

骨髓增殖性肿瘤患者血栓栓塞的相关因素

郭慧梅¹, 潘峻^{2*}, 贺建辉³, 化罗明¹, 曹志新¹, 薛蕾¹

Related Factors of Thrombosis in Patients with Myeloproliferative Neoplasms

GUO Huimei¹, PAN Ling^{2*}, HE Jianhui³, HUA Luoming¹, CAO Zhixin¹, XUE Lei¹

1. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Hebei University, Baoding 071000, China; 2. Department of Hematology, the 2nd Hospital of Hebei Medical University; 3. Department of Neurosurgery, Baoding First Central Hospital. (*:Present:Department of Hematology, West China Hospital, Sichuan University)

Abstract: Objective To investigate the related risk factors of thrombosis in patients with BCR/ABL negative myeloproliferative neoplasms(MPN) for clinic. **Methods** The JAK2V617F mutation of 104 patients with MPN was detected by allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) method. Clinical features, laboratory examinations and thrombosis events of 104 patients with MPN were retrospectively studied. Univariate analysis was applied on the pathologic information and multivariate analysis was applied based on the univariate analysis. **Results** Seventy-one cases of JAK2V617F mutation(68.3%) and 45 cases of thrombosis (43.3%) were identified in 104 patients with MPN. Univariate analysis revealed that age, hypertension, diagnosis, JAK2V617F and WBC were correlated with thrombosis ($P<0.05$). Multivariate analysis revealed that advanced age (≥ 60 years), JAK2V617F mutation and increased WBC count were independent risk factors of thrombosis ($P<0.05$). **Conclusion** The thrombosis risk for MPN patients with advanced age, JAK2V617F mutation or increased WBC count may suffer high risk of thrombosis.

Key words: Myeloproliferative neoplasm; JAK2V617F; Thrombosis

摘要:目的 研究BCR/ABL阴性骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)患者血栓栓塞的相关危险因素,用以指导临床。**方法** 104例MPN患者采用等位基因特异性PCR(AS-PCR)方法检测JAK2V617F突变情况,回顾性分析104例MPN患者临床特征、实验室检查及血栓栓塞事件发生情况等资料。先后行单因素分析和多因素分析。**结果** 104例MPN患者中71例(68.3%)存在JAK2V617F突变,45例有血栓栓塞(43.3%)。单因素分析表明,年龄、高血压病史、病种、JAK2V617F、白细胞计数(WBC)与血栓栓塞具有相关性($P<0.05$);多因素分析表明,年龄(≥ 60 岁)、JAK2V617F突变、白细胞计数升高是血栓栓塞的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** 高龄、JAK2V617F突变阳性或白细胞计数增高的MPN患者血栓栓塞风险可能较高。

关键词: 骨髓增殖性肿瘤; JAK2V617F; 血栓栓塞

中图分类号: R733.3 文献标识码: A

0 引言

BCR/ABL阴性的骨髓增殖性肿瘤包括真性红细胞增多症(PV)、原发性血小板增多症(ET)、原发性骨髓纤维化(PMF)、慢性中性粒细胞白血病(CNL)、慢性嗜酸性细胞白血病/高嗜酸性细胞综合征(CEL/HES)及难分类的骨髓增殖性肿瘤。它们的共同特点是:骨髓中一系或多系细胞增殖,外周血出现过多的成熟或幼稚细胞,高风险的出血和血栓栓塞倾向,随病情进展部分患者可转化为其他疾病。血栓

栓塞为MPN患者常见的并发症之一,常可引起严重不良后果,甚至导致患者死亡。2005年,在大多数PV及部分ET和PMF患者中发现了高致病性的获得性JAK2V617F突变^[1]。JAK2是一种组成性酪氨酸激酶,能激活JAK-STAT信号转导途径。JAK2V617F突变与血栓栓塞是否相关?MPN患者血栓栓塞的相关因素有哪些?本研究旨在探讨MPN患者血栓栓塞的相关危险因素,以指导对MPN患者血栓栓塞的防治。

1 资料和方法

1.1 研究对象

收集2005年11月—2012年8月在河北大学附属医院及河北医科大学第二医院住院和门诊随访的BCR/ABL阴性MPN患者104例(PV 41例,ET 41例,PMF 18例,CNL 2例,CEL/HES 2例)。其中男54例,

收稿日期: 2012-12-26; 修回日期: 2013-04-08

作者单位: 1.071000河北保定,河北大学附属医院血液内科;2.河北医科大学第二医院血液内科;3.保定市第一中心医院神经外科(*:现单位:四川大学华西医院血液内科)

作者简介: 郭慧梅(1979-),女,硕士,主治医师,主要从事骨髓增殖性肿瘤的研究

女50例, 年龄20~86岁, 中位年龄56.8岁。诊断按照2008年世界卫生组织(WHO)有关MPN新诊断标准进行分类。

1.2 回顾性分析患者临床资料

包括血常规、血气分析、维生素B12、叶酸、骨髓分类、骨髓活检、心电图、腹部B型超声、下肢血管多普勒彩色超声、头颅CT/MRI、中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)积分、BCR-ABL融合基因、Ph染色体等相关检查。根据血栓栓塞事件, 分为血栓组及对照组。记录各组患者的性别、年龄、高血压病史、病种、白细胞计数、血红蛋白值、血小板计数。

1.3 AS-PCR检测各组患者JAK2V617F突变

采用患者外周血或骨髓单个核细胞基因组DNA为样本, 针对JAK2V617F突变位点所在第12号外显子共设计3条引物。上游引物1(特异性): 5'-AGC ATT TGG TTT TAA ATT ATG GAG TAT ATT-3'; 上游引物2(内参照): 5'-ATC TAT AGT CAT GCT GAA AGT AGG AGA AAG-3'; 下游引物: 5'-CTG AAT AGT CCT ACA GTG TTT TCA GTT TCA-3'。引物由上海生工生物工程公司合成, 上游引物1对等位基因突变体特异, 在3'端的第3个核苷酸含有1个故意错配的碱基以提高特异性(产物203 bp); 上游引物2从突变体及野生型等位基因扩增出364 bp, 作为PCR内参照。

1.4 统计学方法

核查资料, 建立数据库, 对因素进行赋值并录入计算机, 应用SPSS13.0统计软件分析。对相关因素先用卡方检验行单因素分析, 对有统计学意义的变量再进行Logistic多因素分析。检验水准取 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 JAK2V617F突变检测结果

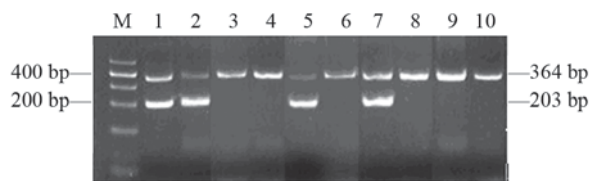
104例MPN患者中71例(68.3%)存在JAK2V617F突变, 即41例PV中有34例突变(82.9%), 41例ET中有25例突变(61.0%), 18例PMF中有11例突变(61.1%)和2例CNL中有1例突变(50.0%)患者。2例CEL/HES突变均为阴性, 见图1。

2.2 血栓栓塞情况

104例MPN患者中, 45例(43.3%)有血栓栓塞。其中动脉血栓37例(82.2%), 静脉血栓8例(17.8%)。脑梗死27例, 心肌梗死5例, 心肌和脑梗死并存2例, 短暂脑缺血发作2例, 短暂脑缺血发作和脑梗死并存1例, 门静脉血栓3例, 脾静脉血栓2例, 下肢静脉血栓1例, 脾静脉血栓和下肢静脉血栓并存1例, 下腔静脉血栓1例。59例(56.7%)患者无血栓栓塞发生。

2.3 单因素分析

将所有8个研究因素进行卡方检验, 筛选出5个与



M:marker;1,2,5,7:JAK2V617F positive;3,4,6,8,9,10: JAK2V617F negative

图1 AS-PCR方法检测骨髓增殖性肿瘤患者JAK2V617F突变情况

Figure 1 JAK2V617F mutation detected by AS-PCR method in patients with myeloproliferative neoplasms

MPN血栓栓塞相关的因素($P<0.05$), 结果见表1。

2.4 多因素分析

将上述单因素分析中筛选出的5个可疑因素进行多因素非条件Logistic回归分析, 数据显示, 年龄 ≥ 60 岁、JAK2V617F阳性及白细胞增多是MPN血栓栓塞的独立危险因素($P<0.05$), 见表2。

3 讨论

骨髓增殖性肿瘤是克隆性造血干细胞肿瘤, 血栓

表1 骨髓增殖性肿瘤患者单因素分析结果

Table 1 The results of univariate analysis with MPN patients

Variable	Thrombus group	Control group	χ^2	P
Gender				
Male	23	31		
Female	22	28	0.021	0.085
Age(years)				
≥ 60	26	18		
< 60	19	41	7.778	0.005
Hypertension				
Without	24	50		
With	21	9	12.273	0.000
Diagnosis				
PV	25	16		
ET	17	24	13.161	0.001
PMF/CNL/CEL	3	19		
JAK2V617F				
Without	9	24		
With	36	35	5.039	0.025
WBC($10^9/L$)				
< 10	3	26		
10-20	29	29	21.511	0.000
> 20	13	4		
Hb(g/L)				
< 160	20	40		
160-180	8	6	4.736	0.094
> 180	16	14		
PLT($10^9/L$)				
< 300	7	18		
300-600	18	16	3.696	0.158
> 600	20	25		

Note: PV: polycythemia vera; ET: essential thrombocythemia; PMF: primary myelofibrosis; CNL: chronic neutrophilic leukemia; CEL/HES: chronic eosinophilic leukemia/high eosinophilic syndrome

表2 骨髓增殖性肿瘤患者多因素非条件Logistic回归分析结果

Table 2 The analysis results of multivariate unconditional logistic regression with MPN patients

	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95%CI</i>
Age	1.384	0.487	8.086	0.004	3.991	1.537-10.359
JAK2V617F	1.516	0.610	6.184	0.013	4.555	1.379-15.046
WBC	1.322	0.454	8.501	0.004	3.752	1.542-9.127

Note:*B*:regression coefficient; *S.E.*:standard error; *Wald*:The value of wald;*OR*: Relative risk coefficient; *CI*:confidence interval

栓塞是MPN患者的主要并发症和致死原因之一。经典MPN患者血栓并发症中动脉血栓发生率高于静脉血栓发生率,其中脑血栓发生率最高,其次为冠状动脉血栓事件、下肢深静脉血栓^[2]。本研究文资料显示动脉血栓发生多于静脉血栓,脑血栓高于冠状动脉血栓及下肢静脉血栓,与文献^[2]一致。本研究探讨了MPN患者血栓栓塞的相关因素。单因素分析发现年龄、高血压病史、病种、JAK2V617F突变情况、白细胞计数与血栓栓塞具有相关性($P<0.05$);但多因素分析表明,年龄 ≥ 60 岁、JAK2V617F突变阳性、白细胞计数升高是血栓栓塞的独立危险因素,与文献^[3]一致。

3.1 年龄

年龄 ≥ 60 岁,血管内膜粗糙、内膜受损增多、促凝物质增加与血栓栓塞密切相关。本研究中, ≥ 60 岁患者血栓发生率(59.1%)高于 <60 岁者(31.7%)。经多因素分析发现, ≥ 60 岁发生血栓栓塞的风险是 <60 岁的3.991倍。支持高龄(≥ 60 岁)是MPN的血栓栓塞的独立危险因素之一。

3.2 JAK2V617F突变

本文104例BCR/ABL阴性的MPN患者中71例存在JAK2V617F突变, PV突变率为82.9%, ET为61.0%, PMF为61.1%。有学者^[4]对806例ET病例分析后认为具有JAK2V617F突变的ET与PV存在多种相似性,更易发生静脉血栓。同样另一项对224例ET患者的研究显示^[5], JAK2V617F突变的存在使整体血栓的相对危险性增加了45%。本组JAK2V617F突变阳性患者中血栓发生率(50.7%)显著高于突变阴性患者(27.3%)。多因素分析显示, JAK2V617F突变阳性者发生血栓栓塞的风险是突变阴性者的4.555倍。支持JAK2V617F阳性是MPN血栓栓塞的独立危险因素之一。

3.3 白细胞计数

关于白细胞计数对血栓栓塞的影响,血红蛋白水平和血小板计数只要不是极高,则不被认为是血栓事件的危险因素,然而白细胞计数升高被认为是血栓栓塞危险因素^[3,6-8]。在MPN患者中发现白细胞的活化与内皮细胞的损伤及凝血系统的激活有关,说明白细胞与血栓倾向的形成有关^[7]。Carobbio等^[8]研究证实ET患者的白细胞增多与其血栓栓塞相关,而非血小板增多,同时白细胞还参与血管粥样硬化斑块形成中的炎症过程,增加了血栓事件的概率。与突变阴性患者相比, JAK2V617F突变阳性的ET患者白细胞与血小板均处于显著的激活状态,推测JAK2V617F突变与血栓栓塞之间的关联可能来自白

细胞增多的间接效应。单因素分析显示, WBC计数($10\sim 20$) $\times 10^9/L$ 和 $>20\times 10^9/L$ 者的血栓栓塞率(分别为50.0%、76.5%),均高于 $<10\times 10^9/L$ 者(3.4%),而WBC计数($10\sim 20$) $\times 10^9/L$ 和 $>20\times 10^9/L$ 者的血栓栓塞率差异无统计学意义。经多因素分析,白细胞增多是MPN血栓栓塞的独立危险因素之一,提示在白细胞升高时可尽早给予干预治疗,以防血栓栓塞。

除以上三方面,经单因素分析与血栓栓塞有相关性的还有高血压病史、病种,但多因素分析时被排除。高血压病史不是独立的危险因素,也可能是因为统计例数较少、 <60 岁患者所占比例较大。病种方面,因PMF、CNL及CEL病例数较少,将三者合并与PV、ET组比较,单因素分析显示, PV和ET组的血栓栓塞率(分别为61.0%、41.5%),均高于PMF/CNL/CEL组(13.6%),而PV和ET组之间的血栓栓塞率差异无统计学意义。经多因素分析,病种因素被排除,考虑病种因素对血栓栓塞的影响需进一步扩大病例数研究。

综上,我们认为高龄、JAK2V617F突变阳性、白细胞计数增高的MPN患者血栓栓塞风险可能较高,对于这些患者,要特别注意血栓栓塞的发生,应该评估其风险,并决定是否进行降细胞治疗。

参考文献:

- [1] Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative diseases[J]. *Lancet*, 2005, 365 (9464):1054-61.
- [2] Antonioli E, Guglielmelli P, Poli G, et al. Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia[J]. *Haematologica*, 2008, 93(1): 41-8.
- [3] Reikvam H, Tiu RV. Venous thromboembolism in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera[J]. *Leukemia*, 2012, 26(4):563-71.
- [4] Campbell PJ, Scott LM, 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):1945-53.
- [5] De Stefano V, Rossi E, Za T, et al. JAK2 V617F mutational frequency in essential thrombocythemia associated with splanchic or cerebral vein thrombosis[J]. *Am J Hematol*, 2011, 86(6):526-8.
- [6] Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera[J]. *Blood*, 2007, 109(6):2446-52.
- [7] Landolfi R, Di Gennaro L, Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation[J]. *Leukemia*, 2008, 22(11):2020-8.
- [8] Carobbio A, Finazzi G, Guerini V, et al. Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and JAK2 mutation status[J]. *Blood*, 2007, 109(6):2310-3.

[编辑: 黄园玲; 校对: 周永红]