

原发性血小板增多症与早期原发性骨髓纤维化的临床特征及基因突变检测*

李燕¹ 赵红玉² 陈萍² 李大启²

[摘要] 目的:探讨原发性血小板增多症(ET)与早期原发性骨髓纤维化(pre-PMF)患者的骨髓病理学、临床特征、血液学参数及基因突变,以期指导治疗,改善预后。方法:按照 WHO 2016 年标准重新评估 ET 的诊断,并对其临床特征和相关基因检测进行分析。结果:原诊断的 ET 患者有 78 例,24 例(31%)患者被重新诊断为 pre-PMF,54 例(69%)为 ET。与 ET 患者比较,pre-PMF 患者发病年龄较大($P=0.001$)、白细胞计数较高($P=0.001$)、血小板计数较高($P=0.030$)、乳酸脱氢酶水平较高($P=0.004$)、血红蛋白较低($P=0.001$)。pre-PMF 患者血栓事件发生率较 ET 患者高($P=0.014$),二者脾大及性别分布差异均无统计学意义($P=0.389$, $P=0.307$)。2 组间及组内比较 JAK2V617F、CALR、MPL 基因突变负荷分布差异均无统计学意义。共对 43 例患者进行二代测序,有 14 例(33%)检测出基因突变,其中 pre-PMF 8 例(57%),ASXL1 突变 3 例,EZH2 突变 2 例,SRSF2 突变 1 例,U2AF1 突变 1 例,SF3B1 突变 1 例,TET2 突变 1 例,TP53 突变 1 例,其中有 1 例同时合并 ASXL1、EZH2、TET2 突变;ET 6 例(43%),其中 U2AF1 突变 2 例,SRSF2 突变 1 例,TET2 突变 2 例,SETBP1 突变 1 例,未同时存在 2 种或以上的高危分子突变,pre-PMF 患者高危分子突变数量较 ET 更多($P=0.033$)。结论:本研究表明可结合骨髓病理学、临床特征、血液学参数及基因突变有助于 ET 与 pre-PMF 的鉴别。

[关键词] 原发性血小板增多症;早期原发性骨髓纤维化;临床特征;血液学参数;基因突变

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.03.005

[中图分类号] R558 [文献标志码] A

Clinical features and gene mutation detection of essential thrombocythemia and early primary myelofibrosis

LI Yan¹ ZHAO Hongyu² CHEN Ping² LI Daqi²

(¹School of Clinical Medicine, Weifang Medical College, Weifang, 261042, China; ²Department of Hematology, Central Hospital Affiliated to Shandong First Medical University)

Corresponding author: LI Daqi, E-mail: ldq9194@126.com

Abstract Objective: To investigate the bone marrow pathology, clinical features, hematological parameters and gene mutations of patients with essential thrombocythemia(ET) and early primary myelofibrosis(pre-PMF), thereby guiding treatment and improving prognosis. **Methods:** The diagnosis of ET was reassessed according to the WHO 2016 criteria, and its clinical features and related genetic tests were analyzed. **Results:** There were 78 patients with originally diagnosed ET, 24 patients(31%) were re-diagnosed as pre-PMF, and 54 patients(69%) were ET. Compared with ET patients, pre-PMF patients were older at onset($P=0.001$), had higher white blood cell counts($P=0.001$), higher platelet counts($P=0.030$), and higher lactate dehydrogenase levels($P=0.004$) and lower hemoglobin($P=0.001$). The incidence of thrombotic events in pre-PMF was higher than in ET($P=0.014$), and there was no significant difference in splenomegaly and gender distribution between the two groups ($P=0.389$, $P=0.307$). There was no significant difference in the distribution of JAK2V617F, CALR and MPL gene mutation load between the two groups and within the group. A total of 43 patients underwent next-generation sequencing, and 14 patients(33%) were detected with gene mutations, 8 patients(57%) were pre-PMF, including 3 patients with ASXL1 mutation, 2 patients with EZH2 mutation, 1 patient with SRSF2 mutation, 1 patient with U2AF1 mutation, 1 case with SF3B1 mutation, 1 case with TET2 mutation, 1 case with TP53 mutation, 1 case combined with ASXL1, EZH2 and TET2 mutation. Six cases(43%) were ET, including 2 cases of U2AF1 muta-

*基金项目:国家自然科学基金(No:82000125)

¹潍坊医学院临床医学院(山东潍坊,261042)

²山东第一医科大学附属中心医院血液科

通信作者:李大启, E-mail: ldq9194@126.com

tion, 1 case of SRSF2 mutation, 2 cases of TET2 mutation and 1 case of SETBP1 mutation. Two or more coexisting high-risk molecular mutations (HMR) were undetected. The number of HMR in pre-PMF patients was higher than in ET ($P=0.033$). **Conclusion:** This study shows that the combination of bone marrow pathology, clinical features, hematological parameters and gene mutation can help to differentiate ET from pre-PMF.

Key words essential thrombocythemia; pre-primary myelofibrosis; clinical features; hematological parameters; gene mutation

早期原发性骨髓纤维化(pre-primary myelofibrosis, pre-PMF)与原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)临床表现相似,预后不同,pre-PMF 生存期显著缩短。有研究表明 ET 的总生存率高,中位生存期较长,预后较好,急性白血病转化的风险低^[1-4]。然而二者的临床特征极其相似,鉴别诊断仍然十分困难。本研究采用 WHO 2016 年标准对既往诊断的 ET 患者重新进行评估,结合最新的二代测序技术,探讨 ET 和 pre-PMF 的异同,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料

收集 2014 年 4 月—2022 年 2 月于济南市中心医院初次就诊的 78 例 ET 患者的临床资料,包括年龄、性别、血常规、血清乳酸脱氢酶、骨髓病理学、基因突变和脾脏大小(肝胆胰脾彩超和体检发现的脾脏大小)、就诊前(就诊时)是否合并血栓事件。基因检测结果为 U2AF1、SRSF2、ASXL1、EZH2、IDH1/IDH2、TET2、SF3B1、TP53,其中高分子风险突变(high molecular risk mutation, HMR)包括 U2AF1、SRSF2、ASXL1、EZH2、IDH1/IDH2。排除临床资料不全或未行基因检测的患者。

1.2 方法

回顾性分析 78 例 ET 患者的各项临床指标,筛选出符合 WHO 2016 年修订版标准的 pre-PMF 患者 24 例,其余 54 例为真实 ET 患者。pre-PMF 确诊须满足以下 3 项主要标准及至少 1 项次要标准。主要标准:①骨髓病理可见巨核细胞增殖和异型性(主要为云朵状或气球状细胞核及密集成簇分布),骨髓增生程度增高,伴粒细胞增生且常有红系造血减低,伴有网状纤维或胶原纤维化或无显著的网状纤维增多(网状纤维化分级 0 级或 1 级);②不能满足真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)、慢性粒细胞白血病(chronic monocytic leukaemia, CML)、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS)或其他髓系肿瘤的诊断标准;③有 JAK2V617F、CALR、MPL 基因突变,若无上述突变,则存在其他克隆性增殖标志(如 ASXL1、EZH2、TET2、IDH1/IDH2、SRSF、SF3B1)或不能满足反应性骨髓网状纤维增生最低标准。次要标准:①贫血非其他疾病并发;②白细胞计数 $> 11 \times 10^9/L$;③可触及的脾大;④血清乳酸脱氢酶升高。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 进行统计学分析。正态分布的定量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用独立样本 t 检验或单因素方差分析;偏态分布定量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,采用两样本秩和检验(Wilcoxon Mann-Whitney 检验)或多样本秩和检验(Kruskal Wallis 检验);计数资料以例(%)表示,采用 Pearson χ^2 检验。双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pre-PMF 与 ET 患者临床特征及血液学参数比较

总共纳入 ET 患者 78 例,其中 24 例(31%)患者被重新诊断为 pre-PMF, 54 例(69%)为 ET 患者。2 组患者的临床特点及血液学参数见表 1。与 ET 患者比较,pre-PMF 患者发病年龄较大($P=0.001$)、白细胞计数较高($P=0.001$)、血小板计数较高($P=0.030$)、乳酸脱氢酶水平较高($P=0.004$)、血红蛋白较低($P=0.001$)。pre-PMF 患者骨髓纤维化程度较 ET 高($P < 0.001$)。在血栓事件中,pre-PMF 较 ET 发生率高($P=0.014$),二者脾大及性别分布差异均无统计学意义($P=0.389, P=0.307$)。

2.2 pre-PMF 与 ET 患者基因突变负荷比较

pre-PMF 和 ET 组患者中分别有 17 例(71%)、38 例(70%)存在 JAK2V617F 基因突变,其中 2 组突变负荷分布差异无统计学意义($P=0.052$)。CALR exon9 突变在 pre-PMF 组和 ET 组中分别有 4 例(17%)和 7 例(13%),突变负荷在 2 组中分布相似,差异无统计学意义($P=0.848$)。MPL W515K/L 突变在 2 组中分别有 2 例(8%)和 1 例(2%),由于病例数过少,突变负荷分布比较差异无统计学意义。pre-PMF 和 ET 组患者进行组内比较 JAK2V617F、CALR、MPL 基因突变负荷分布均差异无统计学意义($P=0.084, P=0.110$),见表 2。

此外,pre-PMF 和 ET 组患者分别有 1 例(4%)和 8 例(15%)是三阴性。共对 43 例患者进行二代测序,有 14 例(33%)检测出基因突变,其中 pre-PMF 8 例(57%),ASXL1 突变 3 例,EZH2 突变 2 例,SRSF2 突变 1 例,U2AF1 突变 1 例,SF3B1 突变 1 例,TET2 突变 1 例,TP53 突变 1 例,其中有 1 例同时合并 ASXL1、EZH2、TET2

突变;ET 6例(43%),U2AF1突变2例,SRSF2突变1例,TET2突变2例,SETBP1突变1例,未同

时存在2种或以上的HMR,pre-PMF患者HMR数量较ET更多($P=0.033$)。

表1 pre-PMF与ET患者的临床特征比较

变量	pre-PMF($n=24$)	ET($n=54$)	$t/z/\chi^2$	P
男:女/例	9:15	27:27	1.045	0.307
发病年龄/岁	71(49~92)	60(26~83)	3.633	0.001
白细胞计数/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	14.86(8.99,21.27)	9.58(6.95,12.37)	3.183	0.001
血红蛋白/ $(g \cdot L^{-1})$	121 \pm 32	141 \pm 22	3.302	0.001
血小板计数/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	887(607,1291)	703(572,835)	2.176	0.030
乳酸脱氢酶/ $(U \cdot L^{-1})$	332(243,441)	246(212,284)	2.858	0.004
血栓史/例(%)			6.019	0.014
有	17(71)	22(41)		
无	7(29)	32(59)		
脾大/例(%)			0.743	0.389
有	6(25)	9(17)		
无	18(75)	45(83)		
纤维化分级/例(%)			48.092	<0.001
0级	5(21)	52(96)		
1级	19(79)	2(4)		

表2 pre-PMF与ET患者的基因突变比较

基因突变负荷	pre-PMF	ET	t/z	P
JAK2V617F/%	41.07 \pm 18.16	29.17(17.60,40.85)	1.940	0.052
CALR exon9/%	19.33 \pm 12.73	20.57 \pm 8.40	0.514	0.848
MPL W515K/L/%	—	29.79 \pm 2.67		
F/H	2.814	4.407	—	—
P	0.084	0.110		

3 讨论

pre-PMF和ET常见临床表现是血小板增多,二者症状相似,研究发现既往14%~18%的pre-PMF被误诊为ET^[5-7]。在2016年WHO骨髓增生性肿瘤分类修订版中,明确指出pre-PMF和ET相互独立,而非同一种疾病,且预后分析结果表明ET和pre-PMF具有较大的预后差异性^[1,3,8-9]。因此,应对pre-PMF和ET进一步探讨。

2016年WHO修订版中pre-PMF的诊断标准主要基于骨髓形态学、纤维化分级。既往研究表明,pre-PMF和ET有不同特征的巨核细胞病理改变,ET患者表现为巨核细胞疏松成簇分布、胞体大、核分叶多(鹿角状),pre-PMF患者巨核细胞形态多样,常见密集成簇分布,同时伴有核分叶减少(云朵状)及裸核巨核细胞增多,并且巨核细胞异常病理特征与纤维化水平呈正相关,pre-PMF患者骨髓纤维化程度较ET更高^[2,10-13]。一项多中心研究表明,与真正的ET患者比较,pre-PMF患者具有更高的白细胞计数、血小板计数、乳酸脱氢酶以及脾肿大发生率,较低的血蛋白,而2组患者年龄及性别分布相似,血栓事件发生率的差异无统计学

意义^[1]。Lee等^[14]研究也表明,pre-PMF比ET患者具有更高的脾肿大发生率。此外,Schalling等^[15]采用logistic回归模型鉴别pre-PMF和ET的实验室参数,该模型在Carobbio等^[16]研究基础上加入脾大这一变量,得出一种诊断算法,当数值等于0.438时即可鉴别pre-PMF和ET,将pre-PMF的诊断灵敏度从47%提高到59%,并指出乳酸脱氢酶是迄今为止鉴别pre-PMF和ET最重要的单一预测因子,其次是脾肿大、白细胞计数、血红蛋白。Skov等^[17]研究也支持乳酸脱氢酶比白细胞计数更能鉴别pre-PMF和ET。Zhang等^[18]研究表明pre-PMF相较于ET患者具有更高的发病年龄。Rupoli等^[19]研究表明pre-PMF患者血栓发生率高于ET,且多因素分析结果显示,发病年龄是血栓形成的独立危险因素。本研究分析并比较了二者的临床特征,结果表明与ET患者比较,pre-PMF患者具有较高的骨髓纤维化程度、白细胞计数、血小板计数、乳酸脱氢酶以及发病年龄和血栓事件发生率,与上述研究基本一致,而脾肿大发生率差异无统计学意义,原因可能是种族差异性 or 样本小。结合本研究结果,可推测pre-PMF比ET更容

易进展为骨髓纤维化,临床工作中应多加关注患者的骨髓病理学及临床特征,本研究结果若能在更大队列的前瞻性研究中能得以验证,将有助于临床医师早期识别 pre-PMF 和 ET,及早进行有效干预,实现改善疾病预后的目标。

随着基因测序的发展,通过二代测序获得基因组信息,结合临床资料,可为骨髓增殖性肿瘤患者的个体化预后评估提供参考。Misawa 等^[20]研究表明 pre-PMF 相较于 ET 具有更高的 JAK2V617F 基因突变负荷,且伴有 JAK2V617F 突变的 pre-PMF 患者还表现出白细胞计数增加和脾肿大发生率增加的趋势。与上述研究结果相反,Risum 等^[21]和 Edahiro 等^[22]研究表明 pre-PMF 患者的 JAK2V617F 突变负荷略高于 ET 患者,差异无统计学意义。同时,Edahiro 等^[22]研究还分析了 pre-PMF 和 ET 患者的基因突变频率: JAK2V617F、CALR、MPL 突变频率在 pre-PMF 中分别为 53.8%、15.4%、15.4%,在 ET 中分别为 52.9%、26.4%、6.9%,pre-PMF 和 ET 中三阴性分别为 15.4%、13.8%,且 pre-PMF 患者 MPL 突变频率高于 ET 患者。Zhang 等^[18]研究表明 JAK2V617F、CALR、MPL 突变在 pre-PMF 和 ET 中分布差异无统计学意义。此外,有研究证实伴有 MPL 基因突变的 pre-PMF 和 ET 患者的纤维化程度、纤维化进展率、白血病转化率、总体生存期差异无统计学意义,并推断部分伴有 MPL 突变的 ET 患者实质上是 pre-PMF^[23]。本研究中 JAK2V617F 和 CALR 突变频率在 pre-PMF 和 ET 患者中分布与 Edahiro 等^[22]研究结果基本一致,MPL 突变频率和三阴性在二者中分布均较低。3 种基因突变负荷在 pre-PMF 和 ET 组间及组内比较差异均无统计学意义,这与 Guglielmelli 等^[24]研究结果一致。

新型国际预后评分系统将是否伴有 HMR 突变作为评估 MPN 患者预后的重要因素,HMR 数量越多,预后风险分层级别越高^[25]。Guglielmelli 等^[24]研究发现伴有 HMR 突变的 pre-PMF 患者易进展为骨髓纤维化和急性白血病,尤其是携带 ASXL1 和 EZH2 基因突变者,可导致总生存期缩短。Morishita 等^[26]研究表明 ASXL1、EZH2、SRSF2 可作为 PMF 预后不良的标志物,易发生白血病转化。Carobbio 等^[8]研究结果也支持上述结论。Edahiro 等^[22]研究结果表明,与真正的 ET 比较,pre-PMF 患者携带更多与不良预后相关的 HMR 基因突变数量。本研究中 ASXL1 和 EZH2 突变在 pre-PMF 中发生率更高,其中 1 例患者同时合并 ASXL1、EZH2、TET2 突变,ET 患者中未发现 ASXL1 和 EZH2 基因突变,且未同时存在 2 种或以上的高危突变,由此可推断 pre-PMF 患者

发生纤维化进展和白血病转化的倾向性较 ET 更大,但本研究样本量过少,后期将扩大样本,长期随访入组患者的驱动与非驱动基因突变负荷,进一步验证并分析基因突变负荷与临床特征以及结局的相关性。

综上所述,pre-PMF 较 ET 患者更容易发生骨髓纤维化和白血病转化,准确区分二者十分重要,早期识别并制定治疗方案,可提高生存质量,改善预后。本研究表明结合骨髓病理学、临床特征、血液学参数及基因突变有助于 ET 与 pre-PMF 的鉴别,尤其是高危基因突变方面。但目前国际上对于基因检测尚未形成共识,未来如果能够检测出更多与预后相关的基因突变,将成为 pre-PMF 和 ET 患者诊断及治疗上的重大突破。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Barbui T, Thiele J, Passamonti F, et al. Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(23): 3179-3184.
- [2] Thiele J, Kvasnicka HM, Müllauer L, et al. Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification[J]. *Blood*, 2011, 117(21): 5710-5718.
- [3] Jerczynski G, Thiele J, Gisslinger B, et al. Pre-fibrotic/early primary myelofibrosis vs. WHO-defined essential thrombocythemia: The impact of minor clinical diagnostic criteria on the outcome of the disease[J]. *Am J Hematol*, 2017, 92(9): 885-891.
- [4] Wolanskyj AP, Schwager SM, McClure RF, et al. Essential thrombocythemia beyond the first decade: life expectancy, long-term complication rates, and prognostic factors[J]. *Mayo Clin Proc*, 2006, 81(2): 159-166.
- [5] Gisslinger H. Pre-PMF emerging as important subgroup of MPN[J]. *Blood*, 2017, 129(24): 3142-3144.
- [6] Rumi E, Boveri E, Bellini M, et al. Clinical course and outcome of essential thrombocythemia and prefibrotic myelofibrosis according to the revised WHO 2016 diagnostic criteria[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(60): 101735-101744.
- [7] Kamiunten A, Shide K, Kameda T, et al. Early/prefibrotic primary myelofibrosis in patients who were initially diagnosed with essential thrombocythemia[J]. *Int J Hematol*, 2018, 108(4): 411-415.
- [8] Carobbio A, Guglielmelli P, Rumi E, et al. A multi-state model of survival prediction and event monitoring in prefibrotic myelofibrosis[J]. *Blood Cancer J*, 2020, 10(10): 100.
- [9] Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, et al. Rationale for revision and proposed changes of the WHO diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocy-

- themia and primary myelofibrosis[J]. *Blood Cancer J*, 2015,14,5(8):e337.
- [10] 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.
- [11] Gianelli U, Bossi A, Cortinovis I, et al. Reproducibility of the WHO histological criteria for the diagnosis of Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms[J]. *Mod Pathol*, 2014,27(6):814-822.
- [12] Gisslinger H, Jeryczynski G, Gisslinger B, et al. Clinical impact of bone marrow morphology for the diagnosis of essential thrombocythemia: comparison between the BCSH and the WHO criteria[J]. *Leukemia*, 2016,30(5):1126-1132.
- [13] 白雪,赵一帆,冯志金,等.早期或纤维化前原发性骨髓纤维化与原发性血小板增多症鉴别的研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2021,34(3):220-224.
- [14] Lee MW, Yeon SH, Ryu H, et al. Volumetric splenomegaly in patients with essential thrombocythemia and prefibrotic/early primary myelofibrosis[J]. *Int J Hematol*, 2021,114(1):35-43.
- [15] Schalling M, Gleiss A, Gisslinger B, et al. Essential thrombocythemia vs. pre-fibrotic/early primary myelofibrosis: discrimination by laboratory and clinical data[J]. *Blood Cancer J*, 2017,7(12):643.
- [16] Carobbio A, Finazzi G, Thiele J, et al. Blood tests may predict early primary myelofibrosis in patients presenting with essential thrombocythemia[J]. *Am J Hematol*, 2012,87(2):203-204.
- [17] Skov V, Burton M, Thomassen M, et al. A 7-Gene Signature Depicts the Biochemical Profile of Early Prefibrotic Myelofibrosis[J]. *PLoS One*, 2016,11(8):e0161570.
- [18] Zhang L, Ye X, Luo S, et al. Clinical features and next-generation sequencing landscape of essential thrombocythemia, prefibrotic primary myelofibrosis, and overt fibrotic primary myelofibrosis: a Chinese monocentric retrospective study [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2022. doi: 10.1007/s00432-022-04067-1. Epub ahead of print. PMID:35731275.
- [19] Rupoli S, Goteri G, Picardi P, et al. Thrombosis in essential thrombocythemia and early/prefibrotic primary myelofibrosis: the role of the WHO histological diagnosis[J]. *Diagn Pathol*, 2015,10:29.
- [20] Misawa K, Yasuda H, Araki M, et al. Mutational subtypes of JAK2 and CALR correlate with different clinical features in Japanese patients with myeloproliferative neoplasms[J]. *Int J Hematol*, 2018,107(6):673-680.
- [21] Risum M, Madelung A, Bondo H, et al. The JAK2V617F allele burden and STAT3-and STAT5 phosphorylation in myeloproliferative neoplasms: early prefibrotic myelofibrosis compared with essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis[J]. *APMIS*, 2011,119(8):498-504.
- [22] Edahiro Y, Araki M, Inano T, et al. Clinical and molecular features of patients with prefibrotic primary myelofibrosis previously diagnosed as having essential thrombocythemia in Japan[J]. *Eur J Haematol*, 2019,102(6):516-520.
- [23] Szuber N, Hanson CA, Lasho TL, et al. MPL-mutated essential thrombocythemia: a morphologic reappraisal [J]. *Blood Cancer J*, 2018,8(12):121.
- [24] Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, et al. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis[J]. *Blood*, 2017,129(24):3227-3236.
- [25] Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis[J]. *J Clin Oncol*, 2018,36(17):1769-1770.
- [26] Morishita S, Ochiai T, Misawa K, et al. Clinical impacts of the mutational spectrum in Japanese patients with primary myelofibrosis[J]. *Int J Hematol*, 2021,113(4):500-507.

(收稿日期:2022-09-17)