

JAK2、MPL和CALR基因突变在中国原发性骨髓纤维化患者中的预后意义

徐泽锋 李冰 刘晋琴 李艳 艾晓非 张培红 秦铁军 张悦 王静雅
徐俊卿 张宏丽 方力维 潘丽娟 胡耐博 曲士强 肖志坚

【摘要】 目的 评价JAK2、MPL和CALR基因突变在中国原发性骨髓纤维化(PMF)患者中的预后意义。方法 回顾性分析402例PMF患者的临床资料及JAK2、MPL和CALR基因突变,应用Kaplan-Meier、Log-rank和Cox回归模型进行相关预后因素分析。结果 402例PMF患者中男209例,女193例,中位年龄55(15~89)岁。JAKV617F基因突变189例(47.0%),MPLW515基因突变13例(3.2%),CALR基因突变81例(20.1%)[1型突变30例(37.0%),2型突变48例(59.3%),少见型突变3例(3.7%)],119例(29.6%)未检测到JAK2、MPL和CALR基因突变。单因素分析显示,2型CALR突变或未检测到JAK2、MPL和CALR基因突变的患者中位生存期(74个月)短于检测到JAK2、MPL或1型及少见型CALR基因突变的患者(168个月)[$HR=2.990(95\%CI\ 1.935\sim4.619)$, $P<0.001$]。因此,将基因突变类型分为预后不良组(2型CALR突变和未检测到JAK2、MPL和CALR基因突变)和预后良好组(JAKV617F、MPLW515、1型及少见型CALR基因突变)。经多因素分析提出了中国PMF患者的动态国际预后积分系统(DIPSS-Chinese)分子预后积分系统,各参数赋值如下:DIPSS-Chinese低危组0分,中危组1分,高危组2分,2型CALR突变或未检测到JAK2、MPL和CALR基因突变积1分。402例患者中,低危组(0分)132例(32.8%),中危-1组(1分)143例(35.6%),中危-2组(2分)106例(26.4%),高危组(3分)21例(5.2%)。低危组中位生存时间未达到,中危-1组为156(95%CI 117~194)个月,中危-2组为60(95%CI 28~91)个月,高危组为22(95%CI 10~33)个月,总生存差异具有统计学意义($P<0.001$)。DIPSS-Chinese分子预后积分系统较DIPSS-Chinese有更准确的预测能力(-2 log似然比分别为855.6和869.7, $P=0.005$)。结论 在中国PMF患者中,2型CALR突变和未检测到JAK2、MPL和CALR突变是独立的不良预后因素,DIPSS-Chinese分子预后积分系统有更好的预测价值。

【关键词】 原发性骨髓纤维化; 预后; 基因突变; 预后积分系统

基金项目:国家自然科学基金(81370611、81470297、81530008);协和学者与创新团队发展计划

Prognostic value of JAK2, MPL and CALR mutations in Chinese patients with primary myelofibrosis Xu Zefeng, Li Bing, Liu Jinqin, Li Yan, Ai Xiaofei, Zhang Peihong, Qin Tiejun, Zhang Yue, Wang Jingya, Xu Junqing, Zhang Hongli, Fang Liwei, Pan Lijuan, Hu Naibo, Qu Shiqiang, Xiao Zhijian. Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, the State Key Laboratory of Experimental Hematology, Tianjin 300020, China
Corresponding author: Xiao Zhijian, Email: zjxiao@hotmail.com

【Abstract】 Objective To evaluate the prognostic value of JAK2, MPL and CALR mutations in Chinese patients with primary myelofibrosis (PMF). **Methods** Four hundred and two Chinese patients with PMF were retrospectively analyzed. The Kaplan-Meier method, the Log-rank test, the likelihood ratio test and the Cox proportional hazards regression model were used to evaluate the prognostic scoring system. **Results** This cohort of patients included 209 males and 193 females with a median age of 55 years (range: 15–89). JAK2V617F mutations were detected in 189 subjects (47.0%), MPLW515 mutations in 13 (3.2%) and CALR mutations in 81 (20.1%) [There were 30 (37.0%) type-1, 48 (59.3%) type-2 and 3 (3.7%) less common CALR mutations], respectively. 119 subjects (29.6%) had no detectable

mutation in JAK2, MPL or CALR. Univariate analysis indicated that patients with CALR type-2 mutations or no detectable mutations had inferior survival compared to those with JAK2, MPL or CALR type-1 or other less common CALR mutations (the median survival was 74 vs 168 months, respectively [HR 2.990 (95% CI 1.935–4.619), $P < 0.001$]). Therefore, patients were categorized into the high-risk with CALR type-2 mutations or no detectable driver mutations and the low-risk without aforementioned mutations status. The DIPSS-Chinese molecular prognostic model was proposed by adopting mutation categories and DIPSS-Chinese risk group. The median survival of patients classified in low risk (132 subjects, 32.8%), intermediate-1 risk (143 subjects, 35.6%), intermediate-2 risk (106 subjects, 26.4%) and high risk (21 subjects, 5.2%) were not reached, 156 (95% CI 117–194), 60 (95% CI 28–91) and 22 (95% CI 10–33) months, respectively, and there was a statistically significant difference in overall survival among the four risk groups ($P < 0.001$). There was significantly higher predictive power for survival according to the DIPSS-Chinese molecular prognostic model compared with the DIPSS-Chinese model ($P = 0.005$, -2 log-likelihood ratios of 855.6 and 869.7, respectively). **Conclusion** The impact of the CALR type-2 mutations or no detectable driver mutation on survival was independent of current prognostic scoring systems. The DIPSS-Chinese molecular prognostic model based on the molecular features of Chinese patients was proposed and worked well for prognostic indication.

【Key words】 Primary myelofibrosis; Prognosis; Mutations; Prognostic scoring system

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81370611, 81470297, 81530008); Program for Peking Union Medical College Scholars and Innovative Research Team

原发性骨髓纤维化 (primary myelofibrosis, PMF) 是一种 Ph 染色体阴性的骨髓增殖性肿瘤。目前研究表明, 大部分 PMF 患者存在 JAK2V617F、MPL 或 CALR 基因突变^[1-3]。我们既往研究表明, 可触及的脾肿大是我国 PMF 患者预后良好因素之一, 这是区别于西方 PMF 患者的预后特征, 进而提出了适用于我国患者的修订的 DIPSS (DIPSS-Chinese) 预后积分系统^[4]。本研究中, 我们以 402 例 PMF 患者为研究对象, 评估 JAK2V617F、MPL 和 CALR 基因突变对我国 PMF 患者的预后意义, 并在此基础上提出一个包含分子生物学指标的 DIPSS-Chinese 分子预后积分系统。

病例与方法

1. 病例: 1990 年 1 月至 2015 年 1 月在我院就诊的具有完整临床资料及随访记录的 402 例 PMF 患者纳入研究, 并对这些患者进行 JAK2V617F、MPL 或 CALR 基因突变检测。所有患者的诊断均符合 2008 年 WHO 分型诊断标准。

2. 研究参数: 包括患者性别、年龄等一般资料; 症状、体征及红细胞和血小板输注依赖情况等临床表现; 血细胞计数和分类、骨髓细胞形态学检查、骨髓病理学检查、染色体核型分析及 JAK2V617F、MPL 或 CALR 基因突变检测等实验室检查结果。JAK2V617F、MPL 或 CALR 突变检测的引物序列及检测方法参照文献^[5-7]进行。

3. 预后评估: 采用 DIPSS-Chinese 预后积分系

统对患者进行预后分组和评估。根据 JAK2V617F、MPL 或 CALR 基因突变检测结果 (包括 JAKV617F 基因突变组、1 型 CALR 突变组、2 型 CALR 突变组、MPLW515 突变组和无 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变组) 对患者进行预后分析。

4. 随访: 随访资料来源于住院病历和门诊病历。对随访期间死亡的病例, 根据病历记录或电话联系确认。总生存 (OS) 期按确诊至死亡的时间或确诊至 2015 年 10 月 31 日计算。

5. 统计学处理: 应用 SPSS 20.0 统计软件包进行数据分析。生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 采用 Log-rank 检验进行单因素分析, 采用 Cox 回归风险模型进行多因素分析。采用似然比比较 DIPSS-Chinese 和 DIPSS-Chinese 分子预后积分系统的预测价值。双侧检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 临床特征和基因突变频率: 402 例 PMF 患者中, 男 209 例, 女 193 例, 中位年龄 55 (15~89) 岁。初诊血常规 (中位数): HGB 97 (27~195) g/L, WBC 8.8 (0.5~415.0) $\times 10^9$ /L, PLT 175 (4~1 373) $\times 10^9$ /L。277 例 (68.9%) 可触及脾肿大, 80 例 (19.9%) 伴有体质性症状。JAKV617F 基因突变 189 例 (47.0%), MPLW515 基因突变 13 例 (3.2%), CALR 基因突变 81 例 (20.1%) [1 型突变 30 例 (37.0%), 2 型突变 48 例 (59.3%), 少见型突变 3 例 (3.7%)], 119 例 (29.6%) 未检出 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变。

2. DIPSS-Chinese 预后积分系统对 402 例 PMF 患者进行生存分析:低危组、中危组、高危组分别为 182 例(45.3%)、191 例(47.5%)和 29 例(7.2%),中位 OS 期分别为 168(95% CI 139~210)个月、98(95% CI 43~152)个月和 22(95% CI 15~29)个月,差异具有统计学意义($P < 0.001$)(图 1)。

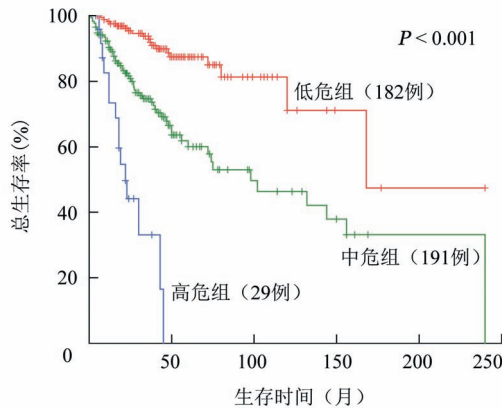
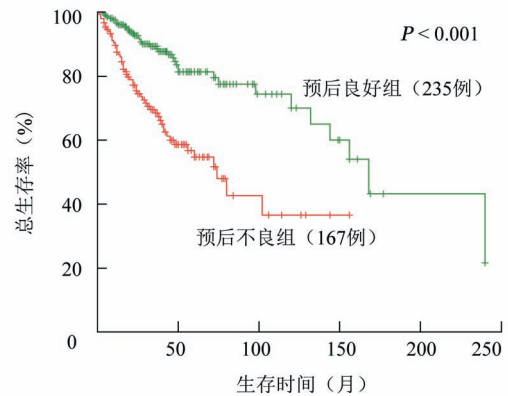


图 1 不同危险度分组(DIPSS-Chinese 预后积分系统)原发性骨髓纤维化患者的生存曲线

3. JAK2V617F、MPL 或 CALR 基因突变与预后:402 例 PMF 患者中,MPLW515 突变组的中位 OS 期未达到,1 型及少见型 CALR 突变组为 196(95% CI 156~240)个月,JAK2V617F 基因突变组为 144(95% CI 128~176)个月,2 型 CALR 突变组为 78(95% CI 57~96)个月,无 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变组为 60(95% CI 36~78)个月。2 型 CALR 突变组与无 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变组患者的中位 OS 期短于其他三组。依据对上述不同基因突变组患者的单因素生存分析结果,我们将基因突变类型分为预后不良组(167 例,2 型 CALR 突变或未检测到 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变)和预后良好组(235 例,JAK2V617F、MPLW515、1 型及少见型 CALR 基因突变),中位 OS 期分别为 74 和 168 个月

(HR 2.990, 95% CI 1.935~4.619),差异具有统计学意义($P < 0.001$)(图 2)。



预后良好组:JAKV67F、MPLW515 或 1 型及少见型 CALR 基因突变;预后不良组:2 型 CALR 基因突变或未检测到 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变

图 2 不同基因突变类型原发性骨髓纤维化患者的生存曲线

4. 修订的 DIPSS-Chinese 分子预后积分系统:将基因突变类型分组(预后不良组和预后良好组)和 DIPSS-Chinese 预后积分系统同时纳入 Cox 回归模型进行多因素分析,基因突变类型分组(预后不良组和预后良好组)是独立于 DIPSS-Chinese 的预后因素($HR=2.238$, 95% CI 1.356~3.372, $P=0.001$)。根据 Cox 回归分析提出修订的 DIPSS-Chinese 分子预后积分系统,各参数赋值如下:DIPSS-Chinese 低危组 0 分,中危组 1 分,高危组 2 分,2 型 CALR 突变或未检测到 JAK2、MPL 和 CALR 突变为 1 分(表 1)。402 例患者中,低危组(0 分)132 例(32.8%),中危-1 组(1 分)143 例(35.6%),中危-2 组(2 分)106 例(26.4%),高危组(3 分)21 例(5.2%)。中位 OS 时间分别为低危组未达到,中危-1 组 156(95% CI 117~194)个月,中危-2 组 60(95% CI 28~91)个月,高危组 22(95% CI 10~33)个月,差异具有统计学意义($P < 0.001$)(图 3)。DIPSS-Chinese 分子预后积分系

表 1 基于 402 例原发性骨髓纤维化患者修订的 DIPSS-Chinese 分子预后积分系统

危险因素	危险度(95% CI)	P 值	积分
DIPSS-Chinese 分组			
低危	1		0
中危	3.053(1.800~5.178)	< 0.001	1
高危	9.771(4.714~20.253)	< 0.001	2
基因突变分组			
预后不良组(2 型 CALR 突变或未检测到 JAK2、MPL 和 CALR 基因突变)	2.238(1.356~3.372)	0.001	1

注:低危组:0 分;中危-1 组:1 分;中危-2 组:2 分;高危组:3 分

统和DIPSS-Chinese的-2 log似然比分别为855.6和869.7($P=0.005$),表明DIPSS-Chinese分子预后积分系统较DIPSS-Chinese有更准确的预后预测能力。

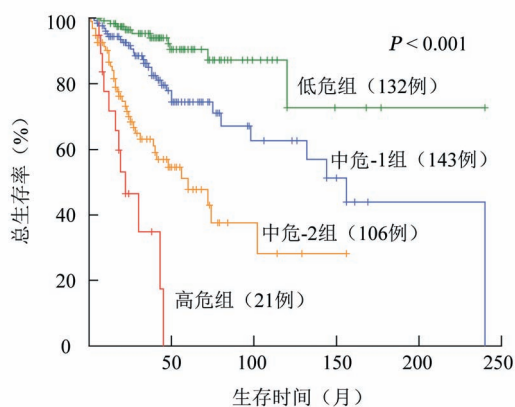


图3 不同危险度分组(修订的DIPSS-Chinese分子预后积分系统)原发性骨髓纤维化患者的生存曲线

讨论

近年来,随着二代测序技术在临床的应用,PMF的突变谱系有了较完整的解析,证实80%~90%的PMF患者有JAK2V617F、MPL或CALR基因突变,PMF的诊断标准和预后判断积分系统也随之更新^[8-9]。2014年修订的WHO(2008)诊断标准中将PMF主要诊断标准中第3条修订为“有JAK2、CALR或MPL突变”,在次要诊断标准增加“有克隆性标志(如异常染色体核型)或无反应性骨髓纤维化证据”^[10]。该修订的诊断标准已被“原发性骨髓纤维化诊断与治疗中国专家共识(2015年版)”^[11]所采纳。欧洲的一项多中心研究证实,JAK2、CALR或MPL突变对PMF患者生存的影响独立于动态国际预后积分系统(DIPSS),并进一步提出了一个PMF患者的临床-分子预后模型^[12]。

DIPSS和DIPSS-plus预后积分系统均基于以白种人为主体的研究数据而提出。我们此前分析了642例中国PMF患者的临床和实验室数据,并针对中国PMF患者的特征,提出了适合我国PMF患者的DIPSS(DIPSS-Chinese)预后积分系统^[4]。我们进一步研究又发现CALR突变对中国PMF患者生存的影响不同于既往报道的欧洲人群^[5]。近期日本和韩国的研究报道也证实东亚PMF患者的JAK2V617F、MPL、CALR基因突变发生率及对生存的影响可能异于欧洲患者^[13-14]。在DIPSS-Chinese预后积分系统的基础上,我们系统探讨了JAK2V617F、MPL和CALR基因突变对我国PMF

患者生存预后的影响。

对本组402例PMF患者JAK2、MPL和CALR基因突变对生存预后的分析表明:2型CALR突变和未检出JAK2、MPL、CALR突变的患者预后不良,存在JAK2V617F、MPLW515、1型及少见型CALR突变的患者预后良好,两组患者的中位生存期差异有统计学意义。Cox回归模型多因素分析揭示基因突变类型分组(预后不良组和预后良好组)是独立于DIPSS-Chinese的预后因素。包含JAK2、MPL和CALR突变类型分组的DIPSS-Chinese分子预后积分系统,可将PMF患者预后细分为低危、中危-1、中危-2和高危组,且与DIPSS-Chinese预后积分系统相比,DIPSS-Chinese分子预后积分系统能够进一步提高患者预后评估的准确性。

总之,我们在较大系列的我国PMF病例中进一步验证了DIPSS-Chinese的预后评估价值,并证实JAK2、MPL和CALR基因突变类型是一个独立的预后因素,并提出了适合中国PMF患者的基因突变类型分组(预后不良组和预后良好组)。在此基础上,我们提出了包含分子生物学指标的DIPSS-Chinese分子预后积分系统,为进一步准确评估我国PMF患者预后、制定分组治疗策略提供了依据。本研究为单中心回顾性研究,结果尚待多中心的前瞻性研究进一步验证。

参考文献

- [1] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes[J]. Blood, 2009, 114 (5): 937-951. doi: 10.1182/blood-2009-03-209262.
- [2] Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms[J]. N Engl J Med, 2013, 369 (25): 2379-2390. doi: 10.1056/NEJMoa1311347.
- [3] Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, et al. CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons[J]. Leukemia, 2014, 28 (7): 1472-1477. doi: 10.1038/leu.2014.3.
- [4] Xu Z, Gale RP, Zhang Y, et al. Unique features of primary myelofibrosis in Chinese[J]. Blood, 2012, 119 (11): 2469-2473. doi: 10.1182/blood-2011-11-389866.
- [5] Li B, Xu J, Wang J, et al. Calreticulin mutations in Chinese with primary myelofibrosis[J]. Haematologica, 2014, 99 (11): 1697-1700. doi: 10.3324/haematol.2014.109249.
- [6] Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders[J].

N Engl J Med, 2005, 352 (17):1779- 1790. doi: 10.1056/NEJMoa051113.

[7] Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients [J]. Blood, 2006, 108 (10): 3472- 3476. doi:10.1182/blood-2006-04-018879.

[8] 肖志坚. 骨髓增殖性肿瘤和骨髓增生异常综合征/骨髓增殖性肿瘤:开启分子诊断新时代[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(5): 385-386. doi:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.05.001.

[9] 肖志坚. 骨髓增殖性肿瘤患者的基因突变检测:已进入临床时代? [J]. 白血病·淋巴瘤, 2015, 24(7): 388-391. doi:10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2015.07.002.

[10] Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, et al. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms [J]. Leukemia, 2014, 28(7):1407-1413. doi: 10.1038/leu.2014.35.

[11] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 原发性骨髓纤维化诊断与治疗中国专家共识(2015年版)[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36 (9):721- 725. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253- 2727. 2015.09.001.

[12] Rumi E, Pietra D, Pascutto C, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis [J]. Blood, 2014, 124(7): 1062-1069. doi: 10.1182/blood-2014-05-578435.

[13] Park SH, Kim SY, Lee SM, et al. Incidence, clinical features, and prognostic impact of CALR exon 9 mutations in essential thrombocythemia and primary myelofibrosis: an experience of a single tertiary hospital in Korea[J]. Ann Lab Med, 2015, 35(2): 233-237. doi: 10.3343/alm.2015.35.2.233.

[14] Shirane S, Araki M, Morishita S, et al. JAK2, CALR, and MPL mutation spectrum in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms [J]. Haematologica, 2015, 100 (2): e 46- 48. doi: 10.3324/haematol.2014.115113.

(收稿日期:2016-02-28)

(本文编辑:徐茂强)

《中华血液学杂志》第九届编辑委员会委员名单

- 顾 问 曹雪涛 陈赛娟 阮长耿
- 名誉总编辑 王建祥
- 总 编 辑 黄晓军
- 副 总 编 辑 胡 豫 马 军 邵宗鸿 沈志祥 吴德沛 肖志坚 张凤奎
- 编 辑 委 员(按汉语拼音排序) 艾辉胜 秘营昌 常英军 陈 虎 陈方平 陈芳源 陈国安 陈国强
 陈洁平 陈苏宁 陈协群 陈元仲 程 涛 董文革 方美云 冯建明 付 蓉 高春记
 高子芬 韩明哲 侯 健 侯 明 胡 豫 胡灯明 胡建达 黄 河 黄慧强 黄晓军
 纪春岩 江 明 江 倩 金 洁 克晓燕 赖永榕 李 娟 李 薇 李 晓 李 艳
 李建勇 李军民 李扬秋 李玉明 梁爱斌 刘 红 刘 林 刘 霆 刘代红 刘开彦
 刘启发 刘卓刚 罗建民 马 军 牛 挺 裴雪涛 彭 军 邱录贵 任汉云 邵宗鸿
 沈志祥 石远凯 宋永平 孙自敏 王 椿 王 敏 王 欣 王季石 王健民 王景文
 王学锋 魏旭东 吴德沛 肖志坚 徐 卫 徐开林 杨林花 杨仁池 于 力 张 梅
 张 曦 张凤奎 张广森 张连生 张晓辉 赵洪国 赵维莅 赵永强 郑以州 周 晋
 周道斌 周剑峰 朱 军 竺晓凡
- 通 讯 编 委(按汉语拼音排序) 白 海 常春康 崔久崑 杜 欣 冯四洲 韩 冰 韩艳秋 胡 炯
 贾永前 姜尔烈 李 剑 刘 兵 刘 澎 钱文斌 邱 林 汝 昆 施 均 宋玉琴
 孙春艳 唐晓文 佟红艳 王 迎 王 昱 王宏伟 魏 辉 吴 彤 肖 扬 许兰平
 俞文娟 张 磊 张翼鹭 郑国光 庄俊玲