

골수증식종양 환자에서 *MPL* W515 돌연변이 빈도와 임상혈액학적 특징

Frequency and Clinicohematologic Characteristics of *MPL* W515 Mutations in Patients with Myeloproliferative Neoplasms

박성균¹ · 김경보¹ · 이원목¹ · 하정숙¹ · 류남희¹ · 전동석¹ · 김재룡¹ · 함지연² · 서장수² · 김유경³

Sung Gyun Park, M.D.¹, Kyoung Bo Kim, M.D.¹, Wonmok Lee, M.D.¹, Jung Sook Ha, M.D.¹, Nam Hee Ryoo, M.D.¹, Dong Seok Jeon, M.D.¹, Jae Ryong Kim, M.D.¹, Ji Yeon Ham, M.D.², Jang Soo Suh, M.D.³, Yu Kyung Kim, M.D.⁴

계명대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 경북대학교 의학전문대학원 임상병리학교실², 영남대학교 의과대학 진단검사의학교실³

Department of Laboratory Medicine¹, Keimyung University School of Medicine, Daegu; Department of Clinical Pathology², Kyungpook National University School of Medicine, Daegu; Department of Laboratory Medicine³, Yeungnam University School of Medicine, Daegu, Korea

Background: Recently, myeloproliferative leukemia (*MPL*) W515 mutations have been reported to be molecular markers for myeloproliferative neoplasms (MPNs). We studied the association between *MPL* W515 mutations and the clinico-hematological features of patients with MPNs.

Methods: Our study included 154 consecutive patients diagnosed with MPNs (31 had polycythemia vera [PV]; 106, essential thrombocythemia [ET]; and 17, primary myelofibrosis [PMF]). *MPL* W515 mutations were detected by real-time PCR and direct sequencing methods.

Results: The *MPL* W515L mutation was found in 4 patients and the *MPL* W515A mutation was detected in 1 patient. These 5 patients were diagnosed with *JAK2* V617F-negative ET, and they accounted for 12.5% of patients with *JAK2* V617F-negative ET. The patients with *MPL* W515-positive ET showed significantly lower hemoglobin levels and WBC counts than did patients with *MPL* W515-negative ET or *JAK2* V617F-positive ET.

Conclusions: *MPL* W515 mutation is a useful diagnostic marker for *JAK2* V617F-negative MPNs and it is associated with specific hematologic characteristics such as lower hemoglobin levels and WBC counts.

Key Words: Myeloproliferative neoplasm, Essential thrombocythemia, *MPL* W515, *JAK2* protein tyrosine kinase

서론

골수증식종양(myeloproliferative neoplasm, MPN)이란, 하나 이상의 혈구계열에서 성숙세포가 과도하게 생성되는 클론성 조혈모세포질환이며, 2008 WHO 분류에 따라 *BCR-ABL1* 양성 만성골수성백혈병(chronic myelogenous leukemia, CML), 만성호중구백혈

병(chronic neutrophilic leukemia), 진성적혈구증가증(polycythemia vera, PV), 일차골수섬유증(primary myelofibrosis, PMF), 진성고혈소판증가증(essential thrombocythemia, ET), 만성호산구백혈병(chronic eosinophilic leukemia, NOS), 비만세포증(mastocytosis) 및 미분류 골수증식종양(myeloproliferative neoplasm, unclassifiable) 등이 이에 속한다[1]. 그 중 'classic' MPN으로 분류되는 진성적혈구증가증, 진성고혈소판증가증, 일차골수섬유증은 최근까지 뚜렷한 분자유전학적 표지자가 보고되지 않았으나, 2005년 *JAK2* 티로신 인산화효소의 V617F 돌연변이(*JAK2* V617F)가 보고되면서 진단과 연구의 새로운 전환점을 맞이하게 되었다[2-6]. 그러나, PV에서는 95% 이상에서 양성인 반면, ET와 PMF에서는 30-40% 이상이 *JAK2* V617F가 관찰되지 않아, *JAK2* V617F 이외 새로운 분자유전학적 표지자에 대한 필요성이 지속적으로 제기되어왔다[3-6].

최근 트롬보포이에틴수용체(thrombopoietin receptor, TPO-R; myeloproliferative leukemia, *MPL*) 10번 엑손에 위치한 트립토판

Corresponding author: Jung-Sook Ha

Department of Laboratory Medicine, Keimyung University School of Medicine, 56 Dalsung-ro, Joong-gu, Daegu 700-712, Korea
Tel: +82-53-250-7266, Fax: +82-53-250-7275, E-mail: ksksmom@dsmc.or.kr

Received: March 4, 2014

Revision received: May 29, 2014

Accepted: July 1, 2014

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

© 2015, 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/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(tryptophan)이 다른 아미노산으로 치환되는 *MPL* W515 돌연변이가 MPN에서 보고되었다. 이 돌연변이는 *JAK2* V617F 음성 PMF의 약 7-25%, ET의 1-24%에서 관찰되[7-15], *MPL* W515 돌연변이 양성군은 음성군에 비해 낮은 혈색소와 총백혈구수, 높은 혈소판수를 보인다[13-16].

한국에서 *MPL* W515 돌연변이에 관한 보고는, 2010년 Kim 등이 59명의 ET 환자와 4명의 진성혈소판증가증 후 골수섬유증(post-ET myelofibrosis) 환자 63명을 대상으로 2명(3%)의 *MPL* W515 돌연변이(*MPL* W515L 1명, *MPL* W515K 1명)를 보고하였을 뿐, 현재까지 ET 이외의 다른 MPN에서 돌연변이의 빈도 분석이나 연관된 임상양상 및 검사소견에 대한 보고는 없다[9]. 본 연구에서는 'classic' MPN 154명에 대한 *MPL* W515 돌연변이의 빈도 및 그에 따른 임상양상 및 검사소견을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 대상

2007년 3월부터 2013년 7월까지 MPN으로 진단받은 환자 중, DNA분석이 가능했던 154명의 골수 검체를 이용하여 검사를 시행하였다. 대상 환자는 남자 80명, 여자 74명으로 중간 연령은 67(22-86)세였다. MPN의 진단은 2008년 WHO 진단기준에 따라 재검토하였고[17], ET 106명, PMF 17명, PV 31명으로 구성되었다. 본 연구는 본원 연구윤리심의위원회의 승인을 받은 후 진행되었다.

2. *MPL* W515 돌연변이와 *JAK2* V617F의 분석

MPL W515 돌연변이 검출은 실시간중합효소연쇄반응법으로, Real-Q *MPL* W515L/K screening Kit (Biosewoom, Seoul, Korea)을 이용하여 제조사의 지침에 따라 진행하였고, *MPL* 10번 엑손의 직접염기서열분석법으로 다시 한번 확인하였다. *JAK2* V617F은 지침(Biosewoom)에 따라, 대립형질특이중합효소연쇄반응법으로 검출하였다.

3. 임상양상 및 검사소견의 분석

진단 당시의 임상양상(성별, 나이, 장기비대증의 유무)과 검사소견(혈색소, 백혈구수, 혈소판수, 핵형분석결과, 골수섬유화정도)은 의무기록을 통하여 조사하였다. 진단 이후 추적관찰 기간 동안 발생한 혈전색전질환의 유무를 의무기록을 통하여 조사하였다.

4. 통계분석

MPL W515 돌연변이와 범주변수(핵형분석결과, 장기비대증의 유무, 혈전색전질환의 유무, 성별)는 Fisher's exact test를 통해 비교하였고, 연속변수(나이, 총백혈구수, 혈색소, 혈소판수, 골수섬

유화정도)는 Mann-Whitney test를 사용하여 검정하였다. 모든 분석은 SPSS v20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하여 시행하였고, 양측검정상 *P*값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의하다고 판단하였다.

결 과

1. *MPL* W515 돌연변이의 빈도 분석 및 *JAK2* V617F와의 관계

실시간중합효소연쇄반응으로 분석한 결과, 총 4명의 환자에서 *MPL* W515L 변이가 검출되었고, 직접염기서열분석으로 확인한 결과 모두 같은 *MPL* W515L가 관찰되었다(Fig. 1). 실시간중합효소연쇄반응으로 *MPL* W515 돌연변이가 확인되지 않은 나머지 150개의 검체를 직접염기서열분석으로 다시 확인한 결과, 1명의 *MPL* W515A 환자가 추가로 발견되었다(Fig. 1). 이 5명의 환자는 모두 ET 환자였고, *JAK2* V617F 음성이었다. 따라서 본 연구 결과, 전체 MPN 환자에서의 *MPL* W515 돌연변이의 빈도는 약 3.2% (5/154), ET환자에서는 약 4.7% (5/106)로 나타났으며, *JAK2* V617F 음성 ET환자에서는 12.5% (5/40)로 나타났다. PMF와 PV환자에서 *MPL* W515 돌연변이는 관찰되지 않았고, *JAK2* V617F와 *MPL* W515 돌연변이가 동반된 경우는 없었다.

2. ET 환자에서 *MPL* W515 돌연변이와 임상양상 및 검사소견과의 연관성

106명의 ET 환자를 *MPL* W515 양성군(*MPL*⁺)과 *MPL* W515 음성

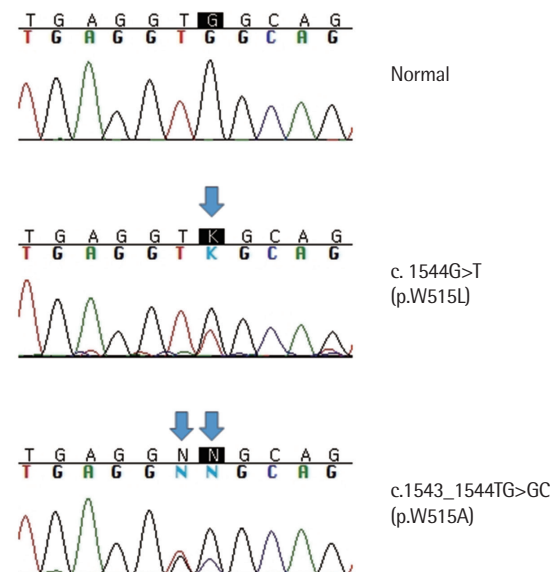


Fig. 1. Electropherograms of normal control (upper), *MPL* W515L mutation (middle), and *MPL* W515A mutation (lower).

Table 1. Comparison of laboratory and clinical features between patients with *MPL* W515 positive ET and *MPL* W515 negative ET

	<i>MPL</i> W515 positive	<i>MPL</i> W515 negative			<i>P</i> value		
		<i>JAK2</i> V617F positive	<i>JAK2</i> V617F negative	Total	<i>MPL</i> W515 positive vs. <i>MPL</i> W515 negative	<i>MPL</i> W515 positive vs. <i>JAK2</i> V617F positive	<i>MPL</i> W515 positive vs. <i>JAK2</i> V617F negative
Number (%)	5 (4.7)	66 (62.3)	35 (33.0)	101 (95.3)			
Men:Women	4:1	33:33	15:20	48:53	0.201	0.359	0.172
Median age, yr (range)	69 (62-72)	68 (22-86)	63 (27-84)	67 (22-86)	0.764	0.957	0.358
Median WBC count, 10 ⁹ /L (range)	8.1 (4.4-11.4)	13.3 (5.2-56.9)	9.9 (1.6-64.4)	11.7 (1.6-64.4)	0.015	0.002	0.197
Median Hb, g/dL (range)	11.1 (6.9-12.8)	13.9 (6.7-17.6)	12.9 (8.6-16.5)	13.5 (6.7-17.6)	0.019	0.010	0.078
Median platelet, 10 ⁹ /L (range)	1,187.0 (823.0-1527.0)	1,038.0 (579.0-1917.0)	1,086.0 (370.0-2539.0)	1,071.0 (370.0-2539.0)	0.521	0.436	0.751
Organomegaly (%)	2/2 (100)	21/30 (70)	6/11 (54.5)	27/41 (65.9)	1.000	1.000	0.487
Thromboembolic event (%)	2/5 (40)	18/58 (31)	6/32 (18.8)	24/90 (26.7)	0.612	0.649	0.292
Median fibrosis grade (range)	0 (0-3)	1 (0-3)	1 (0-3)	1 (0-3)	0.502	0.45	0.682
Abnormal karyotype (%)	0/5 (0)	2/52 (3.8)	4/30 (13.3)	6/82 (7.3)	1.000	1.000	1.000

Abbreviations: *MPL*, myeloproliferative leukemia; *JAK2*, Janus kinase 2; WBC, white blood cell; Hb, hemoglobin.

군(*MPL*)으로 나누고, *MPL*- 환자군은 다시 *JAK2* V617F 양성군 (*MPL**JAK2*⁺)과 *JAK2* V617F 음성군(*MPL**JAK2*⁻)으로 나누어 분석하였다. *MPL*⁺ ET 환자는 *MPL*- 환자에 비해 총백혈구수($8.1 (4.4-11.4) \times 10^9/L$ vs. $13.3 (5.2-56.9) \times 10^9/L$, $P=0.015$), 혈색소($11.1 (6.9-12.8)$ g/dL vs. $13.9 (6.7-17.6)$ g/dL, $P=0.019$)가 유의하게 낮았고, *MPL**JAK2*⁺ 환자군에 비해서도 총백혈구수 ($8.1(4.4-11.4) \times 10^9/L$ vs. $9.9 (1.6-64.4) \times 10^9/L$, $P=0.002$)와 혈색소 ($11.1(6.9-12.8)$ g/dL vs. $12.9 (8.6-16.5)$ g/dL, $P=0.010$)가 유의하게 낮은 결과를 보였다 (Table 1). 그러나 *MPL*⁺ 환자군과 *MPL**JAK2*⁺ 환자군 사이에는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 성별, 나이, 혈소판, 장기 비대증의 유무, 혈전색전질환의 유무, 골수섬유화 정도, 비정상 핵형분석의 빈도에서는 환자군간 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table 1).

고찰

*MPL*은 트롬보포이에틴 신호전달에 관여하는 세포막수용체로 거대핵세포분화와 혈소판증식의 주요 조절인자 및 조혈모세포의 재생, 증식에 관여한다. *MPL* 막통과-세포질 접합부(엑손 10)에 위치하는 5개의 양친매성 아미노산 모티프(KWQFP)는 *MPL*의 자발적 활성화를 억제하는데 중요한 역할을 한다. *MPL* W515 돌연변이는 이 아미노산 모티프 내 위치한 515번째 아미노산 트립토판이 다른 아미노산으로 치환되는 기능획득돌연변이이다[8, 11-13].

MPL W515 변이는 주로 MPN 중 PMF와 ET에서 보고되어 있다. *JAK2* V617F 음성 PMF의 약 7-25%, ET의 1-24%에서 검출되며[7-10, 12-15], PV에서는 현재까지 단 2개의 증례만이 보고된 상태이다 [18]. 본 연구에서도 *JAK2* V617F 음성 ET의 약 12.5%에서 *MPL*

W515 돌연변이가 관찰되어 앞선 보고와 유사한 결과를 보였으나, PMF에서는 변이가 관찰되지 않았다. *JAK2* V617F와 *MPL* W515 돌연변이가 동시에 존재하는 경우는 전체 *MPL* W515 양성 환자의 최고 30%까지 다양하게 보고되고 있으나, 본 연구에서는 *JAK2* V617F와 *MPL* W515가 동시에 존재하는 경우 또한 발견되지 않아 앞선 보고와 차이를 보였다[7, 12-16]. 이러한 차이는 낮은 빈도로 관찰되는 *MPL* W515 돌연변이로 인한 적은 연구대상의 수에서 기인함으로 볼 수 있다.

MPN에서 *MPL* W515 돌연변이의 아형은 지금까지 총 5가지가 알려져 있고, 트립토판이 류신으로 치환되는 W515L [8], 라이신(lysine)으로 치환되는 W515K [8], 아스파라긴(asparagines)으로 치환되는 W515R [10], 알라닌(alanine)으로 치환되는 W515A [11], 세린(serine)으로 치환되는 W515S [15]이다. 그 중 W515L과 W515K가 가장 흔하며, ET에서 각각 55%, 21%, PMF에서 각각 93%, 7%로 W515L이 더 흔히 관찰된다[15, 19-21]. 본 연구에서는 총 101명의 ET환자에서 *MPL* W515L 4명이 관찰되고 *MPL* W515K는 관찰되지 않아 *MPL* W515L이 가장 흔하다는 앞선 보고들과 유사한 결과를 나타내었다. 본 연구에서는 *MPL* W515A 1예가 관찰되었는데, 이 돌연변이는 2008년 Chaligne 등에 의해 최초로 보고되었고, PMF와 ET 모두에서 1% 미만에서 매우 드물게 나타난다고 알려져 있다[10-12, 15]. 본 연구에서 확인된 *MPL* W515A 환자는 62세 남자 환자로, 골수생검결과 정상 세포층실성을 보이며 거대핵세포의 개수가 증가한 전형적인 ET 소견을 보였으며, *JAK2* V617F는 동반되지 않았다.

MPL W515 돌연변이와 임상양상의 연관성에 대한 몇몇 보고에 따르면, ET의 경우, *MPL* W515 돌연변이를 가질 경우 *JAK2* V617F 양성에 비해 혈색소와 총백혈구수가 낮고 혈소판수가 높았다[13-

15]. 골수소견상으로는 세포충실도가 비교적 낮고 적혈구 계열의 혈구수가 적었지만, 거대핵세포수는 비교적 많았다[13-15]. 본 연구에서도 *MPL* W515 돌연변이 양성 ET 환자군은 음성 환자군에 비해 혈색소가 낮고, 총백혈구수도 낮아, 이전 보고들과 유사한 결과를 나타내었다[15]. 그러나, 혈소판수에는 유의한 차이가 없었고, 나이, 성별, 장기비대증, 골수 섬유화의 정도, 혈전색전증의 유무, 비정상 핵형의 유무 등은 *MPL* W515 돌연변이의 유무와 큰 연관성이 없음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 *MPL* W515 돌연변이가 있을 경우, 적혈구계열이나 백혈구계열의 혈구수보다는 거대핵세포의 증식에 조금 더 특이적이라는 사실을 뒷받침한다[13, 14, 22].

본 연구에서는 *MPL* W515L과 W515K 검출에 특이적인 실시간 중합효소연쇄반응키트를 사용하여 분석하여 총 4명의 환자에서 검출하였고, 직접 염기서열분석법으로 확인한 결과 일치하는 소견을 보였다. 일반적으로 실시간 중합효소연쇄반응법이 더 높은 민감도를 가져 *MPL* W515L/K 검출에는 더 유리하지만, W515L/K 이외의 소수의 아형들을 확인하기 위해서는 추가적인 직접 염기서열 분석법이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구는 몇 가지 한계점을 가진다. 첫 번째로 대상이 되는 환자군, 특히 PMF 질환군의 숫자가 적었다. 따라서 PMF 질환군에서 앞선 보고와는 다르게 *MPL* W515 돌연변이가 발견되지 않았다. 둘째, *MPL* W515 돌연변이의 유전자 변이량에 대한 연구가 이루어지지 않았고, 추적관찰이 비교적 짧아, 다양한 인자에 대한 예후관련 분석이 이루어지지 못하였다.

이러한 한계점에도 불구하고, 본 연구는 한국인에서 *MPL* W515 돌연변이가 *JAK2* V617F 음성 ET의 진단에 중요한 표지자가 됨을 보여주고 있으며, 앞서 다른 보고들과 같이, *MPL* W515 돌연변이를 가진 경우 낮은 혈색소와 총백혈구수를 보인다는 사실을 확인할 수 있었다. 더 많은 수의 PMF, PV 환자군에서 *MPL* W515 돌연변이 빈도분석과 임상양상 및 검사소견과의 연관성에 대한 추가적인 연구가 이루어져야 하겠고, 장기적 추적관찰을 통해, 급성백혈병이나 이차 골수섬유화로 진행 등의 예후관련 분석이 이루어져야 하겠다.

요 약

배경: 최근 myeloproliferative leukemia (*MPL*) W515 돌연변이가 골수증식종양(MPN)에서 발견되었고, 새로운 분자유전학적 표지자로 제시되었다. 본 연구에서는 *MPL* W515 돌연변이 빈도 및 임상 혈액학적 지표들과의 상관성을 알아보고자 하였다.

방법: 진성적혈구증가증(PV) 31명, 일차골수섬유증(PMF) 17명, 진성고혈소판증(ET) 106명을 포함한 총 154명의 MPN 환자를 대상으로 *MPL* W515 돌연변이를 실시간중합효소연쇄반응으로 검출하

였고, 직접염기서열분석을 통해 재확인하였다.

결과: 전체 154명의 환자 중 5명(3.2%)의 환자에서 *MPL* W515 돌연변이가 확인되었다. 이들은 모두 ET환자였고, *JAK2* V617F 음성으로, *JAK2* V617F 음성 ET환자의 12.5%를 차지하였다. *MPL* W515 돌연변이 양성 ET 환자들은 *MPL* W515 음성이나 *JAK2* V617F 양성 ET 환자에 비해 총백혈구수와 혈색소가 유의하게 낮았다.

결론: *MPL* W515 돌연변이는 *JAK2* V617F 음성 MPN 환자의 진단에 중요한 표지자로 이용할 수 있으며, 심한 빈혈 양상이나 낮은 백혈구수 등 특징적인 임상혈액학적 소견을 가져 *JAK2* V617F 음성 ET 및 다른 MPN 병태생리의 이해에 도움이 될 것이다.

REFERENCES

- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-51.
- 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.
- 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.
- 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.
- James C, Ugo V, Le Couédic 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.
- 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.
- Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. *MPL*515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* 2006;108:3472-6.
- Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. *MPL*W515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* 2006;3:e270.
- Kim HJ, Jang JH, Yoo EH, Kim HJ, Ki CS, Kim JW, et al. *JAK2* V617F and *MPL* W515L/K mutations in Korean patients with essential thrombocythemia. *Korean J Lab Med* 2010;30:474-6.

10. Schnittger S, Bacher U, Haferlach C, Beelen D, Bojko P, Burkle D, et al. Characterization of 35 new cases with four different MPLW515 mutations and essential thrombocytosis or primary myelofibrosis. *Haematologica* 2009;94:141-4.
11. Chaligne R, Tonetti C, Besancenot R, Roy L, Marty C, Mossuz P, et al. New mutations of MPL in primitive myelofibrosis: only the MPL W515 mutations promote a G1/S-phase transition. *Leukemia* 2008;22:1557-66.
12. Boyd EM, Bench AJ, Goday-Fernandez A, Anand S, Vaghela KJ, Beer P, et al. Clinical utility of routine MPL exon 10 analysis in the diagnosis of essential thrombocythaemia and primary myelofibrosis. *Br J Haematol* 2010;149:250-7.
13. 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.
14. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Guerini V, Barosi G, et al. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 2008;112:844-7.
15. Rumi E, Pietra D, Guglielmelli P, Bordoni R, Casetti I, Milanesi C, et al. Acquired copy-neutral loss of heterozygosity of chromosome 1p as a molecular event associated with marrow fibrosis in MPL-mutated myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2013;121:4388-95.
16. Guglielmelli P, Pancrazzi A, Bergamaschi G, Rosti V, Villani L, Antonioli E, et al. Anaemia characterises patients with myelofibrosis harbouring Mpl mutation. *Br J Haematol* 2007;137:244-7.
17. Tefferi A and Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22:14-22.
18. Pardanani A, Lasho TL, Finke CM, Tefferi A. Infrequent occurrence of MPL exon 10 mutations in polycythemia vera and post-polycythemia vera myelofibrosis. *Am J Hematol* 2011;86:701-2.
19. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. *Leukemia* 2010;24:1128-38.
20. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2011;118:1723-35.
21. He X, Chen Z, Jiang Y, Qiu X, Zhao X. Different mutations of the human c-mpl gene indicate distinct hematopoietic diseases. *J Hematol Oncol* 2013;6:1-8.
22. Staerk J, Lacout C, Sato T, Smith SO, Vainchenker W, Constantinescu SN. An amphipathic motif at the transmembrane-cytoplasmic junction prevents autonomous activation of the thrombopoietin receptor. *Blood* 2006;107:1864-71.