

血液疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.000624

伴 del(5q) 的骨髓增生异常综合征的分子生物学研究进展

年 青,王 利

(重庆医科大学附属第一医院血液科,重庆 400016)

【摘要】骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是一组起源于多能造血干/祖细胞的异质性恶性血液病,其发病机制尚不清楚。5 号染色体长臂缺失是其最常见的分子生物学改变之一,与 MDS 的发病密切相关。RPS14、SPARC 单倍剂量不足、microRNA、P53 基因突变等分子生物学改变均在 del(5q)患者中发现,其中 RPS14 已证实在 5q-综合征中发挥抑癌基因的作用。本文拟对近年来发现的伴 del(5q)的 MDS 患者的分子生物学改变做一综述。

【关键词】骨髓增生异常综合征;5q-综合征;核糖体;微小 RNA

【中图分类号】R55

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-10-24

Research progress in molecular biology of myelodysplastic syndrome with del(5q)

Nian Qing, Wang Li

(Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Myelodysplastic syndromes(MDS) is originated from pluripotent hematopoietic stem/progenitor cell with heterogeneity malignancies and the pathogenesis is still obscure. Interstitial deletion of chromosome 5 is the most common cytogenetic abnormality in MDS and it is related with the pathogenesis of MDS. Furthermore, haploinsufficiency in RPS14, SPARC and the absence of mutations in miRNA, P53 were found in del(5q)MDS patients and RPS14 was proved to play the anti-oncogene role in the 5q-syndrome. This article summarized the newly released investigation of molecular pathogenesis associated with the development of MDS with del(5q).

【Key words】myelodysplastic syndrome; 5q-syndrome; ribosome; micro RNA

骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)是一组起源于造血髓系定向干细胞或者多能干细胞的异质性克隆性疾病^[1],主要特征是无效造血和高危演变为急性髓系白血病,临床表现为造血细胞在质和量上出现不同程度的异常变化。目前 MDS 的发病机制尚不清楚。1974 年 Van den Berghe 首次提出 5q-综合征的概念,这些患者均以单一 5 号染色体长臂缺失[del(5q)]为特征。约 20% 的 MDS 患者伴发 del(5q),且伴有 del(5q)的 MDS 患者预后差,更易转化为急性白血病^[2]。5 号染色体长臂缺失与 MDS 发病密切相关,位于该区域的 SPARC、RPS14 基因的单倍剂量不足^[3],微小 RNA 如 miR-145、miR-146^[4]突变成为近年来研究 MDS 分子

发病机制的热点。本文就近年来国内外对伴 del(5q)的 MDS 的分子生物学改变以及临床治疗的研究进展进行综述。

1 RPS14、SPARC 单倍剂量不足

核糖体蛋白(ribosomal protein, RP)S14(RPS14)基因是核糖体蛋白基因超家族一员,由 5 个外显子和 4 个内含子组成,它位于染色体 5q31~5q32,在 18S rRNA 的成熟及 40S 亚单位形成过程中起重要作用。核糖体生物源性损伤与红细胞发育异常密切相关,但具体原因尚不明确,目前有 2 种观点:一种认为红细胞的生成需要大量的珠蛋白合成,产生大量的血红蛋白。这种高水平的蛋白合成需要高性能的核糖体蛋白的表达和激活,RPS14 表达降低可使蛋白表达分裂,从而影响血红蛋白的生成。另一种观点认为没有核糖体组成产物的表达导致核糖体不能形成,结果导致 MDM2 和 P53 基因表达的上调,随即出现祖细胞的死亡^[5]。后一种观点在 del(5q)的 MDS 大鼠模型上得到证实^[6]。此外,RPS14 与 RPS19 的功

作者介绍:年 青,Email:wcc19862003@outlook.com,

研究方向:骨髓增生异常综合征的发病机制。

通信作者:王 利,Email:liwangls@yahoo.com。

基金资助:国家自然科学基金资助项目(编号:81250034)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150416.1207.001.html

(2015-04-16)

能很相似,RPS19 位于 18sRNA 上,它的减少引起先天性纯红细胞再生障碍性贫血,这就说明无损伤的核糖体蛋白基因对正常红细胞的生成也有重要的影响^[7]。综上所述,RPS14 单倍剂量不足与伴 del(5q)的 MDS 发病密切相关。

SPARC 基因即富含半胱氨酸的酸性蛋白,位于 5 号染色体共缺失区,分子量为 40 kD,编码调节细胞间质的相互作用,具有抗黏连性。SPARC 蛋白正常表达可调节细胞的增殖及组织分化和胚胎发育^[8]。SPARC 表达水平降低可抑制细胞增殖的自身调节信号,促进肿瘤细胞的增殖及迁移,如在卵巢癌中^[9]。文献报道在 MDS 患者中,其 SPARC 的表达量是降低的,予雷那度胺治疗 MDS 患者后,其约 80% 的患者血象、骨髓象、临床表现得到好转,复查患者的 SPARC 基因表达,其 SPARC 基因的表达量是增加的^[10]。可见,SPARC 基因在 del(5q)MDS 的发生发展中起着重要的作用,但其具体机制尚不明确,有待进一步研究。

2 基因突变

突变基因是近年来分子生物学的研究焦点,疾病的发生多与突变基因密切相关。研究者报道,JAK2、MPL、TET2、IRF1^[11]、CTNNA1^[12]、RBM22^[13]、EGR1^[14]、APC 和 NPM1^[15]等基因的突变,亦与伴有 5 号染色体长臂缺失的 MDS 的发病密切相关。

JAK2 和 MPL 突变导致多能造血干细胞恶性克隆,从而代替了正常造血干细胞。Szpurka 等^[16]报道了 57 例伴有 del(5q)的 MDS 病人,其中有 11 例患者伴有 JAK2 突变。Ingram 等^[17]评估了 97 个 del(5q)的 MDS 和 5q-综合征患者,发现有 6 个患者伴有 JAK2 的突变,并且所有这些患者的血小板计数增高。最近的研究发现,伴 del(5q)的 MDS 患者中 JAK2 和 MPL 基因突变分别占 6%和 3%。尽管 JAK2、MPL 均位于 1 号染色体,但是在 del(5q)的 MDS 患者中发现有其突变,这个发现有助于临床上 MDS 联合化疗及靶向治疗。

CTNNA1 基因编码 alpha-catenin 蛋白,存在于正常造血干细胞。伴 del(5q)的 MDS 和急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)患者其表达显著降低或者缺失,而在 5q-综合征患者仅为其等位基因的缺失^[18],说明 CTNNA1 对 5q-综合征及伴 del(5q)的 MDS 和 AML 有重要影响。

RBM22 位于 5q33,编码高度保守的 RNA 结合蛋白,该基因在 50% 的 5q-综合征患者中表达显著下调,RBM22 已被证明能调控基因编码及细胞凋亡^[19]。这为 5q-综合征的靶向治疗提供新思路。

EGR1 具有特殊锌指结构与细胞生长、分化及发育密切相关。Joslin 等^[14]构建 EGR1 突变的小鼠模型,得出 EGR1 单倍剂量不足对小鼠发生白血病及对伴 del(5q)的 MDS 和 AML 的发展有重要影响。

NPM1 和 APC 基因的突变也被认为与 MDS 发病有关。其中研究发现 5 号染色体长臂缺失的 MDS 的患者中,NPM1 基因表达降低,但在 5q-综合征中却未见此现象^[20]。APC 是经典 WNT 信号通路的负性调控因子,在肠息肉中发挥抑癌基因作用,近期研究表明 APC 突变与 MDS 和伴 del(5q)的 MDS 患者的表型异常有关^[21],但影响机制有待深入研究。

3 微小 RNA(microRNA,miRNA)参与发病

miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性具有调控功能的非编码 RNA,其大小长约 20~25 个核苷酸。成熟的 miRNAs 是由较长的初级转录物经过一系列核酸酶的剪切加工而产生的,随后组装进 RNA 诱导的沉默复合体,通过碱基互补配对的方式识别靶 mRNA,并根据互补程度的不同指导沉默复合体降解靶 mRNA 或者阻遏靶 mRNA 的翻译。最近的研究表明 miRNA 参与各种各样的调节途径,包括发育、病毒防御、造血过程、器官形成、细胞增殖和凋亡、脂肪代谢等^[22]。微小 RNA 与 MDS 的发病亦密切相关。

3.1 miR-145 与 miR-146a

miR-146a 不仅在天然免疫中发挥作用,在特异性免疫中仍然发挥着重要的调控作用。对 miR-146a 的最新研究表明,miR-146a 在初始 T 细胞中表达降低,但在记忆 T 细胞中表达增高,这可能与 TCR 的激活有关。在 TCR 激活的 T 细胞中上调 miR-146a 的表达,可使得白细胞介素-2(interleukin-2,IL-2)的合成受损,这可能与 AP-1 活性降低有关。此外,miR-146a 表达增高还可以抑制 T 细胞的凋亡,参与调控激活诱导的细胞死亡过程^[23]。

Starczynowski 用大量的小 RNA 库中的平行序列检测出了 2 个表达降低的 micro-RNA,分别是 miR-145 和 miR-146a,位于 5 号染色体近 CDR 区,其在骨髓原始细胞中大量表达,研究证实 5q-综合征存在 miR-145 与 miR-146a(其编码基因分别位于 5q33.1 和 5q33.3)的表达丢失^[24],其调控靶基因分别是含有 Toll-白细胞介素 1 受体结构域的适配蛋白(TIRAP)和肿瘤坏死因子受体相关因子(TRAF6)。在先天性免疫系统中包含 Toll-白细胞介素 1 受体结构域的适配蛋白位于 TRAF6 的上游。敲除小鼠造血干、祖细胞的 miR-145 和 miR-146a 或者增强 TRAF6 的表达都可导致胸腺细胞增多、血小板增多、粒细胞减少和巨核细胞增生异常,即类似 5q-型 MDS 的临床表型^[25]。因此,del(5q)MDS 合并血小板增多的患者的发病可能与 miR-145 和 miR-146a 的损伤相关。

3.2 miR-150 和 miR-221

miR-150 与造血发育有关的转录因子 MYB 和干细胞因子 CD117/c-KIT 有关,miR-221 是抑癌基因 P27 的靶基因。Hussein 等^[26]在 5q-综合征中研究发现 miR-150 的表达增高,同时与 MYB 呈负反馈的表。由 MDS 转为 AML 患者中存在 miR-221 表达水平的降低且与 P27 呈负相关。这也说明了

miR-150 和 miR-221 可能是具有相互拮抗作用的 miRNA, 在参与 MDS 的发病中密切相关。

3.3 其他相关 miRNA

在对整个 miRNA 表达研究中,Hussein 等^[26]通过对 MDS 患者骨髓造血细胞的研究发现,伴有不同类型染色体突变的 MDS 患者的 miRNA 表达存在差异,如 miR-451 在所有 MDS 患者中表达降低。此外,在 5q-综合征患者中,5 号染色体断裂区编码的 miR-143,miR-145 和 miR-378 都为低表达,但非 5 号染色体编码的 miRNA 存在高表达,其中包括 miR-1/miR-133a,miR-133b/miR-206,miR-199a/miR-214,miR-125a,miR-342,miR-452 和 miR-497。

在未来的研究工作中可以通过构建敲除这些微小基因的老鼠模型等方法来进一步明确微小 RNA 与血液系统疾病发病的关系,这为治疗恶性血液系统疾病提供新的有意义的治疗方向。

4 P53 与 5 号染色体缺失区基因

P53 是被公认的抑癌基因,是调节细胞生长和细胞凋亡的关键转录因子。在正常情况下,P53 表达水平呈降低趋势。在肿瘤细胞中,P53 基因呈升高的趋势。

在核糖体生物源性损伤和红细胞发育不良的观点中,有研究者在 5q-综合征的小鼠上得出结论,认为游离核糖体的形成导致了正常核糖体构成失败,结果使得 MDM2 和 P53 表达升高,随即影响了红细胞系统的祖细胞凋亡。

最近,Barlow 等^[27]构建了 5q-综合征的小鼠模型,在 5q 综合征的小鼠体内,CDR 区分裂成两个区域,分别位于 11 号染色体和 18 号染色体,这些区域小片段的缺失是通过对染色体的改变来完成的。只有包含 RPS14 基因明确表型的缺失才会导致巨红细胞性贫血。RPS14 缺失的小鼠同敲除 P53 的小鼠一起繁殖,结果出现表型的颠倒,这个研究意味着 P53 介导细胞的凋亡及生长抑制,可能对 RPS14 诱导 5q-综合征中贫血的产生有紧密关系。

最新的研究结果显示,在人的 5q-综合征中发现了 P53 的激活及 P53 的表达增多。这可能是由于 RPS14 单倍体剂量不足所导致的。在 CD34⁺的 5q-综合征患者中,P53 通路上十种基因发生失控,这十种基因是 FAS、CD82、WIG1、CASP3、SESN3、TNFRSF10B、MDM4、BAX、DDB2 和 BID。这些基因在 5q-综合征中有的较正常调控表达增高,而有的如 MDM4 在 5q-综合征中是低表达的。此外,许多在 5q-综合征中显著上调的 P53 靶基因,包括 WIG-1、RPS27L、PHLDA3、BCL11B、FDXR、FAS 和 BAX^[28]。

目前研究显示多数 miRNA 在转录后突变导致 P53 基因表达增多,其中包括 miR-145 的单倍剂量不足,随之导致 DNA 损伤,P53 表达增多。另外也有研究发现 P53 基因转录

时,通过 miR-145 启动子上潜在的 P53,诱导激活了 miR-145 的表达。这些研究解释了为什么 miR-145 的降低没有在 CD34⁺的 5q-综合征病人中都表现出来,也就是说当 miR-145 的一个等位基因缺失会激活 P53,使其等位基因的表达增加^[29]。由于在 5q-综合征中核糖体的应激使得 P53 激活,这可能在红细胞生成受损及凋亡的增加中起着重要的作用。因而,P53 的激活代表了对 5q-综合征的重要的潜在靶向治疗,许多 P53 的抑制因素可以被应用于治疗之中,例如 pifithrin (P53 抑制剂)^[30]。有趣的是,近年来大量研究者将 P53 的突变株用于伴 5 号染色体缺失的 MDS 及 AML 的相关治疗中,而且已经证实 P53 突变与伴 5 号染色体长臂缺失的 MDS 的发病具有密切关系。近期报道^[31] 例 5q-综合征患者接受了克隆 p53 突变的治疗其疗效有待进一步完善,但这种亚克隆联合化疗药物的治疗可为以后的治疗提供新的方向。

5 小 结

近年来随着生物学的快速发展,尽管我们对 MDS 的发病机制及与其相关的分子生物学改变有了一定的认识,但由于 MDS 的异质性及发病的多阶段性,目前对 MDS 患者仍缺乏有效的治疗手段。随着对基因组的研究进入到了快速发展的时代,研究者可以对与 MDS 发病有关基因的整个序列进行研究,为治疗提供新的、高效的手段。除此之外,遗传学的染色体分型逐渐损伤,导致恶性克隆,研究其发展过程与免疫系统的紧密关系仍有很大意义。T 细胞和 NK 细胞的降低正在被详细的研究,T 细胞和 NK 细胞的降低也可能成为 MDS 亚型发病的重要原因。

关于免疫系统还是红细胞基质功能的改变影响了 MDS 的发展,还需要深入研究。对 MDS 每一方面损害的复杂功能学理解以及和其他相关方面的研究是一个很大的挑战,但是复杂的生物学探索对未来有效治疗疾病有很好的发展前途。

本文总结了近年来对伴 del(5q)的 MDS 的分子生物学研究进展,其中如 RPS14、SPARC 等这些特异性基因的研究对 MDS 的靶向治疗意义重大,在未来的研究中可以探索将靶向治疗与放,化疗联合应用,或在造血干细胞移植将其有机联合起来,这将对 MDS 治疗提供新的方法。

参 考 文 献

- [1] Kumar KR,Koduru P,Timmons C,et al.Myelodysplastic syndrome (MDS)-associated cytogenetic abnormalities in pediatric chronic myelogenous leukemia[J].Pediatr Blood Cancer,2013,60(11):146-148.
- [2] Pellagatti A,Jädersten M,Forsblom AM,et al.Lenalidomide inhibits the malignant clone and up-regulates the SPARC gene mapping to the commonly deleted region in 5q-syndrome patients[J].Proc Natl Acad Sci USA,2007,104(27):11406-11411.

- [3] Jädersten M, Hellström-Lindberg E. New clues to the molecular pathogenesis of myelodysplastic syndromes? [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316 (8): 1390–1396.
- [4] Gutiérrez NC, Sarasquete ME, Misiewicz-Krzeminska I, et al. Deregulation of microRNA expression in the different genetic subtypes of multiple myeloma and correlation with gene expression profiling [J]. *Leukemia*, 2010, 24(3): 629–637.
- [5] Narla A, Ebert BL. Ribosomopathies; human disorders of ribosome dysfunction [J]. *Blood*, 2010, 115(16): 3196–3205.
- [6] Valencia A, Cervera J, Such E, et al. Lack of RPS14 promoter aberrant methylation supports the haploinsufficiency model for the 5q-syndrome [J]. *Blood*, 2008, 112(3): 918.
- [7] Jia Q, Zhang Q, Zhang Z, et al. Correction: transcriptome analysis of the zebrafish model of diamond-blackfan anemia from RPS19 deficiency via p53-dependent and -independent pathways [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (11). Doi:10.1371/annotationdf71e418-b886a-b96341627cfc.ecollection 2013.
- [8] Swaminathan SS, Oh DJ, Kang MH, et al. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC)-null mice exhibit more uniform outflow [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(11): 2035–2047.
- [9] Chen J, Wang M, Xi B, et al. SPARC is a key regulator of proliferation, apoptosis and invasion in human ovarian cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): 42413.
- [10] Abouyaha I, Alhan C, Westers TM, et al. Treatment with lenalidomide in myelodysplastic syndromes with deletion 5q: results from the Dutch named patient program [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(4): 874–877.
- [11] Willman CL, Sever CE, Pallavicini MG, et al. Deletion of IRF-1, mapping to chromosome 5q31.1, in human leukemia and preleukemic myelodysplasia [J]. *Science*, 1993, 259(5097): 968–971.
- [12] Liu TX, Becker MW, Jelinek J, et al. Chromosome 5q deletion and epigenetic suppression of the gene encoding alpha-catenin (CTNNA1) in myeloid cell transformation [J]. *Nat Med*, 2007, 13(1): 78–83.
- [13] Boulwood J, Pellagatti A, Cattani H, et al. Gene expression profiling of CD34⁺ cells in patients with the 5q-syndrome [J]. *Br J Haematol*, 2007, 139(4): 578–589.
- [14] Joslin JM, Fernald AA, Tennant TR, et al. Haploinsufficiency of E-GR1, a candidate gene in the del(5q), leads to the development of myeloid disorders [J]. *Blood*, 2007, 110(2): 719–726.
- [15] Sportoletti P, Grisendi S, Majid SM, et al. Npm1 is a haploinsufficient suppressor of myeloid and lymphoid malignancies in the mouse [J]. *Blood*, 2008, 111(7): 3859–3862.
- [16] Szpupka H, Tiu R, Murugesan G, et al. Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis (RARS-T), another myeloproliferative condition characterized by JAK2 V617F mutation [J]. *Blood*, 2006, 108(7): 2173–2181.
- [17] Ingram W, Lea NC, Cervera J, et al. The JAK2 V617F mutation identifies a subgroup of MDS patients with isolated deletion 5q and a proliferative bone marrow [J]. *Leukemia*, 2006, 20(7): 1319–1321.
- [18] Nilsson L, Edén P, Olsson E, Månsson R, et al. The molecular signature of MDS stem cells supports a stem-cell origin of 5q myelodysplastic syndromes [J]. *Blood*, 2007, 110(8): 3005–3014.
- [19] Montaville P, Dai Y, Cheung CY, et al. Nuclear translocation of the calcium-binding protein ALG-2 induced by the RNA-binding protein RBM22 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1763(11): 1335–1343.
- [20] Grisendi S, Bernardi R, Rossi M, et al. Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis [J]. *Nature*, 2005, 437(7055): 147–153.
- [21] Lane SW, Sykes SM, Al-Shahrour F, et al. The Ape(min) mouse has altered hematopoietic stem cell function and provides a model for MPD/MDS [J]. *Blood*, 2010, 115(17): 3489–3497.
- [22] Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of 5q-syndrome phenotype [J]. *Nat Med*, 2010, 16(1): 49–58.
- [23] Curtale G, Citarella F, Carissimi C, et al. An emerging player in the adaptive immune response; microRNA-146a is a modulator of IL-2 expression and AICD in T lymphocytes [J]. *Blood*, 2010, 115(2): 265–273.
- [24] Dostalova Merkerova M, Krejci Z, Votavova H, et al. Distinctive microRNA expression profiles in CD34⁺ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome [J]. *Eur J Hum Genet*, 2011, 19(3): 313–319.
- [25] Elia L, Quintavalle M, Zhang J, et al. The knockout of miR-143 and miR-145 alters smooth muscle cell maintenance and vascular homeostasis in mice; correlates with human disease [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(12): 1590–1598.
- [26] Hussein K, Theophile K, Büsche G, et al. Significant inverse correlation of microRNA-150/MYB and microRNA-222/P27 in myelodysplastic syndrome [J]. *Leuk Res*, 2010, 34(3): 328–334.
- [27] Barlow JL, Drynan LF, Hewett DR, et al. A p53-dependent mechanism underlies macrocytic anemia in a mouse model of human 5q-syndrome [J]. *Nat Med*, 2010, 16(1): 59–66.
- [28] Boulwood J, Pellagatti A, McKenzie AN, et al. Advances in the 5q-syndrome [J]. *Blood*, 2010, 116(26): 5803–5811.
- [29] Krell J, Frampton AE, Colombo T, et al. The p53 miRNA interactome and its potential role in the cancer clinic [J]. *Epigenomics*, 2013, 5(4): 417–428.
- [30] Pellagatti A, Marafioti T, Paterson JC, et al. Induction of p53 and up regulation of the p53 pathway in the human 5q-syndrome [J]. *Blood*, 2010, 115(13): 2721–2723.

(责任编辑:唐宗顺)