

موتاسیون ژن *ASXL1* در لوسمی میلوژنوس مزمن

امیر ولیخانی^۱، میترا سادات رضایی^۲، مستانه علائی^۳، بهزاد پوپک^۴، ناصر امیری زاده^۵، محمد حسین احمدی^۶

چکیده

سابقه و هدف

ژن *ASXL1* به تازگی به عنوان ژن جهش یافته در لوسمی های میلوئیدی مطرح شده است. جهش در این ژن با حالت تهاجمی بیماری و پیامد بد بالینی همراه است و بررسی آن نتایج ارزشمندی در تعیین پیش آگهی بیماری در اختیار ما خواهد گذاشت. با توجه به این که فاکتورهای پیشگویی کننده محدودی برای تعیین پیش آگهی بیماران CML وجود دارد و از سویی مطالعه این ژن در بیماران ایرانی تاکنون صورت نگرفته، در این مطالعه وجود این جهش در بیماران CML بررسی شد.

مواد و روش ها

در یک مطالعه تجربی، تعداد ۶۶ بیمار CML (لوسمی میلوئیدی مزمن) بعد از تشخیص بیماری از نظر وجود این جهش بررسی شدند. بدین منظور قسمتی از اگزون ۱۲ از ژن *ASXL1* که اکثر جهش ها در آن روی می دهد تکثیر داده شد و با تعیین سکانس، توالی نوکلئوتیدی از نظر جهش مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها

موتاسیون های ژن *ASXL1* در ۴ بیمار (۲ مرد و ۲ زن) با میانگین سنی ۴۴ سال و با انحراف معیار ۱۷/۸۵ مبتلا به CML (۶٪) وجود داشتند. موتاسیون ها دو نوع و شامل موتاسیون نوع تغییر غالب (c.1934dupG, p.Gly646TrpfsX12) و نوع حذفی (c.1900-1922del, p.Glu635ArgfsX15) بودند و در مطالعه های گذشته بیان شده بودند. هیچ تفاوت معناداری در بیماران دارای موتاسیون و بدون موتاسیون از نظر سن، جنس تعداد گلبول سفید، تعداد پلاکت و میزان هموگلوبین مشاهده نشد.

نتیجه گیری

موتاسیون ژن *ASXL1* به عنوان یک ناهنجاری ژنی در CML قلمداد می شود. با توجه به یافته ما که موتاسیون در بیماران از ابتدای تشخیص وجود داشت، می توان آن را یکی از آسیب های اولیه ژنی در این لوسمی دانست.

کلمات کلیدی: پروتئین *ASXL1*، انسان، موتاسیون، لوسمی

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۵

تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۴

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۲- متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات ویروس شناسی - مؤسسه ملی تحقیقات سل و بیماری های ریوی - دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - تهران - ایران
- ۳- مؤلف مسئول: متخصص آسیب شناسی بالینی و تشریحی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷
- ۴- PhD هماتولوژی و بانک خون - استادیار دانشگاه آزاد اسلامی تهران - واحد پزشکی تهران - تهران - ایران
- ۵- PhD هماتولوژی و بانک خون - دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران
- ۶- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

مقدمه

ژن *ASXL1* (additional sex combs like 1) در محل 20q11 کروموزوم واقع شده است و جزو خانواده ژنی درگیر در تنظیمات اپیژنتیک می‌باشد. این ژن دارای ۱۲ اگزون بوده و در اکثر سلول‌های هماتوپوئیک بیان می‌شود (۱). ژن *ASXL1* در واقع هومولوگ انسانی *ASX* (Additional sex comb) در *Drosophila* بوده و تقویت کننده دو گروه ژنی به نام *poly comb* (group PcG) و *trxG* (tri thorax group) می‌باشد که به ترتیب در خاموشی و بیان ژن‌های مؤثر در هماتوپوئز و لوکوموزن نقش دارند (۲). ژن *ASXL1* تنظیمات اپیژنتیک و رونویسی را از طریق مهار کننده‌ها و فعال کننده‌های رونویسی و *polycomb complex protein* انجام می‌دهد. تحقیقات اخیر حاکی از ارتباط بین *ASXL1* با اجزایی از کمپلکس *Polycomb* به نام *polycomb Repressive complex* (PRC2) شامل *SUZ12*, *EZH2* می‌باشد (۳، ۴). این کمپلکس سرکوب‌گر رونویسی از طریق *trimethylation* در هیستون *H3* روی لیازین ۲۷ (*H3K27me3*) مانع از رونویسی و بیان ژن می‌شوند (۵، ۶). عدم فعالیت *ASXL1* بر اثر جهش می‌تواند مانع عملکرد کمپلکس *PRC2* و در نتیجه بیان بیش از حد برخی ژن‌ها شود و این عمل نقش مؤثری در پیدایش سلول‌های سرطانی دارد (۷). موتاسیون در این ژن اولین بار در سال ۲۰۰۹ در سندرم‌های میلودیسپلاستیک (*MDS*) گزارش شد.

موتاسیون‌ها معمولاً از نوع *nonsense* و *frame shift* بوده و گمان می‌رود که باعث نقص قسمتی از دومین پروتئینی *ASXL1* به نام دومین *PHD* شود. اکثر موتاسیون‌های *ASXL1* در بدخیمی‌های میلوئیدی در اگزون ۱۲ یافت شده‌اند (۸). شایع‌ترین موتاسیون این ژن (بیش از ۵۰٪ موارد) دو برابر شدن نوکلئوتید گوانین (*c.1934dupG*) است و باعث یک موتاسیون *frame shift* می‌شود. نتیجه آن جابه‌جایی اسید آمینه تریپتوفان با گلايسین (*P.Gly646Trp*) است (۹). موتاسیون‌های ژن *ASXL1* معمولاً هتروزیگوت‌اند و گفته می‌شود که پدیده *haplo insufficiency* فاکتور پاتولوژیک کلیدی آن می‌باشد. در واقع تحقیقات اخیر حاکی از آن است که از بین رفتن

پروتئین *ASXL1* در نمونه‌های لوسمی واجد این موتاسیون، نشان‌دهنده نوع *loss of function* آلل بیمار می‌باشد (۷). مجموعه مطالعه‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که فراوانی این جهش از درصدهای کم تا بیش از ۵۰٪ در بدخیمی‌های میلوئیدی، متفاوت بوده و در لوسمی *CMML* بیشترین فراوانی (۴۵٪) را دارد (۹). درمان نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو (*MPN*)، در میلو فیروز اولیه (*PMF*) حدود ۳۴/۵٪ و در موارد محدودی در پلی‌سایتمی اولیه (*PV*) و ترومبوسایتمی اساسی (*ET*) دیده شده است. در *AML* ثانویه (*SAML*)، بیشتر از نوع اولیه (*denovo AML*) وجود دارد (۳۰٪ در برابر ۶/۵٪) و در *MDS* دومین جهش شایع بعد از جهش *TET2* می‌باشد (۱۰). در این سندرم‌ها میزان جهش *ASXL1* در آنمی مقاوم همراه با افزایش بلاست (*RAEB*) بیشتر از انواع دیگر مانند آنمی مقاوم همراه با سیدرو بلاست حلقوی (*RARS*) است (۱۱).

تعداد زیادی از مطالعه‌های انجام شده در مورد *ASXL1*، به ارتباط جهش این ژن و سرانجام بیماری مرتبط است. در مطالعه‌ای روی *MPN* ها که بر اساس *DIPSS-plus score* (Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis) انجام گرفته، جهش در ژن *ASXL1* با حالت تهاجمی و کاهش *OS* (shorter overall survival) همراه بوده است (۱۲). در *CMML* وجود این جهش می‌تواند پیش‌بینی بر تغییر شکل بیماری به سمت وضعیت حاد *AML* باشد (۱۳). در *MDS* نیز با کاهش زمان پیشرفت به سمت *AML* و فاکتور پیش‌گویی کننده، غیر وابسته قلمداد شده است (۱۴). در *AML* به خصوص *AML* ثانویه جهش *ASXL1* دیده می‌شود که به طور مشخص با سرانجام بیماری و کاهش *OS* همراه بوده و به عنوان یک فاکتور پیش‌گویی کننده محسوب می‌شود (۱۵). در *CML* نیز در حدود ۱۵٪ موارد این جهش مشاهده شده و به عنوان یک ناهنجاری جدید در این لوسمی در نظر گرفته می‌شود (۱۶). *CML* جزو بیماری‌های *MPN* است و تقریباً ۱۵٪ لوسمی‌های تازه تشخیص داده شده در بزرگسالان را تشکیل می‌دهد. پاتوژنز اصلی، فیوزن ژن *BL* (*Abelson murine leukemia*) بر روی کروموزوم ۹ با ژن *BCR* (*breakpoint cluster region*) روی کروموزوم ۲۲

است که باعث ایجاد انکوژنی به نام BCR-ABL می‌شود (۱۷).

با توجه به این که مطالعه‌های محدودی در مورد بررسی موتاسیون‌های این ژن در بیماران CML صورت گرفته و از طرفی فاکتورهای پیش‌گویی‌کننده در این بیماران محدود به شمارش بلاست و شمارش تعداد سلول‌ها از جمله گلبول سفید و پلاکت‌ها است، لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی موتاسیون‌های ژن *ASXL1* در گروهی از بیماران تازه تشخیص CML به منظور شناسایی دیگر ناهنجاری‌های ژنی به غیر از فیوژن BCR-ABL است. در واقع بررسی این ژن می‌تواند اطلاعات کاملتری از پیش‌آگهی بیماری در زمان تشخیص به ما دهد. لازم به ذکر است مطالعه مذکور نخستین مطالعه انجام گرفته در یک جمعیت ایرانی است.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه به صورت تجربی بود. نمونه خون محیطی از ۶۶ بیمار تهیه و مراحل تشخیص CML از طریق لام خون محیطی و جستجوی ژن فیوژن BCR-ABL با روش RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction) و آغازگرهای استاندارد طبق دستورالعمل ELN (European leukemia network) در مرکز آزمایشگاهی پیوند انجام شد (جدول ۱). در مرحله بعد جستجوی موتاسیون در ژن *ASXL1* با انجام PCR بر روی DNA استخراج شده از بافی کوت بیماران صورت گرفت. آغازگر مورد استفاده Fw-*ASXL1*-Ex12 5'-5'CCA CCC TGG GTG GTT AAA G-3' و Rev-*ASXL1*-Ex12 5'TCG CTG TAG ATC TGA و CGT AC-3' طوری انتخاب شد که بتواند اکثر موتاسیون‌های ژن که در آگزون ۱۲ روی می‌دهد را شناسایی کند (۲). این آغازگر محدوده اسید آمینه ۵۷۵ تا ۶۸۷ را پوشش داده که طول محصول ۳۳۹ bp را می‌دهد.

واکنش PCR:

واکنش PCR در حضور ۲۵ mM dNTP، ۱۰ pmol Taq polymerase 1 x buffer، ۲ mM MgCl₂، primer (ژنتیو) انجام شد. همه واکنش‌ها با دمای اتصال ۵۷ درجه سانتی‌گراد و چرخه‌های دمایی به این شکل تنظیم شد: ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه؛ ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۵۷ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه برای ۴۰ چرخه واکنش؛ ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه.

سکانس DNA:

سکانس مستقیم محصول PCR با آغازگرهای رفت و برگشت (Forward and Reverse) انجام شد (ماکروژن کره). سکانس‌ها به منظور جستجوی موتاسیون با نرم‌افزار ۱/۶ Sequence Analysis (انفورماژن، آمریکا) و ۳/۲۵ Mutation Surveyor (ساخت ژنتیک، آمریکا) بررسی و موتاسیون‌ها تایید شدند. ضمناً از نظر SNP در سایت‌های NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/snp) و پروژه ۱۰۰۰ ژن (www.1000genomes.org) نیز بررسی شدند.

بررسی آماری:

رابطه بین موتاسیون با تعداد گلبول سفید (WBC) و تعداد پلاکت (PLT) و میزان هموگلوبین (Hb) و سن با استفاده از آزمون‌های آماری t independent test و اسپیرمن انجام شد که نتایج یکسانی داشتند. اختلاف فراوانی از نظر جنس نیز با آزمون کای‌دو (Chi square) بررسی شد. آزمون‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ۱۹ آنالیز شدند. اختلاف معنادار به صورت $p < 0.05$ تعیین شد. کلیه موازین اخلاقی و حذف اسرار بیماران در این مطالعه رعایت شده است.

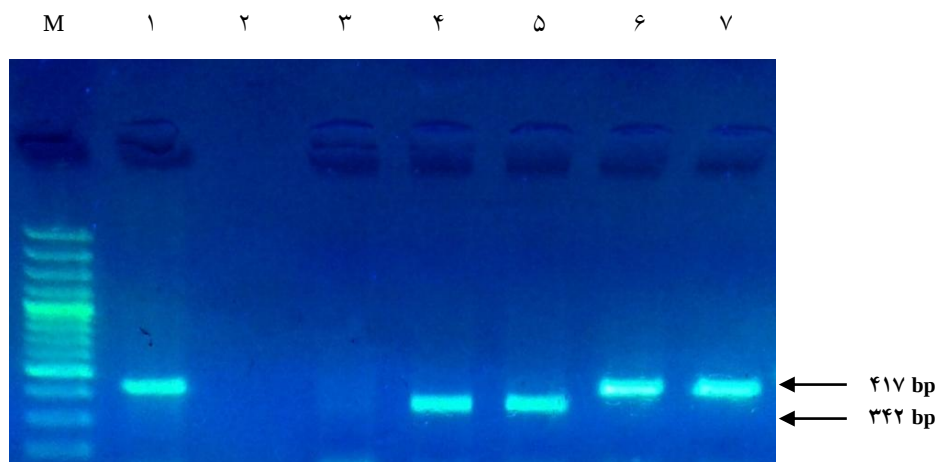
جدول ۱: آغازگرهای ژن‌های *bcr-abl*

نام ژن	توالی	اندازه محصول
ABL-a3-B	GTCTGGGCTTCACACCATTC	۴۱۷ bp یا ۳۴۲
BCR-b1-A	GAAGTGTTCAGAAGCTTCTCC	

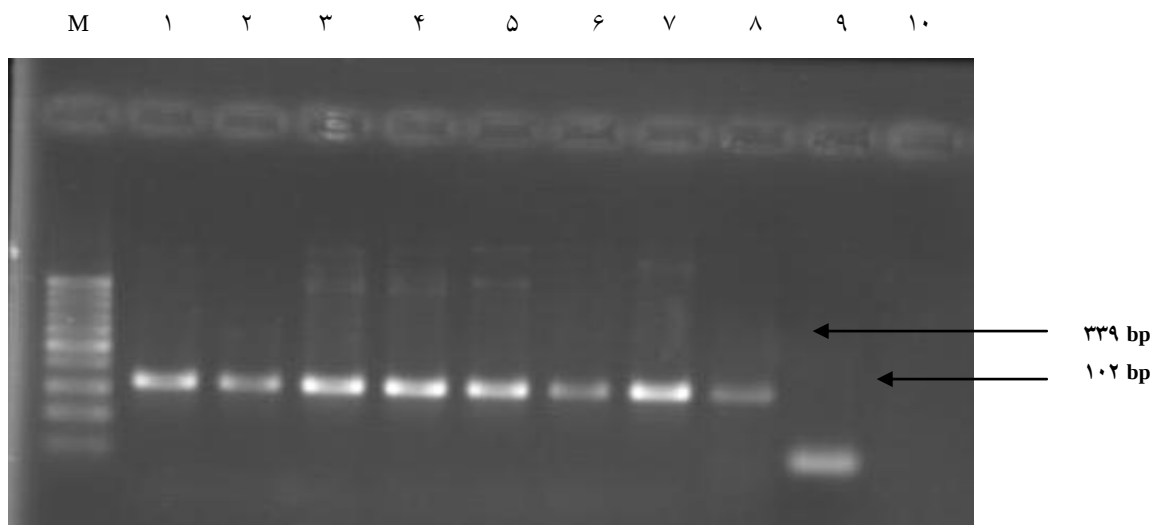
یافته‌ها

(۲) (شکل ۳). هیچ تفاوت معناداری در بیماران دارای موتاسیون و بدون موتاسیون از نظر سن، جنس و تعداد گلبول سفید ($10^9/L$) $78/280 \times 10^9/L$ در برابر $10^9/L$ $110/613$ با انحراف معیار $73/02$ ، تعداد پلاکت ($10^9/L$) $430/6 \times 10^9/L$ در برابر $337 \times 10^9/L$ و میزان هموگلوبین ($10/9$ در برابر 12 g/dL) وجود نداشت (جدول ۳، ۴ و ۵).

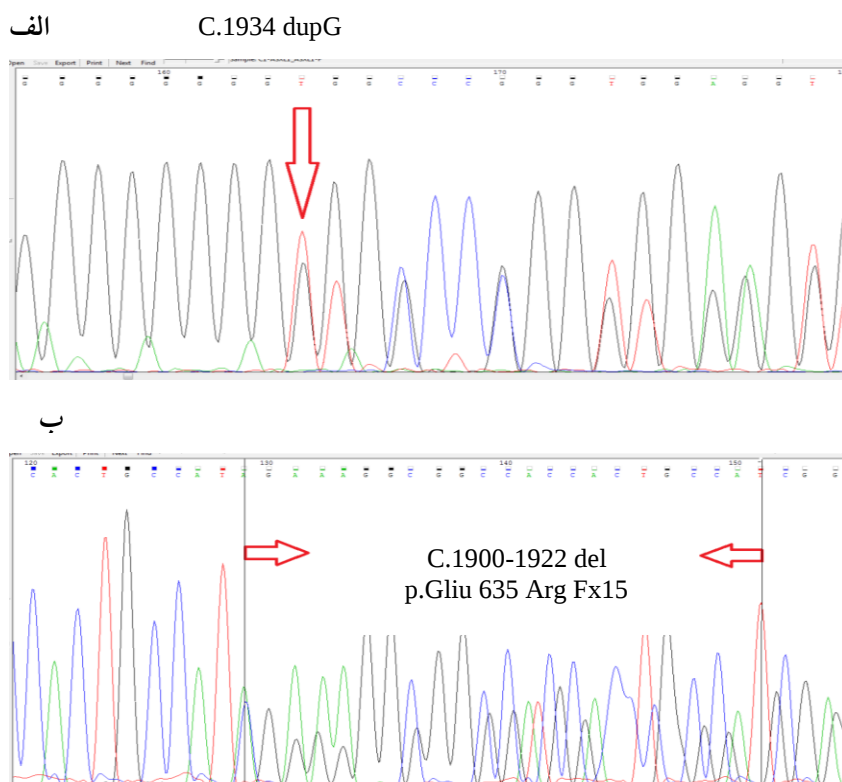
در این طرح ۶۶ بیمار مبتلا به CML شامل ۲۳ زن و ۴۳ مرد (با میانگین سنی ۴۴ سال) بررسی شدند. بررسی فیوژن ژن *bcr-abl* و نتیجه PCR و الکتروفورز ژن *ASXL1* انجام شد (شکل‌های ۱ و ۲). موتاسیون‌های ژن *ASXL1* در ۴ بیمار (۶٪) وجود داشتند. موتاسیون‌های این بیماران در سه نفر از نوع تغییر غالب (frame shift) (c.1934dupG, p.Gly646TrpfsX12) و در یک نفر از نوع حذف



شکل ۱: اتیدیوم بروماید ژل الکتروفورز واریانت‌های BCR-ABL
باند M مارکر ۱۰۰ bp. باند ۴۱۷ bp مربوط به b3a2 در شماره ۶ و ۷. باند ۳۴۲ bp مربوط به b2a2 در شماره ۴ و ۵. شماره ۲ کنترل منفی و شماره ۳ کنترل منفی واکنش PCR



شکل ۲: قطعه ۳۳۹ bp در محدوده (اسید آمینه ۵۷۵ تا ۶۸۷) از اگزون ۱۲ ژن *ASXL1*
باند M مارکر ۱۰۰ bp. شماره ۱ تا ۸ مربوط به بیماران. شماره ۹ مربوط به کنترل ژن بتاگلوبین و شماره ۱۰ کنترل منفی واکنش PCR
۳۲۷

شکل ۳: کروماتوگرام سکانس DNA ژن *ASXL1*

الف: سکانس DNA شایع‌ترین موتاسیون ژن *ASXL1* را در مطالعه حاضر نشان می‌دهد c.1934dupG (p.G646TrpfsX12) یک اضافه شدن باز گوانین در موقعیت ۱۳۹۴ است که نتیجه آن موتاسیون تغییر غالب و به دنبال آن کدون پایان و پروتئین ناقص است. ب: سکانس DNA دومین موتاسیون ژن *ASXL1* یعنی c.1900_1922del (p.Glu635ArgfsX15) باعث حذف ۲۳ نوکلئوتید و به دنبال آن رسیدن به کدون پایان و پروتئین ناقص می‌شود.

جدول ۲: خلاصه اطلاعات مربوط به بیماران دارای موتاسیون

شماره	سن/جنس	موتاسیون		WBC $\times 10^9/L$	PLT $\times 10^9/L$	Hb (g/dL)
		تغییر نوکلئوتید	تغییر اسید آمینه			
C۱	F/۷۰	c.1934dupG	p.Gly646TrpfsX12	۵۹/۸	۶۶۸	۱۰
C۸	M/۴۷	c.1900_1922del	p.Glu635ArgfsX15	۱۹۳/۳	۲۴۹	۹/۳
C۲۲	F/۶۹	c.1934dupG	p.Gly646TrpfsX12	۲۴/۲	۱۳۴	۱۰/۳
C۳۳	M/۲۴	c.1934dupG	p.Gly646TrpfsX12	۱۲/۷	۷۲۵	۱۳/۱

جدول ۳: میانگین تعداد گلبول سفید به تفکیک در افراد دارای آلل موتانت و طبیعی

نوع متغیر	میانگین	حداقل	حداکثر	SD
نوع موتانت	$78/280 \times 10^9 (L)$	$12/71 \times 10^9 (L)$	$193/3 \times 10^9 (L)$	۷۳/۰۲۲
نوع وحشی	$110/613 \times 10^9 (L)$	$4/65 \times 10^9 (L)$	$766 \times 10^9 (L)$	۱۳۹/۶۴۶

جدول ۴: میانگین میزان هموگلوبین در افراد موتانت و طبیعی

نوع متغیر	میانگین	حداقل	حداکثر	SD
نوع موتانت	۱۰/۹	۹/۳	۱۳/۱	۱/۵
نوع وحشی	۱۲/۱	۷/۷	۱۹/۴	۲

جدول ۵: میانگین تعداد پلاکت به تفکیک در افراد دارای آلل موتانت و طبیعی

تعداد پلاکت	میانگین	حداقل	حداکثر	SD
نوع موتانت	430×10^9 (L)	134×10^9 (L)	725×10^9 (L)	۲۵۸/۲۴۹
نوع وحشی	337×10^9 (L)	22×10^9 (L)	1171×10^9 (L)	۲۴۹/۵۰۱

بحث

در این مطالعه تعداد ۶۶ بیمار CML در جمعیت ایرانی جهت وجود موتاسیون ژن *ASXL1* بررسی شدند. نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که در ۶٪ بیماران CML موتاسیون ژن *ASXL1* وجود دارد. قابل توجه است که تا به حال مطالعه‌های کمی در مورد موتاسیون *ASXL1* در لوسمی CML صورت گرفته است (۱۹، ۱۸، ۱۶). در مطالعه‌ای که توسط بولتوود و همکارانش در انگلیس صورت گرفت، نشان داده شد که حدود ۶ بیمار از ۴۱ بیمار مبتلا به CML یعنی ۱۴/۶٪ بیماران این جهش را دارند (۱۷). ۵ نفر موتاسیون از نوع تغییر غالب (frame shift) و بقیه از نوع بی‌معنی (nonsense) بود. در مطالعه ماکیشیما و همکارانش روی ۵۴ بیمار CML، فقط ۲ نفر دارای موتاسیون بودند (۱۸). در مطالعه دیگر توسط کراس‌من و همکاران، موتاسیون در ۸ نفر از ۳۹ نفر مبتلا به CML در فاز بلاستیک وجود داشت (۱۹).

در مطالعه بولتوود و همکارانش، بررسی موتاسیون *ASXL1* با SNP array نشان داد که این موتاسیون هم در مرحله مزمن و هم بلاستیک وجود دارد که می‌توان از آن نتیجه گرفت که موتاسیون در این ژن به عنوان اتفاق اولیه و زمینه‌ساز دیگر جهش‌ها و پیشرفت به سوی فاز بلاستیک باشد (۱۶). در این مطالعه نیز در بیماران فاز مزمن موتاسیون دیده شد.

روش‌های بررسی این موتاسیون در تقریباً همه مطالعه‌های تکثیر قسمتی از اگزون ۱۲ که جهش‌ها در آن رخ می‌دهد (HOT spot) و سپس انجام سکانس توالی

نوکلئوتیدی برای جستجوی موتاسیون است. در این بین از روش‌های دیگر مانند روش‌های Array نیز استفاده شده است از جمله در مطالعه بولتوود و جلسی بویر که از روش‌های مبتنی بر Array هم استفاده شد اما همگی از آنالیز سکانس DNA به عنوان Gold standard نیز استفاده کردند (۱۶، ۱).

در این مطالعه، ۲ نوع موتاسیون مختلف در CML گزارش شد. یکی از آن‌ها که بیشترین فراوانی را داشت، Insertion G یا همان دو برابر شدن G (dupG 1394) است که باعث یک موتاسیون از نوع Frame shift می‌شود. در تقریباً همه مطالعه‌های گذشته در طیف‌های مختلف لوسمی‌های میلوئیدی، این موتاسیون به عنوان فراوان‌ترین نوع گزارش شده است (بیش از ۵۰٪) (۹). یک مورد از بیماران در این بررسی دارای حذف یا Deletion ۲۳ نوکلئوتیدی در موقعیت ۱۹۲۲-۱۹۰۰ و جابه‌جایی در اسید آمینه ۶۳۵ گلوتامیک اسید با آرژنین p.Glu635ArgfsX15 بود. در مقاله مروری جلسی بویر و یا در بررسی بیماران AML توسط مارتا پراتکورو و همکاران، این حذف ۲۳ نوکلئوتیدی به عنوان دومین نوع شایع موتاسیون مطرح شده است (۹، ۲).

در این مطالعه ارتباط بین موتاسیون با برخی از متغیرها از جمله جنسیت، سن، تعداد گلبول سفید، تعداد پلاکت و میزان هموگلوبین بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که در هیچ یک از موارد، متغیرهای مستقل رابطه‌ای با وجود موتاسیون ندارد. در مطالعه‌ای توسط چوو و همکاران بر روی ۵۰۱ بیمار Denovo AML که تعداد ۵۴ نفر از آن‌ها

ارتباط این موتاسیون با مشخصات بیمار در این لوسمی هنوز نامشخص می‌باشد. اما با توجه به فراوانی آن در این مطالعه و مطالعه‌های قبل، می‌توان آن را به عنوان یک ناهنجاری ژنی در CML قلمداد کرد که می‌تواند همراه با تغییرات ژنی دیگر باعث به وجود آمدن یا تغییر شکل و یا پیشرفت آن شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب مرکز تحقیقات انتقال خون، مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون وابسته به سازمان انتقال خون ایران می‌باشد. بدین وسیله از کلیه همکاران مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون که در انجام این پایان‌نامه ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نماییم.

موتاسیون داشتند، مشخص شد که موتاسیون این ژن رابطه نزدیکی با سن بالاتر و جنس مرد دارد. در ضمن هیچ ارتباطی با Hb، WBC و تعداد پلاکت در بیماران دارای موتاسیون وجود نداشت (۲۰). در بررسی دیگر روی بیماران MRC-AML (Myelodysplastic relate change) مشخص شد موتاسیون با افزایش سن از شیوع بالاتری برخوردار است (۲۱). در مطالعه دیگر روی ۸۲ بیمار AML که از بین آن‌ها ۴۶ بیمار دچار موتاسیون بودند، افراد دارای موتاسیون ژن *ASXL1* سن بالاتر و تعداد WBC کمتری در مقایسه با افراد بدون موتاسیون داشتند (۲).

نتیجه‌گیری

مطالعه این ژن به تعداد محدودی در مورد CML صورت گرفته است و میزان دقیق این جهش و هم چنین

References:

- Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adelaide J, Bonanza J, Carver N, Carbuca N, *et al.* Mutations of polycomb-associated gene *ASXL1* in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2009; 145(6): 788-800.
- Pratcorona M, Abbas S, Sanders M, Koenders J, Kavelaars F, Erpelinck-Verschueren CA, *et al.* Acquired mutations in *ASXL1* in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Haematologica* 2012; 97(3): 388-92.
- Aravind L, Iyer LM. The HARE-HTH and associated domains: Novel modules in the coordination of epigenetic DNA and protein modifications. *Cell Cycle* 2012; 11(1): 119-31.
- Scheuermann JC, de Ayala Alonso AG, Oktaba K, Ly-Hartig N, McGinty RK, Fraterman S, *et al.* Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature* 2010; 465(7295): 243-7.
- Ernst T, Chase AJ, Score J, Hidalgo-Curtis CE, Bryant C, Jones AV, *et al.* Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene *EZH2* in myeloid disorders. *Nat Genet* 2010; 42(8): 722-6.
- Score J, Hidalgo-Curtis C, Jones AV, Winkelmann N, Skinner A, Ward D, *et al.* Inactivation of polycomb repressive complex 2 components in myeloproliferative and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2012; 119(5): 1208-13.
- Abdel-Wahab O, Adli M, LaFave LM, Gao J, Hricik T, Shih AH, *et al.* *ASXL1* mutations promote myeloid transformation through inhibition of PRC2-mediated gene repression. *Cancer Cell* 2012; 22(2): 180-93.
- Abdel-Wahab O, Pardanani A, Patel J, Wadleigh M, Lasho T, Heguy A, *et al.* Concomitant analysis of *EZH2* and *ASXL1* mutations in myelofibrosis, chronic myelomonocytic leukemia and blast-phase myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2011; 25(7): 1200-2.
- Gelsi-Boyer V, Brecqueville M, Devillier R, Murati A, Mozziconacci MJ, Birnbaum D. Mutations in *ASXL1* are associated with poor prognosis across the spectrum of malignant myeloid diseases. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 12.
- Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, *et al.* Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011; 364(26): 2496-506.
- Rocquain J, Carbuca N, Trouplin V, Raynaud S, Murati A, Nezri M, *et al.* Combined mutations of *asxl1*, *cbl*, *flt3*, *idh1*, *idh2*, *jak2*, *kras*, *npm1*, *nras*, *runx1*, *tet2* and *wt1* genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemias. *BMC Cancer* 2010; 10: 401.
- Brecqueville M, Rey J, Bertucci F, Coppin E, Finetti P, Carbuca N, *et al.* Mutation analysis of *ASXL1*, *CBL*, *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *MPL*, *NF1*, *SF3B1*, *SUZ12*, and *TET2* in myeloproliferative neoplasms. *Genes Chromosomes Cancer* 2012; 51(8): 743-55.
- Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Roquain J, Adélaïde J, Carbuca N, Esterni B, *et al.* *ASXL1* mutation is associated with poor prognosis and acute transformation in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010; 151(47): 365-75.

- 14- Thol F, Friesen I, Damm F, Yun H, Weissinger EM, Krauter J, *et al.* Prognostic significance of ASXL1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011; 29(18): 2499-506.
- 15- Schnittger S, Eder C, Jeromin S, Alpermann T, Fasan A, Grossmann V, *et al.* ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* 2013; 27(1): 82-91.
- 16- Boultonwood J, Perry J, Zaman R, Fernandez-Santamaria C, Littlewood T, Kusec R, *et al.* High-density single nucleotide polymorphism array analysis and ASXL1 gene mutation screening in chronic myeloid leukemia during disease progression. *Leukemia* 2010; 24(6): 1139-45.
- 17- Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am J Hematol* 2014; 89(5): 547-56.
- 18- Makishima H, Jankowska AM, McDevitt MA, O'Keefe C, Dujardin S, Cazzolli H, *et al.* CBL, CBLB, TET2, ASXL1, and IDH1/2 mutations and additional chromosomal aberrations constitute molecular events in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 2011; 117(21): e198-206.
- 19- Grossmann V, Kohlmann A, Zenger M, Schindela S, Eder C, Weissmann S, *et al.* A deep-sequencing study of chronic myeloid leukemia patients in blast crisis (BC-CML) detects mutations in 76.9 % of cases. *Leukemia* 2011; 25(3): 557-60.
- 20- Chou WC, Huang HH, Hou HA, Chen CY, Tang JL, Yao M, *et al.* Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like mutations. *Blood* 2011; 116(20): 4086-94.
- 21- Devillier R, Gelsi-Boyer V, Brecqueville M, Carbuccia N, Murati A, Vey N, *et al.* Acute myeloid leukemia with myelodysplasia-related changes are characterized by a specific molecular pattern with high frequency of ASXL1 mutations. *Am J Hematol* 2012; 87(7): 659-62.

Original Article

Study of ASXL1 gene mutation in Chronic Myelogenous Leukemia

Valikhani A.¹, Rezaei M.S.², Alaei M.¹, Poopak B.³, Amirizade N.¹, Ahmadi M.H.¹

¹Blood Transfusion Research Center, High Institute for research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran

²Virology Research Center, National Research Institute of Tuberculosis and Lung Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Department of Hematology, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

ASXL1 gene has been recently considered as an important mutant gene in myeloid leukemias including Chronic Myelogenous Leukemia(CML). Mutation in this gene is associated with disease aggressiveness and poor clinical outcome, so its evaluation would guide us to remarkable conclusions in estimating disease prognosis. Considering that there are only a few known prognostic factors for CML and that the study of this gene has never been accomplished in Iranian population, we decided to study this mutation in our CML patients.

Materials and Methods

In this experimental study 66 diagnosed CML patients were evaluated for the presence of ASXL1 mutation. For this reason a portion of exon 12 from ASXL1 gene(site that most mutations take place at), was amplified. This area was further studied by nucleotide sequencing.

Results

Mutations in ASXL1 were detected in 4 CML patients(2 men and 2 women) with mean age of 44 years and SD of 17.85(6%) . Mutations were of two different types including frame shift mutation(c.1394DupG) and deletion(1900-1922del) and both were reported in previous studies. No significant difference was detected in patients with and without mutations, according to sex, age, WBC count, Platelet count and Hemoglobin levels.

Conclusions

ASXL1 gene mutation is considered as a genetic abnormality in CML. According to the presence of this mutation in our patients at the time of diagnosis, it could be regarded as one of the primary genetic distortions in CML.

Key words: ASXL1 protein, human, Mutation , Leukemia

Received: 27 Jul 2015

Accepted: 14 Aug 2016

Correspondence: Alaei M., MD. Pathologist. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine.

P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 82052105; Fax: (+9821) 88601599

E-mail: alaeimastaneh@hotmail.com