

# 白血病的精准基因组医学研究与转化应用

于雪新, 陈艾莉、李玥莹, 刘丹, 王前飞

中国科学院北京基因组研究所, 中国科学院精准基因组医学重点实验室, 北京 100101

**摘要:** 白血病是常见的血液系统恶性肿瘤, 治疗主要以化疗为主, 但总体治疗效果欠佳且发病的分子机制不明。因此, 白血病的发病机制以及临床研究急需新的突破口。近年来, 研究人员不仅发现了急性髓系白血病耐药的新靶点, 揭示不同表观修饰的相互作用加速 MLL 白血病进展, 也阐释了 NK 细胞白血病发病机制, 发现关键表观因子在髓系肿瘤发生中的重要功能。尤其是新抑癌基因 *SETD2* 的发现, 为急性髓系白血病的治疗提供了新的靶点。此外, 在国际上研究人员首次将低剂量化疗方案用于治疗初诊儿童急性髓系白血病, 在不影响疗效的基础上显著降低了化疗毒副作用及治疗费用。虽然基因组特征的解析加深了我们对癌症生物学分子机制的理解, 但是近年来的研究表明瘤内异质性的克隆演化也是导致白血病临床治疗效果不佳的主要因素, 解析不同化疗方案下白血病患者不同的克隆演化模式及其在临床预后评估中的作用是目前的研究热点之一。上述研究为急性髓系白血病诊断及治疗方法的改进提供了新的契机。

**关键词:** 白血病; 机制; *SETD2*; 低剂量化疗; 克隆演化; 精准医学

## Precision genomic and translational medicine for acute myeloid leukemia

Xuexin Yu, Aili Chen, Yueying Li, Dan Liu, Qianfei Wang

CAS Key Laboratory of Genomic and Precision Medicine, Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

**Abstract:** Leukemia is a group of hematologic malignancy that has unfavorable prognosis and unclear mechanisms. In recent years, advances in leukemia research encompass the discovery of novel targets in acute myeloid leukemia drug resistance, epigenetic crosstalk in mixed lineage leukemia (MLL) leukemogenesis, genetic mechanisms of aggressive NK-cell leukemia, as well as the critical role of key epigenetic regulator in acute myeloid malignancy. Remarkably, researchers revealed that the histone modifying gene *SETD2* as a new tumor suppressor and therapeutic target in patients with acute myeloid leukemia. Furthermore, low-dose chemotherapy as a frontline regiment in treating pediatric acute myeloid leukemia can substantially reduce the toxic side effects and treatment costs without impairing efficacy. Although advances in cancer genomics have greatly increased our understanding of the molecular characteristics in

收稿日期: 2018-07-03; 修回日期: 2018-09-12

作者简介: 于雪新, 博士, 助理研究员, 研究方向: 白血病生物信息学。E-mail: yuxx@big.ac.cn

通讯作者: 王前飞, 博士, 研究员, 研究方向: 白血病基因组学。E-mail: wangqf@big.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.18-188

网络出版时间: 2018/9/2 19:52:03

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20180902.1951.004.html>

tumor biology, recent studies suggest that Darwinian evolution of intratumor heterogeneity represents a major challenge to develop therapeutic strategies to improve disease control. Researchers also dissected the distinct evolutionary dynamics under different chemotherapy regimens and the corresponding applications in the evaluation of treatment outcomes. Altogether, these efforts offered new opportunities for the development of acute myeloid leukemia diagnostics and therapeutics.

**Keywords:** leukemia; mechanism; SETD2; low-dose therapy; clonal evolution; precision medicine

自 20 世纪 60 年代末, 随着肿瘤治疗新药的不断发现和支持治疗的加强, 白血病的疗效有了逐步提高。急性白血病(acute leukemia)是常见的血液系统恶性肿瘤, 发病率大约为 2.76/100000 人。急性白血病的治疗主要以化疗为主, 但是该病的总体治疗效果欠佳, 5 年无病生存率只有 30%~40%<sup>[1]</sup>。因此, 急性白血病的研究急需新的突破口。国际肿瘤基因组计划的完成为我们打开了白血病研究的新大门, 白血病基因组、表观组以及转录组的图谱已被初步绘制出来, 上述发现可能对白血病的诊断、治疗以及预后具有指导性意义。因此深入挖掘转录组、基因组以及表观修饰改变的临床意义, 有助于制定针对特定患者的个体化治疗策略。

近年来, 中国科学院北京基因组研究所精准基因组医学重点实验室在白血病研究中取得了一系列重要进展。同时, 精准基因组医学重点实验室与多家医院开展了密切的临床合作, 利用高通量测序技术、病人大规模临床数据分析以及细胞和动物模型的集成体系, 系统解析白血病基因组和表观组特征并揭示其在肿瘤发生发展过程中和药物作用下的异质性及克隆演化规律, 发现白血病难治性亚型的发病机制和药物靶点, 上述成果推动了基因组研究在白血病精准治疗中的应用。结合本研究所精准基因组医学重点实验室多年来的工作, 本文对白血病的发病机制、新抑癌基因的挖掘、白血病克隆演化以及低剂量化疗方案临床疗效等方面的研究进行了综述, 旨在为白血病诊断及治疗方案的改进提供新的契机。

## 1 白血病发病机制

急性白血病是一种常见的、具有高度异质性的

血液系统恶性肿瘤。造血系统在分化的不同阶段发生恶变而引发血细胞分化的阻滞, 导致急性白血病的发生。深入探究急性白血病的分子发病机制, 有助于发现诊断及治疗的靶点, 实现个性化精准诊疗, 最终达到改善急性白血病治疗效果的目的。

### 1.1 白血病转录调控机制

混合谱系白血病(mixed lineage leukemia, MLL)是一类恶性程度高且预后差的难治性急性白血病, 因染色体易位形成 MLL 融合蛋白而得名。MLL 融合蛋白激活下游一系列在血细胞分化和发育过程中起关键作用的基因表达, 继而引发造血细胞的发育紊乱和分化停滞, 最终导致白血病<sup>[2]</sup>。此外, 转录因子 *MEIS1* 的持续过度表达是混合谱系白血病的特征之一。小鼠实验证实 *MEIS1* 过度表达能够缩短小鼠 MLL 相关白血病的潜伏期并加速其发展, 但分子机理尚不明确<sup>[3]</sup>。精准基因组医学重点实验室与美国芝加哥大学合作开展了探究 MLL 中 *MEIS1* 过表达机制的研究<sup>[4]</sup>, 研究发现位于近 3'端内含子区内的远端增强子 E9 能上调 *MEIS1* 的表达且带有很强的组蛋白 H3K27ac 和 H3K4me1 修饰。E9 增强子所在的基因组区域是小鼠白血病模型中的“热点”攻击位点, 反转录病毒通过整合插入到 E9 位点直接诱发白血病的发生。该研究揭示了转录因子 *MEIS1* 通过远端增强子调控自身表达水平的机制, 为深入开展白血病的转录调控机理研究奠定了良好基础。

虽然 MLL 融合蛋白在 MLL 中非常重要, 但是只有 MLL 融合蛋白却不足以引起 MLL 白血病。是否存在其他关键的独立致病因子, 一直是白血病领域中广受关注的问题。精准基因组医学重点实验室和美国辛辛那提儿童医院合作, 发现与以往研究中转录因子 PU.1 在 t (8;21)和 t (15;17)急性白血病中

“抑癌基因”的作用相反, PU.1 在 MLL 白血病中高表达且可诱发和维持肿瘤细胞生长的作用, 且 PU.1 不是 MLL 融合蛋白的下游靶基因<sup>[5]</sup>。研究人员鉴定出 15 个只接受 PU.1 调控的靶基因, 其与细胞生长、造血分化及炎症反应等功能有关, 包括 *CSF1R*、*PU.1*、*PBX3*、*MEIS1*、*KIT*、*FLT3*、*TPM4*、*LY86*、*CD180*、*CCL3*、*CTSH*、*TBXAS1*、*AIF1*、*NFKB1* 以及 *SKY*。此外, 上述基因中包含了 MLL 融合蛋白下游的 *MEIS-HOX* 通路上的关键调控因子。研究者们利用大规模急性白血病病人的临床生存数据证实 PU.1 调控的靶基因与病人的预后显著相关。该研究发现转录因子 PU.1 具有维持 MLL 白血病的作用, 并证实 PU.1 是独立于 MLL 融合蛋白的关键调控因子, 可与 *MEIS1* 协同作用, 是调控血细胞分化发育的重要基因(图 1)。该研究为 MLL 白血病的临床诊断、预后评估及靶向治疗提供了新的线索。

## 1.2 白血病表观遗传调控机制

在 MLL 的研究中, 除转录调控外, 表观组的变异也是研究的热点之一。精准基因组医学重点实验室与美国迈阿密大学米勒医学院合作, 揭示急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)中重现性突变基因 *ASXL2* 在正常造血干细胞功能维持中的抑癌

作用<sup>[6]</sup>。*ASXL2* 是一种表观调控因子, 其突变主要出现于伴 t (8;21)染色体异常的 AML 中(~23%), 此类患者的复发率可高至 36%。研究人员发现 *Asxl2* 基因缺失可导致小鼠的造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)向髓系谱系分化倾斜, 并使其出现骨髓增生异常综合征样疾病; *Asxl2* 敲除后, 会使得小鼠长期造血干细胞频率的增加且自我更新潜能提高; *Asxl2* 敲除小鼠的骨髓细胞能引起白血病发生。*Asxl2* 敲除引起了与 HSC 功能、细胞凋亡和髓系发育相关的基因表达改变以及转录激活相关的组蛋白修饰 H3K27ac 和 H3K4me1/2 的特异性改变。这些数据表明, *ASXL2* 通过组蛋白修饰调控造血转录程序, 维持正常 HSC 的功能和抑制髓系肿瘤的发生(图 2)。该研究在机制上证明了 *ASXL2* 通过维持正常造血干细胞功能而抑制髓系肿瘤的发生。

同时, 精准基因组医学重点实验室联合武汉大学, 发现了 AML 表观靶向治疗新靶点, 有望通过靶向酸性核磷蛋白 ANP32A 调节表观遗传修饰来治疗 AML<sup>[7]</sup>。研究人员发现 ANP32A 通过调节表观组蛋白 H3 乙酰化(acetyl-H3)修饰, 促进白血病的发生发展。在 AML 病人细胞中, ANP32A 异常高表达, 对白血病细胞增殖、生存和克隆形成具有促进作用。而在 ANP32A 缺失的 AML 细胞中, acetyl-H3 富集

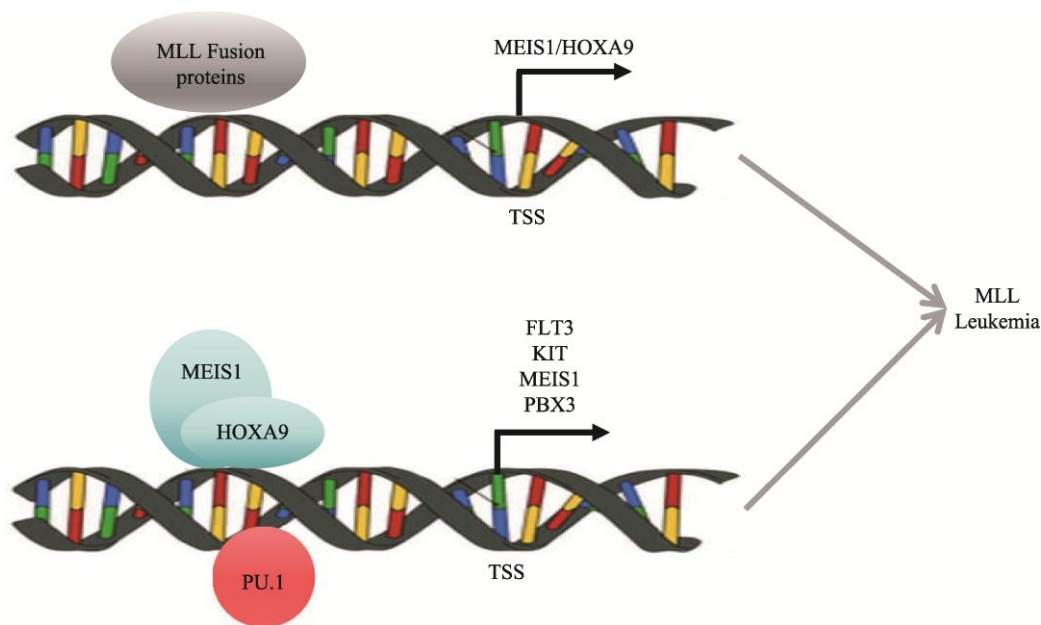


图 1 转录因子 PU.1 在 MLL 白血病中的调控模式图

Fig. 1 Regulated patterns of transcriptional factors PU.1 in MLL leukemia

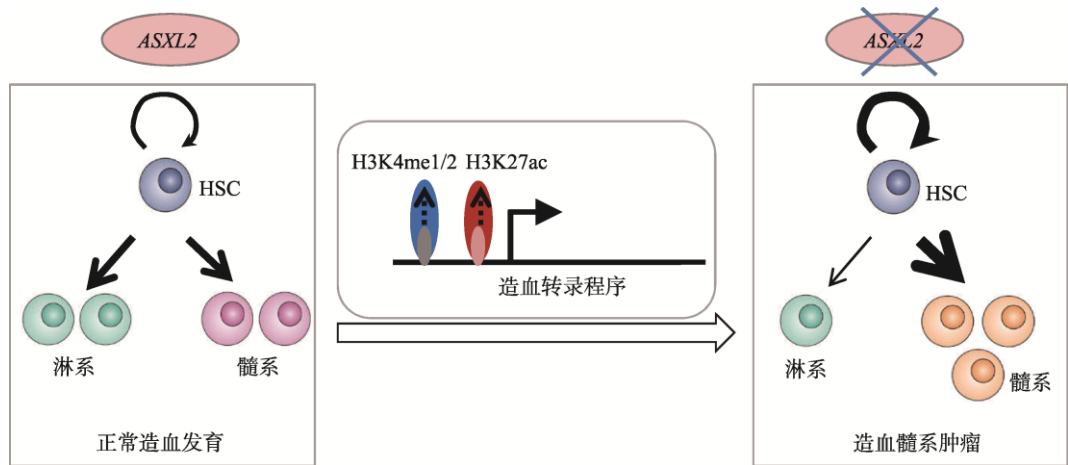


图 2 表观调控因子 *ASXL2* 通过组蛋白修饰在造血干细胞功能维持中起抑癌作用  
Fig. 2 The epigenetic regulator *ASXL2* plays a critical role in maintenance of normal HSC functions and suppression of myeloid malignancies via histone modification

变化与基因表达变化显著正相关,其中包括与脂代谢通路相关的基因如*APOC1*。进一步功能实验证明,*ANP32A* 缺失降低了 acetyl-H3 在基因 *APOC1* 启动子区的富集水平,下调 *APOC1* 基因的表达,而过表达 *APOC1* 能够恢复因 *ANP32A* 缺失引起的生长抑制(图 3)。该研究首次揭示了 *ANP32A* 在白血病中作为致癌因子发挥功能;*ANP32A* 蛋白只有 249 个氨基酸,适合利用小分子抑制剂或多肽有效干扰其功能,有望通过靶向 *ANP32A* 调节异常升高的 acetyl-H3 修饰来治疗白血病。

2 白血病新抑癌基因的发现

精准基因组医学重点实验室与中国医学科学院血液学研究所和美国辛辛那提儿童医院等多个团队合作,首次发现并证实组蛋白修饰酶 *SETD2* 在白血病中的抑癌基因功能,表明 *SETD2* 突变引起的组蛋白修饰紊乱是白血病发生中新的关键通路<sup>[8]</sup>。该研究发现在 241 例急性白血病病人中,6.2%的病人含有 *SETD2* 突变并携带 *MLL* 异位或其他常见染色体异常;同时发现 *SETD2* 在人类急性白血病中具有抑

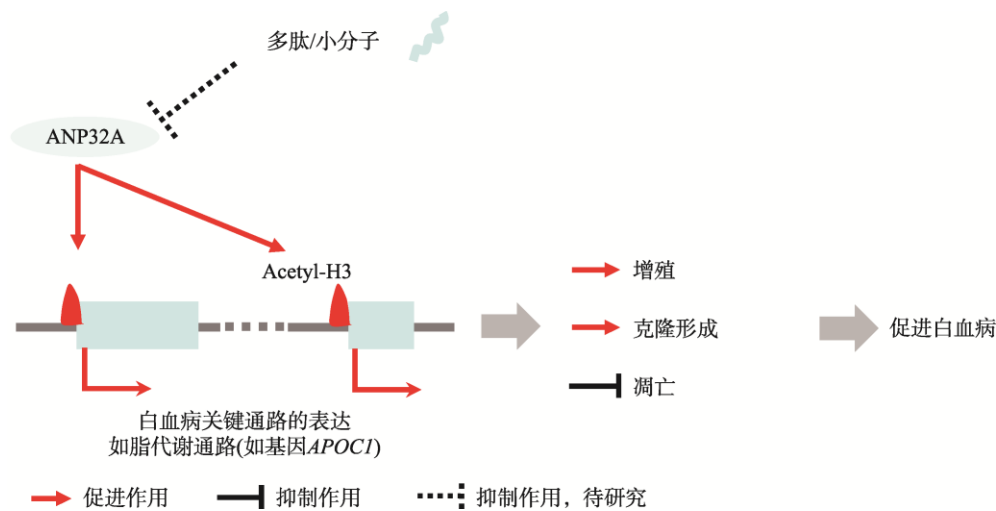


图 3 表观调控新因子 *ANP32A* 通过调节表观 acetyl-H3 促进白血病  
Fig. 3 *ANP32A* as a novel epigenetic regulator of histone H3 acetylation promotes leukemogenesis in AML

癌基因的突变失活特征,但突变谱显著不同于实体瘤,点突变和表达下调是急性白血病中 *SETD2* 功能破坏的主要机制,而非大的删除和表观沉默;*SETD2* 突变在人类急性白血病中造成基因功能失活,致使白血病细胞的染色质修饰 H3K36me3 的整体水平降低。研究人员进一步证实,在含有其他常见染色体异常时敲低 *SETD2* 能增强白血病干细胞的自我更新促进白血病的起始和进展,抑制 mTOR 信号通路能阻碍 *SETD2* 敲低的急性白血病细胞的增殖(图 4)。该研究揭示了 *SETD2* 是新的白血病抑制基因,而且 *SETD2*-H3K36me3 通路的功能破坏是白血病发生发展的一种表观遗传机制。*SETD2* 是一个新的分子治疗靶点,为急性白血病的临床预测、诊断和治疗提供了新的机遇。针对此项研究, *Nature Reviews Cancer* 发表专文点评,指出“近年肿瘤测序发现的染色质调控因子突变的生物学功能不清”,而此项研究“揭示了 *SETD2* 突变在白血病中的重要作用”。 *Cancer Discovery* 杂志在“研究观察”专栏中点评“*SETD2* 是协同血液肿瘤发生和维持中的抑癌基因”的重要影响。中国中央电视台、新华社、人民日报以及国际肿瘤干细胞新闻等 24 家国内外媒体也进行了专题采访或报道,指出这一发现作为急性白血病表现

发病机制的重要科学意义。

基于上述发现,精准基因组医学重点实验室与美国辛辛那提儿童医院合作进一步探索了携带 *SETD2* 突变的 MLL 白血病中不同组蛋白表观修饰间的相互作用。发现在 *SETD2* 野生型的 MLL 白血病中不仅 H3K79me2 异常高水平修饰, H3K36me3 水平也显著升高,并且两种组蛋白修饰显著富集于同一个基因集;而在 *SETD2* 功能缺失的 MLL 白血病中, H3K36me3 修饰降低, H3K79me2 修饰水平则升高;该动态的组蛋白修饰并没有进一步激活传统认识的 MLL 靶基因,而是调控了一组新的基因集。其中抑癌基因 *ASXL1* 等被抑制,癌基因 *ERG* 等被激活,进而促进 MLL 白血病的发生。该研究首次揭示了表观调控通路的功能协同,表明 MLL 白血病中致癌通路 *DOT1L*-H3K79me2 和抑癌通路 *SETD2*-H3K36me3 在基因调控过程中相互作用(图 5)<sup>[9]</sup>。该项研究的成果为临床提供了新的治疗靶点,有望逆转 *SETD2* 突变介导的化疗耐药。

### 3 白血病的精准诊治与临床转化

作为白血病治疗的最主要手段,常规化疗取得

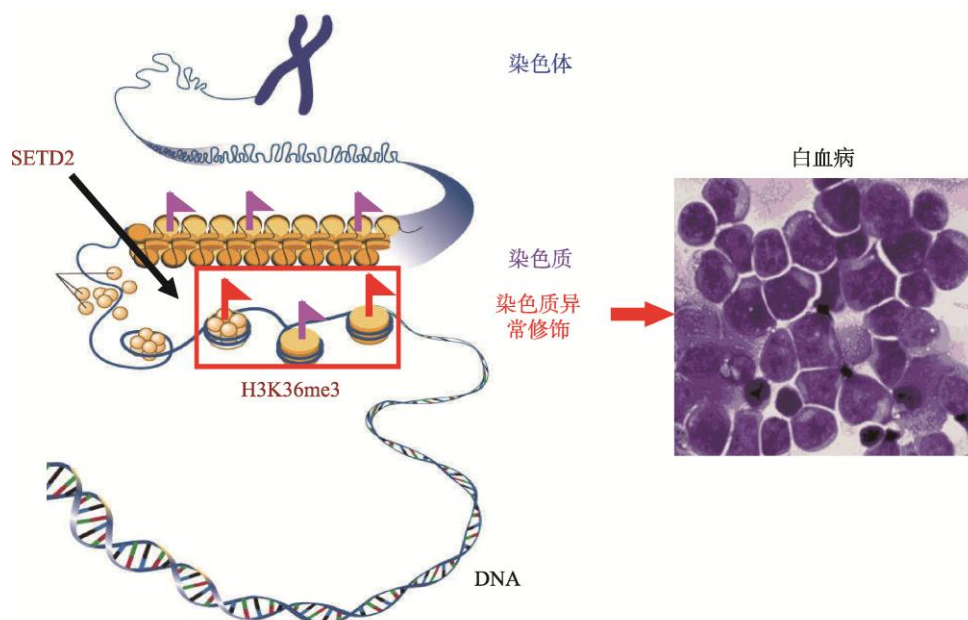


图 4 *SETD2* 突变可导致染色质的异常修饰促进白血病发生

Fig. 4 *SETD2* mutations lead to deregulated histone modification and promote leukemogenesis in AML



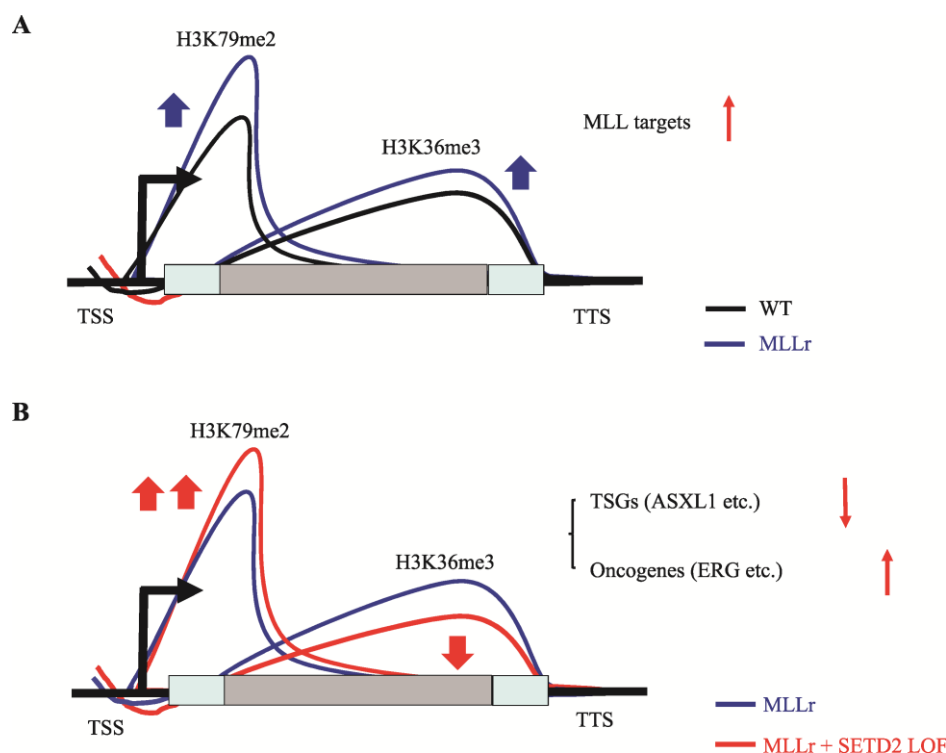


图 5 携带 *SETD2* 突变的 MLL 白血病中不同组蛋白表观修饰间的相互作用

**Fig. 5** *SETD2*-mediated crosstalk between H3K36me3 and H3K79me2 in MLL-rearranged leukemia

A: *SETD2* 野生型的 MLL 白血病中(MLLr)高水平 H3K79me2 修饰促进 H3K36me3 修饰升高,表达水平发生变化的主要是 MLL 靶基因被激活; B: *SETD2* 突变后(*SETD2* LOF)MLL 白血病中 H3K36me3 修饰降低,但 H3K79me2 修饰进一步升高,传统的 MLL 靶基因表达水平并无进一步改变,而新的抑癌基因被抑制,癌基因被激活。

了显著临床效果并成为骨髓移植前的必需桥接疗法。然而,常规化疗方案也存在着较为突出的问题:①传统化疗方案对白血病难治亚型以及复发难治的白血病患者的治疗效果欠佳,且医学界也没有统一的治疗标准和指南。②严重毒副作用导致的早期死亡与长期并发症现象普遍。这一问题在发展中国家由于支持治疗条件的不完善而更加突出,我国单中心报道长期无病生存率比发达国家低 20%~40%。③高额治疗费用造成因经济原因放弃治疗的普遍现象在我国部分医院高达 30%。针对上述存在的临床问题,以临床病例为研究对象所开展的白血病的精准基因组医学研究能够为临床提供新的治疗思路。近年来,中科院基因组所精准基因组医学重点实验室与多家医院和医药研发单位合作,开展了多项与临床相关的研究,在侵袭性 NK 细胞白血病(aggressive natural killer leukemia, ANKL)、急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)以及急性

髓系白血病(AML)中取得了一定的研究成果。

### 3.1 白血病难治亚型及耐药的研究

ANKL 起源于 NK 细胞异常增殖,病情进展迅速,多数患者在极短的时间内发生多器官衰竭,部分患者还会出现吞噬血细胞的现象,病情十分凶险。ANKL 患者即使积极接受正规治疗,平均生存时间也仅仅只有几个月。目前临床上 ANKL 的治疗面临两大主要问题:一个是患者对传统的化疗方案不敏感,且无统一的治疗标准和指南;另一个是 NK 细胞白血病发病具有明显的地域差异,在亚洲(报道病例多以中国、日本和韩国为主)和中南美洲更为常见。NK 细胞白血病发病机理不明,也严重制约着临床医生选择和制定有效的治疗方案<sup>[10]</sup>。精准基因组医学重点实验室联合华中科技大学附属武汉同济医院,对近 50 例中国 ANKL 患病人群进行基因组、转录组以及代谢组的整合分析,结果显示 JAK/STAT 信

号转导通路的基因在 NK 细胞白血病中频繁发生突变<sup>[11]</sup>。突变增强了 JAK/STAT 的信号传递功能,促使下游能够控制细胞代谢水平的 *MYC* 基因活化,进而一批参与代谢功能的基因过量的表达, NK 白血病细胞呈现了代谢极其旺盛的特点(核苷酸和糖的代谢最突出)。此外,研究者还发现了在 NK 细胞白血病中携带能够修改遗传物质的表观修饰基因的突变,如 *TET2* 等基因。本研究揭示, NK 细胞白血病存在代谢活跃的特征,这提示传统化疗方案联合抗代谢药物如左旋门冬酰胺酶可以有效缓解疾病进展;同时研究发现的 JAK/STAT 通路以及高度活化的 *MYC* 基因,将是开展新型治疗的靶点(图 6)。

儿童 ALL 是一种以癌变的、不成熟的淋巴母细胞在骨髓中异常增生为特点的急性白血病,具有起病急、贫血、感染、出血、器官浸润等临床特征。在中国,每年的 ALL 患儿大概有 1.5 万人,约占儿童白血病的 70%。近年来临床上发现酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine-kinase inhibitor, TKI)可用于儿童 ALL 的治疗,但该抑制剂的耐药性已成为临床上亟待解

决的问题<sup>[12]</sup>。精准基因组医学重点实验室联合中国医学科学院血液病医院,首次系统的揭示了 TKI 临床治疗 ALL 的耐药机制,并提出新的治疗策略<sup>[13]</sup>。研究团队发现使用 TKI 治疗缓解后又复发的儿童 ALL 病人携带了一种新的致病融合基因(*AGGF1-PDGFRB*),其致病性在 BaF3/Arf-/-细胞系中得到验证。另外,研究团队还刻画了该病人疾病进程中的克隆演化模式,发现 *PDGFRB* 点突变在 TKI 治疗过程中特异出现,并使白血病细胞获得生长优势,成长为 TKI 耐药复发时的主克隆;而体外细胞系功能实验也证实了 *PDGFRB* 突变可直接导致 TKI 耐药这一论断。此外,由于 *PDGFRB* 主要下游通路为 JAK-STAT 通路,研究人员使用广谱 JAK 抑制剂 CHZ868 进一步处理携带 *PDGFRB* 突变的白血病细胞,发现其对该抑制剂高度敏感,提示 CHZ868 可能是一种治疗该类耐药病人的潜在治疗手段。本研究揭示了靶向药物的耐药和治疗过程中的基因组演化有关,融合基因或点突变的出现都可能影响药物的治疗效果;而针对不同的基因组异常,可给予针对性的治

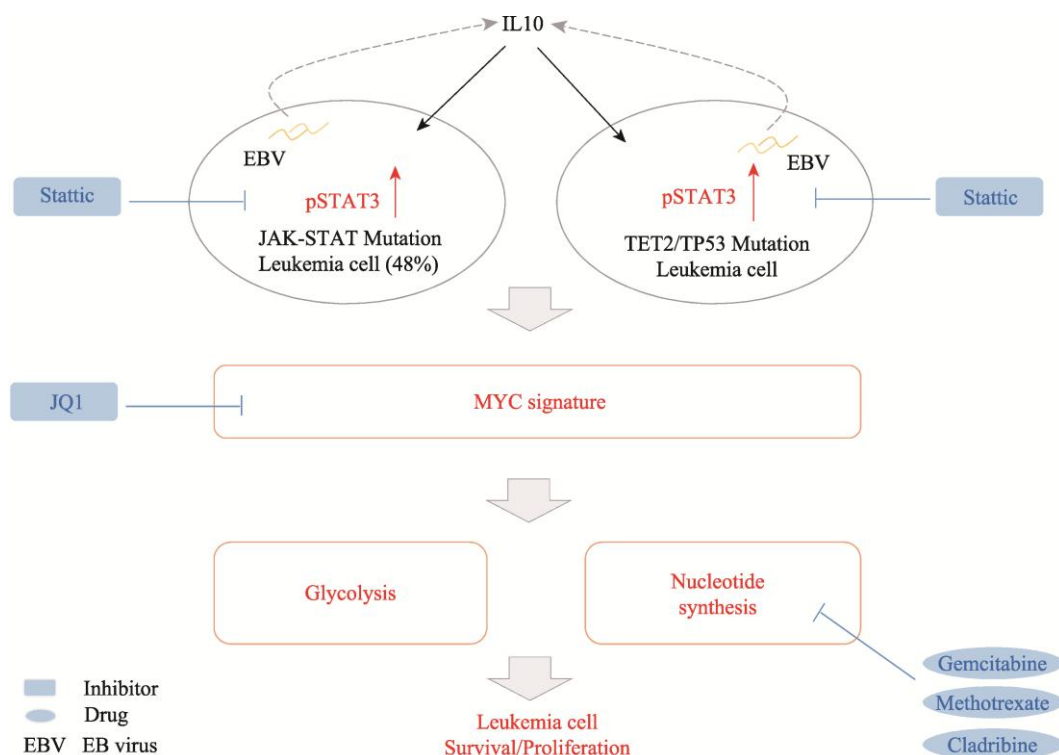


图 6 ANKL 发病机理模型及潜在的治疗新靶标

Fig. 6 The pathogenesis model of ANKL and novel potential therapeutic targets

疗措施以逆转耐药。

### 3.2 儿童白血病的低剂量化疗方案研究

白血病在儿童恶性肿瘤中发病率和死亡率均居首位, 患儿死亡率高达 40%。我国目前至少有 400 万白血病患者, 新增病例中有一半是儿童。其中有超过 75% 的患儿来自农村, 家庭年收入不足 3 万元。平均 30 万元的治疗费用给患儿家庭带来了沉重负担, 许多患儿家庭只能放弃治疗。然而, 半个多世纪以来主流医学界在临床实践和治疗理念上秉承的剂量“越高越好”的最大耐受剂量化疗也存在着较为突出问题: 毒副作用大以及高额的治疗费用<sup>[14]</sup>。因此, 革新儿童白血病的治疗方案, 既能最大限度的清除肿瘤细胞、减少复发风险并大幅度降低治疗费用, 是临床上亟待解决的问题。

精准基因组医学重点实验室与苏州大学附属儿童医院合作, 对 140 例儿童 AML 患者分别在诱导缓解疗程使用低剂量化疗联合 G-CSF 的方案(简称低剂量方案)或标准剂量诱导缓解方案(简称标准方案)治疗并评估疗效。临床数据表明低剂量方案与标准方案相比具有相似的诱导缓解率和 4 年总体生存率, 同时低剂量组的患者粒缺时间和血小板恢复时间较标准剂量组明显缩短, 感染程度大大降低, 患者在前两个诱导缓解疗程的治疗中平均可节省花费约 5 万元。通过高通量靶向测序检测和追踪 9 例低剂量组和 11 例标准剂量组取得完全缓解的患者在初诊、诱导缓解疗程、巩固强化疗程和疗程结束后的随访期的突变清除情况, 全面精确的证实低剂量方案能够取得与标准方案相似的分子疗效并提示两者具有相似的长期复发风险。这些结果表明低剂量化疗联合 G-CSF 的方案在保持与标准剂量化疗相当临床疗效的同时能够显著降低毒副作用和治疗费用, 对于感染较重的不耐受患者及经济困难放弃治疗者有十分重大的意义。

为了进一步推广低剂量化疗方案在儿童白血病治疗中的应用, 中科院基因组研究所已联合多家医院进行以下研究: 从基因组水平分析确立常规高剂量化疗方案和低剂量化疗方案的敏感人群, 实现急性髓系白血病的精准分层治疗; 明确低剂量方案清除肿瘤突变的分子疗效和起效机制, 在全国范围内

推广低剂量化疗方案并使该方案成为国际认可的儿童急性髓系白血病的一线临床治疗方案。

### 3.3 药物治疗下白血病患者基因组克隆演化的研究

化疗作为一种主流的治疗白血病的手段, 可以由不同的药物种类、用药剂量以及用药密度而形成不同的化疗方案。然而近年来的多个研究表明, 化疗是一把“双刃剑”, 它既能杀死肿瘤细胞, 也能筛选、诱导耐药突变, 驱动肿瘤基因组克隆演化。即便是在相同的化疗药物作用下, 不同的用药剂量或用药密度也会对肿瘤内部产生不同的选择压力, 而导致肿瘤产生不同的克隆演化过程。在治疗白血病时, 化疗药物驱动着白血病细胞产生不同的基因突变、结构及拷贝数变异、表观修饰的改变及基因表达异常等诸多改变, 从而导致了同一白血病细胞群体内存在遗传背景和表型功能显著不同的多个细胞克隆。而白血病不同细胞克隆的异质性也是造成白血病化疗耐药的根本原因之一。

针对基因组克隆演化介导的白血病化疗耐药, 我们开展了以下 3 个方面的工作: (1) 明确化疗耐药患者的基因组克隆演化模式; (2) 探索化疗耐药的分子机制; (3) 寻找可以逆转化疗耐药的手段。目前, 精准基因组医学重点实验室与苏州大学附属儿童医院合作, 运用全基因组高通量深度测序研究不同化疗方案下患者的突变清除以及基因组克隆演化模式。初步结果显示, 低剂量化疗联合 G-CSF (预激方案) 对特定患者可以全面清除主要的肿瘤克隆, 达到分子水平的缓解。而未来对于难治型白血病的研究, 将侧重于低剂量化疗是否能通过减缓肿瘤耐药克隆演化来延长某些患者的生存期。该研究有望建立基于肿瘤基因组演化规律推广肿瘤新疗法的典范, 并拓宽和修正医学界对于首选大剂量化疗治疗肿瘤策略的传统认识。

同时, 精准基因组医学重点实验室与河南省肿瘤医院和南京医科大学第一附属医院合作对初诊的老年 AML 患者(50~75 岁)开展了低剂量化疗联合 G-CSF 的临床试验。将 2013~2017 年间入院就诊的 154 例老年 AML 患者按照治疗方案进行分组, 包括低剂量化疗联合 G-CSF 组和常规剂量化疗组。初步



研究发现,低剂量化疗联合 G-CSF 能够更有效的清除表观因子突变,且接受常规剂量化疗的老年 AML 患者在达到完全缓解后,残留的基因突变主要为表观因子突变,因此我们推断表观因子突变可能是导致白血病化疗耐药的原因之一。此外,我们还将进一步探究上述表观因子突变是否在造血干细胞时期就已经存在,这些携带表观因子突变的前白血病克隆又是如何一步一步演化为白血病克隆的,通过药物抑制上述克隆的膨胀是否可以有效的改善白血病化疗耐药。此外,为了进一步探究化疗药物驱动下复发难治成人 AML 患者的克隆演化模式,精准基因组医学重点实验室也与北京大学人民医院展开了合作,对复发难治的成人 AML 患者进行回顾性研究。研究者们探究了化疗联合 G-CSF 方案对表观因子突变的清除作用并刻画出患者在不同治疗方案下基因组克隆演化的模式,期望可以准确的刻画出不同化疗方案下敏感和耐药克隆的基因组特征,据此筛选出化疗联合 G-CSF 方案敏感人群的分子特征并在患者治疗过程中动态的调整用药方案和剂量。我们希望通过该研究进一步完善临床上对于复发难治 AML 患者治疗方案的选择依据并将化疗联合 G-CSF 方案推广为部分复发难治成人 AML 患者的一线治疗方案。

## 4 巨核细胞和血小板体外发育及再生

巨核细胞(MK)是骨髓中高度多倍体化且高效生成血小板的重要细胞,而血小板在止血、伤口愈合以及维持机体稳态等过程中具有重要作用。临床上输注血小板和(或)巨核细胞可用于多种具有凝血功能障碍的疾病,包括:血小板减少症、肿瘤化疗后、手术、HIV 感染以及外伤出血等,其临床需求量大。据统计,血小板的民间临床应用在美国每年有大于 10 亿美元的市场需求。然而,因为捐赠者非常有限且血小板成分保存困难,人体捐赠作为目前最主要的供血来源,远不能满足临床的需求。利用多能干细胞以及造血干细胞体外诱导生成功能血细胞是国际科学界及生物科技公司的关注热点和前沿。由于对造血干细胞自我更新和下游功能分化的关键调控靶点和机制了解不清,目前体外再生获得的血细胞的研发面临极大的技术挑

战,如体外产生巨核细胞或血小板具有效率低下和功能有限的特点,效率比体内低将近 1000 倍。因此,亟需不断探索巨核细胞发育的过程和机制,开发新的可促进体外人巨核细胞生成的技术手段,进而满足日益增长的临床需要。

已有研究发现转录因子 *RUNX1* 单等位基因胚系突变会引起 MK 发育障碍和血小板减少的家族性血小板疾病(familial platelet disorders, FPD),但具体机制尚不清楚。合作方美国约翰霍普金斯大学医学院的程临钊教授前期工作发现利用 FPD 病人来源的多能干细胞(hiPSCs)体外模型可重现病人表型,而通过基因打靶修复 *RUNX1* 突变后可以恢复其巨核细胞的生成能力。为了揭示 FPD 巨核发育障碍和血小板减少的发病机制,促进体外巨核细胞或血小板再生,精准基因组医学重点实验室利用疾病干细胞体外模型结合功能基因组学,找到了一系列受 *RUNX1* 调控并对巨核细胞生成具有重要作用的靶基因和通路<sup>[15]</sup>。其中,首次揭示 *NOTCH4* 作为转录因子 *RUNX1* 的直接靶基因,负向调控体外巨核细胞发育;并筛选出 Notch 通路的小分子抑制剂,使得从多能干细胞和脐血来源的造血干祖细胞生成巨核细胞的产量提高近十倍。该成果有望应用于临床输注,治疗包括血小板减少症、肿瘤化疗后和手术外伤出血在内的多种凝血功能障碍疾病,具有较高的科学意义和临床价值。此外,新靶点 *NOTCH4* 及其抑制剂的医药用途已申请国内及国际专利。

## 5 未来研究展望

白血病发病机制的研究不仅可以帮助研究者们进一步了解白血病的致病机理,也促使更多的可用于诊断及治疗的新靶点得以发现。此外,以临床问题为切入点并结合高通量测序技术所开展的白血病的精准基因组医学研究也为白血病的临床治疗提供了崭新的治疗思路。随着研究的不断深入以及测序技术的日益发展,研究者们已经意识到白血病具有高度异质性,肿瘤细胞的恶性程度、耐药性、复发能力和转移能力均不同,在疾病进展和药物治疗下不断演化,最终引起难治和复发。而肿瘤异质性的演化是白血病难治和复发的重要原因,也是实现白

血病精准治疗所面临的巨大挑战。因此, 探究不同化疗方案以及相同方案的不同用药剂量的驱动下的患者基因组特征以及克隆演化模式, 筛选出化疗方案在不同治疗阶段适用人群的分子标记, 最终实现在治疗过程中动态调整化疗药物使用剂量已成为临床上急需解决的问题。我们认为基于白血病基因组克隆演化而展开的适应性治疗, 不仅可以改善白血病患者的化疗耐药, 也将提高患者的完全缓解率并延长其整体生存期, 最终实现改善白血病临床治疗效果的目的。

## 参考文献(References):

- [1] Döhner H, Weisdorf DJ, Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*, 2015, 373(12): 1136–1152. [DOI]
- [2] Krivtsov AV, Armstrong SA. MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(11): 823–833. [DOI]
- [3] Wong P, Iwasaki M, Somervaille TC, So CW, Cleary ML. Meis1 is an essential and rate-limiting regulator of MLL leukemia stem cell potential. *Genes Dev*, 2007, 21(21): 2762–2774. [DOI]
- [4] Wang QF, Li YJ, Dong JF, Li B, Kaberlein JJ, Zhang L, Arimura FE, Luo RT, Ni J, He F, Wu J, Mattison R, Zhou J, Wang CZ, Prabhakar S, Nobrega MA, Thirman MJ. Regulation of MEIS1 by distal enhancer elements in acute leukemia. *Leukemia*, 2014, 28(1): 138–146. [DOI]
- [5] Zhou J, Wu J, Li B, Liu D, Yu J, Yan X, Zheng S, Wang J, Zhang L, Zhang L, He F, Li Q, Chen A, Zhang Y, Zhao X, Guan Y, Zhao X, Yan J, Ni J, Nobrega MA, Löwenberg B, Delwel R, Valk PJ, Kumar A, Xie L, Tenen DG, Huang G, Wang QF. PU.1 is essential for MLL leukemia partially via crosstalk with the MEIS/HOX pathway. *Leukemia*, 2014, 28(7): 1436–1448. [DOI]
- [6] Li J, He F, Zhang P, Chen S, Shi H, Sun Y, Guo Y, Yang H, Man N, Greenblatt S, Li Z, Guo Z, Zhou Y, Wang L, Morey L, Williams S, Chen X, Wang QT, Nimer SD, Yu P, Wang QF, Xu M, Yang FC. Loss of Asxl2 leads to myeloid malignancies in mice. *Nat Commun*, 2017, 8: 15456. [DOI]
- [7] Yang XJ, Lu B, Sun XQ, Han CJ, Fu CL, Xu KL, Wang M, Li DJ, Chen ZC, Opal P, Wen Q, Crispino JD, Wang QF, Huang Z. ANP32A regulates histone H3 acetylation and promotes leukemogenesis. *Leukemia*, 2018, 32: 1587–1597. [DOI]
- [8] Zhu X, He F, Zeng H, Ling S, Chen A, Wang Y, Yan X, Wei W, Pang Y, Cheng H, Hua C, Zhang Y, Yang X, Lu X, Cao L, Hao L, Dong L, Zou W, Wu J, Li X, Zheng S, Yan J, Zhou J, Zhang L, Mi S, Wang X, Zhang L, Zou Y, Chen Y, Geng Z, Wang J, Zhou J, Liu X, Wang J, Yuan W, Huang G, Cheng T, Wang QF. Identification of functional cooperative mutations of SETD2 in human acute leukemia. *Nat Genet*, 2014, 46(3): 287–293. [DOI]
- [9] Bu J, Chen A, Yan X, He F, Dong Y, Zhou Y, He J, Zhan D, Lin P, Hayashi Y, Sun Y, Zhang Y, Xiao Z, Grimes HL, Wang QF, Huang G. SETD2-mediated crosstalk between H3K36me3 and H3K79me2 in MLL-rearranged leukemia. *Leukemia*, 2018, 32(4): 890–899. [DOI]
- [10] Suzuki R. Treatment of advanced extranodal NK/T cell lymphoma, nasal-type and aggressive NK-cell leukemia. *Int J Hematol*, 2010, 92(5): 697–701. [DOI]
- [11] Huang L, Liu D, Wang N, Ling S, Tang Y, Wu J, Hao L, Luo H, Hu X, Sheng L, Zhu L, Wang D, Luo Y, Shang Z, Xiao M, Mao X, Zhou K, Cao L, Dong L, Zheng X, Sui P, He J, Mo S, Yan J, Ao Q, Qiu L, Zhou H, Liu Q, Zhang H, Li J, Jin J, Fu L, Zhao W, Chen J, Du X, Qing G, Liu H, Liu X, Huang G, Ma D, Zhou J, Wang QF. Integrated genomic analysis identifies deregulated JAK/STAT-MYC-biosynthesis axis in aggressive NK-cell leukemia. *Cell Res*, 2018, 28(2): 172–186. [DOI]
- [12] Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 2013, 381(9881): 1943–1955. [DOI]
- [13] Xu XJ, Tang YM, Song H, Yang SL, Shi SW, Wei J. Long-term outcome of childhood acute myeloid leukemia in a developing country: experience from a children's hospital in China. *Leuk Lymphoma*, 2010, 51(12): 2262–2269. [DOI]
- [14] Zhang Y, Gao Y, Zhang H, Zhang J, He F, Hernández A, Qian M, Liu X, Gocho Y, Pui CH, Cheng T, Wang Q, Yang JJ, Zhu X, Liu X. PDGFRB mutation and tyrosine kinase inhibitor resistance in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2018, 131(20): 2256–2261. [DOI]
- [15] Li Y, Jin C, Bai H, Gao Y, Sun S, Chen L, Qin L, Liu PP, Cheng L, Wang QF. Human NOTCH4 is a key target of RUNX1 in megakaryocytic differentiation. *Blood*, 2018, 131(2): 191–201. [DOI]