



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**변경금지.** 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2  
0  
0  
8  
年  
  
2  
月  
  
博  
士  
學  
位  
論  
文  
  
C  
M  
P  
D  
에  
서  
  
J  
A  
K  
2  
V  
6  
1  
7  
F  
의  
  
역  
할  
  
박  
상  
곤

2008年 2月  
博士學位論文

만성골수증식질환에서  
JAK2 V617F의 역할

朝鮮大學校 大學院

醫學科

박 상 곤

만성골수증식질환에서  
**JAK2 V617F**의 역할

**The role of JAK2 V617F in Chronic Myeloproliferative  
Disorder**

2008年 2月 25 日

朝鮮大學校 大學院

醫學科

박 상 곤

만성골수증식질환에서  
**JAK2 V617F**의 역할

指導教授 정 춘 해

이 論文을 醫學博士學位 申請 論文으로 提出함

2007年 10月

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

박 상 곤

# 박 상 곤의 博士學位 論文을 認准함

委員長 朝鮮大學校 教授 박 치 영 印

委員 朝鮮大學校 教授 정 춘 해 印

委員 朝鮮大學校 教授 홍 순 표 印

委員 朝鮮大學校 教授 박 영 진 印

委員 朝鮮大學校 教授 김 현 리 印

2007年 12月

朝鮮大學校 大學院

目 次

ABSTRACT

I. 서 론	.....	1
II. 대상 과 방법	.....	3
III. 결 과	.....	7
IV. 고 찰	.....	10
V.요 약	.....	16
참 고 문 헌	.....	27

## 도 목 차

Figure 3. Diagrammatic representation of JAK2-STAT pathway and JAK2 structure . . . . .	18
Figure 2. Allele-specific PCR products analyzed on 2% agarose gel for the detection of the JAK2 V617F mutation. The 813 bp of PCR product is an internal control, 543 bp is an wild type JAK2 V617F and 352 bp is an mutant type JAK2 V617F. . . . .	19
Figure 3. The comparison of the incidence of JAK2 V617F mutation in philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders. . . . .	20

표 목 차

Table 1. Clinical characteristics of 6 patients with Essential thrombocythemia. . . . . 21

Table 2. Clinical characteristics of 11 patients with polycythemia vera. . . . . 22

Table 3. In Essential thrombocythemia, clinical variables according to the mutational status of JAK2 V617F. . . . . 23

Table 4. In polycythemia vera, clinical variables according to the mutational status of JAK2 V617F. . . . . 24

Table 5. Clinical characteristics of 4 patients with myelofibrosis. . . . . 25

Table 6. Clinical characteristics of 4 patients with CMPD-Unclassifiable. . . . . 26



# ABSTRACT

## The role of JAK2 V617F in Chronic MyeloProliferative Disorder

Park, Sang Kon

Advisor : Prof. Chung, Choon-Hae Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

**Background:** In Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorder (Ph (-) CMPD) recurrent cytogenetic abnormalities occur, but specific patterns of chromosomal aberrations have so far not been detected. However, JAK2 V617F mutation have been recently found to be associated with Ph (-) CMPD. I investigated the incidence of JAK2 V617F mutation as well as the correlation of

clinical variables in Korean patients with Ph (-) CMPD.

**Method:** I obtained DNA samples from 25 patients with Ph (-) CMPD. Allele-specific PCR for JAK2 V617F mutation were undertaken on subgroups of patients.

**Results :** JAK2 V617F mutation was detected in 3 (50%) of 6 patients with essential thrombocythemia, 8 (73%) of 11 with polycythemia vera, 2 (50%) of 4 with myelofibrosis, and 3 (75%) of 4 with CMPD-unclassifiable. In polycythemia vera patients, older age, high WBC and platelet were related with JAK2 V617F mutation with statistical significance (P= .014, .014 and .014, respectively). However, JAK2 V617F mutation was not correlated with sex, hemoglobin, organomegaly and vascular complications.

**Conclusions :** JAK2 V617F mutation was detected in more than half of patients with a Ph (-) CMPD. The detection of the JAK2 V617F mutation in the majority

of patients with a CMPD has diagnostics in the CMPD and allows a rapid and clear discrimination of the CMPD from reactive conditions.

---

**Key Words:** JAK2 V617F, CMPD,

## I. 서론

만성골수증식질환은 골수에서 한 종류 이상의 골수세포가 증식하는 다능성 조혈모세포의 클론성 질환이다.<sup>1)</sup> 이중 만성골수성백혈병은 9번 및 22번 염색체 장완의 역전위에 의해 새로 만들어진 BCR-ABL 융합유전자가 주요 병인으로 작용함이 잘 알려져 있고, BCR-ABL 티로신키나제를 표적으로 하는 imatinib mesylate가 일차치료제로 이용되고 있다.<sup>2~4)</sup> 하지만 필라델피아 음성 만성골수증식질환 (Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorder, 이하 Ph (-) CMPD)을 대표하는 진성적혈구증다증, 만성골수섬유증, 진성고혈소판증의 경우에는 특이한 염색체나 분자생물학적 표지자가 발견되지 않아, 반응성적혈구증다증이나 반응성고혈소판증과의 감별이 어려운 경우들이 있었다.<sup>5~6)</sup>

최근 여러 연구자들에 의해서 Ph (-) CMPD에서 Janus Kinase2 (JAK2) V617F 돌연변이가 보고되면서 중요한 병인으로 생각되어지고 있으며, JAK2 V617F 돌연변이의 발현율이 진성적혈구증다증 65~97%, 만성골수섬유증 35~50%, 진성고혈소판증 23~57% 등으로 보고되었다.<sup>7~13)</sup> 또한 JAK2 V617F

돌연변이 유무는 백혈구, 적혈구 및 혈소판의 수치, 연령, 혈관관련 합병증과의 연관성이 있다고 보고되고 있다.<sup>7, 14~16)</sup> 이로 인해 2008년 세계보건기구(World Health Organization, WHO) 분류에는 JAK2 V617F 돌연변이를 추가이용하여 Ph (-) CMPD을 분류하게 되었다.<sup>17, 18)</sup> 현재 다양한 JAK2 억제제들인 표적치료제의 개발이 진행되고 있다.<sup>19~21)</sup>

국내에서도 진성고혈소판증에 대한 JAK2 V617F돌연변이 발현율과 임상소견과의 관련성에 대한 보고가 있으나, 다른 질환에 대한 보고는 없었다.<sup>22)</sup>

저자는 Ph (-) CMPD으로 진단된 25명의 환자에서 각 질환에서의 JAK2 V617F 돌연변이 발현율과, JAK2 V617F 돌연변이 유무와 환자의 임상적 특징과의 관련성을 알아보하고자 하였다.

## II. 대상과 방법

### 1. 대상

2006년 10월 1일부터 2007년 9월 30일까지 조선대학교병원에서 Ph (-) CMPD로 치료받고 있는 환자중 JAK2 V617F 돌연변이검사를 시행하기 위해 말초혈액이나 골수가 이용가능하고, 임상소견과 합병증등의 정보가 있는 25명을 대상으로 하였다. 대상 환자의 Ph (-) CMPD의 아형 및 성별, 연령, 일반혈액검사, 혈관합병증을 후향적으로 환자의 병록지를 검토하여 확인하였다.

### 2. 진단기준

Ph (-) CMPD의 진단기준은 polycythemia vera study group (PVSG)과 world health organization (WHO)의 진단기준을 따랐으며<sup>23)</sup>, 반응성질환과 감별이 어려운 경우는 JAK2 V617F 돌연변이검사를 시행하여 양성으로 나온 경우는 연구대상에 포함시켰다 (Figure 1).

### 3. Allele-specific PCR

Ph (-) CMPD환자 25명의 골수흡인액이나 말초혈액의 단핵구에서 DNA를 추출하였고 (QIAmp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, Valencia, CA, USA), JAK2 V617F 돌연변이 검출은 DPO (Dual Priming Oligonucleotide)기법<sup>24)</sup>을 이용한 대립유전자특이중합효소연쇄반응 (allele-specific PCR)으로 증폭, 검출하였다. 중합효소연쇄반응은 60°C의 단련 (annealing)온도로 반응하였고, 증폭 산물은 2% 아가로스겔에 전기영동하여 확인하였다. 야생형 대립유전자는 543 bp산물이고 변이형 대립유전자는 352 bp산물이다 (Figure 2).

### 4. Sensitivity test of Multiplex PCR for detection of an point mutation in JAK2 V617F

#### 1) Human genomic DNA 를 이용한 minimum limit test

Wild type 의 human genomic DNA (Promega,G304A, USA) 를 적정량을 일정비율로 희석하여 최소한의 감도를 검사하였다. 5ng 즉 copy수를 계산하면  $1.5 \times 10^3$  copies 를 기준으로 1ng, 500pg, 100pg, 10pg negative control은 물을 사용하였다. Applied Biosystems 9700 thermal cycler (Perkin-Elmer, Boston, MA, USA) 을 이용하여 94°C에서 15분 pre-denaturation 단계를 거친 후 94°C에서 30 초, 60°C에

서 30초, 72℃에서 1분을 35회 반복한 후 마지막 72℃에서 5분간 연장하였다.

## 2) Human genomic DNA 를 이용한 maximum limit test

최대한의 감도에서도 mutant type 이 나오지 않는 것을 확인하기 위하여 Wild type 의 human genomic DNA (Promega,G304A, USA) 를 최대감도를 검사하였다. 50ng 즉 copy수를 계산하면  $1.5 \times 10^4$  copies 를 기준으로 100ng, 150ng, 300ng, 600ng, 1ug, 2ug ( $6 \times 10^6$  copies) 로 순차적으로 DNA 농도를 증가하였으며, negative control은 물을 사용하였다. Applied Biosystems 9700 thermal cycler (Perkin-Elmer, Boston, MA, USA) 을 이용하여 94℃에서 15분 pre-denaturation 단계를 거친 후 94℃에서 30 초를, 60℃에서 30초, 72℃에서 1분을 35회 반복한 후 마지막 72℃에서 5분간 연장하였다.

## 3) wild type 과 mutant type 의 혼합 limit test

wild type의 환자 시료와 mutant type 의 환자 시료를 이용하여 PCR 을 수행한 후, 아가로즈겔에 전기영동을 하고 PCR 산물 크기를 확인하였다. JAK2 (internal control, 813 bp) 부분을 아가로즈겔 정제하고, 정제된 PCR 산물은 pCR2.1-TOPO plasmid vector (Invitrogen, California, USA)을 이용하여 cloning 하였다. 각 type 으로 cloning 된 plasmid 의 정확한 type 인지 확인하기 위해 ABI PRISM 3110 *Avant Genetic*



Analyzer (Perkin-Elmer) 을 이용하여 sequencing 을 하였다. sequencing 으로 정확한 type이 확인된 wild type 과 mutant type 의 plasmid 의 DNA 농도를 확인 후 일정한 비율로 혼합하여 감도를 검사하였다. PCR은 Applied Biosystems 9700 thermal cyclers (Perkin-Elmer, Boston, MA, USA) 을 이용하여 94℃에서 15분 pre-denaturation 단계를 거친 후 94℃에서 30 초를, 60℃에서 30초, 72℃에서 1분을 35회 반복한 후 마지막 72℃에서 5 분간 연장하였다.

## 5. 통계

통계분석은 SPSS 12.0 프로그램을 사용하였고 JAK2 V617F 돌연변이 양성과 음성 Ph (-) CMPD 환자 두군간의 명목변수비교는 Chi-square test, 평균비교는 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 통계적 검정의 유의 수준은  $P < 0.05$ 로 하였다.

### III. 결과

#### 1. Ph ( - ) CMPD의 JAK2 V617F 돌연변이의 발현율

진성고혈소판증 환자 6명중 3명 (50%), 진성적혈구증다증 환자 11명중 8명 (73%), 만성골수섬유증 환자 4명중 2명 (50%), CMPD-Unclassifiable 환자 4명중 3명 (75%)에서 양성이었다 (Figure 3). Case No 4의 경우는 갑상선암이 있고 혈소판증가증이 있었기 때문에 종양에 의한 이차적 혈소판증가증인 부종양증후군을 배제하기가 어려웠으나, JAK2 V617F 돌연변이 양성으로 진성고혈소판증으로 진단할수 있었다 (Table 1). 또, case No 7 의 경우는 헤모글로빈이 14.9 g/dL로 진성적혈구증다증의 진단을 내리기에는 헤모글로빈의 수치가 낮았으나 JAK2 V617F 돌연변이가 양성이고, erythropoietin 치가 감소되어서 진성적혈구증다증으로 진단할 수 있었다 (Table 2).

#### 2. JAK2 V617F 돌연변이 유무와 임상적 특징의 비교

1) 진성고혈소판증 (Table 3)

6명의 진성고혈소판증 환자는 모두 여자였다. JAK2 V617F 돌연변이 양성군의 평균연령은 69.3 (60-76)세였다. 평균 백혈구수는  $9.9 (6.8-14.9) \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수  $864.7 (700-1,081) \times 10^9/L$ , 평균 헤모글리빈은  $13.4 (12.0-14.6) \text{ g/dL}$  였다. JAK2 V617F 돌연변이 음성군의 평균연령은 68.0 (60-80)세였다. 평균 백혈구수는  $9.1 (6.9-12.4) \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수  $1266.7 (939-1,502) \times 10^9/L$ , 평균 헤모글리빈은  $14.1 (13.1-15.6) \text{ g/dL}$  였다. 혈관합병증은 JAK2 V617F 돌연변이 양성군에서는 case No 2에서 급성심근경색증과 심부전의 발생으로 3명중 1명, JAK2 V617F 돌연변이 음성군에서는 case No 5와 6에서 각각 뇌경색증의 발생으로 3명중 2명에서 발생되었다. JAK2 V617F 돌연변이 양성군과 음성군사이에 연령, 일반혈액검사 및 혈관합병증등의 상관관계는 없었다.

## 2) 진성적혈구증다증 (Table 4)

11명의 진성적혈구증다증 환자중 남자는 7명, 여자는 4명이였다. JAK2 V617F 돌연변이 양성군의 평균연령은 68 (56-83)세였다. 평균 백혈구수는  $20.5 (12.5-30.6) \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수  $654.8 (400-1,062) \times 10^9/L$ , 평균 헤모글리빈은

19.7 (14.9-22.3) g/dL 였다. JAK2 V617F 돌연변이 음성군의 평균연령은 36.7 (35-38)세였다. 평균 백혈구수는  $8.3 (6.3-10.0) \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수 248 (229-265)  $\times 10^9/L$ , 평균 헤모글리빈은 19.4 (18.8-20.0) g/dL 였다. 혈관합병증은 JAK2 V617F 돌연변이 양성군에서는 case No 7,9,12,13,15에서 각각 뇌경색증이 발생되었고, case No 8에서 폐출혈이 발생되어 8명중 6명에서 발생되었다. JAK2 V617F 돌연변이 음성군 3명중에서는 혈관합병증이 발생되지 않았다. JAK2 V617F 돌연변이 양성군에서 음성군에 비해 고령이었으며, 백혈구와 혈소판수가 통계적으로 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ). 혈관합병증의 경우도 JAK2 V617F 돌연변이 양성군에서 발생율이 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

### 3) 만성골수섬유증과 CMPD-Unclassifiable (Table 5 & 6)

만성골수섬유증 환자 4명중 남자가 1명, 여자가 3명이었으며, 3명의 장기비대외에 혈관합병증이 발생된 예는 없었다. CMPD-Unclassifiable 환자 4명중 남자가 2명, 여자가 2명이었으며, 1명의 장기비대외에 혈관합병증이 발생된 예는 없었다.

#### IV. 고찰

만성골수증식질환은 골수에서 한 종류 이상의 골수세포가 증식하는 다능성 조혈모세포의 클론성 질환으로 혈구증식증이 만성적으로 나타나 말초혈액에 세포수가 증가함으로 간, 비장 등의 기관에 축적되어 장기비대를 동반하는 질환이다.<sup>1)</sup> 2001년 세계보건기구에서는 만성골수증식질환을 만성골수성백혈병, 만성호중구백혈병, 만성호산구백혈병/과호산구증후군, 진성적혈구증다증, 만성골수섬유증, 진성고혈소판증, 미분류 만성골수증식질환으로 분류하였다.<sup>25)</sup> 이중 만성골수성백혈병은 필라델피아염색체 및 BCR/ABL 융합유전자 발현을 특징으로 하는 질환으로 잘 알려져 있으며, BCR/ABL 티로신키나제의 억제제인 imatinib mesylate의 개발로 치료의 획기적인 변화가 일어나게 되었다.<sup>2~4)</sup> 또한 만성호산구성백혈병/과호산구증후군에서도 FIP1L1-PDGFR $\alpha$  융합유전자와의 연관성과 imatinib mesylate의 치료에 좋은 반응이 보고되고 있다.<sup>26, 27)</sup> 만성골수성백혈병을 제외한 만성골수증식질환 즉, 필라델피아 음성 만성골수증식질환 (Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorder, 이하

Ph (-) CMPD)도 엄격한 진단기준이 정해져 있으나 상당수에서는 실제로 반응성질환과의 감별이 어렵고 각각의 골수증식질환간의 감별도 쉽지 않은 경우가 많다.<sup>5, 6, 23)</sup> 2005년부터 진성적혈구증다증을 포함한 Ph (-) CMPD에서 JAK2 V617F 돌연변이가 보고되면서 중요한 병인으로 생각되어지고 있다.<sup>7~13,</sup>

<sup>23)</sup> JAK2 V617F 돌연변이는 엑손 12에서 1849 G→T 점돌연변이에 의해 617번째 아미노산이 발린에서 페닐알라닌으로 치환된 것이다. 정상적인 JAK2는 2개의 homologous kinase domain (JH1과 JH2)에 의해 특이적 구조를 갖는다. JH1은 활성화기능이 있고 JH2는 키나제 활성이 없는 pseudokinase로서 JH2는 JH1의 키나제활성을 억제하는 기능을 한다. 성장인자가 수용체와 결합하면 수용체 이합체화 (receptor dimerization)가 일어나고 동시에 JH2가 더 이상 JH1의 기능을 억제하지 않아 JAK2 의 자가인산화활성과 인산전달반응이 일어난다. JAK2가 활성화되면 다운스트림 분자인 signaling transducers and activators of transcription (STAT) family를 동원하고 인산화시킨다. 활성화된 STAT 분자가 핵으로 들어가 전사인자로 작용한다. JH2 domain에 V617F 돌연변이가 발생되면 성장인자없이도 JH2 활성화가 일어나서 JAK-STAT경로가 활성화되게 된다. 최근에는 V617F 돌연변이 외에도 다양한 돌연변이들이

보고되고 있다.<sup>28, 29)</sup> JAK2 V617F 돌연변이의 빈도는 진성적혈구증다증에서 65~97%로 가장 높았으며, 만성골수섬유증 35~50%, 진성고혈소판증 23~57%, 만성호중구성백혈병 17~33% 등으로 보고되었다.<sup>7-13)</sup> 진성고혈소판증 25명을 대상으로한 국내연구에서도 46%로 보고되었으며<sup>22)</sup>, 본 연구에서도 진성고혈소판증 50%, 진성적혈구증다증 73%, 만성골수섬유증 50%, CMPD-Unclassifiable 75%로 다른 보고들과 비슷하게 발견되었다. Ph (-) CMPD이외의 급성골수구성백혈병, 골수이형성증후군에서도 약 5% 정도로 보고되고는 있지만, 급성림프구성백혈병과 만성림프구성백혈병 및 고형종양에서는 JAK2 V617F 돌연변이가 한 예도 검출되지 않았다.<sup>30-33)</sup> JAK2 V617F 돌연변이를 검출하는 방법에는 직접염기서열분석법, 중합효소연쇄반응-제한절편길이다양성 (PCR-RFLP)법과 allele-specific PCR법이 있다. 직접염기서열분석법의 경우는 40% 이상의 세포에 이형접합체변이가 있어야 검출이 가능한 반면 allele-specific PCR은 3%이상의 세포만 이형접합체변이가 있어도 검출이 가능한 예민한 방법이다. 하지만 어떤 시발체를 사용하더라도 allele-specific PCR법은 위양성 결과를 보일수 있다.<sup>22, 33)</sup>

JAK2 V617F 돌연변이가 발견되기전까지만 해도 Ph (-) CMPD 특히 진성고혈소판증과 진성적혈구증다증은 반응성고혈소판증과 반응성적혈구증다증과의 감별이 필수적이거나, 고형암과 염증등이 동반되어 있는 경우에는 만성골수증식질환으로 진단할 수가 없었다. 본 연구의 case No 4의 경우는 갑상선암에 의한 이차적인 반응성고혈소판증과 감별이 어려웠으나 JAK2 V617F 돌연변이 양성을 보였으며, case No 7의 경우는 헤모글로빈이 진성적혈구증다증의 진단기준보다 낮아 진단이 애매하였으나 JAK2 V617F 돌연변이 양성을 보였다. JAK2 V617F 돌연변이가 Ph (-) CMPD의 클론 표지자임에 틀림이 없기 때문에 기존에 반응성증가로 분류되었던 경우라하더라도 JAK2 V617F 돌연변이가 발견되면 Ph (-) CMPD로 분류가 가능해지게 되었다. 이로 인해서 Ph (-) CMPD에 대한 새로운 진단기준이 나오게 되었다.<sup>17, 18)</sup> 하지만 진성적혈구증다증에서 JAK2 V617F 돌연변이의 발현율이 높기는 하지만 모든 Ph (-) CMPD에서 JAK2 V617F 돌연변이가 발현되므로 서로간에 감별에는 아직까지 어려움있다.

Ph (-) CMPD중 혼한 진성고혈소판증과 진성적혈구증다증의 예후인자및 위험군 분류는 연령과 혈전증의 과거력, 고혈소판증 ( $>1,500 \times$



$10^9/L$ )과 상관관계가 있다.<sup>23)</sup> Tefferi 등<sup>14)</sup>은 진성적혈구증다증에서 JAK2 V617F 돌연변이군에서 진단당시 헤모글로빈이 높고, 섬유화변환율이 높고, 가려움 증상이 많았다고 보고하였으며, Vannucchi 등<sup>15)</sup>은 백혈구수치가 높고, 비장비대가 많았고 고령이었으나, 혈전의 증가는 없었다고 보고하였다. 본 연구에서도 JAK2 V617F 돌연변이군에서 연령이 높았고, 백혈구와 혈소판수가 통계적으로 유의하게 높았으며 ( $P < 0.05$ ), 혈전을 포함한 혈관합병증의 발생은 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

진성고혈소판증의 경우, Campbell 등<sup>16)</sup>의 보고에 따르면 JAK2 V617F 돌연변이군에서 백혈구 증가, 헤모글로빈 증가와 관련이 있다고 하였으나, 전체생존율과 백혈병으로의 전환, 섬유화변환율에는 차이가 없었다. Wolanskyj 등<sup>7)</sup>은 JAK2 V617F 돌연변이군에서 연령, 헤모글로빈치, 백혈구치가 통계적으로 유의하게 높다고 보고하였으며 혈소판수, 비장중대, 혈관합병증에는 차이가 없다고 보고하였다. 좀더 연구가 필요하겠지만 많은 연구에서 JAK2 V617F 돌연변이군에서 고령이고 혈소판치가 높은것등을 볼 때 Ph (-) CMPD의 예후와 관련이 있을 것으로 생각이 된다. 만성골수성백혈병의

BCR-ABL 티로신키나제를 표적으로 하는 imatinib mesylate와 같이 JAK2를 표적으로 하는 치료제가 개발중에 있다.<sup>19~21)</sup>

## V. 요약

목적: 필라델피아 음성 만성골수증식질환은 다능성 조혈모세포의 형질전환에 의해 발생하는 질환으로 비특이적 세포유전학적 이상들만 보고되었으나, 최근 JAK2 V617F 돌연변이가 필라델피아 음성 만성골수증식질환의 중요한 병인으로 생각되어지고 있다.

이에 저자는 한국인 필라델피아 음성 만성골수증식질환에서 JAK2 V617F 돌연변이의 발현율과 임상소견과의 관련성을 조사하였다.

방법 : 필라델피아 음성 만성골수증식질환 환자 25명의 골수흡인액과 말초혈액에서 대립유전자특이중합효소연쇄반응 (allele-specific PCR)으로 JAK2 V617F 유전자 변이를 관찰하였다.

결과 : 진성고혈소판증 환자 6명중 3명 (50%), 진성적혈구증다증 환자 11명중 8명 (73%), 만성골수섬유증 환자 4명중 2명 (50%), CMPD-Unclassifiable 환자 4명중 3명 (75%)에서 양성이었다. 진성적혈구증다증환자에서, JAK2 V617F 돌연변이 양성군에서 음성군에 비해 고령이었으며, 백혈구와 혈소판수가 통계적으로 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ). 혈관합병증의 경우도 JAK2 V617F

돌연변이 양성군에서 발생율이 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았으며, 성별과, 헤모글로빈, 장기종대와는 부관하였다.

결론 : JAK2 V617F 돌연변이는 필라델피아 음성 만성골수증식질환의 50%이상에서 발견이 되고, 반응성질환에서 만성골수증식질환을 감별하는데 효과적이다.

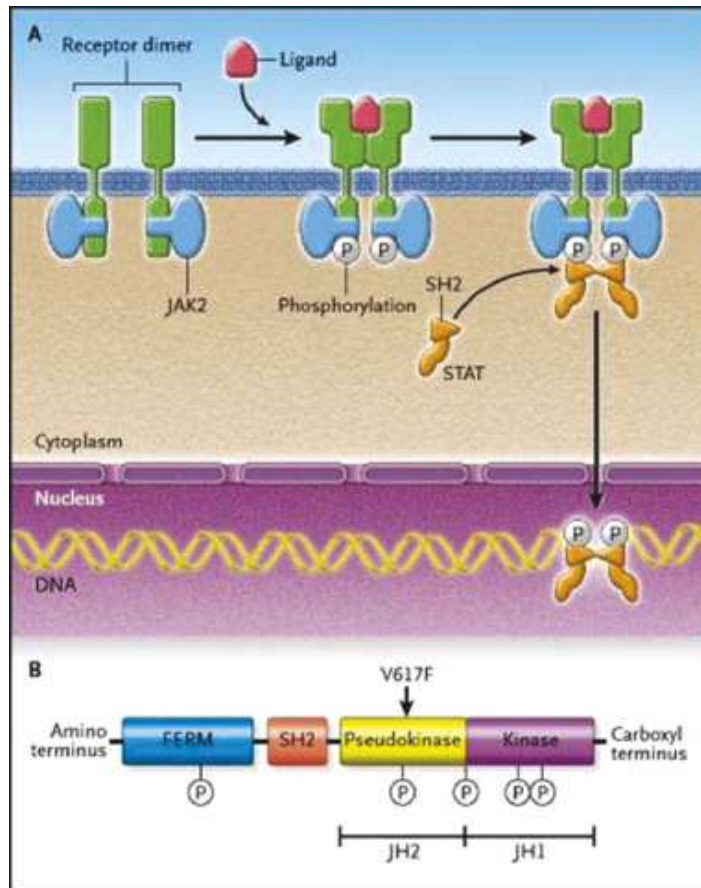


Figure 1. Diagrammatic representation of JAK2-STAT pathway and JAK2 structure (from Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 2006).

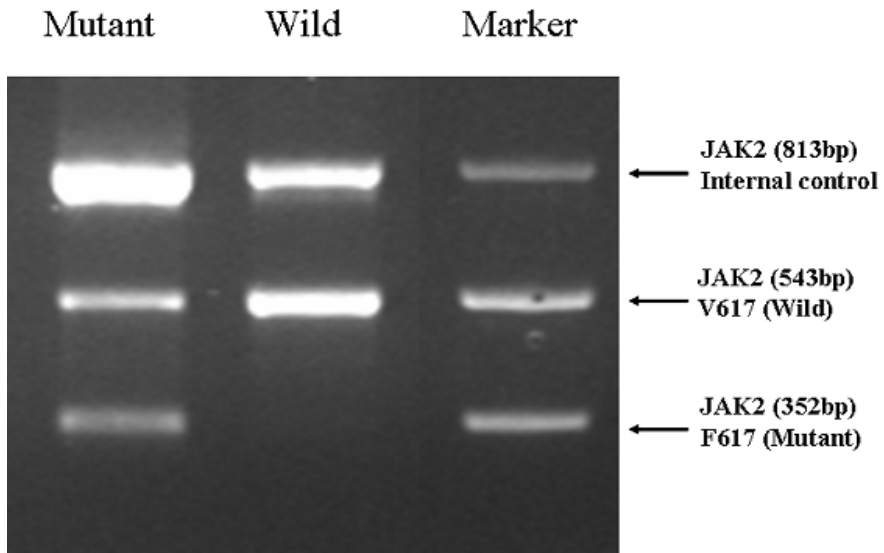


Figure 2. Allele-specific PCR products analyzed on 2% agarose gel for the detection of the JAK2 V617F mutation. The 813 bp of PCR product is an internal control, 543 bp is an wild type JAK2 V617F and 352 bp is an mutant type JAK2 V617F.

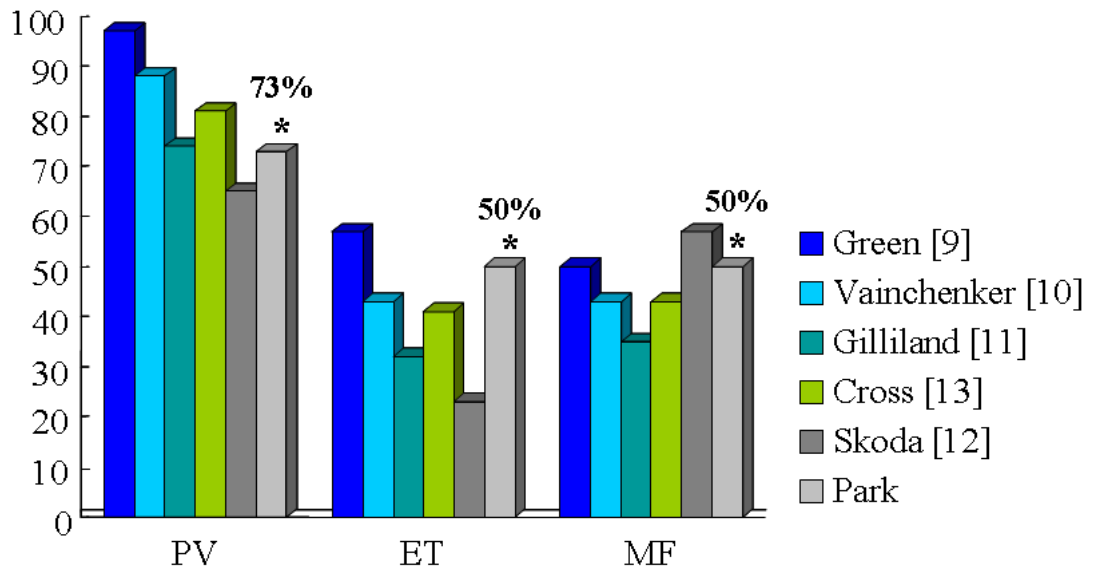


Figure 3. The comparison of the incidence of JAK2 V617F mutation in Philadelphia negative chronic myeloproliferative disorders.

PV: polycythemia vera, ET: essential thrombocythemia, MF: myelofibrosis

Table 1. Clinical characteristics of 6 patients with Essential thrombocythemia.

No.case	Age	Sex	JAK2 mutant	WBC ( $\times 10^9/L$ )	Platelet ( $\times 10^9/L$ )	Hb (g/dL)	Symptom &Sign
1	60	F	+	6780	700	13.6	No
2	80	F	+	14910	1081	12.0	MI, CHF
3	76	F	-	8140	939	13.7	No
4	68	F	+	8880	813	14.6	Thyroid Ca
5	68	F	-	6870	1359	13.1	Cb infarction
6	60	F	-	12400	1502	15.6	Cb infarction



Table 2. Clinical characteristics of 11 patients with polycythemia vera.

No.case	Age	Sex	JAK2	WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	Platelet (x10 <sup>9</sup> /L)	Hb (g/dL)	EPO (mU/mL)	Symptom &Sign
7	69	F	+	20,270	621	14.9	1.3	Cb infarction
8	73	M	+	30,630	480	19.0	9.5	Pul.hemorrhage
9	56	M	+	15,850	522	22.3	4	Cb infarction
10	67	M	+	24,030	579	19.9	3	No
11	35	M	-	6,380	250	20.0	9.7	No
12	67	F	+	21,440	764	21.0	9.3	Cb infarction
13	72	F	+	19,540	810	18.7	5	Cb infarction
14	57	M	+	12,480	1,062	21.2		No
15	83	F	+	19,640	400	20.8	28.9	Cb infarction
16	37	M	-	10,060	265	19.4	17.5	No
17	38	M	-	8,420	229	18.8	8.5	No

Table 3. In Essential thrombocythemia, clinical variables according to the mutational status of JAK2 V617F.

	<b>JAK2 mutant(+)</b>	<b>JAK2 mutant(-)</b>	<b>P value</b>
Number(M/F)	3(0/3)	3(0/3)	
Age:Mean(range)	69.3(60-76)	68(60-80)	.822
CBC(Mean)			
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	9.9(6.8-14.9)	9.1(6.9-12.4)	.827
Platelet (x10 <sup>9</sup> /L)	864.7(700-1,081)	1266.7(939-1,502)	.127
Hemoglobin (g/dL)	13.4(12.0-14.6)	14.1(13.1-15.6)	.513
Cardiovascular event	1	2	1.000

Table 4. In polycythemia vera, clinical variables according to the mutational status of JAK2 V617F.

	<b>JAK2 mutant(+)</b>	<b>JAK2 mutant(-)</b>	<b>P value</b>
Number(M/F)	8(4/4)	3(0/3)	
Age:Mean(range)	68(56-83)	36.7(35-38)	.014
CBC(Mean)			
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	20.5(12.5-30.6)	8.3(6.3-10.0)	.014
Platelet (x10 <sup>9</sup> /L)	654.8(400-1,062)	248(229-265)	.014
Hemoglobin (g/dL)	19.7(14.9-22.3)	19.4(18.8-20.0)	.540
EPO (mU/mL)	10.6	11.9	.456
Cardiovascular event	6	0	.061

Table 5. Clinical characteristics of 4 patients with myelofibrosis.

No.case	Age	Sex	JAK2	WBC ( $\times 10^9/L$ )	Platelet ( $\times 10^9/L$ )	Hb (g/dL)	Symptom &Sign
18	66	F	-	7.4	360	7.5	No
19	65	F	+	3.3	117	5.7	Organomegaly
20	56	M	-	8.90	260	13.3	Organomegaly
21	68	F	+	11.3	392	9.9	Organomegaly

Table 6. Clinical characteristics of 4 patients with CMPD-Unclassifiable.

No.case	Age	Sex	JAK2	WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	Platelet (x10 <sup>9</sup> /L)	Hb (g/dL)	Symptom &Sign
22	53	M	+	24.5	1,397	10.2	No
23	57	M	+	13.5	453	13.8	No
24	67	F	+	12.1	380	9.6	Organomegaly
25	66	F	-	21.4	512	10.8	No

## VI. References

1. Gilliland DG, Blanchard KL, Levy J, Perrin S, Bunn HF. Clonality in myeloproliferative disorders: analysis by means of the polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:6848-6852, 1991
2. De Klein A, Van Kessel AG, Grosveld GG, Bartram CR, Bootsma D. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 300:765-767, 1982
3. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, Sawyers CL. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 344:1031-1037, 2001
4. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, Guilhot F, Schiffer C, Gambacorti-Passerini C, Niederwieser D, Resta D, Capdeville R, Zoellner U, Talpaz M, Druker B, Goldman J, O'Brien SG, Russell N, Fischer T, Ottmann O, Cony-Makhoul P, Facon T, Stone R, Miller C, Tallman M, Brown R, Schuster M, Loughran T, Gratwohl A, Mandelli F, Saglio G, Lazzarino M, Russo D, Baccarani M, Morra E; International STI571 CML Study Group. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 346:645-652, 2002

- 5 Skoda RC. Chronic myeloproliferative disorders: molecular markers and pathogenesis. *Hematol J* 5:S122-125, 2004
6. Green AR, Vassiliou GS, Curtin N, Campbell PJ. Management of the myeloproliferative disorders: distinguishing data from dogma. *Hematol J* 5: S126-132, 2004
7. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG, Tefferi A. JAK2V617F mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 131:208-213, 2005
8. Percy MJ, McMullin MF. The V617F JAK2 mutation and the myeloproliferative disorders. *Hematol Oncol.* 23:91-93, 2005
9. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Boyd EM, Curtin N, Scott MA, Erber WN, Green AR. Cancer Genome Project. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 365:1054-1061, 2005
10. James C, Ugo V, Le Couédic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, Garçon L, Raslova H, Berger R, Bennaceur-Griscelli A, Villeval JL, Constantinescu SN, Casadevall N, Vainchenker W. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythaemia vera. *Nature* 354:1-5, 2005

11. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, Boggon TJ, Wlodarska I, Clark JJ, Moore S, Adelsperger J, Koo S, Lee JC, Gabriel S, Mercher T, D'Andrea A, Fröhling S, Döhner K, Marynen P, Vandenberghe P, Mesa RA, Tefferi A, Griffin JD, Eck MJ, Sellers WR, Meyerson M, Golub TR, Lee SJ, Gilliland DG. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 7:387-397, 2005
12. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, Tichelli A, Cazzola M, Skoda RC. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 352:1779-1790, 2005
13. Dai C, Chung IJ, Krantz SB. Increased erythropoiesis in polycythemia is associated with increased erythroid proliferation and increased phosphorylation of Akt/PKB. *Exp Hematol* 33:152-158, 2005
14. Tefferi A, Lasho TL, Schwager SM, Strand JS, Elliott M, Mesa R, Li CY, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG. The clinical phenotype of wild-type, heterozygous, and homozygous JAK2V617F in polycythemia vera. *Cancer* 106:631-635, 2006
15. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Rambaldi A, Barosi G, Marchioli R, Marfisi RM, Finazzi G, Guerini V, Fabris F, Randi ML, De Stefano V,



- Caberlon S, Tafuri A, Ruggeri M, Specchia G, Liso V, Rossi E, Pogliani E, Gugliotta L, Bosi A, Barbui T. Clinical profile of homozygous JAK2V617F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* 110:840-846, 2007
16. Campbell PJ, Baxter EJ, Beer PA, Scott LM, Bench AJ, Huntly BJ, Erber WN, Kusec R, Larsen TS, Giraudier S, Le Bousse-Kerdilès MC, Griesshammer M, Reilly JT, Cheung BY, Harrison CN, Green AR. Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation. *Blood* 108:3548-3555, 2006
17. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2007 Sep 20; [Epub ahead of print]
18. Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, Barosi G, Verstovsek S, Birgegard G, Mesa R, Reilly JT, Gisslinger H, Vannucchi AM, Cervantes F, Finazzi G, Hoffman R, Gilliland DG, Bloomfield CD, Vardiman JW. Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocythemia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood* 110:1092-1097, 2007

19. Markovtsov VV, Gelman M, Lang W. Targeting myeloproliferative diseases with JAK2 inhibitors [abstract]. In: American Association for Cancer Research Proceedings; 14-18 April 2007; Los Angeles. Philadelphia; Abstract 2388.61, 2007
20. Pardanani A, Hood J, Lasho T, Levine RL, Martin MB, Noronha G, Finke C, Mak CC, Mesa R, Zhu H, Soll R, Gilliland DG, Tefferi A. TG101209, a small molecule JAK2-selective kinase inhibitor potently inhibits myeloproliferative disorder-associated JAK2V617F and MPLW515L/K mutations. *Leukemia* 21:1658-1668, 2007
21. Gourley ES, Liu XH, Grand CL. Discovery and characterization of small molecule inhibitors of JAK2 [abstract]. In: American Association for Cancer research Proceedings; 14-18 April 2007; Los Angeles. Philadelphia; Abstract 2387, 2007
22. 안정열, 유수진, 방수미, 박필환, 서일혜, 신동복, 이재훈. 한국인 본태성혈소판혈증 환자에서 JAK2V617F 유전자 변이. *대한진단검사의학회지* 27:77-82, 2007
23. Michiels JJ, De Raeve H, Berneman Z, Van Bockstaele D, Hebeda K, Lam K, Schroyens W. The 2001 World Health Organization and updated European clinical and pathological criteria for the diagnosis, classification, and staging of

- the Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 32:307-340, 2006
24. Chun JY, Kim KJ, Hwang IT, Kim YJ, Lee DH, Lee IK, Kim JK. Dual priming oligonucleotide system for the multiplex detection of respiratory viruses and SNP genotyping of CYP2C19 gene. *Nucleic Acids Research* 35: e40, 2007
  25. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 100:2292-2302, 2002
  26. Cools J, Deangelo DJ, Gotlib J, Stover EH, Legare RD, Cortes J, Kutok J, Clark J, Galinsky I, Griffin JD, Cross NC, Tefferi A, Malone J, Alam R, Schrier SL, Schmid J, Rose M, Vandenberghe P, Verhoef G, Boogaerts M, Wlodarska I, Kantarjian H, Marynen P, Coutre SE, Stone R, Gilliland DG. A tyrosine kinase created by fusion of the PDGFRA and FIP1L1 genes as a therapeutic target of imatinib in idiopathic hypereosinophilic syndrome. *N Engl J Med* 348:1201-1214, 2003
  27. Cools J, Stover EH, Wlodarska I, Marynen P, Gilliland DG. The FIP1L1-PDGFR alpha kinase in hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilic leukemia. *Curr Opin Hematol* 11:51-57, 2004
  28. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, Cuker A, Wernig G, Moore S, Galinsky I, DeAngelo DJ, Clark JJ, Lee SJ, Golub TR,

- Wadleigh M, Gilliland DG, Levine RL. MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 3:e270, 2006
29. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, Steensma DP, Elliott MA, Wolanskyj AP, Hogan WJ, McClure RF, Litzow MR, Gilliland DG, Tefferi A. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 108:3472-3476, 2006
30. Johan MF, Goodeve AC, Bowen DT, Frew ME, Reilly JT. JAK2 V617F mutation is uncommon in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 130:968, 2005
31. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, Bueso-Ramos C, Prchal JT, Verstovsek S, Beran M, Estey E, Kantarjian HM, Issa JP. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML and megakaryocytic leukemia. *Blood* 106:3370-3373, 2005
32. Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, Loh ML, Beran M, Stoffregen E, Berger R, Clark JJ, Willis SG, Nguyen KT, Flores NJ, Estey E, Gattermann N, Armstrong S, Look AT, Griffin JD, Bernard OA, Heinrich MC, Gilliland DG, Druker B, Deininger MW. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute

lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 106:3377-3379., 2005

33. Hussein K, Bock O, Kreipe H. Histological and molecular classification of chronic myeloproliferative disorders in the age of JAK2: persistence of old questions despite new answers. *Pathobiology* 74:72-80, 2007