

• 论 著 •

DOK6、TBC1D16 联合检测对急性髓系白血病患者的化疗敏感性和预后的预测价值*

吕晓伟¹, 肖燕杰¹, 李琳¹, 董华丽¹, 焉兆玥¹, 王超^{2△}

1. 淄博市第一医院血液科, 山东淄博 255200; 2. 临沂市人民医院血液内科, 山东临沂 276000

摘要:目的 探讨酪氨酸蛋白激酶 6 下游(DOK6)、TBC1D16 联合检测对急性髓系白血病(AML)患者的化疗敏感性和预后的预测价值。方法 纳入 2015 年 4 月至 2018 年 4 月淄博市第一医院收治的 AML 患者 152 例。化疗前采集患者骨髓和/或外周静脉血, 分离单核细胞。实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测单核细胞中 DOK6、TBC1D16 的表达水平和甲基化水平, 并比较不同表达水平 AML 患者化疗后完全缓解的比例。采用受试者工作特征曲线的曲线下面积分析 DOK6、TBC1D16 联合检测对急性髓系白血病患者的化疗敏感性的预测价值。结果 相比于 DOK6 低表达, DOK6 高表达的 AML 患者固有核型分类的不良风险更高、未完全缓解比例更低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 在 TBC1D16 低表达或高表达的 AML 患者中, 相比于 TBC1D16 低表达, TBC1D16 高表达的 AML 患者固有核型分类的不良风险更高、未完全缓解比例更低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。完全缓解的 AML 患者具有更高的 DOK6 和 TBC1D16 表达水平、更高的 TBC1D16 甲基化表达水平和较低的 DOK6 甲基化表达水平($P < 0.05$)。DOK6 高表达或 DOK6 低甲基化或 TBC1D16 高表达或 TBC1D16 低表达的 AML 患者的总生存期更低($P < 0.05$)。TBC1D16 和 DOK6 同时高表达的 AML 患者的总生存期更低($P < 0.05$); TBC1D16 高甲基化和 DOK6 低甲基化的 AML 患者的总生存期更低($P < 0.05$)。DOK6 和 TBC1D16 单向检测对 AML 患者化疗敏感性预测的灵敏度分别为 96.98% 和 98.32%、特异度分别为 98.47% 和 97.59%。DOK6、TBC1D16 联合检测对 AML 化疗敏感性预测的灵敏度为 97.10%, 特异度为 96.39%, 准确性为 96.71%。结论 单核细胞中 DOK6、TBC1D16 的联合检测可作为 AML 患者化疗敏感性和预后的潜在预测因子。

关键词: 酪氨酸蛋白激酶 6 下游; TBC1D16; 急性髓系白血病; 化疗; 预后

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.22.001 **中图法分类号:** R733.71

文章编号: 1673-4130(2023)22-2689-06 **文献标志码:** A

Predictive value of combined detection of DOK6 and TBC1D16 for chemotherapy sensitivity and prognosis in patients with acute myeloid leukemia*

LYU Xiaowei¹, XIAO Yanjie¹, LI Lin¹, DONG Huali¹, YAN Zhaoyue¹, WANG Chao^{2△}

1. Department of Hematology, Zibo First Hospital, Zibo, Shandong 255200, China; 2. Department of Hematology, Linyi People's Hospital, Linyi, Shandong 276000, China

Abstract: **Objective** To investigate the predictive value of downstream of tyrosine kinase 6 (DOK6), TBC1D16 combination on the chemotherapy sensitivity and prognosis of patients with acute myeloid leukemia (AML). **Methods** A total of 152 AML patients admitted to Zibo First Hospital from April 2015 to April 2018 were included. Bone marrow and/or peripheral venous blood was collected from patients before chemotherapy and mononuclear cells were isolated. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was performed to detect the expression levels of DOK6 and TBC1D16 and methylation levels in monocytes, and to compare the proportion of patients with different levels of AML in complete remission after chemotherapy. The predictive value of the combination of DOK6, TBC1D16 on the sensitivity of chemotherapy in AML patients was analyzed by the area under curve of the receiver operating characteristic curve. **Results** AML patients with high expression level of DOK6 had a higher risk of adverse intrinsic karyotype classification and a lower proportion of incomplete remission level compared to those with low expression level of DOK6, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); among AML patients with low or high expression level of TBC1D16, AML patients with high expression level of TBC1D16 had a higher risk of adverse intrinsic karyo-

* 基金项目: 国家卫生健康委“十三五”规划全国重点课题(YYSWS1845); 淄博市科学技术厅项目(2014-51-1)。

作者简介: 吕晓伟, 女, 副主任医师, 主要从事血液病方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 13969996770@163.com。

type classification and a lower proportion of incomplete remission compared to those with low expression levels of TBC1D16, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). AML patients with complete remission have higher expression levels of DOK6 and TBC1D16, higher levels of TBC1D16 methylation, and lower levels of DOK6 methylation ($P < 0.05$). AML patients with high expression level of DOK6 or low methylation of DOK6 or high expression level of TBC1D16 or TBC1D16 have lower overall survival ($P < 0.05$). Meanwhile, AML patients with high expression of both TBC1D16 and DOK6 had a lower overall survival time ($P < 0.05$); AML patients with high TBC1D16 methylation and low DOK6 methylation had lower overall survival ($P < 0.05$). The sensitivity and specificity of DOK6 and TBC1D16 one-way prediction of chemotherapy sensitivity in AML patients were 96.98% and 98.32%, respectively, and 98.47% and 97.59%, respectively. The sensitivity, specificity, and accuracy of the combination of DOK6 and TBC1D16 in predicting AML chemotherapy sensitivity were 97.10%, 96.39%, and 96.71%, respectively. **Conclusion** The detection of DOK6 and TBC1D16 in monocytes can be used as potential predictors of chemotherapy sensitivity and prognosis in AML patients.

Key words: downstream of tyrosine kinase 6; TBC1D16; acute myeloid leukemia; chemotherapy; prognosis

急性髓系白血病(AML)是一种恶性血液疾病,以造血干细胞不受控制的增殖为特征^[1]。目前,阿糖胞苷(Ara-C)和蒽环类药物,如米托蒽醌(MIT)仍然是几十年来 AML 初始治疗的主要手段^[2]。然而,60% 的患者在达到完全缓解后会复发并进展为难治性 AML^[3]。由化疗抵抗引起的最小残留病(MRD)是导致 AML 复发和不良预后的主要原因之一^[4]。因此,识别可能影响药物反应和预后的 AML 患者的风险因素是治疗的关键手段。有研究发现^[5],酪氨酸蛋白激酶 6 下游(DOK6)的表达水平和启动子高甲基化水平在 AML 患者中可以作为一个独立的、综合的预后生物标志物。同时,LIU 等^[6]发现 TBC1D16 是成人 AML 患者化疗敏感性和预后的一个潜在预测因子。然而,单个标志物的检测具有低灵敏度和低特异度的弊端。基于此,本研究旨在探讨 DOK6、TBC1D16 联合检测对 AML 患者的化疗敏感性和预后的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2015 年 4 月至 2018 年 4 月淄博市第一医院(下称本院)收治的 AML 患者 152 例。其中,M0 型 2 例,M1 型 8 例,M2 型 70 例,M3 型 6 例,M4 型 36 例,M5 型 30 例。纳入标准:(1)参照世界卫生组织造血和淋巴组织肿瘤分类标准(2008 年版)相关诊断标准^[7];(2)未接受任何治疗,包括放疗、化疗、靶向治疗或内分泌治疗;(3)患者无血液系统疾病者;(4)患者自愿签署知情同意书。排除标准:(1)AML 复治者;(2)明确有中枢神经系统侵犯者;(3)患有其他肿瘤者;(4)心、肝、肾等机体主要器官功能障碍者;(5)严重感染者;(6)具有自身免疫系统疾病史者。纳入的 AML 病例中无伴重现性遗传学异常和特殊分类的 AML 病例。化疗前采集 AML 患者骨髓和/或外周静脉血,分离单核细胞。所有 AML 患者均接受类似的阿糖胞苷诱导和巩固治疗方案。所有患

者都接受了“7+3”诱导方案,包括 Ara-C(100~200 mg/m²,第 1~7 天)和蒽环类药物(米托蒽醌 8~16 mg/m²,或柔红霉素 45~60 mg/m²,或阿柔红霉素 20 mg/m²,或吡柔红霉素 30 mg/m²,或去柔红霉素 10~20 mg/m²,第 1~3 天)。AML 患者完全缓解的标准是按照国际推荐标准定义的:骨髓中细胞数量<5%;无髓外疾病;中性粒细胞绝对计数>1×10⁹/L,血小板计数≥100×10⁹/L。同时,纳入同时期于本院体检的健康志愿者 99 例为健康对照组,并以相同方式分离志愿者的单核细胞。本研究获得了本院伦理委员会的批准。在入组前,从每位参与者获得书面知情同意,包括与研究人员共享遗传信息。

1.2 随访 通过查阅医院电子病历和定期电话随访,获取患者的临床资料和预后信息。临床资料主要包括患者年龄、性别、血常规检查、危险分层、化疗方案、分子特征。以总生存期(OS)作为预后指标。复发定义为骨髓中存在>5%的母细胞或外周血中出现母细胞或发生髓外疾病。OS 从 AML 诊断之日起计算至因任何原因死亡之日。随访截止日期为 2023 年 4 月 30 日。

1.3 DOK6 和 TBC1D16 表达水平和甲基化水平的检测 使用 Trizol 试剂从预提取的骨髓单核细胞中分离总 RNA。反转录反应由 10 mmol/L 脱氧核糖核苷三磷酸(dNTPs)、5×10 mmol/L 缓冲液、80 U RNAsin、10 μmol/L 随机六聚体和 200 U MMLV 逆转录酶组成,反应体积为 40 μL。反应条件在 25℃下孵育 10 min,42℃下孵育 60 min,然后在-20℃下保存。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)方法对 AML 标本中的 DOK6 和 TBC1D16 基因表达进行分析。使用基因组 DNA 纯化试剂盒分离 AML 患者的基因组 DNA。使用 CpGenome DNA 修饰试剂盒根据制造商的建议修改基因组 DNA。用于 SYBR Premix Ex TaqII 的甲基化引物检测 DOK6 或

TBC1D16 的甲基化状态。反应条件为 95 ℃持续 30 s,95 ℃持续 5 s,62 ℃持续 30 s,72 ℃持续 30 s,78 ℃持续 32 s。DNA 亚硫酸氢盐修饰使用 CpGenome™DNA 修饰试剂盒进行。使用与 DOK6 或 TBC1D16 表达水平相同的模型计算 DOK6 或 TBC1D16 甲基化的定量。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 和 GraphPad Prism 5.0 统计学软件进行数据分析。Fisher 精确检验用于比较两组分类变量。两组比较采用 *t* 检验。使用 Kaplan-Meier 分析和 COX 回归模型(单因素和多因素分析)评估 DOK6 或 TBC1D16 表达水平或甲基化对 OS

的影响。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DOK6、TBC1D16 不同表达水平 AML 患者的临床和分子特征比较 AML 的临床和分子特征如表 1 所示,在 DOK6 低表达或高表达的 AML 患者中,相比于 DOK6 低表达,DOK6 高表达的 AML 患者固有核型分类的不良风险更高、未完全缓解比例更低(*P* < 0.05);在 TBC1D16 低表达或高表达的 AML 患者中,相比于 TBC1D16 低表达,TBC1D16 高表达的 AML 患者固有核型分类的不良风险更高、未完全缓解比例更低(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 DOK6、TBC1D16 不同表达水平 AML 患者的临床和分子特征比较[$\bar{x} \pm s$ 或 *n* (%)]

项目	DOK6 低表达 (<i>n</i> = 65)	DOK6 高表达 (<i>n</i> = 87)	<i>t</i>	<i>P</i>	TBC1D16 低表达(<i>n</i> = 78)	TBC1D16 高表达(<i>n</i> = 74)	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄(岁)	43.38 ± 12.88	44.25 ± 7.44	0.36	0.716 0	42.48 ± 10.88	45.36 ± 11.59	1.58	0.116 2
性别(男)	39(60.00)	43(49.43)	1.68	0.195 6	44(53.66)	38(51.35)	0.39	0.531 7
白细胞(×10 ⁶ /L)	34.73 ± 9.03	32.02 ± 8.49	1.90	0.060 1	31.38 ± 8.97	35.08 ± 11.96	1.87	0.064 1
红细胞(×10 ⁹ /L)	2.45 ± 0.24	2.48 ± 0.58	0.39	0.695 3	2.51 ± 0.39	2.43 ± 0.25	1.50	0.136 6
血红蛋白(g/L)	71.42 ± 7.77	73.62 ± 6.83	1.85	0.066 0	73.55 ± 6.70	71.76 ± 7.93	1.51	0.134 2
血小板(×10 ⁷ /L)	48.17 ± 7.28	46.21 ± 6.32	1.77	0.078 4	48.22 ± 9.94	45.82 ± 8.21	1.62	0.107 7
中性粒细胞(×10 ⁹ /L)	74.44 ± 8.79	73.53 ± 9.03	0.62	0.535 1	76.58 ± 16.16	71.11 ± 17.99	1.97	0.050 2
骨髓细胞(%)	74.31 ± 11.69	76.32 ± 12.58	1.00	0.316 9	73.20 ± 22.94	77.84 ± 17.39	1.40	0.163 7
乳酸脱氢酶(U/L)	499.33 ± 63.89	503.59 ± 73.86	0.37	0.710 1	492.98 ± 67.41	511.04 ± 70.39	1.62	0.108 2
固有核型分类[<i>n</i> (%)]								
有利风险	25(38.46)	13(14.94)	10.98	0.000 9	30(38.46)	8(10.81)	15.48	<0.000 1
中性风险	27(41.54)	35(40.23)	0.03	0.871 0	31(39.74)	31(41.89)	0.07	0.787 6
不良风险	6(9.23)	32(36.78)	15.06	0.000 1	9(11.54)	29(39.19)	15.48	<0.000 1
未检测到	5(7.69)	9(10.34)	0.06	0.807 1	6(7.69)	8(10.81)	0.44	0.506 3
未完全缓解比例	24(36.92)	59(67.82)	14.32	0.000 2	29(37.18)	54(72.97)	19.63	<0.000 1
AML 亚型								
M0	1(1.53)	1(1.15)	0.04	0.835 0	2(2.56)	0(0.00)	1.92	0.165 6
M1	3(4.62)	5(5.75)	0.10	0.757 2	4(5.13)	4(5.41)	<0.01	0.939 0
M2	30(46.15)	40(45.98)	<0.01	0.982 7	33(42.31)	36(48.65)	0.62	0.432 6
M3	4(6.15)	3(3.45)	0.62	0.431 1	4(5.13)	3(4.05)	0.10	0.752 2
M4	16(24.62)	20(22.99)	0.05	0.815 4	18(23.08)	18(24.32)	0.03	0.856 5
M5	16(24.62)	14(16.09)	1.71	0.191 5	16(20.51)	14(18.92)	0.06	0.805 1
染色体异常								
正常核型	43(55.13)	62(71.26)	0.45	0.500 0	49(62.82)	56(75.68)	0.26	0.512 2
复杂核型	3(4.62)	2(2.30)	0.63	0.428 2	3(3.84)	2(2.70)	0.16	0.692 8
t(8;21)	10(15.38)	8(9.20)	1.37	0.242 7	9(11.54)	9(12.16)	0.01	0.905 3
inv(16)	3(4.62)	2(2.30)	0.63	0.428 2	3(3.84)	2(2.70)	0.16	0.692 8
11q23	3(4.62)	3(3.45)	0.13	0.714 7	3(3.84)	3(4.05)	<0.01	0.947 5
未检测到	4(6.15)	9(10.34)	0.84	0.360 7	7(8.97)	6(8.11)	0.04	0.848 6

2.2 未完全化缓解和完全缓解 AML 患者 DOK6、TBC1D16 表达水平和甲基化水平 DOK6 在启动子

区域存在甲基化位点,而 TBC1D16 在 3'-UTR 存在甲基化位点,见图 1。相比于未完全缓解的 AML 患者,完全缓解的 AML 患者具有更高的 DOK6 和 TBC1D16 表达水平、更高的 TBC1D16 甲基化水平和

较低的 DOK6 甲基化表达水平($P<0.05$),见表 2。相比于健康对照组,AML 组具有更高的 DOK6、TBC1D16 表达水平、更高的 TBC1D16 甲基化表达水平和较低的 DOK6 甲基化表达水平($P<0.05$),见表 3。

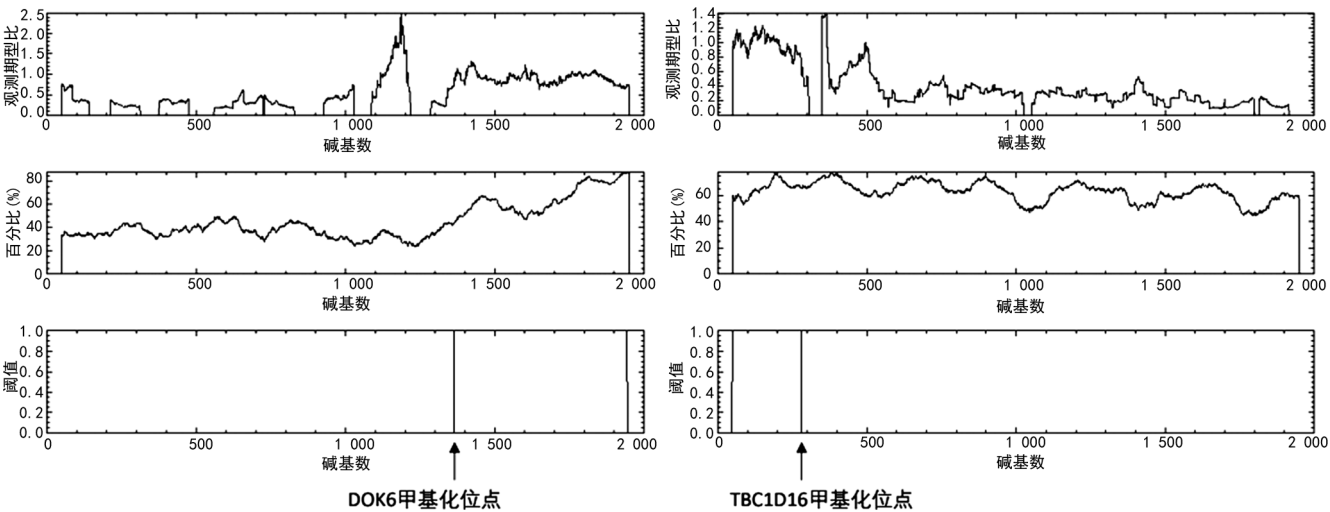


图 1 DOK6 和 TBC1D16 的甲基化位点

表 2 未完全化缓解和完全缓解 AML 患者 DOK6、TBC1D16 表达水平和甲基化水平($\bar{x}\pm s$)				
项目	未完全缓解 ($n=83$)	完全缓解 ($n=69$)	t	P
DOK6 表达水平	0.21±0.03	0.85±0.11	50.81	<0.001
TBC1D16 表达水平	0.44±0.05	0.15±0.03	42.26	<0.001
DOK6 甲基化水平	0.13±0.04	0.03±0.01	20.24	<0.001
TBC1D16 甲基化水平	0.80±0.10	0.39±0.08	27.51	<0.001

表 3 健康对照组与 AML 组 DOK6、TBC1D16 表达水平和甲基化水平($\bar{x}\pm s$)				
项目	健康对照组 ($n=99$)	AML 组 ($n=152$)	F	P
DOK6 表达水平	0.90±0.09	0.50±0.06	42.26	<0.001
TBC1D16 表达水平	0.12±0.03	0.31±0.04	40.42	<0.001
DOK6 甲基化水平	0.03±0.01	0.08±0.02	23.06	<0.001
TBC1D16 甲基化水平	0.35±0.06	0.61±0.09	25.31	<0.001

2.3 AML 患者中 DOK6、TBC1D16 表达水平和甲基化水平的相关性 AML 患者中 DOK6 的表达水平与 TBC1D16 表达水平($r=0.484, P<0.05$)和 TBC1D16 甲基化水平($r=0.262, P<0.05$)呈正相关,与 DOK6 甲基化水平($r=-0.651, P<0.05$)呈负相关($r=0.573, P<0.05$);TBC1D16 表达水平与 TBC1D16 甲基化水平呈正相关($r=-0.279, P<0.05$),与 DOK6 甲基化水平呈负相关;DOK6 甲基化水平与 TBC1D16 甲基化水平呈负相关($r=-0.183, P<0.05$)。

2.4 TBC1D16、DOK6 表达水平与 AML 的 OS 的

单因素和多因素 COX 回归分析 相比于 DOK6 低表达的 AML 患者,DOK6 高表达的 AML 患者的 OS 更低,差异有统计学意义($P<0.05$);相比于 TBC1D16 低表达的 AML 患者,TBC1D16 高表达的 AML 患者的 OS 更低,差异有统计学意义($P<0.05$);相比于 DOK6 低甲基化的 AML 患者,DOK6 高甲基化的 AML 患者的 OS 更高,差异有统计学意义($P<0.05$);相比于 TBC1D16 低甲基化的 AML 患者,TBC1D16 高甲基化的 AML 患者的 OS 更低,差异有统计学意义($P<0.05$)。同时,TBC1D16 和 DOK6 同时高表达的 AML 患者的 OS 更低,差异有统计学意义($P<0.05$);TBC1D16 高甲基化和 DOK6 低甲基化的 AML 患者的 OS 更低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 2。单因素和多因素分析发现 TBC1D16 或 DOK6 表达越高,AML 的 OS 越差,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

2.5 DOK6、TBC1D16 对 AML 患者化疗敏感性的预测分析 为了评估 DOK6 或 TBC1D16 对 AML 患者化疗敏感性的预测价值,绘制 54 例未缓解 AML 患者和 45 例缓解 AML 患者的受试者工作特征(ROC)曲线。DOK6 的 ROC 曲线的曲线下面积(AUC)为 0.94 (95%CI:0.824~0.988),以 DOK6 的预测最佳截断值为 0.469,其诊断灵敏度为 96.98%,特异度为 98.47%;TBC1D16 的 ROC 曲线的 AUC 为 0.95 (95%CI:0.857~0.993),以 TBC1D16 的预测最佳截断值为 0.265,其诊断灵敏度为 98.32%,特异度为 97.59%。AML 未缓解为化疗不敏感,AML 缓解为化疗敏感。以 DOK6 和 TBC1D16 预测最佳截断值为诊断标准进行联合预测,二者满足其一者为联合预测

化疗敏感,反之则为联合预测化疗不敏感。DOK6 和 TBC1616 联合检测对 AML 患者化疗敏感性预测的

灵敏度为 97.10%(67/69),特异度为 96.39%(80/83),准确度为 96.71%(147/152)。见图 3、表 5、6。

表 4 TBC1D16、DOK6 表达水平与 AML 的 OS 的多因素 COX 回归分析

项目	单变量分析		多变量分析	
	HR(95%CI)	P	HR(95%CI)	P
DOK6 表达水平	1.888(1.824~1.952)	0.011	1.739(1.644~1.834)	0.011
TBC1D16 表达水平	0.933(0.885~0.981)	0.023	0.855(0.823~0.887)	0.031

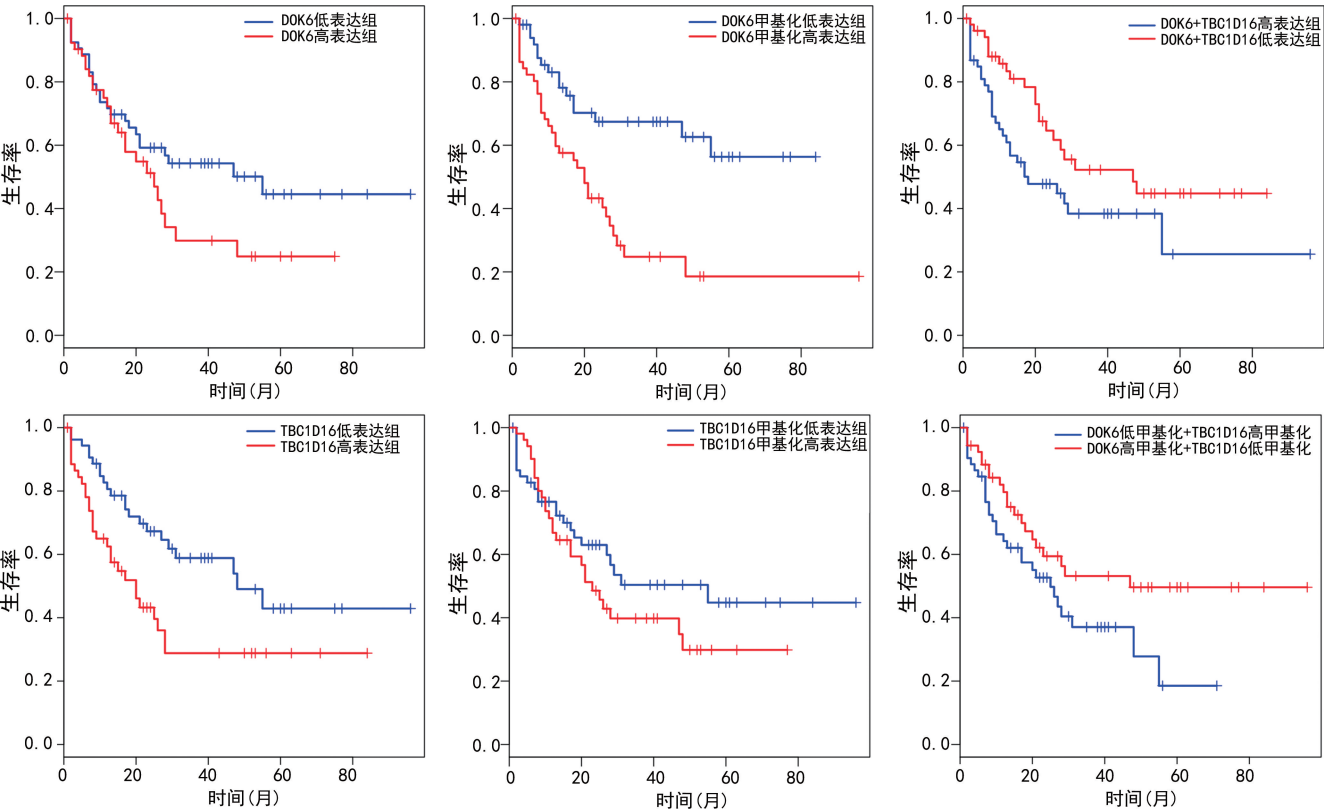


图 2 TBC1D16 或 DOK6 表达水平和甲基化水平与 AML 的 OS

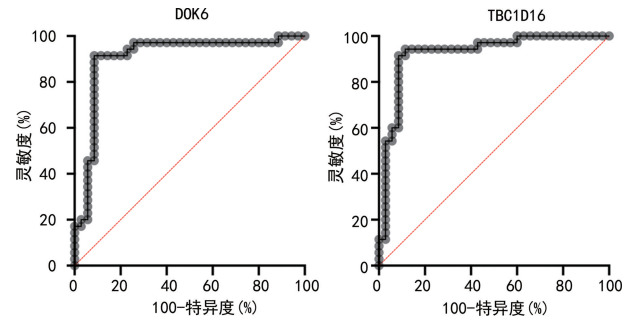


图 3 DOK6 或 TBC1D16 对 AML 患者化疗敏感性预测的 ROC 曲线

表 5 DOK6 或 TBC1D16 对 AML 患者化疗敏感性预测的 AUC、灵敏度和特异度

检测变量	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	AUC	95%CI	P
DOK6	96.98	98.47	0.95	0.94	0.824~0.988	<0.001
TBC1D16	98.32	97.59	0.96	0.95	0.857~0.993	<0.001

表 6 DOK6 与 TBC1D16 联合检测对预测 AML 患者的化疗敏感性(n)

预测方法	类型	事件真实情况		合计
		化疗不敏感	化疗敏感	
联合预测	化疗不敏感	80	2	82
	化疗敏感	3	67	70
合计		83	69	152

3 讨 论

本研究通过分析未完全缓解和完全缓解的 AML 患者化疗前单核细胞的 DOK6、TBC1D16 的表达水平以及其与预后的相关性,发现 DOK6、TBC1D16 单向预测 AML 患者化疗敏感性的灵敏度分别为 96.98%和 98.32%、特异度分别为 98.47%和 97.59%。WU 等^[8]通过外周血单个 miR-132 预测 AML 预后的灵敏度为 90.36%,特异度为 85.56%。在本研究中,DOK6 和 TBC1616 联合检测对 AML 患者化疗敏感性预测的

灵敏度为 97.10%，特异度为 96.39%，准确度为 96.71%，具有较好的预测效能。

在本研究中，DOK6 高表达的 AML 患者的 OS 更低($P<0.05$)。DOK6 作为一种具有多个信号蛋白对接位点的适配器，可以与多种信号通路的不同步骤中的不同成分结合，如血小板衍生生长因子、神经生长因子、表皮生长因子受体、大鼠内瘤蛋白、血管内皮生长因子和 RAF/MAP 激酶。重要的是，它们大多已被证实是胃癌的致癌蛋白和不良预后因素^[8]。有研究表明^[9-10]，DOK6 通过与多种不同的信号蛋白和受体相互作用，增强了许多致癌信号通路。因此，随着 DOK6 表达水平的增高，必然会影响多种致癌信号通路，这不利于 AML 患者的预后。

近年来，TBC1D16 甲基化和表达水平在肿瘤发生和转移中的临床意义引起了人们的关注。有研究发现^[11]，TBC1D 可能是黑色素瘤转移的潜在外源性驱动因子，基因体的低甲基化导致 TBC1D16 转录的激活，促进黑色素瘤的增殖和转移。此外，TBC1D16 蛋白在上皮性卵巢癌(EOC)中表达增加，尤其是在血管内皮生长因子低表达的 EOC 标本中^[12]。本研究发现 TBC1D16 高表达的 AML 患者固有核型分类的不良风险更高、未完全缓解比例更低($P<0.05$)。因此，TBC1D16 作为特异性 AML 预后生物标志物，有助于开发新的治疗策略和治疗反应预测。

作为研究最多的表观遗传改变，DNA 甲基化参与了多种调控过程，如基因组完整性、印迹缺失、基因组完整性、转录调控和染色质结构等^[11]。相比于完全缓解的 AML 患者，未完全缓解的 AML 患者 DOK6 的甲基化水平更低、TBC1D16 的甲基化水平更高。由于启动子中的 DNA 甲基化对基因转录的强大影响，已被广泛接受为基因表达的负调控^[13-14]。这些 CpG 岛含有甲基化敏感转录因子(如 CTCF)的结合位点，导致基因表达增加或减少。通过 JASPAR 数据库，本文发现 CTCF 转录抑制因子结合在 TBC1D16 甲基化位点上游为 141~159 bp，因此推测 TBC1D16 3'-UTR 的高甲基化可能通过抑制 CTCF 的结合而影响基因表达。

综上所述，单核细胞中 DOK6 和 TBC1D16 联合检测可作为 AML 患者化疗敏感性和预后的潜在预测因子。

参考文献

[1] ZHANG L, TIAN S, PEI M, et al. Crosstalk between histone modification and DNA methylation orchestrates the epigenetic regulation of the costimulatory factors, Tim-3 and galectin-9, in cervical cancer[J]. *Oncol Rep*, 2019, 42(6):2655-2669.

[2] ZALPOOR H, BAKHTIYARI M, AKBARI A, et al. Potential role of autophagy induced by FLT3-ITD and acid ceramidase in acute myeloid leukemia chemo-resistance: new insights[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1):172.

[3] MIYAMOTO T, SANFORD D, TOMULEASA C, et al. Real-world treatment patterns and clinical outcomes in patients with AML unfit for first-line intensive chemotherapy[J]. *Leuk Lymphoma*, 2022, 63(4):928-938.

[4] CENTIO A, ESTRUCH M, RECKZEH K, et al. Inhibition of oxidized nucleotide sanitation by TH1579 and conventional chemotherapy cooperatively enhance oxidative DNA damage and survival in AML[J]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(5):703-714.

[5] SUN G K, TANG L J, ZHOU J D, et al. DOK6 promoter methylation serves as a potential biomarker affecting prognosis in de novo acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(14):6393-6402.

[6] LIU H, CHEN P, YANG Y L, et al. TBC1D16 predicts chemosensitivity and prognosis in adult acute myeloid leukemia (AML) patients[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 895:173894.

[7] 张荣耀, 李娜, 李慧, 等. 外周血单个核细胞 miR-132 对老年急性髓系白血病预后的预测价值[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(10):2356-2359.

[8] WU J, ZHANG L, KUCHI A, et al. CpG site-based signature predicts survival of colorectal cancer[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(12):3163.

[9] DE LUCA V, AL-CHALABI N, CHAUDHARY Z, et al. Mediating effect of genome-wide DNA methylation on suicidal ideation induced by stressful events[J]. *Psychiatr Genet*, 2023, 33(1):26-33.

[10] GUAN Y, LI M, QIU Z, et al. Comprehensive analysis of DOK family genes expression, immune characteristics, and drug sensitivity in human tumors[J]. *J Adv Res*, 2022, 36:73-87.

[11] XIAO Q, XIAO Y, LI L Y, et al. Multifaceted regulation of enhancers in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2022, 1865(6):194839.

[12] LI P, LIU S, DU L, et al. Liquid biopsies based on DNA methylation as biomarkers for the detection and prognosis of lung cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2022, 14(1):118.

[13] HUANG W, LI H, YU Q, et al. LncRNA-mediated DNA methylation: an emerging mechanism in cancer and beyond[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1):100.

[14] BARRETT J E, HERZOG C, JONES A, et al. The WID-BC-index identifies women with primary poor prognostic breast cancer based on DNA methylation in cervical samples[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):449.