

骨髓增生异常综合征的克隆演变

罗冰清 董芳 依马秀夫

中国医学科学院、北京协和医学院血液病医院(血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液病临床医学研究中心,天津 300020

通信作者:依马秀夫,Email:hema@ihcams.ac.cn

基金项目:国家自然科学基金(81970119、81670105、81890990、81670106、81421002);中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2016-I2M-1-017、2017-I2M-1-015)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.12.021

Clonal evolution of myelodysplastic syndrome

Luo Bingqing, Dong Fang, Ema Hideo

State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Hematological disorders, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Ema Hideo, Email: hema@ihcams.ac.cn

骨髓增生异常综合征(MDS)是一种异质性、恶性克隆性造血疾病,主要表现为外周血细胞减少、骨髓造血功能低下、单系或多系骨髓发育不良,并有向急性髓系白血病(AML)进展的风险。随着二代测序的普及,越来越多大样本全基因和靶向深度测序的相关研究证实MDS通常由多步骤的基因突变驱动,并涉及RNA剪接、表观遗传调控、髓系转录协调、DNA损伤和应激反应以及信号传导多种功能^[1-5]。突变基因可以在克隆演变结构中具有高度固定的位置,并呈现出特定的组合形式和排他性模式^[6]。在临床上,原因不明克隆性造血(CHIP)、MDS和继发性AML(sAML)之间有着密切的联系,CHIP可以进展为MDS,MDS再进展为AML。因此,了解突变基因的层次结构有助于理解疾病进展的机制。本综述总结了MDS的主要突变基因,讨论MDS发生和演变伴随的克隆改变,拟从克隆演化角度为MDS的临床过程、预后和治疗给予启示。

一、MDS中的主要突变基因

1. RNA剪接子家族(SF3B1、U2AF1):SF3B1编码剪接子复合体的一个亚基,能识别内含子-外显子连接处的3'端剪接位点。SF3B1突变见于70%~85%的MDS伴环状铁粒幼红细胞(MDS-RS)患者与6%~18%的其他亚型MDS患者中^[7]。SF3B1突变使线粒体铁蛋白在红细胞的线粒体中积累,引起特征性环状铁质的积累,从而导致无效红细胞生成和贫血。Mortera-Blanco等^[8]通过对MDS-RS患者各系细胞进行基因测序发现所有突变均可在造血干细胞(HSC, Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD90⁺CD45RA⁻)中检测到;将MDS-RS患者中有SF3B1突变的HSC移植到小鼠中能再次检测到人环状铁粒幼红细胞,证明SF3B1突变起源于HSC,并能在分化

的细胞中持续存在。早期的实验研究认为SF3B1突变不累及淋巴细胞,但该研究表明SF3B1突变累及早期B祖细胞(CD34⁺CD19⁺),却不累及成熟B细胞及T细胞,这可能是由于SF3B1突变抑制了向淋巴细胞的继续分化。在小鼠模型中,SF3B1^{K700E}过表达引起长周期HSC(long-term HSC)造血重建能力下降、终末红细胞成熟缺陷及红细胞发育不良,导致大细胞性贫血^[9]。临床资料显示MDS患者仅存在SF3B1突变时,疾病进展缓慢,生存期相对延长^[2]。SF3B1突变患者对药物治疗反应良好^[5]。

U2AF1编码U2辅助因子的小亚基,通过直接介导大亚基与增强子结合的蛋白质之间的相互作用,发挥RNA剪接功能。其突变引起广泛的RNA剪接异常,导致未剪接内含子序列的转录本升高、细胞增殖率降低。Li等^[4]研究显示17%的MDS患者伴U2AF1突变,以U2AF1^{S34}突变最常见。该突变在年轻患者中更常见,并且71%为首发突变;ASXL1和U2AF1共突变非常常见,但复杂核型及TP53、SF3B1突变一般不与U2AF1突变同时发生;携带U2AF1^{S34}突变的患者更可能会出现血小板水平下降(PLT < 5 × 10⁹/L),而携带U2AF1^{Q157}/U2AF1^{R156}突变的患者更易于出现血红蛋白水平下降(HGB < 80 g/L)并且更可能发生明显的纤维化。U2AF1突变对预后的影响尚未明确,但对药物治疗反应差^[5]。

RNA剪接子家族点突变是MDS中最常见的突变形式,有明显的互斥特征,即来自剪接子家族的突变很少同时发生。这种相互排他性反映了细胞对严重的剪接体功能障碍的不耐受,提示调节剪接体功能可成为治疗靶点^[10]。

2. 表观修饰基因(TET2、DNMT3A):TET2是TET家族成员之一,其编码蛋白通过催化5-甲基胞嘧啶转化为5-羟甲

胞嘧啶发挥去甲基化作用。TET2突变在CHIP、意义未明的克隆性血细胞减少症(CCUS)、骨髓增殖性肿瘤(MPN)、MDS和AML等一系列髓系肿瘤中被发现。20%~30%的MDS患者存在TET2突变。TET2突变虽然常见,但其对预后的影响却仍存在争议。Bejar等^[11]研究表明,TET2突变对MDS患者总生存(OS)率无影响,也有文献报道TET2的突变是预后不良因素^[3]。近期,Hirsch等^[3]通过全基因组测序和深度靶向测序发现,TET2突变大多伴随其他突变,在MDS中,伴随突变频率最高的为另一种TET2突变形式,后续依次为ASXL1、SF3B1和SRSF2。在临床症状方面,只有TET2突变的患者倾向于出现血小板减少,当出现U2AF1突变后,患者发生贫血的概率随之增加。TET2伴随SRSF2、KRAS的突变与红细胞减少和白细胞减少密切相关。MDS的造血特征为红系祖细胞的扩增和分化障碍以及晚期红细胞的凋亡。最新研究发现,shRNA敲除TET2后,通过c-Kit和酪氨酸激酶的上调,红系祖细胞(CFU-E)选择性克隆增殖。这些扩增的CFU-E细胞虽然和正常CFU-E的细胞表型相同,均缺乏GPA的表达,但相较于正常CFU-E,它的增殖不仅需要EPO,还需要SCF因子,显示出该类细胞分化能力受损。这种CFU-E细胞克隆性增生和分化障碍的特点与MDS一致,揭示TET2突变在MDS无效造血中的重要作用^[12]。

DNMT3A编辑甲基转移酶,在DNA的胞嘧啶磷酸鸟嘌呤(CpG)中催化甲基基团向胞嘧啶转移,是有效维持活性染色体区域甲基化的重要基因。DNMT3A^{R882H}是最常见的突变形式。Lu等^[13]发现DNMT3A^{R882H}和NRAS^{G12D}共突变可引起小鼠造血干细胞(HSPC)自我更新能力的异常提高,并可导致小鼠发生AML。DNMT3A突变发生在10%的MDS和30%~35%的正常核型AML患者中^[14-15]。该突变多在疾病诊断时即可检测到,并在疾病进展中持续稳定存在,而不是在疾病进展过程中获得,因而被认为是引发疾病的驱动基因。相较于DNMT3A野生型患者,DNMT3A突变的患者在诊断时血小板水平更高;该突变与MDS难治性贫血伴环状铁粒幼红细胞(RARS)亚型高度相关,在此亚型中突变频率最高(18.8%),在难治性贫血(RA)亚型中突变频率最低(2.3%)。携带该突变的MDS患者OS时间短,白血病转化风险高,是一个独立的预后不良因素^[16]。

DNMT3A维持DNA甲基化而TET2发挥去甲基化作用,虽然两者生物功能相反,但在MDS中,两者常共同突变。小鼠模型中,DNMT3A和TET2的单独敲除有相似的表型,而共同缺失会加速恶性肿瘤的发展^[17]。

3. 翻译后染色质修饰(ASXL1、EZH2): ASXL1编码去泛素酶复合物的调控亚基,催化亚基为BAP1。通过染色质重构参与发育相关基因的激活和沉默的维持。ASXL1^{c.1934dupG}是最常见的突变形式,导致ASXL1蛋白C端截短。该突变在MDS、AML、MPN和MDS/MPN中均可检测到,并常与TET2、EZH2、IDH2、RUNX1、NRAS、DNMT3A等突变同时

发生^[18]。关于其截短突变在MDS中的生理效应尚存在争议,有研究认为ASXL1突变导致基因功能丧失^[19],也有研究认为这是一种功能获得性突变^[20]。这些争议可能是由于不同的动物基因工程方法导致。Inoue等^[20]通过逆转录病毒载体构建,在小鼠中过表达ASXL1^{c.1934dupG},产生出MDS样疾病表型。Hsu等^[21]在一条等位基因中敲入ASXL1^{c.1934dupG}突变基因,首次构建出ASXL1^{c.1934dupG}突变基因小鼠模型。该“生理剂量”基因敲入模型更接近于人体ASXL1突变形式。ASXL1tm细胞在体外增殖能力提高,长期造血重建能力下降,但该模型未能引发MDS。在MDS向AML转化的患者中,ASXL1与OS呈现负相关^[22-23]。

EZH2是一种甲基转移酶,参与组蛋白第27位赖氨酸的甲基化,与转录抑制有关。Shirahata-Adachi等^[24]通过检测MDS患者中EZH2的突变形式,发现EZH2的移码突变主要发生在功能性结构域SET的5'端,导致EZH2编码蛋白缺乏SET结构域,从而参与MDS的发病。EZH2常与TET2突变共存,多在高风险MDS(high-risk MDS)中检测到,有易向sAML进展的风险,但在原发性白血病(*de novo* AML)中几乎检测不到。约5%的MDS患者发生该突变,其缺失促进了小鼠模型MDS的发展^[25]。该突变提示着较短的OS时间^[23]。

EZH2、ASXL1和BCOR的突变均导致包括HOXA在内的几个重要造血谱系基因的失调,这可能解释了它们在促进MDS发育不良和细胞减少中的作用^[26]。

4. 转录调控(TP53): TP53是所有人类癌症中突变最频繁的抑癌基因,通过增加参与细胞凋亡和细胞周期阻滞的基因表达来介导细胞应激反应。其在MDS中的突变频率约为5%。TP53突变常伴随复杂核型的出现,其突变率在复杂核型MDS(CK-MDS)中约为55%^[27],而很少与其他基因突变同时出现。另外,TP53突变与治疗相关MDS(t-MDS)关系密切,其突变率在t-MDS中约为30%。Wong等^[28]在治疗相关AML(t-AML)/t-MDS患者接受细胞毒性治疗前即能检测到低水平的TP53突变;然后将经化疗处理的TP53^{-/-}HSC与野生型HSC同时移植入小鼠中,发现TP53^{-/-}HSC相对明显扩增。这些提示化疗不能直接诱发TP53突变,但能选择性促进携带TP53突变的克隆扩增。有研究表明,TP53突变可作为预测去甲基化药物(地西他滨)疗效的指标之一^[29-30]:携带TP53突变较无TP53突变的MDS患者,地西他滨治疗后原始细胞清除率及突变基因清除率更高。但地西他滨临床疗效只短暂存在,对OS并无改善。TP53突变作为MDS的一个独立的预后不良指标,与骨髓中高原始细胞数、低血小板水平等临床症状密切相关,预示复发及向sAML转化的风险高^[29-31]。

二、MDS的年龄相关性及其从CHIP到MDS

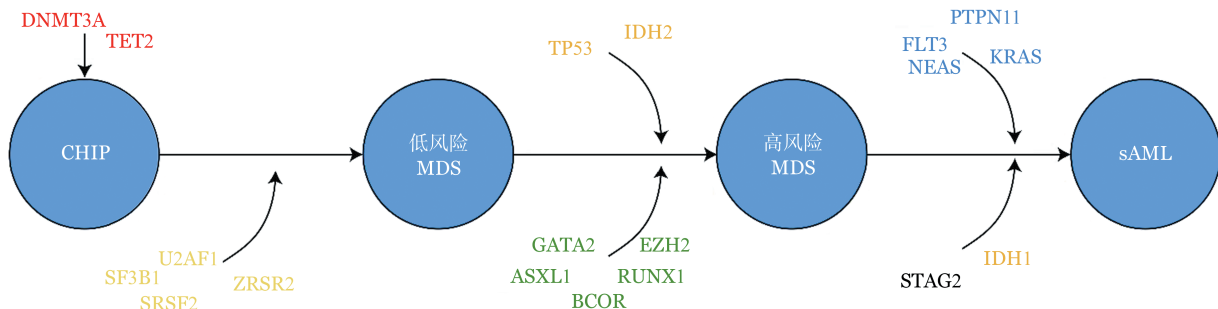
在成人中,高龄是MDS发病的主要危险因素,其中位发病年龄为71~76岁。随着年龄增长,越来越多的突变基因可在正常人群中检测到。在70岁以上的人群中,至少有10%的人群外周血中可检测到经典的髓系恶性肿瘤的驱动

突变基因,如DNMT3A、TET2和ASXL1^[32-33]。青年或儿童MDS患者很少见,且不同年龄阶段的MDS患者基因克隆有所不同。年长患者体细胞突变多发生在表观调控相关基因(TET2、DNMT3A)或RNA剪接子基因(SRSF2、SF3B1)上,而年轻患者中GATA2、SBDS等转录调控和生殖系相关基因有较高的突变频率。另外,在MDS和其他克隆性造血中最常见的碱基对改变是C向T转变,而这是与年龄相关的甲基胞苷脱氨的标志。其他与年龄相关的突变过程也存在于MDS中,包括染色体重排、小片段插入和缺失以及端粒进行性缩短^[34]。因此,体细胞突变的年龄依赖性积累被认为是MDS随着年龄增长而发生的基础^[35]。但部分携带这些突变的正常人始终不会发生血液系统恶性肿瘤。这些存在的突变能否克隆性扩增并进入癌前状态尚不确定。这种具有潜在风险的不确定特征被定义为CHIP。其诊断标准为外周血体细胞突变基因的等位基因频率(VAF)至少超过2%,并且没有可诊断为血液恶性肿瘤的证据。DNMT3A、TET2、ASXL1、TP53、PPMID和SF3B1是在CHIP中突变率最高的基因^[36]。Hirsch等^[3]通过对6个大型CHIP相关的队列研究进行Meta分析,发现有9%的“健康人群”可诊断为CHIP,有11%的CHIP人群携带TET2突变;最终通过Meta分析推算出8%的MDS由TET2突变引发,并且这些TET2突变很可能来自CHIP。表观调控基因(DNMT3A、TET2)在CHIP和MDS中均高突变,剪接子相关基因(SF3B1、SRSF2、U2AF1)在早期MDS中突变率高,但在CHIP中却较少见,这可能是由于获得剪接子突变的患者骨髓发育不良进展快,所以在“健康”人群中定义的CHIP低估了这类基因突变的检测。

三、MDS向sAML进展

急性髓系白血病(AML)被分为*de novo* AML、s-AML和t-AML 3类,相对于*de novo* AML,sAML预后更差,复发率更高。SRSF2、SF3B1、U2AF1、ZRSR2、ASXL1、EZH2、BCOR和STAG2突变对sAML的诊断有很高的特异性。约三分之一的MDS患者进展为高风险MDS和sAML。剪接子(SF3B1、SRSF2、U2AF1、ZRSR2)以及表观调控因子(DNMT3A、TET2)的突变发生在MDS的早期。相反,转录

因子(RUNX1、GATA2、CUX1)的突变在MDS的早期或晚期均可发生,NRAS、BCOR、IDH1、STAG2突变发生相对较晚^[1]。Makishima等^[2]发现,MDS患者中不仅存在已报道过的线性演变,还存在克隆清除(指已存在的或新出现的亚克隆“清除”掉一个或多个先前的亚克隆并最终成为优势克隆)。这种克隆演变形式强调了驱动基因突变在MDS中的关键作用。另外,FLT3、PTPN11、WT1、IDH1、NPM1、IDH2和NRAS这7个基因相对于高风险MDS,在sAML中高度富集,因此被认为是高风险MDS向sAML进展的标志。这类基因被定义为I型突变,大部分与信号传导相关,预示着更短的生存时间。与之相对的是II型突变,包括GATA2、NRAS、KRAS、IDH2、TP53、RUNX1、STAG2、ASXL1、ZRSR2和TET2。这些基因与转录和表观调控相关,在低风险MDS中突变负荷较小,却在高风险MDS中高度富集,预示低风险MDS向高风险MDS的进展。值得注意的是,SF3B1突变几乎不与I型和II型突变同时存在,并与疾病进展呈现负相关。DNMT3A和U2AF1突变也不在疾病的某一阶段明显富集,它们很可能是引发MDS的驱动基因,而不是导致MDS进展为sAML的二次突变基因。Lindsley等^[37]发现,在MDS向s-AML的进展过程中,几乎所有新获得的突变均涉及髓系转录因子(RUNX1、CEBPA、GATA2)和信号转导蛋白(FLT3或RAS信号通路),而未涉及剪接子和染色体修饰相关基因。TP53较为特殊,TP53突变的MDS患者在进展为s-AML后并未获得其他突变。尽管MDS驱动突变均可形成优势克隆,但它们并非随机选择。相反,它们也许拥有着严格的克隆演变顺序,最终导致恶性疾病的发生(图1)。近期Chen等^[38]在造血干/祖细胞(HSPC)水平上的研究中却有着不同的观点。通过跟踪7例从MDS进展为AML的患者,该团队分别测序同一患者的前MDS干细胞(Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD45RA⁻CD123⁻IL1RAP⁻)、前AML干细胞(Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD45RA⁻CD123⁻IL1RAP⁻)、MDS干细胞(Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD45RA⁺/CD123⁺/IL1RAP⁺)、AML干细胞(Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD45RA⁺/CD123⁺/IL1RAP⁺)以及MDS和AML的原始细胞,发现MDS向sAML的进展并非简单的



CHIP:原因不明克隆性造血;MDS:骨髓增生异常综合征;sAML:继发性急性髓系白血病。黄色示剪接子家族,绿色示翻译后染色质修饰家族,橙色示转录调控因子,蓝色示信号转导因子,黑色示黏合素家族

图1 CHIP、MDS、sAML疾病发展不同阶段涉及的突变基因示意图

线性进展,而是“平行进展”。首先,正常干细胞在某种驱动突变下变为(前)MDS干细胞,此时受不同的基因突变累积,(前)MDS干细胞要么直接发展为MDS原始细胞,要么演变为(前)AML干细胞,最终变为AML原始细胞。由于样本数量受限及HSC的异质性,不同患者不同疾病阶段的驱动基因不同,尚未发现明显共有的驱动基因。

四、结语

大量基因测序数据的深入分析为MDS的基因分类、CHIP向MDS和MDS向sAML的恶性转化提供了新视角。TET2、SF3B1、ASXL1、DNMT3A、SRSF2和U2AF1是MDS中突变频率最高的几个基因,其各自生物功能、突变频率以及对预后的影响能为病情监测、分级和治疗提供一定的参考。DNMT3A、TET2、ASXL1、TP53和SF3B1在CHIP和MDS早期都有非常高的突变率,提示其很可能是导致MDS发生的关键基因。而转录因子和信号通路基因的突变则是导致MDS向高危MDS和sAML进展的主要因素。MDS主要发生在高龄患者上这一特征提示年龄依赖性基因突变积累对MDS发生的作用。突变基因间的协同和互斥引起不同的突变组合,这些组合形式和基因突变的次序与临床表型、预后及对治疗的反应性有着密切关联。但由于MDS疾病本身的复杂性和连续的测序样本的不足,这些突变基因的累及次序和对预后的影响仍有些许争议,对这些关系的进一步了解将有助于改进预后分期模型、识别最有可能对治疗产生反应的患者以及开发新的靶向治疗药物。

参考文献

- [1] Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2013, 122 (22):3616-3627; quiz 3699. DOI: 10.1182/blood-2013-08-518886.
- [2] Makishima H, Yoshizato T, Yoshida K, et al. Dynamics of clonal evolution in myelodysplastic syndromes [J]. *Nat Genet*, 2017, 49 (2):204-212. DOI: 10.1038/ng.3742.
- [3] Hirsch CM, Nazha A, Kneen K, et al. Consequences of mutant TET2 on clonality and subclonal hierarchy [J]. *Leukemia*, 2018, 32(8):1751-1761. DOI: 10.1038/s41375-018-0150-9.
- [4] Li B, Liu J, Jia Y, et al. Clinical features and biological implications of different U2AF1 mutation types in myelodysplastic syndromes [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2018, 57 (2):80-88. DOI: 10.1002/gcc.22510.
- [5] Idossa D, Lasho TL, Finke CM, et al. Mutations and karyotype predict treatment response in myelodysplastic syndromes [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (11): 1420-1426. DOI: 10.1002/ajh.25267.
- [6] Sperling AS, Gibson CJ, Ebert BL. The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17 (1):5-19. DOI: 10.1038/nrc.2016.112.
- [7] Patnaik MM, Lasho TL, Hodnefield JM, et al. SF3B1 mutations are prevalent in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts but do not hold independent prognostic value [J]. *Blood*, 2012, 119(2):569-572. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377994.
- [8] Mortera-Blanco T, Dimitriou M, Woll PS, et al. SF3B1-initiating mutations in MDS-RSs target lymphomyeloid hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2017, 130 (7):881-890. DOI: 10.1182/blood-2017-03-776070.
- [9] Obeng EA, Chappell RJ, Seiler M, et al. Physiologic Expression of Sf3b1 (K700E) Causes Impaired Erythropoiesis, Aberrant Splicing, and Sensitivity to Therapeutic Spliceosome Modulation [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30 (3): 404-417. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.08.006.
- [10] Lee SC, Dvinge H, Kim E, et al. Modulation of splicing catalysis for therapeutic targeting of leukemia with mutations in genes encoding spliceosomal proteins [J]. *Nat Med*, 2016, 22 (6):672-678. DOI: 10.1038/nm.4097.
- [11] Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(27): 3376-3382. DOI: 10.1200/JCO.2011.40.7379.
- [12] Qu X, Zhang S, Wang S, et al. TET2 deficiency leads to stem cell factor-dependent clonal expansion of dysfunctional erythroid progenitors [J]. *Blood*, 2018, 132 (22):2406-2417. DOI: 10.1182/blood-2018-05-853291.
- [13] Lu R, Wang P, Parton T, et al. Epigenetic Perturbations by Arg882-Mutated DNMT3A Potentiate Aberrant Stem Cell Gene Expression Program and Acute Leukemia Development [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30 (1): 92-107. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.05.008.
- [14] Falini B, Sportoletti P, Brunetti L, et al. Perspectives for therapeutic targeting of gene mutations in acute myeloid leukaemia with normal cytogenetics [J]. *Br J Haematol*, 2015, 170(3):305-322. DOI: 10.1111/bjh.13409.
- [15] Nebbioso A, Benedetti R, Conte M, et al. Genetic mutations in epigenetic modifiers as therapeutic targets in acute myeloid leukemia [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19 (9):1187-1202. DOI: 10.1517/14728222.2015.1051728.
- [16] Lin ME, Hou HA, Tsai CH, et al. Dynamics of DNMT3A mutation and prognostic relevance in patients with primary myelodysplastic syndrome [J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10:42. DOI: 10.1186/s13148-018-0476-1.
- [17] Zhang X, Su J, Jeong M, et al. DNMT3A and TET2 compete and cooperate to repress lineage-specific transcription factors in hematopoietic stem cells [J]. *Nat Genet*, 2016, 48 (9):1014-1023. DOI: 10.1038/ng.3610.
- [18] Montes-Moreno S, Routbort MJ, Lohman EJ, et al. Clinical molecular testing for ASXL1 c.1934dupG p.Gly646fs mutation in hematologic neoplasms in the NGS era [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9):e0204218. DOI: 10.1371/journal.pone.0204218.
- [19] Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave LM, et al. ASXL1 mutations promote myeloid transformation through loss of PRC2-mediated

- gene repression [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22 (2):180-193. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.032.
- [20] Inoue D, Kitaura J, Togami K, et al. Myelodysplastic syndromes are induced by histone methylation – altering ASXL1 mutations [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123 (11):4627-4640. DOI: 10.1172/JCI70739.
- [21] Hsu YC, Chiu YC, Lin CC, et al. The distinct biological implications of Asx1I mutation and its roles in leukemogenesis revealed by a knock-in mouse model [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 139. DOI: 10.1186/s13045-017-0508-x.
- [22] Mangaonkar AA, Gangat N, Al-Kali A, et al. Prognostic impact of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes and multilineage dysplasia with or without ring sideroblasts [J]. *Leuk Res*, 2018, 71:60-62. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.07.010.
- [23] Gangat N, Mudireddy M, Lasho TL, et al. Mutations and prognosis in myelodysplastic syndromes: karyotype-adjusted analysis of targeted sequencing in 300 consecutive cases and development of a genetic risk model [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (5): 691-697. DOI: 10.1002/ajh.25064.
- [24] Shirahata-Adachi M, Iriyama C, Tomita A, et al. Altered EZH2 splicing and expression is associated with impaired histone H3 lysine 27 tri-Methylation in myelodysplastic syndrome [J]. *Leuk Res*, 2017, 63:90-97. DOI: 10.1016/j.leukres.2017.10.015.
- [25] Sashida G, Harada H, Matsui H, et al. Ezh2 loss promotes development of myelodysplastic syndrome but attenuates its predisposition to leukaemic transformation [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4177. DOI: 10.1038/ncomms5177.
- [26] Balasubramani A, Larjo A, Bassein JA, et al. Cancer-associated ASXL1 mutations may act as gain-of-function mutations of the ASXL1-BAP1 complex [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:7307. DOI: 10.1038/ncomms8307.
- [27] Haase D, Stevenson KE, Neuberg D, et al. TP53 mutation status divides myelodysplastic syndromes with complex karyotypes into distinct prognostic subgroups [J]. *Leukemia*, 2019, 33 (7): 1747-1758. DOI: 10.1038/s41375-018-0351-2.
- [28] Wong TN, Ramsingh G, Young AL, et al. Role of TP53 mutations in the origin and evolution of therapy-related acute myeloid leukaemia [J]. *Nature*, 2015, 518(7540):552-555. DOI: 10.1038/nature13968.
- [29] Welch JS, Petti AA, Miller CA, et al. TP53 and Decitabine in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375 (21):2023-2036. DOI: 10.1056/NEJMoa1605949.
- [30] Chang CK, Zhao YS, Xu F, et al. TP53 mutations predict decitabine-induced complete responses in patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Br J Haematol*, 2017, 176 (4):600-608. DOI: 10.1111/bjh.14455.
- [31] Montalban-Bravo G, Takahashi K, Patel K, et al. Impact of the number of mutations in survival and response outcomes to hypomethylating agents in patients with myelodysplastic syndromes or myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(11):9714-9727. DOI: 10.18632/oncotarget.23882.
- [32] Shlush LI. Age-related clonal hematopoiesis [J]. *Blood*, 2018, 131(5):496-504. DOI: 10.1182/blood-2017-07-746453.
- [33] Bond J, Touzart A, Leprêtre S, et al. DNMT3A mutation is associated with increased age and adverse outcome in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Haematologica*, 2019, 104(8): 1617-1625. DOI: 10.3324/haematol.2018.197848.
- [34] Dussiau C, Fontenay M. Mechanisms underlying the heterogeneity of myelodysplastic syndromes [J]. *Exp Hematol*, 2018, 58: 17-26. DOI: 10.1016/j.exphem.2017.10.004.
- [35] Lindsley RC. Uncoding the genetic heterogeneity of myelodysplastic syndrome [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2017, 2017 (1):447-452. DOI: 10.1182/asheducation-2017.1.447.
- [36] Arends CM, Galan-Sousa J, Hoyer K, et al. Hematopoietic lineage distribution and evolutionary dynamics of clonal hematopoiesis [J]. *Leukemia*, 2018, 32 (9):1908-1919. DOI: 10.1038/s41375-018-0047-7.
- [37] Lindsley RC, Mar BG, Mazzola E, et al. Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations [J]. *Blood*, 2015, 125(9):1367-1376. DOI: 10.1182/blood-2014-11-610543.
- [38] Chen J, Kao YR, Sun D, et al. Myelodysplastic syndrome progression to acute myeloid leukemia at the stem cell level [J]. *Nat Med*, 2019, 25 (1):103-110. DOI: 10.1038/s41591-018-0267-4.

(收稿日期:2019-05-23)

(本文编辑:刘爽)