

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

二代测序技术检测基因突变在骨髓增生异常综合征的应用:现况与问题

肖志坚

引用本文:

肖志坚. 二代测序技术检测基因突变在骨髓增生异常综合征的应用:现况与问题[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(11): 985-988.

XIAO Zhijian. Application of Next-generation Sequencing Detecting Gene Mutation in Myelodysplastic Syndromes: Current Situation and Problems[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2021, 48(11): 985-988.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2021.21.0921>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

第三代EGFR-TKIs治疗晚期非小细胞肺癌的耐药机制及应对策略研究进展

Research Progress on Resistance Mechanisms and Overcoming Strategies to Thirdgeneration EGFR-TKIs in Advanced Non-small Cell Lung Cancer

肿瘤防治研究. 2019, 46(10): 938-945 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.19.0169>

全外显子测序在乳腺癌发病机制及诊疗中的研究进展

Progress of Whole Exon Sequencing in Pathogenesis and Diagnosis of Breast Cancer

肿瘤防治研究. 2019, 46(05): 482-485 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1394>

肾细胞癌的分子遗传学改变研究进展

Research Progress on Molecular Genetic Alterations of Renal Cell Carcinoma

肿瘤防治研究. 2018, 45(04): 258-262 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1111>

PTEN和EMMPRIN在肺腺癌组织中的表达及其与EGFR基因突变的关系

Expression of PTEN and EMMPRIN in Lung Adenocarcinoma Tissues and Their Correlation with EGFR Mutation

肿瘤防治研究. 2017, 44(5): 324-328 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.05.003>

EGFR-TKIs治疗敏感突变肺癌脑转移的研究进展

Research Progress on Brain Metastases to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-mutated Non-small Cell Lung Cancer Patients

肿瘤防治研究. 2017, 44(10): 698-700 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0240>



杂志官网



微信公众号

二代测序技术检测基因突变在骨髓增生异常综合征的应用：现况与问题

肖志坚

Application of Next-generation Sequencing Detecting Gene Mutation in Myelodysplastic Syndromes: Current Situation and Problems

XIAO Zhijian

Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, Tianjin 300020, China



肖志坚 教授，博士生导师。中国医学科学院血液病医院MDS诊疗中心和病理中心主任，国家血液系统疾病临床医学研究中心副主任，中华医学会血液学分会副主任委员，《中华血液学杂志》《国际输血及血液学》和《白血病·淋巴瘤》杂志副主编。主攻方向为髓系肿瘤，特别是骨髓增生异常综合征和骨髓增殖性肿瘤的发病分子机制和临床诊治新策略。在 *Cancer Discovery*、*Blood* 和 *Leukemia* 等国内外期刊发表论文300余篇。获国务院政府特殊津贴专家、卫生部“有突出贡献的中青年专家”“新世纪百千万人才工程”国家级人选和全国先进科技工作者等称号。

Abstract: The next-generation sequencing detecting gene mutation has been recommended for the routine diagnosis of suspicious myelodysplastic syndromes patients. Recently, several pre-MDS conditions, a new subtype MDS with SF3B1, gene mutations integrated prognosis scores and gene mutations-based clinical decision-making and treatment choice were proposed. Nowadays, it is a big problem to standardize the generation, analysis, clinical interpretation and reporting of NGS data in China. It will open new horizons for individualized medicine of patients with MDS in the future by implementing integrated genomics into the diagnostic and treatment algorithms.

Key words: Next-generation sequencing; Myelodysplastic syndromes; Gene mutations

Funding: Medical and Health Science and Technology Innovation Project of Chinese Academy of Medical Sciences (No. 2020-I2M-C&T-A-020)

Competing interests: The author declares that he has no competing interests.

摘要：二代测序技术检测基因突变已被推荐为疑似骨髓增生异常综合征（MDS）患者的必检项目。近年来，基于基因突变界定了一系列MDS前驱性疾病、MDS伴SF3B1新亚型和加入基因突变的预后积分系统，基因突变指导下的治疗策略的制定和调整也已形成初步共识。现阶段我国二代测序技术亟待规范化，未来整合组学在临床的应用定将开启MDS个体化医疗新时代。

关键词：二代测序技术；骨髓增生异常综合征；基因突变

中图分类号：R733.3

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

造血的克隆证据是骨髓增生异常综合征（myelodysplastic syndromes, MDS）诊断的必备

标准之一^[1-3]，随着二代测序（next-generation sequencing, NGS）检测基因突变的方法学和相关指南^[4-6]的推出，最新的国际、国内MDS指南^[7-10]均已将NGS检测基因突变列入疑似MDS患者的诊断程序。此外，近年基因突变在MDS的预后判断、治疗策略制定、造血干细胞移植供体选择等方面也相继形成了一些共识。本文就NGS检测基因突变在MDS的应用现况和存在的问题谈谈笔者的个人认识。

收稿日期：2021-08-17；修回日期：2021-09-15

基金项目：中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目（2020-I2M-C&T-A-020）

作者单位：300020 天津，中国医学科学院，北京协和医学院血液病医院，血液学研究所

作者简介：肖志坚（1965-），男，博士，教授，主要从事髓系肿瘤的基础与临床研究

1 NGS在MDS诊断中的应用现状

从正常的多克隆造血到单克隆造血,再从单纯的单克隆造血到临床可确诊的MDS是一个逐步演变的过程。此前,那些疑似MDS但尚未达“MDS最低诊断标准”^[11]的患者是临床诊断的一个“灰区”,随着NGS在临床中的应用,相继提出了一系列MDS前驱性疾病^[12],使这一问题得到了基本解决。

对正常人群NGS筛查发现,正常人群,特别是40岁以上人群,随着年龄的增长血液肿瘤相关基因突变的检出率也逐渐增高,这种疾病状态被界定为“潜质未定的克隆性造血(CHIP)”^[11-12]:

(1)无血液肿瘤细胞形态学证据;(2)不符合阵发性血红蛋白尿症(PNH)、意义未定的单克隆丙种球蛋白血症(MUGS)和单克隆B淋巴细胞增多症(MBL)的诊断标准;(3)存在血液肿瘤相关基因突变阳性(VAF $\geq$ 2.0%);(4)每年约有0.5%~1%的概率进展为肿瘤。CHIP中那些存在血液肿瘤相关基因突变阳性且VAF<2.0%则称之为衰老相关性克隆性造血(ARCH),而有人将那些血液肿瘤相关基因突变为已证实为疾病起始基因(如JAK2、CALR、MPL、KIT、NPM1和TP53等)的人群列为高度致癌潜能的克隆性造血(CHOP)。随后研究发现CHIP人群由于易发生动脉粥样硬化,从而导致心血管疾病发病率增高,如果在CHIP基础上患有肿瘤需要进行放、化疗,其治疗相关性髓系肿瘤的发生率会显著增高,此外,已有关于CHIP造血干细胞移植(HSCT)供体来源的白血病HSCT后“复发”的个案报道。基于医学伦理学和卫生经济学原则,除了以排查CHIP为目的外,不要盲目地去做相关基因突变检测,由于其他原因诊断为CHIP后,每年应监测两次血常规和骨髓。一旦出现不能解释的血细胞减少则应进行骨髓和基因突变检测。

那些符合“意义未定的特发性血细胞减少(ICUS)”诊断标准的患者如果检出血液肿瘤相关基因突变则称之为“意义未定的克隆性血细胞减少症(CCUS)”^[11-12],建议诊断标准为:(1)髓系细胞中一系或多系血细胞减少,且持续时间 $\geq$ 6月:红细胞(HGB<110 g/L);中性粒细胞(ANC<1.5 $\times 10^9$ /L)和(或)巨核细胞系(PLT<100 $\times 10^9$ /L);(2)骨髓细胞形态学不够MDS发育异常最低诊断标准(红系、粒系和巨核细胞系发育异常细胞均<10%),且无MDS特征性细胞遗传学异常;(3)存在髓系肿瘤相关基因突变阳性(VAF $\geq$ 2.0%)或非重现性血液肿瘤染色体异常;(4)排除可作为

初始原因导致血细胞减少/发育异常的其他所有造血组织或非造血组织的疾病。CCUS患者髓系肿瘤相关基因突变VAF通常 $\geq$ 10.0%,也有研究者提出VAF $\geq$ 20.0%才能诊断CCUS。CCUS人群应至少每3~6月监测一次外周血和骨髓,每年检测一次基因突变以了解突变负荷和突变克隆演变情况。无临床症状者仅做随访观察即可,有临床症状者按低危MDS患者处理原则治疗。

尽管在MDS患者中发现受累基因达40~60个之多,但一个基因突变是否可以作为诊断和分型诊断的分子标志必须同时满足特异性和敏感度高这两点,因此,基因突变极少用于MDS的分型诊断。WHO 2016版的MDS诊断标准首次将基因突变引入MDS的分型诊断,修订了MDS伴环状铁粒幼红细胞的诊断标准,对于骨髓环状铁粒幼红细胞 $\geq$ 5%~<15%的患者,如其存在SF3B1基因突变,也归于此亚型。近期,又提出了首个基于基因突变的MDS亚型—MDS伴SF3B1突变(MDS with mutated SF3B1)^[13],建议诊断标准为:(1)按标准血液学值界定的血细胞计数减少;(2)SF3B1体细胞突变;(3)单纯红系或多系发育异常;(4)骨髓原始细胞<5%,且外周血原始细胞<1%;(5)不符合MDS伴单纯del(5q)、MDS/MPN-RS-T或其他MDS/MPN、原发性骨髓纤维化或其他骨髓增殖性肿瘤的WHO(2016)诊断标准;(6)正常核型或除del(5q)、-7、inv(3)或3q26异常和复杂染色体($\geq$ 3)以外的任何其他染色体异常;(7)除RUNX1和EZH2以外的任何其他体细胞性基因突变。

2 NGS在MDS治疗策略制定的应用现状

原发性MDS中TP53基因的突变率为5%~10%,关于TP53突变与MDS患者治疗方案选择和调整已取得了以下共识:(1)来那度胺被推荐为5q-综合征患者的首选药物,已有研究证实TP53突变和(或)用免疫组织化学染色检测骨髓细胞高表达p53蛋白是5q-综合征患者来那度胺治疗无效或治疗后失效的分子基础。因此,初诊时有TP53突变和(或)用免疫组织化学染色检测骨髓细胞p53蛋白高表达的5q-综合征患者不应再将来那度胺作为首选治疗。此外,那些选择来那度胺治疗的患者,在治疗过程中也应动态监测TP53突变和p53蛋白表达水平,一旦出现TP53突变和p53蛋白高表达则应及时调整治疗方案^[7-10];(2)伴TP53突变的MDS预后很差,因此常将造血干细胞移植

(HSCT) 推荐为首选治疗, 但现有研究证实只有不伴有复杂染色体核型异常的TP53基因突变或者只有单等位基因突变(或缺失)的患者接受HSCT才有获益, 新近指南推荐双等位基因突变(或缺失)和伴复杂染色体核型异常的TP53基因突变(或缺失)患者不再考虑选择HSCT, 而应选择参加临床试验^[8,14]; (3) 一项采用地西他滨十天方案(20 mg/(m²·d))治疗急性髓系白血病(AML)和高危MDS的研究发现TP53突变患者的完全缓解率显著高于无此突变患者, 对突变的系列监测结果显示地西他滨能选择性清除TP53突变^[15], 提示地西他滨可作为有TP53基因突变患者的移植前桥接治疗的首选药物。

TP53基因以外的其他基因突变在MDS治疗选择和疗效预测方面仅有一些初步结果: (1) 甲基化调控基因突变是MDS最常见的基因突变类型, 一项92例接受阿扎胞苷和地西他滨治疗的回顾性研究^[16]发现治疗前血小板计数($\geq 100 \times 10^9/L$ 为0分; $< 100 \times 10^9/L$ 为1分)、白细胞计数($< 3.0 \times 10^9/L$ 为0分; $\geq 3.0 \times 10^9/L$ 为1分)和TET2/DNMT3a基因突变(TET2和(或)DNMT3a突变为0分; 二者均为野生型为1分)为影响疗效的独立因素, 最后积分0~1分、2分和3分组患者的疗效分别为43%、23%和0。TET2和DNMT3a突变检测可望为临床选择去甲基化药物治疗提供帮助; (2) Luspatercept是针对TGF β 信号途径的一个新药, II期临床试验结果表明SF3B1突变阳性患者红系改善(HI-E)为60%, 而SF3B1突变阴性患者仅为11%, III期临床试验结果也表明SF3B1突变阳性患者疗效显著好于阴性患者, SF3B1突变可以作为Luspatercept的疗效预测标志之一^[17]; (3) 近年来, 一些分子靶向药物, 如bcl2抑制剂Venetoclax、TP53靶向药APR-246、RAS信号通路靶向药Rigosertib和IDH1/2靶向治疗药物Olotasidenib(FT-2101), NEDD8抑制剂Pevonidistat、抗TIM3单克隆抗体MBG453、抗CD47单克隆抗体Magrolimab等临床试验相继开展, 特别是近期开展的前述药物与去甲基化药物(HMA)联合(即所谓的“HMA+X”方案)的II期和III期临床试验已有初步结果表明联合方案与去甲基化药物单药方案相比, 总体有效率和完全缓解率显著提高。新近一项前瞻性研究证实19%的MDS患者依据基因突变检测结果调整了治疗方案; (4) 我们最近研究提示U2AF1基因突变是影响接受免疫抑制剂治疗疗效的一个不良因素^[18], 来那度胺可作为伴DDX41突变患者的一个

治疗选择^[19-20]; (5) 是否所有HSCT供体都需要进行NGS基因突变筛查尚有争议。

3 问题与展望

NGS从实验室走向临床, 开启了MDS的精准诊断和个体化治疗的新时代。尽管在该领域已取得了长足的进展, 但现阶段依然存在以下主要问题: (1) MDS的基因突变谱系得以解析, 但对大部分基因突变在MDS发生、发展、演变中的具体分子作用机制尚知之甚少, 从而阻碍了其在临床实践中的具体应用; (2) 基因突变在MDS疗效预测和预后判断的结果大都基于单中心、回顾性、小系列研究得出, 有待多中心、前瞻性、大系列研究来加以确证; (3) 针对基因异常的分子靶向药物大都处于I、II期临床试验阶段, 其最终临床疗效改善程度有待III期临床试验结果来加以确证; (4) 疑似MDS患者NGS需要检测的基因究竟需要包括哪些基因、是否所有患者都需要同时采取口腔黏膜、指甲、毛囊等正常组织作对照以除外胚系突变也未取得共识; (5) 在我国进行NGS的实验室的室内质控和室间质控亟待加强, 检测结果报告格式及结果解释也有待规范和标准化, 以保证检测结果的可互认性^[21]。

近年, 依据细胞遗传学和基因突变相继提出了一些血液系统恶性疾病的组学分型(genomic classification), 与现有以细胞学为骨架的诊断分型系统相比, 更能反映出肿瘤细胞的生物学特征, 但由于不同人种的遗传背景、生活环境、生活习惯等不同, 同一种疾病的遗传学和基因突变谱系也不尽相同, 依据某一人群提出的组学分型系统不完全适合另一人群^[22]。随着单细胞技术的日臻改进和完善, 基于单细胞的基因组学、转录组学、表观遗传组学和蛋白质组学分析定将会走向临床, 已有研究结果表明单细胞组学能更精细地解析恶性克隆的结构及其演变, 识辨和解析治疗后残留恶性克隆的特征, 可更精准指导临床针对性施治^[23]。未来, 空间组学和整合单细胞分析有望开拓真正精准医疗新时代。

参考文献:

- [1] 肖志坚. 骨髓增生异常综合征诊断的方法学: 现况与问题[J]. 国际输血及血液学杂志, 2019, 42(2): 93-97. [Xiao ZJ. State of the art: approaches for the diagnosis of myelodysplastic syndromes[J]. Guo Ji Shu Xue Ji Xue Ye Xue Za Zhi, 2019, 42(2): 93-97.]
- [2] 肖志坚. 骨髓增生异常综合征的昨天、今天和明天[J]. 国际输血及血液学杂志, 2020, 43(3): 185-189. [Xiao ZJ. Myelodysplastic

- syndromes: yesterday, today and tomorrow[J]. *Guo Ji Shu Xue Ji Xue Ye Xue Za Zhi*, 2020, 43(3): 185-189.]
- [3] 肖志坚. 我国骨髓增生异常综合征的诊治现状及挑战[J]. *内科理论与实践*, 2020, 15(5): 281-284. [Xiao ZJ. Current situation and challenges of diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes in China[J]. *Nei Ke Li Lun Yu Shi Jian*, 2020, 15(5): 281-284.]
- [4] Li MM, Datto M, Duncavage EJ, *et al.* Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists[J]. *J Mol Diagn*, 2017, 19(1): 4-23.
- [5] Palomo L, Ibáñez M, Abáigar M, *et al.* Spanish Guidelines for the use of targeted deep sequencing in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2020, 188(5): 605-622.
- [6] Spaulding TP, Stockton SS, Savona MR. The evolving role of next generation sequencing in myelodysplastic syndromes[J]. *Br J Haematol*, 2020, 188(2): 224-239.
- [7] Fenaux P, Haase D, Santini V, *et al.* Myelodysplastic syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(2): 142-156.
- [8] Killick SB, Ingram W, Culligan D, *et al.* British Society for Haematology guidelines for the management of adult myelodysplastic syndromes[J]. *Br J Haematol*, 2021, 194(2): 267-281.
- [9] Killick SB, Wiseman DH, Quek L, *et al.* British Society for Haematology guidelines for the diagnosis and evaluation of prognosis of Adult Myelodysplastic Syndromes[J]. *Br J Haematol*, 2021, 194(2): 282-293
- [10] 中华医学会血液学分会. 骨髓增生异常综合征中国诊断与治疗指南(2019年版)[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(2): 89-97. [Chinese society of hematology, Chinese medical association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of myelodysplastic syndromes(2019)[J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2019, 40(2): 89-97.]
- [11] Valent P, Orazi A, Steensma DP, *et al.* Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes(MDS) and potential pre-MDS conditions[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 73483-73500.
- [12] Bejar, R. CHIP, ICUS, CCUS and other four-letter words[J]. *Leukemia*, 2017, 31(9): 1869-1871.
- [13] Malcovati L, Stevenson K, Papaemmanuil E, *et al.* SF3B1-mutant MDS as a distinct diseasesubtype: a proposal from the International Working Group for the Prognosis of MDS[J]. *Blood*, 2020, 136(2): 157-170.
- [14] Bernard E, Nannya Y, Hasserjian RP, *et al.* Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes[J]. *Nat Med*, 2020, 26(10): 1549-1556.
- [15] Welch JS, Petti AA, Miller CA, *et al.* TP53 and Decitabine in Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(21): 2023-2036.
- [16] Uy GL, Duncavage EJ, Chang GS, *et al.* Dynamic changes in the clonal structure of MDS and AML in response to epigenetic therapy[J]. *Leukemia*, 2017, 31(4): 872-881.
- [17] Fenaux P, Platzbecker U, Mufti GJ, *et al.* Luspatercept in Patients with Lower-Risk Myelodysplastic Syndromes[J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(2): 140-151.
- [18] 张喻堤, 徐泽锋, 秦铁军, 等. 环孢素A联合达那唑±沙利度胺治疗原始细胞不增高骨髓增生异常综合征的疗效及其影响因素分析[J]. *中华血液学杂志*, 2021, 42(5): 376-382. [Zhang YD, Xu ZF, Qin TJ, *et al.* Prognostic factors of cyclosporine A combined with danazol with or without thalidomide in myelodysplastic syndrome treatment with low-percentage bone marrow blasts[J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2021, 42(5): 376-382.]
- [19] 陈佳, 曲士强, 秦铁军, 等. 来那度胺治疗伴DDX41胚系突变骨髓增生异常综合征伴原始细胞增多一例报告并文献复习[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(10): 857-860. [Chen J, Qu SQ, Qin TJ, *et al.* Lenalidomide for myelodysplastic syndrome with excess blasts with germline DDX41 mutation: a case report and literatures review[J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2020, 41(10): 857-860.]
- [20] 李世俊, 齐军元. 高危骨髓增生异常综合征的治疗[J]. *肿瘤防治研究*, 2020, 47(12): 996-1002. [Li SJ, Qi JY. Treatment of High-risk Myelodysplastic Syndrome[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2020, 47(12): 996-1002.]
- [21] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会, 中华医学会血液学分会, 中华医学会病理学分会. 二代测序技术在血液肿瘤中的应用中国专家共识(2018版)[J]. *中华血液学杂志*, 2018, 39(11): 881-886. [Hematology Oncology Committee of China Anti-cancer Association, Chinese Society of hematology Chinese Medical Association, Chinese Society of pathology Chinese Medical Association. Expert Consensus on the Application of Next-Generation Sequencing in Hematological Neoplasms (2018)[J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2018, 39(11): 881-886.]
- [22] Huang H, Wu J, Qin T, *et al.* Is race important in genomic classification of hematological neoplasms?[J]. *Hematol Oncol*, 2021. Online ahead of print.
- [23] Brierley CK, Mead AJ. Single-cell sequencing in hematology[J]. *Curr Opin Oncol*, 2020, 32(2): 139-145.

[编辑: 刘红武; 校对: 安凤]