

$p53$ 基因突变与骨髓增殖性肿瘤临床特征及预后关系*

李艳秋¹ 丁超¹ 胥国强² 刘娟¹ 王欣¹

(遂宁市中心医院 1. 血液科; 2. 检验科, 四川 遂宁 629000)

【摘要】 目的 探究 $p53$ 基因突变与骨髓增殖性肿瘤(MPN)临床特征及预后的关系。方法 选取 2017 年 1 月~2020 年 1 月本院收治的 MPN 患者 126 例,二代测序法检测患者 $p53$ 基因突变情况。对患者进行随访,统计患者总生存(OS)时间和累计生存率;分析 $p53$ 基因突变对患者临床特征、预后的影响。结果 126 例 MPN 患者中 12 例(9.52%)检出 $p53$ 基因突变,突变主要位于 4~8 号外显子上,不同类型患者的 $p53$ 基因突变检出率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。 $p53$ 突变组患者年龄大于 $p53$ 非突变组,WBC 水平低于 $p53$ 非突变组($P<0.05$),两组患者的染色体核型、IPSS 预后分层比较差异无统计学意义($P>0.05$); $p53$ 非突变组患者的 OS 时间、累计生存率均明显高于 $p53$ 突变组患者($P<0.05$)。结论 MPN 患者 $p53$ 基因突变发生率较高,与患者年龄、WBC 水平、异常核型及 IPSS 预后分层相关, $p53$ 基因突变会影响患者的预后,可作为临床筛查预后不良高风险人群的客观指标。

【关键词】 骨髓增殖性肿瘤; $p53$ 基因;基因突变;临床特征;预后

【中图分类号】 R733.3 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.022

Relationship of $p53$ gene mutation with clinical features and prognosis of myeloproliferative neoplasms

LI Yanqiu¹, DING Chao¹, XU Guoqiang², LIU Juan¹, WANG Xin¹

(1. Department of Hematology, Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan, China;

2. Department of Laboratory Medicine, Suining Central Hospital, Suining 629000, Sichuan, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the relationship of $p53$ gene mutation with clinical features and prognosis of myeloproliferative neoplasms (MPN). **Methods** Totally 126 patients with MPN admitted to the hospital were selected from January 2017 to January 2020. $p53$ gene mutation was detected by second generation sequencing. The patients were followed up to count the overall survival time and cumulative survival rate. The influence of $p53$ gene mutation on the patients' clinical features and prognosis was analyzed. **Results** A total of 12 (9.52%) patients with $p53$ gene mutations were detected in this study, and the mutations were mainly located in exons 4-8. There was no statistically significant difference in the detection rate of $p53$ gene mutations in different types of patients ($P>0.05$). Patients in the $p53$ mutation group were older than those in the non- $p53$ mutation group, and the WBC was lower than that in the non- $p53$ mutation group ($P<0.05$). The chromosomal karyotypes and IPSS stratification showed statistically significant differences between the two groups ($P<0.05$). The OS time and cumulative survival rate of the non- $p53$ mutation group were significantly longer/higher than those of the $p53$ mutation group ($P<0.05$). **Conclusion** The incidence of $p53$ gene mutations in patients with MPN is relatively higher, which is related to the patient's age, WBC, abnormal karyotypes and IPSS stratification. $p53$ gene mutations can affect the prognosis of patients, which indicates that it can be used as an objective indicator to screen high-risk population of poor prognosis.

【Key words】 Myeloproliferative neoplasms; $p53$ gene; Gene mutation; Clinical feature; Prognosis

骨髓增殖性肿瘤(Myeloproliferative neoplasms,

MPN)是一种因骨髓中一系或多系骨髓细胞持续异常增殖引起的血液系统克隆性疾病,临床以血栓、出血、脾大等为主要表现,随着病情进展可转化为骨髓纤维化及急性白血病,严重影响患者生存质量^[1-3]。近年来研究发现,绝大多数 MPN 患者存在不同的基因突

基金项目:四川省卫生和计划生育委员会科研课题(17PJ432)

引用本文:李艳秋,丁超,胥国强,等. $p53$ 基因突变与骨髓增殖性肿瘤临床特征及预后关系[J].西部医学,2022,34(12):1835-1838.
DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.12.022

变,给临床 MPN 的诊断及患者预后评估带来了极大的便利^[4-5]。*p53* 基因是当前发现的与人类肿瘤相关性最高的一种基因,与乳腺癌、食管癌、多发性骨髓瘤的发病、淋巴结转移及预后关系密切,可为多种肿瘤疾病的靶向治疗提供参考依据^[6-7]。已有研究证实,*p53* 基因突变在骨髓增生异常综合征(Myelodysplastic syndromes, MDS)的发生及转归中发挥重要作用^[8],但有关 *p53* 基因突变在 MPN 患者中的分布情况报道较少。本研究分析了 *p53* 基因突变与 MPN 临床特征及预后的关系,旨在加强对 MPN 发病机制的理解,为 MPN 预后不良高风险人群的筛查提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 1 月~2020 年 1 月我院收治的 MPN 患者 126 例。纳入标准:①临床检查符合 2008 年 WHO 颁布的造血和淋巴组织肿瘤分类标准中有关 MPN 的诊断标准^[9],且均经骨髓检查、影像学检查、组织活检等确诊。②患者性别不限,年龄≥18 岁,均为初诊患者。③一般临床资料、实验室资料完整患者。④患者知情同意,签署知情同意书。排除标准:①合并其他血液肿瘤患者。②既往存在 MPN 治疗史患者。③合并重要脏器功能障碍、自身免疫性疾病、血液系统疾病患者。④存在严重认知功能障碍,难以配合治疗患者。126 例 MPN 患者中男性 71 例,女性 55 例,年龄 35~70 岁,平均(56.73±10.24)岁;真性红细胞增多症(PV)47 例、原发性血小板增多症(ET)64 例、原发性骨髓纤维化(PMF)15 例。本研究经医院伦理委员会批准,符合赫尔辛基宣言。

1.2 研究方法

1.2.1 一般临床资料收集 收集患者的性别、年龄、身体质量指数(BMI)、基础疾病史(糖尿病、高血压)、血红蛋白(HB)、白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、骨髓原始细胞比例、脾肿大和血栓栓塞发生情况等一般临床资料。

1.2.2 染色体核型分析及预后分层 患者就诊后行骨髓穿刺术抽取骨髓血 0.2~0.3 mL 培养骨髓细胞,收集骨髓细胞常规制片,采用 G 显带技术进行核型分析;根据患者染色体核型结果参考国际预后积分系统(IPSS)染色体核型分组标准对患者进行染色体核型预后分层,分为低危、中危和高危。

1.2.3 *p53* 基因突变检测 所有患者均于首次治疗前取空腹静脉血 5 mL,低温离心后分离血浆和血细胞,血细胞层用于提取基因组 DNA。取样品基因组

DNA 10~17 ng,采用 Ion Torrent 检测平台中的 Ion Ampliseq 超高多重 PCR 靶向技术,富集 112 个血液肿瘤相关基因。采用二代测序技术检测 *p53* 基因突变情况,平均基因覆盖率为 97.10%,平均测序深度为 1314×;测序后数据利用 dbSNP、1000genome、polyphen2、cosmic 等数据库进行筛选和突变验证。

1.2.4 随访 所有患者均于确诊之日起进行随访,随访形式包括门诊定期随访、问卷及电话随访。随访截止时间为 2021 年 6 月 30 日,中位随访时间为 20.0 (3.0~54.0)个月,总生存(OS)时间定义为确诊之日至死亡或末次随访时间。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析,符合正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,行 *t* 检验;计数资料以 *n*(%)表示,行 χ^2 检验或 Fisher 确切概率检验;患者生存期分析采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MPN 患者 *p53* 基因突变情况分析 126 例 MPN 患者中,12 例(9.52%)患者检出 *p53* 基因突变,突变分别位于 4 号(4/12)、6 号(3/12)、5 号(2/12)、8 号(2/12)和 7 号(1/12)外显子上。不同类型患者的 *p53* 基因突变检出率比较差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

表 1 不同类型 MPN 患者 *p53* 基因突变情况分析 [*n*(×10⁻²)]
Table 1 Analysis of *p53* gene mutations in patients with different types of MPN

MPN 类型	<i>n</i>	<i>p53</i> (+)	<i>p53</i> (-)	<i>P</i>
PV	47	5(10.64)	42(89.36)	0.754
ET	64	5(7.81)	59(92.19)	
PMF	15	2(13.33)	13(86.67)	

2.2 *p53* 基因突变患者与非突变患者临床特点分析 *p53* 突变组患者年龄大于 *p53* 非突变组,WBC 水平低于 *p53* 非突变组(*P*<0.05);两组患者的性别、BMI、基础疾病、HB、PLT、骨髓原始细胞比例、脾肿大和血栓栓塞发生情况比较差异无统计学意义(*P*>0.05),见表 2。

2.3 *p53* 基因突变患者与非突变患者染色体核型及预后分层分析 两组患者的染色体核型、IPSS 预后分层比较差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 3。

2.4 *p53* 基因突变与 MPN 患者预后的关系 截至末次随访日,126 例 MPN 患者中 24 例(19.05%)患者死亡,其中 *p53* 突变组死亡 5 例(41.67%),*p53* 非突变组死亡 19 例(16.67%)。*p53* 非突变组患者的 OS 时间、累计生存率均明显高于 *p53* 突变组患者,差异比较有统计学意义(*P*<0.05),见表 4、图 1。

表 2 p53 基因突变患者与非突变患者一般临床资料比较[$n(\times 10^{-2})$, ($\bar{x} \pm s$)]

Table 2 Comparison of general clinical data of patients with p53 gene mutations and non-mutated patients

指标	p53 突变组 (<i>n</i> =12)	p53 非突变组 (<i>n</i> =114)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
性别			0.574	0.449
男	8(66.67)	63(55.26)		
女	4(33.33)	51(44.74)		
年龄(岁)	60.84±8.64	56.30±6.39	2.260	0.026
BMI(kg/m ²)	23.17±3.58	23.84±2.65	0.804	0.423
基础疾病				
糖尿病	3(25.00)	26(22.81)	—	0.864
高血压	4(33.33)	24(21.05)	—	0.463
HB(g/L)	70.26±18.76	74.28±15.34	0.845	0.400
WBC($\times 10^9$ /L)	7.38±2.28	9.54±3.06	2.373	0.019
PLT($\times 10^9$ /L)	55.67±11.38	58.76±16.53	0.631	0.529
骨髓原始细胞比例(%)	5.07±1.34	4.64±2.01	0.723	0.471
脾肿大	8(66.67)	61(53.51)	0.759	0.384
血栓栓塞	7(58.33)	71(62.28)	—	0.766

表 3 p53 基因突变患者与非突变患者染色体核型及预后分层分析[$n(\times 10^{-2})$]

Table 3 Chromosomal karyotype and prognostic stratification analysis of p53 gene mutation patients and non-mutated patients

指标	p53 突变组 (<i>n</i> =12)	p53 非突变组 (<i>n</i> =114)	<i>P</i>
染色体核型			0.002
异常核型	8(66.67)	37(32.46)	
正常核型	3(25.00)	77(67.54)	
复杂核型	1(8.33)	0(0.00)	
IPSS 预后分层			0.025
低危	0(0.00)	33(28.95)	
中危	10(83.33)	74(64.91)	
高危	2(16.67)	7(6.14)	

表 4 p53 基因突变患者与非突变患者预后情况分析[$(\bar{x} \pm s)$, $n(\times 10^{-2})$]

Table 4 Analysis of the prognosis of patients with p53 gene mutations and non-mutated patients

指标	p53 突变组 (<i>n</i> =12)	p53 非突变组 (<i>n</i> =114)	<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
OS 时间(月)	38.28±10.56	47.44±12.37	2.470	0.015
累计生存率	7(58.33)	95(83.33)	4.401	0.036

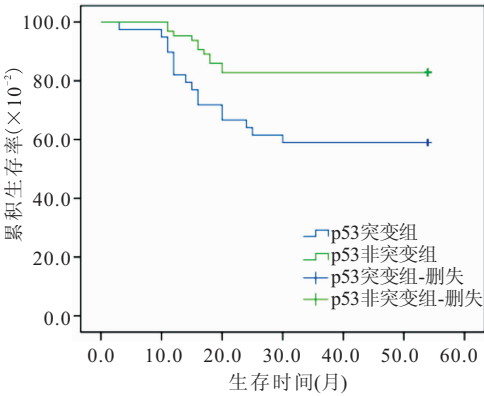


图 1 p53 基因突变患者与非突变患者生存曲线
Figure 1 Survival curves of p53 gene mutation patients and non-mutant-patients

3 讨论

既往研究表明,炎症因子、表观遗传学突变及造血微环境的改变是 MPN 发生发展的重要因素,随着全基因组和靶向测序技术的不断发展,多种基因在 MPN 发生及转归中的作用被揭示^[10-11]。p53 基因是一种经典的抑癌基因,具有诱导细胞凋亡、基因修复、维持基因组稳定性的作用,其突变或功能缺失会影响细胞正常周期,促进恶性肿瘤的发生发展^[12-13]。临床研究证实,在人类所有的肿瘤中,p53 基因突变率高达 50%,并且合并 p53 基因突变的患者预后较未突变者更差^[14]。尽管 p53 基因在实体肿瘤中具有较高的突变率,但其在血液系统肿瘤中的突变率普遍较低,为 5%~10%。一项有关人急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)患者 p53 基因突变的分子遗传学特征分析研究发现,约有 9.1%的 AML 患者存在 p53 基因突变^[15]。本研究结果显示,p53 基因突变在 MPN 患者中的发生率为 9.52%,与文献报道基本一致。对 p53 基因突变位点的研究发现,p53 突变位点主要位于 4~10 号外显子上^[16]。本研究中,MPN 患者的 p53 基因突变位于 4~8 外显子,与既往研究结果一致。本研究未发现不同类型 MPN 患者的 p53 基因突变检出率存在差异,提示 p53 基因突变检测可能无法为 MPN 的不同类型鉴别提供依据。

进一步分析不同突变情况患者的临床资料可知,p53 突变组患者年龄大于 p53 非突变组,WBC 水平低于 p53 非突变组,提示 p53 基因突变多发生于年长患者,且对患者的 WBC 水平有一定影响。Li 等^[17]对 MDS 患者的 p53 基因突变情况进行分析,发现 p53 基因突变在较年长 MDS 患者中更常见,认为 p53 基因突变频率会随着年龄的增加而逐渐增高。本研究的结果也进一步证实了这一观点。

染色体核型异常是影响血液系统肿瘤患者预后的重要因素,其中复杂核型被认为是高危核型异常,与患者预后不良密切相关^[18-19]。此外,IPSS 较高危分组也是影响 MDS、AML 等血液系统肿瘤患者预后的独立危险因素^[20-21]。本研究发现,p53 基因突变患者与非突变患者的染色体核型、IPSS 预后分层存在明显差异,提示 p53 基因突变与 MPN 患者的异常核型及中高危 IPSS 预后分层相关。分析相关原因可能是 p53 基因突变影响了基因组稳定性,出现染色体异常,从而使患者染色体核型发生变化^[22-23]。近年来相关研究表明,p53 基因突变在食管癌、乳腺癌中会导致更差的 OS,均为独立的预后不良因素^[24-25]。本研究结果显示,p53 非突变组患者的 OS 时间、累计生存率均明显高于 p53 突变组患者,提示 p53 基因突变会影响

患者的预后。

4 结论

骨髓增殖性肿瘤患者 *p53* 基因突变发生率较高, 与患者年龄、WBC 水平、异常核型及 IPSS 预后分层相关; *p53* 基因突变会影响患者的预后, 可作为临床筛查预后不良高风险人群的客观指标。

【参考文献】

- [1] TONG J, SUN T, MA S, *et al.* Hematopoietic stem cell heterogeneity is linked to the initiation and therapeutic response of myeloproliferative neoplasms[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(4): 780.
- [2] SHIDE K, KAMEDA T, KAMIUNTEN A, *et al.* Calreticulin haploinsufficiency augments stem cell activity and is required for onset of myeloproliferative neoplasms[J]. *Blood*, 2020, 136(1): 106-118.
- [3] 沈庆慧, 郭玉洁, 薛春娥, 等. BCR-ABL 阴性骨髓增殖性肿瘤 208 例临床分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(1): 171-176.
- [4] ZHENG C F, ZHAO X X, CHEN X H, *et al.* Quantification of JAK2V617F mutation load by droplet digital PCR can aid in diagnosis of myeloproliferative neoplasms[J]. *Int J Laboratory Hematol*, 2021, 43(4): 645-650.
- [5] PAZ D L, ASHCROFT P, SKODA R C. Myeloproliferative Neoplasms: The Long Wait for JAK2-Mutant Clone Expansion[J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(3): 359-361.
- [6] 张雨阳, 孙春艳. *p53* 基因异常在多次性骨髓瘤发病机制中的作用及其靶向治疗新进展[J]. *国际输血及血液学杂志*, 2021, 44(2): 116-121.
- [7] DINARVAND N, KHANAHMAD H, HAKIMIAN S M, *et al.* Expression and clinicopathological significance of lipin-1 in human breast cancer and its association with *p53* tumor suppressor gene[J]. *J Cell Physio*, 2020, 235(8): 5835-5846.
- [8] 黄慧君, 曲士强, 刘丹, 等. 伴 TP53 基因异常骨髓增生异常综合征患者的临床特征及预后研究[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(3): 215-221.
- [9] SWERDLOW S H, CAMPO E, HARRIS N L, *et al.* World Health Organization classification of tumours[M]. WHO classification of turnouts of haematopoietic and lymphoid tissues, Lyon: IARC Press, 2008: 125-129.
- [10] JIE Z, FLEISCHMAN A G, DOMINIK W, *et al.* Determining the role of inflammation in the selection of JAK2 mutant cells in myeloproliferative neoplasms[J]. *J Theor Biol*, 2020, 425(11): 43-52.
- [11] QUIRINO M G, MACEDO L C, PAGNANO K, *et al.* Toll-like receptor gene polymorphisms in patients with myeloproliferative neoplasms[J]. *Molecul Biol Rep*, 2021, 48(2): 4995-5001.
- [12] 赵琪, 何长海, 王志, 等. PLAGL2, p16, p53 基因在前列腺癌中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2020, 41(8): 818-824.
- [13] TAMURA R E, LANA M G, Costanzi-Strauss E, *et al.* Combination of cabazitaxel and p53 gene therapy abolishes prostate carcinoma tumor growth[J]. *Gene Ther*, 2020, 27(2): 15-26.
- [14] RIVLIN N, BROSH R, OREN M, *et al.* Mutations in the p53 tumor suppressor gene: important milestones at the various steps of tumorigenesis [J]. *Gene Canc*, 2011, 2(4): 466-474.
- [15] 陈文敏, 刘虹, 李玲娣, 等. TP53 基因突变阳性成人急性髓系白血病患者初诊临床及分子遗传学特征分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(6): 528-531.
- [16] KADIA T M, JAIN P, RAVANDI F, *et al.* TP53 mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia: Clinicomolecular characteristics, response to therapy, and outcomes [J]. *Cancer*, 2016, 122(22): 3484-3491.
- [17] LI B, LIU J, JIA Y, *et al.* Clinical features and biological implications of different U2AF1 mutation types in myelodysplastic syndromes [J]. *Gene Chromosome Canc*, 2018, 57(2): 80-88.
- [18] 林娟, 邓小军, 张晓, 等. 慢性粒细胞白血病的骨髓染色体核型分析及其临床意义[J]. *中国输血杂志*, 2020, 33(6): 576-579.
- [19] HAO M Z, LI L L, ZHANG H, *et al.* The difference between karyotype analysis and chromosome microarray for mosaicism of aneuploid chromosomes in prenatal diagnosis[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(12): e23514.
- [20] 夏静雅, 王莹, 李德鹏, 等. 236 例骨髓增生异常综合征患者细胞遗传学特征与临床预后分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(4): 1190-1195.
- [21] 徐璐, 陈峙霖, 胡敏, 等. 临床特征, 实验室指标和治疗方案对多次性骨髓瘤患者预后影响的研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(4): 1166-1172.
- [22] EUSÉBIO D, ALMEIDA A M, ALVES J M, *et al.* The Performance of Minicircle DNA Versus Parental Plasmid in p53 Gene Delivery Into HPV-18-Infected Cervical Cancer Cells[J]. *Nucleic Acid Ther*, 2021, 31(1): 82-91.
- [23] DABROWSKA M, SKONECZNY M, URAM L, *et al.* Methotrexate-induced senescence of human colon cancer cells depends on p53 acetylation, but not genomic aberrations[J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2019, 30(4): 374-382.
- [24] CHEN X, CAI S, LI B, *et al.* Identification of key genes and pathways for esophageal squamous cell carcinoma by bioinformatics analysis[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(2): 1121-1130.
- [25] 崔婷婷, 李红, 张倩, 等. 乳腺癌肿瘤代谢异质性与 p53 基因表达和淋巴结转移相关性的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(15): 2670-2673.

(收稿日期: 2021-08-31; 修回日期: 2022-04-25; 编辑: 黎仕娟)