

# WT1 基因在 AML 中的意义

王晓亮, 李丽梅

急性髓细胞白血病 (AML) 是源于造血干/祖细胞的恶性克隆性疾病, 其发生发展过程中常伴多种染色体和基因异常, 且与发病机制、疾病诊断、预后密切相关。然而, 除基因突变外, 转录后和翻译水平的修饰在 AML 的发病中也发挥着重要作用。肾母细胞瘤基因 1 (Wilm's tumor gene1, WT1) 具有抑癌基因和原癌基因的双重功能, 是一种有效的转录调控因子, 在细胞凋亡、存活及促进细胞增殖、生长、转移、分化和发育等方面起着至关重要的作用, 在 80% ~ 90% 的 AML 患者骨髓和外周血存在高表达, 目前已作为 AML 患者微小残留病 (MRD) 监测的指标之一, 在 AML 的免疫治疗方面也具有前景。本文就其功能及在 AML 中的作用作一综述。

## 1 WT1 的结构及功能

WT1 基因位于 11p13 染色体上, 长度为 50 kb, 有 10 个外显子, 编码一种 DNA 结合蛋白。研究显示, WT1 广泛表达于上皮、间充质、造血系统和神经元组织等来源的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。WT1 的羧基端有 4 个锌指结构, 可与富含 GC 的同源序列结合, 作为转录激活因子或抑制物调控细胞的生长和代谢。其氮末端结构域富含谷氨酸/脯氨酸<sup>[2]</sup>, 通过与核糖核酸和蛋白质作用, 发挥转录调节功能<sup>[3]</sup>。WT1 mRNA 有两个重要的剪接区域。一种是在锌指区和谷氨酸/脯氨酸富集区插入外显子 5 的剪接编码的 17 个氨基酸序列; 另一种是在外显子 9 和 10 之间插入 3 个氨基酸 (赖氨酸-苏氨酸-丝氨酸, KTS) 片段, 改变锌指结构 3 和 4 之间的间距, 导致 DNA 结合能力降低而 RNA 结合增强<sup>[4]</sup>。不同的剪接方式可产生四种不同的蛋白质亚型: WT1 A (17AA-/KTS-), WT1 B (17AA-/KTS+), WT1 C (17AA+/KTS-), WT1 D (17AA+/KTS+), 其中, 大部分为 KTS 阳性亚型<sup>[5]</sup>。因此, WT1 对特定基因的转录激活或抑制作用, 取决于与其结合的位点及数目, WT1 的差异表达在肿瘤的生长、侵袭、转移等方面具有重要意义。WT1 的 N 端结构域由 4 种氨基酸组成, 与其转录调节功能相关。WT1 的 C 末端由 4 个锌指结构域组成, 这种锌指结构结合 DNA 序列并调节基因转录<sup>[6]</sup>。

## 2 WT1 在 AML 中的意义

### 2.1 WT1 基因在初诊 AML 中的表达及意义

WT1 在 AML 中的异常表达与抗药性相关。Barragán 等<sup>[7]</sup>研究揭示 WT1 高表达的 AML 患者的治疗反应差, 预后不良, 初诊时 WT1 高表达的 AML 患者 3 年总生存期 (OS) 明显差于 WT1 低表达患者。而 Miglino 等<sup>[8]</sup>研究

结果与其截然相反, 认为 WT1 高表达与较长的无事件生存期 (EFS) 及 OS 相关。另有研究证实 WT1 的表达量与预后无显著相关性。WT1 复发突变可能与 AML 的发生相关, 这些突变有缺失、插入、碱基替换等, 大多数突变表达阴性, 可能导致 AML 祖细胞分化阻滞<sup>[9]</sup>。进一步研究显示, 其突变常发生在正常核型 AML 中, 且不伴随 TET2、IDH1、IDH2 等突变。有研究通过体外实验证实了 WT1 突变与 DNA 甲基化密切相关<sup>[10-11]</sup>。Rampal 等<sup>[12]</sup>揭示 WT1 突变通过降低 TET2 活性, 进而促进 DNA 甲基化。此外, WT1 以 TET2 为辅因子, 调控母系表达基因 3 (MEG3) 的甲基化水平来诱导 G0/G1 期细胞凋亡, 调节 p53 表达抑制细胞增殖。而在 WT1 或 TET2 突变的 AML 细胞系中, MEG3 的 lncRNA 显著下调, 导致细胞凋亡受抑进而促进 AML 的发生。综上所述, 在 AML 发病中可能存在 WT1-TET2-MEG3 通路的异常, WT1 突变可能是 AML 发病的一个关键因素。一项研究纳入了 33 名 AML 的成人和儿童患者, 其中有 4 名 WT1 突变, 而 WT1 突变的患者中无一人获得完全缓解, 且总体存活率较野生型组的患者低。许晶等<sup>[13]</sup>分析发现对于总体 AML 患者而言, WT1 基因突变型组较野生型组相比, 其 OS 及无病生存期 (DFS) 无差异, 亚组分析中提示对于儿童 AML, WT1 基因突变患儿 OS 率低于野生型组。分析发现 WT1 突变更易在儿童 AML 中表达。有研究结果与之相同, 不同的是发现对于 AML 患者, WT1 高表达组的原始细胞群 CD34<sup>+</sup> 细胞比例高于低表达组, CR (完全缓解) 及中位生存时间远远低于低表达组<sup>[14]</sup>。持有不同观点的是, WT1 高低与患者的 CR 并无关系, 但是却影响了长期预后, WT1 高表达, 预后较差<sup>[15]</sup>。但最近有相关报道显示 WT1 过高表达是非 M3 的 AML 患者良好预后因素, 当然, 这还需要大量实验去验证。WT1 突变与 AML 预后的研究较多, 但其在 AML 中的意义仍存在争议。

### 2.2 WT1 动态监测对 AML 的预后意义

MRD 的检测对复发、无病生存期及总体生存率具有重要意义。对 AML 病人随访发现, WT1 动态监测不仅可以用于评估 MRD, 而且可以预测 AML 复发<sup>[16]</sup>。有研究表明, WT1 与原癌基因 BCL2、肿瘤抑制基因 p53 相互作用, 参

基金项目: 内蒙古自治区人民医院院内基金项目 (2020YN19)

作者单位: 014040 包头, 内蒙古科技大学包头医学院研究生学院 (王晓亮); 010017 呼和浩特, 内蒙古自治区人民医院血液科 (李丽梅)

通信作者: 李丽梅, Email: lilimeil16@126.com

收稿日期: 2021-07-10

与 AML 的发生。WT1 基因与 BCL2 控制着细胞凋亡, 可以作为评估 AML 预后的标志物, 表达增加都可以影响 AML 的缓解及总体生存率<sup>[17]</sup>。尽管在治疗方面已取得很大进展, 但仍有较高的复发率及死亡率, 尤其是年龄较大的患者, 预后及总生存率明显不如年龄相对较小的, 治疗的失败可能与细胞耐药的产生相关。随着治疗的进行, 原来存在于体内的耐药细胞亚群, 随着敏感细胞被选择性杀死而逐渐聚集、增殖, 并最终成为原发耐药细胞群; 或由于化疗药物诱导使细胞特性发生改变, 导致继发性耐药的产生。研究发现 WT1 表达与 AML 患者的数据密切相关, Østergaard 等<sup>[18]</sup>通过实时定量聚合酶链反应 (RQ-PCR) 研究了 AML 与患者骨髓中 WT1 的表达水平之间的关系, 并且与健康志愿者结果对比发现, 88% 的患者 WT1 表达水平过高, 而诱导化疗后, 研究总量中有 73% 患者 WT1 表达水平明显地下降, 总生存时间相对增加。表明急性髓系白血病中 WT1 的低表达和高表达分别与临床缓解和复发相关。大量数据显示, 相较于正常人, WT1 基因高表达存在于大量初诊的 AML 患者骨髓和外周血中, 化疗缓解后其表达降低或消失, 可作为 MRD 检测及疾病复发的指标之一。

### 2.3 WT1 在检测 MRD 中的意义

化疗作为 AML 患者的标准治疗, 其预后显得尤为重要, MRD 的检测对 AML 化疗预后具有重要意义, 寻找 MRD 标志物用来检测化疗治疗情况及复发, 而 WT1 作为 AML 中 MRD 的标志物具有重要意义。MRD 有利于识别 AML 的早期复发, 多项研究表明 MRD 为 AML 预后分层的重要依据, 对进一步治疗有着指导意义<sup>[19]</sup>。异基因造血干细胞移植是 AML 治疗完全缓解 (CR) 后的有效治疗<sup>[20]</sup>。Ido 等<sup>[21]</sup>对 WT1 表达水平进行了回顾性分析: AML 缓解与复发相比, WT1 表达显著降低; 而接受异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 的 AML 患者中, WT1 低表达与高表达相比, 死亡率大大地降低, 提示 WT1 高表达存在复发风险。Liu 等<sup>[22]</sup>研究发现接受异基因造血干细胞移植的患者, 较移植前相比, WT1 表达显著较低。结果显示 WT1 表达与异基因造血干细胞的移植治疗效果呈负相关。张榕等<sup>[23]</sup>研究发现, 首次诱导缓解后, WT1 高表达组无复发生存 (RFS) 率远远低于低表达组, 而复发率却显著高于低表达组。可以推测 WT1 的上调可能与 AML 患者的预后密切相关。结果显示 WT1 适合作为 AML 患者检测 MRD 和预测复发的指标。

### 2.4 AML 中 WT1 免疫治疗的未来研究

WT1 免疫治疗的研究有很多, 已经有人尝试做实验研发疫苗对抗 WT1。当然, 疫苗的接种也会产生相应的副作用, 最常见反应为疲劳和皮肤硬结。迄今为止, 仍没有充分论据能够证明 WT1 在正常组织中的表达及其在造血中的作用情况。已有的单克隆抗体实验证实, 这种抗体可以识别白细胞抗原的 WT1 肽片段, 其疗效已经在人类白血病移植的小鼠中开始显现<sup>[12]</sup>。WT1 作为 AML 的标志物的优势是成为免疫治疗的潜在靶点。WT1 基因的表达和突变都

与 AML 有关, 明确了血液和实体恶性肿瘤的免疫治疗目标<sup>[24-25]</sup>。WT1 肽疫苗的接种可以诱导细胞毒性 T 淋巴细胞分化及防止其复发, 导致粒细胞和白血病原始细胞的数量减少, 维持 AML 的长期完全缓解<sup>[26]</sup>。关于 WT1 疫苗疗效的研究, 对接种了牛分枝杆菌卡介苗和 WT1 肽的小鼠进行了研究, 发现与未接种的小鼠相比, 存活时间显著延长。可以得出结论——卡介菌多糖核酸可能会提高 WT1 疫苗对 AML 患者的临床疗效<sup>[27]</sup>。当前, WT1 疫苗的免疫治疗研究处于尚不成熟阶段, WT1 肽疫苗需结合其他辅助手段治疗。这种疫苗的优点在于耐受性良好, 部分患者中发现了成纤维细胞减少和血液学改善<sup>[28-29]</sup>。最近几年研究表明了 WT1 肽疫苗在 AML 患者中使用的安全性和有效性。这些结果表明 WT1 疫苗能刺激特异性免疫反应, 改善 AML 患者的预后, 这对 AML 的治疗前景很大。

## 3 问题与展望

WT1 在分子遗传学和治疗研究领域的新进展, 大大地提高了 AML 患者的总体生存率及无事件生存率。对 WT1 基因突变和表达影响 AML 有了进一步的认识, 促进了 WT1 作为潜在生物标志物在 AML 预后、MRD 检测和免疫治疗中的应用。对于 AML 患者, 检测 WT1 基因表达水平不仅有助于评估 AML 预后, 而且还可以预测 AML 的复发。欧洲白血病网络研究, WT1 已被用作标准检测方法, 通过比较不同 WT1 表达的结果, 用于评估白血病的预后<sup>[30]</sup>。急性髓系白血病是细胞恶性增殖为特征的肿瘤性疾病, 逃避细胞凋亡是其恶性进展的标志, 新的免疫治疗方案是人们重点关注的问题。年轻患者能够达到完全缓解的治疗效果, 而老年人的预后差, 治疗结果不尽人意。推测可能是年龄使治疗方案受到了限制。不仅如此, 多药耐药的产生一直是白血病药物治疗的一大阻碍, 也是其复发的主要原因, 这就更需要有效解决白血病复发的治疗方法。可是 WT1 肽疫苗的治疗研究还处在早期试验阶段, 虽产生了积极的反应, 但还不够完善, 还需要进行后期的临床试验, 并进一步对试验结果进行评估。已有研究表明, WT1 肽疫苗治疗 AML 安全有效<sup>[31]</sup>。未来需要努力研究如何将 WT1 肽疫苗的治疗整合到 AML 治疗方案中。

## 参考文献

- [1] Nie B, Yang H, Wu K, et al. Expression of wilms' tumor gene (WT1) in leukemia patients and its clinical significance. J Kunming Med Univ, 2016, 37(4):80-83. (in Chinese)  
聂波, 杨弘, 武坤, 等. WT1 基因在白血病患者中的表达及临床意义. 昆明医科大学学报, 2016, 37(4):80-83.
- [2] Lee KY, Jeon YJ, Kim HG, et al. The CUG-translated WT1, not AUG-WT1, is an oncogene. Carcinogenesis, 2017, 38(12):1228-1240.
- [3] Bielińska E, Matiakowska K, Haus O. Heterogeneity of human WT1 gene. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2017, 71(0):595-601.
- [4] Bagchi D, Andrade J, Shupnik MA. A new role for wilms tumor protein 1: differential activities of +KTS and -KTS variants to regulate LHP transcription. PLoS One, 2015, 10(1):e0116825.

- [5] Baudry D, Faussillon M, Cabanis MO, et al. Changes in WT1 splicing are associated with a specific gene expression profile in Wilms' tumour. *Oncogene*, 2002, 21(36):5566-5573.
- [6] Ullmark T, Montano G, Gullberg U. DNA and RNA binding by the Wilms' tumour gene 1 (WT1) protein +KTS and -KTS isoforms-from initial observations to recent global genomic analyses. *Eur J Haematol*, 2018, 100(3):229-240.
- [7] Barragán E, Cervera J, Bolufer P, et al. Prognostic implications of Wilms' tumor gene (WT1) expression in patients with de novo acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 2004, 89(8):926-933.
- [8] Miglino M, Colombo N, Pica G, et al. WT1 overexpression at diagnosis may predict favorable outcome in patients with de novo non-M3 acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*, 2011, 52(10):1961-1969.
- [9] Wang D, Horton JR, Zheng Y, et al. Role for first zinc finger of WT1 in DNA sequence specificity: DenysDrash syndrome-associated WT1 mutant in ZF1 enhances affinity for a subset of WT1 binding sites. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(8):3864-3877.
- [10] Sinha S, Thomas D, Yu L, et al. Mutant WT1 is associated with DNA hypermethylation of PRC2 targets in AML and responds to EZH2 inhibition. *Blood*, 2015, 125(2):316-326.
- [11] Wang Y, Xiao M, Chen X, et al. WT1 recruits TET2 to regulate its target gene expression and suppress leukemia cell proliferation. *Mol Cell*, 2015, 57(4):662-673.
- [12] Rampal R, Alkalín A, Madzo J, et al. DNA hydroxymethylation profiling reveals that WT1 mutations result in loss of TET2 function in acute myeloid leukemia. *Cell Rep*, 2014, 9(5):1841-1855.
- [13] Xu J, Xu ZF, Hu JJ, et al. Relationship between WT1 gene mutation and prognosis of acute myeloid leukemia: a Meta-analysis. *J Leukemia Lymphoma*, 2019, 28(4):227-232. (in Chinese)  
许晶, 徐智芳, 胡晋君, 等. WT1 基因突变与急性髓系白血病预后关系的 Meta 分析. *白血病·淋巴瘤*, 2019, 28(4):227-232.
- [14] Jia ZW, Wu T, Wang XJ, et al. WT1 and FLT3-ITD positive in acute myeloid leukemia: a case report and literature review. *J Clin Hematol*, 2019, 32(7):552-554. (in Chinese)  
贾占武, 吴涛, 王晓靖, 等. WT1 阳性合并 FLT3-ITD 阳性的急性髓系白血病 1 例报告并文献复习. *临床血液学杂志*, 2019, 32(7):552-554.
- [15] Bussaglia E, Pratcorona M, Carricondo M, et al. Application of a digital PCR method for WT1 to myeloid neoplasms in CR and deep ELN WT1 molecular response (< 10 copies). *Ann Hematol*, 2020, 99(4):765-772.
- [16] Rossi G, Minervini MM, Carella AM, et al. Wilms' tumor gene (WT1) expression and minimal residual disease in acute myeloid leukemia/van den Heuvel-Eibrink MM. *Wilms tumor*. Brisbane: Exon Publications, 2016:273-285.
- [17] Zhou B, Jin X, Jin W, et al. WT1 facilitates the self-renewal of leukemia-initiating cells through the upregulation of BCL2L2: WT1-BCL2L2 axis as a new acute myeloid leukemia therapy target. *J Transl Med*, 2020, 18(1):254.
- [18] Østergaard M, Olesen LH, Hasle H, et al. WT1 gene expression: an excellent tool for monitoring minimal residual disease in 70% of acute myeloid leukaemia patients-results from a single-centre study. *Br J Haematol*, 2004, 125(5):590-600.
- [19] Shah MV, Jorgensen JL, Saliba RM, et al. Early post-transplant minimal residual disease assessment improves risk stratification in acute myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(7):1514-1520.
- [20] Medinger M, Lengerke C, Passweg J. Novel therapeutic options in acute myeloid leukemia. *Leuk Res Rep*, 2016, 6:39-49.
- [21] Ido K, Nakamae M, Koh H, et al. The proportional relationship between pretransplant WT1 mRNA levels and risk of mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in acute myeloid leukemia not in remission. *Transplantation*, 2019, 103(10):2201-2210.
- [22] Liu H, Wang X, Zhang H, et al. Dynamic changes in the level of WT1 as an MRD marker to predict the therapeutic outcome of patients with AML with and without allogeneic stem cell transplantation. *Mol Med Rep*, 2019, 20(3):2426-2432.
- [23] Zhang R, Yang JY, Liao J, et al. Clinical significances of WT1 gene and AML1-ETO fusion gene expression for monitoring minimal residual disease in children with acute myeloid leukemia. *Int J Blood Transfus Hematol*, 2015, 38(4):283-288. (in Chinese)  
张熔, 杨季云, 廖静, 等. WT1 基因和 AML1-ETO 融合基因表达水平在儿童急性髓细胞白血病微小残留病监测中的临床意义. *国际输血及血液学杂志*, 2015, 38(4):283-288.
- [24] Xu J, Zhang Y, Hu J, et al. Clinical features and prognosis of normal karyotype acute myeloid leukemia pediatric patients with WT1 mutations: an analysis based on TCGA database. *Hematology*, 2020, 25(1):79-84.
- [25] Oka Y, Tsuboi A, Nakata J, et al. Wilms' Tumor gene 1 (WT1) peptide vaccine therapy for hematological malignancies: from CTL epitope identification to recent progress in clinical studies including a cure-oriented strategy. *Oncol Res Treat*, 2017, 40(11):682-690.
- [26] Di Stasi A, Jimenez AM, Minagawa K, et al. Review of the results of WT1 peptide vaccination strategies for myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia from nine different studies. *Front Immunol*, 2015, 6:36.
- [27] Nishida S, Tsuboi A, Tanemura A, et al. Immune adjuvant therapy using Bacillus Calmette-Guérin cell wall skeleton (BCG-CWS) in advanced malignancies: a phase 1 study of safety and immunogenicity assessments. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(33):e16771.
- [28] Zhao L, Zhang M, Cong H. Advances in the study of HLA-restricted epitope vaccines. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(12):2566-2577.
- [29] Ohno S, Okuyama R, Aruga A, et al. Phase I trial of Wilms' tumor 1 (WT1) peptide vaccine with GM-CSF or CpG in patients with solid malignancy. *Anticancer Res*, 2012, 32(6):2263-2269.
- [30] Steger B, Floro L, Amberger DC, et al. WT1, PRAME, and PR3 mRNA expression in acute myeloid leukemia (AML). *J Immunother*, 2020, 43(6):204-215.
- [31] Przepolewski A, Szeles A, Wang ES. Advances in immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Future Oncol*, 2018, 14(10):963-978.