

108例骨髓增殖性肿瘤患者基因突变与临床特征分析

谭雅娴¹ 许娜¹ 黄继贤² 吴婉儿¹ 刘靛¹ 周玲玲¹ 刘晓力¹ 阴常欣¹ 徐丹¹ 周璇¹

¹南方医科大学南方医院血液科, 广州 510515; ²粤北人民医院血液科, 韶关 512025

通信作者: 周璇, Email: zhoumeng_xuan@126.com

【摘要】 **目的** 分析经典型 BCR-ABL 阴性骨髓增殖性肿瘤 (MPN) 的基因突变及临床特征。**方法** 应用二代测序方法检测 108 例初诊 BCR-ABL 阴性 MPN 患者 [原发性血小板增多症 (ET) 55 例, 真性红细胞增多症 (PV) 24 例, 原发性骨髓纤维化 (PMF) 29 例] 与疾病相关的 127 个基因突变情况, 并分析基因突变与临床特征间的关系。**结果** 108 例 MPN 患者中, 100 例 (92.59%) 检出 32 种基因共 211 个突变, 人均检出 (1.96±1.32) 个突变。85.19% (92/108) 的患者检出驱动基因 (JAK2、CALR、MPL) 突变, 其中 69.56% (64/92) 的患者至少检出 1 种附加基因突变。按突变频率由高到低依次为激活信号通路基因 (42.2%, 89/211)、DNA 甲基化基因 (17.6%, 36/211)、染色质修饰基因 (16.1%, 34/211)。PV、ET、PMF 三组间激活信号通路基因、表观遗传调节基因、剪接体和 RNA 代谢基因突变个数差异均有统计学意义, PMF 附加基因平均突变数目高于 ET 及 PV 患者 (1.69±1.39、0.67±0.70、0.87±1.22, $\chi^2 = 13.445, P = 0.001$)。检出 ≥3 个突变基因患者 MPN 总症状评估量表 (MPN 10 评分) ($P = 0.006$)、骨髓纤维化程度 ($P = 0.015$) 均较检出 <3 个突变基因患者高, 且 HGB 水平更低 ($P = 0.002$); 26 例 (24.1%) 患者检出高危基因突变 (HMR), HMR 突变的患者具有更低的 PLT ($P = 0.017$) 和 HGB 水平 ($P < 0.001$), 更高的骨髓纤维化程度 ($P = 0.010$)、MPN10 评分 ($P < 0.001$)。PMF 患者 ASXL1 突变频率高于 PV 患者 (37.9% 对 4.2%, $P = 0.005$), ASXL1 突变的 PMF 患者具有更低的 PLT 和 HGB 水平 ($P = 0.029, 0.019$)。**结论** 近七成 MPN 患者检出至少 1 种附加基因突变, 24.1% 检出 HMR 突变, 各亚组有不同的基因突变模式; PMF 患者附加基因平均突变数目更多, ASXL1 突变频率更高。ASXL1 突变的 PMF 患者 PLT 和 HGB 水平更低。

【关键词】 骨髓增殖性肿瘤; 二代测序; 驱动基因; JAK2; ASXL1

基金项目: 国家自然科学基金 (81700104); 广州市科技计划 (201904010488); 广东省自然科学基金 (2017A030313506); 广东省医学科研基金 (201611917123790); 南方医科大学南方医院院长基金 (2016A002)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.07.008

Analysis of gene mutations and clinic features in 108 patients with myeloproliferative neoplasm

Tan Yaxian¹, Xu Na¹, Huang Jixian², Wu Waner¹, Liu Liang¹, Zhou Lingling¹, Liu Xiaoli¹, Yin Changxin¹, Xu Dan¹, Zhou Xuan¹

¹Department of Hematology, Nan fang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

²Department of Hematology, Yuebei People's Hospital, Shaoguan 512025, China

Corresponding author: Zhou Xuan, Email: zhoumeng_xuan@126.com

【Abstract】 **Objective** To analyze the genetic mutations and clinical features of the subtypes of classical BCR-ABL-negative myeloproliferative neoplasm (MPN). **Methods** Mutations of 108 newly diagnosed BCR-ABL-negative MPN patients [including 55 patients with essential thrombocytopenia (ET), 24 with polycythemia vera (PV), and 29 with primary myelofibrosis (PMF)] were identified using next-generation sequencing with 127-gene panel, and the relationship between gene mutations and clinical features were analyzed. **Results** Total 211 mutations in 32 genes were detected in 100 MPN patients (92.59%), per capita carried (1.96±1.32) mutations. 85.19% (92/108) patients carried the driver gene (JAK2, CALR, MPL) mutations, 69.56% (64/92) of these patients carried at least 1 additional gene mutation. In descending order of mutation frequency, the highest frequency was for activation signaling

pathway genes (42.2%, 89/211), methylation genes (17.6%, 36/211), and chromatin-modified genes (16.1%, 34/211). There was a significant difference in the number of mutations in the activation signaling pathway genes, epigenetic regulatory genes, spliceosomes, and RNA metabolism genes among the three MPN subgroups. The average number of additional mutations in PMF patients was higher than that in ET and PV patients (1.69 ± 1.39 , 0.67 ± 0.70 , 0.87 ± 1.22 , $\chi^2 = 13.445$, $P = 0.001$). MPN-SAF-TSS (MPN 10 score) ($P = 0.006$) and myelofibrosis level ($P = 0.015$) in patients with ≥ 3 mutant genes were higher and the HGB level ($P = 0.002$) was lower than in those with < 3 mutations. Twenty-six patients (24.1%) carried high-risk mutation (HMR), and patients with HMR had lower PLT ($P = 0.017$), HGB levels ($P < 0.001$), and higher myelofibrosis level ($P = 0.010$) and MPN10 score ($P < 0.001$). The frequency of ASXL1 mutations was higher in PMF than in PV patients (34.5% vs. 4.2%, $P = 0.005$). PMF patients with ASXL1 had lower levels of PLT and HGB ($P = 0.029$ and 0.019). **Conclusion** 69.56% of MPN patients carry at least one additional mutation, and 24.1% patients had HMR. Each subgroup had different mutation patterns. PMF patients had a higher average number of additional gene mutations, especially a higher frequency of ASXL1 mutation; PLT and HGB levels were lower in ASXL1 mutation PMF patients.

【Key words】 Myeloproliferative neoplasm; Next-generation sequencing; Driver gene; JAK2; ASXL1

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81700104); Guangzhou Science and Technology Plan (201904010488); Natural Science Foundation of Guangdong (2017A030313506); Guangdong Provincial Medical Research (201611917123790); Dean of Southern Hospital of Southern Medical University (2016A002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.07.008

经典的BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤(MPN)是一组起源于多能造血干细胞的恶性骨髓增殖性肿瘤,主要包括真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)和原发性骨髓纤维化(PMF)^[1]。JAK2 V617F突变不仅为BCR-ABL阴性MPN的分子学诊断标志,也是其治疗靶点^[2-3]。而后相继发现MPL和CALR基因突变在JAK2阴性ET及PMF中具有重要意义^[4-5],WHO 2016版造血和淋巴组织肿瘤分类标准将JAK2、CALR和MPL三个驱动基因突变作为MPN的主要诊断标准之一^[6]。近年来,一些研究发现MPN中存在其他基因突变,如ASXL1、EZH2、IDH1、IDH2和SRSF2等高危基因突变(HMR),并显示与MPN预后不良相关^[7-8]。此外,TP53和TET2基因突变均与MPN预后不良和白血病转化风险增加相关^[9]。我们回顾性分析2017年12月至2019年8月在南方医科大学南方医院就诊的108例初诊MPN患者临床资料,应用二代测序技术检测127个血液肿瘤相关基因突变,报道如下。

病例与方法

1. 病例资料:回顾性分析2017年12月至2019年8月在南方医科大学南方医院就诊的108例初诊BCR-ABL阴性MPN患者。所有病例均有明确的骨髓活检组织病理学诊断依据,且诊断符合WHO 2016版造血和淋巴组织肿瘤分类标准。全部患者初诊时均通过MPN-SAF-TSS量表(MPN10评分)评

估临床表现。

2. 二代测序检测:采集108例患者骨髓样本,使用全自动核酸提取仪(厦门凯硕生物科技有限公司产品)提取gDNA并构建Illumina标准文库,NimbleGen液相杂交捕获芯片(瑞士罗氏公司产品)进行血液肿瘤相关的127个基因(表1)目标序列捕获,在Nextseq 550AR(美国Illumina公司产品)上进行PE75测序。分析内容包括确定点突变(SNV)、插入和缺失(INDEL)、内部串联重复(ITD)和部分串联重复(PTD)等变异类型。使用MuTect2软件检测SNV和INDEL变异,ITD和PTD的变异检测通过Illumina公司自主研发算法完成。变异检测结果采用Annovar软件进行注释。为保证变异准确率,对原始变异检测结果进行过滤:每个样本捕获目标区域平均有效深度 $\geq 1000\times$,支持突变型的reads比对质量和碱基质量值均高于30,并且同时具有正负链支持。

3. 统计学处理:采用SPSS 23.0软件进行统计分析。计量资料的组间比较,符合正态分布资料采用单因素方差分析或 t 检验,非正态资料使用Kruskal-Wallis H 检验或Mann-Whitney U 检验;计数资料采用卡方检验或Fisher精确概率法进行差异性分析,检验水平 $\alpha = 0.05$;若三组间差异有统计学意义,再进行两两比较,采用Bonferroni法进行校正,校正后检验水平 $\alpha = 0.05/3 \approx 0.017$ 。Spearman-Rho分析患者的年龄和突变数量相关性。

结 果

1. 患者临床特征:本研究入组 108 例患者,男女均 54 例,中位年龄 63.5(23~83)岁,其中 ET 55 例, PV 24 例, PMF 29 例,患者一般资料见表 2。全部 MPN 患者的年龄和突变数量无明显相关性($r_s = 0.007, P = 0.940$)。PMF 患者年龄大于 ET 患者($P = 0.010$),对比另外两个亚组,PMF 患者还具有更高的 MPN10 评分($P < 0.001$)、更高的外周血原始细胞比例($P = 0.011$)、更严重的骨髓纤维化($P < 0.001$)及

更低的 HGB ($P < 0.001$); ET 患者具有更高的 PLT ($P < 0.001$); PV 患者具有更高的 HGB ($P < 0.001$)。

2. 二代测序检出情况:100 例患者检出 32 种基因共 211 个突变(图 1), 8 例(5 例 ET、1 例 PV、2 例 PMF)在分析的 127 个血液肿瘤相关的基因中未检出任何突变。75 例(69.4%)患者检出 1 个(35/108)或 2 个(40/108)突变, 14 例(13.0%)检出 3 个突变(5 例 ET、3 例 PV、6 例 PMF), 6 例检出 4 个突变(3 例 ET、3 例 PMF), 5 例突变 ≥ 5 个(2 例 ET、3 例 PMF), 人均检出(1.96 \pm 1.32)个突变。JAK2、CALR 和 MPL

表 1 二代测序检测的 127 个基因突变功能分类

功能分组	基因突变
激活信号通路基因	ABL、AKT2、AKT3、AMER1、ATRX、ATM、BRAF、CBL、CRLF2、CSF1R、CSF3R、EGFR、ETNK1、FLT3、HRAS、IL7R、JAK1、JAK2、JAK3、KIT、MAP2K4、MAP3K7、MYD88、NF1、NOTCH1、NOTCH2、NRAS、NTRK1、NTRK2、KRAS、PDGFRA、PIK3CA、PTEN、PTPN11、SH2B3、SMAD4、STAT3、SYK、TRAF3
细胞代谢基因	CYP2C19、CYP3A4、ELA2、GSTM1、GSTP1、MTHFR、NT5C2、NQO1、PIGA
组蛋白甲基化基因	MLL、EZH2、NPM1、SETD2
DNA 甲基化基因 ^a	DNMT3A、TET2、IDH1、IDH2、TPMT
染色质修饰基因 ^a	ASXL1、BCOR、BCOR1、BLM、EP300、ID3、KDM6A、KMT2C、PHF6、SETBP1
肿瘤抑制基因	APC、CBLB、CBLC、CDKN2A、MDM2、MPL、TP53、WT1
髓系相关转录因子基因	CEBPA、AML1(RUNX1)、GATA1、GATA2、GATA3、ETV6
转录因子基因	CREBBP、CUX1、ERG、GFI1、IKZF1、MEF2B、RB1、STAT5B、STAT5A、TCF3
剪接体和 RNA 代谢基因	DDX41、PRPF8、SF3B1、SRSF2、U2AF1、ZRSR2
黏合蛋白复合体基因	RAD21、SMC1A、SMC3、STAG2
细胞黏附基因	FAT1
其他	ABCB1、ABCC3、BCL2、BIRC3、CACNA1E、CALR、CARD11、CCND1、CD79B、CDA、CTLA4、DIS3、DNAH9、DKC1、ERCC1、FAM46C、FBXW7、HAX1、GNAS、MLH1、NF2、SRP72、TERT、TERC、XRCC1

注:^a DNA 甲基化基因与染色质修饰基因均为表观遗传调节基因

表 2 108 例 BCR-ABL 阴性骨髓增殖性肿瘤患者临床特征

临床特征	ET(55 例)	PV(24 例)	PMF(29 例)	统计量	P 值
性别(例,男/女)	32/23	8/16	14/15	$\chi^2 = 4.174$	0.124
年龄[岁, M(范围)]	61(23~83)	63(23~79)	68(38~78)	$H = 9.988$	0.007
WBC[$\times 10^9/L$, M(范围)]	9.16(2.30~27.72)	10.50(3.10~36.30)	12.69(1.23~222.01)	$H = 1.920$	0.383
HGB[g/L, M(范围)]	136(71~173)	187(112~221)	97(57~186)	$F = 70.419$	<0.001
PLT[$\times 10^9/L$, M(范围)]	982(269~1 944)	252.5(129~760)	150(32~974)	$H = 48.199$	<0.001
外周血原始细胞比例[%, M(范围)]	0(0~4)	0(0~1)	0(0~9)	$H = 13.236$	0.001
原始细胞比例 $\geq 1\%$ [例(%)]	4(7.3)	3(12.5)	10(34.5)	$\chi^2 = 10.844$	0.040
MPN10 评分[分, M(范围)]	6(0~61)	3.5(0~26)	19(4~38)	$H = 22.974$	<0.001
骨髓纤维化(网染)[M(范围)]	1+(0~3+)	1+(0~3+)	3+(1+~4+)	$H = 18.784$	<0.001
基因突变[例(%)]					
JAK2 阳性	30(54.5)	23(95.8)	18(62.1)	$\chi^2 = 12.884$	0.002
CALR 阳性	15(27.3)	0(0.0)	7(24.1)	$\chi^2 = 8.009$	0.018
MPL 阳性	6(11.0)	0(0.0)	1(3.4)	$\chi^2 = 3.882$	0.144
三阴性	9(16.4)	1(4.2)	6(20.7)	$\chi^2 = 3.054$	0.217

注:ET:原发性血小板增多症;PV:真性红细胞增多症;PMF:原发性骨髓纤维化;MPN10 评分:骨髓增殖性肿瘤总症状评估量表

作为MPN的驱动基因,92例(85.19%)患者至少检出1个驱动基因突变,69.56%(64/92)至少有1个额外的突变基因,39.14%(36/92)仅检出驱动基因突变(图2),驱动基因突变个数占全部突变的47.39%(100/221)。检出驱动基因的患者其附加基因的突变频率高于未检出驱动基因的患者($z = -4.117, P < 0.001$)。

JAK2(71例)是最常见的基因突变,其次是TET2(27例)、CALR(22例)、ASXL1(21例)。ET、PMF和PV患者中JAK2突变率分别为54.5%、62.1%、95.8% ($\chi^2 = 12.884, P = 0.002$),两两比较示PV患者明显高于ET及PMF患者,PMF和ET患者比较差异无统计学意义;CALR突变率分别为27.3%、24.1%、0,差异无统计学意义($\chi^2 = -0.097, P = 0.756$);MPL突变率分别为10.9%、3.5%、0,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.384, P = 0.239$)。PV患者中均未检出CALR和MPL突变。

PMF、PV、ET三组患者全部基因平均突变数目分别为 2.59 ± 1.57 、 1.63 ± 0.77 、 1.78 ± 1.29 ,差异有统计学意义($\chi^2 = 9.479, P = 0.009$)。其中,三组患者驱动基因平均突变数目分别为 0.90 ± 0.56 、 0.96 ± 0.20 、 0.91 ± 0.48 ,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.377, P = 0.828$);附加基因平均突变数目分别为 1.69 ± 1.39 、 0.67 ± 0.70 、 0.87 ± 1.22 ,三组间差异有统计学意义($\chi^2 = 13.445, P = 0.001$),两两比较示PMF明显高于ET($P = 0.009$)及PV($P = 0.006$)。

32种基因的211个突变根据基因的功能分类,

按突变频率由高到低依次为激活信号通路基因(42.2%, 89/211)、DNA甲基化基因(17.6%, 36/211)、染色质修饰基因(16.1%, 34/211)、肿瘤抑制基因(5.7%, 12/211)、剪接体和RNA代谢基因(4.4%, 10/211)、转录因子基因(1.9%, 4/211)、黏连蛋白复合体基因(0.95%, 2/211)。

激活信号通路相关基因是MPN患者中出手检出率最高突变,PV、ET、PMF三组间激活信号通路基因平均突变数目比较有统计学意义(1.13 ± 0.41 、 0.65 ± 0.64 对 $0.93 \pm 0.80, \chi^2 = 9.892, P = 0.007$),但两两比较时未见明显差异(PV对PMF, $P = 1.000$;PV对ET, $P = 0.024$;PMF对ET, $P = 0.198$)。

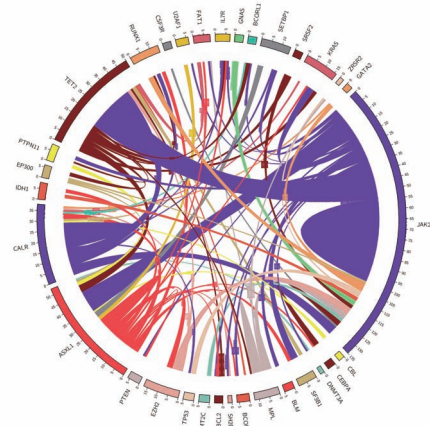


图2 108例BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤患者突变基因和弦图

PV、ET、PMF表观遗传调节基因(即DNA甲基化基因和染色质修饰基因)平均突变数目分别为

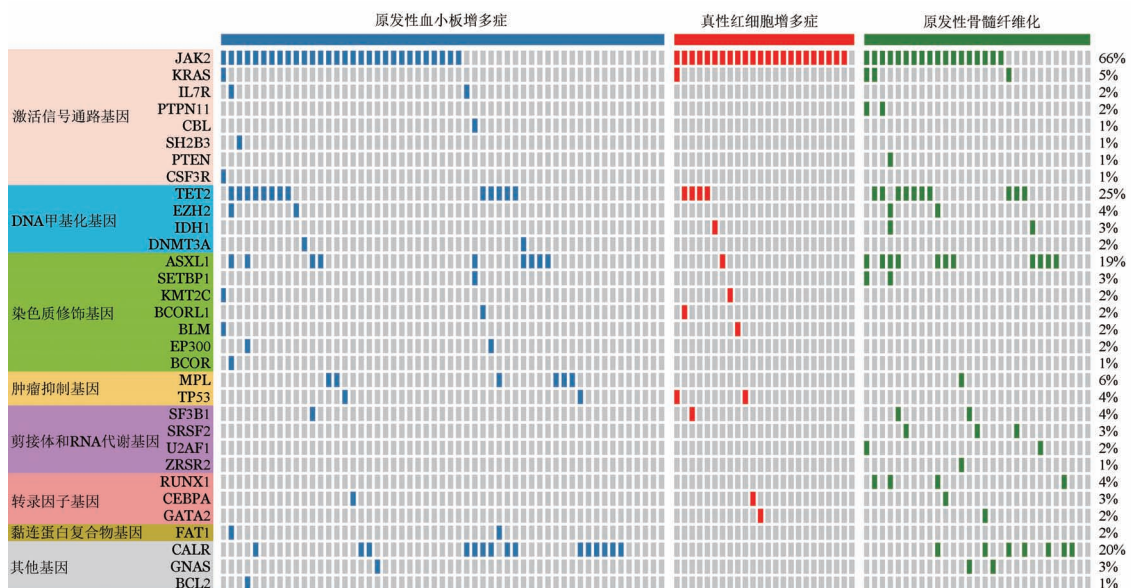


图1 108例BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤患者基因突变分布情况

0.42±0.58、0.60±0.87、0.93±0.92,三组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 6.787, P = 0.034$),两两比较时差异均无统计学意义(PMF对PV, $P = 0.051$; PMF对ET, $P = 0.258$; PV对ET, $P = 0.815$)。

ASXL1 占有所有突变的染色质修饰基因的62.7% (21/34),不同患者亚组中ASXL1突变频率差异有统计学意义($\chi^2 = 10.237, P = 0.006$),ASXL1在PMF患者中的突变频率最高(37.9%, 11/29),明显高于PV患者(4.2%, 1/24) ($P = 0.005$),与ET患者(16.4%, 9/55)比较无明显差异($P = 0.046$)。

PMF、ET、PV 剪接体和RNA代谢基因平均突变数目差异有统计学意义(0.28±0.45、0.02±0.13对0.04±0.45, $\chi^2 = 15.811, P < 0.001$),PMF高于ET及PV患者(PMF对PV, $P = 0.007$; PMF对ET, $P < 0.001$; PV对ET, $P = 1.000$)。

3. 基因突变与临床表现的关系:25例患者检出≥3个突变基因,其MPN10评分、骨髓纤维化程度明显高于检出<3个突变基因患者($z = -2.750, P = 0.006$; $z = -2.435, P = 0.015$),HGB明显降低($z = -3.067, P = 0.002$),而两组间WBC、PLT、年龄及性别差异无统计学意义(表3)。

108例患者中26例(24.1%)检出HMR突变。HMR突变患者较无HMR突变患者具有更低的

PLT和HGB水平($z = -2.385, P = 0.017$; $z = -5.143, P < 0.001$)以及更高的骨髓纤维化程度及MPN10评分($z = -2.593, P = 0.010$; $z = -3.525, P < 0.001$)(表4)。

ASXL1是PMF患者中突变频率最高的表观遗传调节基因,且突变频率高于PV、ET患者。进一步分析ASXL1突变状态与PMF患者临床特征关系,显示ASXL1突变型患者(11例)具有较低的PLT和HGB水平($z = -2.181, P = 0.029$; $z = -2.341, P = 0.019$),ASXL1突变型患者年龄较野生型更低($z = -2.143, P = 0.032$)(表5)。

讨 论

本研究我们分析了108例初诊MPN患者(ET 55例、PV 24例、PMF 29例)临床资料,应用二代测序检测127个血液肿瘤相关基因突变情况,92例(85.19%)患者3个典型突变基因(JAK2、CALR和MPL)中至少检出1个,其中69.56%(64/92)至少有1个额外的基因突变。本研究组中驱动基因的检出率较国内其他研究高^[10-11],可能与检测方式及样本数有关。与<3个突变基因患者相比,≥3个突变基因患者MPN10评分、骨髓纤维化程度明显升高,HGB水平降低。

随着对MPN致病机制研究的深入,目前研究发

表3 BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤患者突变个数与临床特征的关系

特征	检出<3个突变(83例)	检出≥3个突变(25例)	统计量	P值
性别(例,男/女)	41/42	13/12	$\chi^2 = 0.052$	0.820
年龄[岁, M(范围)]	63.5(23~83)	65(23~78)	$z = -0.313$	0.754
WBC[×10 ⁹ /L, M(范围)]	8.91(2.30~222.01)	10.50(1.23~63.27)	$z = -1.009$	0.313
HGB[g/L, M(范围)]	136(57~221)	107(57~205)	$z = -3.067$	0.002
PLT[×10 ⁹ /L, M(范围)]	588(17~1944)	392.5(63~1784)	$z = -0.837$	0.403
骨髓纤维化(网染)[M(范围)]	1+(0~4+)	2+(1+~4+)	$z = -2.435$	0.015
MPN10评分[分, M(范围)]	8(0~38)	12(0~61)	$z = -2.750$	0.006

注:MPN10评分:骨髓增殖性肿瘤总症状评估量表

表4 BCR-ABL阴性骨髓增殖性肿瘤患者有无HMR突变临床特征比较

特征	HMR突变(26例)	无HMR突变(82例)	统计量	P值
性别(例,男/女)	12/14	42/40	$\chi^2 = 0.203$	0.653
年龄[岁, M(范围)]	62(23~83)	65(23~77)	$z = -0.564$	0.573
WBC[×10 ⁹ /L, M(范围)]	10.18(1.23~222.01)	9.09(3.10~74.19)	$z = -0.254$	0.799
HGB[g/L, M(范围)]	77(57~151)	139(65~221)	$z = -5.143$	<0.001
PLT[×10 ⁹ /L, M(范围)]	333(63~1784)	650(17~1944)	$z = -2.385$	0.017
骨髓纤维化(网染)[M(范围)]	3+(0~4+)	1+(0~4+)	$z = -2.593$	0.010
MPN10评分[分, M(范围)]	12.5(0~61)	7(0~30)	$z = -3.525$	<0.001

注:HMR:高危基因突变,包括ASXL1、EZH2、IDH1、IDH2和SRSF2等;MPN10评分:骨髓增殖性肿瘤总症状评估量表

表5 原发性骨髓纤维化患者ASXL1突变型与野生型患者临床特征分析

特征	ASXL1突变型(11例)	ASXL1野生型(18例)	统计量	P值
性别(例,男/女)	7/4	7/11	$\chi^2 = 1.675$	0.196
年龄[岁, M(范围)]	65(56~73)	70.5(38~78)	$z = -2.143$	0.032
HGB[g/L, M(范围)]	74(56~109)	105.5(65~185)	$z = -2.341$	0.019
WBC[$\times 10^9/L$, M(范围)]	20.94(3.01~222.01)	10.81(1.23~31.10)	$z = -1.709$	0.088
PLT[$\times 10^9/L$, M(范围)]	103(17~133)	180.5(68~974)	$z = -2.181$	0.029
MPN10评分[M(范围)]	19(4~35)	17(4~38)	$z = -0.158$	0.875
骨髓纤维化(网染)[M(范围)]	3+(1+~4+)	3+(1+~4+)	$z = -0.525$	0.600

注:MPN10评分:骨髓增殖性肿瘤总症状评估量表

现,除JAK2、CALR、MPL等驱动基因突变之外的附加突变在MPN的发生起重要作用,其中ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1/2这5种基因被定义为与白血病转化相关的HMR,而发生附加突变的数目直接与预后和并发症的发生相关,频繁的基因突变也与PMF患者持续的体质性症状相关^[12-14]。本研究我们发现检出HMR突变患者较未突变患者具有更低的PLT和HGB水平,以及更高的骨髓纤维化程度、MPN10评分。依据MPN的常见症状,2011年美国、意大利和瑞典国际合作组制定MPN症状评估表(MPN-SAF)^[15],2012年Emanuel等^[16]在MPN-SAF的基础上制定MPN-SAF-TSS(MPN10)。MPN-SAF-TSS评分比MPN-SAF更加简洁直观,尤其适用于动态随访。既往研究证实MPN-SAF-TSS评估量表对MPN各种疾病在其病程演进过程中均能通过症状负荷的高低清楚显示患者的疾病状态^[15]。本研究结果显示,PMF患者的症状负荷和发生率均高于PV和ET患者,进一步证实症状负荷反映疾病的严重程度,与Emanuel等^[16]的研究结果相似。

2018年,梅奥诊所通过分析803例PMF患者临床资料,提出包含常规临床危险因素、遗传危险因素和纤维化前PMF形态特征的MIPSS70预后模型及包含细胞遗传学风险分层信息的MIPSS70-plus预后模型,这两种预后模型均考虑HMR对PMF患者的不良预后影响^[9]。在本次研究中,PMF患者表观遗传调节基因个数显著高于PV患者,ASXL1在PMF患者中的突变频率最高。ASXL1基因突变最先在骨髓增生异常综合征中发现,通过与梳样结构抑制物复合体2(PRC2)发生反应,影响组蛋白的翻译、修饰,起到抑癌作用^[17-18]。PMF中11例ASXL1突变型患者具有更低的PLT和HGB水平,可能是由于ASXL1突变后,其抑癌基因的作用消失及高骨髓纤维化倾向有关。多个国际队列研究表明,ASXL1

突变在MDS、急性髓系白血病(AML)、慢性粒-单核细胞白血病中均与不良预后相关^[19-21],ASXL1突变也是促进PMF患者发生白血病转化、导致其生存期缩短的独立危险因素^[22]。ASXL1的改变可能发生在MPN形成的早期,并且获得其他突变会导致临床表现出疾病表型的发展,其突变顺序与预后密切相关^[23-24]。Gill等^[25]发现,由SF3B1、SRSF2、ZRSR2和U2AF1组成的剪接基因组与较差的无白血病生存相关。Vainchenker等^[26]研究结果显示,与未突变的患者相比,SRSF2突变患者具有更短的转化为继发性AML(sAML)时间及更短的总生存期,推测SRSF2会增加转化风险但不直接导致白血病转化,PMF患者剪接体和RNA代谢基因突变个数多于ET及PV患者,也可能是导致PMF患者预后不良的原因之一。

基因突变类型及数目直接或间接参与MPN克隆演化进程,及时检测MPN基因突变对明确疾病特征、指导治疗、判断预后具有重要临床意义,因此有条件的医院应将ASXL1、EZH2、SRSF2、IDH1/2等基因突变列为推荐检测项目^[27]。

参考文献

- [1] Spivak JL. Myeloproliferative Neoplasms [J]. N Engl J Med, 2017, 377(9):895-896.
- [2] 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.
- [3] Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2014, 2014(1):277-286. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.277.
- [4] 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.

- [5] Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2 [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(25):2391-2405. DOI: 10.1056/NEJMoa1312542.
- [6] Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion [J]. *Blood Cancer J*, 2018, 8(2):15. DOI: 10.1038/s41408-018-0054-y.
- [7] Guglielmelli P, Lasho TL, 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. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.4886.
- [8] Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis [J]. *Leukemia*, 2013, 27(9):1861-1869. DOI: 10.1038/leu.2013.119.
- [9] Lundberg P, Karow A, Nienhold R, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2014, 123(14):2220-2228. DOI: 10.1182/blood-2013-11-537167.
- [10] Xiao Z, Zhang Y, Li L, et al. The Janus kinase 2 (JAK2) V617F mutation in Chinese patients with chronic myeloproliferative disorders [J]. *Haematologica*, 2008, 93(5):787-788. DOI: 10.3324/haematol.12337.
- [11] 张晓燕, 买买提力·依马木, 李燕, 等. 新疆维吾尔族和汉族骨髓增殖性肿瘤患者 JAK2V617F 基因突变研究及其临床意义 [J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(12): 1020-1023. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.12.008.
- [12] Tefferi A, Lasho TL, Finke CM, et al. Targeted deep sequencing in primary myelofibrosis [J]. *Blood Adv*, 2016, 1(2):105-111. DOI: 10.1182/bloodadvances.2016000208.
- [13] Lasho TL, Mudireddy M, Finke CM, et al. Targeted next-generation sequencing in blast phase myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(4):370-380. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018015875.
- [14] Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, et al. The number of prognostically detrimental mutations and prognosis in primary myelofibrosis: an international study of 797 patients [J]. *Leukemia*, 2014, 28(9):1804-1810. DOI: 10.1038/leu.2014.76.
- [15] Scherber R, Dueck AC, Johansson P, et al. The Myeloproliferative Neoplasm Symptom Assessment Form (MPN-SAF): international prospective validation and reliability trial in 402 patients [J]. *Blood*, 2011, 118(2):401-408. DOI: 10.1182/blood-2011-01-328955.
- [16] Emanuel RM, Dueck AC, Geyer HL, et al. Myeloproliferative neoplasm (MPN) symptom assessment form total symptom score: prospective international assessment of an abbreviated symptom burden scoring system among patients with MPNs [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(33):4098-4103. DOI: 10.1200/JCO.2012.42.3863.
- [17] Katoh M. Functional and cancer genomics of ASXL family members [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(2):299-306. DOI: 10.1038/bjc.2013.281.
- [18] Abdel-Wahab O, Dey A. The ASXL-BAP1 axis: new factors in myelopoiesis, cancer and epigenetics [J]. *Leukemia*, 2013, 27(1):10-15. DOI: 10.1038/leu.2012.288.
- [19] Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. CALR and ASXL1 mutations-based molecular prognostication in primary myelofibrosis: an international study of 570 patients [J]. *Leukemia*, 2014, 28(7):1494-1500. DOI: 10.1038/leu.2014.57.
- [20] Devillier R, Mansat-De Mas V, Gelsi-Boyer V, et al. Role of ASXL1 and TP53 mutations in the molecular classification and prognosis of acute myeloid leukemias with myelodysplasia-related changes [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(10):8388-8396. DOI: 10.18632/oncotarget.3460.
- [21] Rotunno G, Mannarelli C, Brogi G, et al. Spectrum of ASXL1 mutations in primary myelofibrosis: prognostic impact of the ASXL1 p.G646Wfs*12 mutation [J]. *Blood*, 2019, 133(26):2802-2808. DOI: 10.1182/blood.2018879536.
- [22] Li B, Gale RP, Xu Z, et al. Non-driver mutations in myeloproliferative neoplasm-associated myelofibrosis [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):99. DOI: 10.1186/s13045-017-0472-5.
- [23] Ortmann CA, Kent DG, Nangalia J, et al. Effect of mutation order on myeloproliferative neoplasms [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(7):601-612. DOI: 10.1056/NEJMoa1412098.
- [24] Abdel-Wahab O, Tefferi A, Levine RL. Role of TET2 and ASXL1 mutations in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2012, 26(5):1053-1064. DOI: 10.1016/j.hoc.2012.07.006.
- [25] Gill H, Ip HW, Yim R, et al. Next-generation sequencing with a 54-gene panel identified unique mutational profile and prognostic markers in Chinese patients with myelofibrosis [J]. *Ann Hematol*, 2019, 98(4):869-879. DOI: 10.1007/s00277-018-3563-7.
- [26] Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2017, 129(6):667-679. DOI: 10.1182/blood-2016-10-695940.
- [27] 肖志坚. 骨髓增殖性肿瘤的诊断与治疗新模式 [J]. *循证医学*, 2019, 19(2): 70-72. DOI: 10.12019/j.issn.1671-5144.2019.02.004.

(收稿日期:2019-11-29)

(本文编辑:刘爽)