

PHF6 基因突变在血液系统恶性肿瘤中的研究进展

谢莹^{1,2}, 孙洁^{1,2} (通信作者)

(1 浙江大学医学院 浙江 杭州 310058)

(2 浙江大学医学院附属第一医院血液科骨髓移植中心 浙江 杭州 310003)

【摘要】植物同源域指蛋白 6 (PHF6), 一种高度保守的表观遗传转录调节因子, 最初在 X 连锁神经发育障碍 Börjeson-Forssman-Lehmann 综合征 (BFLS) 中发现。PHF6 的表达几乎存在于所有组织中, 在大脑、发育中的中枢神经系统以及所有造血亚群中高表达。PHF6 突变见于多种血液系统疾病, 较多见于 T 淋巴细胞白血病, 而在急性髓系白血病和其他髓系肿瘤中较少见。PHF6 在正常造血系统中的确切作用以及突变的 PHF6 对血液系统恶性肿瘤发展的作用尚未完全阐明。本文主要就 PHF6 基因的特点、功能及其突变在血液系统恶性肿瘤发生发展的关系进行综述。

【关键词】综述; PHF6 基因; 基因突变; 血液系统恶性肿瘤; 研究进展

【中图分类号】R730

【文献标识码】A

【文章编号】2095-1752 (2022) 32-0063-04

Research progress of PHF6 gene mutation in hematologic malignancies

XIE Ying^{1,2}, SUN Jie^{1,2} (Corresponding author)

1 School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058, China

2 Bone Marrow Transplantation Center, Department of Hematology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310003, China

【Abstract】 Plant homologous domain refers to protein 6 (PHF6), a highly conserved epigenetic transcriptional regulator, originally identified in X-linked neurodevelopmental disorder Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome (BFLS). PHF6 expression is present in almost all tissues and is highly expressed in the brain, the developing central nervous system, and all hematopoietic subsets. PHF6 mutations are seen in a variety of hematologic disorders, more common in T-lymphocytic leukemia and less common in acute myeloid leukemia and other myeloid tumors. The exact role of PHF6 in the normal hematopoietic system and the role of mutated PHF6 in the development of hematologic malignancies have not been fully elucidated. This article mainly reviews the characteristics and functions of PHF6 gene and the relationship between mutations in the occurrence and development of hematologic malignancies.

【Key words】 Review; PHF6 gene; Gene mutation; Hematologic malignancies; Research progress

1. PHF6 基因和 PHF6 蛋白质

位于 X 染色体上的植物同源域指基因 6 (PHF6) 最初被认为是导致 Börjeson-Forssman-Lehmann 综合征 (BFLS) 的基因^[1], BFLS 是一种遗传性神经发育障碍, 表现为智力迟缓和身体畸形^[2]。迄今为止, 功能丧失的 PHF6 突变不仅在遗传疾病中被发现, 而且在许多类型的癌症中也被发现, 包括 T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)、急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML)、慢性髓系白血病 (chronic myeloid leukemia, CML)、混合表型急性白血病 (mixed phenotypic acute leukemia, MPAL) 以及一些实体肿瘤中^[3-7]。与绝大多数存在于 BFLS 患者中的错义突变相比, 肿瘤性 PHF6 突变包括缺失、插入、框架转移、无意义或错义突变, 其突变被认为是功能丧失突变^[8,9]。

PHF6 蛋白是一种 365 个氨基酸的蛋白质, 在脊椎动物中高度保守, 分子量约为 41 kDa^[1]。结构上, PHF6 包括两个核定位序列和两个几乎相同的染色质结合锌指结构域^[4]。在功能上, PHF6 定位于核小体, 在染色质介导的基因表达调控中起作用。PHF6 被证明与 PAF1 转录延长复合物结合, 调节神经聚糖 C/硫酸软骨素蛋白

聚糖 5 (neuroglycan C/chondroitin sulfate proteoglycan 5, NG2/CSPG5), 并最终调节小鼠大脑皮层发育中的神经元迁移^[10]。此外, PHF6 与核糖体重塑和去乙酰化酶 (Deacetylase, NuRD) 复合物相关联^[11], 后者是控制核糖体定位和转录的主要染色质调节器, 在发育、基因组完整性和细胞周期进展中具有重要作用^[12,13]。PHF6 还参与 DNA 修复中的功能定位, 在 DNA 损伤后, PHF6 定位于 DNA 损伤的位点, 其缺失会损害 DNA 断裂的分辨率, 从而导致单链和双链 DNA 损伤的积累^[14]。PHF6 还参与 DNA 损伤相关标记 γ -H2AX 的清除, PHF6 失活导致 γ -H2AX 积累^[15], 表明 PHF6 功能与维持基因组完整性之间存在潜在联系。PHF6 还参与正常的造血转录调控, PHF6 水平差异地影响造血祖细胞分化为各种血细胞谱系, 对淋巴和红系分化有突出影响^[16]。

2. PHF6 与血液系统疾病

2.1 T 淋巴细胞白血病

PHF6 突变是 T-ALL 中最常见的突变基因之一, 在 5 ~ 16% 的儿童以及 19 ~ 40% 的成年 T-ALL 患者中发现了 PHF6 的突变^[17]。Wendorff 等^[3]分析了来自诊断和

复发性白血病的全外显子组测序数据,表明 *PHF6* 的体细胞突变发生在白血病发生早期。然而,动物模型显示,虽然 *Phf6* 突变/缺失可能是初始事件,但如果没有额外的驱动突变,它们不足以引发肿瘤^[18,19]。研究表明,*PHF6* 功能障碍与其他几种驱动突变有关。在小鼠体内,*Phf6* 缺失可显著加速 *TLX3* 异常表达驱动的血病发展,或降低 *NOTCH1* 诱导 T-ALL 进展的阈值,*Phf6* 缺失还可以激活白血病干细胞转录程序并增强 T-ALL 白血病细胞的活性^[3,20,21]。*Phf6* 突变还会促进 *JAK3M511I* 突变小鼠 T-ALL 进展,通过抑制独立于 *JAK3/STAT5* 信号通路的 *Bail-Mdm²-P53* 信号通路^[22]。

既往研究表明,*PHF6* 突变对 T-ALL 患者的完全缓解率和 1 年总生存率无影响^[5-6, 23]。然而,与 *PHF6* 野生型 T-ALL 患者相比,*PHF6* 突变 T-ALL 患者的乳酸脱氢酶水平较低,血小板和骨髓原始细胞计数较高^[23]。对来自 46 例 T-ALL 病例的诊断、缓解及复发时 DNA 样本的基因组分析显示,*PHF6* 突变通常在诊断时发现,并在复发时持续存在^[24]。虽然大多数研究表明 *PHF6* 突变与 T-ALL 患者的总生存期无关,仅一项针对儿童 T-ALL 的研究发现 *PHF6* 突变在多变量分析中预测的总生存率较低^[25],但是 *PHF6* 突变与 T-ALL 患者的泼尼松龙耐药性增加有关^[26]。另一项针对中国成年人的研究发现,T-ALL 中 *PHF6* 和 *NOTCH1* 突变的共存可导致较短的无事件生存期和较差的预后^[27]。因此,需要进一步的研究来评估 T-ALL 中 *PHF6* 突变的真正预后意义。

2.2 急性髓系白血病

PHF6 突变见于大约 2%~3% 的 AML 患者中^[5,28]。*PHF6* 突变多见于 M0、M1 和 M2 亚型,或表现为继发性 AML,*PHF6* 基因突变可与其他 AML 遗传病变同时发生,如 *ASXL1*、*NRAS*、*IDH2*、*FLT3* 和 *CEBP α* 突变^[28]。最近一项在 AML 中的研究发现,*PHF6* 蛋白可以识别并结合核仁染色质上的 H3K9me3 和 H3K27me1,从而将组蛋白甲基转移酶 *SUV39H1* 募集到 rDNA 位点,*SUV39H1* 催化 H3K9 和 H3K27 的甲基化以抑制 rDNA 的转录,从而发挥肿瘤抑制因子的作用。当 *PHF6* 发生突变时,*SUV39H1* 不能被招募用于 rDNA 甲基化,导致 rDNA 转录不受控制。临床样本筛选显示,具有 *PHF6* 突变的 AML 患者的 pre-rRNA 水平明显高于野生型患者。同时,该研究表明,*PHF6* 突变诱导的 rRNA 转录活性的增加在阿糖胞苷耐药中起关键作用,使用首创的 rDNA 转录选择性抑制剂 CX5461 抑制 rDNA 转录,显著降低了 *PHF6* 突变的 AML 患者对阿糖胞苷的耐药性^[29]。

PHF6 突变对 AML 预后尚不明确。*Patel* 等^[30] 通过单变量分析报告说,*PHF6* 突变与 398 名年轻 AML 患者的不良预后有关,然而,这一发现在多变量分析中并不显著,该队列仅包含 9 名 *PHF6* 突变患者。另一项研究从 366 例 AML 患者中确定了 15 例 *PHF6* 突变的 AML 患者,发现 *PHF6* 突变与总生存期之间没有关联^[5]。一项回顾性倾向评分匹配队列研究从 801 例新诊断的 AML 病例中共鉴定出 22 例 *PHF6* 突变患者,以 1:2 的比例成功匹配 43 例 *PHF6* 野生型基因型患者,该研究证明与 *PHF6* 野生型患者相比,携带 *PHF6* 突变的 AML 与较低的完全缓解率,更短的中位总生存期及无事件生存期相关,进一步的多变量分析支持 *PHF6* 突变是 AML 总生存期的独立危险因素^[31]。

2.3 骨髓增生异常综合征

PHF6 突变在 MDS 中相对罕见(约 3%)^[32,33]。最常见的共突变为 *ASXL1*, *RUNX1*, *TET2* 和 *DNMT3A*^[34]。一项针对 21 名携带 *PHF6* 突变的 MDS 患者的研究表明,61.9% 具有正常的核型,没有患者具有复杂的核型^[34]。*PHF6* 突变在 MDS 向 AML 的过渡中可能具有潜在作用,有病例报道在 MDS 转化为 AML 时获得了 *PHF6* 突变^[35]。此外,在 *RUNX1* 胚系突变的患者中发现了继发获得的 *PHF6* 突变并导致骨髓肿瘤进展的进一步证据,其中 *PHF6* 突变与一名患者向 MDS 的过渡和另一名患者向 AML 的过渡有关^[36,37]。

2.4 骨髓增殖性肿瘤

PHF6 突变在骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)(0.7%)中很少发现^[5]。对 81 例 CML 急变期的患者筛查确定了 2 例 *PHF6* 突变的男性患者,至少有 1 例患者在慢性期没有 *PHF6* 突变^[38]。这一发现提出了一种可能性,即与 MDS 类似,*PHF6* 突变的积累可能介导疾病的进展。

2.5 B 淋巴细胞白血病

尽管 *PHF6* 突变在 T-ALL 中普遍存在,但在 B 淋巴细胞白血病中很少发现 *PHF6* 突变^{[27], [39-40]}。在大约 50% 的 MEF2D 重排 B-ALL 被发现具有 *PHF6* 突变^[40]。*Meacham* 等^[41] 在 *Phf6* 敲除的 B-ALL 小鼠模型中,发现 *Phf6* 表达的抑制导致体内 B-ALL 细胞生长受损,表明 *Phf6* 在 B-ALL 中的肿瘤促进作用。*PHF6* 在 T-ALL 和骨髓恶性肿瘤中充当抑癌基因,而在 B-ALL 中充当癌基因,提出 *PHF6* 在血液系统恶性肿瘤中的特异性作用。

3. 总结

PHF6 突变在可见于不同的血液系统恶性肿瘤。虽然 *PHF6* 被认为是 T-ALL 及髓系肿瘤中的肿瘤抑制基因,但在 B-ALL 中充当癌基因。*PHF6* 突变通常与 T 淋巴细胞白血病的发展有关,而在急性髓系白血病和其他髓系肿瘤中较少见。*PHF6* 突变是 T 淋巴细胞白血病发生的早期事件,但仍需要 *NOTCH1* 突变或 *TLX1* 和 *TLX3* 的过表达等额外的驱动突变。相较于 T 淋巴细胞白血病, *PHF6* 突变在骨髓恶性肿瘤中往往发生较晚,且通常与疾病进展与不良的预后相关。

【参考文献】

- [1] LOWER K M, TURNER G, KERR B A, et al. Mutations in PHF6 are associated with Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome [J]. Nat Genet, 2002,32(4): 661-665.
- [2] JAHANI-ASL A, CHENG C, ZHANG C, et al. Pathogenesis of börjeson-forssman-Lehmann syndrome: insights from PHF6 function [J]. Neurobiol Dis, 2016(96): 227-235.
- [3] WENDORFF A A, QUINN S A, RASHKOVAN M, et al. Phf6 loss enhances HSC self-renewal driving tumor initiation and leukemia stem cell activity in T-ALL [J]. Cancer Discov, 2019,9(3): 436-451.
- [4] NTZIACHRISTOS, PANAGIOTIS. PHF6: it is written in the stem cells[J]. Blood: The Journal of the American Society of Hematology, 2019,133(23): 2461-2462.
- [5] MORI T, NAGATA Y, MAKISHIMA H, et al. Somatic PHF6 mutations in 1760 cases with various myeloid neoplasms [J]. Leukemia, 2016,30(11): 2270-2273.
- [6] XIAO W B, BHARADWAJ M, LEVINE M, et al. PHF6 and DNMT3A mutations are enriched in distinct subgroups of mixed phenotype acute leukemia with T-lineage differentiation [J]. Blood Adv, 2018,2(23): 3526-3539.
- [7] YOO N J, KIM Y R, LEE S H. Somatic mutation of PHF6 gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia, acute myelogenous leukemia and hepatocellular carcinoma [J]. Acta Oncol, 2012,51(1): 107-111.
- [8] TODD M A M, IVANOCHKO D, PICKETTS D J. PHF6 degrees of separation: the multifaceted roles of a chromatin adaptor protein [J]. Genes, 2015,6(2): 325-352.
- [9] CHENG C, ET A L. Characterization of a mouse model of börjeson-forssman-Lehmann syndrome [J/OL]. Cell Rep, 2018,25(6): 1404-1414. e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.10.043>.
- [10] ZHANG C, MEJIA L A, HUANG J, et al. The X-linked intellectual disability protein PHF6 associates with the PAF1 complex and regulates neuronal migration in the mammalian brain [J]. Neuron, 2013,78(6): 986-993.
- [11] TODD M A M, PICKETTS D J. PHF6 interacts with the nucleosome remodeling and deacetylation (NuRD) complex [J]. J Proteome Res, 2012,11(8): 4326-4337.
- [12] GURSOY-YUZUGULLU O,. Patching broken DNA: nucleosome dynamics and the repair of DNA breaks [J]. J Mol Biol, 2016,428(9): 1846-1860.
- [13] LI D Q, YANG Y L, KUMAR R. MTA family of proteins in DNA damage response: mechanistic insights and potential applications [J]. Cancer Metastasis Rev, 2014,33(4): 993-1000.
- [14] ALVAREZ S, DA SILVA ALMEIDA A C, ALBERO R, et al. Functional mapping of PHF6 complexes in chromatin remodeling, replication dynamics, and DNA repair [J]. Blood, 2022,139(23): 3418-3429.
- [15] WARMERDAM D O, ALONSO-DE VEGA I, WIEGANT W W, et al. PHF6 promotes non-homologous end joining and G2 checkpoint recovery [J/OL]. EMBO Rep, 2020,21(1): e48460. <https://doi.org/10.15252/embr.201948460>.
- [16] LOONTIENS S, DOLENS A C, STRUBBE S, et al. PHF6 expression levels impact human hematopoietic stem cell differentiation [J/OL]. Front Cell Dev Biol, 2020(8): 599472. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.599472>.
- [17] VAN VLIERBERGHE P, PALOMERO T, KHIABANIAN H, et al. PHF6 mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Nat Genet, 2010,42(4): 338-342.
- [18] MIYAGI S, SROCZYNSKA P, KATO Y, et al. The chromatin-binding protein Phf6 restricts the self-renewal of hematopoietic stem cells [J]. Blood, 2019,133(23): 2495-2506.
- [19] LOONTIENS S, VANHAUWAERT S, DEPESTEL L, et al. A novel TLX1-driven T-ALL zebrafish model: comparative genomic analysis with other leukemia models [J]. Leukemia, 2020,34(12): 3398-3403.
- [20] HSU Y C, CHEN T C, LIN C C, et al. Phf6-null hematopoietic stem cells have enhanced self-renewal capacity and

- oncogenic potentials [J]. *Blood Adv*, 2019,3(15): 2355-2367.
- [21] MCRAE H M, GARNHAM A L, HU Y F, et al. PHF6 regulates hematopoietic stem and progenitor cells and its loss synergizes with expression of TLX3 to cause leukemia [J]. *Blood*, 2019,133(16): 1729-1741.
- [22] YUAN S N, WANG X M, HOU S B, et al. PHF6 and JAK3 mutations cooperate to drive T-cell acute lymphoblastic leukemia progression [J]. *Leukemia*, 2022,36(2): 370-382.
- [23] WANG Q, QIU H Y, JIANG H, et al. Mutations of PHF6 are associated with mutations of NOTCH1, JAK1 and rearrangement of SET-NUP214 in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Haematologica*, 2011,96(12): 1808-1814.
- [24] OSHIMA K, ZHAO J F, PÉREZ-DURÁN P, et al. Mutational and functional genetics mapping of chemotherapy resistance mechanisms in relapsed acute lymphoblastic leukemia [J]. *Nat Cancer*, 2020,1(11): 1113-1127.
- [25] YEH T C, LIANG D C, LIU H C, et al. Clinical and biological relevance of genetic alterations in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia in Taiwan [J/OL]. *Pediatr Blood Cancer*, 2019,66(1): e27496. <https://doi.org/10.1002/pbc.27496>.
- [26] XIANG J F, WANG G, XIA T, et al. The depletion of PHF6 decreases the drug sensitivity of T-cell acute lymphoblastic leukemia to prednisolone [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019(109): 2210-2217.
- [27] LI M, XIAO L C, XU J Y, et al. Co-existence of PHF6 and NOTCH1 mutations in adult T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Oncol Lett*, 2016,12(1): 16-22.
- [28] VAN VLIERBERGHE P, PATEL J, ABDEL-WAHAB O, et al. PHF6 mutations in adult acute myeloid leukemia [J]. *Leukemia*, 2011,25(1): 130-134.
- [29] TSAI H I, WU Y P, HUANG R, et al. PHF6 functions as a tumor suppressor by recruiting methyltransferase SUV39H1 to nucleolar region and offers a novel therapeutic target for PHF6-mutant leukemia [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022,12(4): 1913-1927.
- [30] PATEL J P, GÖNEN M, FIGUEROA M E, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2012,366(12): 1079-1089.
- [31] HUANG K, WANG L, ZHENG Y, et al. PHF6 mutation is associated with poor outcome in acute myeloid leukaemia [J]. *Cancer Med*, 2022: 2022Sep29.
- [32] HAERLACH T, NAGATA Y, GROSSMANN V, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes [J]. *Leukemia*, 2014,28(2): 241-247.
- [33] YOSHIDA K, SANADA M, SHIRAIISHI Y, et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia [J]. *Nature*, 2011,478(7367): 64-69.
- [34] CHIEN K S, KANAGAL-SHAMANNA R, NAQVI K, et al. The impact of PHF6 mutations in myelodysplastic syndromes, chronic myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia [J/OL]. *Blood*, 2019(134): 1436. <https://doi.org/10.1182/blood-2019-131188>.
- [35] AYPAR U, TAYLOR J, GARCIA J S, et al. P2RY8-CRLF2 Fusion-positive acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes: response to novel therapy [J]. *JCO Precis Oncol*, 2020(4): 152-160.
- [36] NG I K, LEE J, NG C, et al. Preleukemic and second-hit mutational events in an acute myeloid leukemia patient with a novel germline RUNX1 mutation [J/OL]. *Biomark Res*, 2018(6): 16. <https://doi.org/10.1186/s40364-018-0130-2>.
- [37] STAŇO KOZUBÍK K, RADOVÁ L, PEŠOVÁ M, et al. C-terminal RUNX1 mutation in familial platelet disorder with predisposition to myeloid malignancies [J]. *Int J Hematol*, 2018,108(6): 652-657.
- [38] LI X M, YAO H, CHEN Z X, et al. Somatic mutations of PHF6 in patients with chronic myeloid leukemia in blast crisis [J]. *Leuk Lymphoma*, 2013,54(3): 671-672.
- [39] ZHANG J H, DING L, HOLMFELDT L, et al. The genetic basis of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia [J]. *Nature*, 2012,481(7380): 157-163.
- [40] OHKI K, KİYOKAWA N, SAITO Y, et al. Clinical and molecular characteristics of MEF2D fusion-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in childhood, including a novel translocation resulting in MEF2D-HNRNP1 gene fusion [J]. *Haematologica*, 2019,104(1): 128-137.
- [41] MEACHAM C E, LAWTON L N, SOTO-FELICIANO Y M, et al. A genome-scale in vivo loss-of-function screen identifies Phf6 as a lineage-specific regulator of leukemia cell growth [J]. *Genes Dev*, 2015,29(5): 483-488.