

肾母细胞瘤1基因表达及其对急性髓系白血病患者预后的预测价值

杜东芬^{1,2}, 朱丽霞¹, 王云贵³, 叶琇锦¹

1. 浙江大学医学院附属第一医院血液病高级病区, 浙江 杭州 310003

2. 浙江省绍兴市中心血站, 浙江 绍兴 312000

3. 浙江大学医学院附属第一医院血液科 浙江大学血液病研究所, 浙江 杭州 310003

[摘要] **目的:**分析急性髓系白血病(AML)患者肾母细胞瘤1(*WT1*)基因表达水平的差异,探讨*WT1*表达及其在核仁磷酸蛋白1(*NPM1*)或Fms样酪氨酸激酶3内部串联重复(*FLT3-ITD*)不同突变状态下与AML患者疗效和生存的相关性,评估其对于患者预后的预测价值。**方法:**以167例初发AML患者(除外M3亚型)为研究对象,根据初诊时*WT1*表达水平分为*WT1*高表达组和*WT1*低表达组,回顾性分析两组的临床及实验室检查资料,采用Kaplan-Meier法进行患者生存分析以明确*WT1*表达水平在预后评估中的价值,特别是在*NPM1*或*FLT3-ITD*不同突变状态AML患者中的预后评估价值。**结果:***WT1*高表达组126例患者中治疗有效83例(65.9%),低表达组41例患者中治疗有效39例(95.1%),差异有统计学意义($P<0.01$)。*WT1*高表达组2年总存活率低于*WT1*低表达组(46.1%和75.2%, $P<0.05$),2年无病存活率也低于*WT1*低表达组(43.5%和68.5%, $P<0.05$)。诱导化疗前后*WT1*表达量下降 ≥ 1 log患者总反应率和2年总存活率优于下降 < 1 log患者(均 $P<0.05$),但两者2年无病存活率差异无统计学意义($P>0.05$)。*NPM1*野生型患者中,*WT1*高表达组总反应率、2年总存活率较*WT1*低表达组低(均 $P<0.05$);*FLT3-ITD*野生型患者中,*WT1*高表达组总反应率、2年总存活率和2年无病存活率均较*WT1*低表达组低(均 $P<0.05$);而*NPM1*或*FLT3-ITD*突变患者中,不同*WT1*表达水平组疗效及生存分析结果差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。**结论:**初发AML患者中*WT1*基因过表达提示预后不良;诱导治疗后*WT1*表达量下降 ≥ 1 log的患者预后优于下降 < 1 log的患者;初诊*WT1*基因表达水平可以作为*NPM1*或*FLT3-ITD*野生型AML患者的预后判断指标。



[关键词] 白血病,髓样,急性/病理学;基因,肾母细胞瘤;磷蛋白类/遗传学;核蛋白质类/遗传学;蛋白酪氨酸激酶类/遗传学;fms样酪氨酸激酶3/遗传学;突变;预后

[中图分类号] R557 **[文献标志码]** A

收稿日期:2018-09-18 接受日期:2019-02-10

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2017KY059)

第一作者:杜东芬(1980—),女,硕士研究生,主治医师,主要从事血液病学研究;E-mail: dongfen166@163.com; <https://orcid.org/0000-0003-1429-3345>

通信作者:叶琇锦(1962—),女,博士,主任医师,硕士生导师,主要从事血液病学研究;E-mail: yxjsunny@zju.edu.cn; <https://orcid.org/0000-0003-1264-0307>

Expression of *WT1* gene and its prognostic value in patients with acute myeloid leukemia

DU Dongfen^{1,2}, ZHU Lixia¹, WANG Yungui³, YE Xiujin¹ (1. Department of Hematology, the First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China; 2. Shaoxing Central Blood Station, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China; 3. Department of Hematology and Institute of Hematology, the First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China)

Corresponding author: YE Xiujin, E-mail: yxjsunny@zju.edu.cn, <https://orcid.org/0000-0003-1264-0307>

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of Wilms' tumor 1 (*WT1*) gene in patients with acute myeloid leukemia (AML), and to explore its application in predicting prognosis of AML in patients with wild or mutated nucleophosmin 1 (*NPM1*) and Fms-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication (*FLT3-ITD*). **Methods:** One hundred and sixty-seven newly diagnosed AML patients (excluded M3 type) were enrolled in this study. The survival of patients were analyzed with Kaplan-Meier method. The clinical data, laboratory findings and the survival of patients were analyzed and compared between patients with high *WT1* expression (high-*WT1* group) and those with low *WT1* expression (low-*WT1* group), as well as among the patients with *NPM1* or *FLT3-ITD* wild type and mutants. **Results:** The overall response rates (ORR) in high-*WT1* and low-*WT1* groups were 65.9% (83/126) and 95.1% (39/41), respectively ($P < 0.01$). Compared with the low-*WT1* group, the high-*WT1* group had lower 2-y overall survival (OS) rate (46.1% vs. 75.2%, $P < 0.05$) and 2-y disease free survival (DFS) rate (43.5% vs. 68.5%, $P < 0.05$). After induction chemotherapy, the patients with decreased *WT1* gene expression ≥ 1 log was associated with higher ORR and 2-y OS rate (all $P < 0.05$), but the advantage of 2-y DFS rate was not shown ($P > 0.05$). In patients with *NPM1* wild type, the high-*WT1* group had inferior ORR and 2-y OS rate (all $P < 0.05$), while in the patients with *FLT3-ITD* wild type, the high-*WT1* group had inferior ORR, 2-y OS rate and 2-y DFS rate (all $P < 0.05$). In patients with *NPM1* or *FLT3-ITD* mutations, the *WT1* expression had no significantly predicting values in treatment efficacy and survival (all $P > 0.05$). **Conclusions:** *WT1* gene overexpression indicated poor prognosis of AML patients; the patients with decreased *WT1* gene expression ≥ 1 log after the first induction therapy show better prognosis than those with < 1 log. The *WT1* gene expression level at diagnosis can be used as an unfavorable prognostic factor for AML patients with *NPM1* or *FLT3-ITD* wild types.

[Key words] Leukemia, myeloid, acute/pathology; Genes, Wilms tumor; Phosphoproteins/genetics; Nuclear proteins/genetics; Protein-tyrosine Kinases/genetics; fms-like tyrosine kinase 3/genetics; Mutation; Prognosis

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2019,48(1):50-57.]

急性髓系白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是由各种原因导致的造血干细胞/祖细胞克隆性增殖失调引起的造血系统恶性肿瘤, 具有高度异质性。随着细胞遗传学和分子生物学检测手段

的发展, 发现很多重现性基因突变, 如核仁磷酸蛋白 1 (nucleophosmin 1, *NPM1*)、Fms 样酪氨酸激酶 3 内部串联重复 (Fms-like tyrosine kinase 3-internal tandem duplication, *FLT3-ITD*) 等, 可以用于 AML

的预后分层诊疗^[1]。但是,仍有超过50%的AML患者不伴有上述明确预后意义的分子生物学指标异常^[2]。对于这类患者,我们需要寻找更多分子生物学标志物,以便进行AML的危险分层和指导治疗。

肾母细胞瘤1(Wilms' tumor 1, *WT1*)基因是造血系统肿瘤中的一种癌基因,位于人类染色体11p13,全长约50 kb,编码一个相对分子质量为52 000~54 000、具有转录激活和抑制双重功能的锌指蛋白^[3-5]。*WT1*作为一种“泛白血病”基因标志,在正常骨髓中呈低表达,而在85%~90%的初发AML患者骨髓中异常过表达^[6-7]。目前,*WT1*基因表达对于AML患者预后的预测意义尚存在争议。多数研究认为,患者初诊时*WT1*基因过表达与AML患者低完全缓解率和较短的总生存时间有关,是不良预后的预测因素^[8-9]。但也有一些研究提示患者初诊时的*WT1*表达水平与诱导缓解率和总生存时间均无相关性^[10-11]。分析上述研究结果存在差异的原因,可能是AML患者存在异质性,因此需要进一步进行亚组分析,以明确*WT1*基因表达水平在不同人群中对于AML预后的预测作用。

研究表明,约85%的AML患者伴有一个及以上分子生物学指标异常^[12]。*NPM1*、*FLT3-ITD*基因突变是AML患者中较常见的基因突变^[13-14],*NPM1*突变在不伴*FLT3-ITD*突变时患者预后良好^[15],而伴*FLT3-ITD*突变则提示预后不良,建议患者缓解后尽早行造血干细胞移植^[16]。目前,*WT1*基因表达在*NPM1*和*FLT3-ITD*不同突变状态下对AML患者预后的预测作用是否存在差异的相关研究较少。本研究以167例初发AML患者(除外M3亚型)为研究对象,回顾性分析初诊时*WT1*表达水平,以及初次诱导化疗后*WT1*表达量下降的程度与患者疗效和生存的相关性,分析*WT1*表达在AML患者预后预测中的价值;并结合*NPM1*和*FLT3-ITD*不同的突变状态,进一步分析不同特征的人群中*WT1*基因表达水平对预测AML患者预后的价值。

1 对象与方法

1.1 对象

选取2015年1月至2017年8月浙江大学医学院附属第一医院收治的经*WT1*基因表达量检测、至少完成1~2个疗程诱导化疗的167例初发AML患者(除外M3亚型)。AML-M3亚型患者治疗方法与AML其他亚型不同,大部分患者在经过维甲酸

或砷剂等治疗后不需要行造血干细胞移植即可获得长期生存,甚至治愈^[17],因而本研究未纳入M3亚型患者。入选病例中男性90例,女性77例,中位年龄48(14~81)岁;按FAB分型,M0为11例,M1为9例,M2为83例,M4为7例,M5为56例,M6为1例。随访截至2019年1月31日,存活患者的中位随访时间为29(9~49)个月。患者及其家属对相关检测知情同意。

1.2 化疗方案

主要采用去甲氧柔红霉素、米托蒽醌、阿柔比星等蒽环类药物联合阿糖胞苷的方案;高龄或合并较多基础疾病的患者采用减低剂量的阿糖胞苷联合地西他滨方案,或者单用地西他滨;1~2个疗程后未达缓解者更换二线方案。诱导缓解后采用中大剂量阿糖胞苷为主的巩固治疗,并予蛛网膜穿刺及鞘内注射化学治疗(甲氨蝶呤或阿糖胞苷、地塞米松)预防中枢神经系统白血病。有条件的患者行异基因造血干细胞移植。

1.3 实时荧光定量PCR检测*WT1*基因表达量

分离骨髓单个核细胞,TRIzol试剂提取RNA,逆转录合成cDNA,然后进行实时荧光定量PCR检测。以*ABL*基因为内参基因,引物序列见表1。*WT1*基因表达量的计算方法参考文献[18],即*WT1*基因表达量=*WT1*拷贝数/ 10^4 *ABL*拷贝数,并将*WT1*基因表达量大于或等于250定义为*WT1*高表达。

表1 PCR所用引物序列

Table 1 Primer sequences of PCR

基因或探针名称	序列(5'-3')
<i>WT1</i>	正向:GATAACCACACAACGCCCATC
	反向:CACACGTCGCACATCCTGAAT
<i>WT1</i> 探针	FAM-ACACCGTGCCTGTGTATTCTGTATTG G-TAMRA
<i>ABL</i>	正向:TGGAGATAACACTCTAAGCATAACT AAAGCT
	反向:GATGTAGTTGCTTGGGACCCA
<i>ABL</i> 探针	GATGTAGTTGCTTGGGACCCA
<i>FLT3-ITD</i>	正向:FAM-AGCAATTTAGGTATGAAAAGCC AGCTA
	反向:CTTTCAGCATTTTGACGGCAACC
<i>NPM1</i>	正向:GTTTCTTTTTTTTTTTTCCAGGCTAT TCAAG
	反向:HEX-CACGGTAGGGAAAGTTCTCAC TCTGC

1.4 PAGE法检测NPM1、FLT3-ITD基因突变

常规分离单个核细胞,DNA抽提试剂盒提取DNA,并进行PCR扩增,引物序列见表1。PCR扩增产物经PAGE、硝酸银染色后紫外灯下观察目的条带的变化。

1.5 评估指标

完全缓解、部分缓解、复发和总生存时间的评估标准参见文献[19]。患者完成1~2个疗程诱导化疗后,评估治疗总反应率(包括完全缓解和部分缓解)。统计患者从完全缓解到复发、死亡(包含任何原因死亡)、失访、随访截止的时间,即无病生存期。

1.6 统计学方法

应用SPSS 23.0软件进行统计学分析。计数资料以例数和百分率[n(%)]表示,组间比较采用卡方检验及Fisher精确概率法;符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本t检验;非正态分布的计量资料以中位数和上下四分位数[M(Q₁, Q₃)]表示,组间比较采用曼-惠特尼秩和检验;生存分析应用Kaplan-Meier法,组间差异比较采用log-rank检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同WTI基因表达水平患者临床特征比较

167例患者初诊时WTI基因中位表达量为1060(0~8500)。WTI高表达组126例(75.4%),低表达组41例(24.6%)。与WTI低表达组比较,

WTI高表达组初诊时血红蛋白量较低(P<0.01),FLT3-ITD基因突变率高(P<0.05),而患者的年龄、性别、白细胞数、血小板数、肌酐浓度、乳酸脱氢酶、骨髓原始细胞比例、染色体核型、FAB分型等差异均无统计学意义(均P>0.05),见表2。

2.2 初诊时不同WTI基因表达水平AML患者疗效和生存曲线比较

167例患者经过1~2疗程诱导化疗后,共122例治疗有效,总反应率为73.1%。WTI高表达组126例患者中治疗有效83例(65.9%),低表达组41例患者中治疗有效39例(95.1%),差异有统计学意义(P<0.01)。WTI高表达组2年总存活率低于WTI低表达组(46.1%与75.2%,P<0.05),见图1A。对139例(高表达组100例,低表达组39例)化疗后获得完全缓解的患者进行无病生存期分析,结果显示,WTI高表达组2年无病存活率低于WTI低表达组(43.5%与68.5%,P<0.05),见图1B。结果提示,WTI基因高表达预示着患者化疗疗效差,总生存期和无病生存期短。

2.3 诱导化疗后WTI表达量变化与疗效和存活率的相关性

1个疗程诱导化疗后,167例患者中73例患者进一步检测了WTI的表达水平。按诱导化疗前后WTI下降情况分为下降≥1 log组(44例)和下降<1 log组(29例)。下降≥1 log组中43例治疗有效(97.7%),下降<1 log组中15例治疗有效(51.7%),两组总反应率差异有统计学意义(P<

表2 不同WTI基因表达水平急性髓系白血病患者临床及遗传学特征比较

Table 2 Clinical and genetic characteristics of acute myeloid leukemia patients with different baseline levels of WTI expression [n 或 $\bar{x} \pm s$ 或 M(Q₁, Q₃)]

组别	n	年龄(岁)	性别(男/女)	白细胞($\times 10^9/L$)	血红蛋白(g/L)	血小板($\times 10^9/L$)	肌酐($\mu\text{mol/L}$)	乳酸脱氢酶(IU/L)
WTI高表达组	126	48±15	71/55	14.2(3.8,53.1)	84±22	45.0(24.0,87.3)	64.0(53.0,75.0)	378(237,768)
WTI低表达组	41	46±15	19/22	9.3(3.5,31.2)	101±23	55.0(28.0,95.5)	69.0(57.0,84.0)	358(229,691)
$t/\chi^2/Z$ 值	—	-0.47	1.25	-0.99	4.30	-0.95	-1.79	-0.31
P值	—	>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05
组别	n	骨髓原始细胞比例(%)	染色体核型异常	NPM1突变*	FLT3-ITD突变*	FBA分型(M0/M1/M2/M4/M5/M6)	既往肿瘤史	
WTI高表达组	126	62.0(39.9,80.0)	33(75.0)	30(25.6)	27(23.1)	7/8/67/6/38/0/14	14(82.4)	
WTI低表达组	41	57.0(39.0,82.5)	11(25.0)	5(13.9)	2(5.6)	4/1/16/1/18/1/3	3(17.6)	
$t/\chi^2/Z$ 值	—	-0.12	0.01	2.16	5.50	8.17	0.49	
P值	—	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	

—:无相关数据; *共153例患者进行基因突变检测。WTI:肾母细胞瘤1;NPM1:核仁磷蛋白1;FLT3-ITD:FMS相关酪氨酸激酶3-内中串联重复;FBA分型:法、英、美分型系统。

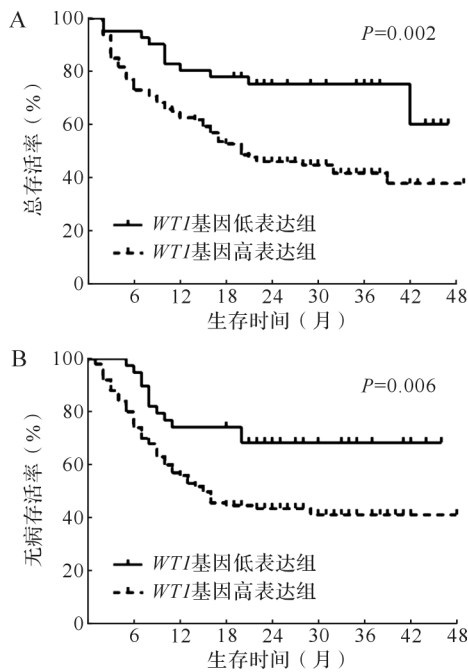


图1 *WT1* 基因不同表达水平患者总生存和无病生存曲线比较

Figure 1 Overall survival and disease-free survival curves of patients with different *WT1* gene expression

0.01)。下降 ≥ 1 log组2年总存活率高于下降 < 1 log组(70.7%与50.0%, $P < 0.05$),见图2A。对其中67例化疗后获得完全缓解的患者进行无病生存期分析(下降 ≥ 1 log组44例,下降 < 1 log组23例),结果显示,两组2年无病存活率差异无统计学意义(57.8%与45.8%, $P > 0.05$),见图2B。结果提示,诱导化疗前后*WT1*基因表达量大幅下降预示患者治疗反应好,总生存期长,但与无病生存期无明显相关性。

2.4 *NPM1* 突变和 *WT1* 表达水平对 AML 患者疗效和存活率的影响

167例患者中153例进行了*NPM1*基因型检测,其中*NPM1*突变型35例,*NPM1*野生型118例。35例*NPM1*突变型患者中,*WT1*高表达30例,其中24例治疗有效,*WT1*低表达5例,全部治疗有效,两组治疗总反应率差异无统计学意义($P > 0.05$);*WT1*高表达组患者2年总存活率和2年无病存活率分别为34.3%和36.4%,而*WT1*低表达组5例患者至随访截止仍有4例无复发存活,最长随访时间为38个月。

118例*NPM1*野生型患者中,*WT1*高表达87例,其中53例治疗有效(60.9%);*WT1*低表达31例,29

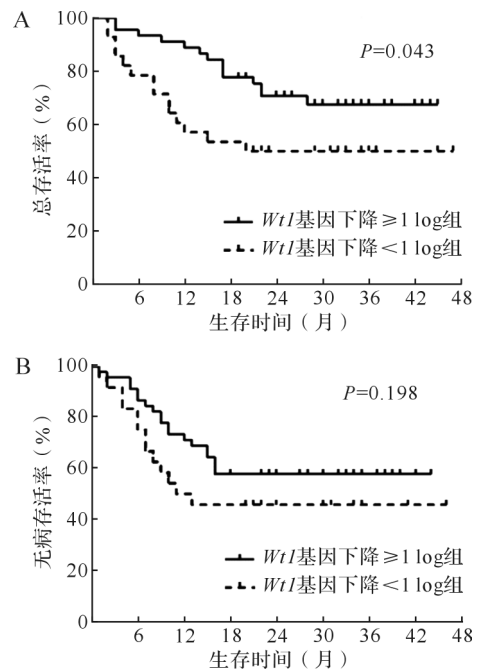


图2 *WT1* 基因表达量不同下降幅度患者总生存和无病生存曲线比较

Figure 2 Overall survival and disease-free survival curves of patients with different decrease of *WT1* gene expression

例治疗有效(93.5%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。*WT1*高表达组2年总存活率较*WT1*低表达组低(49.1%与77.3%, $P < 0.01$),见图3A。对97例化疗后获得完全缓解的*NPM1*野生型患者进行无病生存期分析(高表达组67例,低表达组30例),结果显示,*WT1*高表达组2年无病存活率与*WT1*低表达组差异无统计学意义(48.7%与66.3%, $P > 0.05$),见图3B。结果提示,对于*NPM1*野生型患者,初诊时*WT1*基因过表达预示着患者治疗反应较差,总生存期短。

2.5 *FLT3-ITD* 突变和 *WT1* 表达水平对 AML 患者疗效和存活率的影响

167例患者中153例进行了*FLT3-ITD*基因型检测,其中*FLT3-ITD*突变型29例,*FLT3-ITD*野生型124例。29例*FLT3-ITD*突变型患者中,*WT1*高表达27例,其中17例治疗有效(63.0%),*WT1*低表达2例,1例治疗有效,差异无统计学意义($P > 0.05$);*WT1*高表达组2年总存活率为31.7%,2年无病存活率为42.1%,*WT1*低表达组1例随访至第10个月死亡,另1例至随访研究截止时间仍无复发存活。

124例*FLT3-ITD*野生型患者中,*WT1*高表达90

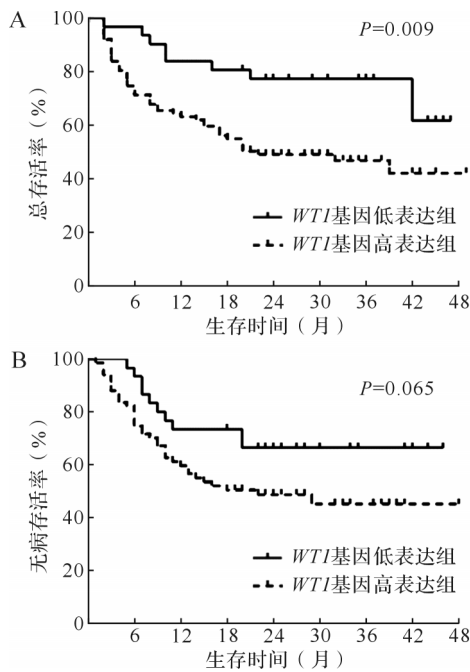


图3 *WT1* 基因不同表达水平的 *NPM1* 野生型患者总生存和无病生存曲线比较

Figure 3 Overall survival and disease-free survival curves of *NPM1* wild type patients with different *WT1* gene expression levels

例,其中60例治疗有效(66.7%),*WT1*低表达34例,其中33例治疗有效(97.1%),差异有统计学意义($P < 0.01$)。*WT1*高表达组2年总存活率较*WT1*低表达组低(49.4%与79.3%, $P < 0.05$),见图4A。对104例化疗后获得完全缓解的患者进行无病生存期分析(高表达组72例,低表达组32例),结果显示,*WT1*高表达组2年无病存活率低于*WT1*低表达组(46.4%与71.6%, $P < 0.05$),见图4B。结果提示,对于*FLT3-ITD*野生型患者,初诊时*WT1*基因过表达预示化疗反应较差,总生存期和无病生存期短。

3 讨论

WT1 基因在人体的造血发育过程中起重要作用,正常表达仅限于早期造血祖细胞,在成熟分化的细胞中不表达^[20-21],而在许多造血系统恶性肿瘤中过表达,如AML、骨髓增生异常综合征和慢性髓系白血病等^[22-24]。*WT1* 基因过表达可以增强细胞增殖,阻碍细胞分化,对白血病的发生、发展和预后至关重要,但目前其调控机制还未明确^[25-26]。

本研究显示在非M3亚型AML患者中*WT1* 过表达患者占75.5%,结果与国内外文献报道相

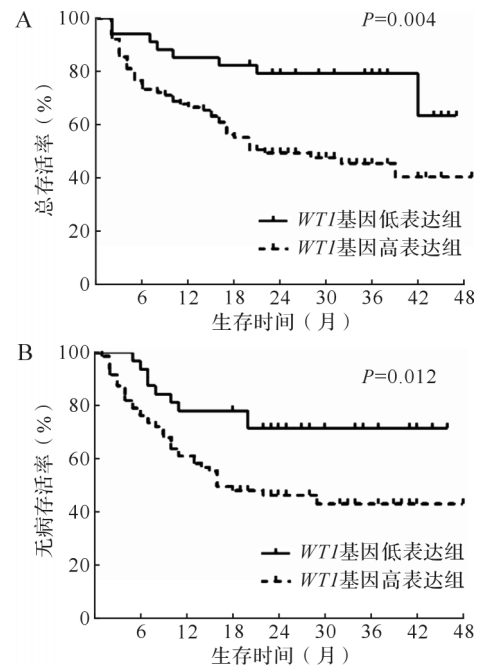


图4 *WT1* 基因不同表达水平的 *FLT3-ITD* 野生型患者总生存和无病生存曲线比较

Figure 4 Overall survival and disease-free survival curves of *FLT3-ITD* wild type patients with different *WT1* gene expression levels

近^[27-29]。Nomdedeu等^[30]根据诊断时*WT1*表达水平将584例AML患者分成*WT1*高表达组和低表达组,持续跟踪随访后发现高表达组的总生存期、无病生存期均较低表达组低,而累积复发率高于低表达组。本研究分析了167例AML患者初诊时*WT1*基因表达水平与疗效和预后的相关性,发现*WT1*高表达组的治疗总反应率、2年总存活率和2年无病存活率均较低表达组低。因此,初诊时*WT1*基因过表达是AML患者疗效和预后的不良因素。

近年来,有部分研究表明在诱导化疗前后*WT1*表达的下降幅度是一个重要的预后因素。Mossallam等^[10]发现在诱导缓解后*WT1*表达的大幅下降是复发的独立危险因素,而Frairia等^[9]却认为诱导治疗后患者*WT1*表达较初诊下降幅度未达到2 log水平,死亡风险增加,而复发风险无差异。在本研究中,我们对*WT1*基因表达在初次诱导化疗前后的变化进行了分析,发现下降幅度 ≥ 1 log的AML患者疗效和总存活率明显优于下降 < 1 log患者,提示诱导化疗前后监测*WT1*表达量的变化有助于AML患者疗效和预后的预测。

NPM1 突变见于40%~50%正常核型AML患

者,与患者高缓解率、低复发率相关^[31],而 *FLT3-ITD* 突变见于 20%~30% 的 AML 患者,与患者低存活率、高复发风险相关^[16]。但是对于不伴有 *NPM1* 突变或 *FLT3-ITD* 突变的 AML 患者需要更多的分子生物学指标进行危险分层诊疗。本研究发现在伴 *NPM1* 突变或 *FLT3-ITD* 突变的 AML 患者中, *WT1* 表达水平对预后评估价值不大,但在 *NPM1* 或 *FLT3-ITD* 野生型患者中, *WT1* 过表达常预示着治疗总反应率低、总生存期和无病生存期短。

综上所述,我们的研究表明初发 AML 患者中 *WT1* 基因过表达提示预后不良,可用于非 M3 亚型 AML 患者疗效和预后判断;诱导缓解后检测 *WT1* 基因表达量的下降幅度有助于临床疗效评估,对判断预后也有一定的意义;初诊时 *WT1* 表达水平检测可以作为野生型 *NPM1* 或野生型 *FLT3-ITD* AML 患者的预后判断指标。但是,本研究系回顾性研究,且病例数量有限,需要进一步扩大样本量,开展前瞻性研究明确 *WT1* 表达水平在 AML 危险分层分析中的意义,指导患者个体化治疗。

参考文献

- [1] NCCN clinical practice guidelines in oncology: acute myeloid leukemia (version 1. 2019)[EB/OL].[2019-01-23].https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx.
- [2] OSSENKOPPELE G, SCHUURHUIS G J. MRD in AML: does it already guide therapy decision-making? [J]. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, 2016,2016(1):356-365.
- [3] CALL K M, GLASER T, ITO C Y, et al. Isolation and characterization of a zinc finger polypeptide gene at the human chromosome 11 wilms' tumor locus [J]. **Cell**, 1990,60(3):509-520.
- [4] HABER D A, SOHN R L, BUCKLER A J, et al. Alternative splicing and genomic structure of the Wilms tumor gene *WT1*[J]. **Proc Natl Acad Sci U S A**, 1991, 88(22):9618-9622.
- [5] YANG L, HAN Y, SUAREZ S F, et al. A tumor suppressor and oncogene: the *WT1* story [J]. **Leukemia**, 2007,21(5):868-876.
- [6] DEL PRINCIPE M I, BUCCISANO F, MAURILLO L, et al. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia of adults determination, prognostic impact and clinical applications [J/OL]. **Mediterr J Hematol Infect Dis**, 2016,8(1):e2016052.
- [7] HAO Y, CHENG Y, WU Q, et al. Combined usage of Wilms' tumor gene quantitative analysis and multiparameter flow cytometry for minimal residual disease monitoring of acute myeloid leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cells transplantation [J]. **Exp Ther Med**, 2018,15(2):1403-1409.
- [8] MARJANOVIC I, KARAN-DJURASEVIC T, UGRIN M, et al. Use of Wilms tumor 1 gene expression as a reliable marker for prognosis and minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia with normal karyotype patients [J]. **Clin Lymphoma Myeloma and Leuk**, 2017,17(5):312-319.
- [9] FRAIRIA C, AYDIN S, AUDISIO E, et al. Post-remissional and pre-transplant role of minimal residual disease detected by *WT1* in acute myeloid leukemia: a retrospective cohort study [J]. **Leuk Res**, 2017, 61: 10-17.
- [10] MOSSALLAM G I, ABDEL HAMID T M, MAHMOUD H K. Prognostic significance of *WT1* expression at diagnosis and end of induction in Egyptian adult acute myeloid leukemia patients [J]. **Hematology**, 2013, 18(2):69-73.
- [11] HIDAKA D, ONOZAWA M, HASHIGUCHI J, et al. Wilms tumor 1 expression at diagnosis correlates with genetic abnormalities and polymorphism but is not independently prognostic in acute myelogenous leukemia: a Hokkaido Leukemia Net Study [J/OL]. **Clin Lymphoma Myeloma Leu**, 2018, 18(11):e469-e479.
- [12] ROSE D, HAFERLACH T, SCHNITTGER S, et al. Subtype-specific patterns of molecular mutations in acute myeloid leukemia [J]. **Leukemia**, 2017, 31(1): 11-17.
- [13] YOHE S. Molecular genetic markers in acute myeloid leukemia [J]. **J Clin Med**, 2015,4(3):460-478.
- [14] HEATH E M, CHAN S M, MINDEN M D, et al. Biological and clinical consequences of *NPM1* mutations in AML [J]. **Leukemia**, 2017,31(4):798-807.
- [15] MOSNA F, CAPELLI D, GOTTARDI M, et al. Minimal residual disease in acute myeloid leukemia: still a work in progress? [J/OL]. **J Clin Med**, 2017,6(6):E57.
- [16] WU M, LI C, ZHU X. FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia [J]. **J Hematol Oncol**, 2018,11(1):133.
- [17] 中华医学会血液学分会. 中国急性早幼粒细胞白血病诊疗指南(2018年版)[J]. **中华血液学杂志**, 2018, 39(3):179-182. Chinese Society of Hematology. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute promyelocytic leukemia (2018) [J]. **Chinese Journal of Hematology**, 2018, 39(3):179-182. (in Chinese)
- [18] CILLONI D, RENNEVILLE A, HERMITTE F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized

- WT1* assay to enhance risk stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study [J]. **J Clin Oncol**, 2009, 27(31):5195-5201.
- [19] CHESON B D, BENNETT J M, KOPECKY K J, et al. Revised recommendations of the *International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia* [J]. **J Clin Oncol**, 2003, 21(24):4642-4649.
- [20] ARIYARATANA S, LOEB D M. The role of the Wilms tumor gene (*WT1*) in normal and malignant haematopoiesis [J]. **Expert Rev Mol Med**, 2007, 9(14):1-17.
- [21] BAIRD P N, SIMMONS P J. Expression of the Wilms tumor gene (*WT1*) in normal hemopoiesis [J]. **Exp Hematol**, 1997, 25(4):312-320.
- [22] EI BORDINY M, AL-GHANDOUR A, ABO ELWAFAR A, et al. The clinical significance of the alternative Wilms tumor gene overexpression - hypermethylation signature in acute myeloid leukemia [J]. **Clin Transl Oncol**, 2018.
- [23] KOBAYASHIA S, UEDA Y, NANNYA Y, et al. Prognostic significance of Wilms tumor 1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes [J]. **Cancer Biomarkers**, 2016, 17(1):21-32.
- [24] YI-NING Y, XIAO-RUI W, CHU-XIAN Z, et al. Prognostic significance of diagnosed *WT1* level in acute myeloid leukemia: a meta-analysis [J]. **Ann Hematol**, 2015, 94(6):929-938.
- [25] LYU Y, LOU J, YANG Y, et al. Dysfunction of the *WT1* - MEG3 signaling promotes AML leukemogenesis via p53-dependent and - independent pathways [J]. **Leukemia**, 2017, 31(12):2543-2551.
- [26] KRAUTH MT, ALPERMANN T, BACHER U, et al. *WT1* mutations are secondary events in AML, show varying frequencies and impact on prognosis between genetic subgroups [J]. **Leukemia**, 2015, 29(3):660-667.
- [27] OSTERGAARD M, OLESEN L H, 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 [J]. **Br J Haematol**, 2004, 125(5):590-600.
- [28] PASCHKA P, MARCUCCI G, RUPPERT A S, et al. Wilms' tumor 1 gene mutations independently predict poor outcome in adults with cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study [J]. **J Clin Oncol**, 2008, 26(28):4595-4602.
- [29] 张玉玲, 李海亮. *WT1* 基因与造血系统肿瘤研究现状 [J]. **临床血液学杂志**, 2017, 30(3):395-398.
- ZHANG Yulin, LI Hailiang. Research on present status of *WT1* gene and hematopoietic neoplasias [J]. **Journal of Clinical Hematology**, 2017, 30(3):395-398. (in Chinese)
- [30] NOMDEDEU J, HOYOS M, CARRICONDO M, et al. Bone marrow *WT1* levels at diagnosis, post-induction and post-intensification in adult *de novo* AML [J]. **Leukemia**, 2013, 27:2157-2164.
- [31] FORGHIERI F, COMOLI P, MARASCA R, et al. minimal/measurable residual disease monitoring in *NPM1* -mutated acute myeloid leukemia: a clinical viewpoint and perspectives [J/OL]. **Int J Mol Sci**, 2018, 19(11): pii:E3492.

[本文编辑 余方沈敏]

· 消 息 ·

浙江大学药学院胡富强教授团队研究成果 荣获国家科学技术进步奖二等奖

在2019年1月8日国家科学技术奖励大会上,浙江大学药学院胡富强教授团队的项目《泮托拉唑钠及制剂关键技术研究与产业化》荣获2018年度国家科学技术进步奖二等奖。

胡富强团队研发处方协同抗氧与工艺碱性调控制备热稳定载药丸芯、乳化蒸发水分散体包致密性肠溶衣、氧化过程杂质控制与析晶处置制备单一晶型原料药、处方碱性控制及离子络合与工艺晶粒调控制备注射剂、注射剂已知杂质的全部分离控制等关键技术,成功在制药企业应用转化,实现了泮托拉唑钠原料药及制剂的稳定化生产,显著提高产品质量,降低生产成本,攻克了质子泵抑制剂(PPI)类产品稳定化的共性技术难题。相关产品自上市以来,显著降低了患者治疗费用,惠及广大消化系统疾病患者。项目实施单位仅替代原研进口部分的价格差累计就为政府和患者节约医保支出和医疗费用80余亿元。