

TET2、IDH1 基因突变在老年急性髓系白血病中的研究

魏计锋¹ 仇惠英² 陈泽¹ 陈广华¹ 苗蕾¹ 王莹¹ 赵利东¹ 蔡志梅¹

[摘要] **目的:**探讨老年急性髓系白血病(AML)患者表观遗传学调控基因 TET2、IDH1 突变的发生率,并了解其临床特征。**方法:**采用基因组 DNA-PCR 方法扩增 TET2、IDH1 基因外显子,基因测序来分析其基因突变,同时检测 NPM1、FLT3-TKD、FLT3-ITD、C-KIT、CEPBA、JAK2V617 及 MLL-PTD 突变情况,随访判定其疗效。**结果:**50 例老年 AML(非 APL)患者中,12 例患者检测到 TET2 基因突变,8 例患者检测到 IDH1 基因突变,19 例(38%)患者检测到至少一种表观遗传学调控基因的突变。TET2 及 IDH1 基因突变与 NPM1 基因突变有一定的相关性。TET2、IDH1 基因突变易发生于正常核型的老年 AML 患者中,在 25 例正常核型的老年 AML 患者中,发生 TET2 或 IDH1 基因突变为 13 例,发生率为 52.0%($P < 0.05$)。老年 AML 患者加用去甲基药物联合化疗可能有较高的完全缓解率。**结论:**在老年 AML 患者中,TET2 和 IDH1 两种基因突变较为常见,尤其在正常核型的老年 AML 中,TET2、IDH1 基因突变与患者的临床特点、疗效有一定相关性,对指导老年 AML 的个体化治疗有一定的意义。

[关键词] 老年急性髓系白血病;表观遗传学;TET2 基因;IDH1 基因;DNA 突变;疗效

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2021.07.010

[中图分类号] R733.71 **[文献标志码]** A

Mutation of TET2 and IDH1 genes in elderly patients with acute myeloid leukemia

WEI Jifeng¹ QIU Huiying² CHEN Ze¹ CHEN Guanghua¹
MIAO Lei¹ WANG Ying¹ ZHAO Lidong¹ CAI Zhimei¹

(¹Department of Hematology, Lianyungang First People's Hospital, Lianyungang, 222000, China; ²Jiangsu Institute of Hematology)

Corresponding author: CAI Zhimei, E-mail: mimidema@yeah.net

Abstract Objective: To investigate the incidence of TET2 and IDH1 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia(AML). **Methods:** TET2 and IDH1 exons were amplified by genomic DNA-PCR, and their gene mutations were analyzed by gene sequencing. NPM1, FLT3-TKD, FLT3-ITD, C-KIT, CEPBA, JAK2V617F and MLL-PTD mutations were detected at the same time. **Results:** Among the 50 elderly AML(non-APL) patients, TET2 gene mutations were detected in 12 patients, IDH1 gene mutations were detected in 8 patients, and at least one epigenetic regulatory gene mutation was detected in 19 patients(38%). In addition, TET2 and IDH1 gene mutations were prone to occur in elderly AML patients with normal karyotype. Among 25 patients with normal karyotypes, TET2 or IDH1 gene mutations occurred in 13 cases, with an incidence of 52.0%($P < 0.05$). Elderly AML patients with demethylation drugs combined with chemotherapy may have a higher complete remission rate. **Conclusion:** TET2 and IDH1 gene mutations are common in elderly patients with AML, especially in elderly patients with normal karyotype. The mutation of DNA methylation regulation gene is related to clinical characteristics and curative effect of patients, which has certain significance for guiding the individual chemotherapy of elderly AML.

Key words elderly acute myeloid leukemia; epigenetics; TET2 gene; IDH1 gene; DNA mutation; curative effect

老年急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一组高度异质性的造血系统恶性肿瘤。其异质性源于细胞遗传学的畸变以及分子学突变形成的复杂网络,老年 AML 细胞中的许多再现性体细胞突变的基因,都编码具有表观遗传调控或修饰功能的蛋白质分子,如 TET2、IDH1/2、DNMT3A、EZH2、KMT2A(MLL/MLL1)、SUZ12 和

KDM5A(JARID1)等,而有研究表明表观遗传学调控基因 TET2 和 IDH1 基因突变更易发生于老年 AML 患者中,老年 AML 细胞独特的基因表达谱,可以作为老年 AML 亚型分类、风险度分层、预后预测分析及临床个体化治疗的基础^[1]。

1 资料与方法

1.1 资料

收集连云港市第一人民医院及苏州大学附属第一医院 2009 年 2 月—2017 年 2 月经 MICM 分型确诊的 50 例初治年龄大于 60 岁的老年 AML

¹连云港市第一人民医院血液科(江苏连云港,222000)

²江苏省血液研究所

通信作者:蔡志梅,E-mail:mimidema@yeah.net

患者,其中男 30 例,女 20 例,中位年龄 67(60~83)岁。按 FAB 分型:M0 1 例,M1 15 例,M2 17 例,M4 5 例,M5 12 例。根据美国国家综合癌症网络(NCCN)发布的急性髓系白血病 2020 年第 2 版指南在遗传学水平对 AML 的危险分层标准分为:预后良好组 5 例,预后中等组 38 例,预后不良组 7 例。38 例 AML 患者接受诱导化疗,其中 18 例患者化疗接受地西他滨或阿扎胞苷方案联合 DA(3 d 柔红霉素、7 d 阿糖胞苷或 2 d 柔红霉素、5 d 阿糖胞苷)或 14 d 方案(CAG 或者 HAG)化疗。20 例患者采用 DA 或 14 d 方案化疗。2 例患者死于初次诱导治疗相关并发症(感染、出血等)。无患者行异基因造血干细胞移植。

1.2 检测方法

取上述患者初诊时冻存的骨髓单个核细胞约 1.0×10^7 ,用 DNA 抽提试剂盒(Qiagen 公司,美国)抽提基因组 DNA。取每个样本 60 ng DNA 采用 PCR 方法对 TET2 基因 3~11 号外显子及 IDH1 基因的 4 号外显子进行扩增。引物(上海生物工程技术服务有限公司合成)、反应条件及 PCR 反应体系参考文献[2-3]。

1.3 统计学分析

统计学分析及绘图均使用 SPSS 软件。对计量资料先应用正态性检验,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验进行比较;非正态分布的

计量资料以中位数描述,采用秩和检验(Wilcoxon 法)进行比较。计数资料的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TET2、IDH1 基因突变率、类型及特征

50 例老年 AML(非 APL)患者中,12 例患者检测到 TET2 基因突变,突变率为 24%。8 例患者检测到 IDH1 基因突变,突变率为 16%。其中 1 例患者检测到 TET2、IDH1 同时突变,19 例(38%)患者检测到至少一种表观遗传学调控基因的改变。12 例 TET2 突变包括:4 种移码突变(p. 255IFS、p. V1158FS、p. R1201FS、p. N1555FS),7 种错义突变(p. P217 L、p. F315I、p. P1037Q、p. E1147G、p. L1209P、p. C1221S、p. H1380N)和 1 种无义突变(p. P656X)。突变多发生于 3 号和 6 号外显子,且均为杂合突变,未发现热点突变。8 例 IDH1 基因突变均为杂合突变,其中 c. G395A(p. R132H) 4 例, c. C394T (p. R132C) 3 例, c. C394A (p. R132S) 1 例,R132H 和 R132C 较为常见。在老年 AML 患者中,发生 TET2 或 IDH1 基因突变和未突变,两者在性别、初诊白细胞数、血红蛋白、血小板数、外周原始细胞数及骨髓原始细胞数方面差异无统计学意义(表 1)。

表 1 TET2、IDH1 基因突变患者的临床特征

临床特征	总数	TET2/IDH1 ^{mut}	TET2/IDH1 ^{wt}	例(%)
突变率	50	19(38.0)	31(62.0)	—
男:女/例	30:20	10:9	20:11	>0.05
FAB 分型				
M0	1(2.0)	0(0)	1(3.2)	
M1	15(30.0)	8(42.1)	7(22.6)	
M2	17(34.0)	7(36.8)	10(32.3)	>0.05
M4	5(10.0)	0(0)	5(16.1)	
M5	12(24.0)	4(21.1)	8(25.8)	
外周血				
WBC/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	43(18.3~106.0)	25.3(17.3~57.4)	44(28.6~106.0)	>0.05
Hb/(g $\cdot L^{-1}$)	76.5(54~87)	79(70~106)	72(58~86)	>0.05
PLT/($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	38(22~64)	40(34~63)	32(22~63)	>0.05
骨髓形态学				
原始幼稚细胞/%	56(27~98)	48(38~89)	58(35~78)	>0.05

TET2/IDH1^{mut} 表示两种基因中至少一种基因突变阳性;TET2/IDH1^{wt} 表示两种基因突变均阴性。

2.2 TET2、IDH1 基因突变患者细胞遗传学特征

50 例老年 AML 患者均有完整的核型分析资料,TET2、IDH1 基因突变易发于正常核型或中等预后风险核型的老年 AML 患者,在 25 例正常核型老年 AML 患者中,发生 TET2 或 IDH1 基因突

变为 13 例,发生率达 52.0%,与异常核型患者 TET2 或 IDH1 基因突变发生率(24.0%)比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)(表 2)。

2.3 TET2、IDH1 基因突变患者的分子生物学特征
本研究同时检测另外的 7 种 AML 基因突变,

包括 NPM1、FLT3-TKD、FLT3-ITD、C-KIT、CEPBA、JAK2V617 及 MLL-PTD 基因突变,发现 TET2 或 IDH1 基因突变与 NPM1 基因突变有一定的相关性,但与 FLT3-TKD、FLT3-ITD、C-KIT、CEPBA、JAK2V617 及 MLL-PTD 突变并无明显的相关性。16 例 NPM1 基因突变患者有 11 例患者同时存在 TET2 或 IDH1 基因突变。其中 1 例患者同时有 NPM1、TET2、IDH1 3 种基因突变,分析显示 TET2 或 IDH1 基因突变与 NPM1 基因突变有明显相关性($P=0.002, r=0.435$)。

表 2 TET2、IDH1 基因突变患者细胞遗传学特征 例(%)

细胞遗传学危险分层	总数	TET2/IDH1 ^{mut}	TET2/IDH1 ^{wt}	P
预后良好	5(10.0)	2(40.0)	3(60.0)	0.081
预后中等	38(76.0)	17(44.7)	21(55.3)	
预后不良	7(14.0)	0(0)	7(100.0)	0.041
正常核型	25(50.0)	13(52.0)	12(48.0)	
异常核型	25(50.0)	6(24.0)	19(76.0)	

TET2/IDH1^{mut} 表示两种基因中至少一种基因突变阳性;TET2/IDH1^{wt} 表示两种基因突变均阴性。

2.4 疗效

在疗效方面,38 例老年 AML 患者接受诱导化疗,其中 18 例患者化疗接受地西他滨或阿扎胞苷方案联合 DA(3 d 柔红霉素、7 d 阿糖胞苷或 2 d 柔红霉素、5 d 阿糖胞苷)或 14 d 方案(CAG 或者 HAG)化疗(10 例患者存在 TET2 或 IDH1 基因突变);20 例患者未联合去甲基药物,采用 DA 或 14 d 方案化疗。结果发现联合去甲基药物方案化疗的患者总完全缓解率高于未联合去甲基药物的患者,分别为 61.1%和 45.0%,但差异无统计学意义(表 3)。

表 3 老年 AML 总完全缓解率的评价 例(%)

疗效	总数	联合去甲基药物	未联合去甲基药物	P
接受诱导化疗例数	38	18	20	
完全缓解	20(52.6)	11(61.1)	9(45.0)	>0.05
治疗相关死亡	2(5.3)	0(0)	2(10.0)	>0.05

3 讨论

AML 具有高度的生物学和临床异质性,是疾病准确分类和治疗的重要障碍。虽然表观遗传异常在 AML 病理生理学中发挥关键作用,但 DNA 甲基化模式的改变和甲基化过程所需酶的基因突变等分子特征也有助于 AML 的分类。AML 中,

TET2、IDH1 获得性突变改变了甲基化分布态势而呈现特定的甲基化组,每一种表观遗传调控基因的突变都使全局和局部 DNA、染色质的构型和组蛋白发生改变,而每一种表观遗传改变都会影响多种细胞内的作用通路而产生表型改变。本研究结果显示,老年 AML 患者中的 TET2 和 IDH1 突变率分别为 24%和 16%,均高于总体 AML 患者。有研究报道在老年 AML 患者中 TET2 突变率为 27%^[4],而 60 岁以下患者 TET2 突变的发生率低于 10%^[5]。Prassek 等^[6] 研究报道,年龄大于 75 岁老年的 AML 患者,TET2 基因突变率为 42%。由此可见,老年 AML 患者更容易发生 TET2 基因突变。本研究还发现在正常核型的老年 AML 患者更容易发生表观遗传学调控基因突变,这与国外研究基本一致^[7]。有研究发现,在 AML 患者中 TET2、IDH1 基因突变和 NPM1 突变之间存在正相关^[5]。本研究也证实了 TET2、IDH1 突变和 NPM1 突变之间存在正相关。研究发现 IDH 突变更易发生于老年患者,低白细胞,而且易发于核型正常的 AML 患者中,并且在正常核型伴单独 NPM1 突变患者中若伴有 IDH1 突变其预后则不良^[8]。

在 AML 中,TET2 或 IDH1 功能的丧失导致 DNA 甲基化和基因沉默,从而导致疾病的发生和进展。去甲基化剂核苷类似物用于治疗 TET2 或 IDH1 突变的 AML 患者,是通过重新激活沉默的基因,负责胞嘧啶甲基化,从而推动 AML 细胞分化,并促进功能失调的血液细胞凋亡^[9]。目前去甲基药物及其相关的联合方案,是疾病因素高危且基础状态复杂的老年 AML 的主要治疗方案之一^[10]。有研究表明,DNA 甲基化基因突变的老年 AML 患者使用去甲基药物联合小剂量化疗获得完全缓解率较高,且治疗相关死亡率低,尤其对于有心脏基础疾病患者,可以减少心脏衰竭的风险^[11-13]。研究表明 DNA 甲基化基因突变的老年 AML 对去甲基药物更为敏感^[14-15],可作为预测去甲基药物疗效的指标^[16-17]。本文研究表明在老年 AML 患者中,使用地西他滨或者阿扎胞苷联合诱导化疗,表现出较好的疗效,考虑可能与老年患者易发生 DNA 甲基化调控基因突变有关,但差异无统计学意义,需要更大样本进一步的研究。

参考文献

- [1] Wouters BJ, Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia [J]. Blood, 2016, 127(1):42-52.
- [2] Bullinger L, Dohner K, Dohner H. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways [J]. J Clin Oncol, 2017, 35(9):934-946.
- [3] Lin PH, Li HY, Fan SC, et al. A targeted next-generation sequencing in the molecular risk stratification of

- adult acute myeloid leukemia; implications for clinical practice[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(2): 349-360.
- [4] Ashwin K, Ross LL, Aaron DV. Driver mutations in acute myeloid leukemia [J]. *Curr Opin Hematol*, 2020, 27(2): 49-57.
- [5] Zjablovskaja, Florian. Acute Myeloid Leukemia; Aging and Epigenetics[J]. *Cancers*, 2019, 12(1): 103.
- [6] Prassek VV, Rothenberg-Thurley M, Sauerland MC, et al. Genetics of acute myeloid leukemia in the elderly: Mutation spectrum and clinical impact in intensively treated patients aged 75 years or older[J]. *Haematologica*, 2018, 103(11): 1853-1861.
- [7] Zhang M, Yin J, He Q, et al. Chinese and Europeans with acute myeloid leukemia have discordant mutation topographies[J]. *Leuk Res*, 2018, 70: 8-12.
- [8] Silva P, Neumann M, Schroeder MP, et al. Acute myeloid leukemia in the elderly is characterized by a distinct genetic and epigenetic landscape[J]. *Leukemia*, 2017, 31(7): 1640-1644.
- [9] Ponciano-Gómez A, Martínez-Tovar A, Vela-Ojeda J, et al. Mutations in TET2 and DNMT3A genes are associated with Changes in global and gene-specific methylation in acute myeloid leukemia[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(10): 1010428317732181.
- [10] 李秋柏, 吴迪. 老年急性髓系白血病去甲基化药物治疗新进展[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(5): 307-311.
- [11] Xu Q, Li Y, Jing Y, et al. Epigenetic modifier gene mutations-positive AML patients with intermediate-risk karyotypes benefit from decitabine with CAG regimen[J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(5): 1457-1467.
- [12] Sasaki K, Kanagal-Shamanna R, Montalban-Bravo G, et al. Impact of the variant allele frequency of ASXL1, DNMT3A, JAK2, TET2, TP53, and NPM1 on the outcomes of patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia[J]. *Cancer*, 2020, 126(4): 765-774.
- [13] Jing CB, Fu C, Prutsch N, et al. Synthetic lethal targeting of TET2-mutant hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs) with TOP1-targeted drugs and PARP1 inhibitors[J]. *Leukemia*, 2020, 34(11): 2992-3006.
- [14] Hiller JK, Schmoor C, Gaidzik VI, et al. Evaluating the impact of genetic and epigenetic aberrations on survival and response in acute myeloid leukemia patients receiving epigenetic therapy[J]. *Ann Hematol*, 2017, 96(4): 559-565.
- [15] Oliva EN, Candoni A, Salutari P, et al. Azacitidine for Post-Remission Therapy in Elderly Patients with Acute Myeloid Leukemia: Final Results of the Qoless AZA-Amle Randomized Trial[J]. *Blood*, 2019, 134: 117.
- [16] Dexheimer GM, Alves J, Reckziegel L, et al. DNA Methylation Events as Markers for Diagnosis and Management of Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome[J]. *Dis Markers*, 2017, 2017: 5472893.
- [17] Wang H, Li Y, Lv N, et al. Predictors of clinical responses to hypomethylating agents in acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes[J]. *Ann Hematol*, 2018, 97(11): 2025-2038.

(收稿日期: 2020-12-29)