doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2022.05.013

· 论著 ·

JAK2 基因 V617F 突变致儿童原发性血小板增多症 1 例

林雪峰,顾晓艳,周华 (江苏省常州市儿童医院,江苏常州 213003)

[摘要]**目的**:探讨 *JAK2* 基因 V617F 突变致儿童原发性血小板增多症(ET)的临床特征及基因突变特点。**方法**:回顾性分析 1 例 *JAK2* 基因 V617F 突变致 ET 患儿的临床资料和全外显子测序(WES)结果,并进行文献复习,总结 *JAK2* 基因 V617F 突变致 ET 患儿的临床特征。**结果**:WES 结果显示 *JAK2* 基因第 14 外显子 V617F 体细胞突变,突变丰度为 28%,患儿父母未见该突变。该位点已被报道与真性红细胞增多(PV)、血小板增多症 3 型、Budd-Chiari 综合征、急性髓性白血病相关,结合患儿临床表现,确诊为 ET。**结论**:对临床表现为血小板增多患者可进行基因检测以明确诊断。

[关键词]儿童;原发性血小板增多症;全外显子测序;*JAK2* 基因;V617F 突变
[中图分类号]R733.3 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2022)05-0049-04

A Case of Essential Thrombocythemia Induced by *JAK2* Gene V617F Mutation

Lin Xuefeng, Gu Xiaoyan, Zhou Hua (*Jiangsu Changzhou Children's Hospital*, *Jiangsu Changzhou* 213003, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To explore the clinical characteristics and gene mutation of children with essential thrombocytopenia (ET) induced by *JAK2* gene V617F mutation. **Methods**: The clinical data and whole exome sequencing (WES) results of a child with ET induced by *JAK2* gene V617F mutation were retrospectively analyzed, and the literature was reviewed to summarize the clinical characteristics of children with ET induced by *JAK2* gene V617F mutation. **Results**: WES showed that the V617F mutation in exon 14 of *JAK2* gene was found and mutated with a mutation ratio of 28%, which was not seen in the parents of the child. This mutation had been reported to be associated with polycythemia vera (PV), thrombocytopenia type 3, Budd-Chiari syndrome and acute myeloid leukemia. Combined with the clinical manifestations, the child was diagnosed as ET. **Conclusion**: Gene test can be performed in the patients with thrombocytosis to make a definite diagnosis.

[**Keywords**] children; essential thrombocythemia; whole exome sequencing; *JAK2* gene; V617F mutation

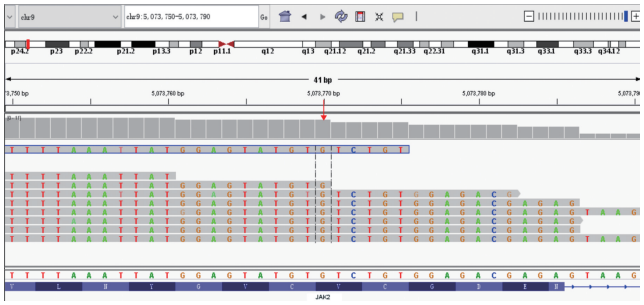
原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)是一种相对慢性的骨髓增生性肿瘤(MPN)类疾病,主要影响巨核细胞系,以血小板增多、出血和血栓形成为特征,成人起病较多见,儿童起病十分罕见,据估计,14 岁以下儿童 ET 年发病率约 0.09/1 000 000[1]。儿童散发性 ET 较成人 *JAK2* 基因 V617F 突变概率低,在分子学方面亦存在较大差异。儿童散发性 ET 患者发生出血与血栓概率较成人低,随着年龄增长可能会出现骨髓增生的临床症状[2]。现就江苏省常州市儿童医院血液科收治的 1 例 ET 患儿的临床特征及基因突变特点进行报道及文献复习。

1 病例资料

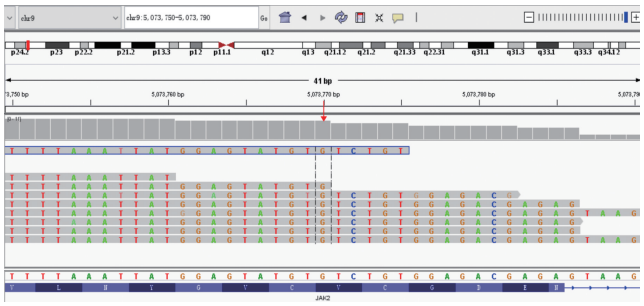
患儿,男,4 岁 2 个月,发现血小板增多 1 年余,无头痛、手足麻木、发绀、肢体活动障碍及皮肤黏膜出血等症状,平时身体健康,病程中无感染、恶性肿瘤或缺铁性贫血、溶血、药物、外伤手术等因素,精神食欲正常。否认血小板增多相关家族史。查体:营养发育正常,面色红润,无皮肤瘀斑,心肺未见异常,肝脾及浅表淋巴结未见肿大。血常规:白细胞 7.98×10^9/L~12.16×10^9/L,中性粒细胞百分比 43.8%~56.4%,淋巴细胞百分比 33.7%~45.8%,单核细胞 2.7%~5.1%,嗜酸粒细胞 6.9%~9.8%,血小板(PLT)636×10^9/L~810×10^9/L,血红蛋白 122~135 g/L。骨髓形态学检查:有核细胞增生活跃,三系形态比例正常,巨核细胞增生明显活跃伴体积增大,颗粒巨核细胞居多,血小板散在分布呈堆聚。白血病融合基因(BCR/ABL)检测(-),细胞遗传学分析未见异常。

为进一步明确诊断,经我院医学伦理委员会审核并经患儿家属知情同意,分别采集患儿及其父母外周血 2 mL,送检凯昂医学实验室,行融合基因 BCR/ABL 及全外显子测序(WES)。融合基因 BCR/ABL 检测结果为阴性,全外显子测序提示患儿存在 *JAK2* 基因第 14 外显子 V617F 突变,突变比例为 28%,经家系 Sanger 测序验证,其父母均未见该突变;该突变为新发突变,且位于功能域;结合患儿家族史符合遗传共分离;该位点软件预测致病,根据美国医学遗传学与基因组学学会(ACMG)指南评估为致病性突变。结合基因检测结果及患儿临床表现,符合 ET 诊断标准,明确诊断该患儿为儿童 ET。患儿及其父母 *JAK2* 基因突变位点下一代测序技术(NGS)测序图、Sanger 测序图见图 1、图 2。

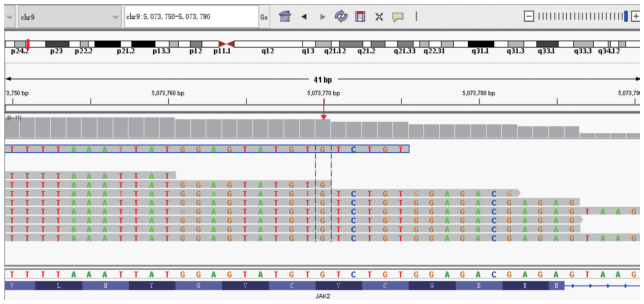
作者简介:林雪峰(1962.12-),男,大学本科,主任医师,主要从事儿科临床工作,E-mail: linxuefengcch@126.com。
通讯作者:顾晓艳(1984.03-),女,硕士,主要从事儿童血液肿瘤疾病研究,E-mail: linxuefengcch@126.com。



A　患儿 *JAK2* 基因位点突变

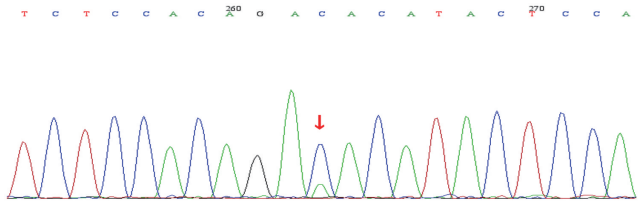


B　患儿父亲 *JAK2* 基因位点

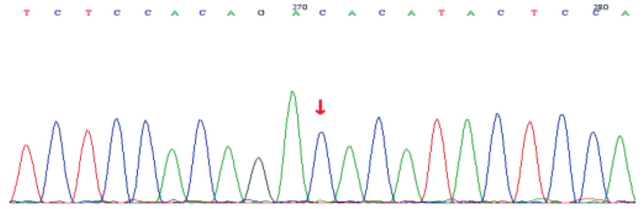


C　患儿母亲 *JAK2* 基因位点

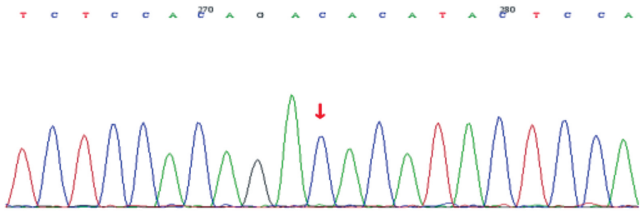
图 1　患儿及其父母 *JAK2* 基因突变位点 NGS 测序



A　患儿 *JAK2* 基因体细胞突变



B　患儿父亲 *JAK2* 基因序列无突变



C　患儿母亲 *JAK2* 基因序列无突变

图 2　患儿及其父母 *JAK2* 基因突变位点 Sanger 测序

2　讨论

2.1　ET 主要临床表现及流行病学

ET 病程缓慢，主要临床表现为血栓与出血，患者身体各处均可能会出现血栓，其中以脾静脉、门静脉或下肢血管血栓较多见，儿童血小板增多明显，但血栓发生率较低[3]，大部分患者早期无任何症状，或早期临床表现常缺乏特异性，仅表现为乏力、盗汗、体质量减轻，少数可有皮肤瘙痒、骨痛等，大部分患者因体检发现 PLT 增多或脾脏增大，也可表现为原因不明的出血及血栓形成而就诊。出血常表现为自发性，可有反复发作，但紫癜较少见。ET 的治疗目标为预防和治疗血栓并发症，所有患者应评估心血管危险因素，治疗方案包括骨髓抑制药、干扰素 α、抗凝和溶栓治疗[4-5]。ET 在儿童中较少见，发病率约为成人的 1%。有研究显示，男童发病率高于女童，儿童 ET 预后较成人更好[6-7]。一项针对 114 例成人 ET 患者的回顾性研究发现，存在 *JAK2* 基因 V617F 突变的 ET 患者静脉血栓栓塞风险较无该基因突变患者高，主要为下肢深静脉血栓[8]，由此可见，*JAK2* 基因 V617F 突变负荷与凝血功能显著相关。在成人妊娠 ET 患者中，可能出现流产、早产、胎儿发育迟缓等风险增高，同时出血和血栓风险亦增高，需给予特殊处理[9]。

2.2　ET 诊断标准

参照 2016 年世界卫生组织（WHO）制定的 ET 诊断标准（主要）：（1）PLT≥450×10^9/L。（2）骨髓活检示巨核细胞高度增生，胞体大、核过分叶的成熟巨核细胞数量增多。粒系、红系无显著增生或左移，且网状纤维极少轻度（1 级）增多。（3）不能满足 BCR/ABL+慢性髓性白血病、真性红细胞增多症（PV）、原发性骨髓纤维化（PMF）、骨髓增生异常综合征（MDS）和其他髓系肿瘤的 WHO 诊断标准。（4）有 *JAK2*、*CALR* 或 *MPL* 基因突变。次要标准：有克隆性标志或无反应性血小板增多证据。符合 4 条主要标准或 3 条主要标准和次要标准即可诊断为 ET[10]。本例患儿临床表现为血小板增多，骨髓象巨核细胞增生及成熟巨核细胞增多，除外髓系肿瘤及 PV、PMF 及 MDS，存在 *JAK2* 基因突变，无克隆性标志。符合 3 条主要标准和次要标准，故诊断为 ET。

2.3　*JAK2* 基因 V617F 突变导致 ET 的机制及影响

由于儿童病例较少，儿童 ET 病程和发病机制尚不明确，目前儿童 ET 病例中可见 *JAK2* 基因 V617F、*CALR* 及 *MPL* 基因突变的报道[11]。JAK2 是酪氨酸激酶 JAK 家族 4 个成员中的一员，为一种非跨膜非受体型酪氨酸蛋白激酶，通过 JAK-STAT 通路激活促红细胞生成素、血小板生成素（TPO）参与造血细胞增殖[12]。JAK2 包括两个结构域：假性激酶结构域（JH2）和具有催化活性的酪氨酸激酶结构域（JH1），JH2 主要功能为抑制 JH1 催化活性。本例患儿为 V617F 新发嵌合突变，V617F 突变位于 JH2 结构域，主要改变为 JAK2 蛋白第 617 位编码的

缬氨酸变为苯丙氨酸,该突变可影响 JH2 对 JH1 的抑制性,从而异常活化下游 JAK-STAT 信号通路,导致细胞增殖不受细胞因子调控,引起骨髓异常增殖性改变[13]。*JAK2* 基因已被报道与多种血液系统疾病相关,包括 PV、血小板增多症 3 型、Budd-Chiari 综合征、急性髓系白血病。V617F 突变是 *JAK2* 基因热点突变,该突变见于几乎所有 PV 患者、多数 ET 患者、骨髓纤维化患者和极少数其他增生性肿瘤[14-15],因此,该突变是 ET 重要的分子遗传标志[16]。

2.4 基因诊断的意义

目前 ET 病例中可见 *JAK2*、*CALR* 及 *MPL* 基因突变的报道[12],但不同基因突变临床表型也有差异,增加了诊断难度。基因检测有助于 ET 的临床诊断、鉴别诊断和疾病预后判断,可与反应性血小板增多症、其他伴血小板增多的血液系统疾病鉴别[11]。*JAK2* 基因 V617F、*CALR* 基因 Exon9、*MPL* 基因 W515L 为 ET 常见基因突变。有研究表明,ET 中 *JAK2* 基因 V617F 突变约占 50%,其次为 *CALR*(19%)、*MPL*(2.6%)基因突变,但部分患者未见 *JAK2*、*CALR*、*MPL* 基因突变[17-19]。*JAK2* 基因 V617F 突变患者的中性粒细胞计数及血红蛋白水平高于非 *JAK2* 基因 V617 突变患者,而血小板略低,但出血、栓塞发生率更高,继发性骨髓纤维化概率更高。存在 *JAK2* 基因 V617F、*CALR*、*MPL* 突变与三阴性患者比较,有较长的生存期[20]。*CALR* 基因突变患者白细胞和血小板计数增加,*MPL* 基因突变患者为高龄、较低的血红蛋白水平、较高的血小板计数、微血管病变症状及诊断后高危的动脉血栓。随着高通量测序技术在临床中的广泛应用,一些直接或间接参与 ET 发病机制及调节基因被不断发现,包括 *IZF*、*TP53*、*TET2*、*ASXL1*、*IDH1*、*IDH2*、*EZH2* 基因等,有利于进一步明确 ET 病因及机制。

2.5 ET 患者的治疗

对 ET 患者的治疗主要以降低血小板计数,控制和预防出血、血栓形成和栓塞为主。对于有合并症危险的 ET 患者,羟基脲为首选药物;对于无出血倾向的 ET 患者,主要以小剂量的阿司匹林治疗为主。有临床研究表明,羟基脲对 *JAK2* 基因 V617F 突变患者的治疗效果优于阿那格雷[21]。放射性核素及干扰素 α 亦对 *JAK2* 基因 V617F 突变患者有效[22-23]。随着对 ET 分子发病机制的认识,一些靶向药物已进入临床试验阶段,如 JAK1/JAK2 抑制剂芦可替尼、AG490 等,及热休克蛋白抑制剂、组蛋白去乙酰化酶抑制剂等[24-26]。

JAK2 基因 V617 突变是 ET 重要致病因素,对于 ET 诊断及预后判断具有十分重要的意义。本例患儿基因检测结果结合临床表现判断,符合 ET 诊断标准。本研究探讨了 ET 发病机制及临床特征,可为 ET 患者分子遗传学分类、病程进展、治疗药物及治疗方案的深入研究及开发提供一定参考。

参考文献:

[1] HASLE H. Incidence of essential thrombocythemia in children [J]. British journal of haematology, 2000, 110(3): 751.

[2] TAKUY A, NAKATAN I, TOSHIHIK O, et al. Frequency and clinical features of the *JAK2* V617F mutation in pediatric patients with sporadic essential thrombocythemia [J]. Pediatric blood cancer, 2008, 51(6): 802-805.

[3] TEOFILI L, CENCI T, MARTINI M, et al. The mutant *JAK2* V617F allele burden in children with essential thrombocythemia [J]. British journal of haematology, 2009, 145(3): 430-432.

[4] 应秋燕, 王京华. 原发性血小板增多症发病机制及治疗研究进展[J]. 肿瘤研究与临床, 2017, 29(4): 276-279.

[5] 段明辉. 原发性血小板增多症诊治进展[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(2): 16-21.

[6] TEOFILI L, FOA R, GIONA F, et al. Childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia: does their pathogenesis overlap with that of adult patients? [J]. Haematologica, 2008, 93(2): 169-172.

[7] BYUN J M, KIM Y J, YOUK T, et al. Real world epidemiology of myeloproliferative neoplasms: a population based study in Korea 2004–2013 [J]. Annals of hematology, 2016, 96(3): 1-9.

[8] MARTYNA B, MARZENA W, KRZYSZTOF L, et al. The *JAK2* V617F mutational status and allele burden may be related with the risk of venous thromboembolic events in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms [J]. Thrombosis research, 2015, 135(2): 272-280.

[9] ZAHNER J, WEHMEIER A, SCHNEIDER W, 等. 原发性血小板增多症合并妊娠症状及对母婴的危险[J]. 德国医学, 1997 14(1): 45.

[10] BESSES C, HERNÁNDEZ-BOLUDA J C, PÉREZ ENCINAS M, et al. Current opinion and consensus statement regarding the diagnosis, prognosis, and treatment of patients with essential thrombocythemia: a survey of the Spanish Group of Ph-negative Myeloproliferative Neoplasms (GEMFIN) using the Delphi method [J]. Annals of hematology, 2016, 95(5): 719-732.

[11] RANDI M L, GERANIO G, BERTOZZI I, et al. Are all cases of paediatric essential thrombocythaemia really myeloproliferative-neoplasms? Analysis of a large cohort [J]. British journal of haematology, 2015, 169(4): 584-589.

[12] 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.

[13] JAMIESON C H M, GOTLIB J, DUROCHER J A, et al. The *JAK2* V617F mutation occurs in hematopoietic stem cells in polycythemia vera and predisposes toward erythroid differentiation [J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2006, 103(16): 6224-6229.

[14] CAMPBELL P J, SCOTT L M, BUCK G, et al. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on *JAK2* V617F mutation status: a prospective study [J]. Lancet, 2005, 366(9501): 1945-1953.

[15] MEAD A J, RUGLESS M J, JACOBSEN S E W, et al.

Germline *JAK2* mutation in a family with hereditary thrombocytosis [J]. New England journal of medicine, 2012, 366(10): 967-969.
[16] 王兆钺. 原发性血小板增多症分子机理与临床研究的进展[J]. 血栓与止血学, 2007(5): 45-48.
[17] 张晓南, 孟君霞, 栾春来, 等. *JAK2* V617F 基因突变与骨髓增殖性肿瘤中细胞增殖及凝血功能的关系[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(10): 1421-1423.
[18] BANDARANAYAKE R M, UNGUREANU D, SHAN Y, et al. Crystal structures of the JAK2 pseudokinase domain and the pathogenic mutant V617F [J]. Nature structural & molecular biology, 2012, 19(8): 754-759.
[19] MONTE M, AYRES-SILVA J P, CORREIA W D, et al. Clinical features of *JAK2* V617F or *CALR* mutated essential thrombocythemia and primary myelofibrosis [J]. Blood cells molecules & diseases, 2016, 60: 74-77. doi: 10.1016/j.bcmd.2016.03.003.
[20] PANAGIOTA V, THOL F, MARKUS B, et al. Outcome of *JAK2/MPL/CALR* triple negative patients with myelofibrosis after allogeneic sten cell transplantation [C]. EHA annual meeting abstracts, 2014, 99(s1): 127.
[21] HARRISONC N, CAMPBELL P J, BUCK G, et al. United Kingdom medical research council primary thrombocythemial study. Hydroxyurea compared with an agrelideinhigh-risk essential thrombocythemia [J]. N Engl J Med, 2005, 353(1): 33-45.
[22] QUINTAS-CARDAMA A, ABDEL-WAHAB O, MANSHOURI T, et al. Molecular analysis of patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia receiving pegylated interferon-2a [J]. Blood, 2013, 122(6): 893-901.
[23] VERGER E, CASSINAT B, AURÉLIE C, et al. Clinical and molecular response to interferon--a therapy in essential thrombocythemia patients with *CALR* mutations [J]. Blood, 2015, 126(24): 2585-2591.
[24] HASSELBALCH H, BJORN M E. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera [J]. New England journal of medicine, 2015, 372(17): 1670-1671.
[25] BOSE P, VERSTOVSEK S. Investigational histone deacetylase inhibitors (HDACi) in myeloproliferative neoplasms [J]. Expert opinion on investigational drugs, 2016, 25(12): 1393-1403.
[26] WEIGERT O, LANE A A, BIRD L, et al. Genetic resistance to JAK2 enzymatic inhibitors is overcome by HSP90 inhibition [J]. The journal of experimental medicine, 2012, 209(2): 259-273.

(编辑:邓境)
(收稿日期:2021-03-27 修回日期:2021-05-08)

doi:10.13407/j.cnki.jpp.1672-108X.2022.05.014

· 综述 ·

雷帕霉素及其衍生物治疗儿童心脏横纹肌瘤的研究进展

丁培成,莫绪明 (南京医科大学附属儿童医院, 南京 210000)

[中图分类号]R725.4 [文献标识码]A [文章编号]1672-108X(2022)05-0052-05

Progress of Rapamycin and Its Derivatives in the Treatment of Pediatric Cardiac Rhabdomyomas

Ding Peicheng, Mo Xuming (*Children's Hospital of Nanjing Medical University*, *Nanjing* 210000, *China*)

雷帕霉素(rapamycin,RAPA)是从一种链霉菌代谢物中提取的三烯大环内酯类抗生素。雷帕霉素具有丰富的生物功能,如抗真菌、免疫调节、抗增殖、神经保护和延缓衰老等多种作用,极大地激发了学者们对其作用机制的研究兴趣[1-2]。研究证实,雷帕霉素首先结合于胞内受体免疫亲和蛋白 FKBP12,形成 FKBP12-RAPA 复合体,然后再与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)的 FRB 结构域结合,进而抑制 mTOR 活性,mTOR 参与众多细胞生命活动的重要过程,这是雷帕霉素呈现广泛生物学活性的机制所在[3-4]。mTOR 是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,能通过接受整合细胞信号,发挥调节稳态作用,主要包括调节细胞生长、增殖与代谢。雷帕霉素及其衍生物以 mTOR 为靶点,对加速增殖细胞有明显抑制作用,因此被批准作为免疫抑制剂和抗肿瘤药物临床使用[5]。如今,研发的第二代半合成雷帕霉素衍生物,具有更高效的药物代谢动力学,如替西罗霉素(temsirolimus)和依维莫司(everolimus)。近年来,国内外发现其在结节性硬化症(tuberous sclerosis complex,TSC)中有很好的治疗作用,为 TSC 的治疗提供一种新的治疗思路,受到广泛关注。研究证实,mTOR 抑制剂的雷帕霉素靶向治疗室管膜下巨细胞型星形细胞瘤和肾血管平滑肌脂肪瘤的有效性和安全性,并对 TSC 提

作者简介:丁培成(1989.10-),男,硕士,住院医师,主要从事小儿心胸外科临床工作,E-mail: tnzhao2009@sina.com。
通讯作者:莫绪明(1964.06-),男,主任医师,教授,主要从事小儿心胸外科临床工作,E-mail: mohsuming15@sina.com。