

急性髓系白血病基因水平发病机制的研究进展

宋慧慧^{1,2}, 李明春^{2*} (1.大连医科大学药学院, 辽宁 大连 116000; 2.中国人民解放军海军第九七一医院药剂科, 山东 青岛 266071)

摘要: 白血病是一种常见的血液系统恶性肿瘤, 其中急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是所有白血病中最常见的一类以克隆性髓系原始细胞增高为主的造血系统恶性疾病, 其发病机制尚不完全清楚, 现认为是由多种因素在多个层面、多个阶段的相互作用而导致的。随着国内外现代医学事业的不断发展和进步, 对急性髓系白血病在基因水平上发病机制的深入研究, 开发出的新型基因靶向治疗药物因其能特异性地作用于病变部位, 而且效果显著、毒性相对低等特点, 使 AML 的治疗方案不断得以优化, 预后也有很大的改善, 为临床上高效安全地治疗 AML 带来新希望。本文拟对 AML 在基因水平上发病机制的研究进展进行综述, 旨在寻找潜在的基因靶点, 为开发精准治疗 AML 的新型基因靶向药物提供参考。

关键词: 白血病; 急性髓系白血病; 基因水平; 发病机制

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)03-0371-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.03.024

引用本文: 宋慧慧, 李明春. 急性髓系白血病基因水平发病机制的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(3): 371-377.

Advances in the Pathogenesis of Acute Myeloid Leukemia at Gene level

SONG Huihui^{1,2}, LI Mingchun^{2*} (1.College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116000, China; 2.Department of Pharmacy, Hospital 971 of Chinese People's Liberation Army Navy, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT: Leukemia is a common hematological malignant tumor, among which acute myeloid leukemia(AML) is the most common type of hematopoiesis malignant tumor with clonal myeloid primordial cell increasing, and AML is one of the most common hematopoiesis malignancies in all leukemia. The pathogenesis of the disease is not completely clear, and it is now thought to be caused by the interaction of many factors at multiple levels and stages. With the continuous development and progress of modern medicine at home and abroad, the pathogenesis of acute myeloid leukemia at the gene level has been deeply understood. The novel gene-targeted therapy drugs developed can specifically act on the lesion site, and the effect is remarkable, the toxicity is relatively low, so that the treatment scheme of AML can be continuously optimized, and the prognosis has been greatly improved. It brings new hope for the effective and safe treatment of AML in clinic. In this paper, the research progress of the pathogenesis of AML at the gene level is reviewed in order to find out the potential gene targets and provide references for develop novel gene targeting drugs for precise treatment of AML.

KEYWORDS: leukemia; acute myeloid leukemia; gene level; pathogenesis

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是指来源于造血系统髓系原始细胞恶性增殖的急性白血病, 与造血前体细胞突变密切相关。因此, 探明 AML 在基因水平上的发病机制则显得极为重要。随着医学界对基因与疾病关系认识的深入、基因测序技术及比较基因组学等技术的迅速发展, 发现多种突变存在于 AML 患者中。本文拟对 AML 中基因水平发病机制的研究进展作如下总结, 为临床上个体化、精准化治疗提供依据。

1 急性髓系白血病简介

目前我国已将白血病纳入十大恶性肿瘤之

列, 而 AML 是成年人中最常见的白血病类型。AML 是一种具有高度分子学和临床异质性的血液系统恶性肿瘤, 其临床主要表现为贫血、出血、发热、感染, 该病多具有病情急重、难以控制、容易复发、预后凶险等临床特点, 严重威胁人类的生命健康。

近年来, 对 AML 发病机制的研究过程中, 发现其发病机制非常复杂, 光是与 AML 发病有关的突变就>100 种, 但幸运的是, 最终这些突变往往归结于共同的信号转导和转录途径上。目前公认的二次打击模型^[1-2]支持 AML 的发病机制是多步

基金项目: 国家自然科学基金项目(81703768, 81803400); 山东省自然科学基金项目(ZR2018BH045)

作者简介: 宋慧慧, 女, 硕士生 Tel: (0532)51872904 E-mail: 480037255@qq.com *通信作者: 李明春, 男, 硕士, 教授, 主任药师 Tel: (0532)51870086 E-mail: lmc401y@163.com

骤的,即单纯发生第1类突变如果未影响造血细胞的分化则不足以引起AML的表型,而如果仅仅发生永久性的第二类突变,虽然可以损害造血细胞分化,但是仍不足以诱发AML。因此,掌握引起AML的各种发病机制在临床治疗中显得至关重要。

2 急性髓系白血病中的突变

AML的发病原因和机制极其复杂,主要包括环境因素和遗传等因素。近年来,国内外对由突变等遗传因素引起白血病的发病机制研究甚多。突变导致的细胞增殖、分化以及凋亡途径的改变是AML发病的基础,突变不仅在AML的发生中发挥极其重要的作用,而且也控制着AML的进展与结局。近年来,在不同类型的AML中已发现有众多基因突变及染色体畸变,深入研究这些突变的意义对于深刻理解AML的本质和优化AML的治疗方案具有重要的临床价值,并将会为临床上个体化治疗AML提供潜在的新的研究靶点。现对AML中存在的突变及其在AML中的发生率进行总结。结果见表1。

2.1 功能获得性突变

功能获得性突变通常也称第1类突变,是指持续激活酪氨酸激酶,导致造血前体细胞增殖的信号失去控制,从而激活信号转导途径或者使得下游效应蛋白的活化,最终活化STAT、RAS/MAPK和PI3K/AKT等信号分子,使得细胞具有增殖和(或)存活优势。在AML患者中功能获得性突变包括FLT3、NPM1、RAS和C-KIT等基因突变以及由于染色体易位而产生的ABL-BCR、TEL-ABL和TEL-JAK2等融合基因。功能获得性突变导致造血前体细胞异常的增殖和存活,是AML发病的重要分子基础。

2.1.1 FLT3 基因突变 FLT3属于III型受体酪氨酸激酶家族,是一种受体型酪氨酸激酶,又称为FLK-2和STK1。目前,已知在FLT3中存在3种基因突变包括内部串联重复突变、酪氨酸激酶结构域的D835点突变以及近膜结构域和细胞外结构域的点突变。AML患者中常见FLT3内部串联重复的基因突变,该基因突变表现为近膜结构域编码区位于第14~15外显子内片段重复;而少见FLT3活化环中点突变的835点突变,该突变为第20外显子错义突变,编码氨基酸由天冬氨酸变为酪氨酸^[3-5]。这2种FLT3基因突变均能引起FLT3自动磷酸化,使FLT3发生配体非依赖性的组成性

激活,进而激活其下游RAS/MAPK和PI3K/ATK异常信号转导途径,同时短暂激活STAT5通路,最终促进细胞增殖、抑制细胞凋亡^[6]。而临床研究显示大多数AML患者只存在1种类型的FLT3基因突变,极少数同时存在FLT3的3种基因突变。Papaemmanuil等^[7]研究发现,在AML病例中有30%~35%的患者存在FLT3基因突变,目前公认该类型的基因突变在AML中的发生率最高,这也证实探明引起FLT3基因突变的原因和机制在靶向治疗AML中发挥重要的作用。

2.1.2 NPM1 基因突变 NPM1基因编码一种多功能穿梭蛋白,在核糖体蛋白组装、DNA修复、复制和转录中起着积极作用,并通过和P53、P19ARF相互作用,调控细胞周期进程和增殖发育。因此,当NPM1基因发生突变时,就会使得细胞周期进程等一系列与细胞增殖发育有关的信号失控,从而导致肿瘤的发生。NPM1基因突变在成人AML中约占27%~33%^[5,7-8]。研究显示,NPM1突变导致白血病的发病机制主要有以下几种途径:NPM1基因突变,影响抑癌基因ARF和P53通路失活,获得通过P53依赖和非依赖途径促进细胞增殖的新功能;NPM1的表达能增加ARF的核仁定位,以此阻碍ARF的激活,从而使得P53失去对细胞生长抑制,促进肿瘤细胞增殖^[8]。近年来随着对AML发病机制的不断深入研究,证实了NPM1基因突变在AML的发生和发展中起到重要的作用。

2.1.3 Ras 基因突变 研究发现,AML病例中较少存在Ras基因活化突变,Ras是细胞内重要的原癌基因,包括N-RAS、K-RAS和H-RAS^[9-10]。RAS蛋白存在2种结构和功能构象,与GTP结合形成激活型,而与GDP结合形成失活型^[11]。RAS基因的蛋白产物p21是一种膜结合G蛋白,通过结合多种细胞膜受体,当RAS与GTP结合处于活化状态时,招募下游的靶蛋白,激活多条下游信号转导途径,在细胞增殖、分化和凋亡等多种生理过程中发挥重要作用。正常状态下,这2种结合形式处于动态平衡状态,但当RAS基因突变时,使其蛋白构象发生改变,并持续处于GTP结合状态,进而导致其功能处于异常活跃状态,不断地激活细胞内正性调控细胞生长和增殖的ERK/MAPK信号转导途径,促使细胞恶性增殖、凋亡受限、分化停滞^[12-14]。这被认为是肿瘤形成过程中重要的致癌事件。研究显示,AML患者中RAS基因突变约占11%~33%^[9-10,13,15]。相关文献报道,在AML

患者中 *RAS* 基因突变主要表现为 *N-RAS* 或 *K-RAS* 基因突变, 且二者多在密码子 12, 13, 61 上发生单个碱基置换, 而很少存在 *H-RAS* 基因突变^[15-16]。

2.1.4 *C-KIT* 基因突变 *C-KIT* 原癌基因(又称干细胞生长因子受体)位于人第 4 号染色体的长臂(4q12), 属于Ⅲ受体型酪氨酸激酶^[17-18], 包括胞外区(结合其配体干细胞因子)、跨膜区(转导信号)和含有酪氨酸激酶活性的胞浆区^[19]。*C-KIT* 基因突变导致 AML 的发病机制尚未阐明, *C-KIT* 存在着 30 多种功能获得性突变形式, 发生在不同的外显子, 由此引发细胞的异常增殖和生存, 它们在许多肿瘤发生、发展的直接诱因。研究证实, *C-KIT* 能通过 2 种机制导致 AML 的发生, 第 1 种是 *C-KIT* 的过度表达, 第 2 种是 *C-KIT* 基因突变, 在 Moore 等^[19]的研究中, 发现 AML 中存在的 *C-KIT* 基因突变约占 20%~25%^[6,17,19]。*C-KIT* 基因突变包括 8 号外显子突变、17 号外显子突变以及 *C-KIT* 酪氨酸蛋白激酶区 D816 密码子突变, 而最常见的是 D816V 突变^[20]。*C-KIT* 突变可导致 *C-KIT* 不依赖配体的自发性受体二聚体化和细胞膜内酪氨酸激酶的磷酸化, 使 *C-KIT* 酪氨酸激酶活性增高, 且与 ATP 的亲合力也增高, 可能异常增高的酪氨酸激酶活性, 激活了下游信号转导途径, 使造血细胞增殖失去控制, 细胞凋亡受到抑制。在人体这个大的统一体中, 往往是由多种重叠的基因突变诱发的 AML, *C-KIT* 基因突变的同时还会伴有其他基因突变。

2.1.5 *IDH1/2* 基因突变 异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)是三羧酸循环的关键酶, 催化异柠檬酸氧化脱羧生成 α -酮戊二酸(α -KG)。*IDH* 在人类细胞中存在 3 种同工酶^[21]: 细胞质中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP⁺)依赖性的 *IDH1*, 线粒体中 NADP⁺依赖性的 *IDH2* 和线粒体中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)依赖性的 *IDH3*。*IDH1/2* 都是以 NADP⁺为辅助因子, 分别在细胞质、过氧化物酶体和线粒体中可逆地将异柠檬酸氧化脱羧生成 α -KG、NADPH 和 CO₂, 且 *IDH1*、*IDH2* 基因分别位于 2 号染色体 q33.3 和 15 号染色体 q26.1 上; 而 *IDH3* 则是以 NAD⁺作为辅助因子, 在线粒体中将异柠檬酸氧化脱羧生成 α -KG、NADH 和 CO₂。大量研究提示 *IDH* 基因突变能使得 AML 基因组和组蛋白高甲基化, 导致与分化相关基因的表达降低, 因而诱发 AML。尤其是 *IDH1* 和 *IDH2* 这 2 种最为常见的代谢酶基因突

变类型在 AML 中相当普遍。*IDH1/2* 基因突变后, 会使 *IDH1/2* 基因获得新的催化活性功能^[22], 与正常的 *IDH1/2* 酶竞争底物, 分别在细胞质和线粒体中利用 NADPH 将 α -KG 还原为 R-2-HG, 从而使细胞内 α -KG 的水平下降, 而 R-2-HG 水平升高, 进而直接竞争性抑制多种 α -KG 依赖的双加氧酶, 使细胞内组蛋白甲基化、DNA 高甲基化并降低相关基因的表达, 最终阻滞造血干细胞分化促进肿瘤形成^[23]。*IDH* 基因的 4 号外显子发生突变, 导致其编码的精氨酸被其他氨基酸替代, 而影响蛋白质功能, 其突变类型^[24]主要包括 132 密码子发生突变的 *IDH1* R132、140 密码子发生突变的 *IDH2* R140 和 172 密码子发生突变的 *IDH2* R172, 且 *IDH1/2* 基因突变约占 6%~19%。目前针对 *IDH* 基因的靶向药物也已进入临床试验阶段。

2.1.6 *ABL-BCR* 融合基因 研究发现, 由 9 号染色体长臂上的 *ABL* 原癌基因与 22 号染色体短臂上的 *BCR* 基因相互易位形成的费城染色体所产生的 *ABL-BCR* 融合基因, 在 AML 成人患者中存在, 该融合基因通过编码 P210 等蛋白增强酪氨酸激酶活性, 进而激活 wet/ β -catenin、JAK2/STAT5、PI3K/AKT/MTOR 等信号转导途径^[25], 从而导致细胞增殖失控、凋亡受阻。约 1%~5%^[19,26]的 *ABL-BCR* 融合基因出现在 AML 患者中。

2.1.7 *TEL-ABL* 融合基因 *TEL* 属于 ETS 家族转录因子, 由 9q34 和 12p13 的易位而形成的 *TEL-ABL* 融合基因, 这是一种罕见的基因重排^[27]。该融合基因导致白血病的机制尚不清晰, 有研究表明 *BCR* 和 *TEL* 在融合蛋白中的主要作用为提高 *ABL* 蛋白的 PTK(蛋白酪氨酸激酶)活力, 从而导致白血病细胞恶性转化。此基因融合仅仅发生在个别 AML 患者中, 约占 15.6%^[27]。

2.1.8 *TEL-JAK2* 融合基因 *TEL-JAK2* 融合基因是 *TEL* 与 PTK 融合的另一融合蛋白, 是由 9p24 上的 *JAK2* 基因易位至 12p13 上的 *TEL/ETV6* 基因而产生的^[28]。该融合蛋白显示结构性磷酸化, 使 *JAK2* 的 PTK 持续性激活, 进而激活下游信号转导通路, 在白血病的发病机制中起重要的作用, 也仅在个别 AML 病例中发生。

2.2 功能缺失性突变

功能缺失性突变又叫第 2 类突变, 使正常情况下一些维持造血系统分化的重要转录因子通过因染色体易位所致的基因融合和点突变的形式丧失功能, 从而干扰造血前体细胞的分化和凋亡^[1]。

功能缺失性突变包括 2 种形式,即基因融合和点突变,前者主要有 *RUNX1(AML1)-RUNX1T1(ETO)*、*CBFβ-MYH11*、*PML-RARα* 和 *NUP98-HOXA9* 等,而后者包括 *CEBPA*、*PUI*、*AML1* 等。

2.2.1 *RUNX1(AML1)-RUNX1T1(ETO)* 融合基因 多种血液恶性肿瘤存在涉及 *CBFα* 和 *CBFβ* 的基因突变或细胞遗传学异常^[29-32]。*CBFα* 或 *AML1* 蛋白,目前统一命名为 *RUNX1*,该基因定位于 21q22,编码蛋白 *RUNX1* 具有高度进化和结构保守性。*AML* 中最常见的 *RUNX1-RUNX1T1* 融合基因(既往命名为 *AML1-ETO* 融合基因)是由染色体 t(8;21)(q22,q22)易位形成的^[33]。研究显示,该基因融合在 *AML* 中约占 5%~20%^[20,26,29]。*RUNX1-RUNX1T1* 融合基因编码 *RUNX1-RUNX1T1* 融合蛋白,该蛋白招募核受体共阻抑物 1/mSin3A/组蛋白脱乙酰基酶,形成共阻抑转录复合物,引起核心结合因子(core-binding factor, CBF)功能缺失性突变,通过显性负效应抑制野生型 *RUNX1* 蛋白转录活性及下游靶基因表达和造血细胞分化,最终可能会导致白血病的发生。

2.2.2 *CBFβ-MYH11* 融合基因 *CBF* 是由 *CBFα* (*AML1*)亚单位和 *CBFβ* 亚单位组成的杂二聚体。*CBFβ* 基因定位于 16q22^[34]。*CBFβ-MYH11* 融合基因是由 inv(16)(p13q22)或 t(16;16)(p13;q22)易位形成的^[33],该融合基因编码 *CBFβ*-平滑肌肌球蛋白重链(smooth muscle myosin heavy chain, SMMHC)融合蛋白。研究证实,*CBFβ-SMMHC* 融合蛋白主要是通过显性负抑制转录因子 *CBF* 功能而阻断髓系细胞的分化,这些分化异常的 *CBFβ/MYH11* 阳性细胞获得增殖优势,而不断扩增,最后诱发临床白血病,该基因融合在 *AML* 中约占 5%~8%^[19,26]。

2.2.3 *PML-RARα* 融合基因 据文献报道已有 5 种染色体移位累及 *RARα* 基因,导致造血细胞分化阻滞在早幼粒阶段,从而导致急性早幼粒细胞白血病的发生。*PML-RARα* 是通过 t(15;17)(q22;q22)染色体易位形成的位于费城染色体上的融合基因^[35]。Falini 等^[26]的研究发现,*PML-RARα* 在 *AML* 中约有 13% 发生基因融合。该融合基因的表达不仅干扰 *RARα* 在核内的分布和细胞分化的调控,使大量细胞阻滞在早幼细胞阶段^[36],而且也通过核共抑制复合体的异常招募介导的负调节导致 *CBF* 功能缺失,使异常造血细胞在增殖和存活能力方面都比正常造血细胞有明显优势。

2.2.4 *NUP98-HOXA9* 融合基因 *AML* 患者中罕

见出现 t(7;11)(p15;p15)染色体畸变,并产生 *NUP98-HOXA9*^[37]。*NUP98* 融合基因中,*NUP98* 部分的断裂点发生在第 11 或 12 内含子,*HOXA9* 的断裂点在外显子 IA 和 IB 之间。这样 *NUP98-HOXA9* 融合基因保留了 *NUP98* 基因 N 端的 FG 重复序列与 *HOXA9* 基因 C 端同源盒结构域部分。*NUP98-HOXA9* 具有异常的转录活性,使细胞恶性转化,干扰细胞的正常分化过程引起白血病^[38]。t(7;11)(p15;p15)/*NUP98-HOXA9* 已经被证实是 *AML* 患者预后不良的因素,也是慢性粒细胞白血进展为加速期的危险因素之一。

2.2.5 *CEBPA* 点突变 *CEBPA* 基因位于 19 号染色体长臂(19q13.1)序列中无内含子,*CEBPA* 基因编码的 C/EBPα 蛋白是第一个被发现的 C/EBP 转录因子家族成员^[39]。C/EBPα 激活造血干/祖细胞中粒细胞集落刺激因子受体等多种特异的分化相关基因的表达,诱导干/祖细胞向粒系分化,同时抑制细胞增殖,调节分化与增殖的平衡。众多研究显示^[5,26,39-40],约有 4.2%~14% 的 *AML* 患者存在 *CEBPA* 基因突变,且 *CEBPA* 基因主要有 2 种突变类型,包括 C-端突变和 N-端突变^[40],其中 C-端突变产生突变型 C/EBPα 蛋白,该蛋白结构或表达异常将失去与 DNA 结合能力,不能激活 G-CSF 受体表达,阻碍 G-CSF 诱导粒细胞分化作用,从而导致粒系分化障碍、不成熟粒系前体细胞异常增殖,具有强大的诱发 *AML* 潜能。*CCAAT* 增强子结合蛋白 A(*CEBPA*)基因及其编码的转录因子 *CCAAT* 增强子结合蛋白 α(C/EBPα)通过促进造血干/祖细胞向粒系分化并抑制细胞增殖,在造血系统早期分化过程中起重要作用;而 N-端突变产生的 p30 蛋白本身无转录激活结构域 TAD1,但是通过与其他因子如 *PUI* 相互作用,可抑制全长 C/EBPα 蛋白与 DNA 结合功能和转录激活活性,从而间接抑制其激活 GCSF 受体转录的功能^[41]。

2.2.6 *PUI* 点突变 *PUI* 是由 *Spil* 基因编码的 ETS 家族转录因子之一,主要参与调节造血分化^[42],最早是从 SFFV(spleen focus forming virus)诱导的鼠红细胞白血病中分离出来的原癌基因,位于人类染色体 11p11.22 上。*PUI* 通过与造血相关靶基因的 *PUI* 位点结合而调节靶基因的转录活性,在造血干细胞的自我更新、粒-单核细胞的分化过程中发挥重要的作用。因此,当 *PUI* 基因发生突变时可能会诱发 *AML*,但研究显示 *PUI* 基因突变率很低,表明该基因突变并非是 *AML* 发生的常见原因。

2.2.7 DNMT3A 基因突变 在常见的 DNA 甲基化这一表观遗传修饰中, DNMT 催化甲基转移到 DNA 分子碱基上, DNMT3A 基因属于 DNMT 家族, 位于 2p23 染色体上^[43]。DNMT3A 编码的甲基转移酶参与从头甲基化, 在基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5'碳位共价键结合一个甲基集团, 能阻断转录因子复合物与 DNA 结合, 从而抑制基因表达, 参与细胞的生长分化调控^[44]。DNMT3A 在血液系统肿瘤中发挥重要的生物学作用。有研究表明, 表观遗传学中 DNA 甲基化异常而形成不稳定的遗传环境, 可能会促进造血干细胞积累具有生存优势的突变和染色体异常, 从而逐步形成白血病。DNMT3A 基因突变在 AML 病例中约占 13.3%~30%^[6,26,43,45], 且 DNMT3A 基因最主要的突变位置是甲基转移酶区域的 R882 位置, 特别是在基因序列的 CpG 区和启动子区域^[45-46], 引起广泛性甲基化不足。R882 突变可阻断野生型 DNMT3A 蛋白质的四聚体化, 从而抑制剩余野生型 DNMT3A 的甲基转移酶活性, 从而导致 DNA 甲基转移酶功能缺失, DNMT3A R882 突变主要以显性负效应形式发挥生物学功能。近年来, 陈赛娟等^[47]研究发现 DNMT3A R878H 基因突变可能会通过 DNA 低甲基化修饰而导致 mTOR 信号通路被异常激活, 进而使细胞周期关键蛋白 CDK1 表达上调, 从而导致组蛋白甲基化修饰酶 EZH2 磷酸化, 而引起 H3K27 三甲基化谱, 最终导致 AML 发生。这一新的发病机制的发现将会为之后 AML 的靶向治疗提供潜在的作用靶点。

3 讨论

近年来, 随着对 AML 发病机制的不断深入了解, 诱发 AML 的许多异常基因也逐渐明晰。由表 1 可知, 在 AML 中, 最为常见的基因突变包括 FLT3、C-KIT、NPM1、RAS 及 DNMT3A。因此, 不断深入研究这些基因突变的机制及突变靶点, 在 AML 的个体化、靶向性治疗中发挥重要的作用。除此之外, 与 AML 的发生和发展密切相关的基因突变及基因融合还包括与 DNA 甲基化相关基因异常如 TET2 和 WT1; 组蛋白修饰异常如 ASXL1、MLL 改变、EZH2 和 KMT2A; AML1 点突变以及 TEL-PDGFR β 基因融合等。目前, 基于本文所述基因改变的靶位, 已有许多的靶向药物被批准应用于临床或正处于临床试验阶段。针对持续性激活酪氨酸激酶的基因突变, 如对于 FLT3 基因突变的靶位, 研发出酪氨酸激酶抑制剂(TKI), 首个上市的伊马替尼能有效作用于 KIT 基因 8 号外显子的突变, 但其对 17 号外显子的 D816V 突变无效, 此时就应该根据 TK 基因突变的类型及突变靶点合理选择第 2 代 TKI 达沙替尼、进入临床试验阶段的 Quizartinib 和 Crenolanib 以及多靶向酪氨酸激酶抑制剂(包括 2017 年 4 月 28 日美国食品药品监督管理局批准上市用于联合化疗治疗 FLT3 阳性的米哚妥林和索拉非尼)等; 针对 RUNX1-RUNX1T1、CBF β -SMHHC 和 PML-RAR α 融合基因所引起 CBF 功能缺失性突变, 分别开发出有效的小分子靶向苯二氮草类药物 Ro5-3355、小分子靶向抑制剂 AI-10-49 和全反式维甲酸等; 针对靶

表 1 急性髓系白血病中存在的突变及其发生率

Tab. 1 Mutations and their incidence in acute myeloid leukemia

突变	基因	常见突变类型	发生率/%	参考文献
功能获得性突变	FLT3	FLT3-ITD、FLT3-TKD D835	30~35	[7]
	NPM1	-	27~33	[5,7-8]
	Ras	N-RAS、K-RAS、H-RAS	11~33	[9-10,13,15]
	C-KIT	8 号外显子突变、17 号外显子突变、C-KIT D816V 突变	20~46.1	[6,17,19]
	IDH1/2	IDH1 R132、IDH2 R140、IDH2 R172	6~19	[24]
	ABL-BCR	9 号与 22 号染色体易位形成	1~5	[19,26]
	TEL-ABL	9q34 和 12p13 易位形成	15.6	[27]
	TEL-JAK2	9p24 与 12p13 易位产生	-	-
功能缺失性突变	RUNX1(AML1)-RUNX1T1(ETO)	t(8;21)(q22,q22)易位形成	5~20	[19,26,29]
	CBF β -MYH11	inv(16)(p13q22)或 t(16;16)(p13;q22)易位形成	5~8	[19,26]
	PML-RAR α	t(15;17)(q22;q22)易位形成	13	[26]
	NUP98-HOX49	t(7;11)(p15;p15)染色体畸变	-	-
	CEBPA	C-端突变、N-端突变	4.2~14	[5,26,39-40]
	PU.1	-	-	-
	DNMT3A	DNMT3A R882、DNMT3A R878H	13.3~30	[6,26,43,45]

向阻止 *CEBPA* 磷酸化和逆转 *PML-RAR α* 对 *CEBPA* 活性抑制, 分别研发出丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(MAP/ERK)与 *FLT* 酪氨酸激酶抑制剂和全反式甲维酸; 针对 *IDH1/2* 基因突变的靶向抑制剂包括正处于临床试验阶段的 *IDH1* 抑制剂 *Ivosidenib*(AC-120)和 2017 年 8 月 1 日美国食品药品监督管理局批准上市的 *IDH2* 基因突变抑制剂恩西地平, 而且对于 *IDH* 基因突变后所致的 2-HG 这一过量中间代谢产物, 可作为 AML 疾病诊断、发展及治疗过程中的一种潜在生物标志物; 而对于近年来发现的与 AML 的发生、发展密切相关的 *DNMT3A* R878H 功能缺失性突变, 虽还未有针对该基因突变的靶向药物, 但这也为今后 AML 的临床治疗提供了潜在靶点; 对于 *NUP98-HOXA9* 这类功能缺失性突变, 具体的发病机制需要进一步深入研究, 这也可能是未来研发靶向治疗药物潜在的新靶点。“二次打击”学说指出, 每一类突变中至少存在一种基因突变或染色体畸变, 并且通过协同作用影响多种原癌基因、抑癌基因、抗凋亡基因等, 最终导致 AML。诸如, *NPM1* 突变的 AML 患者中常伴有 *FLT3*-ITD 基因突变, 而在 *IDH1/2* 基因突变中伴随着 *FLT3*-ITD 和(或)*NPM1* 基因突变; *RAS* 基因突变多见于伴有 *inv*(16)和 *abn11q23* 核型异常的患者中, 少见伴有 *t*(15;17)核型异常的患者中, 而 *N-RAS* 基因突变少见伴有 *MLL/11q23* 重排的患者中等等。因此, 临床上往往是由于多种基因或染色体联合突变诱发各种 AML 亚型, 所以在治疗 AML 时, 并不能只考虑单一靶向药物, 而是应该充分考虑多靶点的靶向药物共同联合使用, 同时多靶点的基因靶向药物将会是今后医药行业的研究重点。迄今为止, 虽然临床治疗 AML 已经取得一定的成效, 但是其复发性、多药耐药性、预后效果差等不足仍为 AML 的临床治疗增加了极大的难度, 也是人类目前的挑战之一。

4 展望

坚信随着免疫学、细胞遗传学、分子遗传学、分子生物学以及基因诊断技术的不断发展, 将会精准理解特定亚型 AML 纷繁复杂的发病机制等分子生物学特性, 将会探明越来越多诱发 AML 的多基因或染色体联合突变的发病机制, 这些都将有助于靶向治疗 AML 寻找出新的潜在靶点, 开发出更多具有针对性、选择性、特异性的多靶点的

基因靶向联合治疗药物, 最终实现精准治疗, 克服多药耐药, 改善预后, 提高患者的总生存率。基因靶向治疗研究进展迅速、前景广阔, 新的多靶点的基因靶向药物的出现, 可能会在临床治疗 AML 中取得新的重大突破, 而且未来 AML 的治疗有望实现个体化、精准化。

REFERENCES

- [1] SCHNEIDER F, BOHLANDER S K, SCHNEIDER S, et al. AML1-ETO meets JAK2: clinical evidence for the two hit model of leukemogenesis from a myeloproliferative syndrome progressing to acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2007, 21(10): 2199-2201.
- [2] BECKER H, PFEIFER D, AFONSO J D, et al. Two cell lines of t(8;21) acute myeloid leukemia with activating KIT exon 17 mutation: models for the 'second hit' hypothesis [J]. *Leukemia*, 2008, 22(9): 1792-1794.
- [3] PARK I K, MUNDY-BOSSE B, WHITMAN S P, et al. Receptor tyrosine kinase Axl is required for resistance of leukemic cells to FLT3-targeted therapy in acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2015, 29(12): 2382-2389.
- [4] O'DONNELL M R, TALLMAN M S, ABOUD C N, et al. Acute myeloid leukemia, version 3. 2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2017, 15(7): 926-957.
- [5] NAGEL G, WEBER D, FROMM E, et al. Epidemiological, genetic, and clinical characterization by age of newly diagnosed acute myeloid leukemia based on an academic population-based registry study(AMLSG BiO) [J]. *Ann Hematol*, 2017(96): 1993-2003.
- [6] BERENSTEIN R. Class III receptor tyrosine kinases in acute leukemia-biological functions and modern laboratory analysis [J]. *Biomark Insights*, 2015, 10(3): 1-14.
- [7] PAPAEMMANUIL E, GERSTUNG M, BULLINGER L, et al. Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(23): 2209-2221.
- [8] GRIMWADE D, IVEY A, HUNTLY B J. Molecular landscape of acute myeloid leukemia in younger adults and its clinical relevance [J]. *Blood*, 2016, 127(1): 29-41.
- [9] 杨小飞. *RAS* 基因突变和 *PHLPP1* 在髓系白血病中的作用 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [10] LEE S R, JUNG C K, KIM T E, et al. Molecular genotyping of follicular variant of papillary thyroid carcinoma correlates with diagnostic category of fine-needle aspiration cytology: values of *RAS* mutation testing [J]. *Thyroid*, 2013(23): 1416-1422.
- [11] CAZZANELLI G, PEREIRA F, ALVES S, et al. The yeast *saccharomyces cerevisiae* as a model for understanding *RAS* proteins and their role in human tumorigenesis [J]. *Cells*, 2018, 7(2): 14. <https://doi.org/10.3390/cells7020014>.
- [12] SARA A, LISANDRA C, MARIA S F, et al. Colorectal cancer-related mutant *KRAS* alleles function as positive regulators of autophagy [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 30787-30802.
- [13] STEPHENS R M, YI M, KESSING B, et al. Tumor *RAS* gene expression levels are influenced by the mutational status of *RAS* genes and both upstream and downstream *RAS* pathway genes [J]. *Cancer Inform*, 2017(16). Doi: 10.1177/1176935117711944.
- [14] ZHOU B, DER C J, COX A D. The role of wild type *RAS* isoforms in cancer [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2016(58): 60-69.
- [15] COX A D, FESIK S W, KIMMELMAN A C, et al. Drugging

- the undruggable RAS: Mission possible? [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(11): 828-851.
- [16] BURD C E, LIU W, HUYNH M V, et al. Mutation-specific RAS oncogenicity explains NRAS codon 61 selection in melanoma [J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(12): 1418-1429.
 - [17] ABBASPOUR BABAEI M, KAMALIDEHGHAN B, SALEEM M, et al. Receptor tyrosine kinase(c-Kit) inhibitors: a potential therapeutic target in cancer cells [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016(10): 2443-2459.
 - [18] 杨琰. FTY720 治疗伴 C-KIT 激酶区突变的急性髓系白血病的机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.
 - [19] MOORE F R, YANG F, PRESS R D. Detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations causing imatinib resistance in chronic myelogenous leukemia [J]. *Methods Mol Biol*, 2013(999): 25-39.
 - [20] AYATOLLAHI H, SHAJIEI A, SADEGHIAN M H, et al. Prognostic importance of C-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia: A systematic review [J]. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, 2017, 10(1): 1-7.
 - [21] LIU X, LING Z Q. Effects of IDH1 and IDH2 genes mutations on tumors [J]. *J Int Oncol(国际肿瘤学杂志)*, 2015, 42(5): 351-354.
 - [22] ZHANG C, MOORE L M, LI X, et al. IDH1/2 mutations target a key hallmark of cancer by deregulating cellular metabolism in glioma [J]. *Neuro Oncol*, 2013, 15(9): 1114-1126.
 - [23] FIGUEROA M E, ABDEL-WAHAB O, LU C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(6): 553-567.
 - [24] DINARDO C D, RAVANDI F, AGRESTA S, et al. Characteristics, clinical outcome, and prognostic significance of IDH mutations in AML [J]. *Am J Hematol*, 2015, 90(8): 732-736.
 - [25] JANGAMREDDY J R, PANIGRAHI S, LOTFI K, et al. Mapping of apoptin-interaction with BCR-ABL1, and development of apoptin-based targeted therapy [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(16): 7198-7211.
 - [26] FALINI B, MECUCCI C, SAGLIO G, et al. NPM1 mutations and cytoplasmic nucleophosmin are mutually exclusive of recurrent genetic abnormalities: a comparative analysis of 2562 patients with acute myeloid leukemia [J]. *Haematologica*, 2008, 93(3): 439-442.
 - [27] TIRADO C A, SIANGCHIN K, SHABSOVICH D S, et al. A novel three-way rearrangement involving ETV6(12p13) and ABL1(9q34) with an unknown partner on 3p25 resulting in a possible ETV6-ABL1 fusion in a patient with acute myeloid leukemia: a case report and a review of the literature [J]. *Biomark Res*, 2016, 4(1): 16. DOI: 10.1186/s40364-016-0070-7.
 - [28] ONNEBO S M, RASIGHAEMI P, KUMAR J, et al. Alternative TEL-JAK2 fusions associated with T-cell acute lymphoblastic leukemia and atypical chronic myelogenous leukemia dissected in zebrafish [J]. *Haematologica*, 2012, 97(12): 1895-1903.
 - [29] SOOD R, KAMIKUBO Y, LIU P. Role of RUNX1 in hematological malignancies [J]. *Blood*, 2017, 129(15): 2070-2082.
 - [30] LIN S, MULLOY J C, GOYAMA S. RUNX1-ETO leukemia [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 962(2): 151-173.
 - [31] CASTILLA L H, BUSHWELLER J H. Molecular basis and targeted inhibition of CBF β -SMMHC acute myeloid leukemia [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 962(2): 229-244.
 - [32] ITO Y, BAE S C, CHUANG L S. The RUNX family: developmental regulators in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(2): 81-95.
 - [33] KLEIN K, KASPERS G, HARRISON C J, et al. Clinical impact of additional cytogenetic aberrations, cKIT and RAS mutations, and treatment elements in pediatric t(8;21)-AML: results from an international retrospective study by the international berlin-frankfurt-münster study group [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(36): 4247-4258.
 - [34] TAHIROV T H, BUSHWELLER J. Structure and biophysics of CBF β /RUNX and its translocation products [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 962(1): 21-31.
 - [35] COOMBS C C, DEANGELIS L M, FEUSNER J H, et al. Pseudotumor cerebri in acute promyelocytic leukemia patients on intergroup protocol 0129: clinical description and recommendations for new diagnostic criteria [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2016, 16(3): 146-151.
 - [36] ABLAIN J, DE THÉ H. Retinoic acid signaling in cancer: The parable of acute promyelocytic leukemia [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(10): 2262-2272.
 - [37] YANG J, LYU X, ZHU X, et al. Chromosome t(7;11)(p15;p15) translocation in acute myeloid leukemia coexisting with multilineage dyspoiesis and mutations in *NRAS* and *WT1*: A case report and literature review [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(5): 3066-3070.
 - [38] OKA M, MURA S, YAMADA K, et al. Chromatin-prebound Cml1 recruits Nup98-HoxA9 fusion to induce aberrant expression of *Hox* cluster genes [J]. *Elife*, 2016(5): e09540. Doi: 10.7554/eLife.09540.
 - [39] SAID S B, EL-MASRY S A, SALEM D A, et al. Prevalence and prognostic impact of CEBPA gene mutation(simplified assay technique) in egyptian acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics [J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2015, 32(4): 405-411.
 - [40] MANNELLI F, PONZIANI V, BENCINI S, et al. *CEBPA*-double-mutated acute myeloid leukemia displays a unique phenotypic profile: a reliable screening method and insight into biological features [J]. *Haematologica*, 2017, 102(3): 529-540.
 - [41] WANG L M M, XIAO H W. Roles of CEBPA mutation and expression abnormality in acute myeloid leukemia [J]. *J Exp Hematol(中国实验血液学杂志)*, 2012, 20(5): 1256-1260.
 - [42] ROTHENBERG E V, HOSOKAWA H, UNGERBÄCK J. Mechanisms of action of hematopoietic transcription factor PU. 1 in initiation of T-Cell development [J]. *Front Immunol*, 2019(10): 228. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00228.
 - [43] BRUNETTI L, GUNDRY M C, GOODELL M A. DNMT3A in Leukemia [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2017, 7(2): a030320. Doi: 10.1101/cshperspect.a030320.
 - [44] SHEN H, LAIRD P W. Interplay between the cancer genome and epigenome [J]. *Cell*, 2013, 153(1): 38-55.
 - [45] RUSSLER-GERMAIN D A, SPENCER D H, YOUNG M A, et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(4): 442-454.
 - [46] KOYA J, KATAOKA K, SATO T, et al. DNMT3A R882 mutants interact with polycomb proteins to block haematopoietic stem and leukaemic cell differentiation [J]. *Nat Commun*, 2016(7): 10924. Doi: 10.1038/ncomms10924.
 - [47] 陈赛娟课题组在 *DNMT3A* 突变相关白血病的发病分子机制及靶向治疗研究领域取得新进展[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2017(9): 141.

收稿日期: 2019-04-02

(本文责编: 沈倩)