

经典的骨髓增殖性肿瘤克隆演进的研究进展

王迪 赵艳红 梁一鹏 佟静媛* 石莉红*

(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 经典的费城染色体阴性的骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一类造血干细胞起源的恶性克隆性疾病, 表现为骨髓一系或多系增生、外周血中一系或多系血细胞增多。多数MPNs患者携带基因突变, MPNs相关突变包括*JAK2*、*MPL*、*CALR*等驱动基因突变以及*TET2*、*DNMT3A*等非驱动基因突变。MPNs发生后, 患者可能在复杂的克隆演进机制下, 从慢性期进展为加速期, 最终转化为AML等突变克隆更为复杂的恶性血液肿瘤。体突变及随之启动的克隆造血(clonal hematopoiesis, CH)过程可能在MPNs的发生中有重要作用。CH可能由多重选择压力启动, 深度探究其原因将有助于进一步明晰MPNs疾病进程。该文就启动CH的衰老、治疗诱导、骨髓微环境改变、随机过程等选择压力及相关的基因突变的研究进展作一综述。

关键词 骨髓增殖性肿瘤; 克隆造血; 选择压力; 基因突变

Research Progress in Clonal Evolution of Classical Myeloproliferative Neoplasms

WANG Di, ZHAO Yanhong, LIANG Yipeng, TONG Jingyuan*, SHI Lihong*

(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 Classical Philadelphia chromosome-negative MPNs (myeloproliferative neoplasms) are a group of hematopoietic stem cell-derived clonal disorders characterized by abnormal proliferation of some or all myeloid lineages often with increased cells in the peripheral blood. Most of the patients carry detectable somatic driver mutations, and MPN-related gene mutations contain driver mutations in *JAK2*, *CALR* and *MPL* and passenger mutations such as *TET2* and *DNMT3A*, etc. Subsequently, undergoing a period of complex clonal evolution, MPNs could evolve from a chronic phase to an accelerated phase, and ultimately a terminal blast phase, which typically presents as an AML (acute myeloid leukemia) with more complicated structure of mutant clones. These somatic mutations and consequent CH (clonal hematopoiesis) are likely to play a crucial part in the occurrence and development of MPNs. In consequence, probing into the selective pressures that contribute to initiating CH will provide greater insights into the molecular mechanisms of formation and evolution of MPNs. In view of these aspects, selective pressures that derive from aging, therapy, microenvironmental alterations and stochastic process, and MPN-related gene mutations will be summarized in this review.

Keywords MPNs; CH; selective pressures; gene mutations

收稿日期: 2022-01-14 接受日期: 2022-04-06

中央高校基本科研业务费专项资金(批准号: 3332020056)和国家自然科学基金(批准号: 82100152)资助的课题

*通讯作者。Tel: 022-23909448, E-mail: tongjingyuan@ihcams.ac.cn; shilihongxys@ihcams.ac.cn

Received: January 14, 2022 Accepted: April 6, 2022

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (Grant No.3332020056), and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82100152)

*Corresponding authors. Tel: +86-22-23909448, E-mail: tongjingyuan@ihcams.ac.cn; shilihongxys@ihcams.ac.cn

经典的费城染色体阴性的骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一组发生在造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)的恶性克隆性疾病。疾病相关的基因突变通过激活JAK-STAT等信号通路导致克隆造血(clonal hematopoiesis, CH)和骨髓血细胞一系或多系增生,最终导致患者外周血白细胞增多、血小板增多或红细胞增多,并常伴有出血、血栓形成及进行性脾大等症状或体征^[1-2]。MPNs可分为三大类,包括原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)、真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)和原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF),不同疾病亚型之间可以发生转化,主要包括ET或PV向骨髓纤维化(myelofibrosis, MF)转化^[3-5],极少数ET也可能向PV转化。MPNs病程进展缓慢,疾病相关并发症、转化为急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是影响患者生存质量和生存期的重要因素, PV、ET和PMF向AML的10年转化率分别为2%~4%、1%、10%~20%^[6]。AML是一类起源于骨髓的血液系统恶性肿瘤,患者预后较差,五年生存率仅为28.7%^[7-8]。因此,研究处于“前白血病状态”的MPNs,将有可能为AML等恶性肿瘤的预防和诊治提供新的标准及方法。

经典的*JAK2*、*MPL*、*CALR*基因突变是MPNs的驱动基因突变, PV患者中约有95%携带*JAK2*突变(*JAK2V617F*), ET患者基因突变分布与PMF患者类似,携带*JAK2*、*CALR*、*MPL*突变的患者分别有50%~60%、30%、5%~8%^[9-10]。除以上三类驱动基因突变外,一些非驱动基因(如*DNMT3A*、*TET2*、*ASXL2*、*TP53*等)突变也在MPNs的克隆演进中发挥作用^[11-14]。但是,某些携带基因突变的个体发生CH并在此基础上进展为MPNs的机制尚不明确。因此,了解克隆造血发生的原因以及相关的基因突变将有助于进一步认识MPNs的克隆演进机制,从而有利于AML的预警。本文就克隆造血发生的选择压力、相关的基因突变对MPNs克隆演进机制作一综述。

1 CH相关的选择压力

在正常组织中,体细胞突变会随着时间的推移而累积。大多数突变对细胞命运没有影响,少数可以使细胞产生选择性生长优势,并使细胞及其子代可以形成克隆并不断扩增。携带突变的HSCs形成克隆并产生大量成熟血细胞,这一过程被称为克隆

造血^[15]。克隆造血的启动参与了MPNs的发生、演进过程,并增加了MPNs向AML等血液系统恶性肿瘤的转化风险^[16-17]。因此,探究启动克隆造血的选择压力,将有助于更为深入地探讨MPNs的克隆演进^[18]。近年来,有关于CH选择压力的研究取得了一定的进展,其中主要包括衰老、治疗(放疗或化疗)诱导、骨髓微环境改变以及随机过程四个方面。

1.1 衰老

在衰老过程中,有毒代谢物以及外源性应激信号促进DNA损伤、端粒受损以及基因组不稳定性,最终导致衰老细胞凋亡、自我更新能力下降,并发生恶性转化等^[19]。以往研究表明,衰老与CH之间的关系最为密切,其与包括贫血、免疫缺陷等在内的一系列血液并发症有关,与骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)、MPNs和AML的患病率增加也有关^[11,20],并且突变干细胞和祖细胞的克隆优势也随年龄增加呈指数级增长^[21]。GENOVESE等^[22]对大队列的非癌症或血液病表型人群的外周血全外显子测序数据进行分析后发现,相较于50岁以下的人群(1%),65岁以上的人群发生CH的频率(10%)明显增加。由此可见,衰老是发生CH及MPNs的危险因素之一。

尽管HSCs的数量会随着年龄的增长而增加,但其功能活性会随着时间的推移而下降,从而导致造血功能的降低。这些功能下降的分子机制可能包括衰老相关的DNA损伤。FLACH等^[23]的研究证实,在小鼠的衰老HSCs中,微染色体维持蛋白复合物(minichromosome maintenance protein complex, MCM)合成减少导致DNA解旋酶合成缺陷, S期DNA复制起始位点数量有限, DNA损伤增加,最终导致细胞周期检查点的激活。MCM合成缺陷的细胞对复制应激源高度敏感,容易发生复制应激,进一步导致DNA损伤的增加和细胞功能的下降^[24]。但MCM基因随年龄增长而表达下降的原因尚不明确,逆转此基因表达下降的方法也需要进一步探索。另外,这一内源性复制应激相关的DNA损伤,不仅可以诱发细胞凋亡,也可能导致癌症等疾病相关的基因突变,因此明确内源性DNA损伤是癌症基因组不稳定的来源之一^[25]。此外, DNA损伤具有诱导HSCs分化的能力。WINGERT等^[26]通过小鼠实验发现,生长停滞DNA损伤可诱导蛋白 α (growth arrest and DNA-damage inducible 45 α , GADD45 α)由导致

HSCs DNA损伤的应激源诱导产生, 并通过启动p38-MAPK信号通路加速细胞分化, 从而使具有谱系分化偏向的HSCs大量产生某一类或几类成熟血细胞, 促进CH的发生。

随着HSCs的老化, DNA复制造成的损伤不断积累, 基因组不稳定性增加, 作为“种子”的恶性基因突变更易产生, 使细胞产生选择性生长优势并形成克隆。同时, DNA损伤也可以增强HSCs的分化能力。因此, 衰老可以导致HSCs的异常增殖和迅速分化, 形成克隆并产生大量成熟血细胞, 从而启动CH的发生。

1.2 治疗(放疗或化疗)诱导

除了与衰老相关的内源性遗传毒性应激外, 外源性应激也可以产生选择压力, 既往接受的癌症治疗(如化疗、放疗)可能通过引起HSCs适应性改变, 有利于CH的发生、进展, 从而导致MPNs的发生以及向治疗相关髓系肿瘤(therapy-related myeloid neoplasm, t-MN)转化^[27-28]。某些细胞还原剂, 包括32P、胍血生、白消安和其他曾经用于治疗MPNs的烷基化剂, 都与MPNs继发性AML的加速发展有关^[29]。此外, MARUSYK等^[30]在小鼠的骨髓移植实验中发现, *Tp53*突变在非应激的造血系统中没有提供明显的选择性优势, 但在接受辐射后, *Tp53*突变小鼠克隆细胞增多并产生了淋巴瘤, 从而明确放疗对该突变的选择压力。而在癌症治疗后的CH中, 除了一些频发的表观修饰基因突变外, *TP53*、*PPM1D*等与DNA损伤反应相关的基因突变频率也较高^[31]。因此, 放疗、化疗等外源性应激造成的选择压力可能通过DNA损伤、基因突变等机制促进CH的发生。

既往研究认为, 癌症治疗并非直接导致CH相关突变的发生, 而是可能对已存在的突变进行选择, 从而使带有某些突变的细胞形成克隆优势^[32-33]。WONG等^[34]通过对原发性AML和治疗相关AML(therapy-related acute myeloid leukemia, t-AML)进行研究, 发现后者中的*TP53*突变发生率高于前者, 且部分患者在接受化疗前已经发生*TP53*突变。此外, 他们建立了含有野生型和*Tp53*^{+/-}造血干祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cells, HSPCs)的骨髓嵌合体小鼠, 发现突变HSPCs在接受化疗后显著扩增。据此, 他们提出一种模型——少数携带*TP53*突变的HSPCs对化疗耐药, 并且这些细胞在化疗的压力下优先扩增, 发生CH, 导致疾病的进展。但*TP53*突变选择性富集

于t-AML的机制尚不明确。与之相似, LINDSLEY等^[35]发现作为p53的调节器, *PPM1D*基因在治疗相关的MDS(therapy-related MDS, t-MDS)中的突变频率高于原发性MDS, *PPM1D*突变在t-MDS中富集的机制仍需进一步探索。

然而, 在肿瘤治疗过程中, 并非所有的突变都会获得CH的优势。有研究表明, 相较于原发性肿瘤, t-MN中的一些CH相关突变频率可能增加, 而另一些可能保持不变或减少。例如, 通过对原发性恶性肿瘤和t-MN诊断时收集的样本进行横断面分析, GILLIS等^[33]发现大多数t-MN患者的CH相关基因突变的等位基因频率升高, 但是约三分之一的患者, 相应的等位基因频率发生下降。ARENDS等^[36]也通过对22例化疗患者进行CH动力学研究, 发现约40%的CH相关基因突变的变异等位基因频率(variant allele frequency, VAF)随时间变化, 并且具有不同的变化趋势——*DNMT3A*突变的VAF基本保持不变, *RAD21*、*PPM1D*和*EZH2*突变的VAF发生上升, *SF3B1*、*JAK2*和*CBLB*突变的VAF发生下降。此外, 对携带相同数量、不同种类基因突变的患者样本的分析表明, 不同突变VAF的动态变化受克隆起源和基因特异性的影响。以上研究表明, 可能由于基因模式的差异, 携带不同突变的克隆亚群将会对癌症治疗的选择压力表现出不同的适应性改变。因此, 应当在基因特异性水平上去探究癌症治疗、CH与血液肿瘤发生及转化风险之间的关联。

治疗(放疗或化疗)造成的选择压力可能通过引起HSCs适应性改变, 促进CH的发生和发展, 其中的具体分子机制需要在基因特异性水平上去探究。据此, 在MPNs及其他骨髓恶性疾病治疗过程中, 应谨慎评估治疗方法对CH的选择压力, 在达到最佳治疗效果的同时, 避免继发性肿瘤的发生。

1.3 骨髓微环境改变

骨髓微环境是一个复杂的结构, 由间充质干细胞、成熟血细胞、神经纤维、血管网络等组成, 其改变在CH的过程中起到重要作用。与正常生理状态类似, MPNs、AML等骨髓恶性疾病的HSCs也处于一个高度复杂和动态变化的骨髓微环境中。近年来的研究发现, 缺陷或疾病状态下的骨髓微环境足以诱导MPNs、AML等恶性疾病的发生。WISEMAN等^[37]报道了接受骨髓移植后发生供体来源白血病的病例, 明确已存在的病态骨髓微环境可以引

发白血病。据此可以假设,正常HSCs被移植入缺陷或异常的骨髓微环境后,可以在此环境中获得克隆优势,进而形成CH。

骨髓微环境成分复杂,本文以间充质细胞、内皮细胞等细胞成分为主要探讨对象,论证微环境改变可以启动CH的发生。以往的研究发现,*JAK2V617F*⁺的微环境细胞积极塑造的异常微环境,以牺牲正常造血功能为代价来促进CH,产生了启动CH的选择压力,进而促使小鼠发生MPNs^[38]。而在这一过程中,间充质细胞、内皮细胞等可能起着中心作用。

1.3.1 间充质细胞 通过转录组分析,ZAMBETTI等^[39]发现,MDS患者的骨髓间充质细胞发生了遗传学和转录组学改变,间充质细胞p53-S100A8/9-TLR炎症信号通路的激活可以预测疾病的演进,并且,间充质祖细胞Sbds表达缺失的小鼠再现了Shwachman-Diamond综合征(SDS)患者的疾病表型。此外,KIM等^[40]将野生型小鼠骨髓细胞移植入*Mib1*条件性敲除小鼠内,发现*Mib1*表达缺失的间充质细胞等构成的骨髓微环境可导致原发性骨髓增殖性疾病。DONG等^[41]也在小鼠模型中发现,小鼠骨髓间充质干祖细胞以及骨祖细胞发生*Ptgn11*激活突变后,会产生过量的趋化因子CCL3,导致单核细胞在HSCs周围募集并分泌IL-1 β 和其他炎症因子,使HSCs过度活化,从而促进HSCs移植后MPNs的复发。以上研究表明,间充质细胞异常改变可以导致微环境发生改变,从而产生启动CH的选择压力。

1.3.2 内皮细胞 除间充质细胞外,内皮细胞也参与塑造异常骨髓微环境,进而产生启动CH的选择压力。以往研究发现,部分MPNs患者的骨髓内皮祖细胞携带*JAK2*突变,并且相对于野生型内皮细胞,突变的内皮细胞具有更强的血管生成能力,形成的血管结构也更加稳定,更有利于肿瘤的发生。进一步研究发现,将小鼠*JAK2V617F*⁺内皮细胞分别与*JAK2V617F*⁺、野生型HSPCs在体外共培养,*JAK2V617F*⁺HSPCs的增殖优势高于野生型HSPCs,并且*JAK2V617F*⁺内皮细胞的MPL表达上调^[42]。因此,突变内皮细胞可能通过上调自身的TPO/MPL信号通路,赋予部分HSPCs生长、增殖优势,从而有利于CH的发生。此外,除了间充质细胞、内皮细胞相关的机制外,骨髓微环境也可通过耗竭正常HSCs、增强免疫抑制、增加血管通透性等机制促进CH的发生^[43]。

因此,在探究MPNs等血液系统疾病的发生、发展机制时,除了关注HSCs本身发生的改变外,也应探究微环境的变化在其中发挥的作用。或许可以根据此探索新的诊断和治疗方法,同时监测微环境与克隆细胞的变化,从而更为准确地监测疾病的发生和发展,并加以防治。

1.4 随机过程

控制细胞分裂、分化等的随机过程可能产生促进CH的选择压力。ABKOWITZ等^[44]首先提出并验证这一概念。他们将数学模拟实验的预测结果与大量猫科动物自体骨髓移植的实验数据进行比较,证实随机分化对CH的选择优势以及克隆优势发生的随机性。HOLSTEGE等^[22]和GENOVESE等^[45]分别对发生CH者进行全基因组或全外显子测序,部分参与者的测序结果中并未发现候选驱动突变,进而证实随机选择压力在人体生理或病理状态中的适用性。此后,ZINK等^[46]进一步探究了随机过程对CH的选择压力。他们对大量人群样本进行全基因组测序,发现不伴有驱动基因突变的CH事件在老年人群中非常常见。出现这一事件的原因,可能包括现有检测手段的灵敏度较低、基因突变频率的个体差异以及表观遗传状态对HSCs的影响等。但是,由于目前建立的基因突变图谱已非常广泛,相比之下,更有可能是HSCs微环境在短时间处于允许克隆扩增状态,控制分裂、分化、凋亡等的随机过程给予了CH的选择优势。因此,随机过程可能有利于细胞获得CH优势。

综上,衰老、治疗等过程可产生选择压力(表1),使HSCs产生选择性生长优势,形成CH,并可能在此基础上进一步发展为MPNs等血液系统肿瘤。因此,在临床治疗中应尽量规避CH发生的风险。同时,有效地监测CH的发生、发展可能为疾病的风险评估、早期干预提供更多机会。但是,由于CH在老年人群中比较常见、血液系统恶性肿瘤实际发生风险较低,因此CH检测的必要性有待验证,更为精确且特异的检测方法以及无其他应激的干预策略也需要进一步探究。

2 CH相关的基因突变

相对于无CH者,CH者具有更高的全因死亡率和血液系统恶性肿瘤发生风险^[46]。除了以上阐述的CH选择压力外,CH相关基因突变也可能与这些风险增加有关。MPNs驱动基因突变包括*JAK2*、*MPL*

表1 CH相关的选择压力

Table 1 Selective pressures associated with CH

来源 Sources	机制 Mechanisms	参考文献 References
Aging	Genomic instability in cancer Enhanced differentiation of HSCs DNA damage related to replication stress	[23-26]
Therapy	Gene mutations DNA damage related to exogenous stress Selection of cells with oncogenic lesions	[30-36]
Bone marrow microenvironment	Immune suppression Increased angiogenesis Exhaustion of normal HSCs Increased vascular permeability Up-regulated signaling pathways associated with CH and proinflammatory microenvironment	[39-43]
Stochastic processes	—	[22,45-46]

CH: 克隆造血; HSCs: 造血干细胞。

CH: clonal hematopoiesis; HSCs: hematopoietic stem cells.

和*CALR*突变, 这些驱动突变在其发生发展过程中发挥重要作用。一些非驱动基因突变也发挥一定作用^[47-48], 主要包括表观修饰基因(如*TET2*)突变和发生率较低的突变(如*CHEK2*、*SCRIB*、*MIR662*、*NRAS*)等。成人MPNs患者中基因突变的获得可能早至儿童期甚至胚胎期, 可见基因突变发生与CH启动、MPNs诊断之间有一定的潜伏期^[49-50]。因此, MPNs是研究CH演进与基因突变的良好模型。

既往研究表明, 基因突变类型可以影响MPNs疾病表型和疾病演进, 如CABAGNOLS等^[51]发现*CALR* 1型突变(52 bp deletion)携带者倾向于发生PMF, *CALR* 2型突变(5 bp insertion)则更倾向于发生ET, HAIDER等^[52]发现相较于*JAK2V617F*和*CALR*突变, *MPL*突变增加了ET向MF转化的风险。此外, 有研究证实, *JAKV617F*等位基因负荷增加将会增加PV或ET向MF转化的风险, 因此, 基因突变负荷增加也会促进MPNs演进^[53]。MPNs的驱动基因突变已经被很好地研究和阐述, 以下将重点阐述多个共存基因突变事件对MPNs发生、发展的影响^[54]。

2.1 基因突变顺序影响克隆演进

利用靶向基因测序方法, LUNDBERG等^[14]定义了大队列MPNs患者的突变谱, 发现*TET2*、*ASXL1*、*DNMT3A*等常见的非驱动突变可以在驱动基因突变之前、之后或与其同时发生, 如*DNMT3A*突变主要先于*JAK2*突变、或与*JAK2*突变同时发生, 而*IDH1*

突变主要发生在*JAK2*突变之后。基因突变顺序可以影响MPN表型, 如ORTMANN等^[55]对*JAK2-TET2*双突变MPNs患者进行研究, 发现先发生*JAK2*突变(*JAK2*-first)患者可能发生PV, 而先发生*TET2*突变(*TET2*-first)患者则更可能发生ET。基因突变顺序还进一步影响MPN的疾病进程, *JAK2*-first突变患者病程进展更为迅速, 向MF和AML转化的风险高于*TET2*-first患者。此外, 他们还发现后发的*TET2*突变能够增加*JAK2*突变HSCs的克隆扩增能力并使其产生更多的祖细胞, 而后发的*JAK2*突变对*TET2*突变的HSCs则没有这种作用。RAMPLE等^[56]在小鼠中的研究发现在*TP53*敲除小鼠的骨髓细胞中转导*JAK2*突变基因, 并将双突变细胞和*JAK2*单一突变细胞分别移植入受体小鼠, 发现在*TP53*突变背景下表达*JAK2*突变基因的受体小鼠产生更多巨核-红系祖细胞, 更快发生致死性疾病, 生存期显著缩短。以上研究表明, 基因突变顺序对MPNs的表型及疾病进程有一定的影响。

2.2 基因突变数目影响克隆演进

NANGALIA等^[57]和GRINFELD等^[58]分别对大队列MPNs患者进行基因测序后发现, MF患者的基因突变数目多于PV或ET患者, 基因突变数目可能影响MPNs的克隆演进。NANGALIA等^[59]则发现*DNMT3A*突变与*JAK2*或*MPL*突变共同存在时, 携带*DNMT3A*突变的双突变亚克隆比*JAK2*或*MPL*单一突变

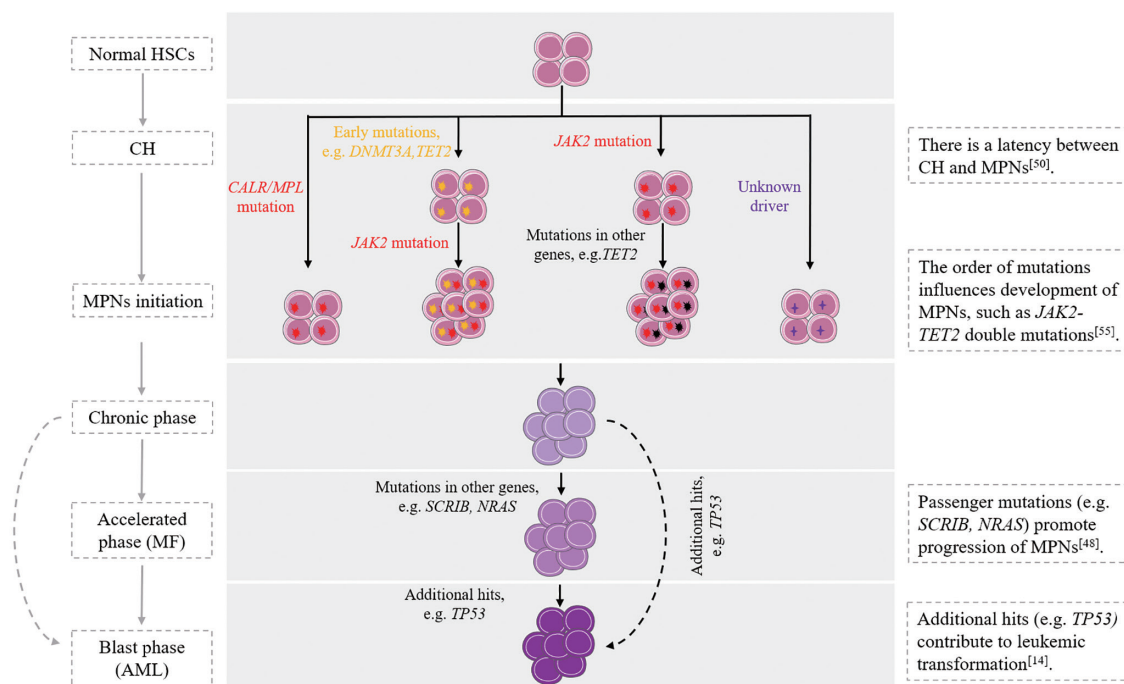


图1 基因突变对MPNs克隆演进的影响

Fig.1 Effects of gene mutations on MPNs clonal evolution

亚克隆更具有竞争优势, 因此, 基因突变数目的增加可能使HSCs具备更多克隆优势。这一猜想在小鼠模型中得到了验证。以往研究表明, *EZH2*功能缺失突变可发生于10%~13%的MPNs患者, 其与*JAK2V617F*共同存在时, 可以导致患者总体生存率降低、向AML转化风险升高^[13]。YANG等^[60]、SHIMIZU等^[61]、SASHIDA等^[62]分别建立了*JAK2V617F-Ezh2*突变模型, 并且他们得出了较为一致的研究结果: 相较于*JAK2V617F*⁺小鼠, *JAK2V617F-Ezh2*小鼠可更早发展为MF, 且发展为MF的风险增加, 总体生存率下降。此外, LUNDBERG等^[14]发现, 未检测到基因突变或仅有*JAK2*、*CALR*或*MPL*单一突变的患者不发生向AML的转化, 但随着基因突变数目的增多, 患者的总体生存率显著降低、向AML转化风险升高, 从而明确基因突变数目可以影响MPNs的克隆演进进程, 并可以作为MPNs克隆演进不良结局的一个预测因素。除上述体细胞突变外, 胚系突变在MPNs发病过程中也发挥一定作用。已有研究通过分析家族性MPNs, 证实胚系的*RBBP6*、*TERT*等基因突变可以增加MPNs易感性^[63-64]。此外, 与体细胞突变类似, 突变数目增加也可影响MPNs的克隆演进。研究发现在驱动突变基础上, 额外的胚系突变可以增加MPNs的发病风险, 也可以促进疾病演进^[63,65]。

综上, 存在多个基因突变时, 基因突变的获得顺序可能影响MPNs的克隆演进过程, 突变数目增多可以预示克隆演进的不良结局(图1)。现有的小鼠模型, 也进一步表明*EZH2*等共存突变可以协同*JAK2V617F*, 促进MPNs的克隆演进, 进而证实上述理论。因此, 全面的基因筛查或许可以作为一个有力的工具, 用以评估MPNs的发生风险以及MPNs患者向AML转化的风险。

3 总结与展望

CH在老年人群中较为常见, 其启动会促进MPNs等血液系统肿瘤的发生和演进, 并有可能增加MPNs向其他血液系统恶性肿瘤的转化风险, 从而不利于患者的预后。以往研究表明, 促进CH发生的选择压力主要来源于四个方面。首先, 衰老导致HSCs内DNA复制造成的损伤不断累积, 增加了基因组不稳定性, 从而增加了CH及MPNs的发生风险; 其次, 患者既往接受的治疗(放疗或化疗)可对已存在的突变进行选择, 使HSCs适应性发生改变, 从而产生了选择压力, 其具体机制需要在基因特异性水平上去研究; 再次, HSCs所处的骨髓微环境发生缺陷或异常后, 可能通过牺牲正常造血功能来促进CH; 最后, 控制细胞分裂、分化等的随机过程可以给予HSCs

发生CH的选择优势,具体机制仍需要进一步探究。

除选择压力外,相关的基因突变也可能增加CH及血液系统肿瘤发生的风险。作为研究CH演进及基因突变的良好模型,MPNs的驱动基因突变(*JAK2*、*MPL*和*CALR*突变)以及一些非驱动基因突变(如*TET2*)在疾病发生发展过程中发挥重要作用。基因突变的类型及负荷都有可能影响疾病的表型及演进^[51,54]。此外,存在多个共存基因突变时,不同的基因突变顺序将赋予患者不同的MPNs表型倾向,并会影响疾病进展的缓急以及严重程度,且基因突变数目增多也将促进疾病的演进。

临床上,MPNs的诊断依据主要包括外周血细胞参数以及骨髓组织形态的变化,治疗目的主要是减轻临床症状并降低出血、血栓及其他血管并发症的风险,从而缓解病情、延长生存期^[54,66]。近期的研究以及测序技术的进步将促进MPNs诊治策略的进一步完善。GRINFELD等^[58]对MPNs患者的髓系癌基因进行了测序,从而将患者区分为更为明确的8个基因亚组,并建立了一个较为准确的预后模型。WILLIAMS等^[67]则通过对MPNs患者样本进行测序后,建立了患者的造血系统发育史和CH发展史,发现了部分患者在胎儿期或儿童期即发生*JAK2V617F*突变,但在成年期才发生MPNs,从而表明了CH起始、演进时间点和疾病诊断时间点之间有一定的潜伏期。以上预后模型以及CH发展史的建立,将有利于更早地明确患者发生MPNs的倾向,并有可能降低血栓等事件的发生风险,同时也将有利于制定基于患者个体基因信息的精准治疗方案,利于靶向药物、干细胞治疗等治疗效果的提高。

近年来,MPNs克隆演进相关的研究取得了一定的进展,并在一定程度上提示了临床诊治策略的改进和完善方向,但与此同时,也有一些问题需要更为深入的探究。首先,如前所述,进行全面基因筛查或许可以评估MPNs的发生风险以及MPNs向AML转化的风险,但老年人群中的基因突变比较常见,对这一群体的进行基因筛查的必要性值得考量。其次,作为研究的有力工具,多基因突变小鼠模型仍较匮乏,有必要建立更多的模型去探究基因突变顺序、数目对疾病进程的影响。最后,也需要开发更为敏感的基因检测方法,检测以往未检测到的低频率突变,以丰富MPNs相关的突变图谱和MPNs克隆演进的图谱,建立更为精确的预后模型,从而促进临床诊

疗策略的更新和完善。

参考文献 (References)

- [1] VAINCHENKER W, KRALOVICS R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2017, 129(6): 667-79.
- [2] VENUGOPAL S, MASCARENHAS J. Novel therapeutics in myeloproliferative neoplasms [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 162.
- [3] PANDEY G, KUYKENDALL A T, REUTHER G W. JAK2 inhibitor persistence in MPN: uncovering a central role of ERK activation [J]. *Blood Cancer J*, 2022, 12(1): 13.
- [4] SPIVAK J L. Polycythemia vera [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2018, 19(2): 12.
- [5] BARBUI T, THIELE J, CAROBBIO A, et al. The rate of transformation from JAK2-mutated ET to PV is influenced by an accurate WHO-defined clinico-morphological diagnosis [J]. *Leukemia*, 2015, 29(4): 992-3.
- [6] DUNBAR A J, RAMPAL R K, LEVINE R. Leukemia secondary to myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2020, 136(1): 61-70.
- [7] ROWE J M. Perspectives on current survival and new developments in AML [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2021, 34(1): 101248.
- [8] DOHNER H, WEISDORF D J, BLOOMFIELD C D. Acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(12): 1136-52.
- [9] GRABEK J, STRAUPE J, BYWATER M, et al. MPN: the molecular drivers of disease initiation, progression and transformation and their effect on treatment [J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1901.
- [10] PRINS D, GONZALEZ ARIAS C, KLAMPFL T, et al. Mutant calreticulin in the myeloproliferative neoplasms [J]. *Hemasphere*, 2020, 4(1): e333.
- [11] BUSCARLET M, PROVOST S, ZADA Y F, et al. DNMT3A and TET2 dominate clonal hematopoiesis and demonstrate benign phenotypes and different genetic predispositions [J]. *Blood*, 2017, 130(6): 753-62.
- [12] NAKAJIMA H, KUNIMOTO H. TET2 as an epigenetic master regulator for normal and malignant hematopoiesis [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(9): 1093-9.
- [13] RINKE J, CHASE A, CROSS N C P, et al. EZH2 in myeloid malignancies [J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1639.
- [14] 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.
- [15] JAISWAL S, EBERT B L. Clonal hematopoiesis in human aging and disease [J]. *Science*, 2019, 366(6465): eaan4673.
- [16] FERRONE C K, BLYDT-HANSEN M, RAUH M J. Age-associated TET2 mutations: common drivers of myeloid dysfunction, cancer and cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 626.
- [17] SCHISCHLIK F, KRALOVICS R. Mutations in myeloproliferative neoplasms-their significance and clinical use [J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, 10(11): 961-73.
- [18] BOWMAN R L, BUSQUE L, LEVINE R L. Clonal hematopoiesis and evolution to hematopoietic malignancies [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(2): 157-70.
- [19] OH J, LEE Y D, WAGERS A J. Stem cell aging: mechanisms, regulators and therapeutic opportunities [J]. *Nat Med*, 2014,

- 20(8): 870-80.
- [20] JAISWAL S, FONTANILLAS P, FLANNICK J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(26): 2488-98.
 - [21] ADAMS P D, JASPER H, RUDOLPH K L. Aging-induced stem cell mutations as drivers for disease and cancer [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(6): 601-12.
 - [22] GENOVESE G, KAHLER A K, HANDSAKER R E, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(26): 2477-87.
 - [23] FLACH J, BAKKER S T, MOHRIN M, et al. Replication stress is a potent driver of functional decline in ageing haematopoietic stem cells [J]. *Nature*, 2014, 512(7513): 198-202.
 - [24] IBARRA A, SCHWOB E, MENDEZ J. Excess MCM proteins protect human cells from replicative stress by licensing backup origins of replication [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(26): 8956-61.
 - [25] TUBBS A, NUSSENZWEIG A. Endogenous DNA damage as a source of genomic instability in cancer [J]. *Cell*, 2017, 168(4): 644-56.
 - [26] WINGERT S, THALHEIMER F B, HAETSCHER N, et al. DNA-damage response gene GADD45A induces differentiation in hematopoietic stem cells without inhibiting cell cycle or survival [J]. *Stem Cells*, 2016, 34(3): 699-710.
 - [27] COOMBS C C, ZEHIR A, DEVLIN S M, et al. Therapy-related clonal hematopoiesis in patients with non-hematologic cancers is common and associated with adverse clinical outcomes [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 21(3): 374-82, e4.
 - [28] GIBSON C J, LINDSLEY R C, TCHEKMEDYIAN V, et al. Clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes after autologous stem-cell transplantation for lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(14): 1598-605.
 - [29] TEFFERI A, RUMI E, FINAZZI G, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study [J]. *Leukemia*, 2013, 27(9): 1874-81.
 - [30] MARUSYK A, PORTER C C, ZABEREZHNYI V, et al. Irradiation selects for p53-deficient hematopoietic progenitors [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8(3): e1000324.
 - [31] BOLTON K L, PTASHKIN R N, GAO T, et al. Cancer therapy shapes the fitness landscape of clonal hematopoiesis [J]. *Nat Genet*, 2020, 52(11): 1219-26.
 - [32] TAKAHASHI K, WANG F, KANTARJIAN H, et al. Preleukemic clonal haemopoiesis and risk of therapy-related myeloid neoplasms: a case-control study [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(1): 100-11.
 - [33] GILLIS N K, BALL M, ZHANG Q, et al. Clonal haemopoiesis and therapy-related myeloid malignancies in elderly patients: a proof-of-concept, case-control study [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(1): 112-21.
 - [34] WONG T N, RAMSINGH G, YOUNG A L, et al. Role of TP53 mutations in the origin and evolution of therapy-related acute myeloid leukaemia [J]. *Nature*, 2015, 518(7540): 552-5.
 - [35] LINDSLEY R C, SABER W, MAR B G, et al. Prognostic mutations in myelodysplastic syndrome after stem-cell transplantation [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(6): 536-47.
 - [36] ARENDS C M, GALAN-SOUSA J, HOYER K, et al. Hematopoietic lineage distribution and evolutionary dynamics of clonal hematopoiesis [J]. *Leukemia*, 2018, 32(9): 1908-19.
 - [37] WISEMAN D H. Donor cell leukemia: a review [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011, 17(6): 771-89.
 - [38] KAUSHANSKY K, ZHAN H. The marrow stem cell niche in normal and malignant hematopoiesis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2020, 1466(1): 17-23.
 - [39] ZAMBETTI N A, PING Z, CHEN S, et al. Mesenchymal inflammation drives genotoxic stress in hematopoietic stem cells and predicts disease evolution in human pre-leukemia [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(5): 613-27.
 - [40] KIM Y W, KOO B K, JEONG H W, et al. Defective Notch activation in microenvironment leads to myeloproliferative disease [J]. *Blood*, 2008, 112(12): 4628-38.
 - [41] DONG L, YU W M, ZHENG H, et al. Leukaemogenic effects of Ptpn11 activating mutations in the stem cell microenvironment [J]. *Nature*, 2016, 539(7628): 304-8.
 - [42] LIN C H, KAUSHANSKY K, ZHAN H. JAK2(V617F)-mutant vascular niche contributes to JAK2(V617F) clonal expansion in myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2016, 62: 42-8.
 - [43] MEDYOUF H. The microenvironment in human myeloid malignancies: emerging concepts and therapeutic implications [J]. *Blood*, 2017, 129(12): 1617-26.
 - [44] ABKOWITZ J L, CATLIN S N, GUTTORP P. Evidence that hematopoiesis may be a stochastic process *in vivo* [J]. *Nat Med*, 1996, 2(2): 190-7.
 - [45] HOLSTEGE H, PFEIFFER W, SIE D, et al. Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis [J]. *Genome Res*, 2014, 24(5): 733-42.
 - [46] ZINK F, STACEY S N, NORDDAHL G L, et al. Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly [J]. *Blood*, 2017, 130(6): 742-52.
 - [47] TEFFERI A, LIM K H, LEVINE R. Mutation in TET2 in myeloid cancers [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(11): 1117.
 - [48] TENEDINI E, BERNARDIS I, ARTUSI V, et al. Targeted cancer exome sequencing reveals recurrent mutations in myeloproliferative neoplasms [J]. *Leukemia*, 2014, 28(5): 1052-9.
 - [49] FISHER D A C, FOWLES J S, ZHOU A, et al. Inflammatory pathophysiology as a contributor to myeloproliferative neoplasms [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 683401.
 - [50] WILLIAMS N, LEE J, MOORE L, et al. Driver mutation acquisition in utero and childhood followed by lifelong clonal evolution underlie myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2020, 136(Supplement 2): LBA-1-LBA.
 - [51] CABAGNOLS X, DEFOUR J P, UGO V, et al. Differential association of calreticulin type 1 and type 2 mutations with myelofibrosis and essential thrombocythemia: relevance for disease evolution [J]. *Leukemia*, 2015, 29(1): 249-52.
 - [52] HAIDER M, ELALA Y C, GANGAT N, et al. MPL mutations and palpable splenomegaly are independent risk factors for fibrotic progression in essential thrombocythemia [J]. *Blood Cancer J*, 2016, 6(10): e487.
 - [53] CERQUOZZI S, TEFFERI A. Blast transformation and fibrotic progression in polycythemia vera and essential thrombocythemia: a literature review of incidence and risk factors [J]. *Blood Cancer J*, 2015, 5: e366.

- [54] O'SULLIVAN J, MEAD A J. Heterogeneity in myeloproliferative neoplasms: causes and consequences [J]. *Adv Biol Regul*, 2019, 71: 55-68.
- [55] 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.
- [56] 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.
- [57] NANGALIA J, MASSIE C E, BAXTER E J, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2 [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(25): 2391-405.
- [58] 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.
- [59] NANGALIA J, NICE F L, WEDGE D C, et al. DNMT3A mutations occur early or late in patients with myeloproliferative neoplasms and mutation order influences phenotype [J]. *Haematologica*, 2015, 100(11): e438-42.
- [60] YANG Y, AKADA H, NATH D, et al. Loss of Ezh2 cooperates with Jak2V617F in the development of myelofibrosis in a mouse model of myeloproliferative neoplasm [J]. *Blood*, 2016, 127(26): 3410-23.
- [61] SHIMIZU T, KUBOVCAKOVA L, NIENHOLD R, et al. Loss of Ezh2 synergizes with JAK2-V617F in initiating myeloproliferative neoplasms and promoting myelofibrosis [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(8): 1479-96.
- [62] SASHIDA G, WANG C, TOMIOKA T, et al. The loss of Ezh2 drives the pathogenesis of myelofibrosis and sensitizes tumor-initiating cells to bromodomain inhibition [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(8): 1459-77.
- [63] 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.
- [64] HARUTYUNYAN A S, GIAMBRUNO R, KRENDL C, et al. Germline RBBP6 mutations in familial myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2016, 127(3): 362-5.
- [65] BELLANNE-CHANTELOT C, RABADAN MORAES G, SCHMALTZ-PANNEAU B, et al. Germline genetic factors in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood Rev*, 2020, 42: 100710.
- [66] GREENFIELD G, MCMULLIN M F, MILLS K. Molecular pathogenesis of the myeloproliferative neoplasms [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 103.
- [67] WILLIAMS N, LEE J, MITCHELL E, et al. Life histories of myeloproliferative neoplasms inferred from phylogenies [J]. *Nature*, 2022, 602(7895): 162-8.