

上海交通大学医学院



学者介绍

Author introduction

**王月英** 博士

研究员、博士生导师

ORCID ID: 0000-0002-8092-7775

WANG Yue-ying

Ph.D

Professor, Doctoral Supervisor

ORCID ID: 0000-0002-8092-7775

王月英 (1976—), 上海交通大学医学院附属瑞金医院、上海血液学研究所、医学基因组学国家重点实验室研究员和博士生导师。2005 年获上海交通大学医学院博士学位。2009—2010 年在美国布兰迪斯大学做访问学者。现任国家自然科学基金评审专家、中国病理生理学会会员、瑞金医院青年联合会理事、瑞金医院青年助力培养计划导师。

• 长期致力于白血病发病机制和靶向治疗方面的研究工作。在 *Cancer Cell*、*PNAS*、*Blood*、*Leukemia* 等国际知名刊物发表 SCI 收录论文 20 余篇, 获国家授权专利 3 项。作为负责人, 承担国家科技重大专项、国家自然科学基金优秀青年科学基金项目等国家级课题 4 项。入选上海市青年科技启明星计划、上海市教育委员会高峰高原学科建设计划等市级人才计划 4 项。曾获 2015 年国家自然科学奖二等奖、2014 年上海市自然科学奖特等奖、2014 年明治生命科学奖优秀奖、2013 年上海市卫生系统银蛇奖三等奖等奖项。

WANG Yue-ying

born in 1976, professor and doctoral supervisor of State Key Laboratory of Medical Genomics, Shanghai Institute of Hematology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. She got her Ph.D from Shanghai Jiao Tong University School of Medicine in 2005, and worked as a visiting scholar at Brandeis University during 2009-2010. She is an expert reviewer of the National Natural Science Foundation of China, the member of Chinese Association of Pathophysiology, the member of the council of Youth Federation and the mentor for supporting the Youth Development Program of Ruijin Hospital.

• She has been committed to the studies of the mechanisms of leukemogenesis and targeted therapy for leukemia. She has published more than 20 SCI indexed papers in international journals such as *Cancer Cell*, *PNAS*, *Blood* and *Leukemia*, and obtained 3 Chinese patents as one of the inventors. She has been in charge of 4 national research projects including National Science and Technology Key Project of the Ministry of Science and Technology of China, Excellent Youth Foundation of National Natural Science Foundation of China, and 4 municipal talent programs including "Shanghai Rising-Star Program", "Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support", et al. She has won many awards and honors including the second prize of National Natural Science Award of China in 2015, the outstanding prize of "Shanghai Natural Science Award" in 2014, "Meiji Life Sciences Award" in 2014, and the third prize of "Shanghai Foundation for Eminent Youth Award of Health Care System" in 2013.



综述

DNMT3A 在血液肿瘤中的作用

石晓东, 戴钰俊, 王月英

上海交通大学 医学院附属瑞金医院, 上海血液学研究所, 上海 200025

[摘要] DNA 甲基转移酶 3A (*DNMT3A*) 是表观遗传修饰相关的重要基因之一, 承担着 DNA 从头甲基化的修饰工作。*DNMT3A* 基因突变可见于多种血液系统肿瘤, 尤其在急性髓系白血病 (AML) 中发生频率较高, 并提示预后不良。近年来的研究显示, *DNMT3A* 等表观遗传相关基因异常在血液肿瘤的发生发展中起重要作用, 是 AML 发病的Ⅲ类致病基因。该文就 *DNMT3A* 基因突变在血液肿瘤中的临床及相关基础研究进展作一综述。

[关键词] DNA 甲基转移酶 3A; 表观遗传修饰; 基因突变; 血液肿瘤

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.09.015 **[中图分类号]** R733.7 **[文献标志码]** A

Role of DNA methyltransferase 3A in hematological malignancies

SHI Xiao-dong, DAI Yu-jun, WANG Yue-ying

Shanghai Institute of Hematology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] DNA methyltransferase 3A (*DNMT3A*) is one of the critical epigenetic modifiers responsible for *de novo* DNA methylation. *DNMT3A* mutations are identified in some kinds of hematological malignancies, especially in acute myeloid leukemia (AML) with high frequency, indicating poor prognosis. Recent researches have shown that abnormalities of epigenetic related genes such as *DNMT3A* play important roles in the development and progression of hematological malignancies, which was named as class Ⅲ mutation associated with the pathogenesis of AML. In this review, the progresses of clinical and basic researches about *DNMT3A* mutation in hematological malignancies were summarized.

[Key words] DNA methyltransferase 3A; epigenetic modification; gene mutation; hematological malignancy

DNA 甲基转移酶 3A (DNA methyltransferase 3A, DNMT3A) 是一种与表观遗传修饰相关的重要蛋白酶, 和 DNMT3B 共同承担 DNA 从头甲基化的修饰工作, 在哺乳动物胚胎早期高表达, 随着细胞的分化而表达逐渐下调^[1]。近年来随着大规模基因组测序技术的发展, 越来越多的研究发现 *DNMT3A* 等与表观遗传学调控相关的基因在急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 中发生高频突变, 构成 AML 发病的Ⅲ类致病基因。由于 *DNMT3A* 突变与血液肿瘤的发生发展密切相关, 且 *DNMT3A* 突变患者预后不良, 阐明 *DNMT3A* 在造血调控和血液肿瘤发病机制中的作用, 将为 *DNMT3A* 突变相关血液肿瘤的靶向治疗提供科学依据。

1 DNA 甲基化修饰

1.1 DNA 甲基化

DNA 甲基化作为一种重要的表观遗传修饰, 可通过

影响染色质结构、DNA 构象、DNA 稳定性以及 DNA 与蛋白质相互作用等方式, 调控基因的表达^[2]。DNA 甲基化在维持正常细胞功能、遗传印记、干细胞分化调控、胚胎发育、X 染色体失活中起着重要作用^[3-4]。通常, DNA 高甲基化可抑制基因的表达, 而低甲基化则与基因高表达/活化相关。通过十多年的研究, 人们发现许多肿瘤细胞都具有异常的 DNA 甲基化修饰模式, 肿瘤抑制基因往往被高甲基化修饰而失去活性, 提示表观遗传修饰异常也是细胞癌变的一个重要因素。

DNA 甲基化修饰主要由 DNA 甲基转移酶催化完成。在真核生物中, DNA 甲基转移酶家族包括 5 个成员: DNMT1、DNMT2、DNMT3A、DNMT3B 和 DNMT3L^[5-6]。其中, DNMT3A 和 DNMT3B 负责 DNA 胞嘧啶的从头甲基化修饰, 而 DNMT1 则维持 DNA 复制后的甲基化状态^[6]。DNMT3L 作为一个没有催化活性的 DNMT3 类似物, 具有促进 DNMT3A 酶活性的作用^[7]。DNMT2 是一个

[基金项目] 国家自然科学基金 (81570151); 上海市教育委员会高峰高原学科建设计划 (20152507); 上海交通大学 SMC 晨星青年学者计划 (2014) (National Natural Science Foundation of China, 81570151; Shanghai Municipal Education Commission-Gaofeng Clinical Medicine Grant Support, 20152507; Shanghai Jiao Tong University SMC-Morningstar Young Scholars Program, 2014)

[作者简介] 石晓东 (1993—), 男, 硕士生; 电子信箱: shixiaodong@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 王月英, 电子信箱: yyywang@shsmu.edu.cn。



极其保守的、类似于原核生物甲基转移酶的蛋白, 目前没有发现它在 DNA 甲基化中有特别的作用^[8]。另外, 最新发表在 *Nature* 上的研究显示, 在雄性小鼠体内发现一种新的 DNA 从头甲基转移酶 DNMT3C, 它可以通过甲基化沉默相关转座子来保护雄性的生育能力^[9]。

1.2 DNMT3A 的结构

人类 *DNMT3A* 基因位于染色体 2p23, 编码相对分子质量为 130 000 的蛋白^[3]。该蛋白在哺乳动物中具有高度保守性, 人类与小鼠的 DNMT3A 蛋白的同源性高达 98%^[10]。在小鼠体内有 2 种 DNMT3A 转录本: DNMT3A1 和 DNMT3A2。与 DNMT3A1 相比, DNMT3A2 缺失 N 末端结构域的 6 个外显子^[11], 并且在胚胎干细胞、睾丸、卵巢和胸腺中的表达被抑制, 而 DNMT3A1 在各组织中广泛表达^[11-12]。

DNMT3A 蛋白由 3 个结构域构成, 分别为 Pro-Trp-Trp-Pro (PWWP) 结构域、ATRX-DNMT3-DNMT3L (ADD) 结构域和甲基转移酶 (MTase) 结构域 (图 1)。PWWP 结构域与 DNA、组蛋白的结合有着密切的联系, 主要表现在与组蛋白 H3 第 36 位三甲基化赖氨酸 (H3K36me3) 的结合^[13]。H3K36me3 在基因区和重复元件高度富集, 作为重要的表观修饰标记, 它在染色质中的位置和转录延伸密切相关^[14]。ADD 结构域可与组蛋白 H3 结合并调控自身蛋白酶活性, 具体表现为: ADD 会与未经修饰的组蛋白 H3 结合, 通过影响 ADD 结构域与 MTase 结构域的作用, 增强整个甲基转移酶的活性。相反, 这种结合作用可被 H3 的各种翻译后修饰打断, 包括第 4 位上赖氨酸的双甲基化 (H3K4me2)、三甲基化 (H3K4me3)、乙酰化 (H3K4ac), 以及其他位置上苏氨酸的磷酸化^[13-15]。其中, 尤以 H3K4me3 的作用最为突出, H3K4me3 也因此成为一个重要的生物标记^[13]。另外, ADD 区域与其他染色质修饰酶也有着结合作用, 包括异染色质蛋白 1 (HP1)、组蛋白去乙酰化酶 1 (HDAC1) 及组蛋白赖氨酸甲基转移酶 (EZH2、SETDB1)^[16] (图 1)。这些组蛋白修饰酶与 DNA 修饰酶结合的作用机制尚不清楚, 但普遍推测它们的结合对于解释 DNMT3A 的致癌机制十分关键。C 末端

的 MTase 结构域具有高度保守性, 以保证整个甲基转移酶蛋白的功能稳定性, 使其能准确地与未甲基化的 DNA 结合, 把 S-腺苷基甲硫氨酸 (SAM) 提供的甲基转移到胞嘧啶第 5 个 C 原子上^[17]。

2 DNMT3A 与血液肿瘤

2.1 血液肿瘤的致病基因

造血干细胞一方面通过分化形成各系具有特异功能的成熟细胞, 另一方面通过自我更新来维持造血能力, 这种平衡对于维持血液系统的稳定至关重要。一旦发生基因突变、染色体易位等遗传学异常事件, 使干祖细胞分化受阻或增殖异常, 就可能诱发血液系统疾病。长期以来, 人们公认与 AML 发病相关的致病基因主要包括 2 类: 第 I 类是转录因子异常, 使造血细胞分化阻滞、凋亡受抑; 第 II 类是酪氨酸激酶异常, 赋予造血前体细胞增殖和生存优势。血液肿瘤分子水平缓解率低、复发率较高以及复发后难治等多重问题一直存在, 主要归结于它的发生发展是复杂多步骤的过程, 而这也提示着除了传统的 2 类致病基因外, 可能还存在其他异常事件。近年来, 人们利用大规模基因组测序技术在血液肿瘤样本中检测到 1 类新的与表观遗传学调控相关的基因突变, 主要包括 *DNMT3A*、*IDH1*、*IDH2*、*TET2*、*MLL*、*NSD1* 等与 DNA 甲基化修饰以及组蛋白甲基化修饰相关的基因突变, 由此提出了表观遗传学异常是 AML 的第 III 类致病基因的观点^[18], 极大地丰富了 AML 发病机制的理论。

2.2 DNMT3A 基因在血液肿瘤中的突变频率

自 2010 年以来, 国内外课题组相继报道了 *DNMT3A* 基因突变在临床上的意义^[19-21], 发现 *DNMT3A* 基因突变可见于多种血液系统肿瘤 (表 1)。研究发现 *DNMT3A* 突变在 AML 中发生频率较高, 尤其集中在 AML-M4、AML-M5 这 2 种亚型, 并且发现第 882 位的精氨酸 (R882) 为突变热点。以上海血液学研究所的研究为例^[21], 针对 112 例 AML-M5 患者进行了全外显子组测序, 发现 20.5% 的患者存在 *DNMT3A* 突变, 尤其以 R882 位点的突变频率最高; 同时在 AML-M4 患者中检测到了 13.6% (9/66) 的 *DNMT3A* 突变。与不含 *DNMT3A* 突变的患者相比较, 突变患者在年龄上相对年长 ($P=0.022$), 白细胞数量相对较高 ($P=0.003$), 总生存期 (OS) 短 ($P=0.004$), 治疗失败时间 (time to treatment failure, TTF) 也短 ($P=0.005$)。甲基化谱芯片和表达谱芯片的进一步分析显示, 携带 *DNMT3A* 突变的标本呈现基因组甲基化状态及基因转录表达水平异常,

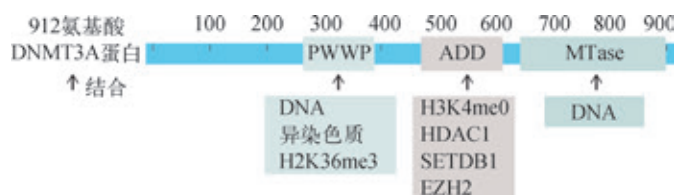


图 1 DNMT3A 蛋白结构示意图

Fig 1 Schematic diagram of DNMT3A protein structure

某些在造血中发挥重要作用的基因 (如 *HOXB* 家族基因和 *IDH1* 基因) 显现一致性的转录水平上调和相应启动子区的低甲基化。随后, 国内外研究人员陆续报道约 13% 骨髓增生异常综合征 (MDS)、6.5% 骨髓增殖性肿瘤 (MPN)^[22]、2% 慢性粒单核细胞白血病 (CMML)^[23] 以及 3% 儿童粒单核细胞白血病患者中均存在 *DNMT3A* 突变^[24]。另外, 除髓系疾病外, 在淋巴系疾病中同样也检测到了 *DNMT3A* 突变。在 T 细胞淋巴瘤 (PTCL) 中突变频率达到 26.6%^[25]; T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T-ALL) 中, 尤其是早期前体 T 细胞白血病 (ETP-ALL), *DNMT3A* 突变频率约 16.2%^[26]。

表 1 各种血液肿瘤中 *DNMT3A* 的突变频率
Tab 1 Mutation frequency of *DNMT3A* in hematological malignancies

疾病类型	分类	突变频率 /%	参考文献
成人 AML	De novo AML	62/281 (22.1)	[20]
	De novo CN-AML	36/123 (29.3)	[27]
	CN-AML	142/415 (34.2)	[28]
	AML-M5	23/112 (20.5)	[21]
儿童 AML	De novo AML	2/206 (1.0)	[29]
成人 T-ALL	T-ALL	16/83 (19.3)	[30]
MDS	De novo MDS	127/944 (13.5)	[22]
MPN	All MPNs	10/155 (6.5)	[31]
T-cell lymphomas	T-cell lymphomas	11/96 (11.4)	[32]
	AITL, PTCL-NOS	21/79 (26.6)	[25]
	CTCL	17/40 (42.5)	[33]

2.3 *DNMT3A* 突变相关的血液系统疾病的临床特点

2.3.1 突变类型与血液肿瘤的相关性 *DNMT3A* 突变位点以及突变类型的多样性与不同类型的血液肿瘤相关。在有 *DNMT3A* 突变的 AML 患者中, 60% 的突变发生在 R882 位点^[20]; 在其他有 *DNMT3A* 突变的髓系疾病中, 突变也较多地集中在 R882 位点^[34-35]。有研究表明, *DNMT3A* R882 突变通过干扰其自身同源四聚体形成, 导致其蛋白成为一种低形态蛋白, 抑制野生型 *DNMT3A* 的甲基转移酶活性, 从而呈现出显性负调控的功能^[36]。突变后酶活性较野生型减少 80%, 而非 R882 突变能保留野生蛋白 50%

左右的酶活功能。相较于髓系肿瘤中典型的单等位基因突变, T-ALL 中的 *DNMT3A* 突变则更多地表现为双等位基因突变^[26], 双等位基因的突变意味着蛋白酶活性更显著的丧失。PTCL 中突变位点虽然集中在甲基转移酶催化结构域, 但是不发生在 R882 位点。

2.3.2 突变与不良预后相关 上海血液学研究所^[18] 分析了 1 185 例 AML 患者的基因突变谱及其对预后的影响, 发现与完全缓解率 (complete remission, CR) 较高的 *CEBPA* (67.5%) 突变患者相比, *DNMT3A* 突变患者的 CR 显著降低 (45.8%, $P=0.014$); 与 *NPM1* 突变患者相比, 当 *DNMT3A* 突变与 *NPM1* 突变共存的时候, 患者的 CR 显著降低 ($P=0.017$)。 *DNMT3A* 突变的患者呈现出更短的 OS ($P<0.001$) 以及 TTF ($P=0.001$)。国际上 Ley 等^[20] 的报道也指出 *DNMT3A* 突变对患者生存期有显著的影响, 提示 *DNMT3A* 可以作为一种独立的不良预后分子标志。

2.3.3 突变与年龄相关 *DNMT3A* 突变主要发生在老年人群, 往往与正常核型、高白细胞、高血小板等检测指标密切相关。近年来, 包括 *DNMT3A*、*TET2* 以及 *ASXL1* 在内的表观遗传相关基因突变, 被认为是一种年龄相关性的克隆造血异常, 可存在于健康老年人骨髓细胞中^[37]。尽管具有这种异常克隆造血的人能够存活相对较长的时间, 但是这些异常的克隆造血增加了他们患血液肿瘤的概率。将近 42% (13/31) 的血液肿瘤患者, 在确诊前 6 个月时检测到 *DNMT3A* 突变, 进一步说明这些异常克隆造血是继发血液肿瘤的一种高风险因素^[38-39]。

2.3.4 与其他突变共存情况 在已有的临床观察中, 发现 *DNMT3A* 突变很少与其他常见的遗传学异常如 t (15;17)、inv (16) 及 t (8;21) 同时出现, 尽管这些异常核型与 DNA 甲基化有着一定联系, 但在 *DNMT3A* 突变患者中并没有检测到这些染色体易位及其融合基因^[20, 40]。此外, *DNMT3A* 突变与 MLL 重排存在互斥现象, 提示它们可能具有相似的致病机制^[22]。TCGA 数据显示, *DNMT3A* 突变患者往往伴随着 AML 中其他高频突变基因 (如 *NPM1*、*FLT3*、*IDH1*) 的突变 (图 2)。约 60% 的 *DNMT3A* 突变

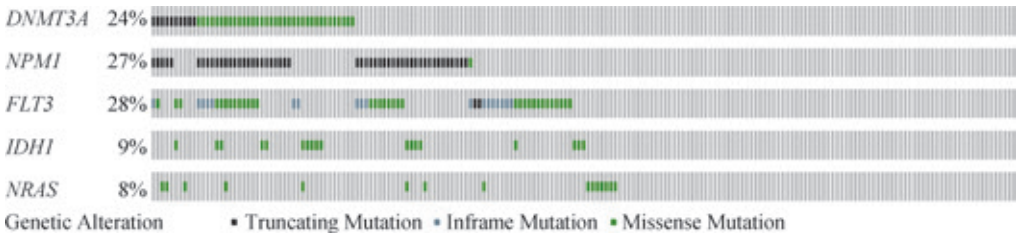


图 2 *DNMT3A* 与 AML 中其他高频突变基因 (数据来自 The Cancer Genome Atlas)
Fig 2 *DNMT3A* and other frequent mutations in AML (data from TCGA)

AML 患者同时伴有 *NPM1* 突变^[20, 28, 40]。*FLT3* 在核型正常的 AML 中突变率达 37% 左右, 而 36% ~ 44% 的患者同时具有 *DNMT3A* 突变和 *FLT3* 突变^[28]。与无 *DNMT3A* 突变的患者相比, 有 *DNMT3A* 突变的患者具有更高的 *NPM1*、*FLT3*、*IDH2* 突变率 (分别为: 54.3% vs 15.3%, $P<0.001$; 42.9% vs 19.3%, $P<0.001$; 22.9% vs 9.1%, $P=0.016$)^[41]。

3 DNMT3A 的功能研究

3.1 *Dnmt3a* 是调控造血干细胞分化的关键基因

Goodell 课题组在条件性 *Dnmt3a* 敲除 (KO) 小鼠中发现, 敲除 *Dnmt3a* 基因后, 造血干细胞 (HSC) 的分化被抑制, 而自我更新能力得以加强; 并且经体内骨髓移植、体外克隆形成传代后, *Dnmt3a* KO 小鼠的 HSC 具有更强的增殖能力^[42]。与此同时, 转录组表达谱的分析也证实了这一点, 敲除 *Dnmt3a* 会上调 HSC 增殖相关的基因并且下调分化相关的基因。Guryanova 等^[43]认为敲除 *Dnmt3a* 的小鼠表现出更强的 HSC 自我更新能力、显著的髓系细胞增殖优势以及髓外造血, 而这些表型更像是 MDS、MPN 等髓系疾病的特征。

3.2 *DNMT3A* 突变是白血病的启动基因

本课题组构建了反转录病毒介导的 *DNMT3A*^{R882H} 骨髓移植 (BMT) 小鼠模型, 发现 *DNMT3A*^{R882H} 突变的小鼠可出现慢性粒单核细胞白血病 (CMML) 的表型^[44]。在近期的报道中, Levine 课题组针对 R882 这一高频突变热点, 构建了与人类 R882H 同源的 R878H 突变条件性敲入 (KI) 小鼠模型, 提出 R882H 突变是该类 AML 患者抵抗化疗、驱使癌症复发的根源, R882H 突变可通过影响核小体结构和染色质重构来增强细胞对药物的抗性^[45]。

目前普遍认为, *DNMT3A* 突变作为一个早期事件参与白血病发生发展的过程^[46-47]。存在于 HSC 中的 *DNMT3A* 突变会使正常造血干细胞转变成一种前白血病细胞, 并随着分化将突变遗传给其下游的细胞^[48-49]。这些带有 *DNMT3A* 突变的不同分化阶段的造血细胞在遭受其他基因突变的二次打击之后, 便易转变成恶性肿瘤细胞, 导致各种血液肿瘤的发生。*Dnmt3a* 缺失的小鼠可以诱发 T-ALL^[50]、MDS、MPN^[43] 等血液疾病表型。而在加入其他基因突变二次打击后, 突变小鼠则可诱发更为急性且凶险的血液肿瘤。Levin 研究组^[43]发现 *Dnmt3a*、*Npm1* 以及 *Flt3-ITD* 3 种基因突变共存的小鼠可导致 AML, 但 *Dnmt3a* 与 *Npm1* 双突变小鼠并不能诱发 AML, 这提示 *Dnmt3a* 与 *Npm1* 双突变 AML 患者的发病机制中可能还需要其他的辅助因素参与。Grimes

课题组发现, 在 *Flt3-ITD* 敲入小鼠中敲除 *Dnmt3a* 单等位基因, 可以将 *Flt3-ITD* 诱发的髓系增殖性疾病转化为自发的、更为急性以及高度浸润性的 AML^[51]。而 Goodell 课题组发现, *Dnmt3a* 双等位基因敲除以及 *flt3-ITD* 突变的小鼠呈现出 T-ALL 表型^[52]。也有报道显示 *DNMT3A* 突变与 *RAS* 突变可协同诱发白血病。通过反转录病毒将 *NRAS*^{G12D} 突变转导入 *Dnmt3a* KO 小鼠的 HSC, 构建的骨髓移植小鼠模型也可表现出 AML 的表型^[50]。同时, 在 DNA 分子层面发现, 二次打击小鼠的白血病细胞中造血相关基因的增强子区域呈现低甲基化状态。

4 治疗策略及展望

DNMT3A 突变存在于血液肿瘤患者的前白血病干细胞中, 这一类前白血病干细胞在白血病确诊前就已经存在。并且, 前白血病干细胞往往对当前以蒽环类药物为主的传统化疗方案耐受, 可逃逸药物的杀伤。相关报道指出具有 *DNMT3A* 突变的血液肿瘤患者经传统化疗并达到 CR 后, 其干细胞中仍能检测到 *DNMT3A* 突变, 且患者复发后该突变仍一直存在^[48, 53]。因此, *DNMT3A* 突变的前白血病干细胞被认为是微小残留病灶 (MRD) 的存在, 是血液肿瘤患者难治复发的根源。只有清除这些前白血病干细胞才能使患者达到更好的治疗效果, 防止复发。*DNMT3A* 突变在临床上具有如此重要的预后意义, 使得针对 *DNMT3A* 突变的靶向治疗受到广泛关注, 成为当前癌症研究的热点。目前有研究组分别报道 DNA 去甲基化药物^[54]、组蛋白 H3 甲基化转移酶抑制剂^[55]及 MLL 抑制剂^[56]通过抑制 *HOX* 家族基因表达, 促进肿瘤细胞凋亡, 对 *DNMT3A* 突变的血液疾病起到一定的治疗作用。

5 结语

以 *DNMT3A* 为代表的表观遗传相关基因, 在血液肿瘤中尤其是 AML 中发生高频突变, 构成 AML 的 III 类致病基因。*DNMT3A* 突变是独立的预后不良的分子标志, 对临床治疗具有重要的指导意义。具有 *DNMT3A* 突变的前白血病干细胞可在体内长期潜伏存在, 并且能够逃逸当前传统的化疗方案。此类前白血病干细胞被认为可能正是 AML 患者难治复发的根源, 它们能够再次恶性扩增诱发 AML。只有针对具有 *DNMT3A* 突变的前白血病干细胞的靶向治疗, 才能使此类患者达到真正的完全缓解。为实现这一目标, *DNMT3A* 突变调控造血系统及诱发血液肿瘤分子机制还需要进一步阐明, 针对 *DNMT3A* 突变相关血液肿瘤的靶向治疗方案还有待进一步探索。



参·考·文·献

- [1] Okano M, Bell DW, Haber DA, et al. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development[J]. Cell, 1999, 99(3): 247-257.
- [2] Hermann A, Gowher H, Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases[J]. Cell Mol Life Sci, 2004, 61(19-20): 2571-2587.
- [3] Robertson KD, Uzvolgyi E, Liang G, et al. The human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b: coordinate mRNA expression in normal tissues and overexpression in tumors[J]. Nucleic Acids Res, 1999, 27(11): 2291-2298.
- [4] Li E, Beard C, Jaenisch R. Role for DNA methylation in genomic imprinting[J]. Nature, 1993, 366(6453): 362-365.
- [5] Bestor TH. The DNA methyltransferases of mammals[J]. Hum Mol Genet, 2000, 9(16): 2395-2402.
- [6] Okano M, Xie S, Li E. Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases[J]. Nat Genet, 1998, 19(3): 219-220.
- [7] Wienholz BL, Karetz MS, Moarefi AH, et al. DNMT3L modulates significant and distinct flanking sequence preference for DNA methylation by DNMT3A and DNMT3B *in vivo*[J]. PLoS Genet, 2010, 6(9): e1001106.
- [8] Ashapkin VV, Kutueva LI, Vanyushin BF. Dnmt2 is the most evolutionary conserved and enigmatic cytosine DNA methyltransferase in eukaryotes[J]. Genetika, 2016, 52(3): 269-282.
- [9] Barau J, Teissandier A, Zamudio N, et al. The DNA methyltransferase DNMT3C protects male germ cells from transposon activity[J]. Science, 2016, 354(6314): 909-912.
- [10] Xie S, Wang Z, Okano M, et al. Cloning, expression and chromosome locations of the human DNMT3 gene family[J]. Gene, 1999, 236(1): 87-95.
- [11] Chen T, Ueda Y, Xie S, et al. A novel Dnmt3a isoform produced from an alternative promoter localizes to euchromatin and its expression correlates with active de novo methylation[J]. J Biol Chem, 2002, 277(41): 38746-38754.
- [12] Tadokoro Y, Ema H, Okano M, et al. De novo DNA methyltransferase is essential for self-renewal, but not for differentiation, in hematopoietic stem cells[J]. J Exp Med, 2007, 204(4): 715-722.
- [13] Zhang Y, Jurkowska R, Soerens S, et al. Chromatin methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3a/3L is guided by interaction of the ADD domain with the histone H3 tail[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(13): 4246-4253.
- [14] Guenther MG, Levine SS, Boyer LA, et al. A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells[J]. Cell, 2007, 130(1): 77-88.
- [15] Guo X, Wang L, Li J, et al. Structural insight into autoinhibition and histone H3-induced activation of DNMT3A[J]. Nature, 2015, 517(7536): 640-644.
- [16] Ayyanathan K, Lechner MS, Bell P, et al. Regulated recruitment of HP1 to a euchromatic gene induces mitotically heritable, epigenetic gene silencing: a mammalian cell culture model of gene variegation[J]. Genes Dev, 2003, 17(15): 1855-1869.
- [17] Xu F, Mao C, Ding Y, et al. Molecular and enzymatic profiles of mammalian DNA methyltransferases: structures and targets for drugs[J]. Curr Med Chem, 2010, 17(33): 4052-4071.
- [18] Shen Y, Zhu YM, Fan X, et al. Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2011, 118(20): 5593-5603.
- [19] Yamashita Y, Yuan J, Suetake I, et al. Array-based genomic resequencing of human leukemia[J]. Oncogene, 2010, 29(25): 3723-3731.
- [20] Ley TJ, Ding L, Walter MJ, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 363(25): 2424-2433.
- [21] Yan XJ, Xu J, Gu ZH, et al. Exome sequencing identifies somatic mutations of DNA methyltransferase gene DNMT3A in acute monocytic leukemia[J]. Nat Genet, 2011, 43(4): 309-315.
- [22] Haeflrich T, Nagata Y, Grossmann V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes[J]. Leukemia, 2014, 28(2): 241-247.
- [23] Jankowska AM, Makishima H, Tiu RV, et al. Mutational spectrum analysis of chronic myelomonocytic leukemia includes genes associated with epigenetic regulation: UTX, EZH2, and DNMT3A[J]. Blood, 2011, 118(14): 3932-3941.
- [24] Stieglitz E, Taylor-Weiner AN, Chang TY, et al. The genomic landscape of juvenile myelomonocytic leukemia[J]. Nat Genet, 2015, 47(11): 1326-1333.
- [25] Sakata-Yanagimoto M, Enami T, Yoshida K, et al. Somatic RHOA mutation in angioimmunoblastic T cell lymphoma[J]. Nat Genet, 2014, 46(2): 171-175.
- [26] Grossmann V, Haeflrich C, Weissmann S, et al. The molecular profile of adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: mutations in RUNX1 and DNMT3A are associated with poor prognosis in T-ALL[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2013, 52(4): 410-422.
- [27] Renneville A, Boissel N, Nibourel O, et al. Prognostic significance of DNA methyltransferase 3A mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association[J]. Leukemia, 2012, 26(6): 1247-1254.
- [28] Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, et al. Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia[J]. J Clin Oncol, 2012, 30(7): 742-750.
- [29] Liang DC, Liu HC, Yang CP, et al. Cooperating gene mutations in childhood acute myeloid leukemia with special reference on mutations of ASXL1, TET2, IDH1, IDH2, and DNMT3A[J]. Blood, 2013, 121(15): 2988-2995.
- [30] Neumann M, Heesch S, Schlee C, et al. Whole-exome sequencing in adult ETP-ALL reveals a high rate of DNMT3A mutations[J]. Blood, 2013, 121(23): 4749-4752.
- [31] Stegelmann F, Bullinger L, Schlenk RF, et al. DNMT3A mutations in myeloproliferative neoplasms[J]. Leukemia, 2011, 25(7): 1217-1219.
- [32] Couronne L, Bastard C, Bernard OA. TET2 and DNMT3A mutations in human T-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2012, 366(1): 95-96.
- [33] Choi J, Goh G, Walradt T, et al. Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma[J]. Nat Genet, 2015, 47(9): 1011-1019.
- [34] Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG)[J]. Blood, 2013, 121(23): 4769-4777.
- [35] Roller A, Grossmann V, Bacher U, et al. Landmark analysis of DNMT3A mutations in hematological malignancies[J]. Leukemia, 2013, 27(7): 1573-1578.
- [36] Holz-Schietinger C, Matje DM, Reich NO. Mutations in DNA methyltransferase (DNMT3A) observed in acute myeloid leukemia patients disrupt processive methylation[J]. J Biol Chem, 2012, 287(37): 30941-30951.
- [37] Xie M, Lu C, Wang J, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies[J]. Nat Med, 2014, 20(12): 1472-1478.
- [38] Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes[J]. N Engl J Med, 2014, 371(26): 2488-2498.
- [39] Genovese G, Kahler 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.
- [40] Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2012, 366(12): 1079-1089.
- [41] Hou HA, Kuo YY, Liu CY, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications[J]. Blood, 2012, 119(2): 559-568.
- [42] Challen GA, Sun D, Jeong M, et al. Dnmt3a is essential for hematopoietic stem cell differentiation[J]. Nat Genet, 2011, 44(1): 23-31.
- [43] Guryanova OA, Lieu YK, Garrett-Bakelman FE, et al. Dnmt3a regulates myeloproliferation and liver-specific expansion of hematopoietic stem and progenitor cells[J]. Leukemia, 2016, 30(5): 1133-1142.
- [44] Xu J, Wang YY, Dai YJ, et al. DNMT3A Arg882 mutation drives chronic myelomonocytic leukemia through disturbing gene expression/DNA methylation in hematopoietic cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(7): 2620-2625.
- [45] Guryanova OA, Shank K, Spitzer B, et al. DNMT3A mutations promote anthracycline resistance in acute myeloid leukemia *via* impaired nucleosome remodeling[J]. Nat Med, 2016, 22(12): 1488-1495.
- [46] Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing[J]. Nature, 2012, 481(7382): 506-510.
- [47] Welch JS, Ley TJ, Link DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia[J]. Cell, 2012, 150(2): 264-278.
- [48] Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia[J]. Nature, 2014, 506(7488): 328-333.
- [49] Corces-Zimmerman MR, Hong WJ, Weissman IL, et al. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(7): 2548-2553.
- [50] Mayle A, Yang L, Rodriguez B, et al. Dnmt3a loss predisposes murine hematopoietic stem cells to malignant transformation[J]. Blood, 2015, 125(4): 629-638.
- [51] Meyer SE, Qin T, Muench DE, et al. DNMT3A haploinsufficiency transforms FLT3ITD myeloproliferative disease into a rapid, spontaneous, and fully penetrant acute myeloid leukemia[J]. Cancer Discov, 2016, 6(5): 501-515.
- [52] Yang L, Rodriguez B, Mayle A, et al. DNMT3A loss drives enhancer hypomethylation in FLT3-ITD-associated leukemias[J]. Cancer Cell, 2016, 29(6): 922-934.
- [53] Seton-Rogers S. Leukaemia: a pre-leukaemic reservoir[J]. Nat Rev Cancer, 2014, 14(4): 212.
- [54] Metzeler KH, Walker A, Geyer S, et al. DNMT3A mutations and response to the hypomethylating agent decitabine in acute myeloid leukemia[J]. Leukemia, 2012, 26(5): 1106-1107.
- [55] McLean CM, Karamaker ID, van Leeuwen F. The emerging roles of DOT1L in leukemia and normal development[J]. Leukemia, 2014, 28(11): 2131-2138.
- [56] Cao F, Townsend EC, Karatas H, et al. Targeting MLL1 H3K4 methyltransferase activity in mixed-lineage leukemia[J]. Mol Cell, 2014, 53(2): 247-261.

[收稿日期] 2017-03-16

[本文编辑] 邵碧云

