

MYD88 L265P 基因突变在华氏巨球蛋白血症中的意义研究进展

初文慧,于文征

(滨州医学院附属医院血液内科,山东 滨州 256603)

摘要: MYD88 L265P 基因突变是指染色体 3p22.2 上的单个核苷酸的改变,该突变可以导致 NF- κ B 信号传导通路的异常活化,从而促进细胞恶性增殖。全基因组测序技术已经证实该突变广泛存在于华氏巨球蛋白血症(WM)中,对 WM 的诊断、鉴别诊断、预后判断及治疗方面均有重要意义。酪氨酸激酶(BTK)抑制剂依鲁替尼的出现为 WM 的靶向治疗提供了选择。

关键词: 华氏巨球蛋白血症;淋巴浆细胞淋巴瘤;MYD88 L265P;依鲁替尼

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.05.003

Research progress of MYD88 L265P mutation in Waldenstrom macroglobulinemia

CHU Wenhui, YU Wenzheng

(Department of Hematology, The Affiliated Hospital of Binzhou Medical University,
Binzhou, Shandong 256603, China)

Abstract: MYD88 L265P gene mutation refers to a single nucleotide change on chromosome 3p22.2, which can lead to abnormal activation of the NF- κ B signaling pathway, thereby promoting malignant proliferation of cells. Whole genome sequencing has confirmed that the mutation is commonly recurring in Waldenstrom macroglobulinemia (WM), which is important for the diagnosis, differential diagnosis, prognosis and treatment of WM, especially the presence of Ibrutinib, an oral Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitor that provides targeted therapy for patients with WM.

Keywords: Waldenstrom macroglobulinemia; lymphoplasmacytic lymphoma; MYD88 L265P; Ibrutinib

华氏巨球蛋白血症(WM)是一种较为少见的惰性 B 细胞恶性肿瘤,是淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL)中最主要的类型,它在 1944 年由瑞典科学家 Jan Waldenstrom 首次报道,其特征是表达单克隆性免疫球蛋白 M(IgM),并且伴有小 B 淋巴细胞、浆细胞样淋巴细胞和浆细胞的骨髓浸润,占有血液系统恶性肿瘤的 2% 左右,在非霍奇金淋巴瘤中所占比例不足 5%^[1]。髓样分化因子 88(MYD88)作为一种胞质衔接蛋白,在固有免疫中起重要作用,研究表明,MYD88 L265P 基因突变可以导致 MYD88 中氨基酸 265 位由亮氨酸转变为脯氨酸,是 WM 中最常见的突变类型,该突变通过介导 NF- κ B 信号通路的异常激活,导致肿瘤细胞生长。

1 TLR/MYD88 的分子结构及其介导的信号传导

Toll 样受体(TLR)属 I 型跨膜蛋白受体,是模式识别受体(PRR)家族成员^[2,3],在固有免疫中起核心作用,它由胞外区、跨膜区、胞内区三部分构成,其中胞外区参与配体的识别,胞内区与白细胞

介素-1 受体(IL-1R)胞内区有高度的同源性,故称为 Toll/IL-1R 同源结构域(TIR),依赖 TIR 结构域的嗜同性作用与下游衔接蛋白的 TIR 域相结合,进行信号的传导^[4]。MYD88 最初发现于分化的髓样细胞中,由 296 个氨基酸残基组成,具有 2 个特殊的结构域,C 端为 TIR 结构域,可以与 TLR 和 IL-1R 的 TIR 域相结合,N 端为死亡结构域(DD),可以招募并活化 IL-1R 相关蛋白激酶(IRAK)等具有死亡结构域的信号分子,介导信号传导^[4]。

MYD88 通过 TIR 域可以介导多数 Toll 样受体、IL-1R 信号传导通路,引起多种炎性细胞因子及抗凋亡分子的释放,参与人体的固有免疫应答反应^[4,6]。在 Toll 样受体或 IL-1 受体结合其配体后,其 TIR 结构域直接激活 MYD88,或者是通过带有 TIR 结构域的衔接蛋白(TIRAP)和 Bruton 的酪氨酸激酶(BTK)触发 MYD88。通过 DD 结构域,MYD88 与 IRAK4 相互作用,并引发 IRAK4 的自磷酸化,随后招募并且磷酸化 IRAK1,形成“Myddosome”复合物^[7],继之磷酸化的 IRAK1 活化肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6),形成与胞膜相连的 TIR-MYD88-IRAK4-IRAK1-TRAF6 复合物。此后磷酸化

的 IRAK1 和 TRAF6 从复合物中解离,与 TAK1、TAB1、TAB2 结合形成复合物。IRAK1 在胞膜上发生降解,剩余的 TRAF6-TAK1-TAB1-TAB2 复合物进入胞质,在泛素化连接酶的作用下,TRAF6 泛素化降解, TAK1 被活化。TAK1 反过来磷酸化由 IKK- α 、IKK- β 和 IKK- γ 组成的 IKK 复合物,该异源三聚体复合物的激活导致 I κ B 磷酸化后发生泛素化降解,并且释放 NF- κ B 的亚单位 p65 和 p50,其转运到细胞核并驱动 NF- κ B 信号传导^[5,8-11]。

2 MYD88 L265P 在 WM 诊断中的意义

MYD88 L265P 基因突变是指染色体 3p22.2 上第 38 182 641 位的单个核苷酸的改变(T $\rightarrow$ C),导致了 MYD88 中氨基酸位点 265 由亮氨酸转变为脯氨酸^[8,12]。该突变可以导致 NF- κ B 信号传导通路的异常活化,从而促进细胞恶性增殖。2012 年, Treon 等^[8]应用全基因组测序技术发现在 54 例 WM 患者中有 49 例存在 MYD88 L265P 突变(90%),除此之外的 3 例非 IgM 型 LPL 患者中也检测到了该突变。但是在多发性骨髓瘤(MM)、边缘区淋巴瘤(MZL)和 IgM 型意义未明的单克隆丙种球蛋白血症(MGUS)中则很少见,甚或缺乏。由此他们得出结论,MYD88 L265P 是 WM 中一种常见的突变类型,可以用于与其他具有相似生物学特征的 B 细胞疾病相鉴别。随后,其他多个研究组也对该突变进行了大量研究,进一步证实 MYD88 L265P 基因突变广泛存在于 WM 患者中,检出率在 67%~100% 不等^[8,13-16]。

MYD88 L265P 是 WM 中最常见的突变类型,且突变发生率较高^[17],但却不是 WM 所特有的,在其他类型的 B 细胞淋巴瘤或者是浆细胞疾病中也有发现,但检出率远远低于 WM^[16,18]。比如 Varettoni 等^[14]运用等位基因特异性聚合酶链反应(AS-PCR)进行 MYD88 L265P 基因突变的检测,其阳性反应为:WM 为 100% (58/58)、IgM-MGUS 为 47% (36/77)、脾边缘区淋巴瘤(SMZL)为 6% (5/84)、B 细胞慢性淋巴增殖性疾病(B-CLPD)为 4% (3/52),并且有 9 例患者由 IgM-MGUS 进展为 WM 或 MZL。Xu 等^[16]采用传统的 AS-PCR 和实时等位基因特异性聚合酶链反应对 MYD88 L265P 进行测定,两种方法均显示 WM 患者(97/104)有极高的突变率(93%),而其他疾病分别为 IgM-MGUS 占 54% (13/24),SMZL 占 10% (2/20),慢性淋巴细胞白血病(CLL)占 4% (1/26),MM 占 0(0/14)。Mori 等^[19]运用 BsiE1 限制酶消化法和 AS-PCR 分别对 38 例骨髓瘤患者进行 MYD88 L265P 突变检测,均未发现

该突变,他们认为该突变在 WM 中的检出率远高于 MM。所以诸多的研究表明该突变可以用于区分 WM 和其他含有 IgM-M 蛋白的其他疾病,MYD88 L265P 突变对 WM 的诊断和鉴别诊断有重要意义^[20]。

3 MYD88 L265P 在 WM 预后判断中的指导作用

许多研究对伴 MYD88 L265P 突变的 WM 患者的临床特征进行了分析,Cao 等^[21]等运用实时 AS-PCR 和 Sanger 测序对某中心 112 例 IgM 单克隆丙种球蛋白相关疾病进行分析,他们发现在 NHL 患者中,具有 MYD88 L265P 基因型的患者较野生型基因型患者更年轻,IgG 和 IgA 水平更低。对 WM 和 MZL 两组中携带 MYD88 L265P 的患者进行比较分析,发现 WM 组中男性患者较多,IgM 水平较高,LDH 水平较低。两组间总生存率差异无统计学意义^[21]。Jimenez 等^[18]分析了 128 例伴 MYD88 L265P 突变的 WM 及 IgM-MGUS 患者的临床特征,与 20 例未突变组患者相比,突变组 M 蛋白水平较高、LDH 计数较低,白细胞、血红蛋白及血小板计数差异无统计学意义。而任远等^[22]对 81 例伴 MYD88 突变的淋巴浆细胞疾病患者进行的回顾性分析显示,与未突变患者比较,伴有此突变的患者年龄较大,且白细胞、血红蛋白水平较低。所以,仍需要大样本的研究来帮助我们加强 MYD88 L265P 突变在 WM 中的认识。另外,Treon 等^[23]发现 MYD88 突变的存在与否似乎区分了 WM 患者的两个不同群体。具有 MYD88 L265P 突变的患者与具有野生型(WT)基因型的患者具有相似的组织学特征,但却具有更重的骨髓受累以及更高的 IgM 水平^[23]。但是,尽管野生型 MYD88 患者的疾病负担较低,其中位总生存期却比具有 MYD88 突变患者(4.7 年 *vs* >10 年)要短,死亡风险增加 10 倍^[23]。所以,WM 疾病总生存期受 MYD88 突变状态的影响。

IgM-MGUS 在进展时最常演变为 WM,进展速度估计为每年 2%~2.5%。Xu 等^[16]发现在 54% 的 IgM-MGUS 患者中存在 MYD88 L265P 基因突变,运用等位基因特异性 PCR 进行检测,其中位 Δ CT 值为 6.3(1.6~7.3 周期),其中有 3 例患者均具有低 Δ CT 值(1.63、2.85、2.89),即具有较高的 MYD88 L265P 表达量,在以后的随访中进展为 WM,表明该突变可能是 WM 发病机制中的早期致癌事件,其存在可能构成“驱动突变”,可能赋予早期 WM 克隆竞争性生长优势,并且潜在地将扩增的克隆置于其他突变前,从而导致有症状的 WM^[24]。

Varettoni 等^[25]发现 MYD88 L265P 突变是 IgM-MGUS 进展为 WM 或其他淋巴增殖性疾病(LPD)的独立预测因子,且与 M 蛋白的浓度无关。在诊断时,MYD88 突变和血清 M 蛋白 $>1.5 \text{ g} \cdot \text{dL}^{-1}$,可以分辨出具有高进展风险的 IgM-MGUS 患者^[14]。Correa 等^[15]进行的一项长期随访研究显示,具有 MYD88 L265P 突变的患者显示出较高的肿瘤负荷和骨髓浸润,并且具有更高的血清 M 蛋白水平。除此之外,携带 MYD88 L265P 突变的患者较野生型基因型患者出现临床症状的时间短。目前的许多研究均表明 MYD88 L265P 基因突变与更大的疾病负担和较高的疾病进展风险相关^[14,16,24],因此也可能成为判断预后的一项重要标志物。

4 MYD88 抑制剂与 WM 的治疗

MYD88 L265P 通过 IRAK1/4 和 BTK 两条独立的信号通路介导 NF- κ B 的活化,从而促进 WM 的生长^[8,26]。通过抑制 BTK 或 IRAK1/4 的活性来抑制 NF- κ B 信号传导,从而诱导 WM 细胞的凋亡。这表明 BTK 作为 MYD88 L265P 信号传导的下游靶标,为单独使用 BTK 抑制剂或联合 IRAK 抑制剂来治疗 WM 提供了研究思路。IRAK 和 BTK 抑制剂的联合应用也将会进一步增强对 NF- κ B 信号传导的抑制,从而对 WM 细胞起到更强大的杀伤作用^[26]。

Yang 等^[26]通过慢病毒敲除 MYD88 和(或)使用 MYD88 通路抑制剂来证明,MYD88 L265P 赋予 WM 细胞生存优势。在 L265P 表达的 WM 细胞中 IRAK1 和 I κ Ba 信号传导对 MYD88 具有依赖性。BTK 是激活 NF- κ B 信号传导通路的重要衔接因子。I κ Ba 是决定 NF- κ B p65 核易位的关键因素。BTK 抑制剂可以影响 MYD88 与 BTK 的结合,从而阻断 I κ Ba 的磷酸化,对肿瘤细胞起到杀伤作用^[26]。依鲁替尼是一种口服给药的不可逆的选择性小分子 BTK 抑制剂,可以阻断 BTK 与 MYD88 的相互作用,从而阻断 BTK 依赖性下游信号传导。Treon 等^[27]进行的一项前瞻性研究,63 例有症状的 WM 患者(此前最少接受过一项治疗),每天口服 420 mg 依鲁替尼直至疾病进展或出现不能耐受的毒副反应,达到最小反应的中位时间是 4 周,总反应率是 90.5%,主要反应率为 73.0%。所有患者的 2 年无进展和总体生存率估计分别为 69.1% 和 95.2%。而依鲁替尼治疗相关的 2 级或更高级别的毒副作用主要包括中性粒细胞减少(22%)和血小板减少症(14%),总体来说发生率相对较低,耐受性良好。基于这项研究,美国 FDA 在 2015 年批准了依鲁替尼用来治疗 WM。此后,Furman 等^[28]报道了 4 例

WM 患者单剂应用依鲁替尼治疗的长期随访,反应率高、耐受性好。CXCR4 WHIM 是一种突变率在 WM 患者中仅次于 MYD88 L265P 的体细胞突变类型^[29]。研究表明,CXCR4 WHIM 阳性会影响依鲁替尼的治疗效应,导致反应较差^[30]。临床前期数据表明,同时使用 CXCR4 抑制剂可能有助于克服依鲁替尼介导的抵抗性^[31]。因此,依鲁替尼的疗效与 MYD88 和 CXCR4 的突变状态均有一定的相关性^[12,32]。在 WM 的治疗方面,依鲁替尼是目前针对 MYD88 L265P 突变研究最多、疗效最为确切的靶向治疗药物。Acalabrutinib (ACP-196) 是一种新型不可逆的第二代 BTK 抑制剂^[33],在 CLL 中显示出比依鲁替尼更有效和更有选择性,目前正处于 WM 的临床前研究中。

MYD88 L265P 的发现为 WM 的治疗提供了新的思路,以此为切入点的各项研究也正在陆续开展。有研究者提出^[34],干扰 Myddosome 在 TIR 和 DD 域内的组装可以影响 MYD88 L265P 突变 WM 细胞的生长和生存信号的传导,为开发干扰 Myddosome 装配的试剂提供了框架。另外,造血细胞激酶(HCK)是 SRC 家族成员,是突变型 MYD88 的下游靶点,也是依鲁替尼的直接靶标。Yang 等^[35]研究显示,依鲁替尼和 HCK 抑制剂 A419259 可以阻断 HCK 活化并诱导突变的 MYD88 WM 细胞凋亡,将成为伴有 MYD88 突变的 WM 治疗的新靶标。

WM 仍是一种不可治愈的恶性肿瘤,运用目前的治疗方法只能延缓疾病进展,MYD88 L265P 基因突变的发现让我们从分子生物学水平对该病有了更为深刻的认识,也为其治疗带来了新的希望。

参考文献

- [1] TALAULIKAR D, TAM CS, JOSHUA D, et al. Treatment of patients with Waldenstrom macroglobulinaemia: clinical practice guidelines from the Myeloma Foundation of Australia Medical and Scientific Advisory Group[J]. Intern Med J, 2017, 47(1): 35-49.
- [2] 赵永刚, 周艳春, 李明才, 等. TLR/MyD88 信号通路自身免疫性疾病[J]. 生命的化学, 2008, 28(4): 457-460.
- [3] KAWAI T, AKIRA S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors[J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 373-384.
- [4] WATTERS TM, KENNY EF, O'NEILL LA. Structure, function and regulation of the Toll/IL-1 receptor adaptor proteins[J]. Immunol Cell Biol, 2007, 85(6): 411-419.
- [5] AKIRA S, TAKEDA K. Toll-like receptor signalling[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(7): 499-511.
- [6] LOIARRO M, GALLO G, FANTO N, et al. Identification of critical residues of the MyD88 death domain involved in the recruitment of

- downstream kinases [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (41) : 28093-28103.
- [7] LIN SC, LO YC, WU H. Helical assembly in the MyD88-IRAK4-IRAK2 complex in TLR/IL-1R signalling [J]. *Nature*, 2010, 465 (7300) : 885-890.
- [8] TREON SP, XU L, YANG G, et al. MYD88 L265P somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367 (9) : 826-833.
- [9] NGO VN, YOUNG RM, SCHMITZ R, et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma [J]. *Nature*, 2011, 470 (7332) : 115-119.
- [10] WANG JQ, JEELALL YS, FERGUSON LL, et al. Toll-like receptors and cancer: MYD88 mutation and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2014, 5 : 367.
- [11] 吴燕燕, 王易. Toll 样受体信号通路中 MyD88 的研究进展 [J]. *免疫学杂志*, 2012, 28 (3) : 262-265.
- [12] TREON SP, XU L, HUNTER Z. MYD88 mutations and response to Ibrutinib in Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 (6) : 584-586.
- [13] GACHARD N, PARRENS M, SOUBEYRAN I, et al. IGHV gene features and MYD88 L265P mutation separate the three marginal zone lymphoma entities and Waldenstrom macroglobulinemia/lymphoplasmacytic lymphomas [J]. *Leukemia*, 2013, 27 (1) : 183-189.
- [14] VARETTONI M, ARCAINI L, ZIBELLINI S, et al. Prevalence and clinical significance of the MYD88 (L265P) somatic mutation in Waldenstrom's macroglobulinemia and related lymphoid neoplasms [J]. *Blood*, 2013, 121 (13) : 2522-2528.
- [15] CORREA JG, CIBEIRA MT, TOVAR N, et al. Prevalence and prognosis implication of MYD88 L265P mutation in IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance and smouldering Waldenstrom macroglobulinaemia [J]. *Br J Haematol*, 2017, 179 (5) : 849-851.
- [16] XU L, HUNTER ZR, YANG G, et al. MYD88 L265P in Waldenstrom macroglobulinemia, immunoglobulin M monoclonal gammopathy, and other B-cell lymphoproliferative disorders using conventional and quantitative allele-specific polymerase chain reaction [J]. *Blood*, 2013, 121 (11) : 2051-2058.
- [17] POULAIN S, ROUMIER C, DECAMBRON A, et al. MYD88 L265P mutation in Waldenstrom macroglobulinemia [J]. *Blood*, 2013, 121 (22) : 4504-4511.
- [18] JIMENEZ C, SEBASTIAN E, CHILLON MC, et al. MYD88 L265P is a marker highly characteristic of, but not restricted to, Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. *Leukemia*, 2013, 27 (8) : 1722-1728.
- [19] MORI N, OHWASHI M, YOSHINAGA K, et al. L265P mutation of the MYD88 gene is frequent in Waldenstrom's macroglobulinemia and its absence in myeloma [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (11) : e80088.
- [20] SWERDLOW SH, KUZU I, DOGAN A, et al. The many faces of small B cell lymphomas with plasmacytic differentiation and the contribution of MYD88 testing [J]. *Virchows Arch*, 2016, 468 (3) : 259-275.
- [21] CAO XX, MENG Q, CAI H, et al. Detection of MYD88 L265P and WHIM-like CXCR4 mutation in patients with IgM monoclonal gammopathy related disease [J]. *Ann Hematol*, 2017, 96 (6) : 971-976.
- [22] 任远, 周必琪, 徐杨, 等. 伴 MyD88 L265P 突变淋巴瘤浆细胞疾病患者的临床特征分析 [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37 (12) : 1054-1059.
- [23] TREON SP, CAO Y, XU L, et al. Somatic mutations in MYD88 and CXCR4 are determinants of clinical presentation and overall survival in Waldenstrom macroglobulinemia [J]. *Blood*, 2014, 123 (18) : 2791-2796.
- [24] LANDGREN O, STAUDT L. MYD88 L265P somatic mutation in IgM MGUS [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367 (23) : 2255-2257.
- [25] VARETTONI M, ZIBELLINI S, ARCAINI L, et al. MYD88 (L265P) mutation is an independent risk factor for progression in patients with IgM monoclonal gammopathy of undetermined significance [J]. *Blood*, 2013, 122 (13) : 2284-2285.
- [26] YANG G, ZHOU Y, LIU X, et al. A mutation in MYD88 (L265P) supports the survival of lymphoplasmacytic cells by activation of Bruton tyrosine kinase in Waldenstrom macroglobulinemia [J]. *Blood*, 2013, 122 (7) : 1222-1232.
- [27] TREON SP, TRIPSAS CK, MEID K, et al. Ibrutinib in previously treated Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (15) : 1430-1440.
- [28] FURMAN RR, LUAN Y, BILOTTI E, et al. Extended follow-up with the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib in previously treated Waldenstrom's macroglobulinemia [J]. *Leuk Lymphoma*, 2017, 58 (6) : 1502-1505.
- [29] HUNTER ZR, XU L, YANG G, et al. The genomic landscape of Waldenstrom macroglobulinemia is characterized by highly recurring MYD88 and WHIM-like CXCR4 mutations, and small somatic deletions associated with B-cell lymphomagenesis [J]. *Blood*, 2014, 123 (11) : 1637-1646.
- [30] CAO Y, HUNTER ZR, LIU X, et al. CXCR4 WHIM-like frameshift and nonsense mutations promote ibrutinib resistance but do not supplant MYD88 (L265P) -directed survival signalling in Waldenstrom macroglobulinaemia cells [J]. *Br J Haematol*, 2015, 168 (5) : 701-707.
- [31] ROCCARO AM, SACCO A, JIMENEZ C, et al. C1013G/CXCR4 acts as a driver mutation of tumor progression and modulator of drug resistance in lymphoplasmacytic lymphoma [J]. *Blood*, 2014, 123 (26) : 4120-4131.
- [32] HUNTER ZR, YANG G, XU L, et al. Genomics, signaling, and treatment of Waldenstrom macroglobulinemia [J]. *J Clin Oncol*, 2017 : 02016710814.
- [33] WU J, ZHANG M, LIU D. Acalabrutinib (ACP-196) : a selective second-generation BTK inhibitor [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9 : 21.
- [34] LIU X, HUNTER ZR, XU L, et al. Targeting myddosome assembly in Waldenstrom macroglobulinaemia [J]. *Br J Haematol*, 2017, 177 (5) : 808-813.
- [35] YANG G, BUHRLAGE SJ, TAN L, et al. HCK is a survival determinant transactivated by mutated MYD88, and a direct target of ibrutinib [J]. *Blood*, 2016, 127 (25) : 3237-3252.

(收稿日期: 2017-08-03, 修稿日期: 2017-09-10)