

急性髓系白血病相关基因的DNA甲基化

洪青晓¹ 叶华丹¹ 汤琳琳¹ 蒋丹捷¹ 季慧慧¹ 戴东君¹ 欧阳桂芳^{2*} 段世伟^{1*}

(¹宁波大学医学院, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211; ²宁波市第一医院血液科, 宁波 315010)

摘要 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是异质性造血干细胞恶性克隆性疾病, 主要表现为外周血、骨髓以及其他组织中的原始细胞克隆性扩增。近年来, AML发病率呈逐年增加的趋势, 对人类健康产生巨大的威胁。在不同种族及不同性别中, AML发病率及死亡率存在显著差异。AML是一种复杂疾病, 与遗传突变及异常表观遗传修饰密切相关。DNA甲基化是重要的表观遗传修饰, AML相关基因的异常DNA甲基化修饰对疾病的发生发展极其重要。该文对AML相关基因的异常甲基化修饰进行了系统的作用机制分析, 并对重要基因进行了功能分类。该文总结的具有异常DNA甲基化修饰的基因, 有望辅助预测AML的治疗及预后效果, 并为设计个体化AML治疗方案提供全新的思路。

关键词 急性髓系白血病; 表观遗传学; 甲基化

Progress in DNA Methylation Research on Genes Associated with Acute Myeloid Leukemia

Hong Qingxiao¹, Ye Huadan¹, Tang Linlin¹, Jiang Danjie¹, Ji Huihui¹,
Dai Dongjun¹, Ouyang Guifang^{2*}, Duan Shiwei^{1*}

(¹Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

²Hematology Department, Ningbo First Hospital, Ningbo 315010, China)

Abstract Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous hematologic malignancy, characterized by the clonal expansion of myeloid blasts in the peripheral blood, bone marrow and other tissues. The incidence of AML increased rapidly in recent years, which has become a huge threat to human health. The incidence and mortality rates of AML are significantly different in various ethnic populations and different genders. As a complex disease, AML is contributed by both genetic mutations and aberrant epigenetic modification. DNA methylation is one kind of important epigenetic modifications. The aberrantly methylated AML-related genes are pivotal to the risk and development of AML. This review collected the aberrantly methylated genes in AML and outlined the mechanisms by which contributed to the risk and pathogenesis of AML. A further classification of these genes was also provided according to their biological functions. These genes might help predict the outcomes of treatment and prognosis of AML, and help develop new individualized chemotherapeutic procedures for AML.

Keywords acute myeloid leukemia; epigenetics; methylation

收稿日期: 2014-06-25 接受日期: 2014-10-21

国家自然科学基金(批准号: 31100919、81371469)、浙江省自然科学基金(批准号: LR13H020003)、宁波市自然科学基金(批准号: 2007A610077、200701A6304004)、宁波大学王宽诚幸福基金和宁波市社会发展科研项目(批准号: 2010C50019)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-87085591, E-mail: ouyangguifang2000@aliyun.com; Tel: 0574-87609950, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn

Received: June 25, 2014 Accepted: October 21, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31100919, 81371469), Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LR13H020003), Natural Science Foundation of Ningbo (Grant No.2007A610077, 200701A6304004) and K. C. Wong Magna Fund in Ningbo University and Ningbo Social Development Research Project (Grant No.2010C50019)

*Corresponding authors. Tel: +86-574-87085591, E-mail: ouyangguifang2000@aliyun.com; Tel: +86-574-87609950, E-mail: duanshiwei@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2015-01-20 10:06

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150120.1006.001.html>

1 AML的概述

急性髓系白血病 (acute myelocytic leukemia, AML) 是最主要的急性白血病亚型 (占 70.6%)。AML 起源于造血干细胞内遗传和表观遗传学改变, 累积变化使细胞自我更新、增殖及分化过程紊乱 (即分化障碍), 并使早期骨髓细胞克隆性群体无限扩增, 最终摧毁正常造血功能^[1]。世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 推荐的 AML 诊断标准, 包括复发性遗传异常、易位、染色体倒位等分类标准以及具有诊断能力的分子标记物。根据染色体异常以及形态学等特征, AML 可分为 5 大类: (1) AML 伴重现性遗传学异常, 比如 AML 伴染色体 t(8; 21)(q22; q22) 易位的 AML1/ETO 融合基因现象; (2) AML 伴多系病态造血, 包括骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndrome, MDS) 史和无 MDS 史但具有二和二系以上病态造血 (病态细胞 $\geq 50\%$); (3) 治疗相关的 AML 以及 MDS, 包括烷化剂相关的以及拓扑异构酶 II 抑制剂相关的; (4) 无特殊细胞遗传易位的 AML, 分为 M0、M1、M2、M4、M5、M6、M7; (5) 急性嗜碱性粒细胞白血病、急性全髓增殖性疾病伴骨髓纤维化、髓系肉瘤等。

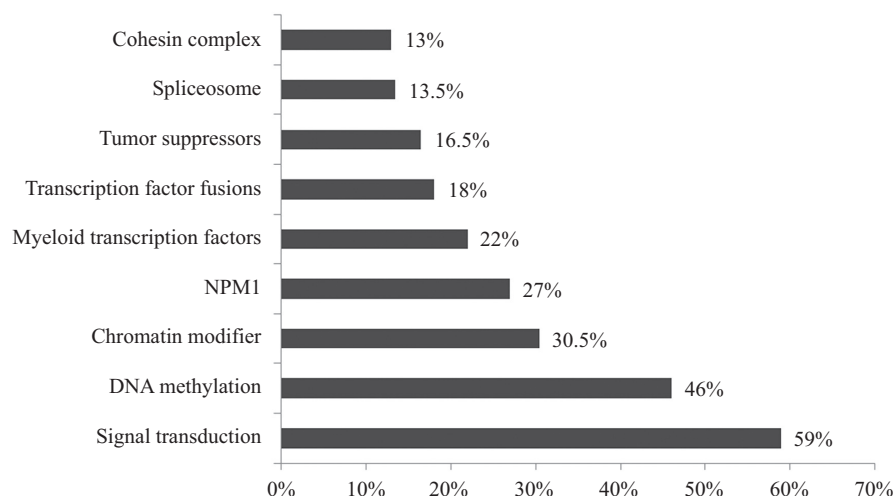
AML 对人类健康有巨大的威胁, 是急性白血病中发病最多且病人生存率最低的异质性疾病^[2-3]。在欧洲成年人中, AML 每年发生率为 5~8/10 万, 死亡率为 4~6/10 万人。在美国, 仅 2012 年就有 13 780 新发 AML 病例 (约 4.39/10 万), 10 200 人死于 AML (约 3.25/10 万)^[4]。在中国, 年轻人中患病率为 2~3/10 万, 70 岁以上患病率为 13~15/10 万^[5]。尽管比例较低, 然而因人口基数大, AML 已成为中国社会和家庭的巨大威胁。此外, AML 发病率及死亡率存在极大的种族差异。AML 发病率与年龄增长呈正相关, 在超过 70 岁的人群中发病率和死亡率急剧升高, 发病率每年约为 15~25/10 万。

2 AML 的发病机制

2.1 AML 相关的遗传突变

目前, 已发现了大量的细胞遗传学及分子生物学标志物, 这为 AML 的治疗及风险等级判定提供了帮助。这些突变包括 FMS 样酪氨酸激酶 *FLT3* (Fms-related tyrosine kinase 3) 的突变 (AML 中突变率为 37%~46%)^[6]、核仁磷酸化蛋白基因 *NPM1* (nucleophosmin) 的突变 (AML 中突变率为

21%)^[7] 和髓系转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白-A 基因 *CEBPA* (CCAAT/enhancer binding protein alpha) 的突变。研究表明, *NPM1* 突变且 *FIL3-ITD* 未突变的 AML 患者预后较好, *FLT3-ITD* 突变可见于 30%~40% 核型正常的 AML 患者, 这类患者往往预后较差。*KIT* (v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog) 原癌基因编码 III 级转膜受体酪氨酸激酶, 包含 2 个蛋白酪氨酸激酶结构域 (protein tyrosine kinase, *PTK1* 和 *PTK2*), 在 AML 中 (8 号外显子突变或者主要的 *PTK2* 区域即 *D816* 突变) 存在 *KIT* 的突变, 其中 8 号外显子突变可增加复发风险, *KIT-D816* 突变与较高的血细胞计数相关。另外, c-KIT 受体在 AML 中表达较正常造血干细胞高, 并且男性中 c-KIT 基因突变率显著高于女性, 伴 c-KIT 突变的患者具有较高的复发率和死亡率^[8]。融合基因 (*FG*) 是 AML 中常见的异常形式, *FG* 的精确定量测定可以应用于 35%~45% 的 AML 和 ALL 以及 90% 的 CML (chronic myeloid leukemia)。其中, *AML1-ETO* 融合基因在约 8% 的儿童、青年 AML 患者以及 40% 的 M2 中呈阳性。*AML1-ETO* 阳性患者对化疗反应较敏感, 大剂量阿糖胞苷治疗效果好, 具有较高的缓解率和较长的无病生存期。并且 *AML1-ETO* 融合阳性 AML 患者中 *KIT-D816* 突变率较正常核型以及其他复杂异常核型的患者更高。这些突变与 *AML1-ETO* 融合阳性患者的不良预后有关, 但是与正常核型的 AML 患者的预后没有意义, 而伴 t(8;21) 易位的 *AML1-ETO* 融合病人有较好的预后^[9]。*PML-RAR α* (promyelocytic leukemia-retinoic acid receptor alpha) 融合基因可见于 95% 以上的 APL 患者, 可产生三种融合基因型: 长型 (L 型)、短型 (S 型) 和变异型 (V 型), 不同的基因型有不同的临床治疗和预后。其中, V 型 3 年无病生存率比 L 型和 S 型低。S 型与 V 型 *PML-RAR α* 患者较 L 型患者的 CR 期短、复发率高、预后差^[10]。S 型与血细胞数目增加有关, 并伴复发的风险和较差的预后。此外, *BCR-ABL* (breakpoint cluster region-c-abl oncogene 1) 基因影响造血系统细胞, 见于 95% 以上的 CML 患者, 而且所编码蛋白 p190Bcr-Abl 或 p210Bcr-Abl 也存在于费城染色体阳性 (Ph+) AML 患者中。Ph+ AML 疾病是一种预后较差的 AML, 可按 CML 急髓变进行处理, 可指导 *BCR-ABL* 阳性患者的治疗即伊马替尼联合化疗途径^[11], 所以 *BCR-ABL* 基因及其变异体的检测可作为白血病的诊断和治疗筛查指标。而人 15 号染色



百分比表示在所有AML病例中的发生率。

Percentages are incidence of all AML cases.

图1 AML中常见突变基因功能分类

Fig.1 Functional classification of the commonly mutated genes in AML

体和17号染色体的易位t(15;17)一般见于AML-M3, 8号染色体和21号染色体易位t(8;21)一般存在于M2, 也可见于M1、M4、MDS中。

如图1所示, 根据AML病例中突变基因的综合功能分析, 可将AML相关的遗传变异分为9种类型, 包括转录因子基因融合、核仁磷酸化蛋白基因NPM1突变^[12]、肿瘤抑制基因突变、两组表观修饰基因改变(DNA甲基化和染色质修饰)、信号转导基因突变、髓转录因子基因突变、复合体基因^[13]及基因复杂剪接体^[6]突变。此外, AML病人中与DNA甲基化相关的突变占很大比例, 说明DNA甲基化异常修饰在AML发病中起重要作用^[14]。

2.2 AML相关的异常DNA甲基化修饰基因及其作用机制

DNA甲基化是不通过改变DNA序列而使基因表达发生改变的一种表观遗传修饰。在祖细胞分化时, 决定特异造血细胞分化方向的基因, 其启动子通常处于去甲基化状态, 而负责维持干细胞或祖细胞状态的基因如MEIS1(Meis homeobox 1)和HOXA9 (Homeobox A9), 其启动子甲基化修饰升高^[15]。基因启动子区CpG岛高甲基化修饰是基因沉默的重要机制。同时, DNA甲基转移酶是基因组甲基化的关键酶, 对调节基因表达和抑制方面有重要作用。在模型动物鼠研究中, 条件性敲除DNA甲基转移酶1和DNA甲基转移酶3基因(Dnmt1和Dnmt3)^[16], 揭示出DNA甲基化在阻碍自我更新和正常造血干细胞HSCs(hematopoietic stem cells)分化以及白血病干细

胞LSCs(leukemia stem cells)中的作用。

在AML病人中存在异常甲基化可出现较差的预后, 同时异常DNA甲基化修饰是肿瘤抑制基因失活、癌基因表达活跃、MDS演变为AML克隆变异的主要机制^[17]。因此, 恢复AML相关基因启动子区的正常甲基化修饰, 有助于恢复基因的正常表达以及达到治疗AML的目标。

目前研究表明, DNA甲基化对疾病的影响主要通过三种机制: 首先是直接作用机制, 即DNA甲基化可直接改变基因的结构, 使其不能与转录因子结合, 从而影响基因转录的进行; 其次是间接作用机制, 即不同类型的甲基化DNA结合蛋白如: MeCP2(methyl CpG binding protein 2)、MBD1(methyl-CpG binding domain protein 1)通过其保守的蛋白质基序与甲基化区域结合, 阻止转录因子与基因形成转录复合物, 从而抑制基因转录; 最后是随机作用模式, DNA甲基化会通过影响染色体的构象诱使染色体不稳定性升高, 导致染色体重组高频发生^[18]。

与AML疾病相关的异常DNA甲基化包括低甲基化和高甲基化。CpG富集区域的低甲基化常发生于DNA重复序列, 比如长散布核元件。它可激活原癌基因, 形成突变热点, 导致转座子的异常活化等。而启动子区域CpG岛的高甲基化可引起基因沉默, 也影响着肿瘤发生的各个阶段, 比如抑癌基因启动子的高甲基化的失活, 可使细胞失去抑制增殖的作用, 以及出现DNA错配修复系统紊乱等情况。综

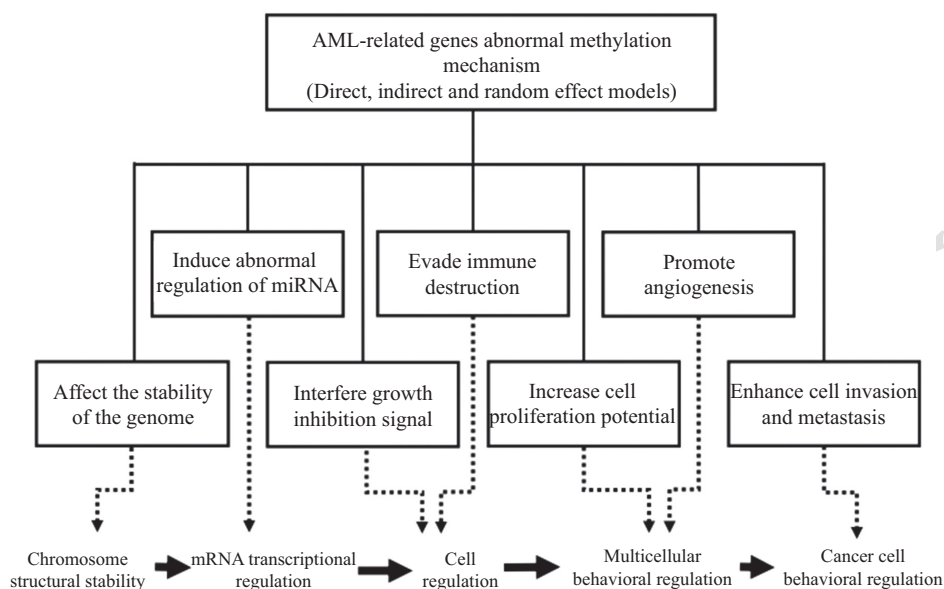


图2 AML相关的基因异常甲基化作用机制

Fig.2 The mechanisms of the aberrantly methylated genes in AML

合AML研究现况,我们从以下7个方面归纳了异常DNA甲基化与AML发生发展的相关作用及其分子机制(图2)。

2.2.1 影响基因组稳定 DNA甲基化异常修饰可导致染色体结构维持基因的功能改变,继而诱发染色体结构畸变,促进肿瘤的发生和发展。作为重要的复制后修复机制,错配修复在维持基因组稳定中发挥重要的作用,不仅可以通过识别DNA损伤介导细胞的凋亡,而且会影响基因组的稳定。如错配修复相关基因脆性组氨酸三联体基因*FHIT*(fragile histidine triad)、MutL蛋白同源物*MLH1*(MutL homolog 1)、O-6-甲基鸟嘌呤DNA甲基转移酶*MGMT*(O-6-methylguanine-DNA methyltransferase)等基因的甲基化都会对基因组的稳定产生影响。其中,*FHIT*是位于3号染色体的脆性位点,其高甲基化修饰导致基因表达下调,继而使错配修复能力缺失导致基因组不稳定性升高^[19],此外还可促进突变肿瘤细胞逃避细胞控制,对AML发生发展有重要的影响。而AML患者中还存在*MLH1*启动子甲基化的现象,在错配发生时*MLH1*可引发细胞周期停滞并针对DNA受损部位进行修复,并且*MLH1*和癌症组织分化有关联性^[20]。*MGMT*编码的酶可以修复各种烷化剂造成的DNA损伤,其启动子的甲基化被认为是肿瘤对烷化剂反应的有用预测,可根据酶活力的不同对肿瘤患者实施不同的化疗方案^[21]。

2.2.2 诱发miRNA异常调节 微小RNA(miRNA)

是近年来发现的一类长约22碱基的内源性单链非编码小分子RNA。它们通过靶向特定的mRNA的3'非翻译区抑制基因的转录后表达,从而介导mRNA的切割或翻译抑制。miRNA参与多种调节途径,分别涉及发育、病毒防御、造血过程、器官形成、细胞增殖以及凋亡、脂肪代谢等过程,可以作为疾病诊断和预后的新的生物标志物^[22]。已证明肿瘤抑制基因的miRNA的甲基化与多种人类癌症相关。

miR-203是近年发现的一种皮肤特异性的miRNA,可与靶基因共同作用参与肿瘤细胞增殖分化。研究表明,伊马替尼治疗可诱使AML患者中靶向融合基因*BCR-ABL1*的miR-203基因启动子区发生去甲基化,从而上调miR-203表达,继而抑制*BCR-ABL1*阳性白血病细胞的增殖^[23]。*Let-7*家族可促进细胞非依赖性生长、肿瘤染色体转位、致癌性转化。其中,*Let-7a-3*基因在81.1%的AML病人中高甲基化修饰而表达沉默,继而丧失了对原癌基因*Ras*和*Myc*的靶向调节,导致AML病人生存率降低^[24]。miR-9在造血干细胞中表达,是新兴的器官发育和神经发生的重要调节器。在AML中miR-9高甲基化修饰使其表达受抑制,进而诱使细胞髓样分化,促进造血系统的癌变^[25]。位于14号染色体的miR-370可靶向*FOXO1*转录因子,促进细胞周期进程。原发性AML患者初始细胞中miR-370出现高甲基化而表达沉默,而服用5-氮杂-2'-脱氧胞苷后,降低甲基化修饰后可上调miR-370表达^[26]。此外,miR-663位于20号染色

体上,与细胞衰老和免疫系统相关,其表达下调可导致异常的细胞增生以及癌变。在45.5%的白血病细胞系及41.4%的中国儿童AML患者中,miR-663经高甲基化修饰而表达下调,这可能暗示miR-663的高甲基化修饰是AML发生的早期事件^[27]。综上,miRNA的甲基化研究对AML治疗有重要意义。

2.2.3 干扰生长抑制信号 细胞周期检查点阻滞信号及细胞凋亡相关信号等重要信号分子的编码基因(*RA*、TNF receptor superfamily, member 6, *FAS*、*Caspase3*)可发生异常DNA甲基化,从而干扰细胞生长的抑制信号。如花生四烯酸12-脂氧合酶(arachidonate 12-lipoxygenase Homo sapiens, *ALOX12*)、死亡相关蛋白激酶1(death-associated protein kinase 1, *DAPK1*)、DNA结合抑制因子(inhibitor of DNA binding 4, *ID4*)、维甲酸受体基因(Retinoic acid receptor, *RAR*)、视黄酸核受体基因(retinoic acid receptor, alpha, *RARA*)等的异常甲基化作用与细胞生长抑制信号的缺失有关。*ALOX12*是多聚不饱和脂肪酸代谢与肿瘤发展的重要靶作用分子,可抑制癌细胞生长诱导细胞凋亡^[28]。*DAPK1*是 γ -干扰素诱导的程序性细胞死亡的正介体,可以引发体内细胞凋亡的发生,而白血病中启动子甲基化诱使表观遗传沉默^[29]。抑癌基因*ID4*启动子的甲基化使得*ID4*表达沉默。药物地西他滨治疗AML患者即是通过降低*ID4*基因的甲基化来发挥肿瘤抑制作用的^[30]。*RAR*和维甲酸组成X受体(*RXR*)可形成异源二聚体结合共识视黄酸反应元件(*RAREs*),可导致染色质重塑继而诱导靶基因的转录,控制细胞增殖、分化和凋亡。AML中*RARA2*基因启动子出现高甲基化,可抑制*RARA2*表达,从而导致对生长抑制信号的脱敏现象^[31]。*RARA*以配体依赖的模式调节转录,与发育、分化、凋亡有关,并且是第一个被指出的通过易位和异常甲基化调节的粒细胞特异性转录因子。研究表明,*RARA*启动子甲基化引起的表达下调与急性早幼粒细胞白血病高度相关^[32],此外发现该基因存在选择性剪接转录变体,所发生的易位(如*PML-RARA*)是M3的特征参数。

2.2.4 规避免疫破坏 AML患者机体免疫功能有不同程度的降低。骨髓作为白细胞生成主要部位,其病变必然导致细胞免疫系统的损伤^[33]。通过累积免疫系统损伤,肿瘤细胞可逃避免疫系统的破坏。此外,白血病细胞可诱导机体产生免疫抑制因子,如转化

生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β)、白细胞介素-6(IL-6)等,对机体抗肿瘤免疫应答起负性调节作用^[34]。*INK4B(p15)*基因是细胞周期蛋白依赖性激酶CDK4(cyclin-dependent kinase 4)和CDK6(cyclin-dependent kinase 6)的抑制剂,其表达由转化生长因子TGF- β 诱导调节^[35]。在AML患者中,*INK4B*(Cyclin-dependent kinase inhibitor 2B)基因启动子高甲基化频发且伴随较差的预后。*INK4B*高甲基化可能会导致白血病细胞逃脱TGF- β 的调节,此外,AML的发生有可能是未成熟的骨髓细胞通过TGF- β 抑制效应逃避G₁期调节而无限增殖的结果^[36]。此外,GLI病程相关蛋白1(GLI pathogenesis-related 1, *GLIPR1*)、过氧化物氧化还原酶2(peroxiredoxin 2, *PRDX2*)的异常甲基化也对免疫作用产生影响。*GLIPR1*与巨噬细胞分化相关联,通过基因的甲基化降低该基因的表达从而与癌症有关。*PRDX2*可以降低烷基过氧化氢和氢过氧化物。Nrf2传导通路可以抑制ROS的作用,展现强有力的抗炎症效应,而*PRDX2*所编码的蛋白在细胞中有抗氧化保护作用,因此,*PRDX2*是AML的一种潜在的肿瘤抑制基因。在AML中,该基因启动子有高甲基化现象,而其低表达与疾病预后不良有关^[37]。

2.2.5 增加细胞增殖潜能 细胞增殖潜能的激发对肿瘤的发生起关键性作用,其中无翼型MMTV集成家族5A(wingless-type MMTV integration site family member 5A, *WNT5A*)、polo样激酶2(Polo-like kinase 2, *PLK2*)、分泌型跨膜相关蛋白(secreted frizzled-related protein: *SFRP1*、*SFRP2*、*SFRP5*)、蛋白质酪氨酸磷酸酶非受体因子(protein tyrosine phosphatase non-receptor, *SHP1*)、WNT抑制因子1(WNT inhibitory factor 1, *WIF1*)、肿瘤蛋白73(tumor protein p73, *TP73*)、周期生物钟基因3(period homolog 3, *PER3*)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂(cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/2B, *CDKN2A*、*CDKN2B*)、小核核糖核蛋白多肽N(*C/EBP ζ*)、CCAAT/增强子结合蛋白(*CEBPA*)、癌症中高甲基化基因1(hypermethylated in cancer 1, *HIC1*)、runt相关转录因子3(runt-related transcription factor 3, *RUNX3*)、*SNRPN*(small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N)等的甲基化均对细胞的增殖分化产生影响,在AML中,这些基因的转录沉默、功能缺失与多种恶性肿瘤的发生发展有关。

端粒酶是基本的核蛋白逆转录酶,可以延长染色体端粒长度,从而增强细胞的增殖能力。端粒酶编码基因(telomerase reverse transcriptase, *TERT*)随体细胞复制而逐渐缩短,从而在细胞衰老中发挥作用。在肿瘤的发生中,*TERT*的表达下调具有重要作用。其中,AML病人*TERT*甲基化程度明显高于正常人^[38],脱甲基化药物地西他滨诱导治疗可明显降低*TERT*表达和端粒酶活性。此外,白血病治疗药物砷剂(As_2O_3)也具有下调端粒酶活性的作用。砷剂可诱导白血病细胞*DKK-1*(dickkopf WNT signaling pathway inhibitor-1)基因去甲基化,从而抑制WNT/ β -catenin信号转导通路的异常激活^[39],继而下调端粒酶活性^[40]。抑癌基因*p53*启动子区发生异常高甲

基化,也可增加细胞的无限增殖潜能。

2.2.6 促新生血管生成 恶性肿瘤的发生通常伴随新生血管的生成,而抗肿瘤血管生成的治疗方法是一种很有前景的治疗方法。研究发现,血管内皮生成因子(vascular endothelial growth factor A, *VEGF*)、钙黏蛋白13(Cadherin 13, *CDH13*)、谷胱甘肽S-转移酶1(glutathione S-transferase 1, *GSTM1*)、*JUNB*(Jun B proto-oncogene)原癌基因等是功能强大的多生物学效应细胞因子。其中,*VEGF*是血管内皮细胞的特异性肝素结合生长因子,可以诱导体内血管生成。AML患者中存在血管增生、微血管密度(MVD)增高、血清血浆中VEGF含量增高以及VEGF启动子低甲基化修饰等现象,VEGF启动子低甲基化可促使该

表1 AML相关的异常甲基化修饰基因
Table 1 The aberrantly methylated genes in AML

基因分类 Gene classification	DNA甲基化修饰变化 Changes of DNA methylation	基因的表达 Gene expression	研究地区 Regions
Affect the stability of the genome	<i>DNMT1</i> +	NA	Japan ^[49]
	<i>FHIT</i> +	Down regulation	USA ^[50]
	<i>MLH1</i> +	No association	Germany ^[20]
	<i>MGMT</i> +	Down regulation	Serbia ^[51]
Interfere growth inhibition signal	<i>ALOX12</i> +	NA	Britain ^[28]
	<i>DAPK1</i> +	Down regulation	Italy ^[29]
	<i>ID4</i> +	NA	China ^[14]
	<i>RARA</i> +	Down regulation	Hong Kong ^[32]
Evade immune destruction	<i>INK4B</i> +	Down regulation	Canada ^[52]
	<i>GLIPR1</i> +	Down regulation	China ^[53]
	<i>PRDX2</i> +	NA	Germany ^[54]
	<i>WNT5A</i> +	Down regulation	Spain ^[55]
Increase cell proliferation potential	<i>PLK2</i> +	Down regulation	Greece ^[56]
	<i>SFRP1</i> +	Down regulation	China ^[57]
	<i>SFRP2</i> +	Down regulation	China ^[57]
	<i>SFRP5</i> +	Down regulation	China ^[57] , USA ^[58]
	<i>SHP1/PTPN6</i> +	NA	Korea ^[59]
	<i>WIF1</i> +	NA	USA ^[58]
	<i>TP73</i> +	NA	Brazil ^[60]
	<i>PER3</i> +	Down regulation	China ^[61]
	<i>CDKN2A</i> +	Down regulation	Brazil ^[14]
	<i>CDKN2B</i> +	Down regulation	China ^[62] , USA ^[14]
	<i>C/EBPζ</i> +	Down regulation	China ^[63]
	<i>HIC1</i> +	No association	Cell line ^[64]
	<i>RUNX3</i> +	NA	USA ^[58]
	<i>SNRPN</i> +	NA	Greece ^[65]
Promote angiogenesis	<i>TERT</i> +	Up regulation	UK ^[38]
	<i>VEGF</i> -	Up regulation	Germany ^[41]
	<i>CDH13</i> +	NA	USA ^[43]
	<i>GSTM1</i> +	NA	Britain ^[28]
Enhance cell invasion and metastasis	<i>JUNB</i> +	Down regulation	Britain ^[66]
	<i>ZO-1</i> +	Down regulation	China ^[67]
	<i>CDH1</i> +	NA	Denmark ^[68]
	<i>CDH13</i> +	NA	USA ^[43]
	<i>GRAF</i> +	Down regulation	Denmark ^[69]

“+”表示DNA甲基化水平上升;“-”表示DNA甲基化水平下降;NA表示没有表达数据。

“+” indicates increased DNA methylation level;“-” indicates decreased DNA methylation level; NA indicates a lack of expression data.

因子的表达,使白血病细胞以自分泌或旁分泌的方式生长,导致AML发生。此外,AML中VEGF受体因子*VEGF-Rs*的含量也较正常人高,*VEGF-Rs*基因发生高甲基化可沉默基因表达^[41],目前靶向*VEGF-Rs*的去甲基化药物已在临床中应用^[42]。而*CDH13*所编码的蛋白质是定位于细胞膜表面的一个GPI锚定基团,可防止血管内皮细胞凋亡并与抗动脉粥样硬化有关。筛查AML的全基因组甲基化CpG岛发现频繁甲基化,可选择性进行细胞识别和黏附^[43]。*JUNB*是JUN家族的重要成员,对肿瘤血管生成密切相关的分子VEGF发挥转录激活的作用从而促进新生血管的生成,提示JUNB分子有可能成为抑制癌症血管生成的新靶点。联合帕比斯塔与甲基转移酶抑制剂地西他滨使*JUNB*启动子去甲基化,可解除JUNB抑制,发挥抗白血病活性的作用^[43]。

2.2.7 提升细胞侵袭转移能力 肿瘤细胞侵袭转移是复发和治疗失败的主要原因。异常的DNA甲基化会直接或间接促进癌细胞的转移及扩散能力^[44]。急性白血病被认为是侵袭的模型,其中基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)通过增加恶性原粒细胞的浸润性在AML发生中发挥重要作用。MMP9可降解细胞外基质,从而去除物理障碍使细胞迁移和侵入其他组织^[45]。研究表明,阿扎胞苷可以显著减小AML细胞系中MMP9的DNA甲基化水平,使mRNA表达显著增加。0.2 mmol/L阿扎胞苷可显著增加MOLM-13中存活细胞的侵袭能力,特别是阿扎胞苷多阶段治疗复发的患者中存活细胞侵入/非侵入性细胞的比例显著增高,而MMP9的抑制剂多西环素可以逆转这一现象。所以,阿扎胞苷治疗过程中MMP9表达增加和细胞侵袭性增强可能是AML化疗抗性产生以及复发后侵袭性发生和进展到更严重的疾病的原因^[46]。此外,E-钙黏蛋白基因在肿瘤转移潜能中发挥重要作用,其下调降低细胞黏附作用使癌细胞入侵周围组织。E-钙黏蛋白基因的甲基化与AML预后显著相关^[47]。*CDH1*启动子区域CpG岛出现超甲基化修饰,使得钙黏附素表达显著降低或缺失,导致细胞间黏附能力下降而肿瘤细胞分散转移能力增强^[48]。

随着基因组学技术的发展,如全基因组表达分析、二代测序、甲基化特异性PCR和单核苷酸多态性阵列分析等都为发现基因的异常甲基化变化提供了便利^[70],它们可作为最强大的预测和预后的标志

物。此外,新的治疗方法也是根据这些遗传和表观遗传学改变而设计的,如酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)和去甲基化药物的应用^[71]。所有这些关于表观遗传学范畴基因甲基化的研究都为人们更好地理解AML的发病机制及在分子层次上设计靶点药物治疗AML提供了科学依据。目前,甲基化相关的药物地西他滨和阿扎胞苷也已经应用于临床并收到了很好的效果。

3 结语

本文综述了急性髓系白血病的流行病学统计情况和AML相关基因DNA甲基化的研究进展,阐述了相关基因甲基化的影响以及作用机制和功能分类。在AML中的遗传学和表观遗传学改变的鉴定工作已取得了巨大的进步,如通过对相关遗传性突变的研究,甲基化、磷酸化、酰基化以及组蛋白修饰、miRNA等的研究为攻克AML开拓了很多的途径。作为一项目前研究已较为成熟的表观遗传机制,DNA甲基化为AML的生物预测提供了有价值的参考。*WNT5A*高甲基化使表达沉默与AML预后不良相关^[55]。*PLK2* CpG岛在68.9% AML和88.4% MDS患者中是高甲基化的并且有更好的总生存率^[56]。AML细胞系及AML患者中*GLIPR1*启动子甲基化使表达沉默,而缓解后的患者中*GLIPR1* mRNA较治疗前高,可作为AML治疗疗效评估因子^[53]。*MLH1*表达程度和癌症组织分化有关联性,相对于正常组,AML患者中存在*MLH1*启动子甲基化现象影响DNA错配修复,与难治性和复发性AML相关^[72]。*ZO-1*基因在急性白血病患者中处于高甲基化状态,在白血病不同阶段甲基化程度不同,且在正常人中不甲基化,其甲基化状态分析可能用于监测急性白血病的发展^[73]。*SFRP2*(分泌细胞凋亡相关蛋白2)有Wnt结合位点是,Wnt信号传导的可溶性调节剂,诊断时*SFRP2*甲基化与复发风险增加及死亡风险相关,*SFRP2*甲基化可以预测正常核型AML患者不良临床结果^[58]。*GSTM1*抑制血管平滑肌细胞增殖,*GSTM1*的甲基化与AML无病生存率有关,可以预测较差的预后^[28]。AML患者*hPer3*基因启动子处于高甲基化状态,并在不同缓解状态甲基化程度不同。AML患者中*CDKN2B*的异常甲基化程度很高,是MDS转化为AML过程中重要的标志物和表观事件^[74]。所以,DNA的甲基化为生物预测如预后判断、诊断分型、疗效评估、疾病发展监控、疾

病治疗等提供了新的思路。DNA的甲基化为生物预测提供了无限的可能, 由于DNA甲基化是可逆转的, 利用甲基化的这一性质有可能会逆转已经产生的损伤, 从而达到缓解甚至治疗疾病的效果, 所以有关这方面的研究需要受到研究者的更多关注。

DNA甲基化的研究为系统、全面地研究AML的遗传机制以及表观修饰奠定了基础。但一直以来都存在几个重要的问题需要解决, 比如需要进一步运用系统的方法阐明这些表观遗传和遗传改变是如何联合起作用导致AML发生的。而一些新发现的具有相关作用的基因也应当进一步测试来验证它们主要发生在哪种类型的细胞中。并且需要运用功能分析方法来研究各基因家族成员在疾病发展中各自的进化模式, 并需要区分是驱动型还是过程型的改变。除此之外不同的环境对表观改变可能产生巨大差异, 而不同的基因在不同的人群中发生突变的频率通常也是有差别的, 所以基因的突变情况需要在不同种族不同环境间验证, 结合各个地区的研究综合分析, 甄选出权威的至关重要的致病基因。DNA甲基化是表观遗传学领域中的重要组成部分, 而目前在AML中的甲基化相关研究涉及的只是其中很小的一部分, 一些潜在极具价值的甲基化基因需要我们不断研究发现。对于已筛选出的具有实际应用价值且实用性高、敏感性强和特异性高的分子标记物还有待在后续实验及临床上进一步验证。

参考文献 (References)

- 1 Dellett M, O'Hagan KA, Colyer HA, Mills KI. Identification of gene networks associated with acute myeloid leukemia by comparative molecular methylation and expression profiling. *Biomark Cancer* 2010; 2: 43-55.
- 2 Singh R, Cadeddu RP, Frobel J, Wilk CM, Bruns I, Zerbini LF, *et al.* The non-steroidal anti-inflammatory drugs Sulindac sulfide and Diclofenac induce apoptosis and differentiation in human acute myeloid leukemia cells through an AP-1 dependent pathway. *Apoptosis* 2011; 16(9): 889-901.
- 3 Khasawneh MK, Abdel-Wahab O. Recent discoveries in molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 2014; 9(2): 93-9.
- 4 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63(1): 11-30.
- 5 常乃柏. 急性髓系白血病DNA甲基化及治疗进展. *中华临床医师杂志(Chang Naibo. Acute myeloid leukemia DNA methylation and treatment progress. Chinese Journal of Clinicians)* 2013; 12: 5504-6.
- 6 Kozu T, Fukuyama T, Yamami T, Akagi K, Kaneko Y. MYND-less splice variants of AML1-MTG8 (RUNX1-CBFA2T1) are expressed in leukemia with t(8;21). *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 43(1): 45-53.
- 7 Wang Q, Sun R, Wu L, Huang J, Wang P, Yuan H, *et al.* Identification and characterization of an alternative splice variant of Mpl with a high affinity for TPO and its activation of ERK1/2 signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2013; 45(12): 2852-63.
- 8 Sorrell A, Espenschied C, Wang W, Weitzel J, Chu S, Parker P, *et al.* Hereditary leukemia due to rare RUNX1c splice variant (L472X) presents with eczematous phenotype. *Int J Clin Med* 2012; 3(7): doi: 10.4236/ijcm.2012.37110.
- 9 Schnittger S, Kohl TM, Haeflrich T, Kern W, Hiddemann W, Spiekermann K, *et al.* KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood* 2006; 107(5): 1791-9.
- 10 Gonzalez M, Barragan E, Bolufer P, Chillon C, Colomer D, Borstein R, *et al.* Pretreatment characteristics and clinical outcome of acute promyelocytic leukaemia patients according to the PML-RAR alpha isoforms: A study of the PETHEMA group. *Br J Haematol* 2001; 114(1): 99-103.
- 11 Laurent E, Talpaz M, Kantarjian H, Kurzrock R. The BCR gene and philadelphia chromosome-positive leukemogenesis. *Cancer Res* 2001; 61(6): 2343-55.
- 12 Chauhan PS, Ihsan R, Singh LC, Gupta DK, Mittal V, Kapur S. Mutation of NPM1 and FLT3 genes in acute myeloid leukemia and their association with clinical and immunophenotypic features. *Dis Markers* 2013; 35(5): 581-8.
- 13 Thol F, Bollin R, Gehlhaar M, Walter C, Dugas M, Suchanek KJ, *et al.* Mutations in the cohesin complex in acute myeloid leukemia: Clinical and prognostic implications. *Blood* 2014; 123(6): 914-20.
- 14 Jiang D, Hong Q, Shen Y, Xu Y, Zhu H, Li Y, *et al.* The diagnostic value of DNA methylation in leukemia: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(5): e96822.
- 15 Ji H, Ehrlich LI, Seita J, Murakami P, Doi A, Lindau P, *et al.* Comprehensive methylome map of lineage commitment from haematopoietic progenitors. *Nature* 2010; 467(7313): 338-42.
- 16 Kronke J, Bullinger L, Teleanu V, Tschurtz F, Gaidzik VI, Kuhn MW, *et al.* Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122(1): 100-8.
- 17 Esteller M. CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: A booming present, a brighter future. *Oncogene* 2002; 21(35): 5427-40.
- 18 汤琳琳, 刘 琼, 步世忠, 徐雷霆, 王钦文, 麦一峰, 等. 2型糖尿病环境因素与DNA甲基化的研究进展. *遗传(Tang Linlin, Liu Qiong, Bu Shizhong, Xu Leiting, Wang Qinwen, Mai Yifeng, et al. The effect of environmental factors and DNA methylation on type 2 diabetes mellitus. Hereditas)* 2013; 35(10): 1143-52.
- 19 Al-Temaimi RA, Jacob S, Al-Ali W, Thomas DA, Al-Mulla F. Reduced FHIT expression is associated with mismatch repair deficient and high CpG island methylator phenotype colorectal cancer. *J Histochem Cytochem* 2013; 61(9): 627-38.
- 20 Lenz G, Hutter G, Hiddemann W, Dreyling M. Promoter methylation and expression of DNA repair genes hMLH1 and MGMT in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol* 2004; 83(10): 628-33.
- 21 Su Y, Xu H, Xu Y, Yu J, Xian Y, Luo Q. Azacytidine inhibits the proliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by

- demethylation of MGMT, DAPK and p16 genes. *Hematology* 2012; 17(1): 41-6.
- 22 de Rosa S, Curcio A, Indolfi C. Emerging role of microRNAs in cardiovascular diseases. *Circ J* 2014; 78(3): 567-75.
 - 23 Shibuta T, Honda E, Shiotsu H, Tanaka Y, Vellasamy S, Shiratsuchi M, *et al.* Imatinib induces demethylation of miR-203 gene: An epigenetic mechanism of anti-tumor effect of imatinib. *Leuk Res* 2013; 37(10): 1278-86.
 - 24 Ko YC, Fang WH, Lin TC, Hou HA, Chen CY, Tien HF, *et al.* MicroRNA let-7a-3 gene methylation is associated with karyotyping, CEBPA promoter methylation, and survival in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2014; 38(5): 625-31.
 - 25 Senyuk V, Zhang Y, Liu Y, Ming M, Premanand K, Zhou L, *et al.* Critical role of miR-9 in myelopoiesis and EVI1-induced leukemogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(14): 5594-9.
 - 26 Zhang X, Zeng J, Zhou M, Li B, Zhang Y, Huang T, *et al.* The tumor suppressive role of miRNA-370 by targeting FoxM1 in acute myeloid leukemia. *Mol Cancer* 2012; 11: 56.
 - 27 Yan-Fang T, Jian N, Jun L, Na W, Pei-Fang X, Wen-Li Z, *et al.* The promoter of miR-663 is hypermethylated in Chinese pediatric acute myeloid leukemia (AML). *BMC Med Genet* 2013; 14: 74.
 - 28 Ohgami RS, Ma L, Ren L, Weinberg OK, Seetharam M, Gotlib JR, *et al.* DNA methylation analysis of ALOX12 and GSTM1 in acute myeloid leukaemia identifies prognostically significant groups. *Br J Haematol* 2012; 159(2): 182-90.
 - 29 Greco M, D'Alo F, Scardocci A, Criscuolo M, Fabiani E, Guidi F, *et al.* Promoter methylation of DAPK1, E-cadherin and thrombospondin-1 in *de novo* and therapy-related myeloid neoplasms. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 45(3): 181-5.
 - 30 杨 华, 朱海燕, 姜孟孟, 王全顺, 韩晓萍, 黄文荣, 等. 地西他滨治疗骨髓增生异常综合征和急性髓系白血病的临床观察. *中国实验血液学杂志* (Yang Hua, Zhu Haiyan, Jiang Mengmeng, Wang Quanshun, Han Xiaoping, Huang Wenrong, *et al.* Clinical observation of decitabine-treating patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*) 2013; 21(1): 121-5.
 - 31 Moison C, Senamaud-Beaufort C, Fourriere L, Champion C, Ceccaldi A, Lacomme S, *et al.* DNA methylation associated with polycomb repression in retinoic acid receptor beta silencing. *FASEB J* 2013; 27(4): 1468-78.
 - 32 Chim CS, Wong SY, Pang A, Chu P, Lau JS, Wong KF, *et al.* Aberrant promoter methylation of the retinoic acid receptor alpha gene in acute promyelocytic leukemia. *Leukemia* 2005; 19(12): 2241-6.
 - 33 Gao L, Yu S, Zhang X. Hypothesis: Tim-3/Galectin-9, a new pathway for leukemia stem cells survival by promoting expansion of myeloid-derived suppressor cells and differentiating into tumor-associated macrophages. *Cell Biochem Biophys* 2014; 70(1): 273-7.
 - 34 Hong CS, Muller L, Whiteside TL, Boyiadzis M. Plasma exosomes as markers of therapeutic response in patients with acute myeloid leukemia. *Front Immunol* 2014; 5: 160.
 - 35 Urashima M, Hoshi Y, Sugimoto Y, Kaihara C, Matsuzaki M, Chauhan D, *et al.* A novel pre-B acute lymphoblastic leukemia cell line with chromosomal translocation between p16(INK4A)/p15(INK4B) tumor suppressor and immunoglobulin heavy chain genes: TGFbeta/IL-7 inhibitory signaling mechanism. *Leukemia* 1996; 10(10): 1576-83.
 - 36 Quesnel B, Guillemin G, Vereecque R, Wattel E, Preudhomme C, Bauters F, *et al.* Methylation of the p15 (INK4b) gene in myelodysplastic syndromes is frequent and acquired during disease progression. *Blood* 1998; 91(8): 2985-90.
 - 37 DeNicola GM, Karreth FA, Humpton TJ, Gopinathan A, Wei C, Frese K, *et al.* Oncogene-induced Nrf2 transcription promotes ROS detoxification and tumorigenesis. *Nature* 2011; 475(7354): 106-9.
 - 38 Pettigrew KA, Armstrong RN, Colyer HA, Zhang SD, Rea IM, Jones RE, *et al.* Differential TERT promoter methylation and response to 5-aza-2'-deoxycytidine in acute myeloid leukemia cell lines: TERT expression, telomerase activity, telomere length, and cell death. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(8): 768-80.
 - 39 Garcia-Gimenez JL, Sanchis-Gomar F, Lippi G, Mena S, Ivars D, Gomez-Cabrera MC, *et al.* Epigenetic biomarkers: A new perspective in laboratory diagnostics. *Clin Chim Acta* 2012; 413(19/20): 1576-82.
 - 40 Wang X, Wang G, Dong D, Fu S, Yang B. Inhibition on LS-174T cell growth and activity of telomerase *in vitro* and *in vivo* by arsenic trioxide. *Exp Toxicol Pathol* 2008; 60(6): 481-8.
 - 41 Quentmeier H, Eberth S, Romani J, Weich HA, Zaborski M, Drexler HG. DNA methylation regulates expression of VEGF-R2 (KDR) and VEGF-R3 (FLT4). *BMC Cancer* 2012; 12: 19.
 - 42 Morgan MA, Reuter CW. Molecularly targeted therapies in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *Ann Hematol* 2006; 85(3): 139-63.
 - 43 Kroeger H, Jelinek J, Estecio MR, He R, Kondo K, Chung W, *et al.* Aberrant CpG island methylation in acute myeloid leukemia is accentuated at relapse. *Blood* 2008; 112(4): 1366-73.
 - 44 Corn PG, Smith BD, Ruckdeschel ES, Douglas D, Baylin SB, Herman JG. E-cadherin expression is silenced by 5' CpG island methylation in acute leukemia. *Clin Cancer Res* 2000; 6(11): 4243-8.
 - 45 Hatfield KJ, Reikvam H, Bruserud O. The crosstalk between the matrix metalloprotease system and the chemokine network in acute myeloid leukemia. *Curr Med Chem* 2010; 17(36): 4448-61.
 - 46 Bernal T, Moncada-Pazos A, Soria-Valles C, Gutierrez-Fernandez A. Effects of azacitidine on matrix metalloproteinase-9 in acute myeloid leukemia and myelodysplasia. *Exp Hematol* 2013; 41(2): 172-9.
 - 47 Shimamoto T, Ohyashiki JH, Ohyashiki K. Methylation of p15(INK4b) and E-cadherin genes is independently correlated with poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2005; 29(6): 653-9.
 - 48 Melki JR, Vincent PC, Brown RD, Clark SJ. Hypermethylation of E-cadherin in leukemia. *Blood* 2000; 95(10): 3208-13.
 - 49 Mizuno S, Chijiwa T, Okamura T, Akashi K, Fukumaki Y, Niho Y, *et al.* Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2001; 97(5): 1172-9.
 - 50 Zheng S, Ma X, Zhang L, Gunn L, Smith MT, Wiemels JL, *et al.* Hypermethylation of the 5' CpG island of the FHIT gene is associated with hyperdiploid and translocation-negative subtypes of pediatric leukemia. *Cancer Res* 2004; 64(6): 2000-6.
 - 51 Kraguljac Kurtovic N, Krajnovic M, Bogdanovic A, Suvajdzic

- N, Jovanovic J, Dimitrijevic B, *et al.* Concomitant aberrant methylation of p15 and MGMT genes in acute myeloid leukemia: Association with a particular immunophenotype of blast cells. *Med Oncol* 2012; 29(5): 3547-56.
- 52 Geyer CR. Strategies to re-express epigenetically silenced p15 (INK4b) and p21 (WAF1) genes in acute myeloid leukemia. *Epigenetics* 2010; 5(8): 696-703.
 - 53 Xiao YH, Li XH, Tan T, Liang T, Yi H, Li MY, *et al.* Identification of GLIPR1 tumor suppressor as methylation-silenced gene in acute myeloid leukemia by microarray analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(12): 1831-40.
 - 54 Agrawal-Singh S, Isken F, Agelopoulos K, Klein HU, Thoennissen NH, Koehler G, *et al.* Genome-wide analysis of histone H3 acetylation patterns in AML identifies PRDX2 as an epigenetically silenced tumor suppressor gene. *Blood* 2012; 119(10): 2346-57.
 - 55 Martin V, Valencia A, Agirre X, Cervera J, San Jose-Eneriz E, Vilas-Zornoza A, *et al.* Epigenetic regulation of the non-canonical Wnt pathway in acute myeloid leukemia. *Cancer Sci* 2010; 101(2): 425-32.
 - 56 Benetatos L, Dasoula A, Hatzimichael E, Syed N, Voukelatou M, Dranitsaris G, *et al.* Polo-like kinase 2 (SNK/PLK2) is a novel epigenetically regulated gene in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes: Genetic and epigenetic interactions. *Ann Hematol* 2011; 90(9): 1037-45.
 - 57 Shen JZ, Xu CB, Fu HY, Wu DS, Zhou HR, Fan LP. Methylation of secreted frizzled related protein gene in acute leukemia patients in China. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12(10): 2617-21.
 - 58 Griffiths EA, Gore SD, Hooker C, McDevitt MA, Karp JE, Smith BD, *et al.* Acute myeloid leukemia is characterized by Wnt pathway inhibitor promoter hypermethylation. *Leuk Lymphoma* 2010; 51(9): 1711-9.
 - 59 Uhm KO, Lee ES, Lee YM, Park JS, Kim SJ, Kim BS, *et al.* Differential methylation pattern of ID4, SFRP1, and SHP1 between acute myeloid leukemia and chronic myeloid leukemia. *J Korean Med Sci* 2009; 24(3): 493-7.
 - 60 De Mello MR, Albuquerque DM, Pereira-Cunha FG, Albanez KB, Pagnano KB, Costa FF, *et al.* Molecular characteristics and chromatin texture features in acute promyelocytic leukemia. *Diagn Pathol* 2012; 7: 75.
 - 61 王晔恺, 周吉航, 周世权, 方国安, 李翊卫, 邱雷, 等. 急性髓系白血病患者hPer3基因启动子甲基化状态及其去甲基化对白血病细胞增殖的影响. *中华血液学杂志* (Wang Yekai, Zhou Jihang, Zhou Shiquan, Fang Guoan, Li Yiwei, Qiu Lei, *et al.* Promoter methylation status of hPer3 gene in AML patients and the in vitro effect of decitabine on the status. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*) 2011; 32(5): 317-21.
 - 62 马旭东, 黄轶群, 蒋少红, 郑瑞玟. PH1调控Molt-4细胞组蛋白甲基化诱导p15基因去甲基化后再表达. *中国实验血液学杂志* (Ma Xundong, Huang Yiqun, Jiang Shaohong, Zheng Ruiji. Phenylhexyl isothiocyanate induces gene p15 re-expression by regulating histone methylation and DNA demethylation in Molt-4 cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*) 2010; 18(3): 583-7.
 - 63 Yao DM, Qian J, Lin J, Wang YL, Chen Q, Qian Z, *et al.* Aberrant methylation of CCAAT/enhancer binding protein zeta promoter in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2011; 35(7): 957-60.
 - 64 Britschgi C, Jenal M, Rizzi M, Mueller BU, Torbett BE, Andres AC, *et al.* HIC1 tumour suppressor gene is suppressed in acute myeloid leukaemia and induced during granulocytic differentiation. *Br J Haematol* 2008; 141(2): 179-87.
 - 65 Benetatos L, Hatzimichael E, Dasoula A, Dranitsaris G, Tsiara S, Syrrou M, *et al.* CpG methylation analysis of the MEG3 and SNRPN imprinted genes in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2010; 34(2): 148-53.
 - 66 Fiskus W, Buckley K, Rao R, Mandawat A, Yang Y, Joshi R, *et al.* Panobinostat treatment depletes EZH2 and DNMT1 levels and enhances decitabine mediated de-repression of JunB and loss of survival of human acute leukemia cells. *Cancer Biol Ther* 2009; 8(10): 939-50.
 - 67 窦立萍, 刘军华, 王畅, 赵瑜, 王全顺, 刘景华, 等. 白血相关基因zo-1参与白血病发病过程及其机制的初步研究. *中国实验血液学杂志* (Dou Liping, Liu Junhua, Wang Chang, Zhao Yu, Wang Quanshun, Liu Jinghua, *et al.* Preliminary study on leukemia related gene zo-1 involved in pathogenesis of leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*) 2009; 17(5): 1140-3.
 - 68 Juhl-Christensen C, Ommen HB, Aggerholm A, Lausen B, Kjeldsen E, Hasle H, *et al.* Genetic and epigenetic similarities and differences between childhood and adult AML. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 58(4): 525-31.
 - 69 Bojesen SE, Ammerpohl O, Weinhausl A, Haas OA, Mettal H, Bohle RM, *et al.* Characterisation of the GRAF gene promoter and its methylation in patients with acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndrome. *Br J Cancer* 2006; 94(2): 323-32.
 - 70 Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, *et al.* Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med* 2009; 361(11): 1058-66.
 - 71 Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, *et al.* Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010; 115(3): 453-74.
 - 72 Mao G, Yuan F, Absher K, Jennings CD, Howard DS, Jordan CT, *et al.* Preferential loss of mismatch repair function in refractory and relapsed acute myeloid leukemia: Potential contribution to AML progression. *Cell Res* 2008; 18(2): 281-9.
 - 73 王新荣, 高晓宁, 康慧媛, 王莉莉, 李永辉, 于力. 急性白血病zo-1基因启动子区甲基化状态研究. *中国实验血液学杂志* (Wang Xinrong, Gao Xiaoning, Kang Huiyuan, Wang Lili, Li Yonghui, Yu Li. Methylation status of zo-1 gene promoter in acute leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*) 2010; 18(4): 863-5.
 - 74 Cechova H, Lassuthova P, Novakova L, Belickova M, Stemberkova R, Jencik J, *et al.* Monitoring of methylation changes in 9p21 region in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Neoplasma* 2012; 59(2): 168-74.