起的。DNA 甲基化还可以直接影响转录因子与 DNA 的结合,进一步抑制表达基因内 DNA 结合位点的识别;也可以通过创造新的结合位点与组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)结合,发挥抑制基因表达的作用。

DNA 甲基化是第一个与肿瘤的发生、发展联系起来的表观遗传改变,同时也是在肿瘤领域中研究最为深入的一种。现在普遍认为 CpG 岛甲基化与肿瘤相关基因表达的改变有关,主要通过低甲基

化、印记丢失和过甲基化 3 种机制引起肿瘤的发生。除了 DNA 甲基化的自身调控外,甲基化 DNA 结合蛋白(methylated DNA binding proteins, MBDs)与甲基化胞嘧啶结合形成的复合物在 HDACs 的作用下可引起染色体压缩及基因沉默。

低甲基化可以引起染色体不稳定、突变,还可以激活多种肿瘤基因;而发生在肿瘤抑制基因启动子区域的 CpG 岛过甲基化则可以引起肿瘤抑制基因转录沉默。也正是因为肿瘤基因的激活与肿瘤抑制基因的沉默导致肿瘤发生的可能性大大增加。

如 FHIT(fragile histidine triad, FHIT)的高甲基化修饰可以使该基因表达下调,导致错配能力下降或缺失以至于基因组的不稳定性升高^[8]。DNA 结合抑制因子(inhibitor of DNA binding 4, ID4)为抑癌因子,其启动子区域甲基化导致 ID4 表达沉默,从而干扰细胞生长,增加细胞增殖潜能^[9]。而端粒酶编码基因(telomerase reverse transcriptase, TERT)的高甲基化,同样导致其表达下调,无限延长端粒长度,增强细胞增殖能力^[10]。

3 组蛋白修饰

组蛋白的 N-末端为组蛋白翻译后修饰的主要位点,我们称之为“组蛋白尾巴”。组蛋白修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、核糖基化和脯氨酸异构化^[11]。其中,研究最多的当属赖氨酸乙酰化和组蛋白 H3、H4 中赖氨酸和精氨酸的甲基化在转录调控中的作用。参与建立组蛋白修饰的酶分别为组蛋白乙酰化转移酶(histone acetyltransferases, HAT)和组蛋白甲基化转移酶化合物(histone methyl transferases, HMT)^[12];而通过组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)和组蛋白去甲基化酶(histone demethylases, HDMTs)解除组蛋白修饰^[13]。总之,组蛋白乙酰化与开放染色质结构有关,发挥激活基因转录的作用;而组蛋白的甲基化与封闭染色质有关,发挥转录阻遏的作用。

除了影响组蛋白与 DNA 之间的相互作用,组蛋白修饰还可以增加或者减少靶基因上的其他修饰[如:DNA 甲基化和非编码 RNAs(noncoding RNAs, ncRNAs)],这些修饰同样可以参与信号通路或者其他表观遗传的调控。有实验表明特定蛋白或蛋白复合体可以通过翻译组蛋白密码子来发挥调控基因表达中的表观遗传修饰的作用。而乙酰化酶(histone acetylase, HAT)和 HDAC 则为建立组蛋白密码子的关键点。事实上,HATs 为白血病染色体重排时产生的融合蛋白的一部分,例如:t(8;16)(p11, p13)与 AML 产生的 MOZ-CBP 融合蛋白有关,该融合蛋白由 2 种 HAT 酶构成,分别为单核白血病锌指蛋白(MONOCYTIC LEUKEMIA ZINC-FINGER PROTEIN, MOZ)和 CREB 结合蛋白(CREB-BINDING PROTEIN, CBP)^[14]。其促进白血病转化潜

在机制为:组蛋白乙酰化引起的错误定位导致基因异常表达。同时,AML 另一潜在机制可能是由于嵌合转录因子低聚化导致的靶基因 HDACs 的异常招募。例如,AML1-ETO 融合蛋白就是通过异常的 HDAC 招募导致造血细胞分化异常^[15]。

4 表观遗传药物与 AML 的治疗

现已有超过 100 种表观遗传制剂正在接受临床观察,在过去 10 年中,少数制剂已经得到美国食品和药物管理局(US Food and Drug Administration, FDA)的认证。先主要讲讲针对 DNA 甲基化的药物以及针对组蛋白修饰的药物^[16]。

5 针对 DNA 甲基化的临床药物

DNA 甲基化转移酶抑制剂是最早发现以及最成功的典型表观遗传制剂。在 2004 年,在 II 期和 III 期临床试验的基础上, FDA 就批准了阿扎胞苷(一种 DNA 甲基化转移酶抑制剂)作为骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)的治疗药物。在 2006 年,地西他滨作为第 2 种治疗 MDS 的 DNA 甲基化转移酶抑制剂得到了 FDA 的认证。在这些研究中,与对照组相比,地西他滨与阿扎胞苷反应率高达 30%。阿扎胞苷现在也在做其他恶性疾病的临床试验,如非小细胞肺癌和胰腺癌^[17]。

阿扎胞苷和地西他滨为胞苷类似物,嘧啶环 5 位碳原子被氮原子所取代。细胞摄取后,阿扎胞苷与地西他滨转化为相应的一磷酸核苷酸二磷酸核苷酸和三磷酸核苷酸^[18]。在 DNA 复制过程中由他们取代胞嘧啶,通过使 DNMTs 失活产生 DNA 去甲基化。尽管该药无差别的瞄准 DNMTs,他们发现,使用小剂量选择性的激活基因表达会有相对较少的不良反应。相应的核苷酸编入 DNA 后,在 DNA 和 DNMT 之间形成加成化合物。大剂量时, DNA 将无法修复,可能导致细胞死亡,而在较小剂量时,在 DNA 恢复后,形成的加成物会被蛋白体降解。之后,在缺乏 DNMT 的情况下, DNA 继续合成,从而异常 DNA 甲基化将不会在子代中出现。通过这种方式,小剂量的阿扎胞苷和地西他滨可以使先前沉寂的基因再表达。

6 针对组蛋白修饰的临床药物

组蛋白去乙酰化抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACi)也已经在恶性实体瘤和恶性血液病方面开展了一些临床试验。有趣的是,目前为止,试验结果显示 HDACi 在恶性血液疾病方面有更好的效果^[19]。同时,也将测试这些化合物的联合治疗效果如何。作为化学增敏剂与标准化疗药物联合或者与 DNA 甲基转移酶抑制剂联合使用。在人类, HDACi 的生物学靶点为 HDACs。HDACi 根据短链脂肪酸、环肽酰胺等化学结构的不同而分类,不同种类的 HDACi 的效力、药代动力学和选择

性抑制靶点可不同^[20]。HDACi 的主要作用为提高 G₁ 期或 G₂/M 期细胞循环阻滞,细胞凋亡及细胞分化。不过,我们要清楚的是,组蛋白并不是 HDAC 的唯一靶点,其他还有 p53、STAT3、热休克蛋白 90 以及其他重要蛋白,所以我们观察到的结果也可能有以上蛋白乙酰化的贡献。

至今为止,只有 2 种 HDACi 被 FDA 认证:2006 年 10 月 6 日批准伏立诺他用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL);2009 年 11 月 5 日批准罗米地辛治疗 CTCL。其中伏立诺他与依达拉滨和阿糖胞苷在联合治疗 MDS 的 2 期临床试验中也取得了可喜的结果。

基于表观遗传建立的治疗方法主要为 DNMTs 和 HDACs 抑制剂的使用,他们将在细胞的基因调节方面有着更普遍的作用。然而,如果能找出表观遗传机制引起的唯一的分子通路,在更多靶向治疗发展中,会成为非常棒的候选药物。比如特定靶向基因,个体结合区域又或者特定的酶活动。因此,有效的靶向治疗取决于对疾病进程中表观遗传突变是否有一个清楚的认知。

7 结论

尽管我们对髓系恶性肿瘤的遗传学研究有了重大进展,但将这些见解转化为新疗法的例子却很少。表观遗传学修饰为治疗干预提供了新靶点。在基因改变引起白血病的患者中, IDH1 和 IDH2 突变可以为其提供一个新的,可追踪的酶活性靶点,同样,从治疗的角度来说,才发现与基因相关的酶活性参与白血病转化,包括 H3K79 甲基转移酶的活性、组蛋白乙酰转移酶的活性以及其他染色质酶的功能。全世界的科学文献及专利发明,提示我们对遗传性髓系恶性肿瘤有了更先进的认识,随之而来的,我们对白血病生成中特定的表观遗传学修饰也有了更进一步的认知,而这一认知在未来的几年很有可能提高 MPN、MDS、AML 等疾病的预后。更重要的是,这一认知有望为 AML 提供了一种新的诊断及预后方法,真正做到个体化治疗。可以用更灵敏的方法更早的检测到病理变化,我们都知道,这一点相当重要,如果早发现早干预治疗大多数肿瘤是可以治愈的。

参考文献

- [1] Sabattini E, Bacci F, Sagromoso C, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview[J]. *Pathologica*, 2010, 102:83-87.
- [2] Yao H, Duan M, Lin L, et al. TET2 and MEG3 promoter methylation is associated with acute myeloid leukemia in a Hainan population[J]. *Oncotarget*, 2017, 8: 18337-18347.
- [3] Zhao WH, Meng FY, Lai YR, et al. Promoter methylation and expression of death-associated protein ki-

- nase gene in acute leukemia[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2017,37:407-410.
- [4] Iwama A. Dereglated polycomb complex function in the pathogenesis of MDS[J]. *Rinsho Ketsueki*, 20, 58: 654-660.
- [5] Brunetti L, Gundry MC, Goodell MA. DNMT3A in Leukemia [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017,7.
- [6] Pan H, Bilinovich SM, Kaur P, et al. CpG and methylation-dependent DNA binding and dynamics of the methylcytosine binding domain 2 protein at the single-molecule level [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 9164-9177.
- [7] Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory[J]. *Genes Deve*, 2002,16: 6-21.
- [8] Uehara E, Takeuchi S, Yang Y, et al. Aberrant methylation in promoter-associated CpG islands of multiple genes in chronic myelogenous leukemia blast crisis[J]. *Oncol Lett*, 2012, 3: 190-192.
- [9] Zhou JD, Zhang TJ, Li XX, et al. Epigenetic dysregulation of ID4 predicts disease progression and treatment outcome in myeloid malignancies[J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21:1468-1481.
- [10] Zhao X, Tian X, Kajigaya S, et al. Epigenetic landscape of the TERT promoter: a potential biomarker for high risk AML/MDS[J]. *Br J Haematol*, 2016, 175:427-439.
- [11] Suganuma T, Workman JL. Signals and combinatorial functions of histone modifications[J]. *Annu Rev Biochem*, 2011, 80:473-499.
- [12] Neumann H, Hancock SM, Buning R, et al. A method for genetically installing site-specific acetylation in recombinant histones defines the effects of H3 K56 acetylation[J]. *Molecular Cell*, 2009,36:153-163.
- [13] Müller BM, Jana L, Kasajima A, et al. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer -overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13:215.
- [14] Daifu T, Kato I, Kozuki K, et al. The clinical utility of genetic testing for t(8;16)(p11;p13) in congenital acute myeloid leukemia[J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2014,36:e325-327.
- [15] Li Y, Ning Q, Shi J, et al. A novel epigenetic AML1-ETO/THAP10/miR-383 mini-circuitry contributes to t(8;21) leukaemogenesis[J]. *EMBO Mol Med*, 2017 9:933-949.
- [16] Šustková Z, áulen M, Semerád L, et al. New Drugs in the Treatment of Acute Myeloid Leukemia in the Elderly[J]. *Klin Onkol*, 2017,30:190-196.
- [17] Young CS, Clarke KM, Kettyle LM, et al. Decitabine-Vorinostat combination treatment in acute myeloid leukemia activates pathways with potential for novel triple therapy [J]. *Oncotarget*, 2017, 19, 8: 51429-51446.
- [18] Oka S, Ono K, Nohgawa M. Nohgawa, Successful treatment with azacitidine for the simultaneous occurrence of multiple myeloma and acute myeloid leukemia with concomitant del(5q) and the JAK2 V617F mutation[J]. *Ann Hematol*, 2017,96:1411-1413.
- [19] Li Y, Zhao K, Yao C, et al. Givinostat, a type II histone deacetylase inhibitor, induces potent caspase-dependent apoptosis in human lymphoblastic leukemia [J]. *Genes Cancer*, 2016,7: 292-300.
- [20] Federico M, Bagella L. Histone deacetylase inhibitors in the treatment of hematological malignancies and solid tumors[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2011:475641.

(收稿日期:2017-05-22)