

DEK/CAN 融合基因在髓系白血病中的研究进展

张海珍¹ 潘耀柱¹ 摆姣凤¹ 李文博¹ 白海¹

[关键词] 急性髓系白血病;染色体易位;融合基因;DEK/CAN;t(6;9)

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.05.020

[中图分类号] R733.71 [文献标志码] A

Progress of DEK/CAN fusion gene in myeloid leukemia

Summary Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant disease of myeloid hematopoietic stem/progenitor cells. AML is often associated with specific chromosomal translocations and associated abnormal fusion protein. t(6;9)-positive AML has been classified as an independent clinical entity due to its poor early onset and poor prognosis. The expression of DEK/CAN fusion protein is the marker of t(6;9)-AML. Because this chromosome translocation is extremely rare, the current understanding comes from a relatively small range of patients, so the knowledge of it is still very limited.

Key words acute myeloid leukemia; chromosome translocation; fusion gene; DEK/CAN; t(6;9)

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是髓系造血干/祖细胞的恶性疾病。AML 常与特定的染色体易位及相关的异常融合蛋白 (AAFPs) 相关。t(6;9) 阳性的 AML 由于其早期发病和预后不良, 而被列为独立的临床实体。t(6;9) AML 的标志是 DEK/CAN 融合蛋白的表达。由于这种染色体易位极为罕见, 目前的认识来源于相对较小的一系列患者, 所以对它的认知仍十分有限。

1 简介

t(6;9)(p23;q34) 染色体易位在 1976 年首次发现, 约在 1% 的 AML 中存在, 易位发生在 6 号染色体上的 DEK 基因与 9 号染色体上的基因 NUP214 之间, 形成融合基因 DEK-NUP214 (即 DEK-CAN), 它的出现多提示预后不良。世界卫生组织 (WHO) 2008 年对髓系肿瘤和急性白血病的分类将 t(6;9)(p23;q34) 列为分属实体, 易位主要是唯一的细胞遗传学异常 (80%)。根据法美英等国的分类, DEK-NUP214 基因在 AML-M2 和 M4 患者中最常见。

DEK 是一种核蛋白, 在整个细胞周期中与染色质有关。它通过干扰组蛋白乙酰转移酶而起到抑制转录的作用, 通过刺激激活蛋白 AP2- α 与其靶向 DNA 序列的结合而成为转录激活剂。此外, DEK 还将超螺旋引入到环状 DNA 中, 通过对 DEK-DNA 复合物的多聚化来诱导 2 个或多个 DNA 分子间的相互作用。DEK 的过度表达通过抑制细胞衰老而增加原始细胞的增殖寿命, 这很可能是通过端粒酶或 p53.16 的直接调控来实现的, 而且 DEK/CAN 融合蛋白的 DEK 部分包含了

DEK 的所有主要功能域^[1-3]。

CAN 是一种含 FG 重复序列的核蛋白。编码蛋白位于核孔复合体的细胞质侧, 是细胞周期和细胞核与细胞质之间物质运输所必需的^[4]。

DEK/CAN 的表达受 DEK 启动子调控, 该启动子受细胞周期的调控^[5]。

2 作用机制

AML 以骨髓前体细胞增殖失调和分化障碍为特征。目前其致病机制尚不明确, 可能与以下因素有关。

2.1 目标细胞

与 AML 中观察到的许多融合蛋白不同, DEK-CAN 似乎并不抑制分化, 至少在单核细胞株 U937 中没有表达, 因此它的白血病生成潜力受到质疑。而有学者通过研究 DEK/CAN 在小鼠造血干细胞 (HSCs) 初级模型中诱发白血病, 证实了这一潜力^[1]。该研究发现 DEK/CAN 阳性白血病的增殖并不局限于长期造血干细胞 (LT-HSC) 群体, 甚至发生在更成熟和异质的细胞群中, 但后者并未被转化。提出目标细胞对 DEK/CAN 的白血病转化潜力具有决定性作用。以正确的细胞为靶点, 而不是次级生物学效应, 是 AAFP 转化白血病的决定性因素。

Qin 等^[3]研究发现, DEK-CAN 对 M07e (人巨核细胞白血病细胞株) 和 BaF3 细胞 (小鼠原 B 细胞株) 以及人 CD34⁺ 造血祖细胞均有转化能力。DEK-CAN 可以在 NSG-SGM3 小鼠模型中转化人 CD34⁺ 祖细胞, 并主要诱导人的 AML。此外, Hoxa/B 基因在调节造血干/祖细胞的分化、增殖和自我更新以及白血病的转化中发挥重要作用。

临床资料显示, 与正常 CD34⁺ 细胞相比, DEK-CAN 阳性的 AML 细胞中 STAT5 被激活。具有内在活性的 STAT5 的过度表达已经被证明增加了

¹ 中国人民解放军联勤保障部队第 940 医院 (兰州, 730000)
通信作者: 潘耀柱, E-mail: panyaozhu@163.com

人类 CD34⁺HSCs 的自我更新。STAT5 的缺失损害了 LT-HSC 在人正常和白血病造血中的维持。STAT5 的激活不仅限于酪氨酸磷酸化,还可能在位于 C-末端反活化结构域(TAD)的丝氨酸残基被磷酸化。但丝氨酸磷酸化对酪氨酸磷酸化 STAT 蛋白转录活性的贡献仍有争议^[5]。

2.2 蛋白质合成

DEK-CAN 蛋白可促进髓系细胞的蛋白质合成,其表达与翻译起始蛋白 eIF4E 磷酸化增强有关。在恶性髓系细胞中,DEK-CAN 的表达与蛋白质合成的普遍激活有关,并增加了 eIF4E 的磷酸化,eIF4E 是翻译起始的关键因子,也是翻译活性的标志^[2]。NF-Y 和 YY1 是转录因子,在细胞增殖和转化过程中发挥重要的作用,从而为肿瘤的发生、发展提供了一种机制联系^[6]。与成熟细胞相比,未成熟细胞中存在较高水平的 DEK mRNA,表明细胞成熟和细胞增殖状态对造血细胞中 DEK 表达的调控有一定影响。如果细胞内对增殖的调节发生了某种改变,这可能会导致转录因子 NF-Y 和 YY1 对 DEK 表达的干扰调节,这两种转录因子已知对增殖有反应。如果融合蛋白影响了参与分化基因的转录调控,这可能解释在表达 DEK/CAN 融合基因的细胞中出现成熟停滞的原因^[7]。

2.3 改变核细胞质运输系统

DEK-CAN 与 Exectin-1(XPO1)/CRM1 和核 RNA 输出因子 1(Nxf1)/TAP 相互作用,介导了富含亮氨酸的核输出信号(NES)依赖的蛋白输出和 mRNA 的输出^[8]。DEK-CAN 通过将 XPO1 与 CAN 融合蛋白定位在核点上,减少了 XPO1 介导的细胞周期蛋白 B 等 NES 蛋白和 NF- κ B 信号通路相关蛋白的核输出。此外,DEK-CAN 的表达抑制了 NF- κ B 介导的转录,其机制是通过含有 p65 及其抑制剂 INB 的复合物在细胞核中进行异常连接。这些结果提示,DEK-CAN 通过改变核细胞质运输系统而干扰基因表达的调控^[9]。

2.4 mTOR 水平升高

Sandén 等^[10]研究发现,DEK-CAN 的表达促进了细胞的增殖,而 Western blot 分析显示,雷帕霉素的机制靶点 mTOR 水平升高。mTOR 的机制靶点是调节细胞增殖和翻译的中枢。mTOR 蛋白存在于 2 种结构中,mTOR 复合物 2(mTORC2)在 Thr450 和 Ser473 上磷酸化 Akt,然后激活 mTOR 复合物 1(mTORC1)。mTORC1 通过磷酸化其下游靶点(如 p70S6 激酶)启动翻译,而 mTORC1 通路的激活促进了细胞的生长和增殖。此外,mTORC1 还通过促进糖酵解过程中更有效的氧化磷酸化而影响细胞代谢^[10]。这一作用是独立于翻译调节机制,更确切地说,似乎涉及有丝分裂酶的磷酸化。

2.5 协同突变

最近,DEK-CAN 被证明能在小鼠模型中诱发白血病,但只有从长期再植入干细胞和延长潜伏期的情况下才能诱发白血病,这就强调了协同突变的必要性^[4,11-12]。研究发现,FLT3-ITD 常与 DEK/CAN 髓系恶性肿瘤相关。在 Garcon 等^[11]研究中,伴 t(6;9)易位的 8 例患者中有 5 例 FLT3-ITD 阳性。一项国际多中心研究^[12]报道了 62 例 t(6;9)阳性儿童的遗传学特征,约 42% 合并 FLT3-ITD 阳性。这表明,促进增殖的 FLT3-ITD 和分化阻断的 DEK-CAN 之间有着典型的致癌作用。此外还有研究发现,DEK/CAN 的激活伴随 JAK2 的激活。

目前关于 DEK/CAN 转化白血病的作用机制尚不明确,虽然有多重假设、理论,但仍需进行更深层次的研究。

3 预后

虽然 DEK/CAN 融合基因在临床极少见,但据目前发现的病例,多提示成年人多见,化疗效果差、缓解率低,复发风险高,死亡率高,预后极差^[12-14]。有学者研究了 17 例存在染色体 t(6;9)(p23;q34)畸变的患者中多数为 AML,而杨光等^[15]在 2 例骨髓增生异常综合征及 2 例骨髓增殖性疾病的标本中亦检测出 DEK/CAN,提示这种融合基因可能与向白血病转化的骨髓造血功能紊乱有密切关系。

一项国际多中心研究报道了 62 例儿童 t(6;9)/DEK-CAN 重排髓系白血病的临床和遗传特征,5 年无事件生存率为 32%,5 年总生存率为 53%,5 年累计复发率为 57%。初次完全缓解时造血干细胞移植较单纯化疗显著提高 5 年无事件生存率(68% : 18%, $P < 0.01$),但并没有显著提高总生存率(68% : 54%, $P = 0.48$)。总之,t(6;9)/DEK-CAN 是一种独特的 AML 亚型,具有生存时间短,化疗效果差,复发风险高以及高频率的 FLT3-ITD 和特异的基因表达特征^[12]。

汪亚伦等(2006)研究发现,初发期及完全缓解期伴有 DEK/CAN 融合基因表达的急性白血病患者治疗反应差,生存期短,预后极差,再发后死亡为 100%。

因此,t(6;9)(p23;q34)和(或)DEK-CAN 融合基因的鉴定是正确选择治疗方法的关键。

4 治疗

由于 DEK/CAN 的预后极差,因此其治疗至关重要。目前主要推荐骨髓移植。

Garcon 等^[11]应用定量 PCR 方法对 12 例(10 例 AML 和 2 例骨髓增生异常综合征)患者的 79 份骨髓和外周血标本进行了 DEK-CAN 基因分析。5 例患者发现 DEK-CAN 基因,5 例患者均行异基因造血干细胞移植。4 例患者中位随访时间为 18.5 个月,4 例 DEK-CAN 基因阳性患者在移植后

存活,提示异基因造血干细胞移植可以克服 DEK-CAN 融合基因的不良预后,而异基因造血干细胞移植是延长 DEK-CAN 基因患者生存时间的关键。

染色体易位产生的融合蛋白一般仅在白血病细胞中表达,所以它们的融合部分可视为白血病特异性抗原。DEK 与 CAN 之间的融合区域是这类白血病免疫治疗的潜在靶点。有研究发现,树突状细胞是一种专业的抗原提呈细胞,能以 HLA II 类限制的方式将 DEK-CAN 融合蛋白加工成融合肽特异性 CD4⁺T 淋巴细胞。同时发现细胞凋亡和坏死性白血病细胞均为树突状细胞对 CD4⁺T 淋巴细胞的诱导表达。提示用 DEK-CAN 融合肽进行免疫接种很有可能成为一种有效的抗白血病免疫治疗方法^[16]。

由于 mTOR 在肿瘤发生中的多重作用及其在癌症中的共同过度激活,mTOR 已成为肿瘤治疗的一个有吸引力的靶点^[10],目前在临床试验中有几种抑制剂。最近,FDA 批准了高度特异性的 mTORC1 抑制剂 Everolimus (RAD001) 和 Temsirolimus (CCI-779) 治疗晚期肾细胞癌,而 Everolimus 目前正在进行 AML 的临床试验。研究发现 DEK-CAN 在髓系细胞 U937 中的过度表达导致 mTOR 水平的升高和 mTOR 靶点 p70S6K 的激活,表达 DEK-CAN 的细胞比正常细胞更快。提示 mTORC1 抑制剂 Everolimus 可选择性逆转 DEK-CAN 诱导的增殖,其作用是 mTOR-依赖性的,且 t(6;9)(p23;q34)可能适合于 mTOR 抑制剂的治疗^[10]。

有研究通过对 t(6;9)(DEK-CAN)阳性患者与正常 CD34⁺ 细胞比较,证实 DEK/CAN 激活 STAT5。三氧化二砷暴露后 STAT5 活性降低,DEK/CAN 阳性白血病细胞出现凋亡。这些发现表明,在 AML 中 STAT5 的激活在白血病干细胞生物学中发挥决定性的作用,并提出了砷剂作为治疗这一高风险 t(6;9)阳性 AML 的新概念。该研究提示 STAT5 可能是白血病干细胞的一个良好靶点,这证明以三氧化二砷为基础的 AML 治疗是合理的^[5]。

5 总结

DEK/CAN 融合蛋白是 t(6;9)AML 的特异性表达,虽然这种类型临床罕见,但因其不良预后,一经确诊,需尽早治疗,目前仍以造血干细胞移植为首选,但预后仍欠佳。目前有学者提出多种可能的治疗方案,但仍处于假设研究阶段,尚不能应用于临床,仍需进一步的研究深化。当然,在此过程中,更加完善的监测系统对于实现包括白血病在内的恶性肿瘤的治疗是非常重要的。

参考文献

[1] Oancea C, Rüster B, Henschler R, et al. The t(6;9)

associated DEK/CAN fusion protein targets a population of long-term repopulating hematopoietic stem cells for leukemogenic transformation[J]. *Leukemia*, 2010,24:1910—1909.

- [2] Ayatollahi H, Sadeghian MH, Naderi M, et al. Quantitative assessment of Wilms tumor 1 expression by real-time quantitative polymerase chain reaction in patients with acute myeloblastic leukemia[J]. *J Res Med Sci*, 2017,22:54.
- [3] Qin H, Malek S, Cowell JK, et al. Transformation of human CD34⁺ hematopoietic progenitor cells with DEK-NUP214 induces AML in an immunocompromised mouse model[J]. *Oncogene*, 2016,35:5686—5691.
- [4] Zhou MH, Yang QM. NUP214 fusion genes in acute leukemia (Review)[J]. *Oncol Lett*, 2014,8:959—962.
- [5] Oancea C, Rüster B, Brill B, et al. STAT activation status differentiates leukemogenic from non-leukemogenic stem cells in AML and is suppressed by arsenic in t(6;9)-positive AML[J]. *Genes Cancer*, 2014,5:378—392.
- [6] Sitwala KV, Adams K, Markovitz DM. YY1 and NF-Y binding sites regulate the transcriptional activity of the dek and dek-can promoter[J]. *Oncogene*, 2002,21:8862—8870.
- [7] Ageberg M, Gullberg U, Lindmark A. The involvement of cellular proliferation status in the expression of the human proto-oncogene DEK[J]. *Haematologica*, 2006,91:268—269.
- [8] Saito S, Cigdem S, Okuwaki M, et al. Leukemia-associated Nup214 fusion proteins disturb the XPO1-mediated nuclear-cytoplasmic transport pathway and thereby the NF- κ B signaling pathway[J]. *Mol Cell Biol*, 2016,36:1820—1835.
- [9] Saha AK, Kappes F, Mundade A, et al. Intercellular trafficking of the nuclear oncoprotein DEK[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013,110:6847—6852.
- [10] Sandén C, Ageberg M, Petersson J, et al. Forced expression of the DEK-NUP214 fusion protein promotes proliferation dependent on upregulation of mTOR[J]. *BMC Cancer*, 2013,13:440.
- [11] Garçon L, Libura M, Delabesse E, et al. DEK-CAN molecular monitoring of myeloid malignancies could aid therapeutic stratification[J]. *Leukemia*, 2005,19:1338—1344.
- [12] Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, et al. (6;9)(p22;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: an international study of 62 patients [J]. *Haematologica*, 2014,99:865—872.
- [13] 刘田田, 杨文娟, 潘耀柱, 等. DEK/CAN 基因阳性急性髓系白血病 1 例[J]. *中国肿瘤临床*, 2016,43(24):1114—1114.
- [14] 李丽宁, 于书春, 白晓. 伴 dek/can 融合基因阳性急性髓系白血病 1 例[J]. *检验医学与临床*, 2013,10(8):8—8.
- [15] 杨光, 赵瑾, 石磊, 等. 恶性血液病常见易位相关融合基因的检测[J]. *中国现代医生*, 2009,47(29):3—4.
- [16] Panagopoulos I, Gorunova L, Torkildsen S, et al. DEK-NUP214-fusion identified by RNA-sequencing of an acute myeloid leukemia with t(9;12)(q34;q15)[J]. *Cancer Genomics Proteomics*, 2017,14:437—443.

(收稿日期:2018-12-26)