

Nye molekulære markører ved de kroniske myeloproliferative sygdomme

I. Polycythaemia rubra vera-1-genet

Læge Thomas Stauffer Larsen,
ledende molekylærbiolog Niels Pallisgaard,
læge Jacob Haaber Christensen,
overlæge Paul Gram-Hansen, overlæge Gitte B. Kerndrup,
afdelingslæge Michael Boe Møller &
professor Hans Carl Hasselbalch

Odense Universitetshospital, Patologisk Institut og Hæmatologisk Afdeling X

Resume

Polycythaemia rubra vera (PRV-1) er en ny molekylær markør ved de Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme – essentiel trombocytose (ET), polycythaemia vera (PV) og idiopatisk myelofibrose (IMF). Markøren kan anvendes til med høj sensitivitet og specificitet at differentiere mellem PV og de sekundære erythrocytoser, ligesom man med *PRV-1*-analysen tilsyneladende kan finde de PV-patienter, som tidligt i sygdomsforløbet alene har trombocytose i forklædningen af ET. Disse *PRV-1*-positive ET-patienters lidelse kan opfattes som »maskeret« PV – eller mere korrekt – tidlig PV. Endvidere synes der at være en sammenhæng mellem *PRV-1*-positivitet og høj risiko for tromboemboliske komplikationer ved ET. *PRV-1*'s biologiske rolle er fortsat ukendt, ligesom betydningen af *PRV-1*-genekspressionsændringer under cytoreduktiv behandling er uafklaret.

De kroniske myeloproliferative sygdomme består ifølge den nye WHO-klassifikation ikke kun af kronisk myeloid leukæmi (CML), essentiel trombocytose (ET), polycythaemia vera (PV) og idiopatisk myelofibrose (IMF), men også af kronisk neutrofil leukæmi, kronisk eosinofil leukæmi, det hypereosinofile syndrom og en uklassificerbar gruppe [1]. Sygdommene er erhvervede klonale stamcellesygdomme, karakteriseret ved klonal myeloproliferation med bevaret differentiering og opmodning. Splenomegali forekommer ofte ved især IMF som følge af ekstramedullær hæmatopoiese (myeloid metaplasia). Et andet fælles kendetegn er risikoen for tiltagende klonal evolution og progression mod knoglemarvsinsufficiens med baggrund i defekt hæmatopoiese og myelofibrose og ultimativt udvikling af den akutte blastkrise, som fænotypisk næsten altid er akut myeloid leukæmi (AML).

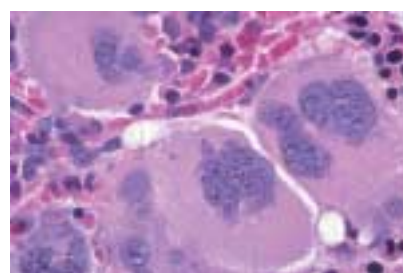
Diagnostikken af de »klassiske« kroniske myeloproliferative sygdomme (PV, IMF, ET, CML) er kompliceret af betydelige overlap i de kliniske, biokemiske og histopatologiske

fund. Således ses varierende leuko- og trombocytose næsten altid. I knoglemarven er der en øget forekomst af abnorme megakaryocytter (**Figur 1**), og sekundære stromaforandringer i form af en øget bindevævsdannelse samt karnydannelse (neoangiogenese) er særlig karakteristisk. Dertil kommer, at PV og ET undertiden kan være vanskelige at skelne fra de sekundære/reaktive erythro/trombocytoser. Mens CML er en veldefineret sygdom kendetegnet ved forekomsten af Philadelphia-kromosomet (translokation t(9;22)), har de tre øvrige myeloproliferative sygdomme (ET, PV og IMF) ingen specifikke kromosomabnormiteter. Selv om kromosomforandringer også ses ved ET (ca. 5-10%) og IMF (op til 60%), indgår en abnorm karyotype kun som selvstændigt diagnostisk kriterium ved PV [2], hvor det mest konsistente fund er den egen-skab ved de hæmatopoietiske progenitorceller, at de kan proliferere i et medium uden eksogent erythropoietin (EPO) [3]. Dette fænomen er benævnt endogene erythroide kolonier (EEC) og kan også ses hos en subgruppe af ET- og IMF-patienter [4, 5].

I de senere år er der identificeret flere molekulære markører, som forventes at kunne bidrage til den diagnostiske klassifikation af de Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme. Således er det fundet, at trombocytter og megakaryocytter fra PV-patienter har nedsat membranekspression af trombopoietinreceptoren c-Mpl [6, 7]. Markørens specificitet og sensitivitet i differentialdiagnostikken mellem de kroniske myeloproliferative sygdomme og reaktive tilstande er ikke endeligt fastlagt. Større prospektive undersøgelser er derfor nødvendige for at afklare c-Mpl's rolle som eventuel diagnostisk markør for de Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme.

I denne artikel beskrives den nye molekulære markør – *PRV-1*-genet – ved PV og beslægtede sygdomme, idet hoved-

Figur 1. Store dysmorphe megakaryocytter i knoglemarvsbiopsien er et gennemgående træk ved alle tre klassiske Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme. (Med tilladelse fra Carden Jennings Publishing Co., Ltd.).



Forkortelser

AML = akut myeloid leukæmi
CML = kronisk myeloid leukæmi
EEC = endogene erytroide kolonier
EPO = erythropoietin
ET = essentiel trombocytose
G-CSF = granulocytolonistimulerende faktor
IMF = idiopatisk myelofibrose
JAK = Janus tyrosinkinase
PRV = polycythaemia rubra vera
PV = polycythaemia vera

vægten er lagt på undersøgelsens værdi i diagnostisk og prognostisk henseende. Andetsteds vil blive beskrevet en netop identificeret molekylær markør – *Janus tyrosinkinase (JAK2)*-mutationen – ved de Philadelphia-negative kroniske myeloproliferative sygdomme [8].

Polycythaemia rubra vera 1-genet

I 2000 blev der identificeret og klonet et helt nyt gen, *Polycythaemia rubra vera 1, PRV-1* [9]. I et forsøg på at afdække molekylærpatogenetiske mekanismer hos PV-patienter, fandt man ved hjælp af subtraktiv hybridisering mRNA fra et hidtil ubeskrevet gen. Dette blev fundet væsentligt opreguleret i oprensede granulocytter fra perifert blod fra 19 ud af 19 PV-patienter sammenlignet med 21 ud af 21 raske kontrolpersoner og et antal øvrige patienter med myeloproliferative lidelser (CML og AML) samt sekundær erythrocytose [9]. Man fandt også, at *PRV-1* var opreguleret hos en ud af en med IMF og to ud af seks patienter med ET. Ved hjælp af immunhistokemi med et *PRV-1*-antistof viste man, at *PRV-1* blev udtrykt i myeloide celler i knoglemarven og i diskrete mængder i fottalt levervæv, men ikke i nonhæmatopoietisk væv. For at undersøge, om *PRV-1*-ekspressionen kunne korreleres til myeloid hyperproliferation stimulerede man raske frivillige personer med granulocytolonistimulerende faktor (G-CSF), hvilket medførte kraftig opregulering af *PRV-1*-ekspressionen i granulocytterne [9].

PRV-1-genet er lokaliseret på kromosom 19q13.1.2-2. Man har ikke kunnet påvise strukturelt genarrangement (deletioner, amplifikationer) som årsag til overekspressionen [10, 11]. Genet koder for et transmembrant protein bestående af 437 aminosyrer, som er beslægtet med uPAR/Ly6/CD59-receptor-superfamilien. Proteinets funktion er ukendt, men er karakteriseret som en ny membranreceptor på myeloide hæmatopoietiske celler. uPAR-receptorfamilien er karakteriseret ved at være glykosylerede proteiner i den ydre cellemembran uden et transmembrant segment eller cytoplasmatiske domæne. Der er tale om receptorer, som indgår i intracellulær

signaltransduktion [9]. Aminosyresekvensen af neutrofilantigenet *NB-1 gp*, også benævnt HNA-2a, som har været kendt længe, og som menes at spille en rolle i immunmedieret neonatal neutropeni og transfusionsreaktioner, har vist sig at være næsten identisk med *PRV-1*-sekvensen med undtagelse af kun få aminosyrer. *PRV-1* og *NB-1* menes således at være to alleler af samme gen, hvis produkt også identificeres som CD177 [9, 10, 12, 13]. CD177 eller NB-1 gp udtrykkes kun i en subpopulation (45-68%) af et individs neutrofile granulocytter. Ekspressionen er fundet at være højere hos kvinder end hos mænd [12]. CD177-ekspressionen bestemt ved flowcytometri er fundet at være betydeligt opreguleret ved PV, alvorlige sepsistilstande og hos raske kontrolpersoner, der bliver stimuleret med G-CSF med en signifikant korrelation mellem CD177-proteinet i cellemembranen bestemt ved flowcytometri og *PRV-1*-mRNA-niveauet bestemt ved kvantitativ realtid (qRT)-polymerasekædereaktion (PCR) [14]. Andre har ikke kunnet påvise en øget mængde af *PRV-1*-proteinet på overfladen af de cirkulerende neutrofile granulocytter til trods for højt *PRV-1*-mRNA-niveau, sandsynligvis fordi CD177 afstødes fra cellemembranen til blodbanen [10]. *PRV-1*-ekspressionen er også undersøgt på knoglemarvens myeloide hæmatopoietiske celler hos patienter med kroniske myeloproliferative lidelser (CML, IMF, ET og PV) og hos patienter med reaktive hyperplasier i erythropoiesen og trombopoiesen.

PRV-1-ekspressionen fandtes øget hos alle, men der var signifikant mindre spredning i PV-gruppen end hos patienter med de andre hæmatologiske neoplasier og reaktive tilstande. Relativ *PRV-1*-overekspression fandtes altså ikke specifik i knoglemarven, måske som udtryk for, at *PRV-1*-overekspressionen i perifere granulocytter snarere skyldes manglende nedregulering af *PRV-1* i de fra knoglemarven emigrerende granulocytter [15].

PRV-1 som diagnostisk markør

Differentialdiagnostikken mellem PV og sekundær erythrocytose kan være vanskelig. Serum (S)-EPO er oftest forhøjet ved de sekundære erythrocytoser, mens man finder relativt nedsat S-EPO-koncentration hos PV-patienter [16]. Endvidere kan stamceller fra PV-patienter som tidligere nævnt danne EEC i et medium uden EPO. Denne evne til proliferation uden vækstfaktoren EPO er meget specifik, men analysen har trods et kommercielt tilgængeligt assay ikke fundet større klinisk anvendelse.

Ved hjælp af qRT-PCR er det muligt at kvantificere *PRV-1*-ekspressionen med meget høj sensitivitet og specificitet. *PRV-1*-ekspressionen er fundet at være signifikant højere i granulocytter fra PV-patienter end hos raske personer eller patienter med sekundær erythrocytose [5, 9, 17-20]. *PRV-1*-ekspressionen er også øget hos en subgruppe af ET-patienter (2-67%) [5, 9, 19, 21, 24, 25] og hos ca. 40% af patienterne med IMF [21]. I enkelte arbejder har man fundet *PRV-1*-overekspression hos alle ET-patienter og normal *PRV-1*-ekspression

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

hos patienter med reaktiv trombocytose og sekundær erythrocytose [18, 20]. PCR-metoden var i den ene undersøgelse kun semikvantitativ og dermed ikke så sensitiv som qRT-PCR [18]. I den anden undersøgelse var der analyseret ufraktionerede leukocytter frem for oprensede neutrofile granulocytter [20]. Overekspression af *PRV-1*-genet er således ikke specifik for PV, men kan ses i alle sygdomsgrupper inden for det kroniske myeloproliferative syndrom [21-23] og også hos patienter med det myelodysplastiske syndrom [21]. Genets overekspression ved disse tilstande afspejler således måske primært produktionen og frisætningen af neutrofile granulocytter fra knoglemarven [22, 23]. Hos patienter med sekundær erythrocytose eller trombocytose er fundet normal [5, 18-20] eller forhøjet ekspresion af *PRV-1*-genet [22, 23].

PRV-1-ekspressionen korrelerer til dannelsen af EEC [5, 9, 27], og herudfra kan man prædikere udviklingen af PV fra essentiel trombocytose [4]. Således fandt man, at i en kohorte på 30 ET-patienter var 15 *PRV-1*-positive, og alle dannede EEC, mens dette ikke var tilfældet hos de *PRV-1*-negative ET-patienter. Hos seks af patienterne udvikledes der senere PV, og alle var *PRV-1*/EEC-positive. De resterende ni patienter i den positive gruppe vedblev ligesom de 15 *PRV-1*/EEC-negative patienter med at have stabil sygdom, mens signifikant flere tromboemboliske episoder blev registreret i den *PRV-1*/EEC-positive gruppe. Det er således sandsynligt, at *PRV-1*-positive ET-patienter udgør en patofysiologisk, molekylært og prognostisk selvstændig subgruppe, som senere vil få PV [26]. Tilsvarende udgør de *PRV-1*-positive »IMF«-patienter (ca. 67%) [28] måske en gruppe af PV-patienter med et tidligere subklinisk sygdomsforløb, hvor det postpolycytæmiske myelofibrosestadium er det første tegn på sygdommen.

PRV-1 som prognostisk markør

Trombohæmoragiske komplikationer forekommer hyppigt hos patienter med ET og PV og bidrager væsentligt til morbiditet og mortalitet i denne sygdomsgruppe. Det er ikke muligt ud fra klinisk fænotype, leuko- eller trombocytal at forudsige risikoen for trombose i forløbet. Flere undersøgelser har vist, at *PRV-1*-positivitet ved ET indebærer en øget risiko for trombose og også for senere udvikling af PV [25, 26]. I samme patientgruppe er der på diagnosetidspunktet fundet en signifikant korrelation mellem *PRV-1*-positivitet og lave plasma-EPO-koncentrationer. Subnormale plasma-erythropoietin-værdier hos patienter med ET er påvist at være en uafhængig risikofaktor for tromboembolisk sygdom [29]. Disse fund tyder på, at *PRV-1*-positivitet hos patienter med ET kan være en prognostisk markør for senere udvikling af tromboembolisk sygdom og PV, hvor *PRV-1*-positive ET-patienter med lav endogen S-EPO repræsenterer en tidlig fase af PV [30].

Essentiel trombocytose er således en meget heterogen sygdomsgruppe, som består af tidlig præfibrotisk IMF, tidlig PV og genuin ET. Kun halvdelen af patienterne med genuin ET vil have monoklonal sygdom, som – sammenlignet med poly-

klonal ET – er forbundet med en høj risiko for tromboemboliske komplikationer [29, 31]. Sidstnævnte relation er blevet bekræftet i en nylig publiceret undersøgelse, hvori man dog ikke kunne påvise sammenhæng mellem *PRV-1*-positivitet, EEC og en øget risiko for trombose [32].

PRV-1 som markør for behandlingseffekt

Ændringer i *PRV-1*-ekspressionen som følge af behandling er kun beskrevet i få arbejder [33-35]. De højeste værdier er fundet hos patienter behandlet med venesection og/eller hydroxyurea, hvor der tidligt (1-4 måneder) efter påbegyndelse af behandling af PV- og ET-patienter med hydroxyurea er registreret en opregulering af *PRV-1* [34], mens reduktion og eventuel normalisering af *PRV-1*-ekspressionen kan ses efter ca. et halvt års behandling med alpha-interferon (IFN) [33, 35]. Det er uafklaret, om normaliseringen af *PRV-1*-niveauet under IFN-behandling også ledsages af elimination/suppression af en eventuel cytogenetisk markør for den maligne klon [5]. En mulig forklaring på det heterogene behandlingsrespons skal sandsynligvis findes i de forskellige virkemåder på myelopoiesen og en måske langsommere indsættende nedregulerende effekt på *PRV-1*-ekspressionen.

Diskussion

PRV-1 bestemt ved qRT-PCR er en ny molekylær markør for PV og beslægtede sygdomme. De divergerende resultater med hensyn til analysens specificitet og sensitivitet inden for det kroniske myeloproliferative sygdomsspektrum og i afgrænsningen over for sekundær polyglobuli og reaktive leuko- og trombocytoser kan bl.a. forklares ud fra forskelle i de anvendte metoder. Der er tale om et meget følsomt assay, hvor faktorer som RNA-instabilitet, valg af PCR-primere og valg af referencegener har stor betydning for resultatet [36, 37]. Det undersøgte materiales art (celletype, fuldblod m.m.) og fastsættelse af reference- og skæringsværdier har ligeledes betydning for tolkningen af undersøgelsesresultatet. Andre årsager til forskellene i *PRV-1*-ekspressionen mellem studierne inden for de kroniske myeloproliferative sygdomme kan være forskelle mellem studierne i valget af diagnostiske kriterier, en betydelig variation i sygdomsvarighed, behandling på prøvetidspunktet og tidligere behandling, herunder også behandling med busulphan eller IFN, hvor blodværdierne kan være normale i mange måneder efter behandlingsophør. Det er således uafklaret, om busulphan ligesom IFN kan reducere eller normalisere *PRV-1*-ekspressionen.

Den heterogene ekspression af *PRV-1* blandt de kroniske myeloproliferative sygdomme kunne også være reel og således afspejle et patogenetisk og patofysiologisk fællesskab, *JAK2*-mutationen, som definerer nye subgrupper af de kroniske myeloproliferative sygdomme [40] og beskrives nærmere andetsteds [8]. Et eksempel på sådanne nye subgrupper kunne være de *PRV-1*-positive »ET«-patienter, hvor *PRV-1*-analysen sandsynligvis kan anvendes, når man ønsker at finde

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

de patienter, som senere får PV. Denne information er vigtig at indhente i det tidlige forløb af ET, idet disse patienter formentlig har en øget tromboserisiko, måske fordi deres hæmatokrit ikke monitoreres optimalt, og en stigende hæmatokritværdi og stigende leuko- eller trombocytal derfor ikke tidligt korrigeres. Et andet eksempel er de *PRV-1*-positive »IMF«-patienter, som måske udgør en subgruppe af PV-patienter med et tidligere indolent forløb uden udvikling af markant symptomgivende pancytose, hvorfor de diagnosticeres som havende »IMF« i stedet for postpolycytæmisk myelofibrose. Det er velkendt, at sidstnævnte patientgruppe har en dårligere prognose end patientgruppen med genuin IMF – en sammenhæng, som foreløbig understøttes af den tilsyneladende dårlige prognose for *PRV-1*-positive »IMF«-patienter [28]. Hvis resultaterne af prospektive undersøgelser bekræfter, at *PRV-1*-overekspression ved ET er forbundet med en øget risiko for tromboembolisk sygdom og senere udvikling af PV, samt at *PRV-1*-overekspression ved IMF indebærer en dårlig prognose, ville en rationel behandling umiddelbart indebære et forsøg på at normalisere *PRV-1*-ekspressionen. Dette er indtil videre kun vist med alpha-interferon, mens hydroxyurea i hvert fald tidligt i behandlingsforløbet er ledsaget af en opregulering af *PRV-1*, som således skulle disponere til en øget tromboserisiko. Sidstnævnte samstemmer ikke med resultaterne af flere store kliniske studier, hvori man har vist, at hydroxyurea signifikant reducerer risikoen for arteriel trombose hos patienter med ET [38, 39]. Det er uafklaret, om hydroxyurea senere i behandlingsforløbet er ledsaget af en nedregulering af *PRV-1*-genet. Yderligere undersøgelser af den biologiske betydning af *PRV-1*/CD177 er således påkrævet, herunder også undersøgelser af den mulige patogenetiske sammenhæng mellem *PRV-1*-genets opregulering og en øget tromboserisiko samt effekten af cyto-reduktiv behandling herpå ved de Philadelphia-negative myeloproliferative sygdomme. Foreløbigt tyder det på, at analysen kan anvendes til monitorering af den molekylærbiologiske effekt af alpha-interferon-behandling [33, 35].

Sammenfattende er *PRV-1*-genekspressionen bestemt ved qRT-PCR på leukocytter (granulocytter eller mononukleære celler) isoleret fra en blodprøve et vigtigt nyt diagnostisk redskab til differentiering mellem de sekundære polycytæmier og klassisk PV. Den kvantitative analysemetode er karakteriseret ved en meget høj sensitivitet og specificitet. Kun ved hjælp af prospektive studier med konsekutive *PRV-1*-analyser i sygdomsforløbet kan man afklare, om *PRV-1* kan anvendes til subklassifikation af de kroniske myeloproliferative sygdomme samt som markør for behandlingsrespons og prognose.

Korrespondance: Thomas Stauffer Larsen, Hæmatologisk Afdeling X, Odense Universitetshospital, DK-Odense C. E-mail: thomas.stauffer.larsen@ouh.fyns-amt.dk

Antaget: 15. august 2005
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. WHO. Tumors of the hemopoietic and lymphoid tissues. Geneva: WHO, 2001.
2. Murphy S. Diagnostic criteria and prognosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Hematol* 1999;36:9-13.
3. Weinberg RS. In vitro erythropoiesis in polycythemia vera and other chronic myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 1997;34:64-69.
4. Shih L-Y, Lee C-T. Identification of masked polycythemia vera from patients with idiopathic marked thrombocytosis by endogenous erythroid colony assay. *Blood* 1994;83:744-8.
5. Liu E, Jelinek J, Pastore YD et al. Discrimination of polycythemia and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with *PRV-1* expression and BFU-E response to erythropoietin. *Blood* 2003;101:3294-301.
6. Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med* 1998;338:572-80.
7. Tefferi A, Yoon SY, Li CY. Immunohistochemical staining for megakaryocyte c-mpl may complement morphological distinction between polycythemia vera and secondary erythrocytosis. *Blood* 2000;96:771-2.
8. Larsen TS, Pallisgaard N, Christensen JH et al. Nye molekylære markører ved de kroniske myeloproliferative sygdomme. II. JAK2-mutationen. *Ugeskr Læger* 2006;168:XXX.
9. Temerinac S, Klippel S, Strunck E et al. Cloning of *PRV-1*, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. *Blood* 2000;95:2569-76.
10. Klippel S, Strunck E, Busse CE et al. Biochemical characterization of *PRV-1*, a novel hematopoietic cell surface receptor, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. *Blood* 2002;100:2441-8.
11. Najfeld V, Fuchs S, Merando P et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of the *PRV-1* gene in polycythemia vera: Implications for its role in the diagnosis and pathogenesis. *Exp Hematol* 2003;31:118-21.
12. Stroncek DF, Carrucio L, Bettinotti M. CD177: A member of the Ly-6 gene superfamily involved with neutrophil proliferation and polycythemia vera. *J Trans Med* 2004;2:8.
13. Kissel K, Santoso S, Hoffman C et al. Molecular basis of the neutrophil glycoprotein NB1 (CD177) involved in the pathogenesis of immune neutropenias and transfusion reactions. *Eur J Immunol* 2001;31:1301-9.
14. Göhring K, Wolff W, Doppl K et al. Neutrophil CD177 (NB1 gp, HNA-2a) expression is increased in severe bacterial infections and polycythemia vera. *Br J Haematol* 2004;126:252-4.
15. Bock O, Serinsoz E, Neusch M et al. The polycythemia rubra vera-1 gene is constitutively expressed by bone marrow cells and does not discriminate polycythemia vera from reactive and other chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 2003;123: 472-4.
16. Mossuz P, Giridon F, Donnard M et al. Diagnostic value of serum erythropoietin level in patients with absolute erythrocytosis. *Haematologica* 2004; 89:1194-8.
17. Klippel S, Strunck E, Temerinac S et al. Quantification of *PRV-1* mRNA distinguishes polycythemia vera from secondary erythrocytosis. *Blood* 2003;102:3569-74.
18. Teofili L, Martini M, Luongo M et al. Overexpression of polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2002;20:4249-54.
19. Ricksten A, Palmqvist L, Wasslavik C et al. High *PRV-1* mRNA expression, a diagnostic marker for polycythemia vera. *Blood* 2002;100:3156.
20. Cilloni D, Carturan S, Gottardi E et al. Usefulness of the quantitative assessment of *PRV-1* gene expression for the diagnosis of polycythemia vera and essential thrombocythemia patients. *Blood* 2004;103:2428.
21. Tefferi A, Lasho T.L, Wolanskyj AP et al. Neutrophil *PRV-1* expression across the chronic myeloproliferative disorders and secondary or spurious polycythemia. *Blood* 2004;103:3547-8.
22. Passamonti F, Pietra D, Malabarba L et al. Clinical significance of neutrophil CD177 mRNA expression in Ph-negative chronic myeloproliferative disorders. *Br J Haematol* 2004;126:650-6.
23. Zhang J, Pellagati A, Campbell L et al. Neutrophil *PRV-1* gene expression in myeloproliferative, myelodysplastic and reactive blood disorders. *Br J Haematol* 2004;125(suppl. 1), abstract no. 53.
24. Kralovics R, Buser AS, Teo SS et al. Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2003;102:1869-71.
25. Johansson P, Ricksten A, Wennström L et al. Increased risk for vascular complications in *PRV-1* positive patients with essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2003;123:513-6.
26. Grieshammer M, Klippel S, Strunck E et al. *PRV-1* mRNA expression discriminates two types of essential thrombocythemia. *Ann Hematol* 2004; 83:364-70.
27. Florensa L, Besses C, Zamora L et al. Endogenous erythroid and megakaryocytic circulating progenitors, HUMARA clonality assay, and *PRV-1* expression

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- are useful tools for diagnosis of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood* 2004;103:2427.
28. Gisslinger H, Heimpel H, Kees M et al. Neutrophil mRNA overexpression in chronic idiopathic myelofibrosis may be associated with poor prognosis. *Blood* 2004;104:4762 part 2.
 29. Andreasson B, Harrison C, Lindstedt G et al. Monoclonal myelopoiesis and subnormal erythropoietin concentration are independent risk factors for thromboembolic complications in essential thrombocythemia. *Blood* 2003;101:783-4.
 30. Johansson P, Andreasson B, Safai-Kutti S et al. The presence of a significant association between elevated PRV-1 mRNA expression and low plasma erythropoietin concentration in essential thrombocythemia. *Eur J Haematol* 2003;70:358-62.31. Shih LY, Lin TL, Lai CL et al. Predictive values of X-chromosome inactivation patterns and clinicohematologic parameters for vascular complications in essential thrombocythemia. *Blood* 2002;100:1596-601.
 31. Vannucchi A, Grossi A, Pancrazzi A et al. PRV-1, erythroid colonies and platelet Mpl are unrelated to thrombosis in essential thrombocythemia. *Br J Haematol* 2004;107:214-9.
 32. Fruehauf S, Topaly J, Villalobos M et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction shows that treatment with interferon reduces the initially upregulated PRV-1 expression in polycythemia vera patients. *Haematologica* 2003;88:349-51.
 33. Johansson P, Ricksten A, Wasslavik C et al. The effects of hydroxyurea on PRV-1 expression in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Haematologica* 2004;89:1264-6.
 34. Samuelsson J, Hasselbalch H, Bruserud O et al. A phase II trial of pegylated interferon-alfa-2b in polycythemia vera and essential thrombocythemia. Clinical responses, effects on PRV-1 expression and impact on quality of life. ASH 2004 abstract no 1518.
 35. Klippel S, Goerttler PS, Pahl H. Quantification of PRV-1 mRNA in unfractured blood leukocytes can lead to false negative results. *Blood* 2004;103:2429.
 36. Jelinek J, Jedlickova K, Guan Y et al. Instability of PRV-1 mRNA: a factor to be considered in PRV-1 quantification for the diagnosis of polycythemia vera. *Haematologica* 2004;89:749-51.
 37. Cortelazzo S, Finazzi G, Ruggeri M et al. Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis. *N Engl J Med* 1995;332:1132-6.
 38. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G et al for the United Kingdom Medical Research Council. Primary Thrombocythemia 1 Study. *N Engl J Med* 2005;353:33-45.
 39. Goerttler PS, Steimle C, Marz E et al. The Jak2V617F mutation, PRV-1 overexpression and EEC formation define a similar cohort of MPD patients. *Blood* 2005;106:2862-4.

Nye molekylære markører ved de kroniske myeloproliferative sygdomme

II. Janus tyrosinkinase 2- mutationen

Læge Thomas Stauffer Larsen,
ledende molekylærbiolog Niels Pallisgaard,
læge Jacob Haaber Christensen, overlæge Paul Gram-Hansen,
overlæge Gitte B. Kerndrup, afdelingslæge Michael Boe Møller &
professor Hans Carl Hasselbalch

Odense Universitetshospital, Patologisk Institut og Hæmatologisk Afdeling X

Resume

De Philadelphia-negative, kroniske, myeloproliferative sygdomme er karakteriseret ved autonom myeloid proliferation og abnorm følsomhed over for en række vækstfaktorer, som er betinget af en netop identificeret guanin til thymidin-mutation i *Janus tyrosinkinase 2 (JAK2)*-genet. *JAK2* aktiveres især af de hæmatopoietiske vækstfaktorer og har derfor særlig betydning for hæmatopoiesen. *JAK2*-mutationen medfører, at phenylalanin substitueres med valin i aminosyrepositionen 617 (V617F-mutation) og er til stede hos de fleste patienter med polycythæmia vera og hos ca. 50% af patienterne med essentiel trombocytose og idiopatisk myelofibrose. Med baggrund i en beskrivelse af *JAK2*-mutationen inden for denne sygdomsgruppe præsenteres nye perspektiver for klassifikation, diagnostik og behandling af disse sygdomme.

I 1951 publicerede *Dameshek* under overskriften: Some Speculations on The Myeloproliferative Syndromes konceptet, at polycythæmia vera (PV), essentiel trombocytose (ET), idiopatisk myelofibrose (IMF), kronisk myeloid leukæmi (CML) og erytroleukæmi var nært beslægtede, og foreslog således, at de blev samlet under betegnelsen de myeloproliferative syndromer [1]. Erytroleukæmi er siden blevet klassificeret som en subtype af akut myeloid leukæmi, og CML er cytogenetisk og molekylærbiologisk karakteriseret ved identifikationen af t(9;22)(q34;q11) (Philadelphia-kromosomet) og fusionsproteinet BCR-ABL, som med sin øgede tyrosinkinaseaktivitet sørger for den abnorme proliferation og akkumulation af myeloide celler i knoglemarv, milt og lever [2].

Ca. 50 år senere er *Damesheks* koncept blevet bekræftet molekylærbiologisk ved identifikationen af en mutation i *Janus kinase 2 (JAK2)*-genet, som i marts og april 2005 blev beskrevet inden for samme uge af en engelsk [3] og en fransk forskergruppe [4] og de følgende uger af andre [5-9].

Med baggrund i en beskrivelse af *JAK2*-mutationen inden for denne sygdomsgruppe præsenteres i denne artikel nye perspektiver for klassifikation, diagnostik og behandling af disse sygdomme.