

· 短篇及病例报道 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.17.031

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230831.1857.004\(2023-09-01\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230831.1857.004(2023-09-01))

骨髓增殖性肿瘤 JAK2 基因和 CALR 基因突变双表达 3 例并文献复习*

蒋玲琳¹, 李曼倩², 常银银², 侯宇¹, 黄兴琴^{1△}

(1. 陆军军医大学第一附属医院血液科, 重庆 400038; 2. 郑州远止生物研究院, 郑州 451162)

[关键词] 骨髓增殖性肿瘤; JAK 激酶 2; 骨髓增生性白血病基因; 基因突变

[中图分类号] R733.3 [文献标识码] B [文章编号] 1671-8348(2023)17-2713-04

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)是由造血干细胞异常导致的一类恶性克隆性疾病,主要在血细胞的形态、数量上表现出异常,并且在一定程度上还会引起出血、血栓及脾肿大等并发症^[1-2]。目前临床上 MPN 多指 Ph 染色体阴性的原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)、真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)3 种疾病。其中,最常见的 3 种驱动基因是 JAK 激酶 2(Janus kinase 2, JAK2)基因、骨髓增生性白血病基因(calreticulin, CALR)和钙网蛋白(myeloproliferative leukemia virus oncogene, MPL)基因^[3-4]。国内外多项研究表明,这 3 种驱动基因对于 MPN 有十分重要的临床意义,包括:辅助诊断、指导治疗和预后判断^[5-6],并且在 MPN 还观察到驱动基因双突变的患者^[7],但是目前国内对于 JAK2 基因 V617 突变和 CALR 基因突变双表达的病例报道较少,现对陆军军医大学第一附属医院血液科收治的 3 例 JAK2 基因 V617 突变和 CALR 基因突变双表达的 MPN 患者进行报道[本研究经本院伦理委员会审核通过,批件号:(B)KY2022143],通过结合相关文献复习,为临床提供参考。

1 临床资料

病例 1,男,80 岁,因“血小板升高”于 2022 年 6 月 1 日就诊于陆军军医大学第一附属医院,伴随房颤,主动脉瓣关闭不全,心功能不全。门诊血常规检查结果:白细胞计数(white blood cell, WBC)7.39 × 10⁹/L,血红蛋白(hemoglobin, Hb)118 g/L,红细胞计数(red blood cell, RBC)4.03 × 10¹²/L,血小板计数(platelet, PLT)761 × 10⁹/L。骨髓形态显示:骨髓增生活跃;粒系增生活跃,各阶段细胞形态大致正常;红系增生活跃,以中晚幼红细胞增生为主,形态大致正常,成熟红细胞形态大致正常;淋巴细胞占 16%,形态

大致正常;全片见巨核细胞 252 个,血小板成堆易见(图 1A)。外周血显示:单核细胞比例增高,成熟红细胞大小不等;血小板增多,成堆易见。骨髓活检显示:骨髓造血组织增生活跃,脂肪组织可见;粒系增生活跃,原始幼稚前体细胞散在可见,各阶段细胞形态、分布正常;红系增生活跃,可见幼红细胞簇,见于骨小梁间区;巨核细胞系增生活跃,胞体大小不一,可见巨大或多分叶巨核细胞,呈散在或松散簇状分布,未见紧密成簇现象;纤维组织增生(图 2A、D),MF0 级,考虑 ET,而非纤维化前的 PMF(pre-PMF)。实时荧光定量逆转录 PCR(realtime fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)检测发现 JAK2 基因 V617 和 CALR K358fs * 47 基因突变阳性。RT-qPCR 检测 BCR-ABL1 融合基因均呈阴性表达。结合 WHO 2016 诊断标准综合诊断为 ET。因患者有严重心脏疾病,不适用干扰素,后期采用羟基脲片进行治疗。2022 年 10 月 12 日血常规结果为:PLT 734 × 10⁹/L,血小板水平没有降低,并且无血栓发生。

病例 2,男,47 岁,血小板进行性升高 1 年余。于 2021 年 11 月 12 日就诊于陆军军医大学第一附属医院,血常规检查:WBC 10.51 × 10⁹/L, Hb 120 g/L, PLT 800 × 10⁹/L。骨髓像显示:骨髓增生活跃;粒系增生活跃,各阶段细胞形态大致正常;红系增生活跃,以中晚幼红细胞为主,形态大致正常,成熟红细胞形态大致正常;淋巴细胞占 29%,形态大致正常;全片见巨核细胞 17 个,产板型巨核细胞产血小板丰富,可见巨大及核分叶过多巨核细胞,血小板增多,成堆易见(图 1B)。外周血显示:白细胞分类正常,成熟红细胞大致正常,血小板成大簇易见。骨髓活检显示:骨髓造血组织增生活跃,脂肪组织可见;粒系增生活跃,原始及幼稚前体细胞散在可见,各阶段细胞形态、分布未见异常;红系增生活跃,幼红细胞簇可见,位于骨小梁间区;巨核细胞系增生明显,胞体大小不等,可见多

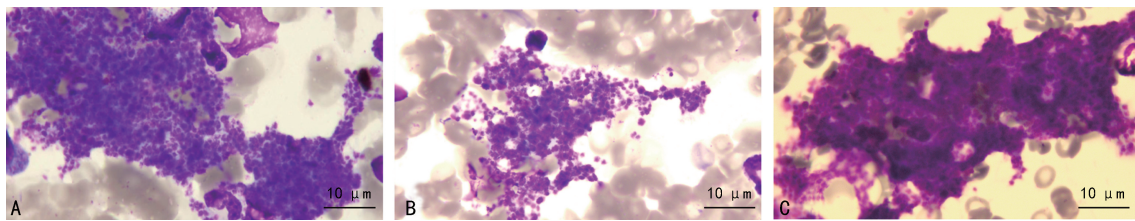
* 基金项目:国家自然科学基金项目(81970100)。 作者简介:蒋玲琳(1985—),主管技师,学士,主要从事血液病诊断与鉴别诊断研究。

△ 通信作者, E-mail:9085696@qq.com。

形性改变,以巨大或多分叶核巨核细胞为主,呈散在或松散簇状分布,未见紧密成簇现象(图 2B、E),MF1 级,考虑 ET,而非 pre-PMF。RT-qPCR 检测发现 JAK2 基因 V617 和 CALR L367fs * 46 基因突变阳性。RT-qPCR 检测 BCR-ABL1 融合基因均呈阴性表达。结合 WHO 2016 诊断标准综合诊断为 ET。该患者后期采用干扰素进行治疗。2022 年 7 月 20 日血常规结果为:PLT $400 \times 10^9/L$,血小板水平降低,无血栓临床表现。

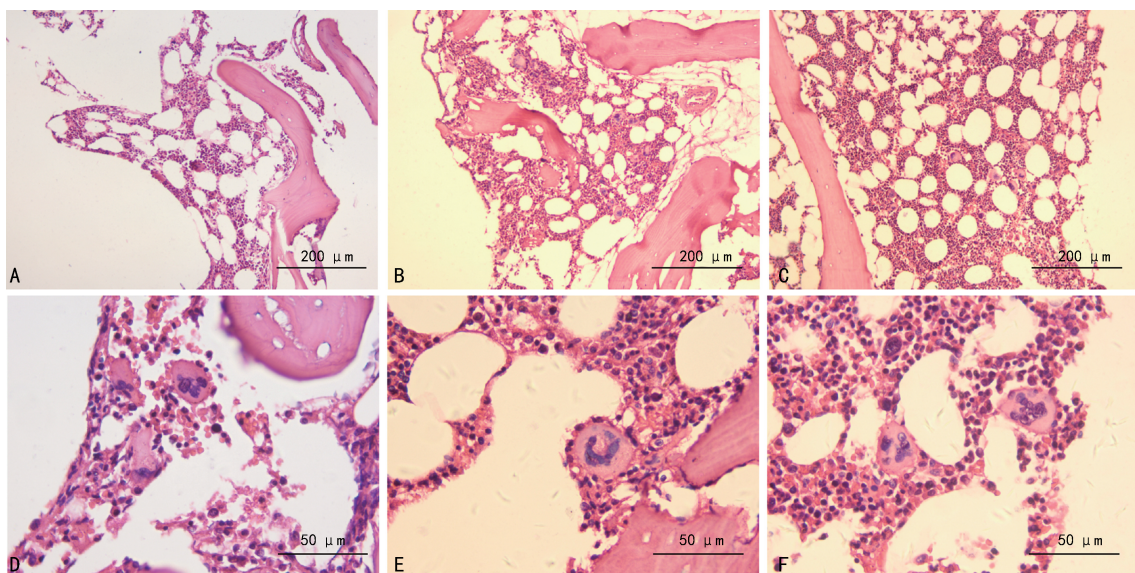
病例 3,男,67 岁,血小板进行性升高 2 年。于 2019 年 7 月 23 日就诊于陆军军医大学第一附属医院。患者 10 年前出现脑出血、心肌梗死,5 年前安装冠心病支架。血常规检查:WBC $5.37 \times 10^9/L$,Hb 131 g/L,PLT $501 \times 10^9/L$ 。骨髓像显示:骨髓增生活跃;粒系增生活跃,主要为成熟阶段的细胞,各个阶段的细胞形态大致正常;红系增生尚可,以晚幼红细胞为主,形态大致正常,成熟红细胞形态大致正常;淋巴

细胞占 17%,形态大致正常;全片见巨核细胞 42 个,产板型巨核细胞产血小板丰富,血小板增多,成堆易见(图 1C)。外周血显示:白细胞分类形态正常,成熟红细胞形态正常,血小板成簇易见。骨髓活检显示:骨髓造血组织增生明显活跃,粒系增生活跃,形态未见明显异常;红系增生活跃,形态未见明显异常,巨核细胞系增生明显,胞体大小不等,呈多形性改变,可见低分叶核巨核细胞、巨大及多分叶核巨核细胞,亦可见巨核细胞成簇分布,但细胞间隔松散,纤维组织轻度增生(图 2C、F),考虑 ET,而非 pre-PMF。通过 RT-qPCR 检测发现 JAK2 基因 V617 和 CALR L367fs * 46 基因突变阳性,RT-qPCR 检测 BCR-ABL1 融合基因呈阴性表达。结合 WHO 2016 诊断标准综合诊断为 ET。该患者后期采用抗凝药+干扰素进行治疗。2022 年 10 月 12 日血常规结果为:PLT $316 \times 10^9/L$,血小板水平降低,并且无血栓发生。



A、B、C:病例 1、2、3 的骨髓象。

图 1 3 例 MPN 患者骨髓细胞形态学结果



A、D:病例 1;B、E:病例 2;C、F:病例 3。

图 2 3 例 MPN 患者骨髓活检结果(石蜡包埋,HE 染色)

2 讨 论

在 WHO 2016 髓系/淋巴系肿瘤分类共识中,髓系肿瘤 JAK2 基因、CALR 和 MPL 基因发生的异常是 ET、PV 和 PMF 3 种疾病的主要诊断标准之一^[3]。在 MPN 中,JAK2 基因 V617 突变发生率 $>50\%$ ^[8],JAK2 基因 N542、E543 突变发生率为 15% ^[9],而 CALR

L367fs * 46 突变发生率为 13% ^[10]。KLAMPFL 等^[11]对 JAK2 基因 V617 和 MPL 基因突变阴性的患者进行全外显子测序,结果显示:部分患者检测到 CALR 基因突变,他们认为 JAK2 基因、CALR 和 MPL 基因这 3 个基因突变是互相排斥,独立发生的。但是,后来有研究证明,MPN 患者存在 JAK2 基因 V617 和

CALR 基因突变双表达的情况^[12]。另外, NUNES 等^[13]通过对 65 例 MPN 患者的基因突变进行分析, 发现 JAK2 基因 V617、CALR 和 MPL 基因突变可以同时发生。但是, 同时出现 JAK2 基因 V617 和 CALR 基因突变是罕见的, 发生频率低于 1%^[14]。YANG^[15]认为, JAK2 基因和 CALR 基因突变双表达的原因可能有多种, 如患者的生活环境、生活方式等。

目前报道显示, 基因突变类型的不同是导致 JAK2 基因和 CALR 基因突变双表达出现差异的主要原因。在这 3 例患者中, JAK2 基因突变类型均为 JAK2 基因 V617, CALR 则有 CALR K358fs * 47 和 CALR L367fs * 46 两种类型, 并且这 3 例患者均为 ET 患者, 说明在 ET 患者中可能更容易出现 JAK2 基因 V617 和 CALR 基因突变双表达。与 JAK2 基因 V617F 野生型患者相比, JAK2 基因 V617F 突变的患者年龄更大, 表现出更高的 Hb 水平和 WBC, 而表达 CALR 突变的患者却表现出更低的 Hb 水平和 WBC, 以及更高的 PLT 和血清促红细胞生成素水平^[16-17]。有研究发现, 当 JAK2 基因 V617F 和 CALR 共突变时, 患者表现出更高的 WBC 和 PLT^[15]。而这 3 例患者确实存在 PLT 升高的现象。

JAK2 基因和 CALR 基因突变对于 MPN 患者的预后有明显影响, 有研究者发现, 当 MPN 患者发生 JAK2 基因 V617 突变时, 更容易发生脑血管疾病和血栓事件^[18-19]。同时, 在 PMF 预后积分系统 MIPSS70 和 MIPSS70 plus 中提出 CALR 基因突变的发生代表预后不良^[20-21], 并且, 出现 CALR 突变时发生血栓的风险低于出现 JAK2 基因 V617 突变^[17]。LIM 等^[22]通过对 92 例 ET 患者进行综合分析发现, JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变的 ET 患者年龄相对偏大, 且有较高的血栓事件发生率, 预后不良。另外, 也有文献报道 JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变的 MPN 患者无出血、血栓形成或任何其他闭塞症状^[12, 23]。经过随访发现本文中 3 例患者均未发生血栓。

JAK2 作为细胞质酪氨酸激酶, 在多种造血生长因子受体信号转导过程中发挥关键作用。受体信号转导起始于 JAK, 然后通过激活 JAK-信号转导和转录激活子(STAT)信号通路, 来促进基因转录和翻译, 从而导致生长增殖相关基因表达上调^[24]。而针对 JAK2 基因突变, 目前存在一些靶向药物, 通过抑制 JAK2-STAT 信号通路的异常激活来治疗 MPN 患者^[25]。并且, KLAMPFL 等^[11]研究发现, 在信号转导和激活 STAT 信号通路中, CALR 基因突变可能具有与 JAK2 基因突变相似的功能。PASSAMONTI 等^[26]对 CALR 突变的 2 例 PMF 患者给予 JAK2 抑制剂治疗, 发现这 2 例患者脾脏大小均较原来缩小 50%, 表明 CALR 突变患者使用 JAK2 抑制剂治疗效果良好。XU 等^[12]发现, 对 JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变的患

者采用干扰素治疗效果较好。本文中病例 1 由于严重心脏疾病, 没有采用干扰素治疗, 患者治疗后血小板水平未降低, 疗效不好; 而病例 2 和病例 3 均采用干扰素进行治疗, 疗效好且没有发生血栓等并发症, 与文献报道一致。

综上所述, JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变在大多数病例中是相互独立的, 共同突变仍只发生在少见病例中。通过检测 JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变可以为临床诊断提供重要依据, 并可根据其突变类型评估疾病的并发症、预后及选择合理的治疗方案。但是, 对于 JAK2 基因 V617 和 CALR 共突变的分子机制和临床意义仍不明确, 还需要更多研究不断探索。

参考文献

- [1] ROSS C, SHARMA M, PAUL J, et al. Microarray analysis reveals distinct immune signatures in BCR-ABL positive and negative myeloproliferative neoplasms [J/OL]. *Indian J Cancer*. (2021-01-27) [2022-08-21]. https://dx.doi.org/10.4103/ijc.IJC_21_20.
- [2] GREENFIELD G, MCMULLIN M F, MILLS K. Molecular pathogenesis of the myeloproliferative neoplasms [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14 (1):103.
- [3] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. *Blood*, 2016, 127 (20): 2391-2405.
- [4] TEFFERI A, PARDANANI A. Myeloproliferative neoplasms: a contemporary review [J]. *JAMA Oncol*, 2015, 1 (1):97-105.
- [5] TEFFERI A, NICOLOSI M, MUDIREDDY M, et al. Driver mutations and prognosis in primary myelofibrosis: Mayo-Careggi MPN Alliance study of 1 095 patients [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (3):348-355.
- [6] 余延芳, 王明迪, 黄燕华, 等. 骨髓增殖性肿瘤患者卒中的临床特点和危险因素分析 [J]. *血栓与止血学*, 2021, 27 (5):721-724.
- [7] BODDU P, CHIHARA D, MASAROVA L, et al. The co-occurrence of driver mutations in chronic myeloproliferative neoplasms [J]. *Ann Hematol*, 2018, 97 (11):2071-2080.
- [8] JEROMIN S, HAFERLACH T, WEISSMANN S, et al. Refractory anemia with ring sideroblasts and marked thrombocytosis cases har-

- bor mutations in SF3B1 or other spliceosome genes accompanied by JAK2V617F and ASXL1 mutations[J]. *Haematologica*, 2015, 100(4): e125-127.
- [9] 王婕妤, 艾晓菲, 徐俊卿, 等. Ph 染色体阴性骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2 基因第 12 外显子突变研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(9): 705-709.
- [10] CHRISTOPEIT M, BADBARAN A, ALAWI M, et al. Clonal evolution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: the case of myelofibrosis[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2020, 26(7): e167-170.
- [11] KLAMPFL T, GISSLINGER H, HARUTYUNYAN A S, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(25): 2379-2390.
- [12] XU N, DING L, YIN C, et al. A report on the co-occurrence of JAK2V617F and CALR mutations in myeloproliferative neoplasm patients [J]. *Ann Hematol*, 2015, 94(5): 865-867.
- [13] NUNES D P, LIMA L T, CHAUFFAILLEM DE L, et al. CALR mutations screening in wild type JAK2(V617F) and MPL(W515K/L) Brazilian myeloproliferative neoplasm patients[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2015, 55(3): 236-240.
- [14] RASHID M, AHMED R Z, AHMED S, et al. Coexisting JAK2V617F and CALR exon 9 mutation in essential thrombocythemia[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2016, 32(Suppl. 1): 112-116.
- [15] YANG H S. Coexistence of lymphoproliferative and myeloproliferative neoplasms with simultaneous CALR and JAK2 V617F mutations[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17(4): 383-389.
- [16] RUMI E, PIETRA D, FERRETTI V, et al. JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes [J]. *Blood*, 2014, 123(10): 1544-1551.
- [17] KANG M G, CHOI H W, LEE J H, et al. Coexistence of JAK2 and CALR mutations and their clinical implications in patients with essential thrombocythemia[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35): 57036-57049.
- [18] 郭慧梅, 贺建辉, 李云鹏, 等. 骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2 V617F 突变和脑血管事件的相关性研究[J]. *医学研究与教育*, 2014, 31(6): 28-30.
- [19] ZULKEFLEE R H, ZULKAFI Z, JOHAN M F, et al. Clinical and laboratory features of JAK2 V617F, CALR, and MPL mutations in Malaysian patients with classical myeloproliferative neoplasm (MPN)[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(14): 7582.
- [20] GUGLIELMELLI P, LASHO T L, ROTUNNO G, et al. MIPSS70: mutation-enhanced international prognostic score system for transplantation-age patients with primary myelofibrosis [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(4): 310-318.
- [21] TEFFERI A, GUGLIELMELLI P, LASHO T L, et al. MIPSS70 + version 2. 0: mutation and karyotype-enhanced international prognostic scoring system for primary myelofibrosis[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(17): 1769-1770.
- [22] LIM K H, CHANG Y C, GON-SHEN CHEN C, et al. Frequent CALR exon 9 alterations in JAK2 V617F-mutated essential thrombocythemia detected by high-resolution melting analysis[J]. *Blood Cancer J*, 2015, 5(3): e295.
- [23] MCGAFFIN G, HARPER K, STIRLING D, et al. JAK2 V617F and CALR mutations are not mutually exclusive; findings from retrospective analysis of a small patient cohort [J]. *Br J Haematol*, 2014, 167(2): 276-278.
- [24] 尹春荣, 翁巍, 侯海珠, 等. JAK2V617F 基因突变与 BCR/ABL 阴性骨髓增殖性肿瘤的临床相关性分析[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(8): 1299-1301.
- [25] 胡敏, 史高娜, 石建功, 等. JAK2 抑制剂治疗骨髓增殖性肿瘤研究进展[J]. *药学学报*, 2019, 54(6): 971-977.
- [26] PASSAMONTI F, CARAMAZZA D, MAFFIOLI M. JAK inhibitor in CALR-mutant myelofibrosis[J]. *N Engl J Med*, 2014, 370(12): 1168-1169.

(收稿日期: 2023-01-18 修回日期: 2023-05-22)

(编辑: 冯甜)