

网络出版时间: 2020-9-4 10:22 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200903.1450.034.html>

◇ 综 述 ◇

# 骨髓衰竭疾病的体细胞突变在基因时代的临床意义

李 芮<sup>1</sup> 综述 唐旭东<sup>2</sup> 审校

**摘要** 基因组学的发展加快了体细胞突变的研究进展,这改变了对骨髓衰竭疾病的病因认识、诊断及临床管理。体细胞突变在临床管理中可以更精确、更客观地对疾病实体进行分类或预测,并且在靶向药物开发和个性化治疗方面具有应用价值。除了在骨髓增生异常综合征(MDS)中发现有典型的克隆性突变以外,在再生障碍性贫血(AA)和阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)也检测到克隆性突变,这揭示了AA、PNH和MDS之间的联系。从临床角度来看,还无法确定体细胞突变的预后和诊断意义。可以确定的是一些体细胞突变是导致疾病发生的原因,并且预示疾病进展的高风险。未来疾病分类的发展方向可能更多地依赖于突变而不是形态学的标准。

**关键词** 骨髓衰竭性疾病;体细胞突变;再生障碍性贫血;骨髓增生异常综合征

中图分类号 R 551.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)10-1645-03

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.10.034

## 1 骨髓衰竭的分子诊断

新一代测序(next-generation sequencing, NGS)已经对体细胞的大量基因和生殖系突变进行了筛选,这些基因的改变构成了髓样肿瘤如骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)和典型的非克隆性骨髓衰竭综合征如再生障碍性贫血(aplastic anemia, AA)的主要致病原因。体细胞突变在临床管理中最明显的应用是可以更精确、更客观地对疾病实体进行分类或预测,并且在靶向药物开发和个性化治疗方面具有应用价值。与经典的X染色体灭活研究相比,体细胞突变可以作为克隆标记来

定量克隆性造血。全外显子组测序的一个优点是可以全面分析突变的多样性和负荷,包括伴随突变和驱动突变。体细胞染色体畸变可以获得性基因组损害的突变总量,可以作为另一种度量形式。连续的NGS能够重建个体病例和动态的克隆结构(如微小残留疾病监测白血病的治疗效果)<sup>[1-5]</sup>。

## 2 MDS 中体细胞突变和克隆结构

从理论上讲, MDS 可能也存在如急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)的基因亚型。然而,体细胞突变谱的多样性和明显缺乏亚型特异性<sup>[6-8]</sup>,导致MDS的体细胞突变谱分类非常困难,这要除外一些具有诊断性分子异常的体细胞突变如RUNX1、DDX41和CEBPA<sup>[9-11]</sup>和一些重现性分子异常如t(8;21)AML<sup>[12]</sup>。虽然存在以上问题,体细胞突变谱仍然在MDS中进行推广应用,并以形态学作为MDS诊断的金标准。早期事件也称为生殖系事件,根据此定义,它们既可以是克隆的(如在遗传性白血病中所见),也可以是非克隆的。MDS的一些基因突变是亚克隆的,而另一些基因突变可以是生殖系或亚克隆的。

初发AML中出现的特异性基因突变可能一直存在,从而导致疾病复发。最初的基因突变可能普遍存在,并不能早期预测疾病的发生,而某些次级克隆事件却可能有预测疾病进展的作用。例如,在早期TET2突变后第2次发生的亚克隆TET2突变将导致骨髓增殖性疾病。同样,一些生殖系基因(如CEBPA、TP53和EVI1)可使剩余等位基因失活<sup>[13-16]</sup>。

一般来说, MDS 可以通过克隆造血来启动,现在可以通过某些基因(包括DNMT3A、TET2、SF3B1等)的克隆突变来识别<sup>[17-18]</sup>。这种情况通常是无症状的,现在被称为潜质未定的克隆造血(clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP)。最终CHIP可能会产生不利影响。CHIP患病率随着年龄的增长而增加,尽管某些基因突变(如TET2)在老年人中的比例过高,而非典型DNMT3A突变构

2020-05-06 接收

基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项(编号: 201507001-13); 国家自然科学基金面上项目(编号: 81673819)

作者单位: <sup>1</sup>北京中医药大学研究生院, 北京 100029

<sup>2</sup>中国中医科学院西苑医院血液科, 北京 100091

作者简介: 李 芮, 女, 硕士研究生;

唐旭东, 男, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: tangxudong001@163.com

成了 CHIP 病变的主要部分。虽然所有的早期病变似乎都是由衰老因素导致的,但有些体细胞突变更容易引起无症状 CHIP 的疾病进展。对于某些体细胞突变来说,它们在克隆结构体系中的位置可能对预后的影响很大,而对于其他体细胞突变,它们在克隆结构体系中的位置并不那么重要。

迄今为止,可用的诊断和预后信息基于几项大型研究(表 1)。已经发现临床相关的预后信息和各种体细胞突变的联系,如 TP53、RAS 基因家族、SETBP1 和 DNMT3A<sup>[6-8, 19-21]</sup>。值得注意的是,个体突变可能具有不同的预后影响,特定突变的存在越来越多地决定了可能的治疗选择(如 IDH1 突变和 AG-120; IDH2 突变和 AG-221; UTX 突变和 EZH2 抑制剂; 杂合 TET2 突变和 5-氮杂胞苷/维生素 C(可能); DNMT3A 突变和 S-腺苷甲硫氨酸(可能); JAK2、CSF3R 突变和鲁索利替尼; cKIT 突变和阿西替尼和达沙替尼; Del 5q-和来那度胺; 剪接体因子突变和 H3B-8800)<sup>[22-24]</sup>。但在大多数情况下,单纯基因突变还不能确保疾病诊断的准确性。因此,与形态学金标准完全匹配的分子诊断模式尚未成功建立,当然未来的疾病分类方案可能更多地依赖于分子突变的划分而不是形态学的标准。

表 1 骨髓衰竭的主要突变分析研究

诊断	病例数	全外显子组测序	新一代测序	基因组
MDS <sup>[6]</sup>	903	204	699	61
MDS <sup>[7]</sup>	944	-	944	104
MDS、MDS/MPN、CMML <sup>[20]</sup>	738	-	738	111
MDS 和 sAML <sup>[21]</sup>	158	8	150	94
MDS <sup>[8]</sup>	439	-	439	111
AA <sup>[19]</sup>	491	52	439	106
PNH <sup>[25]</sup>	48	12	36	61

### 3 AA 和 PNH 中的体细胞突变和克隆结构

从理论上讲,正常的造血干细胞池(hematopoietic stem cell, HSC)的缩小可能导致寡核苷酸产生。例如,AA 的克隆性染色体异常可以短暂出现,因为它们可以在恢复正常造血过程中通过正常 HSC 池的再扩张来缓解<sup>[25]</sup>。基于 NGS 的深度突变分析显示,以体细胞突变事件为特征的克隆可能会间歇性出现。相应克隆的变化可能取决于体细胞突变的类型<sup>[19]</sup>。初始呈现的某些克隆突变可以修复为正常克隆,或它们被选择和扩增,向相反方向发展,演进为 MDS 或 PNH。通过流式细胞术鉴定 PNH 克隆,

从而推断出 AA 克隆突变的存在<sup>[26]</sup>。

深度测序表明,PNH 不是严格的单基因突变导致的。此外,一些 PNH 克隆显示出更复杂的亚克隆结构,这不仅涉及 PIGA 突变,还涉及典型 MDS 的其他骨髓基因突变。PNH 的外在免疫选择理论并不能完全解释克隆演化的所有方面。例如,即使在免疫抑制剂治疗后,一些患者的克隆扩增仍在继续,而其他患者的 PNH 克隆保持稳定。已经观察到一些生殖系突变如 PIGA 突变和各种基因的亚克隆突变,类似于 MDS 突变<sup>[27]</sup>。在某些情况下,PIGA 突变克隆与以嵌合体形式的其他突变克隆共存。

AA 进展为 MDS 可以视作骨髓衰竭疾病的严重并发症,在临床上有着重要的治疗意义,10 年内发生率为 10% ~ 20%<sup>[16, 25-26]</sup>。大多数从 AA 演变而来的继发性 MDS 的特征是获得单体性 7,通常是单个染色体畸变,提示预后不良<sup>[28]</sup>。如果骨髓无法获取足够的骨髓细胞数,单核苷酸多态性分析可能更有帮助<sup>[16]</sup>。在具有和不具有 UPD6p 的患者中发现了各种体细胞突变,如移码、无义和剪接位点突变,表明免疫选择(可能类似于 PNH)可以导致 HLA 基因座中失活分子的克隆演进<sup>[16]</sup>。

克隆演进和分子学突变可能还基于其他潜在的机制。例如,一些具有-7/del(7q)的病例因为具有 SAMD9 和 SAMD9L 突变导致骨髓衰竭<sup>[29]</sup>。而在具有 GATA2 突变的患者中相对高频率的-7/del(7q)表达,也可能涉及其他机制。临床上大多数进展为 MDS 的骨髓衰竭患者主要表现为难治或免疫抑制治疗反应不佳<sup>[28]</sup>。迄今为止,在 AA 转化为 MDS 的-7/del(7q)保留等位基因上未发现复发性半合子,但在 MDS 中经常发现各种体细胞突变,包括 SETBP1、CBL、RUNX1 等<sup>[27]</sup>。对 AA 患者进行全外显子组测序或靶向深度测序,发现某些患者存在以体细胞突变为特征的克隆<sup>[19]</sup>。

这些突变除了 PIGA 中的突变外,还包括 DNMT3A、CBL、SETBP1、TET2、ASXL1、BCOR 和 BCORL。某些体细胞突变频率的增加是否具有病理生理学意义还未可知。但总的来说,大多数体细胞突变仅存在于 NGS 评估的微小克隆中。在这些体细胞突变中的某几种突变虽不会持续存在但偶尔会扩增和消失,尤其是 BCOR、BCORL 和 DNMT3A 突变,这表明缩小的干细胞池具有募集选择的作用。此外,克隆突变的存在并不能预测 MDS 的进展;相反,只有特定的某些体细胞突变具有这种能力,而且随后的二次突变可以进一步加速 MDS 的演进过程。

其他大多数体细胞突变则被免疫系统消除,或者通过与正常 HSC 竞争而消除。值得注意的是,在 AA 中发现的一些克隆可以表现为无症状的正常克隆,尤其在老年个体中常见。因此,这其实等同于 AA 患者中存在 CHIP。

对 AA 的体细胞突变进行深度 NGS 追踪表明,亚克隆扩增已经存在于一定比例的 AA 患者中。而这些体细胞突变(如 RUNX、SETBP1)可能引起后来的继发性 MDS,并且表明 del7 不是初始缺陷,而是继发缺陷。AA 发现克隆突变的一个重要科学意义是 HSC 存在动态演变以及对特发性 AA 起源理论进行了佐证。试想体细胞突变事件是如何引发肿瘤监视的免疫应答的:克隆突变可能与 HSC 相互作用并引起对 HSCs 的损伤,从而导致 AA;机体的免疫系统消除了病理性克隆,并对最适宜体细胞突变克隆进行选择,如果这种被选中的克隆突变能够逃脱免疫监视,就会导致 AA 继发的 MDS。

### 参考文献

- [1] Meyer S C, Levine R L. Translational implications of somatic genomics in acute myeloid leukaemia [J]. *Lancet Oncol* 2014, 15 (9): e382–94.
- [2] White B S, DiPersio J F. Genomic tools in acute myeloid leukemia: from the bench to the bedside [J]. *Cancer* 2014, 120(8): 1134–44.
- [3] Luthra R, Patel K P, Reddy N G, et al. Next-generation sequencing-based multigene mutational screen for acute myeloid leukemia using MiSeq: applicability for diagnostics and disease monitoring [J]. *Haematologica* 2014, 99(3): 465–73.
- [4] Thol F, Kolking B, Damm F, et al. Next-generation sequencing for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia patients with FLT3-ITD or NPM1 mutations [J]. *Genes Chromosomes Cancer* 2012, 51(7): 689–95.
- [5] Koboldt D C, Steinberg K M, Larson D E, et al. The next-generation sequencing revolution and its impact on genomics [J]. *Cell* 2013, 155(1): 27–38.
- [6] Makishima H, Yoshizato T, Yoshida K, et al. Dynamics of clonal evolution in myelodysplastic syndromes [J]. *Nat Genet* 2017, 49(2): 204–12.
- [7] Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia* 2014, 28(2): 241–7.
- [8] Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *N Engl J Med* 2011, 364(26): 2496–506.
- [9] Schlegelberger B, Heller P G. RUNX1 deficiency (familial platelet disorder with predisposition to myeloid leukemia, FPDMM) [J]. *Semin Hematol* 2017, 54(2): 75–80.
- [10] Maciejewski J P, Padgett R A, Brown A L, et al. DDX41-related myeloid neoplasia [J]. *Semin Hematol* 2017, 54(2): 94–7.
- [11] Tawana K, Rio-Machin A, Preudhomme C, et al. Familial CEBPA-mutated acute myeloid leukemia [J]. *Semin Hematol* 2017, 54(2): 87–93.
- [12] Arber D A, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood* 2016, 127(20): 2391–405.
- [13] Makishima H, Maciejewski J P. Pathogenesis and consequences of uniparental disomy in cancer [J]. *Clin Cancer Res* 2011, 17(12): 3913–23.
- [14] Dunbar A J, Gondek L P, O'Keefe C L, et al. 250K single nucleotide polymorphism array karyotyping identifies acquired uniparental disomy and homozygous mutations, including novel missense substitutions of c-Cbl, in myeloid malignancies [J]. *Cancer Res* 2008, 68(24): 10349–57.
- [15] Tiu R V, Gondek L P, O'Keefe C L, et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies [J]. *Blood* 2011, 117(17): 4552–60.
- [16] Afable M G 2nd, Wlodarski M, Makishima H, et al. SNP array-based karyotyping: differences and similarities between aplastic anemia and hypocellular myelodysplastic syndromes [J]. *Blood* 2011, 117(25): 6876–84.
- [17] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes [J]. *N Engl J Med* 2014, 371(26): 2488–98.
- [18] Genovese G, Kahler A K, Handsaker R E, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence [J]. *N Engl J Med* 2014, 371(26): 2477–87.
- [19] Yoshizato T, Dumitriu B, Hosokawa K, et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in aplastic anemia [J]. *N Engl J Med* 2015, 373(1): 35–47.
- [20] Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *Blood* 2013, 122(22): 3616–27.
- [21] Walter M J, Shen D, Shao J, et al. Clonal diversity of recurrently mutated genes in myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia* 2013, 27(6): 1275–82.
- [22] Makishima H, Yoshida K, Nguyen N, et al. Somatic SETBP1 mutations in myeloid malignancies [J]. *Nat Genet* 2013, 45(8): 942–6.
- [23] Yang L, Rau R, Goodell M A. DNMT3A in haematological malignancies [J]. *Nat Rev Cancer* 2015, 15(3): 152–65.
- [24] Yoshizato T, Nannya Y, Atsuta Y, et al. Genetic abnormalities in myelodysplasia and secondary acute myeloid leukemia: intact on outcome of stem cell transplantation [J]. *Blood* 2017, 129(17): 2347–58.
- [25] Afable M G, Tiu R V, Maciejewski J P. Clonal evolution in aplastic anemia [J]. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)* 2011, 2011(1): 90–5.
- [26] Young N S, Maciejewski J P. Genetic and environmental effects in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: this little PIG-A goes “Why? Why? Why?” [J]. *Clin Invest* 2000, 106(5): 637–41.
- [27] Shen W, Clemente M J, Hosono N, et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria [J]. *J Clin Invest* 2014, 124(10): 4529–38.
- [28] Maciejewski J P, Risitano A, Sloand E M, et al. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia [J]. *Blood* 2002, 99(9): 3129–35.
- [29] Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K, et al. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia [J]. *Blood* 2011, 118(25): 6601–9.