

• 论著-临床研究 •

真性红细胞增多症患者生存现状及基因突变分析*

谷文静¹ 付荣凤¹ 鞠满凯¹ 孙婷¹ 刘晓帆¹ 薛峰¹ 李慧媛¹ 池颖¹ 杨仁池¹ 张磊¹

【摘要】 目的:了解真性红细胞增多症(PV)患者的生存现状及基因突变情况。**方法:**对 409 例 PV 患者的临床资料进行回顾性分析。**结果:**409 例患者中,男 217 例,女 192 例,中位发病年龄 56 岁。有血栓栓塞事件者 149 例(36.4%),有出血事件者 46 例(11.2%)。COX 回归分析示女性、年龄>60 岁及心血管疾病危险因素为血栓栓塞事件的独立危险因素。生存分析显示高危组血栓栓塞风险显著高于低、中危组($\text{Log-rank}=23.943, P<0.001$),且高危组骨髓纤维化/白血病转化率显著高于低危组($\text{Log-rank}=4.857, P=0.028$)。初诊时血红蛋白 160~254 g/L,骨髓检查示 24.9%的患者粒、红、巨三系增生。JAK2-V617F 基因突变阳性者 362 例(89.6%),且提示不良预后,另检测出 JAK2-EXON12、TP53、TET2 等与疾病相关的少见突变。409 例患者经干扰素、羟基脲、干扰素联合羟基脲及非降细胞治疗后,5 年无骨髓纤维化/白血病生存率分别为 93.0%、79.6%、90.3%、78.5%,且降细胞治疗组无骨髓纤维化/白血病生存率显著高于非降细胞治疗组($\text{Log-rank}=4.563, P=0.033$)。**结论:**对于高龄、有心血管疾病危险因素的 PV 患者,应尽早进行预防性治疗。JAK2-V617F 突变与 PV 不良预后相关。对于高危 PV 患者,应积极行降细胞治疗以延缓向骨髓纤维化/白血病进展。

【关键词】 真性红细胞增多症;回顾性分析;生存现状;基因突变

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.09.006

【中图分类号】 R555.1 **【文献标志码】** A

Survival and genetic analysis of patients with polycythemia vera

GU Wenjing FU Rongfeng JU Mankai SUN Ting LIU Xiaofan

XUE Feng LI Huiyuan CHI Ying YANG Renchi ZHANG Lei

(Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, CAMS & PUMC, the State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Tianjin Laboratory of Blood Disease Gene Therapy, CAMS Key Laboratory of Gene Therapy for Blood Diseases, Tianjin, 300020, China)

Corresponding author: ZHANG Lei, E-mail: zhangleil@ihcams.ac.cn

Abstract Objective: To investigate the survival and genetic features in patients with polycythemia vera (PV). **Method:** The clinical data of 409 patients with PV were retrospectively analyzed. **Result:** Among the 409 patients, 217 were males and 192 were females with median age of 56 years old. Thromboembolic events occurred in 149 cases (36.4%) and bleeding events occurred in 46 cases (11.2%). Cox regression revealed that female, old age and cardiovascular risk factors were independent risk factors of thromboembolic events. Survival analysis showed patients in high-risk group were more likely to have thromboembolism than patients in low- and medium-risk group ($\text{Log-rank}=23.943, P<0.001$). There were also more patients in high-risk group suffering MF/AML progression compared with patients in low-risk group ($\text{Log-rank}=4.857, P=0.028$). Hemoglobin level was 160 to 254 g/L at initial diagnosis. Bone marrow examination showed that 24.9% of the patients had pancytosis. The JAK2-V617F mutation was positive in 362 cases (89.6%) and was proved to be related with poor prognosis. JAK2-EXON12, TP53, TET2 and other rare mutations were also detected. The 5-year survival of no post-PV MF/AML was 93.0% after treatment with interferon, 79.6% with hydroxyurea, 90.3% with combined treatment and 78.5% with no cytoreductive treatment. The survival rate of no post-PV MF/AML was significantly higher with cytoreductive treatment than no cytoreductive treatment ($\text{Log-rank}=4.563, P=0.033$). **Conclusion:** Patients in old age or with cardiovascular risk factors should be treated for prevention of thromboembolism as early as possible. JAK2-V617F mutation is associated with poor prognosis in patients with PV. Cytoreductive treatment is recommended

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81470302、81600099、81500084);京津冀基础研究合作专项(No:18JCZDJC44600、H2018206423);天津市自然科学基金(No:18JCQNJC11900);中国医学科学院医学与健康科技创新工程(No:2016-I2M-1-018、2017-I2M-1-015);中国医学科学院血液病基因治疗重点实验室(No:2017PT31047、2018PT31038)

¹ 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点实验室,国家血液病临床医学研究中心,天津市血液病基因治疗研究重点实验室,中国医学科学院血液病基因治疗重点实验室(天津,300020)

通信作者:张磊, E-mail: zhangleil@ihcams.ac.cn

for high-risk group patients to delay MF/AML progression.

Key words polycythemia vera;retrospective analysis;survival;genetic features

真性红细胞增多症(polycythemia vera,PV)是一种造血干细胞克隆性骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm,MPN),以红细胞增多为主要特点,并伴有不同程度的骨髓粒系、巨核系增生^[1]。PV起病隐匿,进展缓慢,以出血和血栓形成为主要临床表现,部分患者晚期可转化为骨髓纤维化及白血病。现将我院近5年收治的PV患者进行回顾性分析,对其临床、实验室特征、基因突变情况及治疗转归进行总结,以提高对该病的认识。

1 资料与方法

1.1 资料

2014-01—2018-09于我院新诊断的初治PV患者。依据2016年WHO的PV诊断标准^[2]将患者进行重新筛选,最终确定409例PV患者。

1.2 疗效判断标准^[3]

①临床缓解:临床症状消失,原肿大的肝脾显著回缩,血红蛋白、白细胞和血小板计数降至正常;②好转:临床症状明显改善,原肿大的肝脾有所回缩,血红蛋白下降30 g/L以上;③无效:临床症状、体征及血常规无变化或改善不明显。

1.3 方法

对409例PV患者进行回顾性分析,所有患者均进行血常规、骨髓细胞学检查,部分患者同时进行了血生化、血清EPO水平、MPN基因检测、造血祖细胞培养等检查。随访时间截止至2019年1月,中位随访时间24(4~60)个月。无血栓生存时间定义为PV发病(即化验指标异常)至血栓形成或末次随访时间,不同治疗组无骨髓纤维化生存时间定义为治疗起始至患者发生骨髓纤维化或末次随访时间。分类变量采用 χ^2 检验,生存分析采用Kaplan-Meier法,COX比例风险模型用于评估血栓形成的危险因素。采用SPSS21.0软件对数据进行统计学处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流行病学资料

409例PV患者中,男217例(53.1%),女192例(46.9%);发病年龄14~86岁,中位发病年龄56岁;患者来源于我国天津、河北、山东、内蒙古等16个省市。

2.2 临床特征及预后分组

409例患者中,大多数患者发病时间与就诊时间一致,少数患者指标异常早于就诊时间,且经回访患者我院就诊前并未诊治。其中92例(22.5%)缺乏典型症状,为体检时发现。非特异性症状包括皮肤、黏膜充血165例(40.3%),头晕、头痛105例(25.7%),肢体疼痛、活动障碍52例(12.7%),乏

力困倦34例(8.3%),皮肤瘙痒26例(6.4%),心悸、盗汗、胸闷、憋气23例(5.6%);脾脏肿大197例(48.2%),肝脏肿大39例(9.5%);发生出血事件46例(11.2%),其中牙龈渗血23例(5.6%),皮肤瘀斑12例(2.9%),鼻出血5例(1.2%),眼底出血5例(1.2%),颅内出血4例(1.0%),肠出血1例(0.2%);发生血栓栓塞事件149例(36.4%),其中栓塞部位为脑动脉108例(26.4%),冠状动脉42例(10.3%),下肢深静脉9例(2.2%),脾动脉5例(1.2%),肺动脉、门静脉各1例(0.2%)。对患者性别、发病年龄、心血管疾病危险因素、有无肝脾肿大、白细胞计数、血小板计数、治疗方式等进行COX回归模型多因素分析,结果显示女性、高龄(年龄 >60 岁)、心血管疾病危险因素[包括肥胖(BMI ≥ 28)、吸烟、高血压、高脂血症、糖尿病等]为PV患者血栓栓塞事件的独立危险因素,且放血治疗可使PV患者发生血栓栓塞事件的风险降低(表1)。

表1 PV患者血栓栓塞事件的多因素分析

危险因素	HR(95%CI)	P值
性别	1.462(1.043~2.047)	0.023
年龄 >60 岁	2.791(1.979~3.936)	<0.001
心血管疾病危险因素	2.019(1.321~3.085)	0.003
肝脾肿大	1.011(0.722~1.414)	0.823
白细胞计数 $>10 \times 10^9/L$	0.792(0.548~1.144)	0.202
血小板计数 $>450 \times 10^9/L$	1.162(0.812~1.664)	0.208
是否放血治疗	1.442(1.003~2.074)	0.048
是否降细胞治疗	0.892(0.488~1.629)	0.710

本研究参考Tefferi等^[4]提出的PV预后模型,依年龄(≥ 67 岁为5分,57~66岁为2分)、白细胞计数 $>15 \times 10^9/L$ (1分)、静脉血栓(1分)将患者分为低危组(0分,152例)、中危组(1或2分,146例)、高危组(≥ 3 分,111例),同时对不同预后分组患者的血栓栓塞和疾病转化风险进行生存分析(图1、2)。结果显示低危组患者的无血栓生存率显著高于中危、高危组患者(Log-rank=23.943, $P<0.001$),低危组患者向骨髓纤维化/白血病转化的风险较高危组明显降低(Log-rank=4.857, $P=0.028$),而低危组与中危组相比转化风险无统计学意义(Log-rank=2.743, $P=0.098$)。

2.3 实验室特征

409例患者我院就诊时查血常规,血红蛋白160~254 g/L[(198.8 $\pm$ 18.7) g/L],红细胞比容46.5%~77.1%[(60.9 $\pm$ 6.1)%],白细胞计数(2.7~43.8) $\times 10^9/L$ [(13.1 $\pm$ 5.7) $\times 10^9/L$],血

血小板计数($100 \sim 1513$) $\times 10^9/L$ [(446.2 ± 220.2) $\times 10^9/L$]。341 例患者检测血清尿酸水平,中位值 379.4($105.6 \sim 864.7$) $\mu\text{mol/L}$,增高者 192 例(56.3%)。334 例患者检测血清 EPO 水平,其中 271 例(81.1%)低于正常。

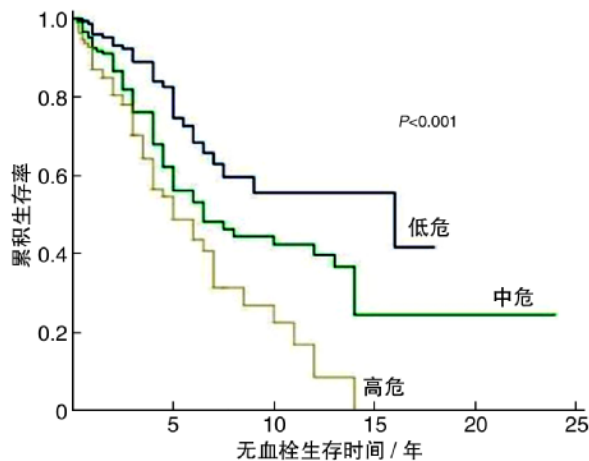


图 1 不同预后分组患者的无血栓生存曲线比较

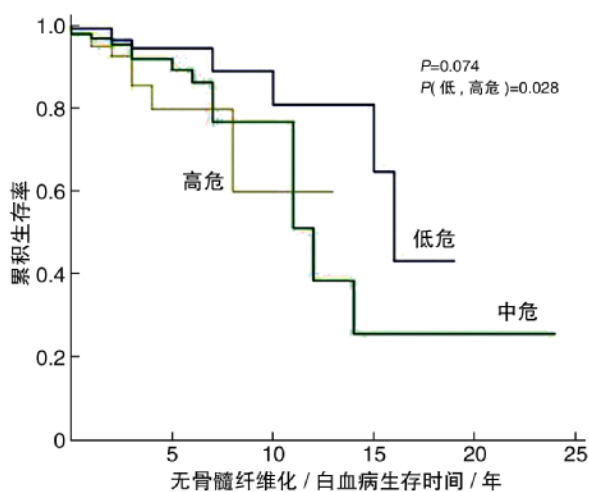


图 2 不同预后分组患者的无骨髓纤维化/白血病生存曲线比较

所有患者均行骨髓穿刺及病理活检,骨髓像提示骨髓增生极度活跃 3 例(0.7%),明显活跃 102 例(24.9%),活跃 272 例(66.5%),增生低下 21 例(5.1%)。102 例(24.9%)患者粒、红、巨三系造血细胞均增生,同时可见多形性、成熟巨核细胞。红系比例高于正常者 167 例(40.8%)。骨髓活检提示 168 例(41.1%)患者粒红比例减小,151 例(36.9%)患者有不同程度的骨髓纤维组织增生。观察 228 例患者的造血祖细胞培养,不加 EPO 于培养体系中,检测内源性红系集落生长情况,即 CFU-E(-EPO)阳性者 117 例(51.3%)。

2.4 MPN 基因检测

404 例患者进行 JAK2-V617F 基因突变检测,突变阳性者 362 例(89.6%)。分析 JAK2-V617F 突变与 PV 临床特征的相关性,结果显示 JAK2-V617F 突变阳性的患者中,女性、高白细胞、高血小板发生率高,患者易向骨髓纤维化/白血病转化甚至死亡,而 JAK2-V617F 突变是否阳性与血栓栓塞无相关性(表 2)。其中 232 例进行 JAK2-V617F 突变定量测定(2.5~96.0)%,高突变负荷组($\geq 50\%$)88 例,低突变负荷组($<50\%$)144 例,分析数据并未得出突变负荷与血栓栓塞($P=0.404$)及疾病转化/死亡($P=0.325$)的相关性。

表 2 JAK2-V617F 突变与 PV 患者临床特征的相关性

影响因素	JAK2-V617F 阳性 ($n=362$)	JAK2-V617F 阴性 ($n=42$)	χ^2 值	P 值
性别/例				
男	182	31	8.362	0.003
女	180	11		
白细胞计数/例				
$>10 \times 10^9/L$	266	6	59.947	<0.001
$\leq 10 \times 10^9/L$	96	36		
血小板计数/例				
$>450 \times 10^9/L$	175	2	29.035	<0.001
$\leq 450 \times 10^9/L$	187	40		
血栓栓塞/例				
有	131	16	0.059	0.466
无	231	26		
疾病转化/死亡/例				
有	33	0	4.169	0.023
无	329	42		

284 例患者检测 JAK2-EXON12,突变阳性者 9 例(3.2%)。254 例患者进行 BCR-ABL 基因突变检测,结果均为阴性。共有 63 例患者进行血液病基因突变全套检测,所有 63 例患者均至少存在 1 种突变基因,13 例(20.6%)为单基因突变,7 例(11.1%)为双基因突变,19 例(30.2%)存在 3 种基因突变,24 例(38.1%)基因突变数目 ≥ 4 个。其他类型的少见突变包括 TP53、TET2、DNMT3A、RUNX1、KMT2D、ABL1、FAT1、EZH2、ASXL1 等,相关基因突变频率及预后总结见表 3。

2.5 治疗与转归

本研究中纳入的所有新诊断 PV 患者的治疗方案,均由临床医生依据个体化原则制定。对于症状或化验指标控制不佳的高危患者首先推荐降细胞治疗,此外方案的选择仍需参考患者年龄、临床症状、血细胞计数、有无并发症、对治疗的不耐受或

表3 63例PV患者少见基因突变频率及预后分析

突变基因	突变数 (突变率)/例(%)	临床缓解 /好转/例	无效/转化为 骨髓纤维化/例
TP53	2(3.2)	0	2
TET2	6(9.5)	2	4
DNMT3A	5(7.9)	3	2
RUNX1	3(4.8)	1	2
KMT2D	11(17.5)	6	5
ABL1	2(3.2)	1	1
FAT1	9(14.3)	6	3
EZH2	3(4.8)	2	1

耐药情况、经济条件及依从性等。治疗方案包括干扰素、羟基脲降细胞治疗,红细胞单采或静脉放血等单独或联合应用。部分患者辅以阿司匹林、双嘧达莫等预防血栓形成,别嘌醇降低尿酸水平等。对409例PV患者随访4~60个月,其中羟基脲治疗194例,临床缓解59例(30.4%),好转98例(50.5%),进展为骨髓纤维化/白血病14例(7.2%),死亡5例(2.6%),死因包括重症肺炎、脑梗、心梗等;干扰素治疗78例,临床缓解31例(39.7%),好转39例(50.0%),进展为骨髓纤维化3例(3.8%),死亡1例(1.3%),死因不详;干扰素联合羟基脲治疗101例,临床缓解41例(40.6%),好转49例(48.5%),进展为骨髓纤维化3例(3.0%),死亡1例(1.0%),死因为腹主动脉破裂出血。治疗性红细胞单采或静脉放血作为上述部分患者的紧急辅助治疗措施。非降细胞治疗如单纯静脉放血或阿司匹林治疗36例,临床缓解2例(5.6%),好转5例(13.9%),进展为骨髓纤维化/白血病5例(13.9%),死于肝癌1例(2.8%)。

409例PV患者经干扰素、羟基脲、干扰素联合羟基脲及非降细胞治疗后,5年无骨髓纤维化/白血病生存率分别为93.0%、79.6%、90.3%、78.5%。Kaplan-Meier生存分析显示,降细胞治疗组无骨髓纤维化/白血病生存率显著高于非降细胞治疗组($\text{Log-rank}=4.563, P=0.033$),而羟基脲与干扰素治疗组间差异无统计学意义(图3)。

3 讨论

本研究中PV中位发病年龄为56岁,男性患者稍多于女性,不同预后分组(低、中、高危)患者比例相近,与此前一项纳入1545例PV患者的国际性研究结果相似^[4]。PV起病隐匿,约22.5%的患者无典型症状,仅为体检时发现,提示定期监测血常规对于PV早期诊断的重要性。皮肤、黏膜充血则为患者就诊时最常见的主诉。

血栓栓塞事件为PV常见的并发症。一项单中心国外研究表明^[5],与动脉血栓形成明显相关的因素包括年龄 >60 岁($P=0.006$)、高血压($P=$

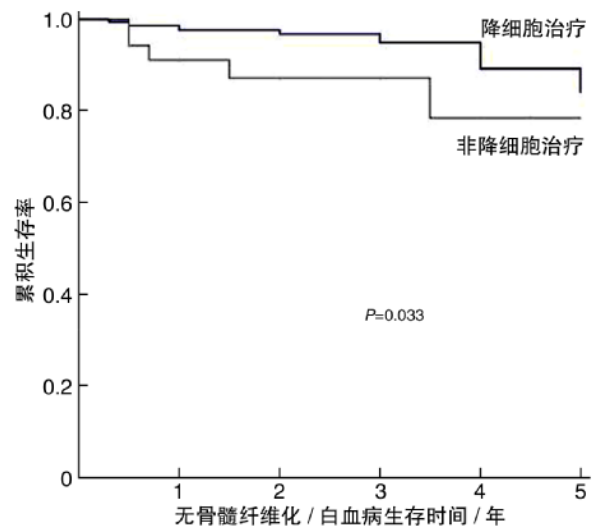


图3 不同治疗组患者无骨髓纤维化/白血病生存曲线比较

0.004)、糖尿病($P=0.005$)、高脂血症($P<0.0001$)和正常染色体核型($P=0.01$)。本研究COX回归分析显示,女性、年龄 >60 岁、心血管疾病危险因素(肥胖、吸烟、高血压、糖尿病、高脂血症)等为PV患者血栓栓塞事件的独立危险因素,且放血治疗可降低PV血栓栓塞发生率,与国外研究结果基本一致。提示对于高龄、有心血管疾病危险因素的患者,应尽早进行预防栓塞治疗。

2005年,James等^[6]发现超过80%的PV患者存在特异性JAK2基因突变,更新了PV的诊断标准。此后不同文献报道的JAK2-V617F突变率超过95%,稍高于本研究成果(89.6%)。已有研究表明,高JAK2-V617F突变负荷可能导致患者的不良预后^[7-8],如脾大($\text{RR}=4.7, P<0.001$)、皮肤瘙痒($\text{RR}=3.1, P<0.001$)、发生血栓栓塞事件($\text{RR}=7.1, P=0.003$)等。本研究发现JAK2-V617F突变阳性患者中,女性、高白细胞、高血小板发生率高,患者易发生疾病转化甚至死亡。而本研究中JAK2-V617F突变与血栓栓塞事件的关系尚不明确,可能与随访时间较短有关。本研究同时检测出PV相关的其他少见突变,包括JAK2-EXON12、TP53、TET2、DNMT3A、RUNX1、KMT2D等,因检测例数较少,暂未发现少见突变与预后的相关性。今后应对本中心就诊的PV患者进行更全面的基因突变负荷检测及更细致的预后随访,以提高我国PV预后模型质量。

目前可用于PV治疗的药物主要目的是预防血栓形成,而非改变疾病的演变过程。低危组(年龄 ≤ 60 岁且既往无血栓病史)推荐保守治疗,即静脉放血联合小剂量阿司匹林治疗。高危组(年龄 >60 岁或既往有血栓病史)推荐降细胞治疗,其中一、二、三线治疗方案分别为羟基脲、干扰素和白消安^[9]。药物对PV的预后影响尚存在争议,一项纳

入 1 042 例 PV 患者的国际研究表明,羟基脲治疗相比于单纯静脉放血,心血管事件发生率明显降低($P=0.002$),且经 5 年随访,无一例羟基脲治疗患者进展为骨髓纤维化^[10]。本研究中降细胞治疗组无骨髓纤维化/白血病生存率显著高于非降细胞治疗组($\text{Log-rank}=4.563, P=0.033$),而羟基脲与干扰素治疗组间差异无统计学意义。提示临床上对于有高龄、栓塞病史、血细胞计数控制不佳等高危因素的患者,应积极行降细胞治疗以延长无骨髓纤维化/白血病生存时间。此外,对上述药物疗效不佳或不良反应不能耐受的患者,可考虑 JAK2 抑制剂,如芦可替尼,主要是由于其在控制红细胞比容、缩小脾脏体积、改善皮肤瘙痒、降低 JAK2-V617F 等位基因负荷等方面优于标准治疗方案^[9,11]。

综上所述,本研究通过对单中心 409 例 PV 患者进行回顾性分析,总结了影响 PV 血栓栓塞及预后的危险因素,分析了 PV 患者基因突变情况及其与临床特征的相关性,同时比较了不同治疗方式的病情转归,对临床具有一定的指导意义。然而本研究尚存在一定局限性,因随访时间较短,无法获得部分患者的远期转归情况。此外,由于样本检测条件受限,早期纳入的患者无法进行全套基因突变检测,导致部分观察指标存在缺失。上述研究结果仍需开展多中心大样本量研究进一步证实。

参考文献

- [1] Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management[J]. Am J Hematol, 2019, 94:133–143.
- [2] 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, 127:2391–2405.
- [3] 张之南, 沈悝. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998:141–141.
- [4] Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study[J]. Leukemia, 2013, 27:1874–1881.
- [5] Cerquozzi S, Barraco D, Lasho T, et al. Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients[J]. Blood Cancer J, 2017, 7:662.
- [6] James C, Ugo V, Le Couédic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera[J]. Nature, 2005, 434:1144–1148.
- [7] Jones AV, Chase A, Silver RT, et al. JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms[J]. Nat Genet, 2009, 41:446–449.
- [8] Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2 (V617F) allele burden[J]. Leukemia, 2007, 21:1952–1959.
- [9] Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Polycythemia vera treatment algorithm 2018[J]. Blood Cancer J, 2018, 8:3.
- [10] Barbui T, Vannucchi AM, Finazzi G, et al. A reappraisal of the benefit-risk profile of hydroxyurea in polycythemia vera: A propensity-matched study[J]. Am J Hematol, 2017, 92:1131–1136.
- [11] Vannucchi AM, Verstovsek S, Guglielmelli P, et al. Ruxolitinib reduces JAK2 p. V617F allele burden in patients with polycythemia vera enrolled in the RESPONSE study[J]. Ann Hematol, 2017, 96:1113–1120.

(收稿日期:2019-06-30)