

论著·临床研究

儿童急性髓系白血病 9P21 区基因甲基化的研究

张丽 阮敏 刘晓明 张家源 郭晔 杨文钰 刘芳
刘天峰 王书春 陈晓娟 邹尧 陈玉梅 竺晓凡

(中国医学科学院血液病医院/血液学研究所儿科, 天津 300020)

[摘要] **目的** 研究 9P21 区的 CDKN2A 和 CDKN2B 基因甲基化在儿童急性髓系白血病 (AML) 中的发生率及其与临床特征及预后的相关性。**方法** 回顾性分析 2010 年 4 月至 2012 年 12 月被诊断为 AML 的 58 例患儿的临床资料。选取 38 例健康志愿儿童为对照组, 采集两组儿童的骨髓或外周血, 常规提取基因组 DNA; 应用甲基化特异性-多重连接酶依赖性探针扩增法 (MS-MLPA) 检测 CDKN2A 和 CDKN2B 基因甲基化情况。**结果** 进行检测的健康儿童未发现基因甲基化。58 例患儿中, 44 例检测到甲基化探针。CDKN2A 基因甲基化涉及 136 bp 和 237 bp 探针; CDKN2B 基因甲基化涉及 130 bp、210 bp、220 bp 和 417 bp 探针。CDKN2A 基因甲基化率仅为 5%, 而 CDKN2B 基因甲基化率为 76%。部分探针甲基化与初诊时的性别、血红蛋白和血小板水平有关。**结论** 儿童 AML 患者 CDKN2B 基因甲基化率较高, 而 CDKN2A 基因甲基化率较低。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(1): 6-10]

[关键词] 急性髓系白血病; 甲基化; 儿童

Methylation of the genes in the 9P21 region in children with acute myeloid leukemia

ZHANG Li, RUAN Min, LIU Xiao-Ming, ZHANG Jia-Yuan, GUO Ye, YANG Wen-Yu, LIU Fang, LIU Tian-Feng, WANG Shu-Chun, CHEN Xiao-Juan, ZOU Yao, CHEN Yu-Mei, ZHU Xiao-Fan. Department of Pediatrics, Institute of Hematology, Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020, China (Zhu X-F, Email: xfzhu1981@126.com)

Abstract: Objective To investigate the methylation rate of cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (CDKN2A) and cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (CDKN2B) in the 9P21 region in children with acute myeloid leukemia (AML) and the association of gene methylation with clinical features and outcomes. **Methods** The clinical data of 58 children who were newly diagnosed with AML between January 2010 and December 2012 were retrospectively analyzed. Thirty-eight healthy children were recruited as the control group. Genomic DNA was extracted from bone marrow or peripheral blood of the 58 patients and 38 healthy children. The methylation status of CDKN2A and CDKN2B was analyzed by methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification. **Results** Gene methylation was not found in healthy children. Methylation probes of 44 patients were detected in 58 patients. The methylation of CDKN2A was detected with 136 bp and 237 bp methylation probes. The methylation of CDKN2B was detected with 130 bp, 210 bp, 220 bp, and 417 bp methylation probes. The methylation rate of CDKN2A was 5%, while the methylation rate of CDKN2B was 76%. The methylation detected by some probes was associated with sex, hemoglobin, and platelet count at the first visit. **Conclusions** The methylation of CDKN2B is a common event in children with AML, while the methylation of CDKN2A is relatively rare.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(1): 6-10]

Key words: Acute myeloid leukemia; Methylation; Child

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一组在临床及细胞遗传学上均具有高度

异质性的疾病, 具有多种遗传性缺陷^[1]。初诊时的细胞遗传学 (染色体核型分析) 检测结果已经作

[收稿日期] 2014-09-03; [接受日期] 2014-10-28

[基金项目] 国家自然科学基金 (81200396); 协和青年科研基金 (2012J17); 天津市科技支撑计划 (12zcdzsy18100)。

[作者简介] 张丽, 女, 博士, 副主任医师。

[通信作者] 竺晓凡, 女, 主任医师。

为 AML 的重要的预后因素^[2]。研究发现,除了遗传学的改变之外,表观遗传学在肿瘤发生的过程中也起到了重要作用^[3]。越来越多的研究表明,DNA 甲基化状态异常尤其是抑癌基因的高甲基化失表达在白血病的发生发展、诊断、检测微小残留病、预测病情以及指导治疗方面都有重要的作用^[3-8]。

9 号染色体短臂 21 段 (9P21) 的异常在多种肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用。目前已经发现在 9P21 区段有 P14/ARF、P16/INK4A、P15/INK4B 等抑癌基因,它们的位置非常临近,并且有部分重叠,构成了一个重要的抑癌基因簇。通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶 4 和 6 (cyclin-dependent kinases 4 and 6) 的活性,使细胞周期停滞于 G1/S 期,对细胞周期起着负性调控作用^[9-10]。范丽萍等^[11]采用巢式甲基化特异性聚合酶链反应法观察了 82 例急性白血病患者中 P16 基因甲基化,结果显示 P16 基因高甲基化发生率为 39.0%;在成人 AML 中,有 50%~80% 的患者可以检测到 CDKN2B 基因 (P15) 甲基化^[8,12]。关于 AML 中基因甲基化的研究在国内外已经较多,然而多是成人 AML 的研究,在儿童 AML 中的研究相对较少。为了解我国儿童 AML 中 P14/ARF、P16/INK4A、P15/INK4B 基因甲基化的情况,本研究应用甲基化特异性-多重连接酶依赖性探针扩增法 (methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification, MS-MLPA) 对 58 例初诊 AML 患儿进行 9P21 区段 P14/ARF、P16/INK4A、P15/INK4B 基因甲基化的研究,并分析其与临床特征、疗效及预后的相关性,报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2010 年 4 月至 2012 年 12 月我院儿科收治的 58 例初诊为 AML 的住院患儿的临床资料并进行回顾性分析,包括临床特征、FAB 分型及细胞遗传学改变等。所有患儿均经骨髓形态学、细胞组织化学染色、细胞免疫分型及细胞遗传学确诊。另选取 38 例健康志愿儿童作为正常对照。本研究获得 AML 患儿及健康儿童志愿者监护人的知情同意。

1.2 治疗方案

(1) 急性早幼粒细胞白血病 (APL, AML-M3) 患儿治疗方案:应用全反式维甲酸 (ATRA, 每日 25 mg/m², 连续使用 42 d) 联合三氧化二砷 (As₂O₃, 每日 0.15~0.2 mg/kg, 连续使用 28 d) 行诱导治疗达完全缓解 (CR) 后,给予去甲氧柔红霉素 (IDA, 每日 10 mg/m², 连续使用 3 d), 再予 As₂O₃ (每日 0.15~0.2 mg/kg, 连续使用 28 d) 行强化治疗。上述治疗结束后随机分为两组,分别予柔红霉素 (DNR, 每日 45 mg/m²) 或 DNR (每日 45 mg/m²) + 阿糖胞苷 (Ara-C, 每 12 h 1000 mg/m²), 每疗程均连续使用 3 d, 连用 2 个疗程。维持治疗期采用 ATRA (每日 20 mg/m², 1~14 d) 联合 6-巯基嘌呤 (6-Mp, 每日 100 mg/m², 15~28 d) 和甲氨蝶呤 (MTX, 每日 20 mg/m², 15 d 和 22 d) 进行治疗,共维持治疗 2 年。缓解期行腰穿和地塞米松 (4 mg) + Ara-C (36 mg) + MTX (12 mg) 的三联鞘注 4 次。

(2) 非 AML-M3 患儿治疗方案:该组患儿采用 AML-99 方案进行化疗,详见文献^[13]。

1.3 基因组 DNA 提取

取 AML 患儿和健康儿童志愿者骨髓液或外周血 2 mL, 采用 DNA 提取试剂盒 (Axygen Biosciences 公司, 美国) 提取基因组 DNA, -20℃ 保存备用。

1.4 MS-MLPA 法行甲基化检测

所用试剂盒购于荷兰 MRC-Holland 公司 (ME024-B1), 具体操作步骤如下: (1) DNA 变性:取 5 μL (20 ng/μL) DNA 样品, 98℃ 处理 5 min, 25℃ 暂停。(2) 探针与 DNA 的杂交:取出样品, 降至室温, 加入 3 μL 杂交混合液 (1.5 μL SALSA probemix + 1.5 μL MLPA 缓冲液), 95℃ 处理 1 min, 60℃ 温浴 16~24 h。(3) 连接及连接-消化:PCR 仪降到 20℃, 取出 PCR 管; 每管加入 3 μL ligase buffer A 和 10 μL 水, 吹打混匀; 每个标本分为 a、b 两管, 各取 10 μL 混合液到新的 PCR 管; 将所有管放回 PCR 仪, 48℃ 暂停; 往 a 管中加入 10 μL 连接酶混合液 (8.25 μL 水 + 1.5 μL ligase buffer B + 0.25 μL ligase-65 酶), 混匀, 往 b 管中加入 10 μL 连接酶-消化混合液 (7.75 μL 水 + 1.5 μL ligase buffer B + 0.25 μL ligase-65 酶 + 0.5 μL HhaI 酶), 混匀; 48℃ 温浴 30 min 连

接消化；98℃加热5 min 灭活酶；20℃暂停。

(4) 接探针的PCR扩增：从PCR仪中取出样品，降至室温；加入10 μL PCR混合液(7.5 μL水+2 μL PCR Primer Mix+0.5 μL SALSA Polymerase)行PCR扩增，95℃变性30 s，60℃退火30 s，72℃延伸60 s，35个循环后，72℃再延伸20 min，15℃暂停。

(5) PCR产物的毛细管电泳：取0.5 μL PCR产物，加入0.5 μL 500LIZ® Size Standard和9 μL Hi-DiTM Formamide行毛细管电泳。(6) 结果分析：所得结果通过GeneMapper 4.0和Coffalyser软件进行半定量分析，了解目的基因的片段缺失或扩增情况。

该MS-MLPA试剂盒中，包含9个甲基化检测探针，可检测CDKN2A(P14/ARF、P16/INK4A)、CDKN2B(P15/INK4B)基因启动子区域的甲基化状态。各探针的详细情况见表1。

表1 MS-MLPA试剂盒中甲基化特异性探针列表

基因	染色体定位	片段长度(bp)
CDKN2A	起始密码子上游923nt(P14/ARF启动子)	136
CDKN2A	起始密码子上游990nt(P14/ARF启动子)	157
CDKN2A	外显子1(P14/ARF启动子)	427
CDKN2B	外显子1(P15/INK4B启动子)	130
CDKN2B	外显子1(P15/INK4B启动子)	210
CDKN2B	外显子1(P15/INK4B启动子)	220
CDKN2B	外显子1(P15/INK4B启动子)	417
CDKN2A	外显子2(P16/INK4A启动子)	171
CDKN2A	外显子2(P16/INK4A启动子)	237

1.5 随访

随访时间截止至2013年12月20日或失访日期，中位随访时间为16个月(1~45个月)。无事件生存(EFS)期定义为自诊断到第1次事故(包括分子生物学和临床复发、在CR期间的死亡)或末次随访日期；无病生存(DFS)期定义为自CR至白血病复发或在CR期间死亡或末次随访日期。总生存(OS)期指自诊断到死亡或末次随访日期。

1.6 统计学分析

采用SPSS 16.0统计软件对数据进行统计学分析，计量资料以中位数(范围)表示，组间比较采用秩和检验；计数资料用百分率(%)表示，样本率的比较采用 χ^2 检验。生存分析应用Kaplan-Meier法和log-rank检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AML患儿的一般资料

58例AML患儿中，男36例(62%)，女22例(38%)，中位年龄8岁(1~13岁)。中位初诊白细胞数为 $17.3 \times 10^9/L$ ($0.8 \sim 504.8 \times 10^9/L$)，中位初诊血红蛋白为85 g/L(43~134 g/L)，中位初诊血小板数为 $44 \times 10^9/L$ ($9 \sim 228 \times 10^9/L$)。

2.2 MS-MLPA法行甲基化检测结果

在健康儿童中各探针均未发现甲基化。在AML患儿中，157 bp探针、427 bp探针和171 bp探针未检测到甲基化；检测到CDKN2A基因的甲基化包含136 bp探针和237 bp探针；CDKN2B基因的甲基化涉及130 bp探针、210 bp探针、220 bp探针和417 bp探针。

2.2.1 甲基化特异性探针检测结果与临床特征、预后的关系

在44例(76%)AML患儿中检测到至少1个探针的甲基化，37例(64%)AML患儿中检测到至少2个探针的甲基化。依据每一个探针的检测结果分为非甲基化组和甲基化组。各探针非甲基化组和甲基化组之间进行比较后发现，136 bp探针甲基化组患儿的血红蛋白水平[123.5 g/L(113~134 g/L)]高于非甲基化组[84 g/L(43~127 g/L)]($P=0.026$)，130 bp探针甲基化组患儿的血小板水平[$38 \times 10^9/L$ ($9 \sim 160 \times 10^9/L$)]低于非甲基化组[$75 \times 10^9/L$ ($30 \sim 228 \times 10^9/L$)]($P=0.029$)，417 bp探针甲基化组患儿的男性比例高于非甲基化组($P=0.003$)。不同FAB分型AML患儿各探针甲基化百分比情况见表2，只有130 bp探针在不同FAB分型患儿中甲基化的比例有明显的差异($P=0.034$)。各探针的非甲基化组和甲基化组的EFS、DFS和OS率之间差异均无统计学意义，然而220 bp探针甲基化组的DFS和EFS率相比非甲基化组有降低趋势。患者年龄与患者甲基化探针数目之间无明显的相关性；患儿高甲基化的探针数目与其EFS、DFS及OS率之间无明显的相关性。

2.2.2 CDKN2A和CDKN2B基因甲基化与AML的FAB分型之间的关系

AML患儿中，CDKN2A的甲基化率仅为5%，而CDKN2B的甲基化较为常见，各探针甲基化率为76%。AML-M3和AML-M4的CDKN2B甲基化发生率为100%。随访结束时3例AML-M3患儿均无病生存；7例

AML-M4 患儿中, 4 例为 M4eo(CBFB/MYH11 阳性), 1 例放弃治疗, 3 例复发。

2.2.3 基因甲基化与细胞遗传学结果之间的关系

46 例患儿进行细胞遗传学检测, 1 例未见分裂像。按照文献^[2]所述, 依据细胞遗传学结果将 45 例患儿分为预后良好组 ($n=27$), 其中 $t(8; 21)$

21 例, $t(15; 17)$ 3 例, $inv16(CBFB/MYH11)$ 3 例; 预后中等组 ($n=11$) 和预后不良组 ($n=7$)。上述 3 组中均有基因甲基化, 预后良好组患儿发生甲基化 24 例 (89%), 预后中等组患儿发生甲基化 7 例 (64%), 预后不良组患儿发生甲基化 5 例 (71%), 三组间比较差异无统计学意义 ($P=0.174$)。

表 2 不同 FAB 分型 AML 患儿 CDKN2A 与 CDKN2B 基因甲基化发生率 [例 (%)]

FAB 分型	例数	CDKN2A		CDKN2B			
		136 bp	237 bp	130 bp	210 bp	220 bp	417 bp
M2	34	2(6)	0(0)	28(82)	11(32)	15(44)	21(62)
M3	3	0(0)	0(0)	3(100)	1(33)	0(0)	1(33)
M4	7	0(0)	0(0)	5(71)	3(43)	2(29)	5(71)
M5	14	0(0)	1(7)	6(43)	4(29)	4(29)	6(43)
总计	58	2(3)	1(2)	42(72)	19(33)	21(36)	33(57)

3 讨论

AML 是一种克隆性起源于髓系多能干细胞或很早期的祖细胞突变而引起的造血系统恶性肿瘤。近半数 AML 患者存在细胞遗传学异常, 细胞遗传学正常的患者, 可存在其他的体细胞突变, 影响患者的预后^[14]。除了遗传学改变之外, 表观遗传学在肿瘤发生中也起到了重要的作用^[3]。基因的甲基化在表观遗传学的研究中也越来越引起重视。富含 CG 的区域, 即 CpG 岛多位于基因启动子区, 并且一般在健康组织中为非甲基化^[4,15-16]状态。这些基因的启动子区的甲基化常会导致基因的转录沉默, 是肿瘤发生过程中基因沉默的重要机制之一^[4,12]。其中最常研究的是 CDKN2B 基因 (P15/INK4B) 和与它功能类似的 CDKN2A 基因 (包含很多转录变体: 亚型 1, P16/INK4A; 亚型 4, P14/ARF)^[17]。本研究应用 MS-MLPA 方法对 58 例初诊儿童 AML 的 9P21 区域的 CDKN2A 和 CDKN2B 基因进行甲基化检测, 发现 CDKN2A 的甲基化率仅为 5%, 而 CDKN2B 的甲基化较为常见, 占 76%。

Galm 等^[7]的研究认为基因甲基化与 OS 及初诊时的白细胞计数无关。而本研究中发现, 部分探针甲基化与初诊时的性别、白细胞和血小板计数有关。其原因可能与不同的实验方法、不同年龄阶段等有关, 需要进一步扩大样本量进行深入

研究。

有研究认为, 约 50%~60% 的 APL 患者发生 P15 启动子区的甲基化, 并且在未联合应用 As_2O_3 时, P15 启动子区的甲基化为预后不良的因素^[18]。当复发 APL 患者应用 As_2O_3 治疗之后, P15 甲基化不影响预后^[19]。在本研究的 APL 患者中, P15 甲基化率为 100%, 与既往报道文献并不完全一致, 可能与不同的检测方法、年龄及样本量小有关。同时, 本研究中的 3 例 P15 甲基化患儿均长期无病生存, 可能与应用含有 As_2O_3 的治疗方案有关。相似的, Markus 等^[20]的研究中, $inv(16)$ 的 P15 平均甲基化水平为 4.6% (2%~11%), 远低于本研究中 AML-M4 患儿中 P15 甲基化率 (100%), 亦可能与不同的检测方法、年龄差别有关。

Cechova 等^[12]也应用了 MS-MLPA 方法检测 9P21 区域甲基化的情况, 其中 13 例成人 AML 的 P15 的甲基化率为 100%, P14 甲基化率为 62%, P16 甲基化率为 46%。国内范丽萍等^[11]研究成人 AML, P16 基因甲基化率为 39%。本研究中, P15 甲基化率与成人的相似, 而 P14 和 P16 的甲基化率则明显低于成人, 其原因可能与研究样本的年龄差异有关。有研究表明, 在 AML 中存在 IDH1/2、DNMT3A、TET2 等基因的重现性突变, 这些基因编码的蛋白质参与了表观遗传学途径, 破坏胞嘧啶共价修饰的平衡可能是髓系白血病发病的关键步骤^[4-5]。然而, 众所周知, 儿童 AML 中

IDH1/2、DNMT3A、TET2的突变率极低，与成人存在明显差异^[21-22]。这提示，儿童AML的发病可能存在其他机制。基于成人与儿童具有相似的P15甲基化发生率，同时，在MDS中，P15甲基化的发生率会随着疾病进展到AML而明显增加^[12,23]，因而我们推测：通过对P15甲基化相关的通路进行研究可能发现儿童与成人AML的共同发病机制。

众所周知，DNA甲基化在AML的发病中起到一定的作用，而DNA的甲基化过程是可逆的，DNA甲基化转移酶是甲基化过程中关键的一环。已有文献表明，DNA甲基化转移酶抑制剂在AML的治疗中是安全有效的^[24]。遗憾的是本研究中的病例尚无应用该类药物的经验。此外，本组患儿不同FAB分型组别间样本含量差别较大，如M3型组仅3例，且总体样本量偏小，可能对结果有一定的影响，需要进一步扩大样本量进行深入研究。加强儿童AML中基因甲基化的基础和临床方面的研究是我们努力的方向。

[参 考 文 献]

- [1] Caligiuri MA, Strout MP, Gilliland DG. Molecular biology of acute myeloid leukemia[J]. *Semin Oncol*, 1997, 24(1): 32-44.
- [2] Grimwade D, Walker H, Oliver F, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties[J]. *Blood*, 1998, 92(7): 2322-2333.
- [3] 李玉华, 文飞球. DNA甲基化与儿童白血病的临床研究进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13(2): 174-177.
- [4] Schoofs T, Berdel WE, Müller-Tidow C. Origins of aberrant DNA methylation in acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2014, 28(1): 1-14.
- [5] Jasielec J, Saloura V, Godley LA. The mechanistic role of DNA methylation in myeloid leukemogenesis[J]. *Leukemia*, 2014, 28(9): 1765-1773.
- [6] Das PM, Singal R. DNA methylation and cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(22): 4632-4642.
- [7] Galm O, Wilop S, Lüders C, et al. Clinical implications of aberrant DNA methylation patterns in acute myelogenous leukemia[J]. *Ann Hematol*, 2005, 84 Suppl 1: 39-46.
- [8] Agrawal S, Unterberg M, Koschmieder S, et al. DNA methylation of tumor suppressor genes in clinical remission predicts the relapse risk in acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 1370-1377.
- [9] Recio JA, Noonan FP, Takayama H, et al. Ink4a/arf deficiency promotes ultraviolet radiation-induced melanomagenesis[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(22): 6724-6730.
- [10] Bazan V, Zanna I, Migliavacca M, et al. Prognostic significance of p16INK4a alterations and 9p21 loss of heterozygosity in locally advanced laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *J Cell Physiol*, 2002, 192(3): 286-293.
- [11] 范丽萍, 沈建箴, 叶宝国, 等. 巢式MSP法检测急性白血病患者p16基因甲基化状态[J]. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(2): 258-261.
- [12] Cechova H, Lassuthova P, Novakova L, et al. Monitoring of methylation changes in 9p21 region in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia[J]. *Neoplasma*, 2012, 59(2): 168-174.
- [13] Tsukimoto I, Tawa A, Horibe K, et al. Risk-stratified therapy and the intensive use of cytarabine improves the outcome in childhood acute myeloid leukemia: the AML99 trial from the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(24): 4007-4013.
- [14] Mrózek K, Marcucci G, Paschka P, et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification?[J]. *Blood*, 2007, 109(2): 431-448.
- [15] Caiafa P, Zampieri M. DNA methylation and chromatin structure: the puzzling CpG islands[J]. *J Cell Biochem*, 2005, 94(2): 257-265.
- [16] Herman JG, Graff JR, Myöhänen S, et al. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(18): 9821-9826.
- [17] Tien HF, Tang JH, Tsay W, et al. Methylation of the p15(INK4B) gene in myelodysplastic syndrome: it can be detected early at diagnosis or during disease progression and is highly associated with leukaemic transformation[J]. *Br J Haematol*, 2001, 112(1): 148-154.
- [18] Chim CS, Kwong YL. Adverse prognostic impact of CDKN2B hyper-methylation in acute promyelocytic leukemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 2006, 47(5): 815-825.
- [19] Au WY, Fung AT, Ma ES, et al. Serial studies of methylation of CDKN2B and CDKN2A in relapsed acute promyelocytic leukaemia treated with arsenic trioxide[J]. *Br J Haematol*, 2005, 131(5): 632-635.
- [20] Markus J, Garin MT, Bies J, et al. Methylation-independent silencing of the tumor suppressor INK4b (p15) by CBFbeta-SMMHC in acute myelogenous leukemia with inv(16)[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(3): 992-1000.
- [21] 周剑锋, 张丽, 曾慧敏, 等. 儿童急性髓系白血病DNMT3a基因突变的分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(6): 1297-1301.
- [22] 张丽, 曾慧敏, 艾晓非, 等. 儿童急性髓系白血病NPM1和IDH基因突变的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(5): 449-452.
- [23] 任媛媛, 竺晓凡. 儿童骨髓增生异常综合征分子生物学研究进展[J]. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(9): 957-961.
- [24] Pleyer L, Burgstaller S, Girschikofsky M, et al. Azacitidine in 302 patients with WHO-defined acute myeloid leukemia: results from the Austrian Azacitidine Registry of the AGMT-Study Group[J]. *Ann Hematol*, 2014, 93(11): 1825-1838.

(本文编辑: 万静)