

## 한국인 본태성혈소판혈증 환자에서 $JAK2^{V617F}$ 유전자 변이

안정열<sup>1</sup> · 유수진<sup>3</sup> · 방수미<sup>2</sup> · 박필환<sup>1</sup> · 서일혜<sup>1</sup> · 신동복<sup>2</sup> · 이재훈<sup>2</sup>

가천의과학대학 진단검사의학과<sup>1</sup>, 내과<sup>2</sup>, 상계백병원 진단검사의학과<sup>3</sup>

### $JAK2^{V617F}$ Mutation in Korean Patients with Essential Thrombocythemia

Jeong-Yeal Ahn, M.D.<sup>1</sup>, Soo-Jin Yoo, M.D.<sup>3</sup>, Soo-Mee Bang, M.D.<sup>2</sup>, Pil-Whan Park, M.D.<sup>1</sup>, Yiel-Hea Seo, M.D.<sup>1</sup>, Dong-Bok Shin, M.D.<sup>2</sup>, and Jae-Hoon Lee, M.D.<sup>2</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup> and Internal Medicine<sup>2</sup>, Gil Medical Center, Gachon University, Incheon; Department of Laboratory Medicine<sup>3</sup>, Sanggye Paik Hospital, Inje University, Seoul, Korea

**Background :** Essential thrombocythemia (ET) is thought to reflect transformation of a multipotent hematopoietic stem cell, but its molecular pathogenesis remains obscure. But tyrosine kinase, especially Janus kinase 2 (JAK2), has been implicated in myeloproliferative disorders other than chronic myeloid leukemia. We investigated the frequency of JAK2 mutation and its correlation with other clinicopathologic variables in Korean patients with ET and reactive thrombocytosis (RT).

**Methods :** JAK2 mutation analysis was performed on genomic DNA from bone marrow aspirates of 24 patients with ET and peripheral blood in 36 patients with RT using allele-specific PCR.

**Results :** JAK2 mutation was detected in 11 patients (46%) among the 24 patients with ET and was not found in 36 patients with RT. In patients with ET, older age and leukocytosis were related with JAK2 mutation without statistical significance ( $P=0.172$  and  $0.094$ , respectively). But this mutation was not correlated with sex, hemoglobin, platelet count, splenomegaly, increased cellularity of bone marrow, bone marrow fibrosis and vascular complications.

**Conclusions :** The current observation strengthens the specific association between JAK2 mutation and ET. At the diagnosis of ET in Korean patients, identification of JAK2 mutation should be incorporated in the basis for new approaches. (*Korean J Lab Med* 2007;27:77-82)

**Key Words :** JAK2 mutation, Essential thrombocythemia, Reactive thrombocytosis

## 서론

본태성혈소판혈증은 진성적혈구증다증, 만성골수성백혈병, 골수양화생골수섬유증 등과 함께 만성골수증식성질환으로 분류되며, 임상적으로 평균생존이 길고 급성백혈병 또는 골수양화생골수섬유증으로 전환이 2-10% 정도로 낮은 반면 혈전과 출혈 발생이

높은 특징을 갖는다[1, 2]. 만성골수증식성질환은 엄격한 진단기준이 정해져 있으나 상당수의 예에서는 실제로 반응성질환 및 다른 골수증식성질환 간의 감별이 쉽지 않다. 유일하게 만성골수성백혈병에서만 질환에 특이적인 *BCR/ABL* 융합유전자로 분자유전학적 확인이 가능하다. 따라서 만성골수성백혈병의 *BCR/ABL* 융합유전자처럼 만성골수증식성질환에 특이적인 티로신키나제의 유전자 변이를 찾고자 많은 연구가 이루어졌다. 최근의 보고에 의하면 전신성 비만세포증, 만성호산구성백혈병 및 만성골수구단구성백혈병에서 각각 *FIP1L1*, *PDGFR $\alpha$*  및 *PDGFR $\beta$*  등의 티로신키나제와의 연관성이 알려지고 있다[3]. 특히 진성적혈구증다증, 본태성혈소판혈증, 골수양화생골수섬유증 환자의 상당수에서 다발성 조혈성장인자 수용체(multiple hematopoietic growth fac-

접 수 : 2006년 4월 13일      접수번호 : KJLM1941  
수정본접수 : 2007년 2월 6일  
게재승인일 : 2007년 2월 10일  
교신저자 : 방수미  
우 463-701 경기도 성남시 분당구 구미동 300  
분당서울대병원 내과  
전화 : 031-787-7009, Fax : 031-787-4051  
E-mail : smbang7@snu.ac.kr

tor receptor)의 신호전달에 중요한 역할을 하는 세포질 티로신키나제인 야누스 티로신키나제 2 (Janus tyrosine kinase 2, JAK2) 유전자 변이( $JAK2^{V617F}$ )가 보고되고 있다[4-9]. 이에 저자들은 한국인 본태성혈소판혈증 환자들과 반응성혈소판증가증 환자들에서 JAK2 유전자 변이의 빈도와 임상적 특징을 살펴보고자 한다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

본 연구는 1997년 1월부터 2005년 12월까지 가천의과대학 길병원 혈액종양내과에서 본태성혈소판혈증으로 진단받은 환자 중 골수검체가 보관되어 있는 24명을 대상으로 임상심의위원회의 심의를 거치고 해당 환자들로부터 후향적으로 동의서를 받은 후 시행되었다. 본태성혈소판혈증의 진단은 Polycythemia Vera Study Group (PVSG: 2001년까지)과 World Health Organization (WHO: 2002년 이후)의 진단 기준에 따랐으며, 대조군인 반응성혈소판증가증 환자는 혈소판수가 60만 이상이면서 혈액종양질환이 아닌 기타 질환 환자 36명으로 병록지를 참조로 성별, 연령, 일반혈액검사 및 생화학검사를 조사하였다. 본태성혈소판혈증 환자의 경우 성별, 나이, 일반혈액검사, 염색체검사결과, 혈관 합병증, 비장종대 유무 및 추적 관찰기간을 조사하였고, 환자의 골수도말과 생검에서 세포충실도, 골수구계:적혈구계 비율, 섬유화 유무를 두 명의 진단검사의학과 전문의가 판독하여 각각 기록하였다.

### 2. 핵산증폭검사

본태성혈소판혈증 환자의 골수흡인액과 반응성혈소판증가증 환자의 말초혈액의 단핵구에서 DNA를 추출하였고(QIAmp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, Valencia, CA, USA), JAK2 유전자 변이는 대립유전자특이중합효소연쇄반응(allele-specific PCR)으

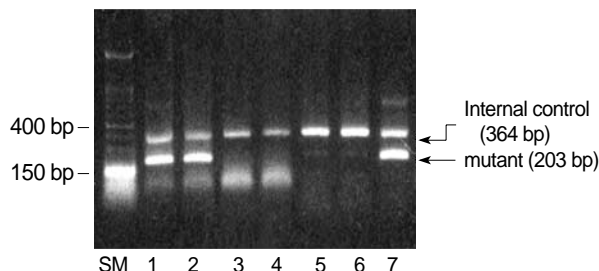


Fig. 1. Allele-specific PCR in patients with ET and RT. The 364 bp of PCR product is an internal control and 203bp is an allele specific product. Lane SM, molecular size marker; lane 1, 2, and 7, positive results from ET patients; lane 4, 5, 6, negative results from RT patients; lane 3, negative control. Abbreviations: ET, essential thrombocytopenia; RT, reactive thrombocytosis.

로 증폭, 검출하였다[10]. 10  $\mu$ mol/L의 공통역시발체(common reverse primer: 5'-CTGAATAGTCCACAGTGTTCAG-TTTC-3')와 5  $\mu$ mol/L의 두개의 전진성시발체(forward primer)를 사용했다.

첫번째 전진성시발체(5'-AGCATTTGGTTTTAAATTAG-GAGTATATT-3')는 돌연변이 대립유전자(mutant allele)에 특이적이고 고의적 불일치(intentional mismatch)를 포함하며 203 bp의 산물로 나타난다. 두번째 전진성시발체(5'-ATCTATAGT-CATGCTGAAAGTAGGAGAAAG-3')는 내부 대조(internal control)로 변이형(mutant type)과 야생형 대립유전자(wild type allele) 모두에서 관찰되며 364 bp 산물이다. 중합효소연쇄반응은 58°C의 단련(annealing) 온도로 총 36회 반응하였고, 증폭 산물은 1% 아가로스겔에 전기영동하여 확인하였다(Fig. 1).

### 3. 통계

JAK2 유전자 변이 양성과 음성 본태성혈소판혈증 환자군간의 임상 특징 비교는 chi-square 분석을 실시하였고 SPSS version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하였다.

## 결 과

### 1. 본태성혈소판혈증 환자와 반응성혈소판증가증 환자의 JAK2 유전자 변이 결과와 임상적 특징

#### 1) 본태성혈소판혈증 환자

JAK2 유전자 변이 결과는 24명 중 양성 11명(46%), 음성 13명(54%)이었다. 24명의 본태성혈소판증가증 환자는 남자 14명, 여자 10명이었고 평균 연령은 60세였다. 일반혈액검사상 평균 헤모글로빈은 12.7g/dL, 평균 백혈구수  $15.3 \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수  $1,034 \times 10^9/L$ 이었다. 비장종대 유무 확인이 가능했던 17명 중 8명에서 비장종대 소견이 있었다. 골수검사 결과 세포충실도가 증가된 예가 21명 중 16명, 골수구과형성 소견은 22명 중 15명, 섬유화 소견이 21명 중 7명에서 관찰되었다. 세포유전학검사는 16명의 환자에서 시행하였고 모두 정상 핵형을 보였다(Table 1).

#### 2) 반응성혈소판증가증 환자

총 36예에서 실시한 JAK2 유전자 변이 결과 모두 음성이었다. 반응성혈소판증가증 환자는 남녀 각각 19, 17명이며 평균 연령은 48세, 55세였다. 36명의 진단명은 감염 12명, 만성소모성질환 11명(당뇨 3, 심근경색 3, 신경학적 질환 3, 갑상샘 질환 2), 고형종양 6명(폐암 1, 위암 2, 신암 1, 유방암 1, 자궁근종 1), 골절 4명, 철결핍성 빈혈 2명, 기흉 1명이었다. 일반혈액검사상 평균 헤모글로빈은 10.5 g/dL, 평균 백혈구수  $9.9 \times 10^9/L$ , 평균 혈소판수  $730 \times 10^9/L$ , 평균 호산구는 2.3%였다. 그 밖의 일반화학검사

**Table 1.** Characteristics of 24 patients with essential thrombocythemia

Characteristics	
Number (male/female)	24 (14/10)
Age:Mean (range)	60 (54-68)
CBC:Mean (range)	
Hemoglobin (g/dL)	12.7 (11.2-14.3)
White blood cells ( $\times 10^9/L$ )	15.3 (10.6-20.1)
Platelets ( $\times 10^9/L$ )	1,034 (919-1,115)
Splenomegaly	8/17
Bone marrow	
Increased cellularity	16/21
Increased M:E ratio	15/22
Fibrosis	7/21
Vascular events	10/24
Cytogenetics	
Normal	16/16

**Table 3.** Clinical variables according to the mutational status of JAK2

	JAK2(+)	JAK2(-)	P value
Number (male/female)	11 (7/4)	13 (7/6)	
Age:Mean (range)	67 (62-72)	59 (47-70)	0.172
CBC:Mean			
Hemoglobin (g/dL)	12.2 (10.0-14.0)	12.8 (11.2-14.6)	0.441
White blood cells ( $\times 10^9/L$ )	12.8 (11.2-14.6)	9.2 (7.6-14.6)	0.094
Platelets ( $\times 10^9/L$ )	1,036 (876-1,229)	990 (852-1,421)	0.583
Splenomegaly	3/8	5/9	0.832
Bone marrow			
Increased cellularity	10/11	6/10	0.408
Mean (range) (%)	70 (66-83)	50 (39-75)	
Increased M:E ratio	7/11	8/11	0.401
Mean (range)	6.9 (2.2-11.6)	4.9 (2.9-6.9)	
Fibrosis	4/11	3/10	0.631
Vascular events	5/11	5/13	0.744
Follow up (months)	37	27.5	0.859

는 2명의 급성췌장염과 당뇨병콩팥병증 환자를 제외하곤 정상치를 보였다(Table 2).

## 2. JAK2 유전자 변이 양성과 음성 본태성혈소판혈증 환자의 임상적 특징 비교

24명 중 JAK2 유전자 변이 양성 11명(46%), 음성 13명(54%) 이었고 JAK2 유전자 변이 양성군은 남녀 각각 7명, 4명이며 음성군 13명은 남녀 각각 7명, 6명이었다. 평균 연령은 JAK2 유전자 변이 양성군이 67세, 음성군이 59세로 통계적 유의성은 없으나 양성군이 높은 경향을 보였다. 평균 헤모글로빈은 양성군이 12.2 g/dL, 음성군이 12.8 g/dL이고 평균 백혈구수는 양성군, 음성군 각각  $16.3 \times 10^9/L$ ,  $9.2 \times 10^9/L$  이었고 평균 혈소판수는 각각 1,036

**Table 2.** Characteristics of 36 patients with reactive thrombocytosis

Characteristics	
Number (male/female)	36 (19/17)
Age:Mean (range)	51 (45-58)
CBC:Mean (range)	
Hemoglobin (g/dL)	10.7 (10.1-11.3)
White blood cells ( $\times 10^9/L$ )	10.2 (8.5-11.9)
Platelets ( $\times 10^9/L$ )	724 (666-783)
Eosinophil (%)	2.3 (1.4-3.3)
Chemistry:Mean (range)	
Protein (g/dL)	6.74 (6.36-7.13)
Albumin (g/dL)	3.61 (3.34-3.88)
Total bilirubin (mg/dL)	0.63 (0.47-0.79)
AST (U/L)	38.1 (19.9-56.3)
ALT (U/L)	33.5 (22.3-44.8)
BUN (mg/dL)	21.8 (7.9-35.8)
Cr (mg/dL)	1.53 (0.60-2.48)

$\times 10^9/L$ ,  $990 \times 10^9/L$ 으로 양성군에서 백혈구수와 혈소판수가 높은 경향을 보이나 통계적 유의성은 없었다. 비장종대는 양성군은 8명 중 3명, 음성군은 9명 중 5명에서 관찰되었다. 골수검사결과 세포충실도 증가를 보인 예는 양성군이 11명 중 10명으로 평균 70%의 세포충실도를, 음성군이 10명 중 6명으로 평균 50%의 세포충실도를 나타냈다. 골수구과형성은 양성군 7예, 음성군 8예로 평균비율은 각각 6.9와 4.9로 나타나 세포충실도와 골수구과형성이 양성군에서 높은 경향을 보였다. 섬유화는 양성군, 음성군 각각 4예, 3예였다. 혈관 합병증은 10명의 환자에서 14회 발생하였고 이 중 혈전 10회, 출혈 4회였다. 본태성혈소판혈증 진단전에 뇌경색 3예, 급성심근경색 1예, 발가락 괴저 1예였으며 진단시 근육 출혈 3예, 협심증 1예였고 진단 후 추적 중 협심증 2예, 급성심근경색 1예, 뇌경색 1예, 십이지장궤양의 출혈 1예가 있었다. 혈관 합병증은 JAK2 유전자 변이 양성군과 음성군 각각 5명으로 두 군간에 차이가 없었다. 전체 본태성혈소판혈증 환자의 추적기간 중앙값은 27개월(0-133개월)이었고 한 명의 환자가 진단 당시 패혈증으로 사망하였으며 나머지 환자는 마지막 추적시 모두 생존해 있었다. 양군의 추적관찰기간은 양성군이 37개월, 음성군이 27.5개월로 양성군이 더 길었으나 통계적 유의성은 없었다(Table 3).

## 고 찰

본태성혈소판혈증은 만성골수증식성질환의 하나로서 임상적으로 거의 정상에 가까운 평균수명을 가지며 미세혈관장애, 혈전증 및 출혈 등의 합병증 발생이 흔한 것이 특징이며, 약 2-10%의 환자에서 급성백혈병과 골수양화생골수섬유증 또는 진성적혈구증 다증으로 진행한다[1, 2, 11]. 본태성혈소판혈증의 진단에는 단일 임상적 혹은 검사소견이 없어 항상 다른 골수증식성질환과 반응성혈소판증가증과의 감별이 필요하다. 현재 본태성혈소판혈증의 진단은 PVSG와 WHO의 진단 기준에 따르며 이는 60만 이상의

혈소판수와 특징적인 모양의 거핵구를 제외하면 모두 진성적혈구 증다증, 만성골수성백혈병, 골수양화생골수섬유증 등 만성골수증식성질환과 감별점으로 정해져 있다. WHO 진단 기준에 의한 골수조직소견상 커지고 다분절된 거핵구 핵의 군집 소견은 종종 다른 골수증식성질환에서도 나타날 수 있으며 진단을 위한 선행조건으로 충분한 골수조직과 표준화된 처리과정에 따라 표본이 제대로 처리되어야 한다. 그래서 이러한 형태학적 관찰 소견보다 좀 더 확실한 진단적 방법으로 내인성 적혈구계 집락형성단위(erythroid colony forming unit, CFU-E)나 거핵세포계 집락형성단위(megakaryocyte colony-forming unit, CFU-MEG)성장을 배양으로 확인하고자 하는 방법이 제시되었으나[12, 13] 이는 고가의 기술적 숙련도가 필요하여 일반검사에서 진단적 목적으로 사용하기보다는 연구목적으로 가능하다.

Fialkow 등[14]이 다발성 골수조직(multiple myeloid lineage)에서 X 불활성화(inactivation)의 클론 패턴을 입증함으로써 본태성혈소판혈증이 다능성 조혈모세포(multipotent hematopoietic progenitor)의 형질전환에 의함을 알게 되었다. 그러나 지금까지 약 50% 이상의 본태성혈소판혈증 환자에서 클론성 조혈소견이 보이지 않는다. 일반적으로 골수양화생골수섬유증은 약 50%, 진성적혈구증다증은 10-20%, 본태성혈소판혈증은 5% 미만에서 비특이적 세포유전학적 이상이 관찰된다. 그런데 최근 만성골수증식성질환에서 다인성 조혈성장인자 수용체(multiple hematopoietic growth factor receptor)의 신호전달에 중요 역할을 하는 세포질 티로신키나제 관련 유전자변이인 *JAK2*<sup>V617F</sup>가 이들 질환과 특이적 상관성이 있음이 밝혀졌다[4-8].

*JAK2* 유전자 변이는 exon 12번이 점돌연변이에 의해 codon 617부위에서 valine이 phenylalanine으로 치환된 것으로 진성적혈구증다증 환자의 65-97%에서 가장 높은 빈도로 보고되고 골수양화생골수섬유증 35-50%, 전신성 비만세포증 0-25%, 만성호중구성백혈병 17-33%, 만성골수구단구성백혈병 3-20%, 과호산구성증후군 0-2%, 골수이형성증후군 5%, 본태성혈소판혈증 23-57%의 빈도로 보고되었다[2, 5-7, 10, 15-18].

일반적으로 단백질티로신키나제(protein-tyrosine kinase, PTK)는 수용체 PTK (RPTK)와 세포질 PTK (CPTK)로 구분한다. 사람은 약 90개의 PTK 관련 유전자가 있으며 RPTK가 58개, CPTK가 32개 있다. 대표적인 RPTK는 PDGFR (platelet derived growth factor receptor), stem cell factor receptor (c-kit), FGFR (fibroblast growth factor receptor), VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor), frms-related tyrosine kinase 3 (Flt3)가 있다. CPTK는 Janus family의 kinase [*JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, tyrosine kinase 2 (TYK2)], SRC family의 kinase 및 Abl kinase가 대표적이다. Janus kinase 2 (*JAK2*)는 CPTK로 2개의 homologous kinase domain에 의해 특이적 구조를 갖는다. JH1은 활성기능이 있는 반면 JH2는 키나제 활성이 없는 pseudokinase이다. Interferon, Interleukin과 같은 사이토카인 또는 성장인자가 사이토카인 수용체와 만나 수용체 이합체화(recep-

tor dimerization)가 일어나고 동시에 수용체와 수용체 연관 *JAK*의 자가인산화활성(autophosphorylation)과 인산전달반응(transphosphorylation)이 일어난다. 활성화된 *JAK*-사이토카인 수용체 복합체는 다운스트림 분자(downstream molecules)인 signaling transducers and activators of transcription (STAT) family를 동원하고 인산화시킨다. 활성화된 STAT 분자가 핵으로 들어가 전사인자(transcription factor)로 작용한다. 특히 *JAK2*는 수용체가 조혈성장인자와 결합할 때 활성화된다[3, 19, 20].

본 연구는 24명의 본태성혈소판혈증 환자에서 *JAK2* 유전자 변이를 조사하였으며 *JAK2* 유전자 변이 양성군이 11예(46%)로 외국의 보고[2, 9, 16]와 유사한 빈도를 보였고, 고형 중앙 환자 6명을 포함한 반응성혈소판증기증 환자 36명은 모두 *JAK2* 유전자 변이 음성이었다. *JAK2* 유전자 변이 양성군과 음성군사이의 임상적 특징을 살펴보면 양성군에서 고령, 높은 백혈구수를 나타냈고, 골수검사결과 세포충실도증가와 골수구계:적혈구계 비율증가의 빈도 및 평균치가 높은 경향을 보이나 통계적 유의성은 없었다.

Wolanskyj 등[2]의 보고에 의하면 총 150명의 본태성혈소판혈증 환자 중 73명(48.7%)의 환자에서 *JAK2* 유전자 변이 양성이었으며 양성군이 연령, 헤모글로빈치, 백혈구수가 음성군에 비해 통계적으로 유의하게 높은 소견을 보였다. 그 외 혈소판수, 비장종대, 혈관합병증, 세포유전학적 이상, 출혈 및 혈전 빈도 등은 양성군과 음성군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 *JAK2* 유전자 변이 양성군에서 비장종대, 세포유전학적 이상, 혈관합병증의 빈도가 높은 경향을 보였다. 이들의 보고와 본 연구 결과를 비교해보면 통계적 유의성은 없었으나 *JAK2* 유전자 변이 양성 환자가 연령, 평균 백혈구수가 높은 경향은 일치하였다.

Baxter 등[10]의 보고는 51예 중 27예(57%)가 *JAK2* 유전자 변이 양성으로 통계적으로 유의성은 없었으나 양성군이 백혈구수, 혈소판수, 혈전증의 빈도가 높았으며 오히려 wild type에서 비장종대와 세포유전학적 이상소견이 많은 경향을 보였다. 이는 본 연구 결과 중 *JAK2* 유전자 변이 양성군 환자가 높은 평균 연령, 백혈구수를 보이는 소견과 일치하나 통계적 유의성은 없었다.

다른 혈액질환에서 *JAK2* 유전자 변이에 관한 빈도 보고는 급성골수구성백혈병 2-6%, 만성골수구단구성백혈병 0-13%, 골수이형성증후군 1-5%이고 급성림프구성백혈병과 만성림프구성백혈병에서 보고된 예가 없었다[5, 6, 17, 18]. 또 다른 보고에 따르면 혈액종양질환을 제외한 다른 기타 암 486예에서도 *JAK2* 유전자 변이 빈도를 조사하였으나 한 예도 검출되지 않았다[4]. 본 연구 결과도 소수이나 6명의 고형 중앙 환자(폐암 1, 위암 2, 신암 1, 유방암 1, 자궁근종 1)에서 *JAK2* 유전자 변이를 관찰할 수 없었다. 이상의 문헌 고찰과 본 연구 결과 본태성혈소판혈증을 포함한 고전적 만성골수증식성질환은 *JAK2* 유전자 변이와 특이적 연관이 있으나 급성골수성백혈병에서는 매우 드물고 림프구성백혈병과의 연관성은 없으며 혈액암 이외의 기타 암에서도 검출되지 않았다.

*JAK2* 유전자 변이를 검출하는 방법은 본 연구에서 사용한 allele-specific PCR방법 뿐 아니라 직접염기서열분석법, 중합효

소연쇄반응-제한절편길이다양성(PCR-RFLP)법 등이 있다. 실제로 어떤 시발체를 사용하건 allele-specific PCR법은 직접염기서열분석법, PCR-RFLP법에 비해 위양성 결과를 보일 수 있는 가능성을 내재한다.

본 연구에서 방법을 인용한 Baxter 등 보고에 의하면 본태성혈소판혈증 환자 51명을 대상으로 실시한 직접염기서열분석법 결과 51명 중 6명이 JAK2 유전자 변이가 있었고, 45명 환자의 검체로 allele-specific PCR을 시행한 결과 23예에서 JAK2 유전자 변이가 검출되었다[10]. 마찬가지로 다른 만성골수증식성질환도 직접염기서열분석법에 의한 JAK2 유전자 변이 검출이 allele-specific PCR보다 낮은 결과를 나타냈다. 이와 같은 현상은 직접염기서열분석법이 오히려 낮은 검출률을 나타낸 것으로 해석되며 이유는 직접염기서열분석법은 40% 이상의 세포에 이형접합체변이(heterozygous mutation) (>20%의 allele) 있어야 검출이 가능한 반면 allele-specific PCR은 3% 이상의 세포만 이형접합체변이가 있어도 검출이 가능한 예민한 검사법이기 때문으로 보고하였다. 또한 이들의 보고에 따르면 90명의 대조군 검체에서 직접염기서열분석법과 allele-specific PCR을 시행한 결과 두 검사법 모두 한 예도 JAK2 유전자 변이가 검출되지 않았다. 본 연구 또한 감염 12명, 만성소모성질환 11명(당뇨 3, 심근경색 3, 신경학적 질환 3, 갑상샘 질환 2), 고형 종양 6명(폐암 1, 위암 2, 신암 1, 유방암 1, 자궁근종 1), 골절 4명, 철결핍성 빈혈 2명, 기흉 1명 등 총 36명의 대조군에서 시행한 allele-specific PCR 결과 한 예도 JAK2 유전자 변이가 검출되지 않았다. Tefferi 등의 보고 또한 소수의 클론성 세포군에서 JAK2 유전자 변이 검출을 위해 예민한 방법인 allele-specific PCR 통해 진단적 정확성을 높일 수 있다고 하였다[15].

따라서 JAK2 유전자 변이는 고전적 골수증식성질환의 진단에 새로운 검사로 포함되어야 할 것으로 판단되며 특히 혈소판수 60만 이하인 임상적으로 본태성혈소판혈증이 의심되는 환자를 조기에 진단과 더불어 반응성혈소판증가증 환자의 감별진단에 도움을 주고자 하는 목적에 예민한 방법인 allele-specific PCR이 도움이 되리라 사료된다.

결론적으로 본태성혈소판혈증이 의심되는 환자의 진단시 골수 검사, 세포유전학검사, BCR/ABL 융합유전자, JAK2 유전자 변이를 선별검사로 동시에 시행하여, JAK2 유전자 변이 양성이면 반응성혈소판증가증의 가능성을 배제할 수 있으며, 본태성혈소판혈증과 그 밖의 만성골수증식성질환의 가능성이 높으므로 특징적인 골수조직소견과 임상양상, 염색체 이상 결과를 근거로 감별 진단에 이용할 수 있다.

## 요 약

**배경 :** 본태성혈소판혈증은 다능성 조혈모세포의 형질전환에 의해 발생하나 정확한 분자유전학적 기전은 확실치 않다. 최근 만

성골수증식성질환에서 티로신키나제 유전자 변이가 보고되며 분자유전학적 기전으로 대두되고 있다. 이에 저자들은 한국인 본태성혈소판혈증 환자와 반응성혈소판증가증 환자에서 세포질 티로신키나제인 JAK2의 유전자 변이를 조사하였다.

**방법 :** 본태성혈소판혈증 환자 24명의 골수흡인액과 반응성혈소판증가증 환자 36명의 말초혈액에서 대립유전자특이중합효소연쇄반응(allele-specific PCR)으로 JAK2 유전자 변이를 관찰하였다.

**결과 :** 본태성혈소판혈증 환자 24명 중 11명(46%)에서 JAK2 유전자 변이 양성소견을 보였으며 반응성혈소판증가증 환자 36명 모두 음성이었다. JAK2 유전자 변이 양성군이 고령과 높은 평균 백혈구수를 보이는 경향은 있으나 통계적 유의성은 없었다( $P=0.172$ ,  $P=0.094$ ). 그 외 성별, 혈소판수, 헤모글로빈, 비장종대, 세포충실도 증가와 섬유증 및 혈관합병증은 두 군간에 유의한 상관관계는 없었다.

**결론 :** JAK2 유전자 변이는 한국인 본태성혈소판혈증환자의 약 50%에서 관찰되어 진단에 도움이 되며, 이후 진단에 필요한 초기 검사에 포함되어야 할 것으로 사료된다.

## 감 사

본 연구에 도움을 주신 박지운 연구원, 검사실 최숙향, 이은형 선생님께 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Finazzi G and Harrison C. Essential thrombocythemia. *Semin Hematol* 2005;42:230-8.
2. Wolanskyj AP, Lasho TL, Schwager SM, McClure RF, Wadleigh M, Lee SJ, et al. *JAK2<sup>V617F</sup>* mutation in essential thrombocythaemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br J Haematol* 2005;131:208-13.
3. Tefferi A and Gilliland DG. The *JAK2<sup>V617F</sup>* tyrosine kinase mutation in myeloproliferative disorders: status report and immediate implications for disease classification and diagnosis. *Mayo Clin Proc* 2005; 80:947-58.
4. Scott LM, Campbell PJ, Baxter EJ, Todd T, Stephens P, Edkins S, et al. The *V617F JAK2* mutation is uncommon in cancers and in myeloid malignancies other than the classic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2920-1.
5. Johan MF, Goodeve AC, Bowen DT, Frew ME, Reilly JT. *JAK2 V617F* mutation is uncommon in chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2005;130:968.
6. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL, Powell HL, McClure RF, Levine RL, et al. The *JAK2 V617F* activating tyrosine kinase mutation

- is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood* 2005;106:1207-9.
7. Zhao R, Xing S, Li Z, FuX, Li Q, Krantz SB, et al. Identification of an acquired *JAK2* mutation in polycythemia vera. *J Biol Chem* 2005;280:22788-92.
  8. Levine RL, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation in the tyrosine kinase *JAK2* in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* 2005;7:387-97.
  9. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal *JAK2* mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-8.
  10. Baxter FJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase *JAK2* in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-61.
  11. Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2006;107:4214-22.
  12. Axelrad AA, Eskinazi D, Correa PN, Amato D. Hypersensitivity of circulating progenitor cells to megakaryocytes growth and development factor (PEG-rHu MGDF) in essential thrombocythemia. *Blood* 2000;96:3310-21.
  13. Westwood NB and Pearson TC. Diagnostic application of haemopoietic progenitor culture techniques in polycythaemias and thrombocythaemias. *Leuk Lymphoma* 1996;22(S1):S95-103.
  14. Fialkow PJ, Faguet GB, Jacobson RJ, Vaidya K, Murphy S. Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell. *Blood* 1981;58:916-9.
  15. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, Schwager SM, Li CY, Dingli D, et al. Concomitant neutrophil *JAK2*<sup>V617F</sup> mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. *Br J Haematol* 2005;131:166-71.
  16. Jones AV, Kreil S, Zoi K, Waghorn K, Curtis C, Zhang L, et al. Widespread occurrence of the *JAK2* V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2162-8.
  17. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, Bueso-Ramos C, Prchal JT, Verstovsek S, et al. *JAK2* mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML and megakaryocytic leukemia. *Blood* 2005;106:3370-3.
  18. Levine RL, Loriaux M, Huntly BJ, Loh ML, Beran M, Stoffregen E, et al. The *JAK2*V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005;106:3377-9.
  19. Goldman JM. A unifying mutation in chronic myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1744-6.
  20. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of *JAK2* in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-90.