

克隆造血与获得性再生障碍性贫血因果论

王婷 付蓉

天津医科大学总医院 300052

通信作者:付蓉, Email: florai@vip.sina.com

基金项目:国家自然科学基金(81770110、81600093、81600088、81870101、81800120、81800119、81700117、81770118);天津市自然科学基金(18JCYBJC27200、18JCYBJC91700、18ZXDBSY00140)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.11.017

Interactions between clonality and aplastic anemia

Wang Ting, Fu Rong

Department of Hematology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Fu Rong, Email: florai@vip.sina.com

获得性再生障碍性贫血(AA)是典型的骨髓造血衰竭,表现为外周全血细胞减少、骨髓造血干细胞及前体细胞耗竭。随着对AA研究的深入,如阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)克隆的出现、AA向骨髓增生异常综合征(MDS)/急性髓系白血病(AML)的转化、AA染色体异常核型及AA体细胞突变的出现,AA克隆造血受到了极大的关注。

克隆造血是体细胞突变后已形成寡克隆造血,但尚未达到诊断任何一种恶性造血系统疾病的一个特殊阶段。克隆造血具有普遍存在于正常人群、随年龄增长发生率增高和恶性血液病前期的特点^[1]。

但是由于AA自身的疾病特性,发病初期有核细胞显著减少,过去AA的克隆造血都是在AA治疗有效血细胞恢复后被发现的。这不由得使人怀疑:AA克隆造血是否与治疗相关?近年来,随着基因组学技术的发展,使AA在治疗前进行基因检测成为可能,研究发现很多AA患者具特殊的遗传背景。这使得AA发病与克隆造血的关系愈发复杂,本文将就二者可能的因果关系以及AA克隆造血检测的临床意义综述如下。

一、AA克隆造血的原因,AA克隆造血与治疗是否相关?

1. 怀疑AA克隆造血与治疗相关的理论背景

回顾国内外AA临床治疗指南,不难发现AA经典的治疗方案仍以免疫抑制治疗(IST)、造血干细胞移植(HSCT)为基础。这两种方案中均涉及了敏感的免疫抑制剂、造血干细胞预处理方案及促造血药物的使用。其他药物还包括阿伦单抗、雷帕霉素、霉酚酸酯、环磷酰胺等^[2-3]。HSCT预处理用药主要为阿伦单抗、抗胸腺/淋巴细胞球蛋白(ATG/ALG)、环磷酰胺、氟达拉滨^[3]。HSCT预防移植体抗宿主病(GVHD)药物主要为他克莫司、环孢素A(CsA)、甲氨蝶呤、肾上腺糖皮质激素、霉酚酸酯等^[4]。

从免疫学角度分析恶性肿瘤的产生主要为三个环节,免疫监视环节、免疫制衡环节、免疫逃逸环节^[5]。免疫监视环节是活化的免疫细胞仍监视并防止正常细胞发生克隆转变,一旦出现立即清除;当克隆转变逃过这一环节,便到达免疫细胞与克隆细胞的共存环节——免疫制衡;最后免疫逃逸阶段,寡克隆细胞利用自身增殖优势大规模扩增、产生临床症状,实体瘤还可发生转移等。严格意义的克隆造血属于突破第一道免疫监视防线后的第二环节,进入或即将进入第三环节。有证据显示免疫抑制剂可降低机体免疫监视功能,促进肿瘤发生。

CsA与他克莫司是AA治疗方案中的常用药物,二者属于钙调磷酸酶抑制剂类免疫抑制剂。可通过干扰IL-2产生抑制T细胞活化和增殖,损伤免疫监视功能,还可促进VEGF和TGF- β 1生成,具有促进肿瘤血管生成、提升肿瘤侵袭及转移能力的功能。同时上述免疫抑制剂的使用增加了病原微生物感染的风险,如EBV、HHV-8、HPV,且病毒相关产物IL-1、IL-6产生明显增加,这明显增加了病毒相关肿瘤的风险^[5-6]。

移植预处理方案对体细胞突变有显著影响。文献指出非T细胞清除性预处理方案对肿瘤的发生无显著影响,但T细胞清除性预处理方案,如阿伦单抗、ATG、muronomab-CD3则明显增加移植后肿瘤的发生率。ATG使用相关黑色素瘤风险明显增加^[7]。

综上,怀疑AA治疗导致克隆造血是有一定理论依据的。但AA治疗与克隆造血是否真的相关?

2. 现有资料显示的AA治疗与克隆造血的相关性分析

(1)雄激素治疗与AA克隆造血本底:1990年法国学者随访了单用雄激素治疗的156例AA患者,发现在5~13年随访过程中:PNH的发生率为1.3%,急性白血病的发生率为3.2%,淋巴瘤的发生率为0.65%。完成20年随访时,PNH发生率为8.3%,其中6.4%为有症状的PNH(当时对PNH的诊

断还局限于Ham's实验)。这一结果基本可以作为AA患者克隆演变发生率的本底(无免疫抑制剂和造血因子的干扰)^[8]。

(2)免疫抑制治疗与克隆造血:Frickhofen等^[9]选取60例重型AA(SAA)及24例非重型AA(NSAA)患者,应用马ATG联合甲泼尼龙加或不加CsA治疗AA患者,随访11年,发现CsA组患者PNH发生率为10%,MDS/AML发生率为8%,实体瘤发生率为11%;与未加CsA组差异无统计学意义,且与之前报道的克隆改变发生率无显著差异。因此认为CsA及ATG+CsA+甲泼尼龙+G-CSF联合治疗的4联方案对AA克隆演变无明确影响。

此外美国南加州维克森林大学血液科针对30例AA患者的研究发现,治疗前50%以上患者存在染色体改变,经过IST或HSCT联合促造血治疗后,仅有不到20%的患者存在染色体异常^[10]。

欧洲AA协作组随访了468例接受ATG联合CsA治疗AA患者,对其中生存时间>2年的233例患者进行长期随访,PNH克隆发生率为8.2%,MDS/AML发生率为13.7%^[11]。Führer等^[12-13]随访了213例儿童AA患者,随访4年MDS/AML发生率为3.5%,随访8年染色体-7及+8的总发生率为9.5%。克隆演变的发生率似乎与随访时间相关性更大。

(3)HSCT与AA克隆造血:韩国单中心研究发现虽然晚期克隆性变在IST组(5.4%,4/74)高于HSCT组(0,0/22),但差异无统计学意义^[14-15]。

(4)促造血治疗与AA克隆造血:Tichelli等^[16]对比了应用和不应用G-CSF的克隆造血发生率,不用G-CSF组PNH发生率为15%,使用组发生率为9%。随访6年,其他恶性肿瘤发生率分别为6%(95%CI 2%~16%)和3%(95%CI 2%~16%),差异无统计学意义。

对血小板受体激动剂艾曲波帕的早期研究指出,中位随访13个月,18.6%患者出现骨髓异常克隆,4.7%出现病态造血,11.6%出现染色体-7,高于既往报道的10年克隆演变发生率的10%~15%^[17-18]。但最新研究否定了上述结论,给予所有AA患者ATG治疗4d,泼尼松预防血清病反应,联合CsA治疗6个月,按照艾曲波帕给药时间不同分为3组,组1:第14天~6个月给药;组2:第14天~3个月给药,组3:第1天~6个月给药。2年随访发现克隆演变的发生率为8%(其中5/7为-7,1/7为复杂核型,2/7患者治疗30个月发生克隆转变),2%的患者发生PNH克隆。这一发生率较以往研究无明显差异,因此艾曲波帕并不增加克隆演变的发生率^[19]。

综上,现有研究显示,目前用于AA治疗的方案中,无论IST、HSCT还是促造血治疗均不增加克隆演变的发生率。

什么才是AA克隆演变发生的关键因素呢?更多的学者认为外因通过内因发挥作用,AA患者应该存在特定的自身因素。

二、遗传背景与AA克隆造血

1. 女性AA患者克隆造血与X染色体灭活偏移相关:对于女性患者,克隆造血与X染色体非随机灭活相关。Busque

等^[20]发现存在X染色体灭活偏移的女性同时具有克隆造血和TET2基因突变发生率增高的特点。Wiedmeier等^[21]利用相同的检测方法——HUMARA(human androgen receptor assay)方法,将女性克隆造血区分为单克隆、多克隆和介于单克隆多克隆之间的中间类型,并发现存在单克隆造血的女性存在X染色体灭活偏移,且ASXL1突变增加。Raghavachar等^[22]和Mortazavi等^[23]在他们的研究中也发现AA克隆造血可能与X染色体灭活异常有关。

2. 端粒异常、胚系突变与AA克隆造血:端粒是真核生物染色体末端的特殊结构,起到稳定和保护染色体的作用。研究发现约1/3的AA患者存在端粒缩短,部分存在TERT、TERC、TINF2等端粒或端粒酶相关基因突变^[24-25]。动物实验也表明除上述基因外,敲除端粒相关基因,如:DKC1、NOP10、NHP2、TPP1等均会导致小鼠AA发病,存在体细胞基因突变或染色体异常的AA患者端粒缩短更为明显^[26]。无论何种原因(环境因素或基因突变)导致端粒缩短都会引发DNA损伤检查点活化,基因不稳定,染色体末端融合发生率增加,染色体异常出现率明显增高,克隆造血或肿瘤产生^[27]。

很多胚系突变性疾病也表现为端粒缩短和类AA的全血细胞减少,包括GATA2谱系障碍,Diamond Blackfan贫血,先天性角化不良症(Dyskeratosis Congenita)、Fanconi贫血、Shwachman-Diamond综合征等,很多患者无特征性的临床表现及家族遗传背景,只有在基因检测时才能发现,需要特别注意与AA相鉴别^[28]。

3. 体细胞突变与AA克隆造血:随着二代基因测序技术的发展,AA体细胞突变的研究取得了突破性进展。近期研究发现AA体细胞突变发生率与年龄呈正相关,发生率从5.3%(该研究检测了MDS/AML最常见的42种基因突变)到72%(包括儿童在内,利用Sanger测序法、SNP-A分析、染色体核型检测及FISH、端粒长度检测、HLA分型等多种技术手段同时检测)不等^[29-30]。其中主要检出的基因突变为PIGA(7.5%~40.9%)、BCOR/BCORL1(4.0%~10.9%)、DNMT3A(2.6%~8.4%)、ASXL1(2.6%~8.0%)^[30-31],这几种突变基本覆盖了AA体细胞突变基因的77%,突变形式包括错义突变、无义突变、移码突变、剪切位点突变以及多重突变等^[32]。虽然同为高频基因,但不同基因对疾病的影响不甚相同,PIGA及BCOR/BCORL1基因为抗压型基因,即存在该种基因突变的细胞,在一定的外界压力范围内仍能存活,这类克隆造血常为小且稳定的克隆。也有文献报道,此类小克隆基因突变具有可逆性,尤其是在CD3⁺细胞中^[33]。另一类基因为侵袭性基因,不仅能逃逸免疫攻击,还极具增殖优势,疾病易进展为MDS/AML等恶性病,如DNMT31、ASXL1、RUNX1、TP53、CSMD2等^[34]。

细胞遗传学SNP核型分析显示,6p单亲二体^[35]、-7/7q-、+6、+8、+15、13q-最为常见^[34]。但无论哪种类型的体细胞突变,单一细胞突变并不是克隆造血及MDS/AML转化的独立危险因素^[32]。

4. 造血微环境与AA克隆造血:骨髓细胞数量庞大,随

着年龄的增长,有些基因突变随之累积。比如一些在健康人群中也可分离出来的基因,比例极低,但克隆随年龄增长而增加。但突变细胞能否扩增为单克隆细胞群,是高度依赖于外部条件的。例如化疗是典型的干扰骨髓微环境的例子,它可以筛选出对细胞凋亡信号抵抗的如TP53突变克隆^[36]。

在免疫性骨髓衰竭中,一些细胞天然对IST不敏感或耐药,如PIGA突变细胞,以及HLA基因丢失的细胞,会形成克隆积累。克隆造血可能反映了干细胞库的减少,间歇性炎症和并发症,以及毒物暴露等诸多环境因素^[37]。

三、研究AA克隆造血对疾病诊断、治疗及预后的指导意义

1. 克隆造血对AA疾病诊断的价值:AA与低增生MDS的鉴别困扰着血液科医师,长期以来试图通过以细胞遗传学异常及克隆造血区分AA与MDS,但近期的研究结果似乎否定了这个做法。尽管细胞遗传学异常在AA患者的发生率明显低于MDS患者,且MDS存在一些特征性基因,但很多突变的基因与正常人群克隆造血及MDS基因突变存在交集。因此不能单纯以是否存在基因突变作为区分AA与MDS的金标准,需要联合其他指标共同诊断。

2. 克隆造血对AA预后的影响:不同克隆造血对AA预后影响不同。存在PNH克隆的AA患者对IST的治疗反应明显优于无PNH克隆者,3个月及6个月治疗有效率同样高于无PNH克隆者,治疗总反应率分别为69%~94%、32%~65%^[38]。

端粒检测可以预估AA患者治疗有效率,虽然目前并没有研究显示AA患者端粒缩短的细胞来源于同一克隆群体,但外周血细胞端粒长度越短的AA患者对IST反应越差,端粒长度<5.9 kb的患者治疗有效率(CR+PR)仅有40%,而端粒长度≥5.9 kb的患者治疗有效率可达80%以上。如果将AA分为有PNH克隆且端粒正常组及无PNH克隆且端粒缩短组,则前组具有明显治疗反应优势,10年无事件生存率及无移植存活率明显高于后组。还有文献报道端粒长度恢复组AA治疗效果明显优于端粒长度不能恢复组^[38]。

Yoshizato等^[32]将AA体细胞突变分为“预后良好型”基因突变及“预后不良型”型基因突变。存在PIGA、BCOR或BCORL1等“预后良好型”基因突变的AA患者无论从对IST的治疗反应率还是总生存率均明显高于无基因突变者,更高于“预后不良型”基因(DNMT3A、ASXL1、TP53、RUNX1、CSMD1)突变者。“预后良好型”基因突变随治疗时间延长呈克隆稳定或减少趋势,而“预后不良型”型基因突变随治疗时间延长克隆呈增长趋势,一旦AA患者出现二次克隆突变,其向MDS/AML转化的概率明显增加。

因此定期监测AA患者的PNH克隆、端粒长度变化、其他体细胞突变及克隆造血进展状况对预估疾病预后具有重要价值。一旦发现AA合并胚细胞突变,或“预后不良型”基因突变,或小克隆有增大趋势,或出现二次突变,提示预后不佳,应尽早选择HSCT治疗。

Genovese等^[39]研究发现即使在正常人群,合并克隆造血

可使血液系统肿瘤的发生率增加13倍,全因死亡率增加1.4倍,冠心病发生率增加1.9倍,早期心肌缺血的发生率增加4倍。相关研究^[40]发现很多40岁以下人群罕见,但老年人常见的与MDS/AML发病密切相关的基因突变,如DNMT3A、TET2和ASXL1等造成的克隆造血是独立于吸烟、高胆固醇和高密度脂蛋白增高等危险因素之外的造成动脉粥样硬化的独立危险因素。虽然尚无文献报道存在克隆改变的AA患者心脑血管疾病发生率是否明显增高,但对于老年且存在上述基因突变的AA患者,除了应警惕其向MDS/AML转化外,还应防范心脑血管意外等突发事件。

参考文献

- [1] Jan M, Ebert BL, Jaiswal S. Clonal hematopoiesis [J]. *Semin Hematol*, 2017, 54(1): 43-50. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2016.10.002.
- [2] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 再生障碍性贫血诊断与治疗中国专家共识(2017年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2017, 38(1): 1-5. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2017.01.001.
- [3] Killick SB, Bown N, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia [J]. *Br J Haematol*, 2016, 172(2):187-207. DOI: 10.1111/bjh.13853.
- [4] Gadalla SM, Wang T, Haagensohn M, et al. Association between donor leukocyte telomere length and survival after unrelated allogeneic hematopoietic cell transplantation for severe aplastic anemia [J]. *JAMA*, 2015, 313(6):594-602. DOI: 10.1001/jama.2015.7.
- [5] Campistol JM, Cuervas-Mons V, Manito N, et al. New concepts and best practices for management of pre- and post-transplantation cancer [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2012, 26(4):261-279. DOI: 10.1016/j.tre.2012.07.001.
- [6] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting [J]. *Immunity*, 2004, 21(2):137-148. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.017.
- [7] Coghill AE, Johnson LG, Berg D, et al. Immunosuppressive Medications and Squamous Cell Skin Carcinoma: Nested Case-Control Study Within the Skin Cancer after Organ Transplant (SCOT) Cohort [J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(2):565-573. DOI: 10.1111/ajt.13596.
- [8] Najean Y, Haguenaer O. Long-term (5 to 20 years) Evolution of nongrafted aplastic anemias. The Cooperative Group for the Study of Aplastic and Refractory Anemias [J]. *Blood*, 1990, 76(11):2222-2228.
- [9] Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, et al. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia [J]. *Blood*, 2003, 101(4):1236-1242. DOI: 10.1182/blood-2002-04-1134.
- [10] Keung YK, Pettenati MJ, Cruz JM, et al. Bone marrow cytogenetic abnormalities of aplastic anemia [J]. *Am J Hematol*, 2001, 66(3):167-171.
- [11] de Planque MM, Bacigalupo A, Würsch A, et al. Long-term follow-up of severe aplastic anaemia patients treated with antithymocyte globulin. Severe Aplastic Anaemia Working Party of the European Cooperative Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT)[J]. *Br J Haematol*, 1989, 73(1):121-126.

- [12] Führer M, Burdach S, Ebell W, et al. Relapse and clonal disease in children with aplastic anemia (AA) after immunosuppressive therapy (IST): the SAA 94 experience. German/Austrian Pediatric Aplastic Anemia Working Group[J]. *Klin Padiatr*, 1998, 210 (4):173-179. DOI: 10.1055/s-2008-1043875.
- [13] Führer M, Rampf U, Baumann I, et al. Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predicts better survival[J]. *Blood*, 2005, 106(6):2102-2104. DOI: 10.1182/blood-2005-03-0874.
- [14] Kim I, Yoon SS, Park S, et al. The treatment of severe aplastic anemia: outcomes of bone marrow transplantation and immunosuppressive therapy in a single institution of Korea[J]. *J Korean Med Sci*, 2003, 18 (3):365-371. DOI: 10.3346/jkms.2003.18.3.365.
- [15] Ahn MJ, Choi JH, Lee YY, et al. Outcome of adult severe or very severe aplastic anemia treated with immunosuppressive therapy compared with bone marrow transplantation: multicenter trial[J]. *Int J Hematol*, 2003, 78(2):133-138.
- [16] Tichelli A, Schrezenmeier H, Socié G, et al. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation[J]. *Blood*, 2011, 117(17):4434-4441. DOI: 10.1182/blood-2010-08-304071.
- [17] Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, et al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug [J]. *Blood*, 2014, 123(12):1818-1825. DOI: 10.1182/blood-2013-10-534743.
- [18] Desmond R, Townsley DM, Dunbar C, et al. Eltrombopag in aplastic anemia [J]. *Semin Hematol*, 2015, 52(1):31-37. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2014.10.002.
- [19] Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, et al. Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(16):1540-1550. DOI: 10.1056/NEJMoa1613878.
- [20] Busque L, Patel JP, Figueroa ME, et al. Recurrent somatic TET2 mutations in normal elderly individuals with clonal hematopoiesis [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(11):1179-1181. DOI: 10.1038/ng.2413.
- [21] Wiedmeier JE, Kato C, Zhang Z, et al. Clonal hematopoiesis as determined by the HUMARA assay is a marker for acquired mutations in epigenetic regulators in older women [J]. *Exp Hematol*, 2016, 44(9): 857-865.e5. DOI: 10.1016/j.exphem.2016.05.009.
- [22] Raghavachar A, Janssen JW, Schrezenmeier H, et al. Clonal hematopoiesis as defined by polymorphic X-linked loci occurs infrequently in aplastic anemia [J]. *Blood*, 1995, 86(8):2938-2947.
- [23] Mortazavi Y, Chopra R, Gordon-Smith EC, et al. Clonal patterns of X-chromosome inactivation in female patients with aplastic anaemia studies using a novel reverse transcription polymerase chain reaction method [J]. *Eur J Haematol*, 2000, 64(6):385-395.
- [24] Ball SE, Gibson FM, Rizzo S, et al. Progressive telomere shortening in aplastic anemia [J]. *Blood*, 1998, 91(10):3582-3592.
- [25] Keel SB, Scott A, Sanchez-Bonilla M, et al. Genetic features of myelodysplastic syndrome and aplastic anemia in pediatric and young adult patients [J]. *Haematologica*, 2016, 101(11):1343-1350. DOI: 10.3324/haematol.2016.149476.
- [26] Calado RT, Cooper JN, Padilla-Nash HM, et al. Short telomeres result in chromosomal instability in hematopoietic cells and precede malignant evolution in human aplastic anemia [J]. *Leukemia*, 2012, 26(4):700-707. DOI: 10.1038/leu.2011.272.
- [27] Murnane JP. Telomere dysfunction and chromosome instability [J]. *Mutat Res*, 2012, 730(1-2):28-36. DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.04.008.
- [28] Bluteau O, Sebert M, Leblanc T, et al. A landscape of germ line mutations in a cohort of inherited bone marrow failure patients [J]. *Blood*, 2018, 131(7):717-732. DOI: 10.1182/blood-2017-09-806489.
- [29] Heuser M, Schlarman C, Dobbernack V, et al. Genetic characterization of acquired aplastic anemia by targeted sequencing [J]. *Haematologica*, 2014, 99(9):e165-167. DOI: 10.3324/haematol.2013.101642.
- [30] Babushok DV, Perdignes N, Perin JC, et al. Emergence of clonal hematopoiesis in the majority of patients with acquired aplastic anemia [J]. *Cancer Genet*, 2015, 208(4):115-128. DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.01.007.
- [31] Kulasekararaj AG, Jiang J, Smith AE, et al. Somatic mutations identify a subgroup of aplastic anemia patients who progress to myelodysplastic syndrome [J]. *Blood*, 2014, 124(17):2698-2704. DOI: 10.1182/blood-2014-05-574889.
- [32] 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. DOI: 10.1056/NEJMoa1414799.
- [33] Lane AA, Odejide O, Kopp N, et al. Low frequency clonal mutations recoverable by deep sequencing in patients with aplastic anemia [J]. *Leukemia*, 2013, 27(4):968-971. DOI: 10.1038/leu.2013.30.
- [34] Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia [J]. *Blood*, 2016, 128(3):337-347. DOI: 10.1182/blood-2016-01-636381.
- [35] Zaimoku Y, Takamatsu H, Hosomichi K, et al. Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia [J]. *Blood*, 2017, 129(21):2908-2916. DOI: 10.1182/blood-2016-11-752378.
- [36] Gillis NK, Ball M, Zhang Q, et al. Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(1):112-121. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30627-1.
- [37] Cooper JN, Young NS. Clonality in context: hematopoietic clones in their marrow environment [J]. *Blood*, 2017, 130(22):2363-2372. DOI: 10.1182/blood-2017-07-794362.
- [38] Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia [J]. *Haematologica*, 2015, 100(12):1546-1552. DOI: 10.3324/haematol.2015.132530.
- [39] Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(26):2477-2487. DOI: 10.1056/NEJMoa1409405.
- [40] Natarajan P, Jaiswal S, Kathiresan S. Clonal Hematopoiesis: Somatic Mutations in Blood Cells and Atherosclerosis [J]. *Circ Genom Precis Med*, 2018, 11(7):e001926. DOI: 10.1161/CIRCGEN.118.001926.

(收稿日期:2019-03-01)

(本文编辑:刘爽)