

骨髓增殖性肿瘤患者外周血单个核细胞 JAK2-V617F 基因突变与血栓事件发生相关性分析*

郭晓波¹, 杨 乐¹, 闫抗抗¹, 杨瑞利², 蔺 京¹

(1. 西安市中心医院, 西安 710003; 2. 西安长安医院检验科, 西安 710016)

摘要:目的 研究骨髓增殖性肿瘤(MPN)患者外周血单个核细胞 JAK2-V617F 基因突变与血栓事件发生的相关性。方法 对 391 例 MPN 患者进行血栓事件调查, 同时采用实时荧光定量聚合酶链反应(QRT-PCR)法对患者外周血进行 JAK2-V617F 检测分析。结果 391 例 MPN 患者中发现 105 例存在血栓性事件(发生率 26.9%), 273 例 JAK2-V617F 阳性患者中 84 例发生血栓事件(30.8%), 118 例 JAK2-V617F 阴性患者 21 例发生血栓事件(17.8%), 组间差异有统计学意义($\chi^2=32.30, P<0.01$)。真性红细胞增多症(PV)组中, JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 45 例, 发生率为 29.2% (45/154), 阴性患者发生血栓事件 6 例, 发生率为 42.9% (6/14), 组间差异无统计学意义($\chi^2=2.13, P>0.05$); 原发性血小板增多症(ET)组中, JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 18 例, 发生率为 32.2% (18/56), 阴性患者发生血栓事件 9 例, 发生率为 15.8% (9/57), 组间差异有统计学意义($\chi^2=12.32, P<0.01$); 原发性骨髓纤维化(PMF)组中, JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 21 例, 发生率为 33.3% (21/63), 阴性患者发生血栓事件 6 例, 发生率为 12.8% (6/47), 组间差异有统计学意义($\chi^2=14.32, P<0.01$)。结论 MPN 患者血栓事件与 JAK2-V617F 之间存在相关性, JAK2-V617F 阳性的 MPN 患者更易发生血栓事件, 尤其是 ET 和 PMF 患者。

关键词: JAK2-V617F; 骨髓增殖性肿瘤(MPN); 基因

中图分类号: R733.3; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)02-143-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.02.040

Relationship between JAK2-V617F Gene Mutation in Peripheral Blood Mononuclear Cells and Thrombotic Events in Patients with Myeloproliferative Neoplasms

GUO Xiao-bo¹, YANG Le¹, YAN Kang-kang¹, YANG Rui-li², LIN Jing¹

(1. Xi'an Central Hospital, Xi'an 710003, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Chang'an Hospital in Xi'an, Xi'an 710016, China)

Abstract: Objective To analyze the correlation between mutation in JAK2-V617F gene in peripheral blood mononuclear cells and thrombotic events in patients with myeloproliferative. **Methods** Investigation of thrombosis in 391 patients with MPN, using QRT-PCR to detect JAK2-V617F gene mutation in peripheral blood of patients. **Result** 105 cases of thrombotic events in 391 MPN patients (26.9%), 84 cases of thrombotic events in 273 JAK2-V617F gene mutation positive patients (30.8%), however, 21 cases of thrombotic events in 118 JAK2-V617F gene mutation negative patients (17.8%). The difference between the two groups was statistically significant ($\chi^2=32.30, P<0.01$). In the PV group, 45 cases of thrombosis events in JAK2-V617F positive patients (29.2%), 6 cases of thrombosis events in JAK2-V617F negative patients (42.9%), there was significant difference between the two groups ($\chi^2=2.13, P>0.05$). In the ET group, 18 cases of thrombosis events in JAK2-V617F positive patients (32.2%), 9 cases of thrombosis events in JAK2-V617F negative patients (15.8%), there was significant difference between the two groups ($\chi^2=12.32, P<0.01$). In the PMF group, 21 cases of thrombosis events in JAK2-V617F positive patients (33.3%), 6 cases of thrombosis events in JAK2-V617F negative patients (12.8%), there was significant difference between the two groups ($\chi^2=14.32, P<0.01$). **Conclusion** JAK2-V617F positive MPN patients were more susceptible to thrombotic events especially in patients with ET and PMF.

Keywords: JAK2-V617F; myeloproliferative neoplasms(MPN); gene

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)是一组克隆性造血干细胞疾病,其特点是骨髓某系细胞恶性增殖为主伴有其他系造血细胞不同程度受累,最终导致骨髓衰竭。临床以

真性红细胞增多症(PV),原发性血小板增多症(ET),原发性骨髓纤维化(PMF)等最为多见^[1]。此类患者外周血中的细胞过度增殖,引起血液粘稠、淤滞,血栓事件是此类患者出现并发症以及导

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目资助(71603199)。

作者简介:郭晓波(1981—),男,硕士,主管检验师,主要研究方向:血液病的实验室诊断, E-mail: guoxiaobo.2007@163.com。

通讯作者:蔺 京(1980—),女,本科,主管护师,主要研究方向:临床护理, E-mail: 258332579@qq.com。

致其死亡的最主要原因之一。多年前研究者发现 MPN 患者存在 JAK2-V617F 突变^[2],本研究主要对 MPN 患者血栓事件和 JAK2-V617 突变进行调查测定,分析二者之间的相关性,为临床诊疗提供重要依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象 391 例 MPN 患者为 2012 年 8 月~2015 年 12 月西安市中心医院血研所住院收治的患者,其中男性 195 例,年龄为 14~70 岁,中位年龄 55 岁;女性 196 例,年龄为 18~61 岁,中位年龄 50 岁。以上所有病例的诊断均符合 2016 年 WHO 修订的新的骨髓增殖性肿瘤的分类和诊断标准^[3]。

1.2 仪器与试剂 JAK2-V617F 检测采用美国伯乐 CFX96 实时荧光定量 PCR 仪,总 RNA 提取试剂盒来自天根生化科技有限公司,融合基因试剂盒(JAK2-V617F)购自上海之江生物科技股份有限公司。

1.3 检测方法

1.3.1 JAK2-V617F 融合基因标本采集和检测:抽取患者静脉血 5 ml 加入一次性含 EDTA-K₂ 抗凝剂的试管中,混匀,尽快进行白细胞分离。—80℃冰箱保存。每收集 40 份标本,进行 PCR 测定,重复测定三次,三次结果一致为最终结果。阴性结果为仪器 FAM 通道 Ct 栏显示 UNDET、阈值栏显示 N/A,阳性结果应为 Ct 值≤35,否则视实验无效。

1.3.2 血栓性事件既往病史调查:详细询问并记录患者既往有无心脏血栓性疾病,包括心绞痛、心肌梗死,以及出现 MPN 拟诊相关临床征象后深静脉血栓形成、脑梗死等血栓栓塞性事件发生情况。

1.4 统计学分析 采用 spss19.0 统计软件分析处理数据,率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MPN 患者 JAK2-V617F 突变阳性组血栓事件发生率 MPN 患者 JAK2-V617F 突变阳性组血栓事件发生率较阴性组高,391 例 MPN 患者,105 例存在血栓性事件。273 例 JAK2-V617F 阳性患者中 84 例发生血栓事件(30.8%),118 例 JAK2-V617F 阴性患者中 21 例发生血栓事件(17.8%),两组间差异有统计学意义($\chi^2 = 32.30$, $P < 0.01$)。

2.2 PV,ET,PMF 三组 JAK2-V617F 突变血栓事件发生率 PV 组中,JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 45 例,血栓发生率为 29.2%(45/154),阴性患者发生血栓事件 6 例,血栓发生率为

42.9%(6/14),组间差异无统计学意义($\chi^2 = 2.13$, $P > 0.05$);ET 组中,JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 18 例,血栓发生率为 32.1%(18/56),阴性患者发生血栓事件 9 例,血栓发生率为 15.8%(9/57),组间差异有统计学意义($\chi^2 = 12.32$, $P < 0.01$);PMF 组中,JAK2-V617F 阳性患者发生血栓事件 21 例,血栓发生率为 33.3%(21/63),阴性患者发生血栓事件 6 例,血栓发生率为 12.8%(6/47),组间差异有统计学意义($\chi^2 = 14.32$, $P < 0.01$)。

3 讨论 骨髓增殖性肿瘤(MPV)患者外周血中的细胞增殖速度过快、增殖量过高,所以可引起外周血液黏稠、淤滞,进而引起心脑血管方面的各种疾病,心脑血管血栓事件是此类患者出现并发症以及导致其死亡的最主要原因之一。JAK2-V617F 突变在 MPN 诊断中有重要的价值,有研究者^[4]对 64 例骨髓增殖性肿瘤患者进行分析,提出 JAK2-V617F 突变的骨髓增殖性肿瘤患者脑血管事件发生率高。也有学者研究认为 JAK2-V617F 突变的 MPN 患者更易发生血栓^[5],临床上应密切随访观察,警惕血栓事件发生。本次研究结果提示 JAK2-V617F 阳性患者血栓事件发生率高于阴性患者,提示临床 JAK2-V617F 阳性的 MPN 患者更易发生血栓事件,与上述研究者的报道一致。

另外有研究者^[6]还提出 JAK2-V617F 突变对 ET 患者的血栓发生起到一定作用,JAK2-V617F 融合基因突变的存在使血栓形成的相对危险性增加了 45%。此次研究将 MPN 分为 PV,ET 和 PMF 三组,其结果为 PV 组中,JAK2-V617F 阳性患者与阴性患者血栓发生率间差异无统计学意义;ET 组与 PMF 组中,JAK2-V617F 阳性患者与阴性患者血栓发生率间差异有统计学意义,此结果证实了上述研究者的结论。

综上所述,JAK2-V617F 阳性 MPN 患者容易出现血栓事件,尤其是 ET 和 PMF 患者,JAK2-V617F 基因的检测在预防血栓性疾病中有积极意义,MPN 患者血栓事件与 JAK2-V617F 之间存在相关性。

参考文献:

- [1] 郭晓波,蔺京,白涛涛,等.骨髓增殖性肿瘤患者外周血单个核细胞 JAK2 V617F 基因突变检测分析[J].现代检验医学杂志,2014,29(4):112-113,115.
Guo XB, Lin J, Bai TT, et al. Analysis of JAK2 V-617F gene mutation in peripheral blood mononuclear cells of patients with myeloproliferative neoplasms[J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(4): 112-113, 115.
- [2] 董莹,朱华锋,侯莉萍,等.骨髓增殖性肿瘤 120 例 JAK2-V617F 基因突变的临床分析[J].白血病.淋巴瘤

- 瘤, 2015, 24(7): 433-436.
- Dong Y, Zhu HF, Hou LP, et al. Clinical analysis of JAK2 V617F gene mutation in 120 patients with myeloproliferative neoplasms[J]. Journal of Leukemia & L-lymphoma, 2015, 24(7): 433-436.
- [3] Arber DA, 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] 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]. 医学研究与教育杂志, 2014, 31(6): 28-30.
- Guo HM, He JH, Li YP, et al. Study on the correlation of JAK2-V617F mutation and cerebrovascular events in patients with myeloproliferative neoplasms [J]. Journal of Medical Research and Education, 2014, 31(6): 28-30.
- [5] 白雪燕, 白贝贝, 于小蕊, 等. 骨髓增殖性肿瘤伴发卒中中的临床分析[J]. 中国卒中杂志, 2013, 8(1): 31-38.
- Bai XY, Bai BB, Yu XR, et al. Clinical analysis of myeloproliferative neoplasms with stroke [J]. Chinese Journal of Stroke, 2013, 8(1): 31-38.
- [6] 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.
- 收稿日期: 2016-11-22
修回日期: 2017-01-17

(上接 142 页)防治提供新思路。接下来,我们将进一步对该方法进行临床准确度、特异度等方面的评价,并进一步评价其作为筛查标志物在疾病诊断、鉴别诊断、疾病监控、预后评估等方面的意义。

参考文献:

- [1] 田英,王双勇,赵雅,等. 宫颈癌组织细胞中 Numb 基因表达及相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(6): 42-45.
- Tian Y, Wang SY, Zhao Y, et al. Study on correlation and expression of numb gene in cervical cancer[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(6): 42-45.
- [2] 赵一琳,崔映红,黄少芝. 实时荧光定量 RT-PCR 检测宫颈癌组织中 HIC1 基因表达的应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2013, 28(3): 38-40.
- Zhao YL, Cui YH, Huang SZ. Determination of expression levels of HIC1-mRNA in cervical cancer tissues by real-time fluorescent quantitative RT-PCR [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2013, 28(3): 38-40.
- [3] Srivastava SK, Bhardwaj A, Singh S, et al. Myb overexpression overrides androgen depletion-induced cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells, and confers aggressive malignant traits: potential role in castration resistance[J]. Carcinogenesis, 2012, 33(6): 1149-1157.
- [4] Ye P, Zhao L, Gonda TJ. The MYB oncogene can suppress apoptosis in acute myeloid leukemia cells by transcriptional repression of DRK2 expression[J]. Leuk Res, 2013, 37(5): 595-601.
- [5] Martinez I, Dimaio D. B-Myb, cancer, senescence, and microRNAs [J]. Cancer Res, 2011, 71(16): 5370-5373.
- [6] Hu Z, Klein JD, Mitch WE, et al. MicroRNA-29 induces cellular senescence in aging muscle through multiple signaling pathways[J]. Aging, 2014, 6(3): 160-175.
- [7] Tripathi V, Shen Z, Chakraborty A, et al. Long non-coding RNA MALAT1 controls cell cycle progression by regulating the expression of oncogenic transcription factor B-MYB [J]. PLoS Genet, 2013, 9(3): e1003368.
- [8] Sottile F, Gnemmi I, Cantilena S, et al. A chemical screen identifies the chemotherapeutic drug topotecan as a specific inhibitor of the B-MYB/MYCN axis in neuroblastoma[J]. Oncotarget, 2012, 3(5): 535-545.
- [9] 吴飞翔,曹骥,赵荫农,等. B-myb C-myc 在肝细胞性肝癌中的表达及临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2008, 35(5): 269-271, 276.
- Wu FX, Cao J, Zhao YN, et al. Expression of B-myb and C-myc in hepatocellular carcinoma and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2008, 35(5): 269-271, 276.
- [10] 曹骥,杨春,李丽萍,等. B-myb 在人肝细胞癌中表达的生物学意义及与 cyclin D1 相关性的研究[J]. 肿瘤, 2007, 27(5): 386-389.
- Cao J, Yang C, Li LP, et al. Biological significance of the expression of B-myb in hepatocellular carcinoma and the correlation with cyclin D1 [J]. Cancer, 2007, 27(5): 386-389.
- [11] Baker SJ, Ma'Ayan A, Lieu YK, et al. B-myb is an essential regulator of hematopoietic stem cell and myeloid progenitor cell development [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(8): 3122-3127.
- [12] Astbury K, Mcevoy L, Brian H, et al. MYBL2 (B-MYB) in cervical cancer: putative biomarker [J]. Int J Gynecol Cancer Society, 2011, 21(2): 206-212.
- [13] Martinez I, Cazalla D, Almstead LL, et al. miR-29 and miR-30 regulate B-Myb expression during cellular senescence [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(2): 522-527.
- 收稿日期: 2016-09-19
修回日期: 2017-01-10