

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.10.022

DNMT3A 基因突变对急性髓系白血病患者预后影响的 Meta 分析

章梁君¹, 曹悦²

(1. 自贡市第一人民医院检验科, 四川自贡 643000; 2. 成都医学院, 四川成都 610072)

摘要:目的 采用 Meta 分析评估 DNA 甲基转移酶 3A(DNMT3A)基因突变对急性髓系白血病(AML)患者预后情况的影响。方法 检索中国生物医学文献数据库、中国知识资源总库、维普资讯网、万方数据知识服务平台,纳入国内关于 DNMT3A 基因突变和 AML 预后水平的相关临床对照研究,检索时限为 2008—2017 年。剔除不符合要求的文献,计算入选文献的异质性,漏斗图检验偏倚。采用 Revman5.3 软件进行 Meta 分析。结果 共纳入 11 项研究,1 323 例患者。Meta 分析结果显示,AML 患者 DNMT3A 基因突变组第一疗程缓解率和总生存率较之未突变组更低,差异有统计学意义($OR=0.67, 95\%CI:0.46\sim0.99, P=0.04$ 和 $OR=0.44, 95\%CI:0.27\sim0.72, P=0.001$);AML 患者 DNMT3A 基因突变组完全缓解与未突变组差异无统计学意义($OR=0.75, 95\%CI:0.45\sim1.24, P=0.26$)。结论 DNMT3A 基因突变是 AML 患者第一疗程缓解率和总体生存率的危险因素,但 DNMT3A 基因突变对 AML 患者的完全缓解率无明显影响。

关键词:急性髓系白血病; DNA 甲基转移酶 3A; 完全缓解率

中图分类号:R446.9;R446.9

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)10-1393-05

Effects of DNMT3A gene mutations on prognosis of acute myeloid leukemia: a Meta analysis

ZHANG Liangjun¹, CAO Yue²

(1. Department of Clinical Laboratory, Zigong First People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China;

2. Chengdu Medical University, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the effect of DNMTA gene mutations on the prognosis of acute myelogenous leukemia (AML) patients by Meta analysis systematically. **Methods** Databases were searched by computer in Chinese Biomedical Document Data base, China General Library of Knowledge Resource, cqvip. com, Wanfang Data Knowledge Service Platform, and the patients with DNMT3A gene mutation were included in the study, supplemented by reference literature and manual search methods. Search period was from 2008 to 2017. One researcher included and excluded documents according to the conditions of the screening document and extracts data. This Meta analysis used Revman5.3. **Results** A total of 11 studies including 1 323 patients were selected in this study. Meta-analysis showed that the first course remission rate and overall survival rate of AML patients with DNMT3A gene mutation group was lower than that of the non-mutation group ($OR=0.67, 95\%CI:0.46-0.99, P=0.04$ and $OR=0.44, 95\%CI:0.27-0.72, P=0.001$). The complete remission rate of DNMT3A gene mutation group was higher in AML patients, there was no significant difference with the non-mutation group ($OR=0.75, 95\%CI:0.45-1.24, P=0.26$). **Conclusion** DNMT3A gene mutation is a risk factor for the first course of response and overall survival in patients with AML, but DNMT3A gene mutation has no significant effect on the complete response rate of AML patients.

Key words: acute myelogenous leukemia; DNMT3A; complete remission rate

急性髓系白血病(AML)是一种造血系统疾病,以骨髓及外周血中原始和幼稚的髓系细胞恶性克隆性增生等为主要特征。基因突变对白血病发生、发展过程具有重要影响,不仅可以作为白血病诊断的分子依据,同时也是判断预后的重要指标,故白血病诊断的分子生物学方向成为近年来的研究热点。近年来,研究者发现在 AML 患者中 DNA 甲基转移酶 3A(DN-

MT3A)基因突变是与表观遗传学及 AML 预后有关的基因事件^[1]。在表观遗传修饰中,DNA 甲基化作为其重要的组成方式,可通过影响 DNA 稳定性、染色质结构对基因表达进行调控^[2]。在哺乳动物胚胎干细胞的甲基化中,DNMT3A 和 DNMT3B 是必不可少的基因,如果缺乏上述两种基因,会直接影响早期胚胎干细胞的发育。通常情况下,DNA 异常甲基化会

使基因稳定性降低,反转录活性增强,从而增加癌基因活化的概率。随着第 2 代测序技术的不断发展,有研究者发现绝大多数 AML 患者都发生了 DNMT3A 基因突变,这一变化可能对 DNA 甲基化水平产生影响,从而进一步影响患者的病程发展和预后^[3-4]。但近年来学者们对 DNMT3A 基因突变是否影响 AML 患者预后这一问题存在较大争议,因此,本研究就 DNMT3A 基因突变对 AML 患者总体生存率、完全缓解率、第一疗程缓解率等预后情况的影响作了 Meta 分析。

1 资料与方法

1.1 检索方式 在中国生物医学文献数据库、中国知识资源总库、维普资讯网、万方数据知识服务平台等互联网数据库中,对 DNMT3A、AML(包括中文全称与英文全称、缩写)等关键词进行检索,检索时限为 2008—2017 年,收集符合纳入标准的临床对照实验,其对照组为伴有 DNMT3A 基因突变的 AML 患者。

1.2 文献纳入及排除标准 纳入标准:(1)被纳入患者经染色体核型分析、骨髓细胞形态学、免疫表型分析确诊为 AML;(2)对照组为 DNMT3A 基因突变型,研究组为未突变型;(3)对照组经过基因检测或聚合酶链反应等技术确定为 DNMT3A 基因突变;(4)患者均采用标准化疗方案,具体采用 IA(去甲氧柔红霉素+阿糖胞苷)等方案治疗。排除标准:(1)研究对象

为骨髓增生异常综合征(MDS)患者;(2)研究对象为慢性粒细胞白血病患者;(3)文献中统计了概率,没有具体例数;(4)对 AML 进行分型分别研究。

1.3 方法 阅读通过关键词检索出的文献,包括从文章的标题到摘要,然后阅读正文部分,根据纳入标准纳入文献。下载所纳入的文献,提取所需数据:包括其发表年份、第一作者、突变和未突变患者的缓解率和生存率,记录原始数据。

1.4 统计学处理 采用 Revman 5.3 软件进行 Meta 分析,合并效应量为优势比(OR)和风险比(HR)。对所有研究进行异质性检验,采用 I^2 或者 Q 检验,Q 检验水准为 0.10, $I^2 > 50\%$ 说明研究之间存在异质性。根据异质性检验结果 I^2 选择相应模型计算合并统计量。研究间存在异质性,使用随机效应模型;反之,选择固定效应模型。计算 95% 置信区间(CI),并推断总体研究差异是否有统计学意义,检验水准为 0.05。漏斗图接近对称说明不存在发表偏倚,不对称则说明存在发表偏倚。

2 结 果

2.1 文献选择和研究纳入 共纳入 32 篇文献,经阅读标题、摘要及结论后筛除不符合要求的文献,最后纳入研究的文献为 11 篇。研究对象共 1 323 例,其中 DNMT3A 基因突变的有 230 例,DNMT3A 基因未突变的有 1 093 例。纳入文章和病例资料见表 1。

表 1 纳入研究的文献及数据(n/n)

文献	发表时间 (年)	完全缓解		第一疗程缓解		总体生存	
		突变组	未突变组	突变组	未突变组	突变组	未突变组
娄典 ^[5]	2013	6/8	39/45	2/8	30/45	—	—
乔纯等 ^[6]	2011	3/7	19/27	—	—	—	—
孙妍璐 ^[7]	2016	55/63	216/245	—	—	20/63	127/245
王蕾 ^[8]	2017	7/16	47/100	—	—	—	—
吴福珍 ^[9]	2014	3/5	52/103	—	—	—	—
肖敏 ^[10]	2011	5/10	66/99	—	—	—	—
高展等 ^[11]	2017	—	—	14/24	72/144	7/23	68/138
纪濛濛 ^[12]	2013	—	—	2/6	17/48	—	—
黄向楠 ^[13]	2013	—	—	4/6	28/34	—	—
詹园园 ^[14]	2017	—	—	48/83	176/259	—	—
章梁君等 ^[15]	2014	—	—	2/8	15/28	—	—

注:—为无数据

2.2 数据质量评价 纳入的 11 篇文献中有 9 篇文献存在数据缺失,这和临床情况的复杂性有关。所有纳入的文献中研究对象均有明确的诊断,且通过基因检测等手段确定了 DNMT3A 基因有无突变。3 篇文献数据较少。使用 Newcastle-Ottawa Scale(NOS)病例评价标准对研究病例进行评估。

2.3 分析结果

2.3.1 DNMT3A 基因突变对 AML 患者完全缓解率影响的 Meta 分析 总共纳入 6 篇文献,共 728 例,其中突变组有 109 例,未突变组有 619 例。异质性检测结果 $I^2 = 0, P = 0.78$,说明研究间不存在异质性,采用固定效应模型。DNMT3A 基因突变对患者完全缓

解率的影响结果分析得出, DNMT3A 基因未突变组和 DNMT3A 突变组化疗后完全缓解差异无统计学意义($OR=0.75, 95\% CI: 0.45 \sim 1.24, P=0.26$), 见图 1。发表偏倚检测: 漏斗图较为对称, 不存在明显的发表偏倚。

2.3.2 DNMT3A 基因突变对 AML 患者第一疗程缓解率影响的 Meta 分析 总共纳入 6 篇文献, 研究对象共 693 例, 其中 DNMT3A 基因突变者 135 例, DNMT3A 基因未突变者 558 例。异质性检测结果 $I^2=23\%, P=0.26$, 说明研究间不存在异质性, 采用固定效应模型。DNMT3A 基因突变对患者第一疗程缓解的影响结果分析得出, 未突变组和突变组通过对比首次化疗缓解后发现, 二者差异有统计学意义

($OR=0.67, 95\% CI: 0.46 \sim 0.99, P=0.04$), 见图 2。发表偏倚检测从漏斗图中发现其并不对称, 可以判断存在发表偏倚。

2.3.3 DNMTA 基因突变对 AML 患者生存率影响的 Meta 分析 总共纳入 2 篇文献, 研究对象共 469 例, 其中 DNMT3A 基因突变者 86 例, DNMT3A 基因未突变者 383 例。异质性检测结果 $I^2=0, P=0.94$, 说明研究间不存在异质性, 采用固定效应模型。DNMT3A 基因突变对患者生存率的影响结果分析得出, 突变组和未突变组总体生存率差异有统计学意义($OR=0.44, 95\% CI: 0.27 \sim 0.72, P=0.001$), 见图 3。发表偏倚检测: 漏斗图基本对称, 说明不存在发表偏倚。

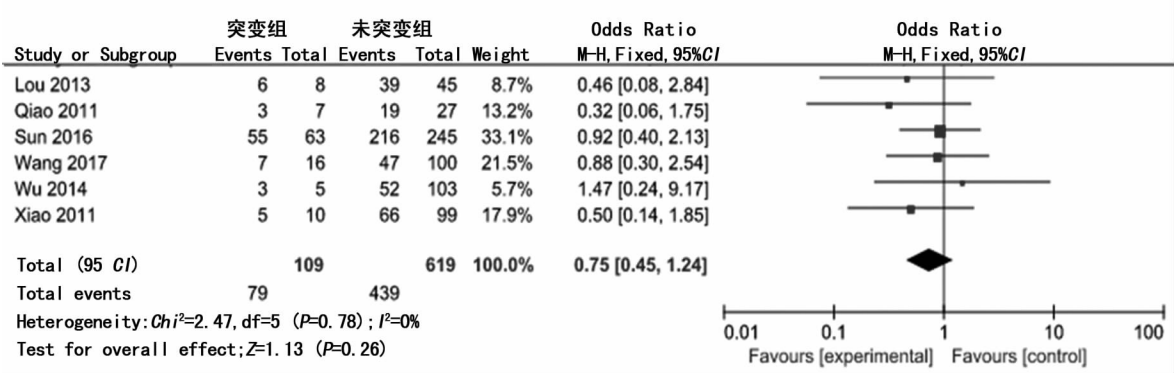


图 1 完全缓解率森林图

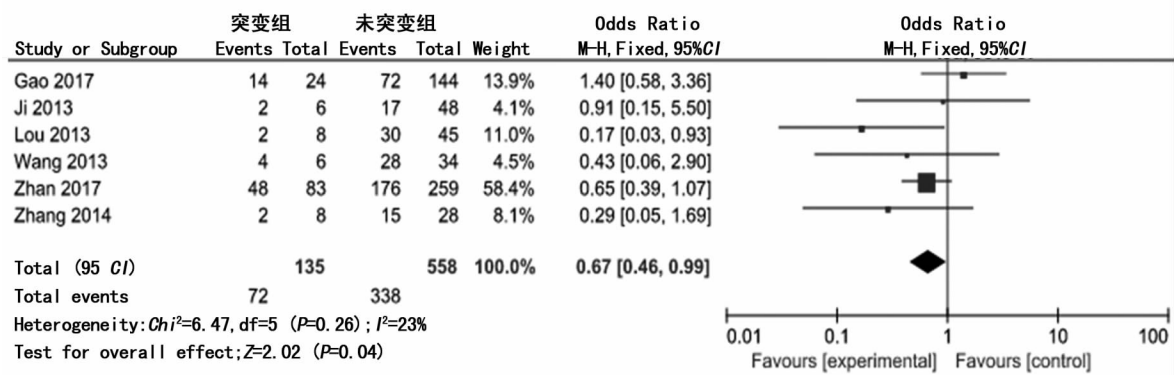


图 2 第一疗程缓解率森林图

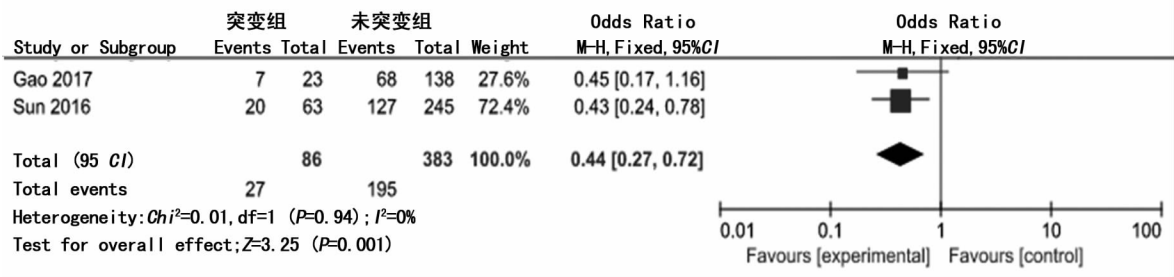


图 3 生存率森林图

3 讨 论

AML 是一组临床异质性较强的血液系统恶性肿

瘤。和其他肿瘤不同的是, AML 存在各种类型的遗传学异常^[7]。主要包含以下两类异常: 一类突变是通

过影响细胞信号传导通路引起肿瘤细胞恶性增殖分化,如 Ras、FLT3 突变等;另一类突变是影响转录及协同因子导致细胞增殖分化受到影响,如 NPM1 及 CEBPA 等。

从遗传学方面研究 AML 有两个时期,一是通过显微镜观察骨髓象及血象,通过细胞核型来推断疾病发生和发展的传统方法;二是随着遗传学发展而出现的各类分子诊断技术,包括基因测序、融合基因检测等。分子遗传学的发展也为肿瘤这类恶性疾病的诊断和治疗提供了新的方向和途径。

2001 年有研究者发现, DNMT 家族在 AML 中表达水平较高,同时猜测这种增高的表达会通过引起超甲基化最终导致 AML^[16]。该基因突变出现在血液系统恶性疾病的频率越来越高,随着分子遗传学和分子生物学的不断发展,研究者将其作为一项重要的影响因素,用于对患者生存及缓解等预后情况的研究^[6]。

DNMT3A 基因是一组编码蛋白质 DNMT3A 的基因,其在机体生长和发育过程中起重要作用,能够帮助维持染色体自身长度的稳定性,调节基因的表达水平,以及维持端粒的长度。异常的甲基化影响 DNA 的复制、重组和修复,影响胚胎干细胞早期发育,最终导致了肿瘤的发生和发展。

有研究显示, DNMT3A 基因的缺失和突变会导致肿瘤细胞基因组 DNA 总体甲基化水平低,这可能导致一系列癌基因不正常活化^[17]。DNMT3A 基因突变作为 DNMT 家族的一种突变,最常见于 AML,突变率约为 20%。研究者在肝癌、MDS 及 AML 中都发现有 DNMT3A 基因突变,这说明 DNMT3A 基因突变可能增加了患癌的风险^[3,8,10]。DNMT3A 基因突变中又以 R882 位点的错义突变为主,占有突变的 60%以上。而在 AML 中 M4、M5 突变率较高。

2010 年之前,国内外陆续有学者对 DNMT3A 在胃癌、结肠癌等癌症及癌前病变的基因表达方面进行了研究。2010 年,国外研究者 LEY 等^[18]采用高通量 DNA 测序的方法,对 281 例 AML 患者进行基因检测,发现 22.1% 的患者存在 DNMT3A 基因突变,且这些患者中又以 R882 位点突变居多。通过对患者的跟踪走访,同时发现突变患者的生存时间(12.3 个月)远远低于未突变患者(41.1 个月),由上述分析可以发现, DNMT3A 基因突变可以作为 AML 不良预后的独立危险因素^[10]。

由于难治和复发的原因, AML 治疗常常会遇见“瓶颈”。通过基因检测等方法尽早发现导致白血病难治的基因,可以提早对治疗方案作出调整。

大量研究数据指出, DNMT3A 基因突变与患者预后不良有着紧密的关系,而 DNMT3A 基因突变又

以 R882 位点突变为主,占总突变的 60%^[19]。对于 DNMT3A 基因 R882 位点突变的发生机制,王蕾^[19]的研究显示, R882 位点突变在结构上破坏了 DNMT3A 与 DNMT3L 之间形成的四聚体结构,降低了自身的催化活性,并对 DNMT3A 酶产生了一定的抑制作用,进而导致患者的全基因组在上述条件下呈现低甲基化状态。RUSSLER-GERMAIN 等^[20]的研究发现,在对核型正常的 AML 患者的 DNMT3A WT/R882H 细胞进行提取时,不管是未突变的还是突变的信号都没有本质的差别,但甲基化 3A 酶活性下降幅度却很大,高达 80%,换言之,从 DNMT3A R882 突变本质角度来讲,其会产生显性抑制作用^[21],可以对未突变型 DNMT3A 酶活性进行大幅度抑制。

由于 DNMT3A 基因突变与 AML 发病密切相关,本研究采用 Meta 分析方法,从患者的总体生存率、第一疗程缓解率、完全缓解率 3 个方面分析比较了中国地区 DNMT3A 基因突变与 DNMT3A 基因未突变患者之间的预后情况。

Meta 分析结果显示, DNMT3A 基因突变与未突变组患者完全缓解差异无统计学意义($P>0.05$),这与 LEY 等^[18]得出的结论相悖,与 AHN 等^[22]得出的结论相同;而 DNMT3A 基因突变者与未突变者之间第一疗程缓解率及总体生存率差异有统计学意义($P<0.05$),可推断 DNMT3A 基因突变对患者第一次化疗后的缓解率或治疗效果有一定影响,且基因突变者化疗后恢复效果弱于未突变者;同时 DNMT3A 基因突变对患者生存率有着明显的影响, DNMT3A 基因突变患者总体生存率明显低于 DNMT3A 基因未突变患者。

然而本研究第一疗程缓解率在突变组和未突变组之间得出的差异性与乔纯等^[7]的结论相悖,与 KIM 等^[21]的结论相一致。

本次 Meta 分析得出的结论和其他研究者得出的结论不尽一致,究其原因可能是实验数据太少、数据不具有代表性,同时说明学术界对于 DNMT3A 基因突变对患者预后的影响作用尚无定论,仍需要大量的数据进行前瞻性和回顾性分析^[23-24],进一步了解此基因突变对 AML 的影响,进而指导 AML 的治疗与用药方案。除此之外,对于患者的预后情况,应该有更明确、客观的分级标准,目前的分级标准太过粗略,抑或对患者病程的观察记录并不详细,每个研究者都有自己主观感受,这些因素都可能影响最后的分析结果^[25]。

目前 AML 的治疗方案主要有常规化疗和造血干细胞移植,随着分子遗传学的发展,吉妥珠单抗、FLT3 抑制剂、抗 CD33 的免疫细胞等药物也逐渐进入临床试验中,未来有望应用于 AML 的分子靶向治

疗中,届时 AML 的治疗将迈上一个新的台阶^[26]。

综上所述,DNMT3A 基因突变与未突变患者之间总体生存率和第一疗程缓解率之间存在差异,而完全缓解率无明显差异。结合大量研究和本研究可以得知的是 DNMT3A 基因突变是 AML 患者预后不良的因素之一,这可能与基因突变导致的全基因组低甲基化水平有关。但 DNMT3A 基因突变对患者预后的影响目前尚无定论,在今后的研究中,应当增加样本量,明确预后评级标准,提高检测技术,延长研究时间,对 DNMT3A 基因突变在临床上作出更深入的研究,使该基因更好地服务于临床治疗与用药方案。

参考文献

[1] 沈杨,陈赛娟.急性白血病基因突变与多步骤发病机制和临床相关性[J].中国科学:生命科学,2013,43(1):39-45.

[2] 洪青晓,叶华丹,汤琳琳,等.AML 相关基因的 DNA 甲基化[J].中国细胞生物学学报,2015,37(2):299-308.

[3] 张立莹.全基因组、干细胞相关转录因子甲基化水平及基因突变在髓系恶性肿瘤预后判断中的作用[D].苏州:苏州大学,2015.

[4] RIBEIRO A F, PRATCORONA M A, ROCKOVA V, et al. Mutant DNMT3A; a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2012, 119(24): 5824-5831.

[5] 娄典.恶性血液病中 DNMT3A 基因突变的检测及临床意义[D].长沙:中南大学,2013.

[6] 乔纯,孙超,张苏江,等.急性髓系白血病中 DNMT3a 基因突变的研究[J].中国实验血液学杂志,2011,19(2):303-307.

[7] 孙妍璐.急性髓细胞白血病 DNMT3A 基因突变的临床研究[D].苏州:苏州大学,2016.

[8] 王蕾.急性髓系白血病中 DNMT3A R882 突变及 HOXD10 甲基化的相关性及其临床意义[D].蚌埠:蚌埠医学院,2017.

[9] 吴福珍.急性髓细胞白血病 DNMT3A 基因突变的研究[D].南宁:广西医科大学,2014.

[10] 肖敏.急性髓系白血病的分子诊断研究[D].武汉:华中科技大学,2011.

[11] 高展,刘延方. DNMT3A R882 位点突变急性髓系白血病临床分析[J].郑州大学学报(医学版),2017,52(3):300-303.

[12] 纪濛濛. CEBPA 及 DNMT3A 基因突变[D].合肥:安徽医科大学,2013.

[13] 黄向楠.急性白血病中 DNMT3A 基因的突变和表达研究[D].济南:山东大学,2013.

[14] 詹园园.342 例急性髓系白血病患者 DNMT3A 基因突变分析及其临床意义的研究[D].苏州:苏州大学,2017.

[15] 章梁君,蒋能刚.急性髓细胞白血病 DNMT3A 突变的免

疫表型特征分析[J].临床检验杂志,2014,32(8):572-575.

[16] MIZUNO S, CHIIWA T, OKAMURA T. Expression of DNA methyltransferases DNMT1, 3A, and 3B in normal hematopoiesis and in acute and chronic myelogenous leukemia[J]. Blood, 2001, 97(5): 1172-1179.

[17] JONES P A, BAYLIN S B. The epigenomics of cancer [J]. Cell, 2007, 128(4): 683-692.

[18] LEY T J, DING L, WALTER M J, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia[J]. N Engl J Med, 2010, 363(25): 2424-2433.

[19] 王蕾. DNMT3A R882 突变在成人急性髓系白血病中的研究进展[J].海南医学,2017,28(5):787-790.

[20] RUSSLER-GERMAIN D A, SPENCER D H, YOUNG M A, et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers[J]. Cancer Cell, 2014, 25(4): 442-454.

[21] KIM S J, ZHAO H B, HARDIKAR S, et al. A DNMT3A mutation common in AML exhibits dominant-negative effects in murine ES cells[J]. Blood, 2013, 122(25): 4086-4089.

[22] AHN J S, KIM H J, KIM Y K, et al. DNMT3A R882 mutation with FLT3-ITD positivity is an extremely poor prognostic factor in patients with Normal-Karyotype acute myeloid leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2016, 22(1): 61-70.

[23] CELIK H, MALLANEY C, KOTHARI A, et al. Enforced differentiation of Dnmt3a-null bone marrow leads to failure with c-Kit mutations driving leukemic transformation[J]. Blood, 2015, 125(4): 619-628.

[24] HOLZ-SCHIETINGER C, MATJE D M, REICH N O. mutations in DNA methyltransferase (DNMT3A) observed in acute myeloid leukemia patients disrupt processive methylation[J]. J Biol Chem, 2012, 287(37): 30941-30951.

[25] HOU H A, KUO Y Y, LIU C Y, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia; stability during disease evolution and clinical implications [J]. Blood, 2012, 119(2): 559-568.

[26] QU Y, LENNARTSSON A, GAIDZIK V I, et al. Differential methylation in CN-AML preferentially targets non-CGI regions and is dictated by DNMT3A mutational status and associated with predominant hypomethylation of HOX genes[J]. Epigenetics, 2014, 9(8): 1108-1119.