

骨髓增生异常肿瘤疾病进展和白血病转化过程中基因突变动态变化研究

严欣¹ 陈海洋² 王莲² 田雨露¹ 顾岩¹ 刘娜¹ 葛峥¹

¹东南大学附属中大医院血液科,东南大学血液病研究所,南京 210009;²盱眙县人民医院,盱眙 211700

通信作者:葛峥,Email:zhengge@seu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.cn121090-20240708-00254

【摘要】 目的 分析骨髓增生异常肿瘤(Myelodysplastic neoplasms, MDS)疾病进展(Progressive disease, PD)/白血病转化(Leukemic transformation, LT)组和非 PD/LT 组患者病程中基因突变动态变化差异,探索在 MDS 发生 PD/LT 过程中起关键作用的基因突变。**方法** 收集 2019 年 5 月至 2023 年 8 月于东南大学附属中大医院就诊的至少有 2 次高通量二代测序(Next generation sequencing, NGS)基因突变结果的 84 例 MDS 患者,比较 PD/LT 组和非 PD/LT 组患者病程中基因突变动态变化差异。**结果** ①84 例患者中男性 51 例,女性 33 例,初次测序时中位年龄 69(31~95)岁。PD 组 20 例,LT 组 13 例,非 PD/LT 组 51 例。初次测序时 PD/LT 组中位骨髓原始细胞比例高于非 PD/LT 组(1.6%对 0.4%, $P=0.013$)。②84 例患者初次测序时基因突变检出率较高的依次为 ASXL1(21 例,25.0%)、TP53(17 例,20.2%)、TET2(12 例,14.3%)、DNMT3A(11 例,13.1%)、U2AF1(11 例,13.1%);PD/LT 组患者初次测序时中位基因突变个数高于非 PD/LT 组(2 个对 1 个, $P=0.014$);PD/LT 组初次测序时 TET2(27.3%对 5.9%, $P=0.010$)、SETBP1(15.2%对 2.0%, $P=0.033$)、RUNX1(18.2%对 2.0%, $P=0.013$)突变比例高于非 PD/LT 组。③84 例患者病程中检出率较高的新增突变(I 类突变)/克隆扩增突变(II 类突变)依次为 TP53(9 例,10.7%)、TET2(7 例,8.3%)、ASXL1(7 例,8.3%)、RAS 旁路突变(7 例,8.3%);PD/LT 组中位 I/II 类基因突变数目显著高于非 PD/LT 组(2 个对 0 个, $P<0.001$)。PD/LT 组患者 I/II 类 RAS 旁路(21.2%对 0, $P=0.001$)、TP53(27.3%对 0, $P<0.001$)、TET2(18.2%对 2.0%, $P=0.013$)突变比例显著高于非 PD/LT 组。④PD/LT 组 75.0%(9/12)患者 TP53 突变为 I/II 类突变;非 PD/LT 组患者 TP53 突变皆为克隆缩小(III 类突变)(5/8,62.5%)或克隆稳定突变(IV 类突变)(3/8,37.5%)。PD/LT 组 87.5%(7/8)的患者 RAS 旁路突变为 I/II 类突变;非 PD/LT 组患者仅有 1 例病程中有 RAS 旁路突变,为 IV 类突变。**结论** PD/LT 组患者初次测序时中位骨髓原始细胞比例和基因突变数目高于非 PD/LT 组;TET2、SETBP1、RUNX1 突变比例高于非 PD/LT 组。PD/LT 组中位 I/II 类基因突变数目和 I/II 类 TP53、RAS 旁路、TET2 基因突变比例高于非 PD/LT 组。I/II 类 TP53 和 RAS 旁路突变可能在 MDS 发生 PD/LT 过程中起关键作用。

【关键词】 骨髓增生异常肿瘤; 疾病进展; 白血病转化; 动态变化

基金项目:江苏省卫健委医学科重点科研项目(ZD2021003);东南大学附属中大医院江苏省高水平医院结对帮扶建设经费(zdyxy15);江苏省医学重点学科建设单位(JSDW202212)

Dynamic changes in genetic mutations in myelodysplastic neoplasms with progressive disease and leukemic transformation

Yan Xin¹, Chen Haiyang², Wang Lian², Tian Yulu¹, Gu Yan¹, Liu Na¹, Ge Zheng¹

¹Department of Hematology, Zhongda Hospital, School of Medicine, Southeast University, Institute of Hematology Southeast University, Nanjing 210009, China; ²Xuyi People's Hospital, Xuyi 211700, China

Corresponding author: Ge Zheng, Email: Zhengge@seu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the key genetic mutations during the progressive disease (PD)/leukemic transformation (LT) course in MDS by analyzing the dynamic changes of genetic mutations in patients with myelodysplastic neoplasms (MDS) with or without PD/LT. **Methods** This study enrolled 84 patients with sequential MDS from May 2019 to August 2023 at ZhongDa Hospital

Southeast University and used the next generation sequencing to detect gene mutations. The dynamic changes of genetic mutations in patients with MDS with or without PD/LT were retrospectively analyzed.

Results ① This study analyzed data from 84 patients diagnosed with MDS with a median age of 63 (range: 31 - 95) years and consisting of 51 males and 33 females. Participants were distributed to the PD cohort ($n=20$), LT cohort ($n=13$), and non-PD/LT cohort ($n=51$). Patients from the PD/LT cohorts demonstrated a higher proportion of bone marrow blasts than the non-PD/LT cohort at the first sequencing (1.6% vs. 0.4%, $P=0.013$). ② The most frequently mutated genes that were detected at first sequencing were ASXL1 ($n=21$, 25.0%), TP53 ($n=17$, 20.2%), TET2 ($n=12$, 14.3%), DNMT3A ($n=11$, 13.1%), and U2AF1 ($n=11$, 13.1%). Further, patients from the PD/LT cohorts exhibited a higher median number of mutated genes than the non-PD/LT cohort (2 vs. 1, $P=0.014$) at first sequencing. TET2 (27.3% vs. 5.9%, $P=0.010$), SETBP1 (15.2% vs. 2.0%, $P=0.033$), and RUNX1 (18.2% vs. 2.0%, $P=0.013$) mutations were enriched in the PD/LT cohorts than in the non-PD/LT cohort. ③ The most frequently detected acquired mutations (I mutations) and clonally expanded mutations (II mutations) were TP53 ($n=9$, 10.7%), TET2 ($n=7$, 8.3%), ASXL1 ($n=7$, 8.3%), and RAS pathway ($n=7$, 8.3%). Furthermore, patients from the PD/LT cohorts showed a higher median number of I/II genes than the non-PD/LT cohort (2 vs. 0, $P<0.001$), and I/II RAS pathway (21.2% vs. 0, $P=0.001$), TP53 (27.3% vs. 0, $P<0.001$), and TET2 (18.2% vs. 2.0%, $P=0.013$) mutations were enriched in PD/LT cohorts than in the non-PD/LT cohorts. ④ Most of the TP53 mutations (9/12, 75.0%) in PD/LT cohorts were I/II mutations, whereas all of the TP53 mutations in non-PD/LT cohort were clone-decrease mutations (III mutations) (5/8, 62.5%) or clone-stable mutations (IV mutations) (3/8, 37.5%). Most of the RAS pathway mutations (7/8, 87.5%) in the PD/LT cohorts were I/II mutations, whereas only one patient in the non-PD/LT cohort demonstrated RAS pathway mutations, which belonged to IV mutations. **Conclusion** Patients from the PD/LT cohorts demonstrated a higher proportion of bone marrow blasts and a higher median number of mutations than the non-PD/LT cohort at first sequencing; TET2, SETBP1, and RUNX1 mutations were enriched in the PD/LT cohorts than in the non-PD/LT cohort at first sequencing. Patients from the PD/LT cohorts exhibited a higher number of I/II mutations than the non-PD/LT cohort. Further, I/II TP53, RAS pathway, and TET2 mutations were enriched in the PD/LT cohorts, and I/II TP53 and RAS pathway mutations may contribute to the PD/LT.

【Key words】 Myelodysplastic neoplasms; Progressive disease; Leukemic transformation; Dynamic changes

Fund Program: Medical Research Key Projects-Jiangsu Commission of Health (ZD2021003); Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Jiangsu Province High-Level Hospital Pairing Assistance Construction Funds (zdyxyx15); Jiangsu Provincial Medical Key Discipline (Laboratory) Cultivation Unit (JSDW202212)

骨髓增生异常综合征 (Myelodysplastic syndromes, MDS) 是一种克隆性造血干细胞恶性疾病,其特征是血细胞减少、髓系细胞一系或多系发育异常、无效造血及演变为急性髓系白血病 (Acute myeloid leukemia, AML) 风险增高^[1]。2022 年 WHO 更新的髓系肿瘤分类中,将其新命名为骨髓增生异常肿瘤 (Myelodysplastic neoplasms, MDS) 以更准确描述此类疾病的肿瘤属性^[2]。MDS 患者在病程中会发生疾病进展 (Progressive disease, PD), 出现原始细胞增高、贫血加重、中性粒细胞和血小板减少等表现^[3], 约 30% 的 MDS 患者最终会进展为 AML^[4]。既往研究表明,骨髓原始细胞数目增高,修订版国际预后积分系统 (Revised international prognostic scoring system, IPSS-R) 细胞遗传学分组差或极差, DNMT3A、NPM1 突变是 MDS 患者发生白血病转化 (Leukemic transformation, LT) 的独立危

险因素^[5-9], 基因突变在髓系肿瘤发生 LT 过程中起重要作用^[10-11]。既往序贯测序研究显示, 病程中新增的激酶信号通路和黏蛋白复合物通路相关基因突变是促使 MDS 患者发生 LT 的重要因素^[12-13]。本研究通过对我院 84 例有序贯测序结果的 MDS 患者病程中基因突变进行动态变化分析, 探索在 MDS 发生 PD/LT 过程中可能起关键作用的基因突变。

病例与方法

1. 病例: 本研究为回顾性队列研究, 将 2019 年 5 月 20 日至 2023 年 8 月 16 日于东南大学附属中大医院血液科就诊的依据 WHO2022 分型标准^[3] 诊断或重新诊断的有序贯测序结果的 84 例 MDS 患者纳入本研究, 纳入患者至少有 2 次二代测序结果且每次测序时的临床指标与实验室检查结果完整, 包括性别、年龄等一般资料, 血细胞计数和分类计数、骨

髓穿刺涂片细胞形态学检查、骨髓活检组织切片病理学检查、染色体核型分析检测结果。本研究通过东南大学附属中大医院伦理委员会批准后实施(批件号:2023ZDSYLL051-P01)。

2. 基因突变分析:取患者骨髓并分离单个核细胞,常规提取 DNA 且制备 DNA 全基因组文库。使用 PCR 引物扩增目的基因组(涵盖 58 个血液肿瘤相关基因),将目标区域 DNA 富集后,采用 Illumina HiSeq 测序平台进行测序。等位基因突变频率(Variant allele frequency, VAF) $\geq 2\%$ 的基因突变纳入分析,所有检测出的外显子区通过千人基因组计划(1000 Genomes Project)、COSMIC(癌症中的体细胞突变目录)及 PolyPhen-2 (Polymorphism Phenotyping 2)数据库筛选出致病基因。具体方法详见文献[14]。

3. 研究队列分组标准:PD 定义为骨髓原始细胞增加 $\geq 50\%$ 达到 5% (初次测序时骨髓原始细胞 $< 5\%$ 者)或增加 $\geq 50\%$ 达到 $10\% \sim 20\%$ (初次测序时骨髓原始细胞 $5\% \sim 10\%$ 者),或有下列任何一项:①ANC 或 PLT 较最佳缓解疗效时下降 $\geq 50\%$;②HGB 下降 ≥ 20 g/L;③出现输血依赖^[3]。LT 定义为初次测序时骨髓或外周血原始细胞 $< 20\%$ 者骨髓或外周血原始细胞 $\geq 20\%$ 。非 PD/LT 指不符合 PD 和 LT 的标准。对 84 例患者进行分组,51 例纳入非 PD/LT 组,20 例纳入 PD 组,13 例纳入 LT 组。

4. 病程中基因突变动态变化分析指标:①新增突变(I 类突变):初次测序时未检出,病程中新检出的基因突变;②克隆扩增突变(II 类突变):初次测序时检出,病程中 VAF 增加 $\geq 10\%$ 的基因突变;③克隆缩小突变(III 类突变):初次测序时检出,病程中 VAF 减少 $\geq 10\%$ 的基因突变或基因突变未再次检出;④克隆稳定突变(IV 类突变):初次测序时检出,病程中 VAF 增加或减少 $< 10\%$ 的基因突变。

5. 治疗方案:2 例(2.4%)患者仅接受输血支持治疗,16 例(19.0%)接受免疫调节与促造血治疗,27 例(32.1%)接受单用去甲基化药物治疗,34 例(40.5%)去甲基化药物联合其他药物(维奈克拉、来那度胺、高三尖杉酯碱、阿糖胞苷)治疗,5 例(6.0%)接受异基因造血干细胞移植治疗。

6. 疗效评价标准:MDS 疗效判定依据《骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019 年版)》^[3]疗效标准,以患者两次测序期间治疗达到的最佳疗效来进行疗效分析,总有效率(Overall response rate, ORR)定义为完全缓解(Complete remission,

CR)、部分缓解(Partial remission, PR)、骨髓完全缓解(Bone marrow complete remission, mCR)及血液学改善(Hematology improvement, HI)率之和。

7. 随访:随访截至 2024 年 2 月 29 日,随访资料来源于住院/门诊病历及电话随访记录。患者总生存(Overall survival, OS)时间按初次测序时间起至死亡或随访截止日期计算。

8. 统计学处理:应用 SPSS 24.0 软件进行分析。计量资料符合偏态分布,以中位数(范围)表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,率的比较采用卡方检验或 Fisher 确切概率法,生存分析采用 Kaplan-Meier 法。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、初次测序时临床特征

84 例患者中男 51 例,女 33 例,初次测序时中位年龄 69(31 ~ 95)岁;依据 WHO2022 诊断标准:MDS 伴低原始细胞(MDS-LB)51 例、MDS-5q- 1 例, MDS 伴 SF3B1 突变(MDS-SF3B1)7 例、MDS 伴 TP53 双等位突变(MDS-biTP53)7 例、MDS 伴骨髓纤维化(MDS-f)1 例、MDS 伴原始细胞增多 I 型(MDS-IB1)9 例、MDS 伴原始细胞增多 II 型(MDS-IB2)8 例。中位 HGB 73.5(42 ~ 136)g/L,中位 WBC $2.54(0.75 \sim 37.53) \times 10^9/L$,中位 PLT $59.5(9 \sim 1\ 605) \times 10^9/L$,中位 ANC $1.42(0.01 \sim 34.35) \times 10^9/L$,中位外周血原始细胞比例 0(0 ~ 9%),中位骨髓原始细胞比例 0.4%(0 ~ 18.0%)。

70 例染色体核型可分析的患者中,27 例(38.6%)染色体核型异常,其中复杂染色体核型 12 例(17.15%)。IPSS-R 细胞遗传学分组:染色体核型预后良好组 46 例(65.7%)、预后中等组 12 例(17.15%)、预后极差组 12 例(17.15%)。IPSS-R 预后分组:极低危组 4 例(5.7%)、低危组 18 例(25.7%)、中危组 28 例(40.0%)、高危组 9 例(12.9%)、极高危组 11 例(15.7%)。比较 PD/LT 组与非 PD/LT 组患者初次测序时临床特征,结果见表 1,PD/LT 组骨髓原始细胞比例显著高于非 PD/LT 组(1.6%对 0.4%, $P = 0.013$)。

二、初次测序时分子生物学特征

84 例患者初次测序基因突变结果见图 1A,初次测序时检出率较高的基因突变依次为 ASXL1(21 例,25.0%)、TP53(17 例,20.2%)、TET2(12 例,14.3%)、DNMT3A(11 例,13.1%)、U2AF1(11 例,13.1%)。PD/LT 组中位基因突变个数显著高于

表 1 PD/LT 组与非 PD/LT 组骨髓增生异常综合征患者临床特征比较

临床特征	PD/LT 组 (33 例)	非 PD/LT 组 (51 例)	P 值
年龄[岁, <i>M</i> (范围)]	69(40 ~ 89)	68(31 ~ 95)	0.721
男性[例(%)]	21(63.6)	30(58.8)	0.819
HGB[g/L, <i>M</i> (范围)]	75(42 ~ 136)	73(44 ~ 128)	0.637
WBC[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	2.24(0.75 ~ 34.83)	3.17(0.81 ~ 37.53)	0.167
ANC[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	1.11(0.15 ~ 32.49)	1.80(0.05 ~ 34.35)	0.080
PLT[×10 ⁹ /L, <i>M</i> (范围)]	78(11 ~ 1605)	47(9 ~ 872)	0.088
外周血原始细胞比例 [% , <i>M</i> (范围)]	0(0 ~ 9)	0(0 ~ 9)	0.848
骨髓原始细胞比例 [% , <i>M</i> (范围)]	1.6(0 ~ 18.0)	0.4(0 ~ 11.2)	0.013
WHO2022 分型[例(%)]			0.436
MDS-LB-SF3B1	4(12.1)	3(5.9)	
MDS-biTP53	4(12.1)	3(5.9)	
MDS-LB	16(48.5)	35(68.6)	
MDS-IB1	5(15.2)	4(7.8)	
MDS-IB2	4(12.1)	4(7.8)	
MDS-f	0(0)	1(2.0)	
MDS-5q-	0(0)	1(2.0)	
IPSS-R 细胞遗传学分组 [例(%)]			0.192
好	14(53.8)	32(72.7)	
中等	5(19.2)	7(15.9)	
极差	7(29.6)	5(11.4)	
IPSS-R 预后分层 [例(%)]			0.284
极低危	2(7.7)	2(4.5)	
低危	4(15.4)	14(31.8)	
中危	9(34.6)	19(43.2)	
高危	5(19.2)	4(9.1)	
极高危	6(23.1)	5(11.4)	

注 PD:疾病进展;LT:白血病转化;MDS-LB-SF3B1:MDS 伴 SF3B1 突变;MDS-biTP53:MDS 伴 TP53 双等位突变;MDS-LB:MDS 伴低原始细胞;MDS-IB1:MDS 伴原始细胞增多 I 型;MDS-IB2:MDS 伴原始细胞增多 II 型;MDS-f:MDS 伴骨髓纤维化;MDS-5q-:MDS 伴 5 号染色体长臂缺失;IPSS-R:修订版国际预后积分系统

非 PD/LT 组 [2(0 ~ 9) 个对 1(0 ~ 7) 个, $P=0.014$] (图 1B), 其中 TET2 (27.3% 对 5.9%, $P=0.010$)、SETBP1 (15.2% 对 2.0%, $P=0.033$)、RUNX1 (18.2% 对 2.0%, $P=0.013$) 突变比例显著高于非 PD/LT 组(图 1C)。

三、病程中基因突变动态变化

84 例患者两次测序中位间隔时间 8.5(1 ~ 45)个月,PD/LT 组和非 PD/LT 组患者两次测序中位

间隔时间差异无统计学意义 [7.5(1 ~ 45)个月 10(1.5 ~ 41)个月, $P=0.355$]。病程中基因突变动态变化结果见图 2A, 检出率较高的 I / II 类突变基因依次为 TP53 (9 例, 10.7%)、TET2 (7 例, 8.3%)、ASXL1 (7 例, 8.3%)、RAS 旁路 (包括 NRAS、KRAS、PTPN11、CBL、NF1) 突变 (7 例, 8.3%)。PD/LT 组 I / II 类突变数目显著高于非 PD/LT 组 [2(0 ~ 6) 个对 0(0 ~ 3) 个, $P<0.001$] (图 2B)。PD/LT 组患者 I / II 类 TP53 (27.3% 对 0, $P<0.001$)、RAS 旁路 (包含 NRAS, KRAS, CBL, PTPN11, NF1 基因) (21.2% 对 0, $P=0.001$)、TET2 (18.2% 对 2.0%, $P=0.013$) 突变比例显著高于非 PD/LT 组 (图 2C)。提示 I / II 类 TP53、RAS 旁路、TET2 突变可能是促使 MDS 患者发生 PD/LT 的关键基因突变。

四、PD/LT 过程中关键基因突变动态变化

分析 MDS 病程中 TP53 突变动态变化, 结果示 12 例病程中有 TP53 突变的 PD/LT 组患者中 9 例 (75.0%) 为 I / II 类突变; 而 8 例病程中有 TP53 突变的非 PD/LT 类患者 5 例为 III 类、3 例为 IV 类突变, 无 I / II 类突变(图 3A、3B)。

进一步分析 PD/LT 组中无 I / II 类 TP53 突变患者病程中伴随的其他 I / II 类基因突变, 结果示最常见的 I / II 类基因突变依次为 RAS 旁路 (5/24, 20.8%)、TET2 (5/24, 20.8%)、ASXL1 (4/24, 16.6%)、SETBP1 (5/24, 16.6%)、DDX41 (3/24, 12.5%)、WT1 (3/24, 12.5%) 突变, PD/LT 组中有 3 例患者病程中 TP53 突变无克隆扩增, 其中 1 例伴有 I 类 DDX41 突变; 1 例伴有 I 类 ZRSR2、KDM6A、GATA1 突变; 1 例伴有 I 类 SETBP1 突变和 II 类 TET2、ASXL1、SRSF2 突变。

分析 MDS 患者病程中 RAS 旁路突变动态变化, 结果示 8 例病程中有 RAS 旁路突变的 PD/LT 组患者中 7 例为 I / II 类基因突变; 而非 PD/LT 组患者仅有 1 例病程中有 RAS 旁路突变, 为 IV 类突变。

分析 MDS 患者病程中 TET2 突变动态变化, 结果示 12 例病程中有 TET2 突变的 PD/LT 组患者中, 6 例为 I / II 类突变; 而 4 例病程中有 TET2 突变的非 PD/LT 组患者中, 1 例为 I 类突变。

五、基因突变动态变化对患者预后及治疗效果影响分析

分析各基因动态变化对患者预后的影响, 结果示病程中有 I / II 类 TP53 突变的患者 OS 期为 7(95% CI 4.81 ~ 9.20) 个月, 病程中有 III / IV 类 TP53 突变患者 OS 期为 34.5(95% CI 8.29 ~ 60.71) 个月;

差异有统计学意义($P=0.022$),提示 I/II 类 TP53 突变是患者不良预后因素。

分析患者病程中基因突变动态变化对治疗疗效的影响,结果示病程中有 I/II 类基因突变患者的 ORR 显著低于病程中没有 I/II 类基因突变的患者(22%对 48%, $P=0.010$)。其中病程中有 I/II 类 TP53 突变的患者 ORR 低于有 III/IV 类 TP53 突变的患者(0 对 36.4%),在 0.1 水平差异有统计学意义($P=0.094$)(表 2)。

讨 论

MDS 是一种异质性较大的疾病,不同亚型的患者预后差异大^[15],发生 PD/LT 是严重影响患者长期生存的危险因素;如何阻止 MDS 患者发生 PD/LT,维持 MDS 患者疾病稳定是临床研究的难题。为阐释 MDS 患者 PD/LT 中的基因突变动态变化,我们分析了本中心 84 例 MDS 患者序贯样本测序结果,以

探究促使 MDS 患者发生 PD/LT 的关键基因突变,为未来开发针对这些基因突变及相关通路的小分子靶向抑制剂提供理论基础。

本研究中 PD/LT 组患者初次测序时中位骨髓原始细胞比例,中位基因突变个数,TET2、RUNX1、SETBP1 突变比例显著高于非 PD/LT 组,提示这些临床与分子生物学特征是发生 PD/LT 的危险因素,与既往研究结果相似^[4,16-17]。本研究中 PD/LT 患者 I/II 类基因突变数目较非 PD/LT 组患者显著增加,与既往研究结果^[11-12]一致,提示 MDS 疾病进展与新增恶性克隆和原有恶性克隆扩增相关;而 Bernard 等^[17]研究了对 MDS 患者预后具有显著影响的基因突变,并在此基础上提出了分子国际预后积分系统(Molecular international prognostic scoring system, IPSS-M),Wu 等^[18]则在中国 60 岁以上 MDS 患者中证实 IPSS-M 的预后评估价值要高于 IPSS-R;因此推荐有条件的 MDS 患者应定期接受二代测序基因

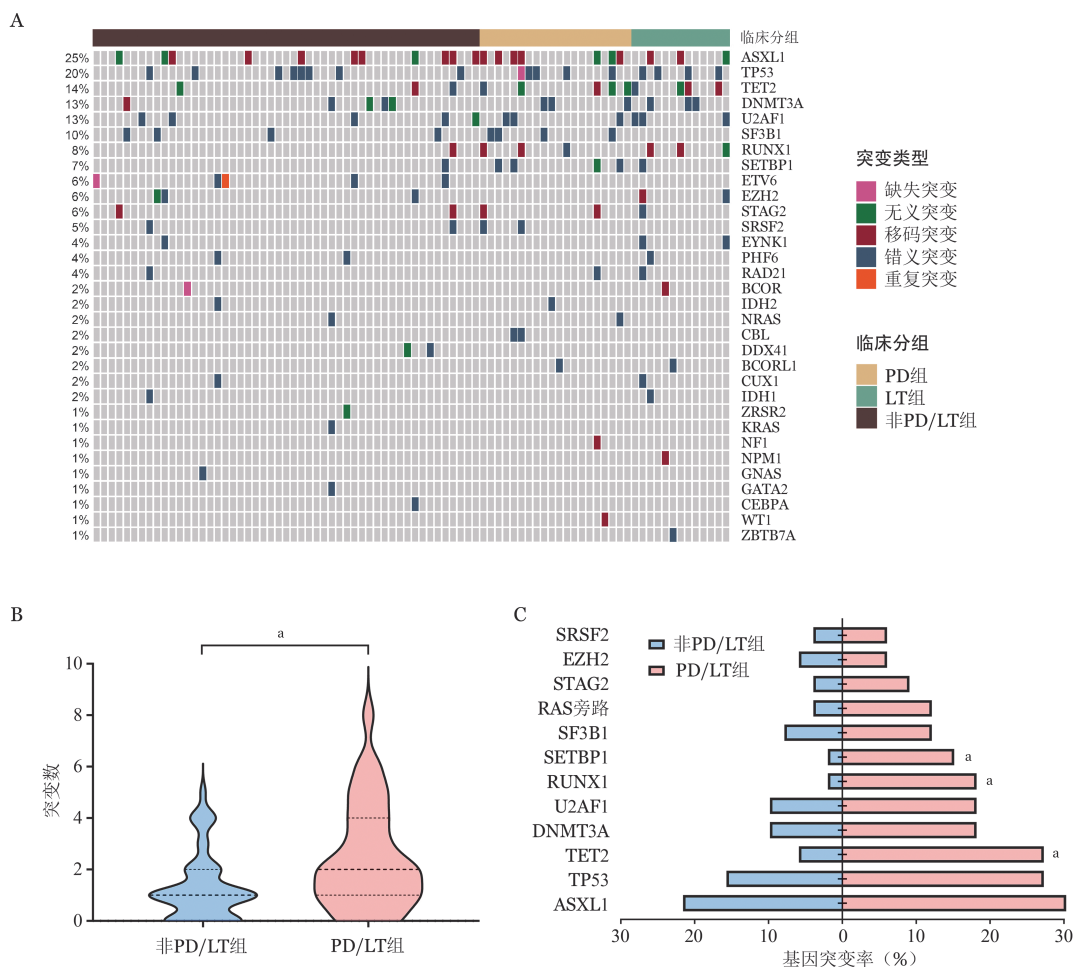


图 1 84 例骨髓增生异常肿瘤患者初次测序基因突变情况 A 不同个体基因突变及突变类型的 heatmap; B 疾病进展/白血病转化(PD/LT)组与非 PD/LT 组基因突变个数比较($a P < 0.05$); C PD/LT 组与非 PD/LT 组不同基因突变比例比较

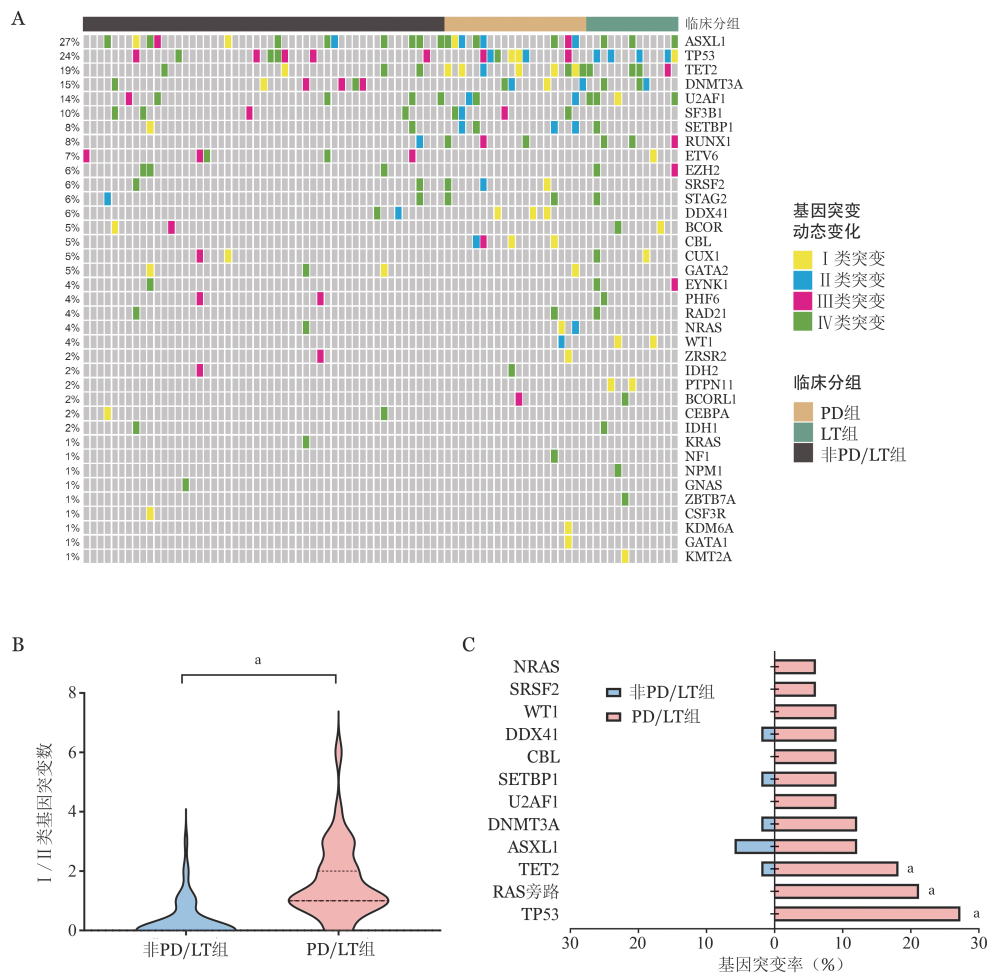


图2 84例骨髓增生异常肿瘤患者病程中基因突变情况 A 不同个体基因突变及突变类型的 heatmap; B 疾病进展/白血病转化(PD/LT)组与非PD/LT组 I/II类基因突变个数比较(* $P < 0.05$); C PD/LT组与非PD/LT组不同基因 I/II类突变比例比较

突变检测,这样既能尽早发现可能导致PD/LT的 I/II类基因突变,也能根据IPSS-M预后分组及时调整治疗方案。

既往研究证实,TP53突变是MDS患者预后不良和发生LT的危险因素^[19-23],并发现TP53突变对OS和LT的影响与TP53突变类型和VAF大小相关。Bernard等^[17]发现TP53双等位突变与不良预后和高LT风险相关,而TP53单等位突变OS和LT风险与无突变患者无明显差异;Montalban-Bravo等^[23]发现,TP53突变VAF与不良预后和LT显著相关,TP53突变VAF $\geq 10\%$ 的患者其OS显著差于TP53突变VAF $< 10\%$ 的患者,并发现在MDS患者LT过程中,TP53突变VAF有显著上升,与本研究结果相似。本研究中的新发现在于,初次测序时有TP53突变并不一定会使MDS患者发生PD/LT,只有病程中新增/克隆扩增的TP53突变才会促使MDS患者发生

PD/LT,若治疗能使TP53突变VAF降低,则患者不易发生PD/LT;提示如果能降低TP53突变VAF,抑制TP53突变恶性克隆扩增,可能可以阻止MDS患者发生PD/LT,因此针对TP53突变的小分子靶向抑制剂可能是MDS患者治疗的新思路^[24]。

本研究我们发现病程中 I/II类RAS旁路突变可促使MDS患者发生PD/LT,与既往研究结果^[11-12]一致,进一步证实了新增/克隆扩增RAS旁路突变是导致MDS患者发生PD/LT的关键基因,提示抑制RAS旁路突变克隆扩增可能可以阻止MDS患者发生PD/LT,因此未来可开展针对RAS旁路突变的小分子靶向抑制剂治疗伴有RAS旁路突变的MDS患者的相关临床试验。

Lin等^[16]研究表明,有TET2突变的MDS患者无白血病生存期短于无TET2突变患者,并在序贯样本研究中发现MDS LT过程中存在原有TET2突

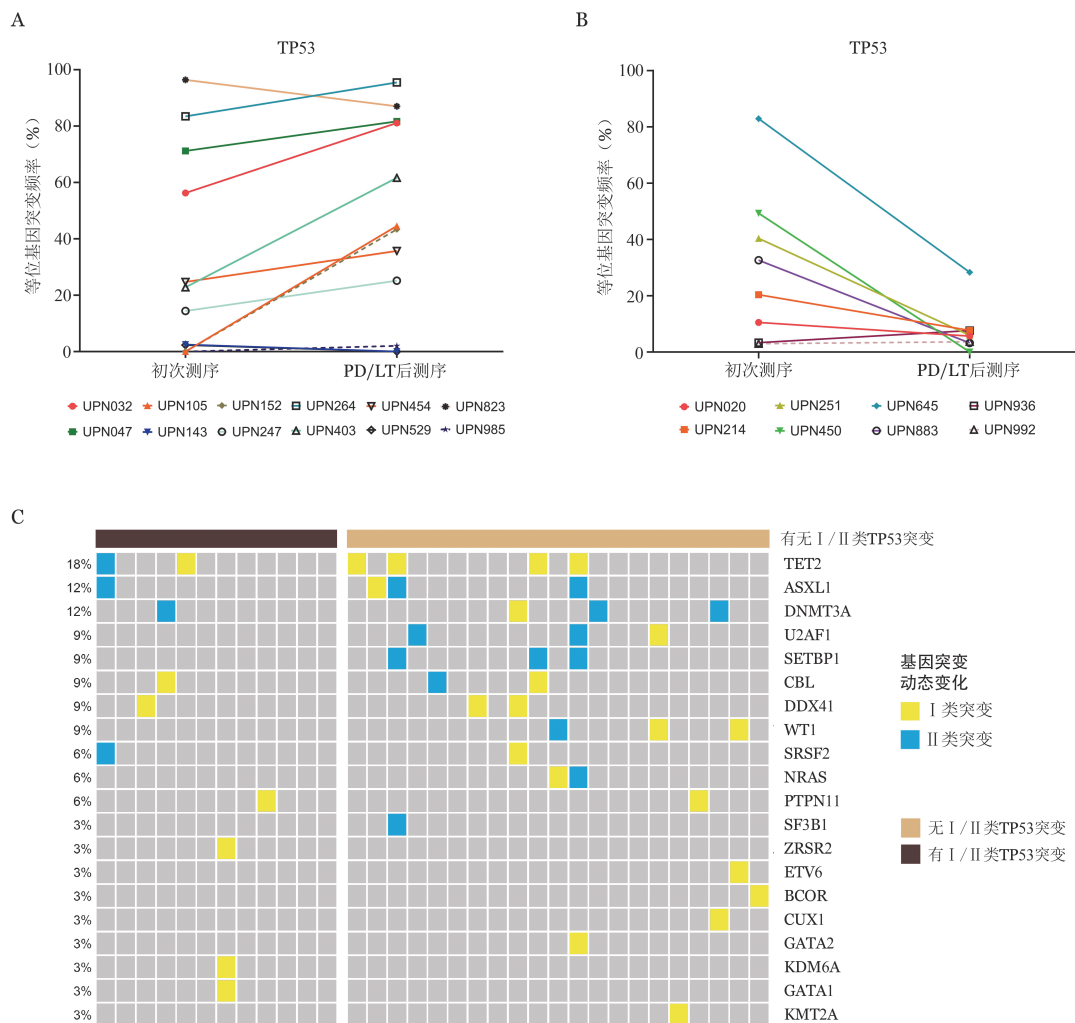


图 3 骨髓增生异常肿瘤患者病程中 TP53 突变动态变化图 A 疾病进展(PD)/白血病转化(LT)组病程中 TP53 突变动态变化; B 非 PD/LT 组病程中 TP53 突变动态变化; C PD/LT 组病程中无 I / II 类 TP53 突变患者伴随的其他 I / II 类基因突变图

变克隆扩增现象,但未检出新增 TET2 突变,且初次测序时有 TET2 突变患者 LT 过程中皆存在其他 I / II 类突变;本研究中 PD/LT 组患者病程中 50% TET2 突变为 I / II 类突变,但这些 I / II 类 TET2 突变多数同时也伴有其他 I / II 类突变,与该项研究^[16]结果相似,提示 TET2 突变可能促进了 MDS 患者发生 PD/LT,但不是 PD/LT 的直接原因。

本研究我们发现病程中 I / II 类突变患者的治疗有效率显著低于 III / IV 类突变患者,提示病程中新增/克隆扩增的基因突变可能是治疗疗效的不良预后因素;因此治疗过程中动态进行疾病驱动和预后关键基因监测,有利于发现可能导致治疗反应差和疾病进展的 I / II 类基因突变并及时调整治疗方案。

总之,本研究结果初步揭示 PD/LT 组初次测序时中位骨髓原始细胞比例和基因突变数目高于非

PD/LT 组, TET2、SETBP1、RUNX1 突变比例高于非 PD/LT 组; PD/LT 组 I / II 类基因突变数目和 I / II 类 TP53、RAS 旁路、TET2 突变比例高于非 PD/LT 组患者; I / II 类 TP53 和 RAS 旁路突变促进了 MDS 患者发生 PD/LT。本研究存在以下不足: ①作为单中心研究,样本量较少,不可避免存在偏移。②因本研究患者接受的同一药物的剂量或疗程不同,且用药依从性差异较大,因此未对患者的治疗方案对 MDS 患者病程中基因突变动态变化影响进行分析。本研究结论有待全国多中心、大样本量的患者群体研究进一步证实。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

志谢 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)肖志坚教授审阅了本文并给出了宝贵的意见,在此致以诚挚谢意

作者贡献声明 严欣:实施研究、收集数据、分析/解释数据、起草文章;葛峥:设计和指导本研究、文章审阅和修改;其他作者:协助研究

表 2 骨髓增生异常肿瘤患者病程中不同基因突变对治疗疗效影响[例(%)]

突变类型	治疗有效	治疗无效	P 值
TP53 突变			0.094
I / II 类	0(0)	9(100.0)	
III/IV 类	4(36.4)	7(63.6)	
ASXL1 突变			1.000
I / II 类	2(28.6)	5(71.4)	
III/IV 类	4(25.0)	12(75.0)	
TET2 突变			0.475
I / II 类	0(0)	7(100.0)	
III/IV 类	2(28.6)	7(77.8)	
U2AF1 突变			0.371
I / II 类	0(0)	3(100.0)	
III/IV 类	2(22.2)	7(77.8)	
DNMT3A 突变			0.576
I / II 类	1(20.0)	4(80.0)	
III/IV 类	4(50.0)	4(50.0)	
RAS 旁路突变			1.000
I / II 类	0(0)	2(100.0)	
III/IV 类	0(0)	7(100.0)	
SETBP1 突变			1.000
I / II 类	0(0)	4(100.0)	
III/IV 类	0(0)	3(100.0)	

参 考 文 献

[1] 肖志坚. 骨髓增生异常综合征的精确诊断[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36 (5): 361-362. DOI: 10.3760/cma.j. issn. 0253-2727.2015.05.001.

Xiao Z. The precise diagnosis of myelodysplastic syndromes [J]. Chin J Hematol, 2015, 36(5):361-362. DOI: 10.3760/cma.j. issn.0253-2727.2015.05.001.

[2] Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms [J]. Leukemia, 2022, 36 (7): 1703-1719. DOI: 10.1038/s41375-022-01613-1.

[3] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019年版)[J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(2):89-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.02.001.

Chinese Society of Hematology, Chinese Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes (2019) [J]. Chin J Hematol, 2019, 40(2):89-97. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.02.001.

[4] Granfeldt Østgård LS, Medeiros BC, Sengeløv H, et al. Epidemiology and Clinical Significance of Secondary and Therapy-Related Acute Myeloid Leukemia: A National Population-Based Cohort Study[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(31):3641-3649. DOI: 10.1200/JCO.2014.60.0890.

[5] 赵颂扬, 徐泽锋, 秦铁军, 等. 骨髓增生异常综合征白血病转化危险因素研究[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(10):818-825. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.10.004.

Zhao SY, Xu ZF, Qin TJ, et al. Risk factors for leukemia transformation in patients with myelodysplastic syndromes[J]. Chin J Hematol, 2022, 43 (10): 818-825. DOI: 10.3760/cma. j. issn.0253-2727.2022.10.004.

[6] 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.

[7] Jawad M, Afkhami M, Ding Y, et al. DNMT3A R882 Mutations Confer Unique Clinicopathologic Features in MDS Including a High Risk of AML Transformation [J]. Front Oncol, 2022, 12: 849376. DOI: 10.3389/fonc.2022.849376.

[8] Patel SS, Ho C, Ptashkin RN, et al. Clinicopathologic and genetic characterization of nonacute NPM1-mutated myeloid neoplasms [J]. Blood Adv, 2019, 3 (9): 1540-1545. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000090.

[9] Forghieri F, Nasillo V, Paolini A, et al. NPM1-Mutated Myeloid Neoplasms with <20% Blasts: A Really Distinct Clinicopathologic Entity? [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (23):8975. DOI: 10.3390/ijms21238975.

[10] 严欣, 秦铁军, 李冰, 等. Ph 染色体阴性骨髓增殖性肿瘤加速/急变期患者的临床特征及预后因素分析[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44 (4): 276-283. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.04.003.

Yan X, Qin TJ, Li B, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasm accelerated/blast phase [J]. Chin J Hematol, 2023, 44 (4): 276-283. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-2727.2023.04.003.

[11] 严欣, 李冰, 秦铁军, 等. MIPSS70-plus 预后积分系统评估中国原发性骨髓纤维化患者预后的评价[J]. 中华血液学杂志, 2021, 42 (1): 15-20. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-2727.2021.01.004.

Yan X, Li B, Qin TJ, et al. Evaluation of the prognostic value of MIPSS70-plus in Chinese patients with primary myelofibrosis [J]. Chin J Hematol, 2021, 42 (1):15-20. DOI: 10.3760/cma.j. issn.0253-2727.2021.01.004.

[12] Kim T, Tyndel MS, Kim HJ, et al. The clonal origins of leukemic progression of myelodysplasia [J]. Leukemia, 2017, 31 (9): 1928-1935. DOI: 10.1038/leu.2017.17.

[13] Martín-Izquierdo M, Abáigar M, Hernández-Sánchez JM, et al. Co-occurrence of cohesin complex and Ras signaling mutations during progression from myelodysplastic syndromes to secondary acute myeloid leukemia [J]. Haematologica, 2021, 106 (8): 2215-2223. DOI: 10.3324/haematol.2020.248807.

[14] Yan X, Xu Z, Zhang P, et al. Non-driver mutations landscape in different stages of primary myelofibrosis determined ASXL1 mutations play a critical role in disease progression [J]. Blood Cancer J, 2023, 13(1):56. DOI: 10.1038/s41408-023-00829-3.

[15] Zhang Y, Wu J, Qin T, et al. Comparison of the revised 4th (2016) and 5th (2022) editions of the World Health Organization classification of myelodysplastic neoplasms [J]. Leukemia,

- 2022, 36(12):2875-2882. DOI: 10.1038/s41375-022-01718-7.
- [16] Lin TL, Nagata Y, Kao HW, et al. Clonal leukemic evolution in myelodysplastic syndromes with TET2 and IDH1/2 mutations [J]. Haematologica, 2014, 99(1):28-36. DOI: 10.3324/haematol.2013.091249.
- [17] Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL, et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes [J]. NEJM Evid, 2022, 1(7):EVIDoa2200008. DOI: 10.1056/EVIDoa2200008.
- [18] Wu J, Zhang Y, Qin T, et al. IPSS-M has greater survival predictive accuracy compared with IPSS-R in persons ≥ 60 years with myelodysplastic syndromes [J]. Exp Hematol Oncol, 2022, 11(1):73. DOI: 10.1186/s40164-022-00328-4.
- [19] 黄慧君, 史仲珣, 李冰, 等. 伴 TP53 基因异常骨髓增生异常综合征患者的临床特征及预后研究 [J]. 中华血液学杂志, 2019, 40(3): 215-221. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.03.010.
- Huang HJ, Shi ZX, Li B, et al. Clinical implications and prognostic value of TP53 gene mutation and deletion in patients with myelodysplastic syndromes [J]. Chin J Hematol, 2019, 40(3): 215-221. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.03.010.
- [20] Bernard E, Nannya Y, Hassarjian RP, et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes [J]. Nat Med, 2020, 26(10):1549-1556. DOI: 10.1038/s41591-020-1008-z.
- [21] 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.
- [22] Grob T, Al Hinai A, Sanders MA, et al. Molecular characterization of mutant TP53 acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome [J]. Blood, 2022, 139(15): 2347-2354. DOI: 10.1182/blood.2021014472.
- [23] Montalban-Bravo G, Kanagal-Shamanna R, Benton CB, et al. Genomic context and TP53 allele frequency define clinical outcomes in TP53-mutated myelodysplastic syndromes [J]. Blood Adv, 2020, 4(3): 482-495. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001101.
- [24] 李军, 黄炎青, 瞿杰, 等. 阿扎胞苷联合高三尖杉酯碱通过调控 c-MYC/DDIT3/PUMA 轴协同抗急性髓系白血病的研究 [J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(12):1001-1009. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.12.006.
- Li J, Huang YQ, Zi J, et al. Synergistic effect of azacitidine with homoharringtonine by activating the c-MYC/DDIT3/PUMA axis in acute myeloid leukemia [J]. Chin J Hematol, 2023, 44(12): 1001-1009. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.12.006.

(收稿日期:2024-07-08)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

2025 年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

血红蛋白 HGB
 红细胞计数 RBC
 白细胞计数 WBC
 血小板计数 PLT
 中性粒细胞绝对计数 ANC
 丙氨酸转氨酶 ALT
 天冬氨酸转氨酶 AST
 谷氨酰转氨酶 GGT
 碱性磷酸酶 ALP
 乳酸脱氢酶 LDH
 凝血酶原时间 PT
 部分激活的凝血活酶时间 APTT
 红细胞生成素 EPO
 血小板生成素 TPO
 乙型肝炎病毒 HBV
 丙型肝炎病毒 HCV
 人类免疫缺陷病毒 HIV
 核因子- κ B NF- κ B

辅助性 T 淋巴细胞 Th 细胞
 调节性 T 淋巴细胞 Treg 细胞
 细胞毒性 T 淋巴细胞 CTL 细胞
 自然杀伤细胞 NK 细胞
 白细胞介素 IL
 嵌合抗原受体 T 细胞 CAR-T 细胞
 肿瘤坏死因子 TNF
 干细胞生长因子 SCF
 粒细胞集落刺激因子 G-CSF
 粒-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF
 巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF
 粒-巨噬细胞集落形成单位 CFU-GM
 弥散性血管内凝血 DIC
 实时荧光定量 PCR RQ-PCR
 磁共振成像 MRI
 正电子发射断层扫描 PET
 荧光原位杂交 FISH
 (1,3)- β -D 葡聚糖检测 G 试验

半乳甘露聚糖检测 GM 试验
 酶联免疫吸附实验 ELISA
 噻唑蓝实验 MTT 实验
 磷酸盐缓冲液 PBS
 胎牛血清 FBS
 乙二胺四乙酸 EDTA
 二甲基亚砷 DMSO
 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE
 美国国家综合癌症网络 NCCN
 国际预后积分系统 IPSS
 国际预后指数 IPI
 异基因造血干细胞移植 allo-HSCT
 自体造血干细胞移植 auto-HSCT
 移植抗宿主病 GVHD
 人类白细胞抗原 HLA
 受试者工作特征曲线 ROC 曲线
 常见不良反应事件评价标准 CTCAE

本刊编辑部