



周圆, 博士, 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)研究员, 博士生导师。从事髓系肿瘤的表现遗传调控机制及其造血微环境相关研究。近年来主要工作包括克隆性造血相关突变在髓系肿瘤发生发展中的作用及调控机制研究。在 *Leukemia*、*Cell Death&Differentiation*、*Haematologica*、*American Journal of Hematology*、*Cell Discovery*、*Stem Cell Reports* 等国际学术期刊发表多篇研究成果。

骨髓增殖性肿瘤异质性与克隆演化

宋潜哲 袁佳佳 周圆*

(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), 实验血液学国家重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020)

摘要 费城染色体阴性骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一组以成熟髓系细胞增生为主要特征的慢性血液肿瘤。MPN在遗传、临床表型和肿瘤细胞代谢等多个方面都具有显著的异质性, 其克隆演化过程受到造血干细胞突变、骨髓炎症环境和免疫功能失调等多种内、外因素的影响。该文拟从异质性和克隆演化的角度综述MPN发生发展及其调控机制的最新研究进展。

关键词 骨髓增殖性肿瘤; 发病机制; 异质性; 克隆演化

Heterogeneity and Clonal Evolution of Myeloproliferative Neoplasms

SONG Junzhe, YUAN Jiajia, ZHOU Yuan*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

Abstract MPNs (myeloproliferative neoplasms) are a group of chronic hematological neoplasms characterized by the proliferation of mature myeloid cells. Patients with MPNs show a significantly greater degree of heterogeneity in genetics, clinical phenotype, and cancer metabolism. The clonal evolutionary process is regulated by various intrinsic and extrinsic factors including mutations in HSCs (hematopoietic stem cells), inflammatory bone marrow microenvironment and immune dysfunction. Here, recent advances in the pathogenesis of MPN from the perspective of heterogeneity and clonal evolution are summarized.

Keywords myeloproliferative neoplasm; pathogenesis; heterogeneity; clonal evolution

收稿日期: 2021-11-05 接受日期: 2021-12-06

国家自然科学基金(批准号: 81770128、81970120、81890990)和国家重点研发计划(批准号: 2020YFE0203000)资助的课题

*通讯作者。Tel: 022-23909411, E-mail: yuanzhou@ihcams.ac.cn

Received: November 5, 2021

Accepted: December 6, 2021

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No.81770128, 81970120, 81890990), the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2020YFE0203000)

*Corresponding author. Tel: +86-22-23909411, E-mail: yuanzhou@ihcams.ac.cn

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一组造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)克隆性增殖并伴随一系或多系成熟血细胞增多的疾病。经典的费城染色体阴性MPN主要包括真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)和原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)。MPN患者的造血细胞存在很强的异质性,既包括携带驱动突变的优势克隆,也可能包括携带其他突变但暂时没有获得增殖优势的克隆以及未获得疾病相关突变的正常HSCs。肿瘤的异质性是其演化潜力的重要来源。MPN是一类动态演变的疾病,后期进展到骨髓纤维化(myelofibrosis, MF)和急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)阶段时通常可检测到更多数量的突变。具有不同基因突变特征的异质性造血细胞在骨髓中生存能力不同,而这种细胞间的博弈会随着内外压力和疾病进展发生改变,导致克隆演化。同时,伴随克隆演化出现的新遗传学异常使克隆结构复杂化,治疗难度增大。本综述拟从异质性和克隆演化角度深入理解MPN的发生发展,为该类疾病的诊断与治疗提供新思路。

1 MPN的异质性

1.1 遗传异质性

临床研究数据显示,超过90%的MPN患者检出致病突变。其中,50%~60%的患者只携带驱动突变,主要表现为*JAK2*、*CALR*、*MPL*三者之一发生功能获得性突变;其余患者还存在其他体细胞突变,涉及信号转导、表观遗传调控、肿瘤抑制或剪接蛋白等相关编码基因异常^[1]。

MPN驱动突变可导致JAK-STAT信号通路异常激活,改变HSC生物学特性。JAK-STAT与许多核心癌症信号通路和细胞功能密切相关,包括代谢、细胞周期、凋亡、DNA损伤反应以及转录调控等。异常的JAK-STAT信号与一系列血液系统恶性肿瘤及实体瘤相关^[2-4]。近年来研究发现,MPN患者体内某些体细胞突变(如*DNMT3A*、*TET2*)可以先于*JAK2*^{V617F}发生^[5]。为探究单一*JAK2*^{V617F}突变是否足够起始MPN, LUNDBERG等^[5-6]利用单细胞移植模型发现,携带*JAK2*^{V617F}突变的单个长期造血干细胞(long-term hematopoietic stem cell, LT-HSC)能使受体鼠出现MPN样表型,提示驱动突变外的其他遗传学

事件可能不是启动MPN发生的必要因素,而是可以提高MPN的启动效率。

随着全外显子测序技术的普及,MPN在分子遗传学层面的异质性被逐步揭示。患者除携带与造血细胞过度增殖直接相关的“表型驱动突变”外,还存在许多额外的体细胞突变,其本身不会导致MPN表型,但具有增强或改变驱动突变的效应。这些基因分属于不同类别,其对应突变在骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、AML等髓系肿瘤中广泛存在,涉及*ASXL1*、*TET2*、*IDH1/2*等表观遗传调控基因,*NFE2*、*TP53*等转录调控相关基因,*CBL*、*RAS*等信号转导相关基因,*SRSF2*、*U2AF1*等RNA剪接相关基因。这些突变的存在增加了MPN的克隆异质性,也是推动克隆演化的重要因素。随着测序技术的不断发展,MPN患者的分子突变谱在MPN亚型分类、预后判定及治疗决策中起着不可或缺的作用^[7]。

1.2 表型异质性

MPN的一大特点是同一驱动基因(如*JAK2*^{V617F})突变也能引起表型各异的MPN亚型。TONG等^[8]通过对*JAK2*^{V617F}突变阳性初诊ET患者HSC样本进行单细胞转录组测序联合单细胞突变检测分析发现,*JAK2*^{V617F}突变细胞具有明显的巨核偏好HSC(Mk-primed HSC)特征,揭示了HSC异质性是同一突变介导不同疾病表型发生的重要因素之一。全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)及多个临床队列研究结果显示,*MECOM*、*TERT*、*JAK2*和*HBSIL-MYB*等基因的遗传变异与MPN疾病易感性相关,其中*HBSIL-MYB*基因与ET表型相关^[9],提示个体遗传背景与基因多态性也是影响MPN表型的因素之一。近日,BAO等^[10]通过更大规模GWAS分析明确了17个MPN风险位点,其中有7个是新报道位点,并提出特定遗传变异通过调控HSC功能增加MPN罹患风险的新机制。体细胞突变顺序也对MPN表型异质性有重要影响。ORTMANN等^[11]的结果表明,*TET2*突变先于*JAK2*^{V617F}发生的患者倾向于老年发病、ET表型,且HSC池中单突变细胞大量扩增。相比之下,*TET2*突变在*JAK2*^{V617F}之后的患者发病年纪较轻、倾向于PV表型,且HSC池中双突变细胞占据主导。此外,驱动突变类型^[7,12]、*JAK2*突变负荷^[13-14]、下游STAT信号激活情况^[15]、骨髓微环境^[16]、性别、年龄等均可能是MPN表型异质性的影响因素^[17](图1)。

1.3 代谢异质性

能量需求增加和代谢重编程是肿瘤细胞的重要特征。MPN中驱动突变调节肿瘤细胞能量代谢的分子机制目前尚未被完全阐明。RAO等^[18]发现,在造血细胞中表达*JAK2*突变体可打破细胞代谢平衡,使糖酵解和氧化磷酸化水平升高,而在机体能量需求增加和促炎信号活化的共同影响下,小鼠出现严重低血糖与脂肪萎缩。转录组学与代谢组学联合分析结果显示,相比于野生型HSPC(hematopoietic stem and progenitor cell),*JAK2*突变HSPC在许多重要的代谢节点上均发生显著变化。应用抑制剂靶向糖酵解关键调节酶PFKFB3并联合芦可替尼能抑制*JAK2*^{V617F}细胞增殖并促进其凋亡,改善MPN表型。HIF1- α 过表达能通过改变其下游靶基因转录水平使肿瘤细胞有氧糖酵解增强,促进Warburg效应。BAUMEISTER等^[19]研究发现, HIF1- α 抑制剂能诱导*JAK2*^{V617F}阳性32D细胞发生凋亡和周期阻滞,抑制其增殖和存活,而对*JAK2*野生型对照组无明显影响,在*JAK2*^{V617F}阳性MPN患者外周与骨髓来源单个核细胞中也观察到类似现象。转录组分析结果进一步提示, HIF1- α 抑制剂发挥作用的分子机制可能与其下游参与肿瘤代谢的靶基因(*PDK1*、*GLUT1*等)发生改变有关。此前REDDY等^[20]的研究结果显示, *JAK2*^{V617F}/STAT5通路激活能诱导PFKFB3表达上调。HITOSUGI等^[21]在HEL细胞系中观察到糖酵解关键酶PDHK1蛋白磷酸化水平升高。*CALR*或*MPL*突变

引发的MPN可能具有与*JAK2*突变MPN不同的代谢特征,尚待进一步研究。此外, C-端截短的*ASXL1*突变能通过阻碍BAP1-ASXL1-FOXK1/K2轴影响糖代谢水平及HIF1- α 等信号通路^[22],并能通过Akt/mTOR通路激活线粒体代谢,导致HSC功能障碍^[23]。靶向MPN细胞异质性的代谢途径为MPN治疗提供了新思路。

2 MPN的克隆演化

随着二代测序和单细胞技术的发展, MPN的克隆演化规律研究取得重要突破。MPN患者二代测序中驱动突变和其他体细胞突变的变异等位基因频率(variant allele frequency, VAF)很少相同,提示患者骨髓中存在不同的克隆层次结构。单细胞技术的应用进一步证明了MPN中复杂的克隆异质性,反映出优势及非优势克隆在个体内表现出的转录组学特征。最近多项研究显示, MPN患者从获得驱动突变到出现疾病表型之间可能要经历数十年,在如此漫长的疾病潜伏期中,除了HSC自身的改变,骨髓炎症环境及免疫功能失调等因素如何影响克隆演化并决定着致病克隆的命运,仍需要进一步研究。

2.1 HSC突变与克隆演化

2.1.1 突变克隆追溯 虽然MPN往往发生在成人,但近期的两项独立研究结果均揭示, MPN驱动突变可能在生命早期即已获得。VAN等^[24]对两例*JAK2*^{V617F}突变MPN患者单个HSC来源的造血集落

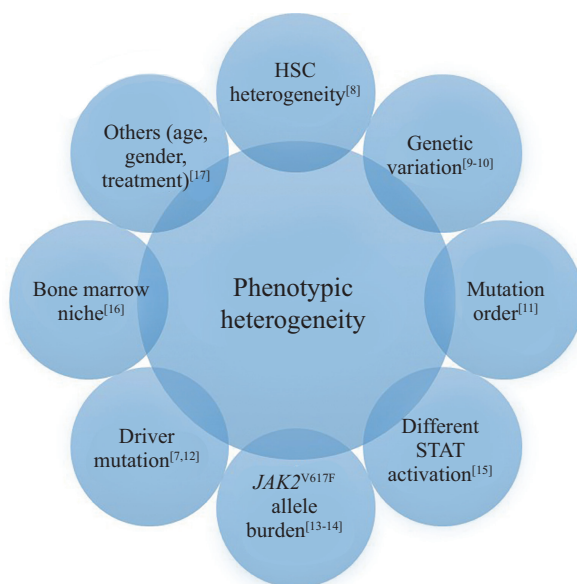


图1 MPN表型异质性影响因素总结(根据参考文献[7-17]修改)

Fig.1 A summary of factors influencing phenotypic heterogeneity in MPN (modified from references [7-17])

进行全基因组测序分析,并基于体细胞突变重建其HSC谱系树,结果显示 $JAK2^{V617F}$ 突变分别在采样前25年和40年获得,分别对应两位患者的9岁和23岁。WILLIAMS等^[25]利用类似的方法分析了10例MPN患者,其获得 $JAK2^{V617F}$ 突变与出现临床表型之间的平均潜伏期为31年,即首次获得突变的时间可被追溯至儿童甚至胎儿时期。上述研究表明,从获得驱动突变到确诊MPN之间可能要经历数十年,为MPN早期筛查和干预提供了重要依据。

2.1.2 突变克隆与纤维化进展 基因突变谱特征在预测MPN从慢性期向MF和AML进展中发挥了重要作用。既往结果显示, $CALR$ 突变是MF转化的独立风险因素^[26]。 $ASXL1$ 突变会加速 $JAK2^{V617F}$ 转基因小鼠MPN疾病进程,使其更易发生MF转化^[27]。在基于 $JAK2^{V617F}$ 和 MPL^{W515L} 构建的MF小鼠模型中,抑制原癌基因 $Pim1$ 表达能显著缓解骨髓纤维化表型,提示 $Pim1$ 在MF发病机制中起重要作用^[28]。一项针对2035名MPN患者开展的大型研究结果显示,包括 $TET2$ 、 $SRSF2$ 、 CBL 、 $EZH2$ 等突变在内的遗传学因素占PV或ET纤维化转化风险因素的50%以上^[7]。

骨髓纤维化既往被认为主要是骨髓造血细胞过度产生TGF- β 等细胞因子刺激间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)而诱导的继发改变^[29-30]。但近年来研究显示,PMF患者的骨髓细胞中含有大量克隆性、肿瘤性的纤维细胞,在功能上由于携带MPN驱动突变而与正常纤维细胞不同,在骨髓纤维化中发挥重要作用^[31]。OZONO等^[32]利用转基因小鼠模型证明了在 $JAK2^{V617F}$ 突变的MF中,相较于野生型肌成纤维细胞,单核细胞来源的肿瘤性纤维细胞无论从数量还是功能上都对骨髓纤维化起着更为主要的作用。该团队还将经过白喉毒素处理的 $JAK2^{V617F}/CD11b$ -DTR转基因小鼠骨髓细胞植入致死剂量照射受体鼠体内,观察到在经过白喉毒素清除肿瘤性单核细胞之后, $JAK2^{V617F}$ 转基因小鼠骨髓纤维化、贫血和脾肿大特征都得到显著缓解。其进一步机制研究发现,MPN微环境中异常升高的TGF- β 不仅能刺激间充质来源的肌成纤维细胞增殖,而且能促进肿瘤性单核细胞向纤维细胞分化,后者对骨髓纤维化的贡献更为显著。

2.1.3 突变克隆与白血病转化 尽管近些年我们对MPN的遗传异质性和克隆演化的认识有所深入,但调控其白血病转化的具体机制仍不清楚。两个

及以上体细胞突变的存在与AML转化风险密切相关^[5]。MPN继发急性髓系白血病(secondary AML, s-AML)具有与原发AML不同的突变谱特征,最常检出的突变包括 $ASXL1$ 、 $TET2$ 、 $IDH1/2$ 、 $TP53$ 和 $NRAS$ ^[33]。 $JAK2^{V617F}/TP53$ 双杂合突变克隆在获得“二次打击”使 $TP53$ 完全丢失后,将快速扩增、发生基因组不稳定以及向AML转化^[5,34]。此外, $JAK2^{V617F}$ 阳性的MPN可演化为 $JAK2^{V617F}$ 阴性的s-AML,说明这部分MPN骨髓中 $JAK2^{V617F}$ 阴性克隆在某种条件下取代 $JAK2^{V617F}$ 阳性克隆成为优势克隆,发生白血病转化^[35-36]。TEFFERI等^[37]将129例PMF患者分为 $JAK2^{V617F}$ 阴性, $JAK2^{V617F}$ 低、中、高四组,结果显示低 $JAK2^{V617F}$ 突变负荷与总生存期和无白血病生存期缩短相关,提示在这部分患者骨髓中可能存在更具优势的 $JAK2^{V617F}$ 阴性克隆,使疾病表型更具侵袭性。TRIVIAI等^[38]通过对PMF患者来源的HSC克隆进行测序分析,构建 $ASXL1$ 、 $EZH2$ 双突变患者亚克隆演化树,结果显示 $ASXL1$ 、 $EZH2$ 突变先于其他突变(包括 $JAK2^{V617F}$ 、 $CALR$ 突变)发生,并进一步在异种移植模型中证明,与野生型和单独 $ASXL1$ 突变相比, $ASXL1/EZH2$ 双突变PMF患者的HSC在免疫缺陷小鼠中具有更强的造血重建能力,提示其在患者体内参与肿瘤干细胞的克隆性增殖及前白血病克隆的扩增与维持。BEER等^[39]研究结果表明, $JAK2$ 野生型AML倾向于直接从慢性期ET/PV转化而来,而 $JAK2$ 突变型AML与白血病前期纤维化阶段更相关。

近日,欧洲一项单中心回顾性队列研究结果显示, $NFE2$ 突变是MPN患者发生白血病转化和总生存期缩短的独立危险因素^[40]。 $NFE2$ 编码红系及巨核系分化相关转录因子,其突变已在部分MPN患者中被报道^[41],且 $NFE2$ 基因在多数MPN患者中过表达,通过诱导组蛋白去甲基化酶JMJD1C和H3K9甲基化水平失调共同参与MPN的疾病过程^[42]。相较于ET和PMF, $NFE2$ 突变在PV患者中发生率较高,且多在MPN病程较后期获得^[7]。在小鼠模型中, $NFE2$ 突变或过表达可导致出现骨髓增殖样表型,使HSC获得额外细胞遗传学异常(如8号染色体三体、5q缺失、 $TP53$ 突变)的风险增加,更易于发生白血病转化^[43]。

随着研究方法不断进步与完善,MPN向急变期演化的分子学特征和内在机制被逐步揭示。然而,MPN继发s-AML患者的治疗效果仍不尽如人意,在

过去15年间未取得实质性治疗进展, 异基因干细胞移植仍是延长这部分患者生存唯一可能有效的治疗选择。不适合移植的s-AML对传统的AML化疗诱导方案或低剂量诱导方案治疗的反应均较差, 可能与克隆演化过程中遗传不稳定性、克隆适应性增强相关。最近研究结果表明, 针对表观遗传相关靶点的药物可能对MPN继发s-AML患者具有一定疗效。SAENZ等^[44]发现, 相比于单药治疗, 联合应用BET抑制剂和芦可替尼可在体外协同诱导s-AML患者来源的CD34⁺细胞发生凋亡, 并显著提高植入人sAML细胞的NSG小鼠的存活率。FISKUS等^[45]进一步在小鼠模型中发现, 联合靶向GFI1/KDM1A(LSD1)和BRD4对AML及MPN继发的s-AML(post-MPN AML)具有显著疗效, 能够协同诱导白血病细胞发生凋亡。联合应用LSD1抑制剂和BET抑制剂或芦可替尼, 可降低植入了post-MPN AML细胞的NSG小鼠的白血病负荷并提高其总体存活率, 为临床治疗post-MPN AML提供了新策略。此外, YANG等^[46]基于化学遗传学筛选发现, 利用小分子抑制剂靶向去泛素化酶JOSD1能使JAK2^{V617F}蛋白选择性降解而对野生型JAK2影响较小。靶向JOSD1能诱导JAK2^{V617F}阳性AML患者原代细胞死亡, 为解决芦可替尼耐药及选择性靶向JAK2^{V617F}信号治疗MPN和s-AML提供了新思路。

2.2 骨髓炎症环境与克隆演化

骨髓慢性炎症是MPN患者的一大主要特征, 炎症信号在MPN进展和疾病维持中起着重要作用。MPN驱动突变可通过增强JAK-STAT、TNF/NF- κ B等通路导致骨髓微环境中促炎信号激活^[47], 通过对克隆施加选择压力推动克隆演化^[48]。此外, 伴随衰老产生的炎症与骨髓基质老化可以先于肿瘤发生, 营造适宜MPN发生发展的环境^[49-50]。近日, JIANG等^[51]对MPN患者及正常人的CD34⁺细胞进行全基因组和转录组分析发现, 炎症因子依赖的核酸脱氨酶ADAR1(adenosine deaminase acting on RNA 1)和APOBEC3C(apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide like type 3)在白血病前干细胞(preleukemic stem cell, pre-LSC)向白血病干细胞(leukemic stem cell, LSC)克隆演化过程中发挥重要作用。MPN的pre-LSC中APOBEC3C表达上调, 导致基因组C→T碱基替换增加, 促进了HSPC扩增及pre-LSC克隆演化。在炎症环境下, ADAR1p150上

调通过RNA过度编辑介导STAT3亚型转换(α 向 β)进而推动LSC形成。

骨髓微环境中单一细胞成分对MPN患者疾病进展的贡献尚不完全清楚。MSCs亚群和功能异质性在MPN炎症环境及MF进展中的特征和作用一直以来被广泛关注。近日, LEIMKÜHLER等^[52]通过对经过纯化的骨髓非造血细胞进行单细胞RNA测序分析, 发现了两个不同的MSC亚群在纤维化前阶段(pre-fibrotic phase)发生功能性重编程, 在明显纤维化阶段(overt-fibrotic phase)表现出细胞外基质(extracellular matrix, ECM)分泌特征, 这可能在MF进展中发挥重要作用。进一步研究表明, MSC中警报素S100A8/S100A9复合体的表达水平在明显纤维化阶段显著增加, 可作为MF进展的敏感标志物, 利用小分子抑制剂靶向抑制该蛋白可显著改善JAK2^{V617F}突变小鼠的MPN表型和纤维化。

2.3 免疫功能失调与克隆演化

MPN患者的免疫稳态失衡近年来被广泛关注和研究。在正常机体内, 固有免疫和适应性免疫系统协同作用, 通过一系列“肿瘤-免疫循环”反应有效杀伤肿瘤细胞, 防止癌症发生^[53]。抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)能够将肿瘤细胞释放的异常蛋白呈递至效应性T细胞, 进而激活特异性抗肿瘤免疫反应, 该过程受到HLA抗原、共刺激信号、共抑制信号、效应性T细胞与调节性T细胞等因素的精确调控。MPN患者中APC处理和呈递抗原的能力较低, 导致T细胞不能被正常启动和激活。SKOV等^[54]利用全血转录组分析发现, MPN患者HLA-I型和II型抗原及HLA相关基因表达均下调, 表明肿瘤免疫监视存在缺陷。WANG等^[55]发现, 与来自健康人的CD34⁺细胞相比, MPN患者CD34⁺HSC中程序性死亡受体-1(programmed cell death receptor-1, PD-1)和其配体(PD-L1)表达均显著升高, 与驱动突变、疾病表型等临床特征无明显相关性。PRESTIPINO等^[56]发现, 在MPN中JAK2突变通过下游STAT3和STAT5磷酸化介导肿瘤性单核细胞、巨核细胞及血小板中PD-L1高表达, 进而抑制T细胞活化、代谢活性和细胞周期进程, 引起PD-L1介导的肿瘤免疫逃逸。BOZKUS等^[57]发现, CALR突变的MPN患者会针对CALR突变体C-端产生特异性T细胞免疫反应, 而患者来源T细胞中PD-1高表达显著抑制了该抗肿瘤效应, 在体外使用PD-1单抗pembrolizumab能够挽救T细胞反应。

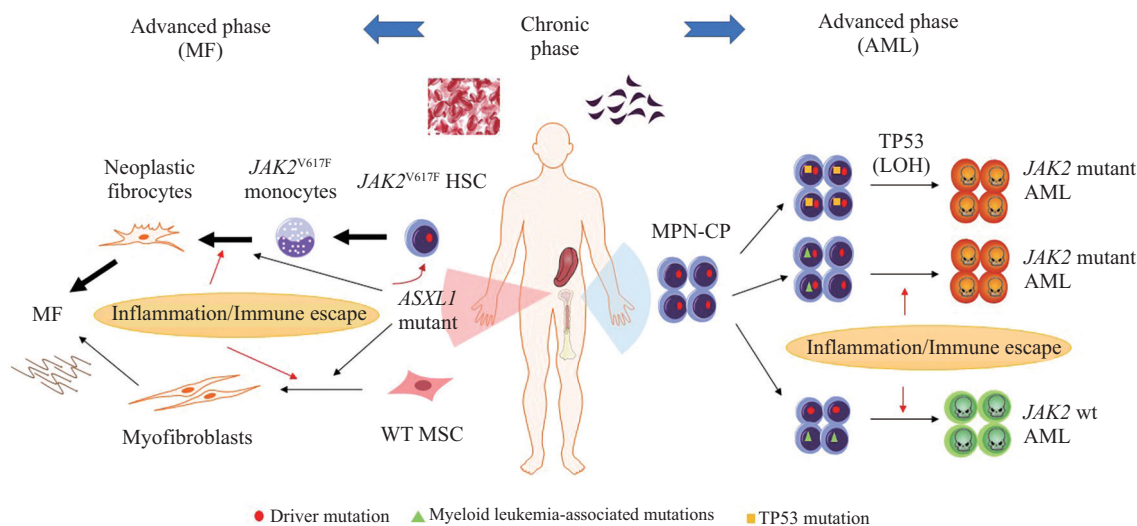


图2 MPN疾病进展示意图

Fig.2 Schematic diagram of disease progression in MPN

II期临床试验结果显示, pembrolizumab能提高DIPSS中危-2及以上MF患者体内T细胞免疫反应水平, 但治疗反应欠佳, 提示可能需要联合免疫疗法来改善MPN中免疫抑制效应^[58]。

髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)可通过多种机制抑制患者体内T细胞活性与抗白血病免疫反应, 从而支持肿瘤免疫逃逸。研究发现, 与健康对照组相比, MPN患者外周血中的MDSC显著增加, 在不同MPN亚型之间未表现出差异^[59]。去甲基化药物地西他滨能通过诱导细胞凋亡消耗MDSCs, 克服其介导的免疫抑制效应。体外混合淋巴细胞反应证实地西他滨能使T细胞反应显著增强, 在白血病小鼠模型中地西他滨治疗能诱导自体抗肿瘤免疫反应发生^[60]。II期临床试验结果显示, 地西他滨联合芦可替尼治疗能使MPN继发AML患者总生存明显改善, 且药物耐受性良好, 代表了这类高风险疾病的一种治疗选择^[61](图2)。

3 结语

基因组学与二代测序技术的不断发展为揭示MPN复杂的遗传异质性提供了新的视角, 彰显出体细胞突变在MPN克隆演化中扮演的重要角色。然而, 对于基因水平改变如何决定细胞命运与演变过程、在漫长的疾病潜伏期里究竟有哪些因素影响疾病进程, 仍需要更深入的研究。进一步揭示MPN克隆异质性、理解其演化过程, 对破解MPN发病机制、寻找突破性的治疗方法而言至关重要, 也将为更多患

者带来福音。

参考文献 (References)

- [1] SPIVAK J L. Myeloproliferative neoplasms [J]. N Engl J Med, 2017, 376(22): 2168-81.
- [2] ZAHN M, MARIENFELD R, MELZNER I, et al. A novel PTPN1 splice variant upregulates JAK/STAT activity in classical Hodgkin lymphoma cells [J]. Blood, 2017, 129(11): 1480-90.
- [3] CHEN B R, DESHPANDE A, BARBOSA K, et al. A JAK/STAT-mediated inflammatory signaling cascade drives oncogenesis in AF10-rearranged AML [J]. Blood, 2021, 137(24): 3403-15.
- [4] RESHMI S C, HARVEY R C, ROBERTS K G, et al. Targetable kinase gene fusions in high-risk B-ALL: a study from the Children's Oncology Group [J]. Blood, 2017, 129(25): 3352-61.
- [5] LUNDBERG P, KAROW A, NIENHOLD R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms [J]. Blood, 2014, 123(14): 2220-8.
- [6] LUNDBERG P, TAKIZAWA H, KUBOVCAKOVA L, et al. Myeloproliferative neoplasms can be initiated from a single hematopoietic stem cell expressing JAK2-V617F [J]. J Exp Med, 2014, 211(11): 2213-30.
- [7] GRINFELD J, NANGALIA J, BAXTER E J, et al. Classification and personalized prognosis in myeloproliferative neoplasms [J]. N Engl J Med, 2018, 379(15): 1416-30.
- [8] TONG J, SUN T, MA S, et al. Hematopoietic stem cell heterogeneity is linked to the initiation and therapeutic response of myeloproliferative neoplasms [J]. Cell Stem Cell, 2021, 28(3): 502-13.e6.
- [9] TAPPER W, JONES A V, KRALOVICS R, et al. Genetic variation at MECOM, TERT, JAK2 and HBS1L-MYB predisposes to myeloproliferative neoplasms [J]. Nat Commun, 2015, 6: 6691.
- [10] BAO E L, NANDAKUMAR S K, LIAO X, et al. Inherited myeloproliferative neoplasm risk affects haematopoietic stem cells [J]. Nature, 2020, 586(7831): 769-75.
- [11] ORTMANN C A, KENT D G, NANGALIA J, et al. Effect of mutation order on myeloproliferative neoplasms [J]. N Engl J

- Med, 2015, 372(7): 601-12.
- [12] LI J, PRINS D, PARK H J, et al. Mutant calreticulin knockin mice develop thrombocytosis and myelofibrosis without a stem cell self-renewal advantage [J]. *Blood*, 2018, 131(6): 649-61.
 - [13] LI J, KENT D G, GODFREY A L, et al. JAK2V617F homozygosity drives a phenotypic switch in myeloproliferative neoplasms, but is insufficient to sustain disease [J]. *Blood*, 2014, 123(20): 3139-51.
 - [14] GODFREY A L, CHEN E, PAGANO F, et al. JAK2V617F homozygosity arises commonly and recurrently in PV and ET, but PV is characterized by expansion of a dominant homozygous subclone [J]. *Blood*, 2012, 120(13): 2704-7.
 - [15] GRISOUARD J, SHIMIZU T, DUEK A, et al. Deletion of Stat3 in hematopoietic cells enhances thrombocytosis and shortens survival in a JAK2-V617F mouse model of MPN [J]. *Blood*, 2015, 125(13): 2131-40.
 - [16] RAMBALDI B, DIRAL E, DONSANTE S, et al. Heterogeneity of the bone marrow niche in patients with myeloproliferative neoplasms: ActivinA secretion by mesenchymal stromal cells correlates with the degree of marrow fibrosis [J]. *Ann Hematol*, 2021, 100(1): 105-16.
 - [17] O'SULLIVAN J, MEAD A J. Heterogeneity in myeloproliferative neoplasms: causes and consequences [J]. *Adv Biol Regul*, 2019, 71: 55-68.
 - [18] RAO T N, HANSEN N, HILFIKER J, et al. JAK2-mutant hematopoietic cells display metabolic alterations that can be targeted to treat myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2019, 134(21): 1832-46.
 - [19] BAUMEISTER J, CHATAIN N, HUBRICH A, et al. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) is a new therapeutic target in JAK2V617F-positive myeloproliferative neoplasms [J]. *Leukemia*, 2020, 34(4): 1062-74.
 - [20] REDDY M M, FERNANDES M S, DESHPANDE A, et al. The JAK2V617F oncogene requires expression of inducible phosphofructokinase/fructose-bisphosphatase 3 for cell growth and increased metabolic activity [J]. *Leukemia*, 2012, 26(3): 481-9.
 - [21] HITOSUGI T, FAN J, CHUNG T W, et al. Tyrosine phosphorylation of mitochondrial pyruvate dehydrogenase kinase 1 is important for cancer metabolism [J]. *Mol Cell*, 2011, 44(6): 864-77.
 - [22] XIA Y K, ZENG Y R, ZHANG M L, et al. Tumor-derived neomorphic mutations in ASXL1 impairs the BAP1-ASXL1-FOXK1/K2 transcription network [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(7): 557-77.
 - [23] FUJINO T, GOYAMA S, SUGIURA Y, et al. Mutant ASXL1 induces age-related expansion of phenotypic hematopoietic stem cells through activation of Akt/mTOR pathway [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1826.
 - [24] VAN EGEREN D, ESCABI J, NGUYEN M, et al. Reconstructing the lineage histories and differentiation trajectories of individual cancer cells in myeloproliferative neoplasms [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(3): 514-23.e9.
 - [25] WILLIAMS N, LEE J, MOORE L, et al. Phylogenetic reconstruction of myeloproliferative neoplasm reveals very early origins and lifelong evolution [J]. *bioRxiv*, 2020, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.11.09.374710>.
 - [26] AL ASSAF C, VAN OBBERGH F, BILLIET J, et al. Analysis of phenotype and outcome in essential thrombocythemia with CALR or JAK2 mutations [J]. *Haematologica*, 2015, 100(7): 893-7.
 - [27] GUO Y, ZHOU Y, YAMATOMO S, et al. ASXL1 alteration cooperates with JAK2V617F to accelerate myelofibrosis [J]. *Leukemia*, 2019, 33(5): 1287-91.
 - [28] DUTTA A, NATH D, YANG Y, et al. Genetic ablation of Pim1 or pharmacologic inhibition with TP-3654 ameliorates myelofibrosis in murine models [J]. *Leukemia*, 2021, doi: 10.1038/s41375-021-01464-2.
 - [29] CHAGRAOUI H, KOMURA E, TULLIEZ M, et al. Prominent role of TGF-beta 1 in thrombopoietin-induced myelofibrosis in mice [J]. *Blood*, 2002, 100(10): 3495-503.
 - [30] ZINGARIELLO M, MARTELLI F, CIAFFONI F, et al. Characterization of the TGFβ1 signaling abnormalities in the Gata1low mouse model of myelofibrosis [J]. *Blood*, 2013, 121(17): 3345-63.
 - [31] VERSTOVSEK S, MANSHOURI T, PILLING D, et al. Role of neoplastic monocyte-derived fibrocytes in primary myelofibrosis [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(9): 1723-40.
 - [32] OZONO Y, SHIDE K, KAMEDA T, et al. Neoplastic fibrocytes play an essential role in bone marrow fibrosis in Jak2V617F-induced primary myelofibrosis mice [J]. *Leukemia*, 2021, 35(2): 454-67.
 - [33] TEFFERI A, LASHO T L, GUGLIELMELLI P, et al. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia [J]. *Blood Adv*, 2016, 1(1): 21-30.
 - [34] RAMPAL R, AHN J, ABDEL-WAHAB O, et al. Genomic and functional analysis of leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(50): E5401-10.
 - [35] THEOCHARIDES A, BOISSINOT M, GIRODON F, et al. Leukemic blasts in transformed JAK2-V617F-positive myeloproliferative disorders are frequently negative for the JAK2-V617F mutation [J]. *Blood*, 2007, 110(1): 375-9.
 - [36] CAMPBELL P J, BAXTER E J, BEER P A, et al. Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation [J]. *Blood*, 2006, 108(10): 3548-55.
 - [37] TEFFERI A, LASHO T L, HUANG J, et al. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status, is associated with inferior overall and leukemia-free survival [J]. *Leukemia*, 2008, 22(4): 756-61.
 - [38] TRIVIAI I, ZESCHKE S, RENTEL J, et al. ASXL1/EZH2 mutations promote clonal expansion of neoplastic HSC and impair erythropoiesis in PMF [J]. *Leukemia*, 2019, 33(1): 99-109.
 - [39] BEER P A, DELHOMMEAU F, LECOUDÉIC J P, et al. Two routes to leukemic transformation after a JAK2 mutation-positive myeloproliferative neoplasm [J]. *Blood*, 2010, 115(14): 2891-900.
 - [40] MARCAULT C, ZHAO L P, MASLAH N, et al. Impact of NFE2 mutations on AML transformation and overall survival in patients with myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2021, 138(21): 2142-8.
 - [41] JUTZI J S, BOGESKA R, NIKOLOSKE G, et al. MPN patients harbor recurrent truncating mutations in transcription factor NF-E2 [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(5): 1003-19.

- [42] PEEKEN J C, JUTZI J S, WEHRLE J, et al. Epigenetic regulation of NFE2 overexpression in myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2018, 131(18): 2065-73.
- [43] JUTZI J S, BASU T, PELLMANN M, et al. Altered NFE2 activity predisposes to leukemic transformation and myelosarcoma with AML-specific aberrations [J]. *Blood*, 2019, 133(16): 1766-77.
- [44] SAENZ D T, FISKUS W, QIAN Y, et al. Novel BET protein proteolysis-targeting chimera exerts superior lethal activity than bromodomain inhibitor (BETi) against post-myeloproliferative neoplasm secondary (s) AML cells [J]. *Leukemia*, 2017, 31(9): 1951-61.
- [45] FISKUS W, MILL C P, NABET B, et al. Superior efficacy of co-targeting GFI1/KDM1A and BRD4 against AML and post-MPN secondary AML cells [J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(5): 98.
- [46] YANG J, WEISBERG E L, LIU X, et al. Small molecule inhibition of deubiquitinating enzyme JOSD1 as a novel targeted therapy for leukemias with mutant JAK2 [J]. *Leukemia*, 2021, doi: 10.1038/s41375-021-01336-9.
- [47] KLEPPE M, KOCHER R, ZOU L, et al. Dual targeting of oncogenic activation and inflammatory signaling increases therapeutic efficacy in myeloproliferative neoplasms [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(1): 29-43, e7.
- [48] FLEISCHMAN A G, AICHBERGER K J, LUTY S B, et al. TNF α facilitates clonal expansion of JAK2V617F positive cells in myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2011, 118(24): 6392-8.
- [49] VALLETTA S, THOMAS A, MENG Y, et al. Micro-environmental sensing by bone marrow stroma identifies IL-6 and TGF β 1 as regulators of hematopoietic ageing [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4075.
- [50] HELBLING P M, PIÑEIRO-YÁÑEZ E, GEROSA R, et al. Global transcriptomic profiling of the bone marrow stromal microenvironment during postnatal development, Aging, and Inflammation [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(10): 3313-30, e4.
- [51] JIANG Q, ISQUITH J, LADEL L, et al. Inflammation-driven deaminase deregulation fuels human pre-leukemia stem cell evolution [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(4): 108670.
- [52] LEIMKÜHLER N B, GLEITZ H F E, RONGHUI L, et al. Heterogeneous bone-marrow stromal progenitors drive myelofibrosis via a druggable alarmin axis [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(4): 637-52, e8.
- [53] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 1-10.
- [54] SKOV V, RILEY C H, THOMASSEN M, et al. Whole blood transcriptional profiling reveals significant down-regulation of human leukocyte antigen class I and II genes in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(10): 2269-73.
- [55] WANG J C, CHEN C, KUNDRA A, et al. Programmed cell death receptor (PD-1) ligand (PD-L1) expression in Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms [J]. *Leuk Res*, 2019, 79: 52-9.
- [56] PRESTIPINO A, EMHARDT A J, AUMANN K, et al. Oncogenic JAK2(V617F) causes PD-L1 expression, mediating immune escape in myeloproliferative neoplasms [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(429): eaam7729.
- [57] CIMEN BOZKUS C, ROUDKO V, FINNIGAN J P, et al. Immune checkpoint blockade enhances shared neoantigen-induced T-cell immunity directed against mutated calreticulin in myeloproliferative neoplasms [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(9): 1192-207.
- [58] HOBBS G, CIMEN BOZKUS C, MOSHIER E, et al. PD-1 inhibition in advanced myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood Adv*, 2021, 5(23): 5086-97.
- [59] WANG J C, KUNDRA A, ANDREI M, et al. Myeloid-derived suppressor cells in patients with myeloproliferative neoplasm [J]. *Leuk Res*, 2016, 43: 39-43.
- [60] ZHOU J, YAO Y, SHEN Q, et al. Demethylating agent decitabine disrupts tumor-induced immune tolerance by depleting myeloid-derived suppressor cells [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(8): 1371-80.
- [61] MASCARENHAS J O, RAMPAL R K, KOSIOREK H E, et al. Phase 2 study of ruxolitinib and decitabine in patients with myeloproliferative neoplasm in accelerated and blast phase [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(20): 5246-56.