

## 基于二代测序技术分析酪氨酸激酶抑制剂耐药或不耐受慢性髓性白血病患者肿瘤相关基因突变

吴婉儿<sup>1,2</sup> 周璇<sup>1</sup> 许娜<sup>1</sup> 黄继贤<sup>3</sup> 刘靛<sup>1</sup> 谭雅娴<sup>1</sup> 罗洁<sup>1</sup> 秦嘉岳<sup>4</sup> 阴常欣<sup>1</sup>  
周玲玲<sup>1</sup> 刘晓力<sup>1</sup>

<sup>1</sup>南方医科大学南方医院血液科,广州 510515;<sup>2</sup>南方医科大学基础医学院遗传教研室,广州 510515;<sup>3</sup>汕头大学医学院附属粤北人民医院血液科,广东省韶关市 512025;<sup>4</sup>安诺优达基因科技(北京)有限公司,北京 100176

通信作者:刘晓力,Email:lxl2405@126.com

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81700104);广东省省级科技计划项目(2017A020215047);南方医科大学南方医院院长基金(2016A002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.10.010

### Targeted next-generation sequencing for the molecular diagnosis of patients with chronic myeloid leukemia with resistance or intolerance to tyrosine kinase inhibitor

Wu Waner<sup>1,2</sup>, Zhou Xuan<sup>1</sup>, Xu Na<sup>1</sup>, Huang Jixian<sup>3</sup>, Liu Liang<sup>1</sup>, Tan Yaxian<sup>1</sup>, Luo Jie<sup>1</sup>, Qin Jiayue<sup>4</sup>, Yin Changxin<sup>1</sup>, Zhou Lingling<sup>1</sup>, Liu Xiaoli<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

<sup>3</sup>Department of Hematology, Yuebei People's Hospital, Shantou University, Shaoguan 512025, China; <sup>4</sup>Annoroad Gene Technology Co. Ltd, Beijing 100176, China

Corresponding author: Liu Xiaoli, Email: lxl2405@126.com

对酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药或不耐受导致治疗失败,已成为慢性髓性白血病(CML)治疗中的两大难题。虽然ABL1激酶结构域(Kinase Domain, KD)的获得性点突变已被确定为TKI耐药的常见机制,但最近的基因研究表明,TKI耐药或不耐受的患者经常携带一种或多种与髓系恶性肿瘤有关的遗传学改变,这表明ABL1 KD突变以外的其他附加突变可能会导致TKI治疗失败或疾病进展。而在过去的十年中,已经在髓系恶性肿瘤中发现了大量除ABL1 KD突变外的其他体细胞突变,这些突变具有不同的频率和组合,并与不同的疾病群体重叠<sup>[1]</sup>。本研究目的在于识别CML TKI耐药和TKI不耐受患者间附加基因突变的差异,了解CML附加基因突变对疾病进展的可能影响。

#### 病例与方法

##### 一、病例

回顾性分析2018年8月至2020年4月在南方医院就诊并对TKI产生耐药或不耐受的CML患者,共79例。所有病例均有明确的骨髓细胞形态学及遗传学诊断依据,且符合2016年WHO重新修订的造血和淋巴组织肿瘤分类中关于CML的诊断标准,其中TKI耐药患者52例,TKI不耐受患者27例。患者一般资料详见表1。所有CML患者的年龄和检

测基因突变数量之间未见明显相关性(Spearman-Rho相关系数0.047,  $P=0.703$ )。

TKI耐药组患者经过换药调整治疗方案后有9例BCR-ABL1水平明显下降( $<0.1\%$ ),而TKI不耐受组患者经过换药调整治疗方案后有1例对更换后TKI的耐受性明显改善,其余26例患者仍然对使用的TKI有不耐受的现象。最终耐药组有3例患者达到了主要分子学反应(MMR),不耐受组有2例达到MMR。

##### 二、疗效及不良反应评估

TKI耐药定义为TKI治疗3个月未达到完全血液学反应(CHR)、6个月未达到主要细胞遗传学反应(MCyR)、12个月未达到完全细胞遗传学反应(CCyR);丧失既往取得的血液学、细胞遗传学以及分子学反应;达到MCyR但是出现新的BCR-ABL1激酶结构域突变<sup>[2]</sup>。TKI不耐受定义为任何剂量TKI治疗后患者出现3级或以上非血液学不良反应,或持续7 d以上的4级血液学不良反应<sup>[2-3]</sup>。大部分患者为伊马替尼治疗过程中发生耐药或不耐受后转换为二代TKI治疗,但仍存在耐药或不耐受反应,少数患者由于个人原因未转换为二代TKI。

细胞遗传学反应(CyR)是根据每份骨髓样本至少20个中期细胞中Ph<sup>+</sup>细胞的比例而确定。CyR的标准参照欧洲白

表1 酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药组和不耐受组患者临床资料

特征	耐药组(52例)	不耐受组(27例)	P值
性别(例,男/女)	35/17	14/13	0.224 <sup>a</sup>
年龄[岁,M(范围)]	38(14~66)	49(31~65)	0.069 <sup>b</sup>
疾病分期(例)			0.446 <sup>c</sup>
慢性期	36	21	
加速期/急变期	16	6	
初诊时临床特征			
WBC[×10 <sup>9</sup> /L,M(范围)]	202.1(33.0~406.5)	287.6(37.0~557.3)	0.221 <sup>b</sup>
HGB[g/L,M(范围)]	101(66~140)	83(60~111)	0.009 <sup>c</sup>
PLT[×10 <sup>9</sup> /L,M(范围)]	545(49~1197)	553.5(225~1790)	0.753 <sup>b</sup>
骨髓原始细胞(%)	1.0(0~17.0)	3.25(0.5~8.0)	0.065 <sup>b</sup>
脾脏大小(肋缘下长度/cm)	4.0(0~23.0)	5.7(0~23.0)	0.866 <sup>b</sup>
Sokal评分[例(%)]			0.258 <sup>a</sup>
低	17(39.5)	5(21.7)	
中	16(37.2)	13(56.6)	
高	10(23.3)	5(21.7)	
EUTOS评分[例(%)]			0.219 <sup>a</sup>
低	26(63.4)	18(78.3)	
高	15(36.6)	5(21.7)	
用药方案(例)			0.106 <sup>d</sup>
一种TKI	13	2	
两种TKI	33	19	
三种TKI	6	6	
二代测序时临床特征			
WBC[×10 <sup>9</sup> /L,M(范围)]	5.2(1.9~149.9)	4.4(1.5~11.8)	0.016 <sup>b</sup>
HGB[g/L,M(范围)]	114(49~165)	110(43~134)	0.114 <sup>b</sup>
PLT[×10 <sup>9</sup> /L,M(范围)]	159(12~1126)	34(6~75)	0.000 <sup>b</sup>
嗜酸性粒细胞百分比(%)	1.25(0~18.0)	0.6(0~8.9)	0.336 <sup>b</sup>
嗜碱性粒细胞百分比(%)	0.4(0~9.7)	0.3(0~4.3)	0.323 <sup>b</sup>
附加染色体异常 <sup>e</sup> [例(%)]			0.893 <sup>d</sup>
是			
主要途径	5(12.5)	3(16.7)	
次要途径	4(10.0)	2(1.1)	
否	31(77.5)	13(72.2)	
主要分子学反应[例(%)]			1.000 <sup>d</sup>
是	3(5.8)	2(7.4)	
否	49(92.2)	25(92.6)	

注:<sup>a</sup>卡方检验,<sup>b</sup>秩和检验,<sup>c</sup>t检验,<sup>d</sup>Fisher精确检验。<sup>e</sup>共有58例患者有染色体核型资料

血病网2006标准<sup>[4]</sup>制定,包括CCyR、部分细胞遗传学反应(PCyR)、次要细胞遗传学反应、微小细胞遗传学反应、无细胞遗传学反应。MCyR定义为CCyR+PCyR。

### 三、研究方法

我们总共收集并分析了79例CML患者的信息,其中52例患者对一、二代TKI耐药,27例患者对一、二代TKI不耐受;57例处于慢性期(CP),6例处于加速期(AP),16例处于急变期(BC)。

1. 实验室检查:选择髂后上棘行骨髓穿刺术,抽取骨髓液和骨髓组织,用于细胞形态学、骨髓活检检查和染色体核型检查,抽取患者外周血行二代测序检测突变基因。共检测基因127个,分为7类,分别为激活信号通路基因、甲基化基因、肿瘤抑制基因、转录因子基因、剪切和RNA代谢基因、染色体修饰基因和其他补充基因(表2)。

2. 二代测序:79例患者中,1例患者在疾病进展期间接

受了3次外周血二代测序基因检测,3例患者接受了2次外周血二代测序基因检测,共收集85例次二代测序基因检测结果。在进行二代测序检测前均对患者进行了BCR-ABL融合基因定量检测,结果需≥10%才继续进行后续二代测序检测。

采集患者外周血标本,使用全自动核酸提取仪(厦门凯硕生物科技有限公司产品)提取gDNA并构建Illumina标准文库,NimbleGen液相杂交捕获芯片(瑞士罗氏公司产品)进行血液肿瘤相关的127个基因(表2)目标序列捕获,在Nextseq 550AR(美国Illumina公司产品)上进行PE75测序。分析内容包括确定点突变(SNV)、插入和缺失(INDEL)、内部串联重复(ITD)和部分串联重复(PTD)等变异类型。使用MuTect2软件检测SNV和INDEL变异,ITD和PTD的变异检测通过Illumina公司自主研发算法完成。变异检测结果采用Annovar软件进行注释。为保证变异准确率,对原始变

表2 通过二代测序检测的基因

分类	基因突变
甲基化基因	DNMT3A、TET2、IDH1、IDH2、TPMT、MLL、EZH2、SETD2、NPM1
肿瘤抑制基因	WT1、TP53、MPL、APC、CBLB、CBLC、MDM2、CDKN2A
转录因子基因	CEBPA、AML1、RUNX1、GATA1、GATA2、GATA3、ETV6、IKZF1、CREBBP、CUX1、ERG、MEF2B、RB1、STAT5B、STAT5A、TCF3、GFI1
剪切和RNA代谢基因	SF3B1、SRSF2、U2AF1、ZRSR2、PRPF8、DDX41
染色体修饰基因	ASXL1、KDM6A、BCORL1、BCOR、KMT2C、ID3、SETBP1、PHF6、EP300、BLM
激活信号通路基因	CBL、NRAS、KRAS、HRAS、PTPN11、KIT、CSF1R、CSF3R、JAK1、JAK2、JAK3、SH2B3、NTRK1、NTRK2、ABL、CRLF2、AKT2、AKT3、AMER1、ATM、ATRX、BRAF、EGFR、IL7R、MAP2K4、MAP3K7、NOTCH1、NOTCH2、PIK3CA、PTEN、PDGFRA、SMAD4、SYK、TRAF3、NF1、ETNK1、STAT3、MYD88、FLT3-ITD、FLT3
细胞代谢基因	GSTP1、NT5C2、NQO1、PIGA、MTHFR、ELA2、CYP2C19、CYP3A4、GSTM1
黏附和黏附素复合物基因	RAD21、STAG2、SMC1A、SMC3、FAT1
其他	ABCB1、ABCC3、BCL2、CACNA1E、CARD11、CCND1、CD79B、CDA、DIS3、ERCC1、CTLA4、FAM46C、FBXW7、GNAS、MLH1、NF2、TERC、XRCC1、CALR、BIRC3、SRP72、HAX1、TERT、DNAH9、DKC1

异检测结果进行过滤:每个样本捕获目标区域平均有效深度≥1000×,支持突变型的 reads 比对质量和碱基质量值均高于30,并且同时具有正负链支持。

四、统计学处理

统计采用SPSS 22.0软件,两组间计量资料的比较采用独立样本t检验,多组间计量资料比较采用单因素方差分析,两组或多组间计数资料的比较采用秩和检验、卡方检验或Fisher精确检验,P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

一、突变情况

79例患者中存在69个体细胞基因突变。患者中位突变基因数为3(0~13)个。突变数量与患者的Sokal评分和EUTOS评分均未见明显相关性。

在这69个体细胞基因突变中可见大部分为错义突变(图1),而KMT2C突变中多位点突变占60.5%,同样,在ASXL1突变中移码突变占61.1%。在总突变占比当中,ABL1 KD突变阳性率最高,可达29.8%,其次为KMT2C、FAT1与ASXL1,突变阳性率分别为45.2%、26.2%和21.4%。其中ASXL1、TET2、CEBPA、CUX1与RUNX1均为骨髓增生异常综合征(MDS)常见突变。此外,我们确定了具有TKI耐药性或不耐受性的CML患者中复发性突变的新靶点,包括KIT1、CUX1和GATA2。

二、TKI耐药患者与不耐受患者基因突变的异质性

1. MDS相关基因在TKI耐药和不耐受的患者中突变阳性率的比较:在79例患者数据中分析了20个与MDS相关的驱动基因,发现CUX1、KIT、GATA2等基因在TKI不耐受患者中突变阳性率更高,而AMER1突变则只在耐药组中发现(图2)。

虽然ASXL1与RUNX1的突变阳性率均未在TKI耐药

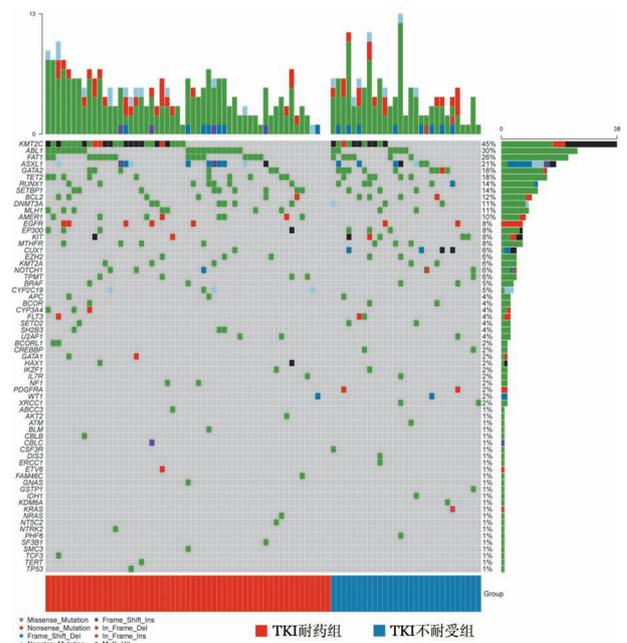


图1 79例酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药或不耐受患者85例二代测序检测基因突变类型

和不耐受两组间显示出差异,但这两个基因在两组患者中突变阳性率均较高,表明它们的存在可能参与了患者对TKI反应不好,疗效不佳。

而这20个基因在TKI耐药与不耐受两组患者中,突变的分布也不尽相同(图2),不耐受组中这20个基因的突变中位数比耐药组高(2.0个对1.0个,P=0.029),提示MDS相关基因可能在TKI不耐受中起着一定作用。

2. TKI耐药与不耐受患者突变基因功能的异质性:根据基因的功能分类,两组研究病例基因突变按频率由高到低依次为染色体修饰基因(65.88%,56/85)、激活信号通路基因

(64.71%, 55/85)、甲基化基因(41.18%, 35/85)、转录因子基因(34.12%, 29/85)、其他基因(30.58%, 26/85)、黏附和黏附素复合物基因(25.88%, 22/85)、细胞代谢基因(17.65%, 15/85)、肿瘤抑制基因(10.59%, 9/85)、剪切和RNA代谢基因(4.71%, 4/85)。

不同基因功能分类突变中, 转录因子相关基因的突变主要分布于TKI不耐受的患者中(82.6%对27.4%,  $P=0.016$ )(图3), 对TKI不耐受的患者转录因子基因突变个数显著高于TKI耐药患者突变个数(0.83个对0.27个,  $P=0.014$ )。转录因子基因中GATA2、CUX1在TKI不耐受患者中的突变阳性率都是增高的(图2)。

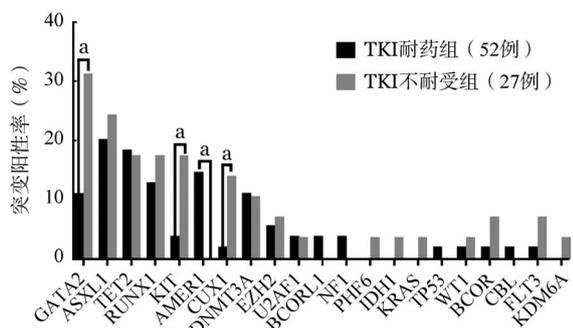


图2 酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药和不耐受组与骨髓增生异常综合征相关的基因突变阳性率比较(\* $P < 0.05$ )



图3 不同基因功能类别突变在酪氨酸激酶抑制剂(TKI)耐药和不耐受组的分布

### 三、附加基因突变在疾病进展中的变化

附加基因突变定义为在CML患者中出现的除ABL1 KD突变外的其他细胞突变。将患者分为ABL1 KD突变阴性与阳性两组, 虽然ABL1 KD突变阳性组的ASXL1、SH2B3、FAT1与RUNX1基因突变率均比ABL1 KD突变阴性组高(表3), 但仅ASXL1、SH2B3、基因突变率在两组间的差异显示出统计学意义。KIT基因则在ABL1 KD突变阴性

组中的突变率更高, 但差异无统计学意义, 有可能是由于本研究患者数量不足所致。

## 讨论

随着二代测序技术的发展, 人们对TKI反应不佳的患者从基因层面进行了分析, 以深入了解TKI耐药产生的可能机制。2019年欧洲血液年会(EHA)上, Branford等<sup>[5]</sup>提出ASXL1、IKZF1和RUNX1突变在预后不佳的初诊CML患者发生率高, 且发现一个新的突变癌基因SETD1B, 该研究还指出在CML急变患者中, ABL1 KD突变与IKZF1基因突变、MLL断裂重排基因存在相关性, 携带MLL断裂重排基因的患者往往不会出现ABL1 KD突变; 相反, IKZF1基因突变则常与ABL1 KD突变共存。我们在研究中发现ABL KD突变的患者常携带ASXL1与SH2B3基因突变。

Schmidt等<sup>[6]</sup>发现, 在携带Ph阴性克隆性细胞遗传学异常(Clonal cytogenetic abnormalities, CCA)的CML患者中, 有43%患者合并其他基因突变, 并且大多数基因突变与MDS中发现的基因突变相似。Bejar等<sup>[7]</sup>对439例MDS患者进行了基于二代测序的综合分析, 确定了3个基因(TET2、DMNT3A、TP53)与总体存活率下降呈独立相关。在我们检测的附加基因突变中, 与MDS相关的附加基因在CML患者不同分组中突变阳性率有所不同, 不耐受组的突变基因数明显高于耐药组, 且CUX1、GATA2与KIT在不耐受组中突变阳性率均升高, 而BCR-ABL KD突变阳性率则低于耐药组(34.6%对26.7%), 表明BCR-ABL1 KD的获得性突变在TKI耐药中起主要作用, 但MDS相关附加基因突变则主要影响了患者对TKI不耐受性。

在小鼠模型中, 通过敲除CUX1基因成功使小鼠发展成为MDS, 且呈现基因剂量依赖的状态<sup>[8]</sup>。在人CD34<sup>+</sup>细胞中证实了CUX1通过PI3K/AKT信号通路维持造血干细胞(HSC)静止的作用, 敲除CUX1基因会促进PI3K信号传导, 诱导HSC从静止期进入增殖期, 进而促进HSC衰竭<sup>[8]</sup>。本研究发现, CUX1基因突变主要以错义和移码突变(p.P1271fs)的形式存在, 根据InterPro数据库的预测, CUX1基因翻译出来的蛋白质中, 第1256至1313位氨基酸肽段有许多DNA结合位点, 而本研究患者队列中CUX1基因出现的移码突变导致第1271位氨基酸开始发生改变, 有可能使该蛋白原本存在的DNA结合位点产生变化, 从而导致功能异常。

本研究亦发现携带Kit基因突变的CML患者大多对一、二代TKI产生不耐受现象。Kit是一个原癌基因, C-Kit阳

表3 ABL1 KD突变阳性及阴性组与ABL1 KD相关附加基因突变情况比较[例(%)]

组别	例数	ASXL1	SH2B3	RUNX1	Kit	FAT1	TET2
ABL1 KD突变阳性组	25	9(36.0)	3(12.0)	6(24.0)	0(0)	8(32.0)	6(24.0)
ABL1 KD突变阴性组	59	9(15.2)	0(0)	6(10.2)	7(11.9)	14(23.7)	9(15.2)
$\chi^2$ 值		4.489	7.342	2.743	3.236	0.621	0.916
P值		0.036	0.024	0.097	0.075	0.298	0.255

性经常作为从白血病小鼠中分离出的长期造血干细胞(LT-HSC; Lin<sup>-</sup>SCA-1<sup>+</sup>c-Kit<sup>+</sup>CD48<sup>-</sup>CD150<sup>+</sup>)的一种表型<sup>[9-10]</sup>。本研究中,有5例患者携带了Kit基因突变,其中3例曾用达沙替尼治疗,均对其不耐受,因出现血小板减少而反复减量甚至停药,进而出现治疗失败,其中2例患者疾病进展为急变期。因此引起我们的思考,即便对患者进行了靶向基因突变的治疗却仍然达不到理想的治疗效果,而且均是由对达沙替尼产生不耐受性导致的,Kit基因突变是否与对达沙替尼不耐受有关,值得进一步研究。

除此之外,GATA2基因突变率也在TKI不耐受患者中增高。先前的报道表明,GATA2单倍体导致了血细胞减少和免疫缺陷<sup>[11-12]</sup>。这一观点与在GATA2单倍功能不全和条件性GATA2失活的小鼠模型中观察到HSC增殖减少、凋亡增强的现象相一致<sup>[13]</sup>。相反,GATA2的过表达抑制了HSC的输出和红系分化<sup>[14]</sup>,表明无论GATA2的表达是降低还是升高均会对HSC的增殖与分化有影响。

在本研究中发现的三个与TKI不耐受性密切相关的基因(CUX1、GATA2、Kit)中,有两个均属于转录因子基因(CUX1、GATA2),且在检测出的69个体细胞突变进行基因功能分析后,发现在TKI不耐受的患者中转录因子基因突变数量比TKI耐药患者多( $P=0.016$ )。单个HSC发育走向失调会导致白血病等恶性肿瘤的发生,转录因子在调节这些节点中起着关键作用,Hamey等<sup>[15]</sup>通过单细胞测序描绘了小鼠的LT-HSC至各系祖细胞发育过程中的遗传学图谱,模拟出其中的转录调控网络,证实了GATA2对多个关键因子进行转录调控。本研究亦发现转录因子基因突变在TKI不耐受患者中更为常见,我们推测,转录因子基因突变可能与TKI不耐受有关。

本研究发现ABL1 KD突变对CML患者TKI耐药起主导影响,而CUX1、KIT与GATA2突变及转录因子基因突变则在TKI不耐受中起着重要作用。基因组风险评估可使临床诊断风险分层更精细,在TKI治疗时代能够更准确地早期识别对TKI耐药或不耐受的患者。

### 参考文献

- [1] Branford S, Kim DDH, Apperley JF, et al. Laying the foundation for genomically- based risk assessment in chronic myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2019, 33(8): 1835-1850. DOI:10.1038/s41375-019-0512-y.
- [2] 黄晓军,胡建达,李建勇,等. 达沙替尼对中国慢性髓性白血病伊马替尼耐药或不耐受患者疗效及安全性研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(11): 889-895. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.11.001.
- [3] 于露,秦亚溱,赖悦云,等. 慢性髓性白血病患者服用酪氨酸激酶抑制剂期间发生的严重血液学不良反应及其对治疗反应的影响[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(4): 281-287. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.04.004.
- [4] Apperley JF, Cortes JE, Kim DW, et al. Dasatinib in the treatment of chronic myeloid leukemia in accelerated phase after imatinib failure: the START a trial[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(21):3472-3479. DOI: 10.1200/JCO.2007.14.3339.
- [5] Branford S, Wang P, Yeung DT, et al. Integrative genomic analysis reveals cancer-associated mutations at diagnosis of CML in patients with high-risk disease[J]. *Blood*, 2018, 132(9):948-961. DOI: 10.1182/blood-2018-02-832253.
- [6] Schmidt M, Rinke J, Schäfer V, et al. Molecular-defined clonal evolution in patients with chronic myeloid leukemia independent of the BCR-ABL status[J]. *Leukemia*, 2014, 28(12):2292-2299. DOI: 10.1038/leu.2014.272.
- [7] Bejar R, Stevenson KE, Caughey B, et al. Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(25):2691-2698. DOI: 10.1200/JCO.2013.52.3381.
- [8] An N, Khan S, Imgruet MK, et al. Gene dosage effect of CUX1 in a murine model disrupts HSC homeostasis and controls the severity and mortality of MDS[J]. *Blood*, 2018, 131(24):2682-2697. DOI: 10.1182/blood-2017-10-810028.
- [9] Baquero P, Dawson A, Mukhopadhyay A, et al. Targeting quiescent leukemic stem cells using second generation autophagy inhibitors[J]. *Leukemia*, 2019, 33(4):981-994. DOI: 10.1038/s41375-018-0252-4.
- [10] Park CS, Lewis AH, Chen TJ, et al. A KLF4-DYRK2-mediated pathway regulating self-renewal in CML stem cells[J]. *Blood*, 2019, 134(22):1960-1972. DOI: 10.1182/blood.2018875922.
- [11] Alfayez M, Wang SA, Bannon SA, et al. Myeloid malignancies with somatic GATA2 mutations can be associated with an immunodeficiency phenotype[J]. *Leuk Lymphoma*, 2019, 60(8): 2025-2033. DOI: 10.1080/10428194.2018.1551535.
- [12] Hsu AP, Johnson KD, Falcone EL, et al. GATA2 haploinsufficiency caused by mutations in a conserved intronic element leads to MonoMAC syndrome[J]. *Blood*, 2013, 121(19):3830-3837, S1-7. DOI: 10.1182/blood-2012-08-452763.
- [13] Menendez-Gonzalez JB, Vukovic M, Abdelfattah A, et al. Gata2 as a Crucial Regulator of Stem Cells in Adult Hematopoiesis and Acute Myeloid Leukemia[J]. *Stem Cell Reports*, 2019, 13(2):291-306. DOI: 10.1016/j.stemcr.2019.07.005.
- [14] Mehta C, Johnson KD, Gao X, et al. Integrating Enhancer Mechanisms to Establish a Hierarchical Blood Development Program[J]. *Cell Rep*, 2017, 20(12):2966-2979. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.08.090.
- [15] Hamey FK, Nestorowa S, Kinston SJ, et al. Reconstructing blood stem cell regulatory network models from single-cell molecular profiles[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(23):5822-5829. DOI: 10.1073/pnas.1610609114.

(收稿日期:2020-04-03)

(本文编辑:王叶青)