

## 当院におけるフィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性腫瘍の検討

朝比奈 彩      梶本 幸伸      山崎 大央      寺尾裕美子  
大棟久美江      大畑 雅彦      今井 昇

静岡赤十字病院 検査部

**要旨：**JAK2V617F変異は、2008年World Health Organization分類の骨髄増殖性腫瘍の診断基準に加えられた。2013年7月から2016年6月まで、当院検査部にてJAK2V617F変異検査を行い、診断したフィラデルフィア染色体陰性骨髄増殖性腫瘍の症例を解析した。51例でJAK2V617F変異解析が行われ、真性多血症6例、本態性血小板血症18例、原発性骨髄線維症1例、分類不能型骨髄増殖性腫瘍4例であった。JAK2V617F変異陽性症例は、真性多血症6例（100%）、本態性血小板血症10例（55.6%）、骨髄増殖性腫瘍分類不能型2例（50%）で、真性多血症と本態性血小板血症の変異陽性率はほぼ既報通りであった。血栓症の発症を8例に認め、真性多血症3例、本態性血小板血症4例、分類不能型骨髄増殖性腫瘍例であった。真性多血症での血小板増多症例、脾腫を有する症例、本態性血小板血症でのJAK2V617F変異陽性例において、血栓症リスクが高かった。ここ数年、JAK2 exon12変異、MPL変異、CALR変異が発見され、骨髄増殖性腫瘍の診断には、これらの遺伝子変異の検索が必須になると考えられる。

**Key words：**JAK2V617F変異、骨髄増殖性腫瘍

### I. 緒 言

チロシンキナーゼJAK2蛋白質（JAK2）の617番アミノ酸のバリンがフェニルアラニンに置換された点突然変異（JAK2V617F）が骨髄増殖性腫瘍（myeloproliferative neoplasm, MPN）である、真性多血症（polycythemia vera, PV）の約90%、本態性血小板血症（essential thrombocythemia, ET）および原発性骨髄線維症（primary myelofibrosis, PMF）の約半数に認められ<sup>1)</sup>、MPNの分子生物学的病態が急速に解明されている。JAK2V617F変異の診断的有用性は確立されており、JAK2をターゲットとした分子標的薬の導入も進んでいる。

今回我々は、当院で診断されたMPNの臨床情報を解析したので報告する。

### II. 対象と方法

2013年7月から2016年9月の期間に、当院でJAK2V617F変異を解析した未治療症例について、

後方視的に解析した。JAK2V617F変異にはmelting curve (MC) アッセイを行った。変異型クローンの割合が5%未満をwild type, 5%以上80%未満をhetero type, 80%以上をhomo typeとした。MPNの診断はWorld Health Organization (WHO) 分類（2008）に基づいて行った<sup>2-5)</sup>。

### III. 結 果

51症例でJAK2V617F変異解析が行われ、うち29症例がMPNであった（図1）。18例がJAK2V617F変異陽性のMPNであり、PV6例、ET10例、骨髄増殖性腫瘍分類不能型（myeloproliferative neoplasm unclassifiable, MPN-U<sub>2</sub>）2例であった。一方、JAK2V617F変異陰性MPNは11例で、ET8例、PMF1例、MPN-U2例であった。MPN-Uと診断された4例のうち、2例はWHO分類MPNの病型診断基準にあてはまらないもの、2例はETとPVの両方の診断基準を満たすものであった。

各疾患の特徴を表1に示す。PMFは1症例のみ

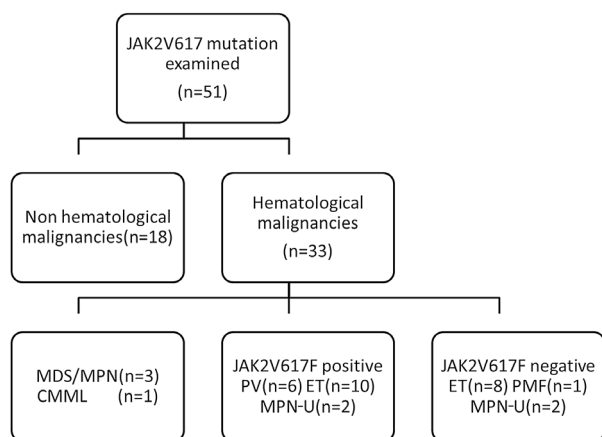


図1. 患者の分類

表1. 患者背景

	PV(n=6)		ET(n=18)		PMF(n=1)		MPN-U(n=4)	
年齢 中央値 (歳)	61		64		63		82.5	
年齢 範囲 (歳)	36-79		32-85		63		34-89	
	PV(n=6)		ET(n=18)		PMF(n=1)		MPN-U(n=4)	
	患者数	%	患者数	%	%		患者数	%
男比率	3	50	6	50	100		3	75
WBC増多(≥9000/μl)	5	83.3	4	22.2	0		2	50
Hb増多(≥15.0g/dl)	6	100	4	22.2	0		3	75
Plt増多(≥40万/μl)	5	83.3	18	100	0		2	50
脾腫 *	4/4	100	4/9	44.4	100		1/2	50
JAK2V617F変異陽性	6	100	10	55.6	0		2	50
陽性のうちhomo type	1	16.7	1	5.6	0		0	0
血栓症	3	50	4	22.2	0		1	25

\* 腹部エコー・CTなどで検索を行った患者の範囲で算出

表2. 全症例のまとめ

No	年齢	性別	診断	JAK2	WBC (/μl)	Plt (×10 <sup>4</sup> /μl)	Hb (g/dl)	脾腫	血栓症・出血	血管リスク
1	36	男	PV	hetero	13180	57.7	16.2	+	脳梗塞・門脈血栓	-
2	40	女	PV	hetero	11130	46.6	19.5	+	-	-
3	43	女	PV	homo	12140	32.3	14.6	+	-	-
4	68	男	PV	hetero	8250	63.2	18.0	不明	脳梗塞	高血圧
5	68	女	PV	hetero	18720	73.6	17.2	+	脳梗塞	-
6	79	男	PV	hetero	11920	45.7	20.0	不明	-	-
7	32	男	ET	hetero	7530	66.1	15.1	不明	-	-
8	33	男	ET	-	6000	77.8	13.1	+	Budd-Chiari症候群	-
9	35	男	ET	-	8320	43.3	15.6	不明	-	-
10	40	女	ET	-	5360	118	12.6	-	-	-
11	41	女	ET	-	6830	94.8	12.9	+	-	-
12	43	女	ET	-	6550	103	13.3	+	-	喫煙
13	47	男	ET	hetero	25770	73.1	13.3	不明	脳梗塞	-
14	59	男	ET	-	8070	86.5	12.3	-	-	高血圧・糖尿病・喫煙
15	60	男	ET	-	4350	73.3	11.4	-	-	-
16	68	女	ET	hetero	5990	73.3	12.1	不明	-	脂質異常・喫煙
17	74	男	ET	hetero	6590	66.2	13.5	-	脳出血	高血圧
18	74	男	ET	hetero	6250	79.7	10.3	不明	-	-
19	75	女	ET	hetero	12230	68.2	13	不明	-	高血圧
20	78	女	ET	homo	11970	65.5	15.8	不明	-	高血圧
21	78	男	ET	hetero	9150	70	15	不明	脳梗塞	高血圧・脂質異常・喫煙
22	80	男	ET	hetero	7080	86.5	9.1	-	-	-
23	82	女	ET	hetero	6870	59.8	13.9	+	肺塞栓	高血圧
24	85	女	ET	-	6510	65.8	13.9	不明	-	高血圧
25	63	男	PMF	-	2540	14.9	7.8	+	-	-
26	34	男	MPN-U	hetero	10170	65	20.2	不明	-	-
27	76	男	MPN-U	-	12120	31.2	13.6	-	-	-
28	89	男	MPN-U	-	49840	7.2	9.1	不明	-	-
29	89	男	MPN-U	hetero	9840	58	17.5	+	下肢血栓塞栓症	高血圧

で、MPN-Uはヘテロな集団だが、参考として提示する。中央値は60歳程度であるが、30代の若年者も少数存在する。明らかな男女差はなかった。PV, ETのJAK2V617F変異陽性率はそれぞれ100%, 約50%であった。

患者別のデータを表2に示す。血栓症発症8例の

疾患の内訳は、PV3例 (50%), ET4例 (22.2%), MPN-U 1例 (25%) であり、7例がJAK2V617F変異陽性例であった。血栓症の発症したPV症例は、血小板数が全て50万/μl以上であった。一方、血栓症未発症のPVは全て血小板数が50万/μl未満であった。血栓症発症例の8例中6例は、血栓症

が原因で入院した症例で、入院主治医より多血や血小板増多について血液内科にコンサルテーションがあり、MPNの診断がされた。残りの2例は、診断後に血栓症を発症している。血栓症未発症例は、20例中18例が健診や開業医から、2例が院内からの紹介で、MPNの診断がされた。

血栓症発症者のうち、3名は未検査だが、それ以外の5例すべてで脾腫を認めた。また、*JAK2V617F*変異陽性ET群で血栓症を発症するリスクは、*JAK2V617F*変異陰性ET群に対して2.8倍であった。

出血は1例のみで、ETの症例であった(脳出血)。

今回の解析では、高血圧症・脂質異常症・糖尿病・喫煙といった血管リスクの有無によって、血栓症の発症に有為な差は認められなかった。

期間中に急性転化例や死亡例はなく、外来通院可能な安定している症例が多かった。しかし、血栓症を発症した8例のうち、5例は血栓症による後遺症のため日常生活に何らかの支障を生じている。

ETの1例は、前医にてARMS法で測定された*JAK2V617F*変異は5%陽性であったが、当院のMCアッセイでは陰性であった(表2のNo.9)。

#### IV. 考 察

今回の解析では、PV、ETの*JAK2V617F*変異陽性率はほぼ既報通りであった。PVでは、さまざまな症状や合併症により、標準的な集団と比べて予後不良であるとされている。PVの血栓症のリスク因子としては、ヘマトクリットのコントロール不良(45%以上)<sup>6)</sup>、60歳以上<sup>7)</sup>、血栓症の既往<sup>6)</sup>、白血球数増加<sup>8)</sup>、血小板数増加<sup>9)</sup>が報告されている。また、生命予後不良因子としては、治療抵抗性・不耐容<sup>9)</sup>、脾腫<sup>10)</sup>が報告されている。ETでは、PVと比べて比較的良好な経過をとり、血栓症が主に予後を規定する。ETの血栓症のリスク因子としては、WBC数の増加<sup>11)</sup>、*JAK2*変異<sup>12)</sup>が指摘されている。高血圧症・糖尿病・喫煙などの血管リスク因子が血栓リスクになるという報告<sup>13, 14)</sup>もあるが、当院での解析では、有意差

は認めなかった。

また、MPNの血栓症の予防として、血栓症発症前にMPNの診断し、血栓リスクが高い症例は、必要な介入をすることが大切と考えられた。明らかな原因がない白血球や血小板数の増加、多血症例は、血液内科医にコンサルテーションをする必要がある。

そして、MCアッセイは検出感度が3~10%であり<sup>15)</sup>、ARMS法と比較し、変異型クローンの割合が低いET症例では、検出されない場合があることを念頭に入れておかなければならない。

ここ数年、*JAK2* exon 12変異<sup>16)</sup>や*MPL*変異<sup>17)</sup>、*CALR*変異<sup>18)</sup>が発見され、臨床学的特徴も明らかにされてきている。特に、*CALR*変異を有するET症例は、①若年者に多い②男性に多い③血小板数が多い④白血球数は少なく、ヘモグロビン濃度は低い⑤血栓症の頻度が低い⑥予後が良好である、などの報告がある<sup>19~25)</sup>。当院の症例の中に、いくつかの特徴に当てはまる症例がある(表2のNo.10-12,15)。今後、*CALR*変異や*MPL*変異が検査可能になった際に、確認したい。

#### V. 結 語

当院におけるフィラデルフィア染色体陰性MPN症例の検討により、血栓症リスクやMCアッセイの感度の問題が明らかになった。

MPNの診断には*JAK2V617F*変異のみならず、*JAK2* exon 12変異や*MPL*変異、*CALR*変異の検索が必須になると考えられる。

#### 文 献

- 1) Nangalia J, Green TR. The evolving genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2014 ; 1 : 287-96.
- 2) Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A, et al. Polycythaemia vera (Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, editors.). *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon : IARC ; 2008. P.40-3.

- 3) Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A, et al. Essential thrombocythaemia (Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, editors.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon : IARC ; 2008. P.48-50.
- 4) Thiele J, Kvasnicka HM, Tefferi A, et al. Primary myelofibrosis (Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, editors.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon : IARC ; 2008.P.48-50.
- 5) Kvasnicka HM, Tefferi A, Thiele J, et al. Myeloproliferative neoplasm, unclassifiable (Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, editors.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon : IARC ; 2008. P.64-5.
- 6) Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 22-33.
- 7) Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms : critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol* 2011 ; 29 : 761-70.
- 8) Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood* 2007 ; 109 : 2446-52.
- 9) Alvarez-Larrán A, Pereira A, Cervantes F, et al. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response, resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood* 2012 ; 119 : 1363-69.
- 10) Abdulkarim K, Ridell B, Johansson P, et al. The impact of peripheral blood values and bone marrow findings on prognosis for patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Eur J Haematol* 2011 ; 86 : 148-55.
- 11) Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 2732-6.
- 12) Lussana F, Caberlon S, Pagani C, et al. Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis : a systematic review. *Thromb Res* 2009 ; 124 : 409-17.
- 13) Passamonti F, Thiele J, Girodon F, et al. A prognostic model to predict survival in 868 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis : a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2012 ; 120 : 1197-201.
- 14) Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood* 2012 ; 120 : 5128-33.
- 15) 福塚勝弘, 竹岡加陽, 林田雅彦ほか. Melting curveアッセイとamplification refractory mutation system (ARMS) 法による*JAK2V617F* 変異の検出感度の比較. *天理医学紀要* 2013 ; 16 : 126-32.
- 16) Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. *JAK2* exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med* 2007 ; 356 : 459-68.
- 17) Pardanani AD, Lee BH, Mercher T, et al. *MPLW515L* is a novel somatic activating mutation in myeloproliferative and other myeloid disorders : study of 1182 patients. *Blood* 2006 ; 108 : 3472-6.
- 18) Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic *CALR* mutations in myeloproliferative

- neoplasms with nonmutated *JAK2*. *Engl J Med* 2013 ; 69 : 391-405.
- 19) Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 2379-90.
- 20) Rotunno G, Mannarelli C, Guglielmelli P, et al. Impact of calreticulin mutations on clinical and hematological phenotype and outcome in essential thrombocythemia. *Blood* 2014 ; 123 : 1552-5.
- 21) Rumi E, Pietra D, Ferretti V, et al. *JAK2* or *CALR* mutations status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes. *Blood* 2014 ; 123 : 2507-13.
- 22) Tefferi A, Wassie EA, Lasho TL, et al. Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2014 ; 28 : 2300-3.
- 23) Andrikkovic H, Krahling T, Balassa K, et al. Distinct clinical characteristics of myeloproliferative neoplasms with calreticulin mutations. *Haematologica* 2014 ; 99 : 1184-90.
- 24) Chen CC, Gau JP, Chou HJ, et al. Frequencies, clinical characteristics, and outcome of somatic *CALR* mutations in *JAK2*-unmutated essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 2014 ; 93 : 2029-36.
- 25) Shirane S, Araki M, Morishita S, et al. *JAK2*, *CALR*, and *MPL* mutation spectrum in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms. *Haematologica* 2015 ; 100 : e46-8.

## Retrospective Analysis of Patients with Philadelphia-negative Myeloproliferative Neoplasms in Single Institute

Aya Asahina, Yukinobu Kajimoto, Hironaka Yamazaki, Yumiko Terao,  
Kumie Omune, Masahiko Ohata, Noboru Imai

Department of Clinical Laboratory, Japanese Red Cross Shizuoka Hospital

**Abstract :** *JAK2V617F* mutation is one of WHO diagnostic major criteria for myeloproliferative neoplasm (MPN). We analyzed 29 MPN patients diagnosed at our institute between July 2013 and September 2016, and found clinical features. The cohort consisted of 6 polycythemia vera (PV), 18 essential thrombocythemia (ET), 1 primary myelofibrosis (PMF) and 4 myeloproliferative neoplasms unclassifiable (MPN-U). *JAK2V627F* mutation was identified in 6 (100%) PV, 10(55.6%) ET and 2(50%) MPN-U patients. Thrombosis was observed 8 patients, including 3 PV patients, 4 ET patients and 2 MPN-U patients. Thrombocytosis of PV, splenomegaly and *JAK2V617F* mutation of ET are risks of thrombosis. In future, evaluation of *JAK2* exon 12, *MPL* and *CALR* mutations are necessary for diagnosis of MPN.

**Key words :** *JAK2V617F* mutation, myeloproliferative neoplasms