

本態性血小板血症における *JAK2*-V617F 変異の臨床的意義：初診時の白血球増加と *JAK2*-V617F 変異が有意な血栓症発症リスクである

岩 淵 多光子¹⁾ 伊 藤 良 和¹⁾ 大屋敷 純 子²⁾
大屋敷 一 馬¹⁾

¹⁾東京医科大学内科学第一講座

²⁾東京医科大学医学総合研究所

【要旨】 目的：本態性血小板血症 (essential thrombocytosis : ET) を含む骨髄増殖性腫瘍 (myeloproliferative neoplasm : MPN) ではエリスロポエチン受容体のシグナル伝達に關与する Janus activating kinase-2 (*JAK2*) の体細胞突然変異である *JAK2*-V617F 変異が認められる。我々は *JAK2*-V617F 変異の半定量的検査を開発し、ET における臨床的意義を検討した。

対象・方法：ET 患者 97 例を対象とし、sequence specific primer-single molecule detection (SSP-SMFD) 法にて *JAK2*-V617F 変異を半定量的に測定し、臨床血液学的所見の統計学的解析を行った。

結果及び検討：ET 97 例中、野生型 (GG) 42 例、ヘテロ型 (GT) 52 例、ホモ型 (TT) を 3 例認め、*JAK2*-V617F 変異陽性例では有意な白血球増加 ($P=0.0016$)、血色素量・ヘマトクリット増加 ($P=0.0027$ 、 $P=0.0003$)、血栓症発生の増加 ($P=0.0016$) を認めた。性別、血小板数、脾腫の有無、骨髄線維症・白血病への進行に有意差は認めなかった。また *JAK2*-V617F 変異陽性例では血栓・塞栓症のオッズ比 4.628 (95% 信頼区間：1.440-14.87) であり、*JAK2*-V617F 変異は血栓症発症のマーカーとなる可能性が示唆された。ET では血小板数により抗がん剤投与が決定されるが、初診時の白血球数および *JAK2*-V617F 変異量の測定により血栓症予防の適切な判断が必要と思われる。

はじめに

骨髄増殖性腫瘍 (myeloproliferative neoplasm : MPN) である真性赤血球増加症 (polycythemia vera : PV)、本態性血小板血症 (essential thrombocytosis : ET)、原発性骨髄線維症 (primary myelofibrosis : PMF) は、骨髄系細胞の過形成を特徴とする幹細胞由来のクローン性血液系悪性腫瘍である。この 3 疾患において、エリスロポエチン受容体のシグナルを司る Janus activating kinase-2 (*JAK2*) の 1849 番目グアニンがチミンに 1 塩基置換 (G → T) する

ことによって、アミノ酸 617 のバリンがフェニルアラニンに変異した *JAK2*-V617F 変異が高率に報告されている¹⁻⁵⁾。*JAK2* はエリスロポエチン (erythropoietin : EPO) のサイトカインシグナル伝達に關与するチロシンキナーゼであり、この変異により本来 EPO 存在下に一過性に活性化される *JAK2* が EPO 非存在下に恒常的に活性化され細胞の自律増殖を促進すると考えられている¹⁾³⁾⁵⁾。*JAK2*-V617F 変異は PV の 95% 以上、また ET および PMF の 50%~60% で検出される¹⁻⁶⁾。特に PV において臨床的・診断的価値が重要視され、WHO-2008 分類では診断基準

平成 23 年 12 月 27 日受付、平成 24 年 3 月 13 日受理

キーワード：本態性血小板血症、Janus activating kinase-2 : *JAK2*、血栓症

(別冊請求先：〒160-0023 新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院血液内科 岩淵多光子)

TEL : 03-3342-6111 (内線 5895) FAX : 03-5381-6651

に取り入れられ、*JAK2-V617F* 変異検索によって診断能率は格段に上昇したといえる⁷⁾⁸⁾。また、*JAK2-V617F* 変異の有無により、臨床像に特徴を認めるとの報告もあり⁹⁾¹⁰⁾、ET においては *JAK2-V617F* 変異が血栓症発症リスク因子として独立した意義をもつ可能性が示唆された¹¹⁻¹²⁾。*JAK2-V617F* 変異陽性例の ET では血栓症リスクが上昇するとの報告がある一方¹¹⁻¹⁵⁾、主に欧米を中心とする多症例での解析では血栓症リスクと *JAK2-V617F* 変異は無関係であるとする報告もある¹⁶⁾。そこで、我々は本邦における ET 患者における *JAK2-V617F* 変異の臨床的意義をさらに明らかにする目的で自験例における ET 患者の臨床的特徴と *JAK2-V617F* 変異の関係について検討を行った。

研究材料および方法

対象患者

当院で 1970 年 6 月から 2010 年 7 月までに経験した ET 患者 97 例を対象とし、末梢血 100 μ L より DNA を抽出した。なお、これらの症例のうち 2007 年までの解析は既報の通りであるが⁶⁾¹⁷⁾、既報の 54 例に加え 2010 年までの全症例 97 例を今回の検討の対象症例として統計学的に解析した。試料採取に関しては院内の IRB にて承認を得た後（医学倫理委員会承認番号 975 番）、実施した。冷凍保存検体および臨床検査の一環として行った 2008 年以降の症例に関しては、包括同意の範囲で調査を行った。

診断は WHO-2008 に基づき⁸⁾、血小板数 45 万/ μ L 以上を満たし、PV、PMF、二次性血小板増多症、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群およびその他の骨髄増殖性疾患の所見を認めないものとした。血液学的所見については白血球数、ヘマトクリット値、血色素量、血小板数について検討し、臨床像については年齢、性別、血栓症の既往、診察による脾腫の有無、抗腫瘍薬投与の有無、染色体異常、骨髄線維症および白血病への進行について後方視的に調査した。

JAK2-V617F 変異検出法

JAK2-V617F 変異検出法に関しては、100 μ L の全血検体から自動抽出装置を用いて DNA を採取し、蛍光相関分光法（fluorescence-labeled sequence-specific primer-single molecule fluorescence detection (SSP-SMFD)）を用いた半定量的アレル分析法（gene analysis by FCS ; gFCS 法）にて検出した⁶⁾¹⁷⁾。すな

わち、10 ng DNA を第 1 ラウンド PCR にて増幅し、蛍光標識した変異アレル特異的オリゴヌクレオチドおよび野生型オリゴヌクレオチドをプライマーとして第 2 ラウンド PCR を行い、自動蛍光分析装置 (MF 20 : オリンパス社、東京) により蛍光分散による 1 塩基置換を数値化した⁶⁾¹⁷⁾。

第 1 ラウンド PCR :

Forward primer : 5'-TCC TTC TTT GAA GCA GCA AGT ATG ATG AGC AAG CTT TCT CACA

Reverse primer : 3'-TAG AAG AGT CCT ACA GTG TTT TCA GTT TCA AAA ATA CTT AAC

第 2 ラウンド PCR :

変異アレル特異的 Forward primer : 5'-AGC ATT TGG TTT TAA AAT TAT GGA GTATATT

変異アレル特異的 Reverse primer : 3'-TGA AAC TGAAA CTG TAGGACTATTTCAG

人工的に作成した変異 (T) および野生型 (G) プラスミドの混合実験より、 $K2(T)\%/K2(G)\% \times 100$ を算出し、 $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比として現した⁶⁾¹⁷⁾。5% の変異型アレルの混入では $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比が 30、変異型の 90% 混入では $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比が 230 であることより、

野生型 *JAK2* (*JAK2-V617F* 変異混入率 5% 未満) : $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比 < 30

ヘテロ型 *JAK2-V617F* (*JAK2-V617F* 変異混入率 5% 以上、90% 未満) : $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比が 30-230

ホモ型 *JAK2-V617F* (*JAK2-V617F* 変異混入率 90% 以上) : $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比 > 230

と規定し、其々の症例の数値より変異アレル（野生型、ヘテロ型、ホモ型）を判定した⁶⁾¹⁷⁾。

統計解析

統計解析は GraphPad Prism (San Diego, USA) を用いた。3 群間の検定は one-way ANOVA を用い、2 群間の検定は Mann-Whitney 検定で行った。また 2 群間における頻度の解析は χ^2 検定を用い、オッズ比を算出した。白血球数および *JAK2-V617F* 変異量における血栓症発生に関しては receiver operating characteristic (ROC) 曲線より特異度および感度を算定した。検定値 0.05 未満の *P* 値を統計学的に有意であるとした。

結果

1. *JAK2-V617F* 変異と臨床血液学的所見の関係
ET 97 例中、野生型 (GG) 42 例、ヘテロ型 (GT) 52 例、ホモ型 (TT) 3 例を認め、*JAK2-V617F* 変異

陽性率 56.7%、ホモ型に比し有意にヘテロ型が多い結果となった (Table 1)。one-way ANOVA によるこれらの3群間の検定では、変異型では有意に高齢 ($P=0.0064$) (Fig. 1A)、白血球増加 ($P=0.0003$) (Fig. 1B)、血色素量高値 ($P=0.0190$) (Fig. 1C)、ヘマトクリット高値 ($P=0.0027$) (Fig. 1C)、であったが、診断時の血小板数は有意差がみられなかった

($P=0.2031$) (Fig. 1D)。

ホモ型 *JAK2*-V617F 変異例とヘテロ型の比較では、ホモ型に白血球数上昇傾向がみられたが ($P=0.0501$)、他の血液学的所見では有意差を認めなかった。野生型 *JAK2* 症例とヘテロ型 *JAK2*-V617F 変異例の2群間検定では白血球増加、血色素量の上昇、ヘマトクリット値上昇が有意であったが、血小

Table 1 Hematologic and clinical parameters depend on the *JAK2*-V617F mutation status.

	Wild type	Heterozygous	Homozygous
No. of patients	42	52	3
Male/Female	16 : 26	29 : 23	3 : 0
Age (years)	57.7 ± 16.7	64.9 ± 15.2	82.3 ± 2.1
		$P=0.0609^*$	
		$P=0.0312$	$P=0.0546$
		$P=0.0151^+$	
Leukocytes (/ μ L)	8510 ± 3051	11884 ± 6030	18933 ± 6451
		$P=0.0018$	$P=0.0538$
		$P<0.0001^+$	
Hb (g/dL)	12.9 ± 1.5	13.9 ± 1.6	13.8 ± 0.5
		$P=0.0047$	$P=0.9219$
		$P=0.3356^+$	
Hct (%)	38.7 ± 4.5	42.7 ± 5.0	42.5 ± 2.0
		$P=0.0006$	$P=0.9597$
		$P=0.1704^+$	
Platelets ($\times 10^4/\mu$ L)	107.6 ± 34.6	96.1 ± 38.2	125.8 ± 27.4
		$P=0.1403$	$P=0.1935$
		$P=0.3804^+$	
Splenomegaly at Dx	11/39	12/49	1/2
		$P=0.6967^*$	
Thrombotic episodes	4/42	15/52	3/3
		$P=0.0004^*$	
Therapy requirement	28/40	36/49	3/3
		$P=0.5244^*$	
Chromosome aberrations	1/30	9/37	0/1
		$P=0.0499^*$	
Myelofibrosis evolution	2/41	5/51	0/3
		$P=0.5903^*$	
Leukemia evolution	2/41	5/51	0/3
		$P=0.5903^*$	
T/G ratio (%)	8.5 ± 5.9	95.9 ± 31.9	329.8 ± 119.5
		$P<0.0001$	$P<0.0001$
		$P<0.0001^+$	

+comparison between wild type *JAK2* group and homozygous *JAK2*-V617F mutation group.

*chi-square analysis

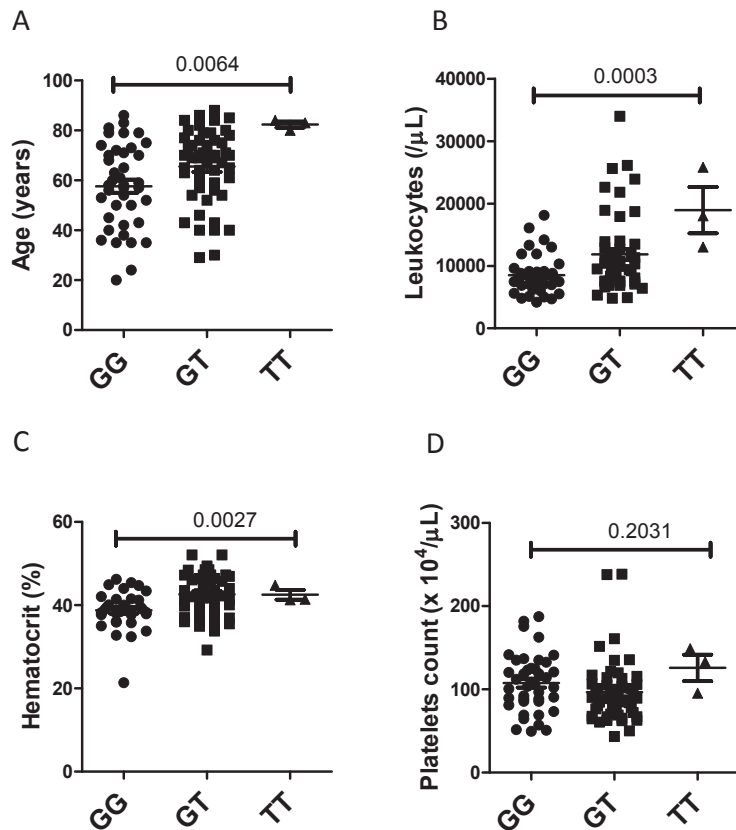


Fig. 1 The relationship between *JAK2-V617F* mutation and clinical as well as hematological findings were studied. We compared three groups of ET patients, i.e., wild type *JAK2* (GG), heterozygous type *JAK2-V617F* mutation (GT) and homozygous type *JAK2-V617F* mutation (TT). Significant decrease in the wild type group was seen regarding age of onset ($P=0.0064$) (A), leukocyte counts ($P=0.0003$) (B), and hematocrit ($P=0.0027$) (C), while no difference was noted in platelet counts ($P=0.2031$) (D).

板数は野生型とホモ型 ($P=0.3546$) およびヘテロ型 ($P=0.1996$) に有意差を認めなかった。これらのことは *JAK2-V617F* 変異量 (allelic burden) は白血球増加と明瞭な関係があること、*JAK2-V617F* 変異の有無は赤血球系細胞の増加と関係するが、*JAK2-V617F* 変異量と赤血球増加は必ずしも明瞭な関係がみられないこと、*JAK2-V617F* 変異の有無と初診時の血小板数とは無関係であることを示している。また、臨床所見で血栓症の既往が *JAK2-V617F* 変異の有無と密接に関係していることが再確認された。

2. *JAK2-V617F* 変異アレル量と臨床血液学的所見の関係

ホモ型は3例のみで、ヘテロ型との間に臨床血液学的所見に有意差を認めなかったことから、ヘテロ型とホモ型を *JAK2-V617F* 変異陽性例として解析を進めた。*JAK2-V617F* 変異アレル量 (allelic burden: $K2(T)\%/K2(G)\%$ 比) では血栓症既往例に変異アレル量の有意な上昇がみられたが ($P<0.0001$)、性別、脾腫の有無、抗腫瘍薬投与の有無、骨髓線維症・白

血病への移行に有意な差は認めなかった (Table 2)。次に *JAK2-V617F* 変異例 55 例で *JAK2-V617F* 変異アレル量を検討したところ、血栓症の既往を認める群でのみ有意な *JAK2-V617F* 変異アレル量の増加がみられた ($P=0.0023$) (Table 3)。

3. 本態性血小板血症における血栓リスク解析

次に血栓症の既往の有無と臨床的パラメーターについて検討した。血栓症群では年齢 ($P=0.0065$) および白血球増加 ($P=0.0197$) が有意であった。血小板数およびヘマトクリット値では有意差がみられなかった (Fig. 2)。また、化学療法の必要度を検討したところ、血小板数のみが有意であった ($P<0.0001$) (Fig. 3)。このことは、ET 患者における化学療法の必要性は血小板数上昇に依存しているが、血栓症の発症に関しては、血小板数とは無関係で患者の年齢、白血球数、*JAK2-V617F* 変異アレル量と深く関係していることが明瞭となった。

これらのことより、白血球数および *JAK2-V617F* 変異アレル量 ($K2(T)\%/K2(G)\%$ 比) から血栓症

Table 2 The *JAK2*-V617F allele burden depends on clinical features in all ET patients ($n=97$)

Male/Female	Yes	No	<i>P</i> value
	Female	Male	
	64.898 ± 85.45	65.740 ± 50.297	.954
Splenomegaly at Dx	73.364 ± 87.085	62.434 ± 64.616	.5211
Thrombotic episodes	123.39 ± 102.566	48.021 ± 46.638	<.0001
Therapy requirement	73.534 ± 79.389	46.891 ± 41.075	.1139
Chromosome aberrations	78.152 ± 42.239	58.480 ± 66.772	.3725
Myelofibrosis evolution	88.251 ± 59.580	64.329 ± 71.739	.4338
Leukemia evolution	92.085 ± 61.661	63.965 ± 71.453	.3132

Table 3 The *JAK2*-V617F allele burden depends on clinical features in *JAK2*-V617F-positive patients ($n=55$)

Male/Female	Yes	No	<i>P</i> value
	Female	Male	
	120.689 ± 89.947	101.586 ± 34.823	.2737
Splenomegaly at Dx	128.238 ± 85.996	102.182 ± 58.184	.2205
Thrombotic episodes	146.67 ± 95.448	92.358 ± 33.801	.0023
Therapy requirement	120.841 ± 73.385	81.864 ± 23.485	.0668
Chromosome aberrations	86.053 ± 36.124	108.605 ± 62.472	.3113
Myelofibrosis evolution	116.496 ± 35.931	109.249 ± 68.408	.8172
Leukemia evolution	124.663 ± 32.064	108.432 ± 68.422	.6043

リスクのROC曲線による検定を行ったところ、白血球数ではROC area: 0.6933 ± 0.06412 (95% 信頼区間 $0.5676-0.8190$; $P=0.006178$)、白血球数 $9,050/\mu\text{L}$ で感度 68.18% (95% 信頼区間 45.13%~86.14%)、特異度 56.16% (95% 信頼区間 44.05%~67.76%)、尤度 1.56 であった (Fig. 4A)。一方、*JAK2*-V617F 変異アレル量ではROC area: 0.7885 ± 0.05349 (95% 信頼区間 $0.6836-0.8933$, $P<0.0001$)、*JAK2*-V617F 変異アレル量が 26.83 で感度 86.36% (95% 信頼区間 65.09%~97.09%)、特異度 50.67% (95% 信頼区間 38.86%~62.41%)、尤度 1.75 であった (Fig. 4B)。これらのことから、初診時の白血球数 $9,000/\mu\text{L}$ および *JAK2*-V617F 変異アレル量 30 がおよそその血栓症発症リスクの目安になると考えられた。現在の *JAK2*-V617F 変異検査では *JAK2*-V617F 変異アレル量 (K2(T)%/K2(G)%比) 30 以上を陽性例と判定し、今回の検討での血栓症リスクの *JAK2*-V617F 変異アレル量は 26.83 と近似するため、血栓症リスクの検討では白血球数 $9,000/\mu\text{L}$ 以上、*JAK2*-V617F 変異陽性例を血栓症リスクと判断し検定を行った。年齢ではROC area: 0.6966 ± 0.06288 (95% 信頼区間 $0.5733-0.8189$, $p=0.004847$)、年齢 69.50 歳で感度 69.57% (95% 信頼区間 47.08%~

86.79%)、特異度 64.29% (95% 信頼区間 51.93%~75.39%)、尤度 1.95 であった (Fig. 4C)。

以上の検定より年齢 70 歳以上、男性、白血球数 $9,000/\mu\text{L}$ 以上、*JAK2*-V617F 変異陽性の 3 点につき血栓症の既往との関係につきオッズ比を求めた。血栓症リスクでは男性でオッズ比 2.5 (95% 信頼区間: $0.9479-6.593$)、70 歳以上でオッズ比 2.575 (95% 信頼区間: $0.9897-6.698$)、白血球数 $9,000/\mu\text{L}$ 以上で、オッズ比 2.743 (95% 信頼区間 $1.014-7.421$)、*JAK2*-V617F 変異陽性例ではオッズ比 4.628 (95% 信頼区間: $1.440-14.87$) であり、今回の検討では初診時の白血球増加 ($9,000/\mu\text{L}$ 以上) と *JAK2*-V617F 変異の有無が有意な血栓発症因子と考えられた。

考 察

MPN の中で ET は巨核球・血小板細胞系の持続的増加を特徴とする後天性体細胞遺伝子変異に由来するクローン性骨髄増殖性疾患である。MPN の認識と共に ET の約 50% で *JAK2*-V617F 遺伝子変異が認められ、ET 発症要因として大きく注目されるようになった。しかし *JAK2*-V617F 遺伝子変異陰性 ET 症例の存在、同一の遺伝子変異から PV、ET、PMF と臨床像の異なる表現型を呈することなどが

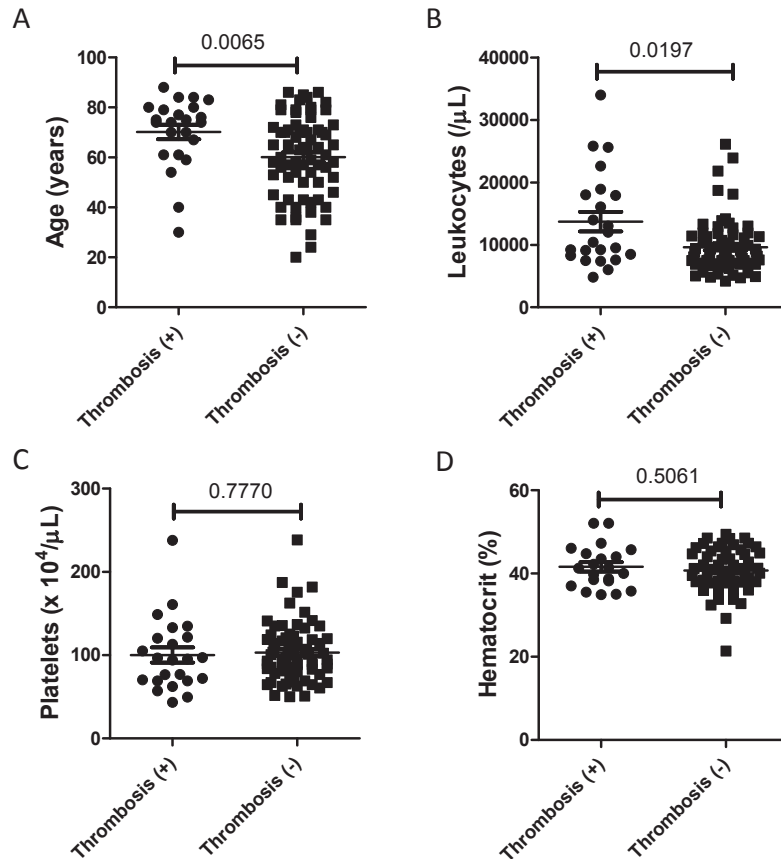


Fig. 2 Differences in clinical and hematological findings between patients with or without thrombosis were shown. In the thrombosis group, significant increase in age ($P=0.0065$) (A), and leukocyte counts ($P=0.0197$) (B) were noted, while no difference was seen in platelet counts ($P=0.7770$) (C) or hematocrit ($P=0.5061$) (D).

ら、明確な発症要因は未だ解明されていない。

ETの臨床症状としては血栓塞栓形成とともに出血傾向を示し、血栓形成による脈管系合併症はET患者の病状と予後に大きく関与する¹²⁾。また、ETは他のMPNと同様に骨髓線維症あるいは急性白血病へ進行する可変的な病態を持ち、そのため、ET治療戦略の狙いは骨髓線維症及び白血病への進行有無を観察するとともに、血栓症と出血合併症を防ぐことにあり、これら疾患関連合併症リスク因子の特定とそれによる重症度の層別化、治療強度の選択がET治療の課題と考えられる。

ET患者における出血性合併症には後天性 von Willebrand 症候群の関与が考えられており、血小板表面の吸着機能障害および von Willebrand 因子マルチマーの蛋白分解による凝固因子減少がその病態とされている¹²⁾¹⁸⁾。また血栓症発症には血小板機能異常¹²⁾¹⁹⁾、循環白血球増加による血小板への直接的な結合および活性化白血球の血管内皮細胞への障害・相互作用による組織因子への影響など複数の因子の

影響が考えられているが¹²⁾²⁰⁻²²⁾、血栓症発症についての明確な病態論は不明な点も多く、中でも *JAK2-V617F* 変異との関連は未だ論争的である¹¹⁻¹⁶⁾。*JAK2-V617F* 変異が独立した血栓症の発症因子であるとする報告もあれば¹¹⁻¹⁵⁾、*JAK2-V617F* 変異による白血球増加が血栓形成を誘発するという間接的関与にとどまるとする報告²⁰⁻²²⁾、あるいは無関係であるとの報告もあり¹⁶⁾、一定の見解は得られていないのが現状である。またETが血小板増加を特徴とするのに対し、多くの既存の報告で血小板増加と出血傾向との関与は認められるが、血栓形成との関連は確立されていない¹³⁾²³⁾。

今回我々は *JAK2-V617F* 変異の臨床的意義を明らかにする目的でET患者97例を検討した。*JAK2-V617F* 変異はヘテロ型優位に約57%に検出され、*JAK2-V617F* 変異陽性例では白血球増加、ヘマトクリット・血色素量上昇、血栓症発症の増加を認めたが、血小板数と血栓症発症に有意な関係は認めなかった。血栓症リスクとして初診時の白血球増加と

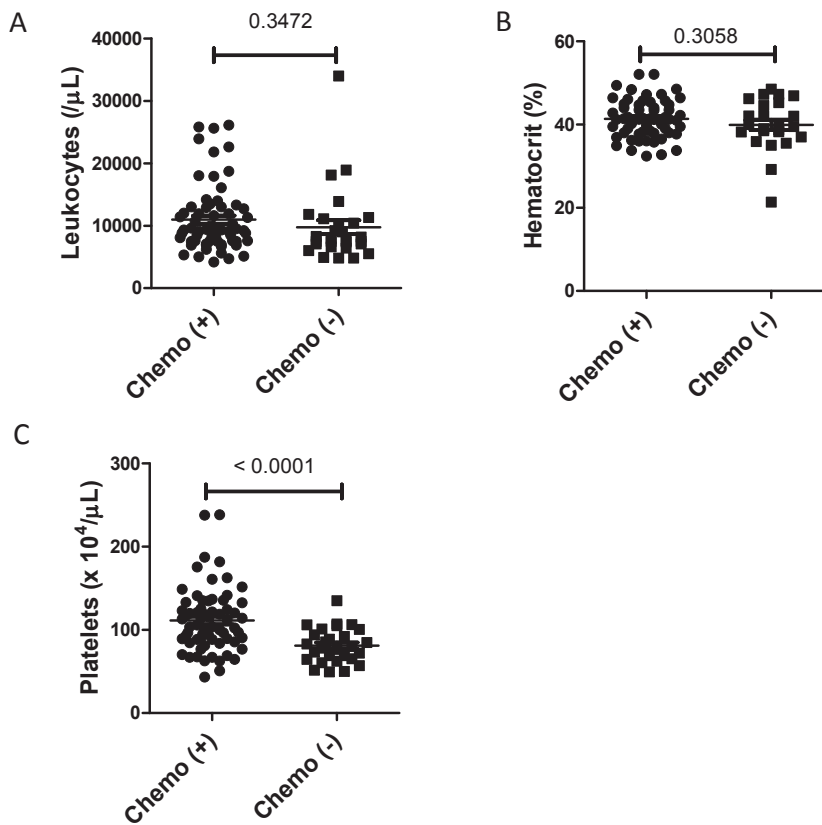


Fig. 3 Differences in clinical and hematological findings between patients with chemo or without chemo anti-tumor chemotherapy were shown. Platelet counts were elevated in patients with treatment ($P < 0.0001$), while no differences were seen in leukocyte counts ($P = 0.3472$) and hematocrit ($P = 0.3058$).

JAK2-V617F 変異が有意な血栓発症因子と考えられたが、これは *JAK2*-V617F 変異の血栓症発症への直接的影響を肯定するものではなく、今後の検討を要すると考えられた。

今回の我々の検討ではヘテロ型とホモ型 *JAK2*-V617F 変異の間に血液学的所見の有意差は認められなかったが、ET 患者でのホモ型の頻度が極めて少ないことに由来している可能性は否定できない。白血球増加傾向がホモ型 *JAK2*-V617F 変異例でみられたことは、多数例での症例解析が必要なことを物語っている。*JAK2*-V617F 変異陽性例では陰性例に比し、血小板を除く血球増多を認めた。この結果は *JAK2*-V617F 変異陽性 ET が PV 類似病態であることを示唆するものであると考えられ、*JAK2*-V617F 変異遺伝子量により、その臨床像はより PV 様の特徴を呈する可能性が考えられた。そのため *JAK2*-V617F 変異遺伝子量による血栓傾向への影響を評価する上では、今後 PV との比較検討を要するものと思われるが、3 系統血球の内、とりわけ白血球増多が独立した血栓リスクであるならば、ホモ型 *JAK2*-

V617F 変異を示す ET でより血栓リスクは高い可能性が考えられる。

ET 治療に際して、年齢、血栓既往、疾患関連症状評価、心血管リスク因子などに基づいてリスク層別化を行うことは治療の必要性や強度を決定する上で重要である。しかしながら今回の検討でも明らかになったように、抗腫瘍薬投与の必要性は血小板数に依存し、必ずしも血栓症リスクを考慮した治療の選択がされているとは言い難い。初診時に白血球増加がみられる ET 症例では血栓リスクが上昇する可能性があるため²⁰⁻²²、初期段階の治療を検討する際には血小板数のみでなく白血球数と血栓症との関係も念頭に入れ、抗腫瘍薬の開始時期を考慮する必要があるものとする。

ET において年齢、血栓の既往症が血栓症リスクを評価する上で独立した予測因子であることはすでに証明されている²⁴⁾²⁵⁾。過去の報告例の統計学的解析では欧米からの報告では *JAK2*-V617F 変異の有無は血栓症リスクに有意な意味を持たないとされるが¹⁶⁾、台湾や本邦からの報告の如くアジア人種にお

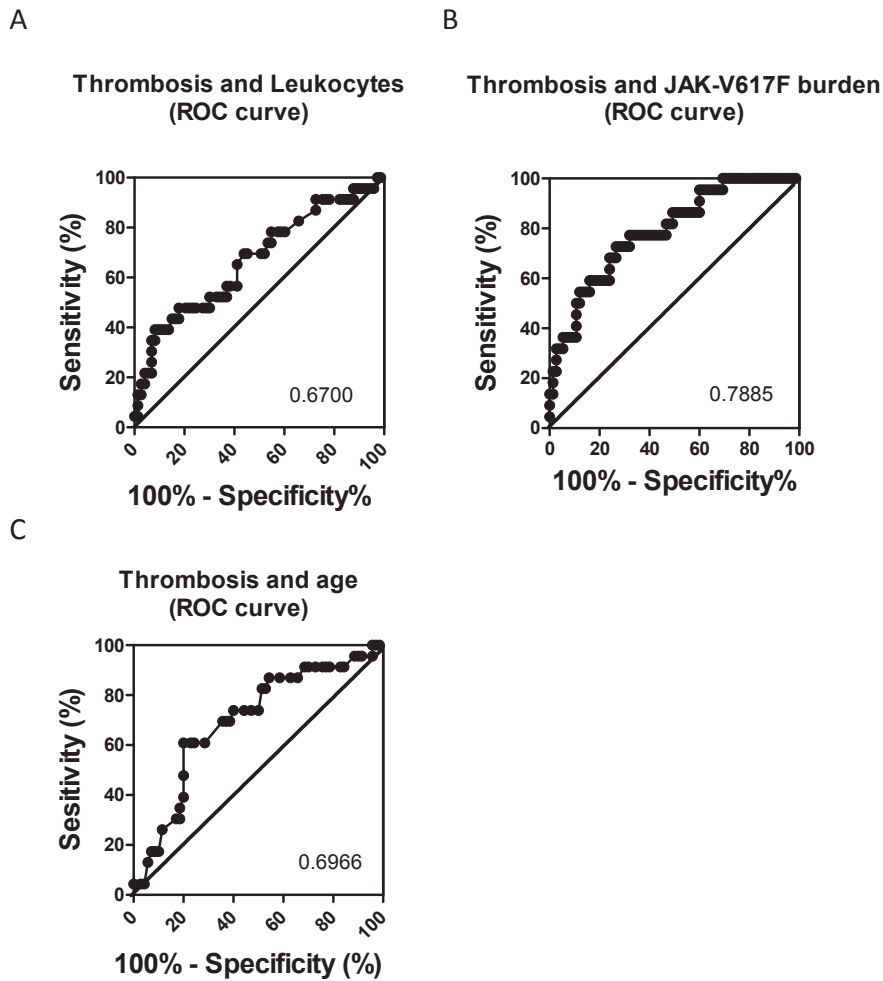


Fig. 4 Receiver-operating characteristics (ROC) curve. When we calculated the values, a leukocyte count of 9,050/ μ L, a K2(T)%/K2(G)% ratio of 26.83 in the quantity of *JAK2*-V617F allele, and average age of 69.5 years were noted.

ける ET 患者の血栓症リスクに及ぼす *JAK2*-V617F 変異の意義は極めて大きく¹¹⁻¹⁵⁾、人種差による影響が考えられる。今回の検討では有意差は得られなかったが男性、高齢者 (70 歳以上) も大きな要因であった。しかしながら、血栓・塞栓症は喫煙歴や高脂血症、糖代謝障害とも関係するため、男性および年齢は独立した血栓症リスクの要因としては浮かび上がりにくいのもかもしれない。

結 論

本邦での検討では加えて新たに初診時の白血球数と *JAK2*-V617F 変異の有無及び遺伝子量測定は臨床像・予後・血栓症のマーカーとして大きな意義を持ち、ET 治療戦略における重要な因子である可能性が示唆された。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、患者検体の採取にご協力頂きました東京医科大学・血液内科の諸氏に感謝申し上げます。

文 献

- 1) James C, Ugo V, Le Couédic J-P, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, Garcon 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 polycythemia vera. *Nature* **434**: 1144-1145, 2005
- 2) 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
- 3) 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** : 779-790, 2005
 - 4) 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, Frohling S, Dohner 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
 - 5) Zhao R, Xing S, Li Z, Fu X, Li Q, Krantz SB, Zhao ZJ : Identification of an acquired *JAK2* mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* **280** : 22788-22792, 2005
 - 6) Ohyashiki K, Aota Y, Akahane D, Gotoh A, Ohyashiki JH : *JAK2*-V617F status as determined by semiquantitative sequence-specific primer single molecule fluorescence detection assay is linked to clinical features in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia* **21** : 1097-1099, 2007
 - 7) Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD : The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* **100** : 2292-2302, 2002
 - 8) 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
 - 9) Akada H, Yan D, Zou H, Fiering S, Hutchison RE, Mohi MG : Conditional expression of heterozygous or homozygous *Jak2*V617F from its endogenous promoter induces a polycythemia vera-like disease. *Blood* **115** : 3589-3597, 2010
 - 10) Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas MA, Looser R, Dirnhofer S, Schwaller J, Skoda RC : Ratio of mutant *JAK2*-V617F to wild-type *Jak2* determines the MPD phenotypes in transgenic mice. *Blood* **111** : 3931-3940, 2008
 - 11) 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 *JAK2* 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood* **110** : 840-846, 2007
 - 12) Fabris F, Randi ML : Essential thrombocythemia : past and present. *Intern Emerg Med* **4** : 381-388, 2009
 - 13) Elliott MA, Tefferi A : Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol* **128** : 275-290, 2005
 - 14) Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Dellacasa CM, Salmoiraghi S, Delaini F, Rambaldi A, Barbui T : *JAK2*V617F allele burden and thrombosis : a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* **37** : 1016-1021, 2009
 - 15) Scott LM, Scott MA, Campbell PJ, Green AR : Progenitors homozygous for the V617F mutation occur in most patients with polycythemia vera, but not essential thrombocythemia. *Blood* **108** : 2435-2437, 2006
 - 16) Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, Gilliland DG, Tefferi A : *JAK2* mutation in essential thrombocythaemia : clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* **131** : 208-213, 2005
 - 17) Ohyashiki K, Hori K, Makino T, Ohyashiki JH : Automated *JAK2*-V617F quantification using a magnetic filtration system and sequence-specific primer-single molecule fluorescence detection. *Cancer Genetics and Cytogenetics* **179** : 19-24, 2007
 - 18) Franchini M, Lippi G : Acquired von Willebrand syndrome : an update. *Am J Hematol* **82** : 368-75, 2007
 - 19) Hattori N, Fukuchi K, Nakashima H, Maeda T, Adachi D, Saito B, Yanagisawa K, Matsuda I, Nakamaki T, Gomi K, Tomoyasu S : Megakaryopoiesis and platelet function in polycythemia vera and essential thrombocythemia patients with *JAK2* V617F mutation. *Int J Hematol* **88** : 181-188, 2008
 - 20) Ohyashiki K, Kiguchi T, Ito Y, Fujimoto H, Gotoh A, Tauchi T, Miyazawa K, Kimura Y, Ohyashiki JH : Leukocytosis is linked to thrombosis at diagnosis, while *JAK2* V617F mutation is associated with thrombosis during the course of essential thrombocythemia. *Int J Hematol* **87** : 446-448, 2008
 - 21) Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, Spinelli O, Delaini F, Marchioli R, Borrelli G, Rambaldi A, Barbui T : Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia : interaction with treatment, standard risk factors, and *Jak2* mutation status. *Blood* **109** : 2310-2313, 2007
 - 22) Falanga A, Marchetti M, Evangelista V, Vignoli A, Licini M, Balicco M, Manarini S, Finazzi G, Cerletti C, Barbui T : Polymorphonuclear leukocyte activation and hemostasis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Blood* **96** : 4261-4266, 2000
 - 23) Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P,

- Vannucchi AM, Delaini F, Guerini V, Ruggeri M, Rodeghiero F, Rambaldi A, Barbui T: Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* **112**: 3135-3137, 2008
- 24) Cortelazzo S, Viero P, Finazzi G, D'Emilio A, Rodeghiero F, Barbui T: Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* **8**: 556-562, 1990
- 25) Barbui T, Barosi G, Grossi A, Gugliotta L, Liberato LN, Marchetti M, Mazzucconi MG, Rodeghiero F, Tura S: Practice guidelines for the therapy of essential thrombocythemia. A statement from the Italian Society of Hematology, the Italian Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* **89**: 215-232, 2004

Clinical significance of *JAK2*-V617F mutation in essential thrombocytosis : Leukocytosis and *JAK2*-V617F mutation at initial consultation are significant risk markers for developing thrombosis

Tamiko IWABUCHI, Yoshikazu ITO, Junko H. OHYASHIKI, Kazuma OHYASHIKI

Tokyo Medical University
First Department of Internal Medicine, Division of Hematology, Intractable Diseases
Research Center, Institute of Medical Science

Abstract

Objectives : A somatic mutation of janus activating kinase-2 (*JAK2*), *JAK2*-V617F mutation, is seen in myeloproliferative neoplasms (MPN) including essential thrombocytosis (ET), and participates in erythropoietin receptor signaling. We developed a semi-quantitative examination for *JAK2*-V617F mutation, and considered the clinical significance of this mutation in ET.

Subjects and Methods : In 97 ET patients, *JAK2*-V617F mutation was measured semi-quantitatively by sequence-specific primer-single molecule detection (SSP-SMFD), and the obtained clinicohematologic data were statistically analyzed.

Results and Discussion : Of the 97 ET patients, 42, 52, and 3 patients had the wild-type (GG), heterotype (GT), and homotype (TT), respectively. In *JAK2*-V617F mutation-positive patients, the leukocyte count ($P=0.0016$), hemoglobin/hematocrit ($P=0.0027$, $P=0.0003$), and incidence of thrombosis ($P=0.0016$) were significantly higher. There were no significant differences in male-to-female ratio, platelet count, presence/absence of enlarged spleen, or stage of myelofibrosis/leukemia. In the *JAK2*-V617F mutation positive patients, the odds ratio for thrombosis or embolism was 4.628 (95% confidence interval : 1.440 to 14.87), suggesting that *JAK2*-V617F mutation can serve as a marker of developing thrombosis. In ET patients, decision to administer anticancer drugs is made according to the platelet count. However, it is necessary to appropriately determine the need for prevention of thrombosis by measuring white blood cell count and *JAK2*-V617F mutation level at initial consultation.

〈Key words〉 : Essential thrombocytosis (ET), Janus activating kinase-2 (*JAK2*), Thrombosis
