



MPL S505N 돌연변이 양성인 일차골수섬유증 1예

Primary Myelofibrosis with *MPL* S505N Mutation: The First Case Reported in Korea

김웅전 · 이호종 · 최인선 · 강성호 · 장숙진 · 문대수 · 박 건

Ung-Jun Kim, M.D., Ho-Jong Lee, M.D., In-Sun Choi, M.D., Seong-Ho Kang, M.D., Sook-Jin Jang, M.D., Dae-Soo Moon, M.D., Geon Park, M.D.

조선대학교 의과대학 진단검사의학교실

Department of Laboratory Medicine, Chosun University College of Medicine, Gwangju, Korea

MPL mutation is an important molecular marker in myeloproliferative neoplasms (MPN). Although *MPL* W515 is a hot spot for missense mutations in MPN, *MPL* S505 mutations have been reported in both familial and non-familial MPN. A 72-year-old male visited the hospital, complaining mainly of dizziness and epistaxis. Leukocytosis, anemia, thrombocytopenia, tear drop cells, nucleated RBCs, and myeloblasts were observed in both complete blood cell counts and peripheral blood smears. Bone marrow aspiration failed due to dilution with peripheral blood. BM biopsy indicated hypercellular marrow, megakaryocytic proliferation with atypia, and grade 3 reticulin fibrosis. Conventional cytogenetics results were as follows: 46,XY,del(13)(q12q22)[19]/46,XY[1]. Molecular studies did not detect *JAK2* V617F, *BCR/ABL* translocation, *JAK2* exon 12, and *CALR* exon 9 mutations. The *MPL* S505N mutation was verified by colony PCR and Sanger sequencing following gene cloning. Based on the above findings, a diagnosis of overt primary myelofibrosis (PMF) was indicated. Mutation studies of buccal and T cells were not conducted. Further, family members were not subjected to mutation studies. Therefore, we were unable to determine whether this mutation was familial or non-familial. Six months after the first visit to the hospital, the patient died due to pneumonia and sepsis. Thrombotic symptoms or major bleeding events did not develop during the survival period following diagnosis of PMF. To the best of our knowledge, this may be the first reported case of PMF with the *MPL* S505N mutation in Korea.

Key Words: Myeloproliferative neoplasm, Primary myelofibrosis, *MPL* S505N mutation, 13q deletion

서론

일차골수섬유증(primary myelofibrosis, PMF)은 만성골수증식 종양(chronic myeloproliferative neoplasm, MPN) 중 하나로 골수의 거대핵세포(megakaryocytes)와 과립구(granulocyte)의 증식이 특징적이고, 빈혈, 비장비대, 골수의 조혈을 보이기도 한다[1]. *JAK2* V617F 음성인 PMF와 본태성혈소판증가증(essential thrombocythemia, ET) 환자에서 *CALR*과 *MPL* 유전자 돌연변이가 다양한 빈

도로 관찰된다[2, 3]. *MPL* 돌연변이는 W515에서 주로 발생하는데 S505 돌연변이도 드물지만 보고되고 있다[4-6]. *MPL* S505N 돌연변이 양성인 PMF 증례를 문헌고찰과 함께 국내 첫 보고를 하는 바이다.

증례

72세 남성이 어지러움과 코피를 주소로 내원하였다. 4년 전부터 당뇨로 타 병원에서 추적관찰 중이었고, 매일 소주 1병의 음주력과 50갑년의 흡연력이 있는 것 이외에는 과거력, 가족력상 특이 소견은 없었고 이학적 검사상 비장비대가 관찰되었다. 내원 당시 시행한 전체혈구검사에서 백혈구 $11.60 \times 10^9/L$, 혈색소 6.6 g/dL, 그리고 혈소판 $110 \times 10^9/L$ 였다. 말초혈액도말표본에서 눈물방울적혈구(5%), 유핵적혈구(백혈구 100개당 37개), 골수모세포 3%, 백적모세포증이 관찰되었다(Fig. 1A). 혈청내 젖산탈수소효소는 1,466 IU/L (정상참고치 200-450 IU/L)로 증가하였다. 골수흡인검사에서 골수침자는 관찰되지 않았으며 말초혈액으로 희석되어 판독이 불가능하였다. 골수생검에서 높은 세포충실도(90%)와 비정형 거대핵세포의 군집이 관찰되었고 grade 3의 reticulin 섬유화를 보였으

Corresponding author: Geon Park

Department of Laboratory Medicine, Chosun University College of Medicine,
365 Pilmun-daero, Dong-gu, Gwangju 61453, Korea
Tel: +82-62-220-3272, Fax: +82-62-232-2063, E-mail: creatgeon@chosun.ac.kr

Received: October 11, 2017

Revision received: November 30, 2017

Accepted: December 14, 2017

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2018, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

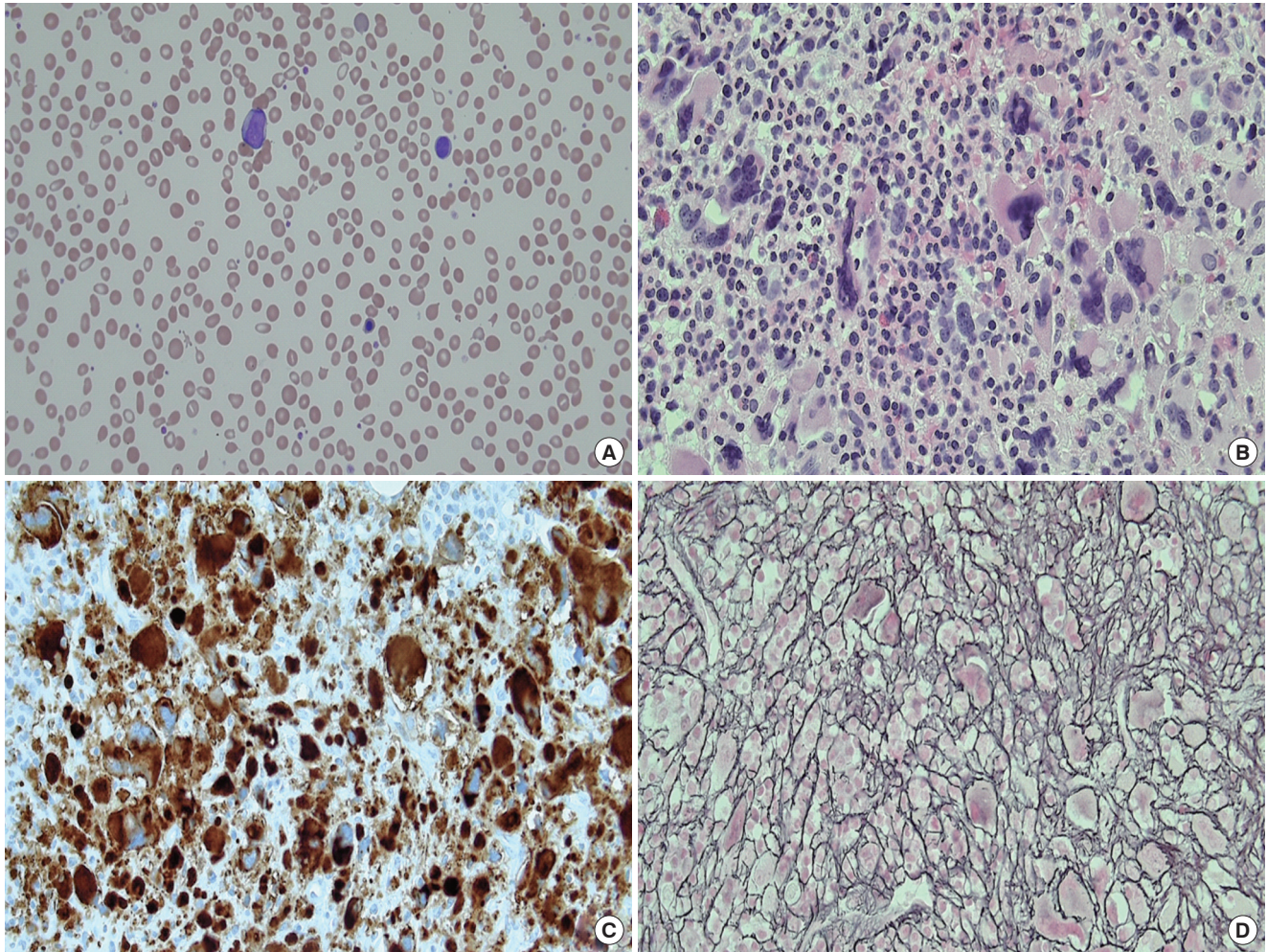


Fig. 1. Peripheral blood and bone marrow section findings. (A) Wright-Giemsa-stained peripheral blood smear showing a myeloblast with nucleated RBC and tear drop cells (x400). (B) H&E-stained bone marrow section showing hypercellularity with increased number of megakaryocytes (x400). (C) CD61 immunohistochemical staining of a bone marrow section showing an increased number of atypical megakaryocytes that form dense clusters (x400). (D) Reticulin stained bone marrow section showing a diffuse increase in reticulin, as well as focal bundles of reticulin and numerous distorted megakaryocytes (x400).

나 collagen 섬유증의 침착은 없었다(Fig. 1B-D). Hemavision (DNA Diagnostics, Risskov, Denmark)으로 수행한 *BCR-ABL* 재배열 검사에서 음성, allele-specific PCR [7]로 수행된 *JAK2* V617F 검사에서 음성, PCR-직접염기순서분석법[2]으로 수행된 *CALR* 엑손 9, *JAK2* 엑손 12 돌연변이 검사에서 음성이었다. PCR-직접염기순서 분석법[2]으로 수행된 *MPL* 엑손 10 돌연변이 검사에서 상대적으로 낮은 높이의 S505N 돌연변이 피크를 관찰하였다(Fig. 2A). 클로닝-염기순서분석을 위하여 TOPcloner TA-Blunt kit (Enzymomics, Daejeon, Korea)를 이용하여 시약회사의 지침서에 따라 증폭산물을 클로닝한 후 kit 내에 포함된 시발체를 이용하여 colony PCR을 시행하였다. 돌연변이를 가진 증폭산물을 찾기 위하여 제한효소 *HhaI*으로 제한효소절편길이다형성법을 시행하여 증폭산물을 처리하였다. 총 86개 집락 중에서 돌연변이를 가진 것은 30개(34.9%)

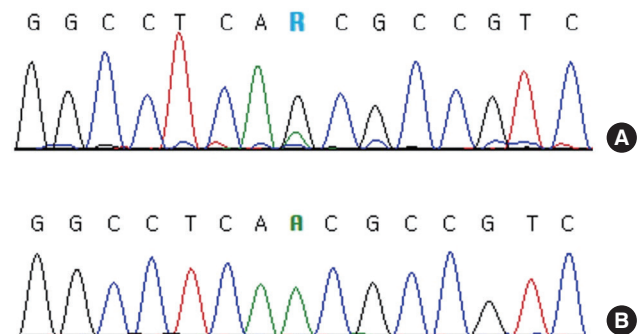


Fig. 2. Chromatograms of direct sequencing (A) and colony PCR-sequencing following gene cloning (B). A minor adenine peak was observed in the direct sequencing chromatogram. The *MPL* S505N (NM_005373.2:c.1514G>A, rs121913614) mutation was observed in the colony PCR-sequencing chromatogram.

였다. 제한효소절편길이다형성법으로 확인된 돌연변이를 가진 증폭산물에 대해 염기순서분석법을 실시하여 S505N 돌연변이를 확정하였다(Fig. 2B). 말초혈액으로 희석된 골수천자액으로 수행된 염색체 검사에서 46,XY,del(13)(q12q22)[19]/46,XY[1]이 관찰되었다. WHO 2016 분류기준에 따르면 overt PMF의 모든 주진단기준(major criteria) 및 부진단기준(minor criteria)을 만족하였다. PMF 진단 후 Ruxolitinab 치료를 시작하였고 2주 후 백혈구와 혈소판 수치가 정상화되었으나 치료 도중 ALT, AST 상승, 범혈구감소증(백혈구 $3.98 \times 10^9/L$, 혈색소 5.2 g/dL, 혈소판 $62 \times 10^9/L$)을 보여 중단 및 재복용을 반복하였다. 첫 번째 골수검사 이후 추적관찰을 위한 추가적인 골수검사는 시행하지 않았으며, 진단 후 6개월만에 폐렴으로 인한 패혈증으로 사망하였다. 생존해 있는 동안 혈전증에 의한 증상과 주요출혈사건(major bleeding events)은 없었다.

고 찰

MPL (thrombopoietin receptor) 유전자는 거대핵세포와 혈소판 생성을 조절한다[8]. MPL 돌연변이는 대부분 엑손 10과 11에서 발생하는데 가장 흔한 돌연변이가 발생 위치는 엑손 10에 있는 W515이고, W515L, W515K, W515A, W515R 그리고 W515S 돌연변이가 보고되고 있다[9]. 이와 함께 엑손 10에 위치한 S505 돌연변이 양성 증례가 드물게 보고되고 있다[4-6].

MPL S505 돌연변이는 일본에서 발견된 가족성혈소판증가증에서 처음으로 보고되었다[4]. 이후 이탈리아에서 S505 돌연변이가 가족 연구가 보고되었는데 혈소판증가증이 있는 가족구성원은 혈소판증가증이 없는 가족구성원에 비해 높은 혈전 위험과 낮은 생존율을 보인다고 하였다[5]. 한편 산발성 비가족성 MPL S505N 돌연변이가 총 두 증례에서 보고되었다[9, 10]. 이에 비해 가족성 S505 증례는 총 9가족에서 보고되었다[5]. MPL S505 돌연변이의 가족성 여부를 증명하기 위하여 환자의 구강세포와 T 세포에서 S505 돌연변이 검사와 함께 가족 구성원에 대한 S505 돌연변이 검사가 필요하다. 하지만 본 증례에서는 위에 언급된 검사를 진행하지 않아 본 증례의 S505N 돌연변이가 가족성인지 비가족성인지 판정하지 못하였다.

MPL S505는 MPL 단백질의 세포막 통과 부위에 위치하고 W515는 세포막 근처의 세포 안에 위치하고 있다. S505와 W515 둘 다 transmembrane 도메인이 세포막에서 정확한 위치에 있도록 유지하는 역할을 한다고 하며 이 두 곳의 돌연변이는 각각 thrombopoietin receptor의 구조적 변이를 일으켜 JAK2를 지속적으로 자극한다고 한다[11]. PMF에서 MPL W515 돌연변이의 빈도가 낮고 MPL S505 돌연변이 빈도는 더욱 낮아서 W515 양성과 S505 양성 PMF간의 임상적 양상의 차이를 비교한 연구는 찾아 볼 수 없었다.

만약 상기 연구[11]의 분석이 맞다면 S505 돌연변이와 W515 돌연변이의 임상증상 및 임상경과에서 별 다른 차이가 없을 것으로 생각된다.

International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment의 예후적 점수 체계(prognostic scoring system)에 의하면 본 증례는 세 가지 위험인자를 가지는 고위험군으로 분류된다[12]. 고위험군의 중앙 생존기간은 27개월로 알려져 있는데 본 증례는 진단 후 6개월만에 사망하였다. 하지만 이러한 임상경과가 S505 돌연변이에 의한 것인지는 명확하지 않다.

세포유전검사서 46,XY,del(13)(q12q22)[19]/46,XY[1] 염색체 이상을 보였다. del(13)(q12q22) 염색체 이상은 PMF에서 흔히 보이며 13q 결실은 정상 핵형보다 더 나쁜 임상 양상(높은 골수모세포수, 높은 골수충실도, 낮은 JAK2 V617F 돌연변이 빈도 등)을 보인다고 하였다[13]. 13q 부분결실을 가진 본 증례의 임상 양상은 상기 연구에서 제시한 임상 양상과 유사하였으며 예후에도 나쁜 영향을 미쳤을 것으로 판단된다.

더 많은 MPL S505N 양성 MPN 증례 연구를 통해 S505N 돌연변이 양성 증례의 형태학적 특성, 임상적 양상, 예후 그리고 더 효율적인 약제 선택 및 개발을 할 수 있을 것으로 사료되며 MPL S505N 돌연변이를 가진 PMF 환자 증례를 문헌고찰과 함께 국내 첫 보고를 하는 바이다.

요 약

MPL 돌연변이는 만성골수증식종양(chronic myeloproliferative neoplasm, MPN)의 중요한 분자 표지자이다. MPL W515 돌연변이가 MPN에서 과오돌연변이로 인한 hot spot이지만, MPL S505 돌연변이가 가족성, 비가족성 MPN에서 드물게 보고되었다. 72세의 남성이 어지러움과 코피를 주소로 내원하였다. 전체혈구계산에서 백혈구증가증, 빈혈, 혈소판감소증이 관찰되었고 말초혈액도말에서 눈물방울세포, 유핵적혈구와 골수모세포가 관찰되었다. 골수흡인은 실패했고 말초혈액에 희석되었다. 골수생검에서 높은 세포충실도, 비정상 거대핵세포의 증식, 그리고 3단계의 reticulin 섬유화가 관찰되었다. 세포유전검사에서는 46,XY,del(13)(q12q22)[19]/46,XY[1]이 관찰되었다. 분자검사서 JAK2 V617F, BCR/ABL 전위, JAK2 엑손 12 그리고 CALR 엑손 9 돌연변이는 관찰되지 않았다. MPL S505N 돌연변이는 유전자 클로닝 후 실시된 colony PCR-Sanger sequencing 기법으로 양성임이 확인되었다. 이들 소견을 종합하여 명백한 일차골수증식증(overt PMF)으로 진단하였다. 하지만 구강세포와 T림프구 그리고 가족에서 본 돌연변이 검사를 시행하지 않아 이 돌연변이가 가족성인지 비가족성인지 판단할 수 없었다. 환자는 첫 내원 후 6개월 후 폐렴과 패혈증으로 사망했다. PMF로 진

단 후 생존기간 동안 혈전증에 의한 증상과 주요출혈사건은 없었다. 이에 MPL S505N 돌연변이가 동반된 PMF의 국내 첫 증례로 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

감사의 글

이 논문은 2015년도 조선대학교병원 선택진료 학술연구비에 의하여 연구되었음.

REFERENCES

1. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Engl J Med* 2000; 342:1255-65.
2. Kim SY, Im K, Park SN, Kwon J, Kim JA, Lee DS. CALR, JAK2, and MPL mutation profiles in patients with four different subtypes of myeloproliferative neoplasms: primary myelofibrosis, essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myeloproliferative neoplasm, unclassifiable. *Am J Clin Pathol* 2015;143:635-44.
3. Rumi E and Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2017;129: 680-92.
4. Ding J, Komatsu H, Wakita A, Kato-Uranishi M, Ito M, Satoh A, et al. Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood* 2004;103:4198-200.
5. Liu K, Martini M, Rocca B, Amos CI, Teofili L, Giona F, et al. Evidence for a founder effect of the MPL-S505N mutation in eight Italian pedigrees with hereditary thrombocythemia. *Haematologica* 2009;94:1368-74.
6. Teofili L, Giona F, Torti L, Cenci T, Ricerca BM, Rumi C, et al. Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* 2010;95:65-70.
7. Baxter EJ, 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.
8. de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, Malloy BE, Gurney AL, Spencer SA, et al. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature* 1994;369:533-8.
9. Beer PA, Campbell PJ, Scott LM, Bench AJ, Erber WN, Bareford D, et al. MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood* 2008;112:141-9.
10. Morrell R, Langabeer SE, Smyth L, Perera M, Crotty G. Nonfamilial, MPL S505N-mutated essential thrombocythaemia. *Case Rep Hematol* 2013;2013:729327.
11. Lee TS, Kantarjian H, Ma W, Yeh CH, Giles F, Albitar M. Effects of clinically relevant MPL mutations in the transmembrane domain revealed at the atomic level through computational modeling. *PLoS One* 2011; 6:e23396.
12. Cervantes F, Dupriez B, Pereira A, Passamonti F, Reilly JT, Morra E, et al. New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* 2009;113:2895-901.
13. Mehrotra M, Patel KP, Chen T, Miranda RN, Wang Y, Zuo Z, et al. Genomic and clinicopathologic features of primary myelofibrosis with isolated 13q deletion. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2015;15:496-505.