**REVIEW ARTICLE**

# The *JAK2V617F, CALR and MPL* gene mutations in myeloproliferative neoplasms

Dollapak Apipongrat

Special Haematology Laboratory, Division of Medicine,
His Majesty the King Rama IX's 6th Cycle Birthday Anniversary Building, Phramongkutklao Hospital,
315 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand
Telephone: +66 (0) 86 916 5782 Email: Dollapak.d@allied.tu.ac.th

*Submitted:* *5 February 2021*
*Accepted:* *12 February 2021*
*Published:* *26 March 2021*

**Abstract**

Myeloproliferative neoplasms (MPNs) are comprised of polycythaemia vera (PV), essential thrombocytosis (ET) and primary myelofibrosis (PMF). They can lead to the development of vascular thrombosis, bleeding disorder, bone marrow fibrosis and acute leukaemia. The *JAK2V617F, CALR and MPL* gene mutations in patients with MPNs are associated with their therapeutic and prognostic implications.

**Keywords:** *CALR* gene; *JAK2V617F* gene; *MPL* gene; mutation; myeloproliferative neoplasms

# การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2V617F* ยีน *CALR* และ ยีน *MPL* ในกลุ่มโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติ

ดลภาค อภิพงศ์รัตน์

ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยาพิเศษ กองอายุรกรรม อาคารเฉลิมพระเกียรติ 6 รอบ พระชนมพรรษา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า
เลขที่ 315 ถนนราชวิถี แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10400
โทรศัพท์: +66 (0) 86 916 5782 Email: Dollapak.d@allied.tu.ac.th

*ส่งต้นฉบับ: วันที่ 5 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564*
*รับลงตีพิมพ์: วันที่ 12 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564*
*ตีพิมพ์เผยแพร่: วันที่ 26 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2564*

**บทคัดย่อ**

กลุ่มโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติประกอบด้วยโรคดังต่อไปนี้คือ โรคเลือดข้น โรคเกล็ดเลือดสูง และโรคพังผืดในไขกระดูกปฐมภูมิ ซึ่งผู้ป่วยมีโอกาสเกิดภาวะลิ่มเลือดอุดตัน เลือดออกผิดปกติ การเกิดพังผืดในไขกระดูก และการเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลัน ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2V617F* ยีน *CALR* และยีน *MPL* ในกลุ่มโรคนี้มีนัยยะต่อการรักษาและการพยากรณ์โรคอย่างมาก

**คำสำคัญ:** กลุ่มโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติ; การกลายพันธุ์; ยีน *CALR*; ยีน *JAK2V617F*; ยีน *MPL*

---

กลุ่มโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติ (Myeloproliferative Neoplasms, MPNs) เป็นกลุ่มโรคเนื้องอกที่ส่วนใหญ่มีความผิดปกติเกิดที่ Multipotent stem cells ในระดับ Common myeloid stem cells ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นเซลล์ตัวแก่ของ Erythrocytes, Granulocytes, Monocytes และ Platelets ยกเว้นใน Chronic myeloid leukaemia (CML) ความผิดปกติจะอยู่ในระดับที่สูงกว่าโรคอื่น นั่นคือผิดปกติที่ Pluripotent stem cells ซึ่งในภาวะปกติเซลล์นี้จะพัฒนาเป็น Common myeloid stem cells และ Common lymphoid stem cells กลไกการเกิดโรคกลุ่มนี้เกิดจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดมากผิดปกติ เนื่องจากมีความผิดปกติของกระบวนการควบคุมการสร้างดังกล่าว ในขณะที่ยังสามารถมีกระบวนการ maturation ได้ ดังนั้นในเลือดของผู้ป่วยจึงพบเซลล์ตัวแก่ (Mature cells) มีจำนวนมากมาย สามารถแบ่งเป็นแบบที่มีฟิลาเดลเฟีย โครโมโซม (Ph+MPN) คือ Chronic myeloid leukaemia (CML) และไม่มีฟิลาเดลเฟียโครโมโซม (Ph-MPNs) ในกลุ่มนี้จะประกอบด้วยโรคสำคัญ 3 โรค คือ โรคเลือดข้น [Polycythaemia vera (PV)] โรคเกล็ดเลือดสูง [Essential thrombocytosis (ET)] และโรคพังผืดในไขกระดูกปฐมภูมิ [Primary myelofibrosis (PMF)][1]

**ระบาดวิทยา**

อุบัติการณ์ที่มีรายงานไว้ทั่วโลก คือ พบผู้ป่วยใหม่ประมาณ 1 – 2 รายต่อประชากรแสนคนต่อปี สำหรับในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของโรคนี้ประมาณ 1 – 3 รายต่อประชากรแสนคนต่อปี โดยจำแนกเป็นโรคเลือดข้น (PV) และโรคเกล็ดเลือดสูง (ET) ประมาณ 1 – 2 คนต่อประชากรแสนคนต่อปี ส่วนโรคพังผืดในไขกระดูกปฐมภูมิ (PMF) พบได้น้อยกว่า คือ 1 คนต่อประชากรแสนคนต่อปี และพบบ่อยในผู้สูงอายุ 50 – 70 ปี[1]

**ยีน *JAK2* (*Janus kinase 2* gene)**

ยีน *JAK2* ได้รับการค้นพบในปี พ.ศ. 2532 (ค.ศ. 1989) โดย Andrew Wilks จากการโคลนนิ่ง cDNA ที่ได้จากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด FDC-P1 ซึ่งเป็นเซลล์เม็ดเลือดของหนู สำหรับยีน *JAK2* ที่พบในคนจะอยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 9 ตำแหน่ง 9p24 โดยมี genomic DNA ยาวประมาณ 140 กิโลเบส แบ่งออกเป็น 25 Exons ยีน *JAK2* จะถอดรหัสออกมาเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 1,132 ตัว โดยปกติโปรตีน *JAK2* จะอยู่ภายในเซลล์โดยจับอยู่กับตัวรับซัยโตไคน์ประเภทที่ 1 ที่เป็นตัวกลางสำคัญในการส่งสัญญาณควบคุมการผลิตเม็ดเลือดสายมัยอีลอยด์ ได้แก่ ตัวรับ Erythropoietin (EPO-R) ตัวรับ Thrombopoietin (TPO-R) หรือตัวรับ IL-3 (IL-3R) เป็นต้น ซึ่งการศึกษาบทบาทของยีน *JAK2* ในหนูพบว่า หนูที่ขาดยีน *JAK2* จะเสียชีวิตตั้งแต่ระยะที่เป็นเอ็มบริโอ เนื่องจากไม่สามารถผลิตเม็ดเลือดแดงได้[2]

**โปรตีน JAK2**

ยีน *JAK2* จะถอดรหัสออกมาเป็นโปรตีน JAK2 ซึ่งโดยปกติโปรตีน JAK2 จะจับอยู่กับตัวรับซัยโตไคน์ประเภทที่ 1 ที่เป็นตัวกลางสำคัญในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ กระบวนการส่งสัญญาณผ่านโปรตีน JAK2 จะเกิดขึ้นหลังจากที่มีการจับกันระหว่างซัยโตไคน์และตัวรับ โปรตีน JAK2 ที่ติดอยู่กับตัวรับนั้นจะเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับตัวเองได้เป็นโปรตีน JAK2 ในรูปที่กระตุ้นแล้ว (Phosphorylated JAK2; p-JAK2) ซึ่ง p-JAK2 จะเติมหมู่ฟอสเฟต ให้กับตัวรับไซโตไคน์ในตำแหน่งจำเพาะเพื่อให้เหมาะกับการจับของโปรตีนชนิดอื่นที่ช่วยในการส่งสัญญาณ เช่น โปรตีน STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5) หลังจากที่โปรตีน STAT5 เข้ามาจับที่ตัวรับซัยโตไคน์แล้วจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟต หลังจากนั้นโปรตีน STAT5 ที่ได้รับการเติมหมู่ฟอสเฟตแล้ว (Phosphorylated STAT5; p-STAT5) จะหลุดออกจากตัวรับซัยตัวไคน์แล้วจับคู่กันเอง (Dimerisation) และเคลื่อนตัวเข้าสู่นิวเคลียสเพื่อไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแบ่งตัว การอยู่รอด และการพัฒนาของเซลล์เม็ดเลือดต่อไป นอกจากการส่งสัญญาณ ผ่านทาง JAK2/STAT5 pathway แล้วโปรตีน JAK2 ยังเป็นตัวกลางในการส่งสัญญาณผ่านกระบวนการอื่น ๆ เช่น RAS/MAPK pathway และ PI3K/AKT pathway เป็นต้น[2]

**การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ใน Myeloproliferative Neoplasms**

ในปี พ.ศ. 2548 (ค.ศ. 2005) มีนักวิจัยอย่างน้อย 4 กลุ่มรายงานการค้นพบการกลายพันธุ์ชนิดใหม่ในผู้ป่วยกลุ่มโรค Philadelphia (Ph)- negative MPN โดยพบในผู้ป่วยโรคเม็ดเลือดแดงมากผิดปกติ (PV) มากถึงร้อยละ 97 ส่วนในผู้ป่วยโรคเกร็ดเลือดมากผิดปกติ (ET) และผู้ป่วยโรคพังผืดในไขกระดูกปฐมภูมิ (PMF) จะพบประมาณร้อยละ 50 – 60 ซึ่งการกลายพันธุ์ดังกล่าวเป็นการเปลี่ยนแปลงระดับยีนที่นิวคลีโอไทด์ตำแหน่งที่ 1,849 ใน Exon ที่ 14 ของยีน *JAK2* (GenBank accession NM_004972) โดยเปลี่ยนจาก Guanine (G) เป็น Thymine (T) ส่งผลให้การแปลรหัสกรดอะมิโนลำดับที่ 617 ของโปรตีน JAK2 ผิดพลาดจาก Valine (V) กลายเป็น Phenylalanine (F) เรียกการกลายพันธุ์นี้ว่า “*JAK2V617F*” การวิจัยเพื่อศึกษาผลของการกลาย

พันธุ์ชนิดนี้โดยการใส่ยีน *JAK2V617F* เข้าไปในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีสมบัติพิเศษคือ จะเจริญได้ในสภาวะที่มี Growth factor เท่านั้น โดยพบว่าในภาวะที่ไม่มี Growth factor เซลล์เพาะเลี้ยงที่มียีน *JAK2V617F* สามารถเติบโตได้ดี มีความแตกต่างจากเซลล์เพาะเลี้ยงที่มียีน *JAK2* ชนิดปกติ (Wild type) ซึ่งจะไม่พบการเจริญเติบโตเลย เมื่อวัดปริมาณโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณผ่านโปรตีน JAK2 ในเซลล์ดังกล่าว พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยงที่ใส่ยีน *JAK2V617F* มีปริมาณโปรตีนที่ถูกเติมหมู่ฟอสเฟตแล้ว เช่น โปรตีน p-JAK2 โปรตีน p-STAT5 โปรตีน p-AKT และโปรตีน p-ERK สูงกว่าเซลล์เพาะเลี้ยงที่มียีน *JAK2* แบบปกติอย่างมีนัยสำคัญ การที่เซลล์เพาะเลี้ยงที่มียีน *JAK2V617F* สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มี Growth factor สอดคล้องกับการเกิดปรากฏการณ์ที่ตัวอ่อนของเม็ดเลือดแดง (Erythroid progenitor) ของผู้ป่วย PV สามารถเจริญได้ในหลอดทดลองในภาวะที่ขาด EPO ซึ่งเป็นซัยโตไคน์ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดแดง และสามารถพบลักษณะเดียวกันนี้ในผู้ป่วย ET และ PMF ยิ่งไปกว่านั้นการศึกษาถึงผลของยีนกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* ในสัตว์ทดลองพบว่าหนูที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์ไขกระดูกที่มียีน *JAK2V617F* แสดงลักษณะอาการของโรคคล้ายกับผู้ป่วยโรค PV ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดแดงสูง ปริมาณเม็ดเลือดขาวสูง มีตับและม้ามโต เป็นต้น[2]

ในปี พ.ศ. 2554 (ค.ศ. 2011) นะโม สุขสมยศ และคณะ ได้ทำการสำรวจความชุกของการกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* ในผู้ป่วย MPN ชาวไทย จำนวน 103 คน และตรวจหาความสัมพันธ์ของการกลายพันธุ์ชนิดนี้ต่ออาการทางคลินิกพบว่า ความชุกของ *JAK2V617F* ในผู้ป่วย Ph-MPN เท่ากับร้อยละ 68.8 (66 รายจากผู้ป่วยจำนวน 96 ราย) จำแนกเป็นร้อยละ 59.2 (29 รายจากผู้ป่วยจำนวน 49 ราย) ในผู้ป่วยโรคเกล็ดเลือดสูงโดยไม่ทราบสาเหตุ (ET) ร้อยละ 80.6 (25 รายจากผู้ป่วยจำนวน 31 ราย) ในผู้ป่วยโรคเม็ดเลือดแดงสูงโดยไม่ทราบสาเหตุ (PV) ร้อยละ 70.0 (7 รายจากผู้ป่วยจำนวน 10 ราย) ในผู้ป่วยโรคไขกระดูกฝ่อแบบปฐมภูมิ (PMF) และร้อยละ 83.3 (5 รายจากผู้ป่วยจำนวน 6 ราย) ในผู้ป่วยโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ (Unclassified MPN) อย่างไรก็ตามผู้ป่วย CML จำนวนทั้งหมด 7 ราย ไม่พบว่ามีการกลายพันธุ์ดังกล่าวเลย ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์มีประวัติ Bleeding และ MCV น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่กลายพันธุ์ ผู้วิจัยไม่พบความแตกต่างทางคลินิกระหว่างผู้ป่วย ET ทั้งสองกลุ่ม ในผู้ป่วย PV พบว่ากลุ่มที่มีการกลายพันธุ์มีระดับฮีโมโกลบินต่ำกว่า และมีจำนวนเกล็ดเลือดสูงกว่ากลุ่มไม่กลายพันธุ์[3]

อนึ่งข้อกำหนดองค์การอนามัยโลกปี พ.ศ. 2551 (ค.ศ. 2008) ระบุให้การกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* เป็นหนึ่งในเกณฑ์สำหรับวินิจฉัยโรคในกลุ่มดังกล่าวร่วมกับการกลายพันธุ์ของยีน *MPL*[4] สำหรับการกลายพันธุ์ของยีน *MPL* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น Thrombopoietin (TPO) receptor พบว่าในผู้ป่วย *JAK2V617F*–Negative ET และ PMF จะพบการกลายพันธุ์ชนิดนี้น้อยกว่าร้อยละ 10[5] ต่อมาในปี พ.ศ. 2556 (ค.ศ. 2013) มีผู้รายงานการค้นพบการกลายพันธุ์ชนิดใหม่ในกลุ่มผู้ป่วยโรคดังกล่าว ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์บนโครโมโซมคู่ที่ 19 ตำแหน่ง p13.2 บน Exon ที่ 9 ของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน Calreticulin (CRT) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีบทบาทในกระบวนการเจริญและการตายของเซลล์ เรียกการกลายพันธุ์นี้ว่า “*CALR* mutation” โดยการกลายพันธุ์มีทั้งแบบ Insertion และ Deletion ซึ่งการกลายพันธุ์ชนิดนี้พบในผู้ป่วย ET และ PMF ที่มีผล *JAK2V617F*–Negative ประมาณร้อยละ 25 – 35 แต่ไม่พบในผู้ป่วย PV เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ทางคลินิกของการกลายพันธุ์ชนิดนี้พบว่า ผู้ป่วยมีอัตราการรอดชีวิตและการพยากรณ์โรคดีกว่าผู้ป่วย *JAK2V617F*–Positive[5] ทั้งนี้ *CALR* mutation ได้รับการยอมรับให้เป็นหนึ่งในเกณฑ์ที่ช่วยในการวินิจฉัยแยกโรคในกลุ่ม Ph-negative MPNs ขององค์การอนามัยโลกปี พ.ศ. 2557 (ค.ศ. 2014) ร่วมกับการกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* และการกลายพันธุ์ของยีน *MPL*[6]

**โปรตีนแคลเรติคูลิน (Calreticulin protein, CRT)**

โปรตีนแคลเรติคูลิน (CRT) เป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในร่างแหเอนโดพลาสมิก (Endoplasmic reticulum, ER) โดยการควบคุมของยีน *CALR* ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 9 ตำแหน่ง p13.2 ประกอบด้วย 9 Exons ซึ่งโปรตีนนี้ทำหน้าที่หลักในการควบคุมระดับของแคลเซียม และยังมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นใหม่ภายใน ER คือ ทำหน้าที่ร่วมกับโปรตีนในกลุ่ม Chaperone ในกระบวนการขดตัวของโปรตีน (Protein folding) และกระบวนการตรวจสอบโปรตีน (Protein quality control) โดยทำหน้าที่ร่วมกับโปรตีนแคลเน็กซิน (Calnexin protein, CNX) นอกจากนี้โปรตีน CRT ยังสามารถพบอยู่เป็นอิสระภายในเซลล์ พบอยู่บนผิวของเซลล์ และพบได้ในสารที่อยู่ภายนอกเซลล์ ซึ่งมีบทบาทแตกต่างกันไป ได้แก่ บทบาทในกระบวนการเกาะของเซลล์ (Integrin-mediated cell adhesion) บทบาทในกระบวนการขนส่งยีนภายในนิวเคลียส (Gene nuclear transport) บทบาทในกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ผ่าน JAK/STAT pathway บทบาทในกระบวนการตายของเซลล์ (Programmed cell death) และบทบาทในกระบวนการตายของเซลล์โดยอาศัยระบบภูมิคุ้มกัน (Immunogenic cell death)[7,8]

โครงสร้างของโปรตีน CRT ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ ส่วนปลาย N (N-terminus) เป็นบริเวณที่จับโปรตีน Lectin (Lectin-binding domain) ส่วนกลางเป็นส่วนที่มีกรดอะมิโนชนิด Proline จำนวนมาก (Proline-rich domain) และส่วนปลาย C (C-terminus) เป็นส่วนที่จับกับแคลเซียมไอออน ($Ca^{2+}$-binding site) และเป็นส่วนที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (Acidic domain) ทำให้โมเลกุลมีประจุลบ (Negatively charged) บน C-terminus มีลำดับกรดอะมิโนที่สำคัญคือ KDEL sequence ซึ่งเป็น Signal sequence ที่สำคัญในการส่งกลับโปรตีนจาก Golgi apparatus เข้าสู่ ER[7]

**การกลายพันธุ์ของยีน *CALR* (*CALR* mutation)**

พบว่าการกลายพันธุ์บน Exon ที่ 9 ของยีน *CALR* โดยเป็นลักษณะของ Frame shift mutation ซึ่งพบทั้งแบบ Deletion และ Insertion โดยสามารถแบ่งตามลักษณะที่พบบ่อยเป็น 2 แบบ คือ แบบ Somatic 52-bp deletions (Type I mutation) และแบบ Recurrent 5-bp (TTGTC) insertion (Type II mutation) ผลจากการเกิด Frame shift mutation นี้ทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่มีลำดับกรดอะมิโนผิดปกติ โดยลำดับกรดอะมิโนในส่วนของ C-terminus จะถูกแทนด้วยกรดอะมิโนที่เป็น Positively charged เป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนคุณสมบัติภายในโมเลกุล ทำให้ไม่สามารถจับกับ $Ca^{2+}$ ได้ และพบว่ามีการขาดหายไปของ KDEL sequence นำไปสู่การเปลี่ยนที่อยู่ของโปรตีนแคลเรติคูลิน (Altered subcellular localization)[7]

ในปี พ.ศ. 2556 (ค.ศ. 2013) Klampfl T. และคณะได้ทำการศึกษาใน DNA ของเซลล์ Granulocyte (Tumour samples) และ DNA ของ CD3+ T-lymphocyte (Control samples) ด้วยเทคนิค Exome sequencing ในผู้ป่วย PMF จำนวน 6 คน ซึ่งให้ผล *JAK2* และ *MPL* mutations เป็น Negative อีกทั้งยังพบว่ามีการกลายพันธุ์ Somatic ได้ประมาณ 2 – 12 แบบในผู้ป่วยแต่ละคน และเกิดขึ้นบนตำแหน่งที่ใกล้เคียงกันคือบนโครโมโซมคู่ที่ 19 ตำแหน่ง p13.2 บน Exon ที่ 9 ของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีน CRT[5,7]

จากการศึกษาในผู้ป่วยในกลุ่มโรค MPNs จำนวน 896 คน ซึ่งผ่านการตรวจหาการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* ด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) แล้วให้ผลบวกทั้งแบบ Deletion หรือแบบ Insertion ซึ่งการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* สามารถพบได้ในผู้ป่วยโรค ET และผู้ป่วยโรค PMF ร้อยละ 25 และร้อยละ 35 ตามลำดับ แต่ไม่พบการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* ในผู้ป่วยโรค PV แม้กระนั้นก็ตามผู้ป่วยที่พบ *CALR* mutation จะไม่พบร่วมกับการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* และยีน *MPL*[5] นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า

จำนวนผู้ป่วยโรค ET และผู้ป่วยโรค PMF น้อยกว่าร้อยละ 10 ให้ผล Negative ต่อการกลายพันธุ์ทั้งของยีน *JAK2* ยีน *CALR* และยีน *MPL* ซึ่งเรียกว่า “Triple negative”[7]

อนึ่ง Nangalia J. และคณะ ได้ทำการศึกษาการกลายพันธุ์ในผู้ป่วยกลุ่มโรค MPNs จำนวน 151 คน ด้วยเทคนิค Exome sequencing โดยผลการศึกษาพบการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* ถึง 26 คนในจำนวน 31 คน (ร้อยละ 84) ของผู้ป่วยโรค ET หรือผู้ป่วยโรค PMF แต่ให้ผลการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* และยีน *MPL* เป็น Negative นอกจากนั้นผู้ป่วยโรค ET จำนวน 2 คน และผู้ป่วยโรค PMF จำนวน 1 คน ให้ผลเป็น Double mutations คือพบทั้งการกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* และ *CALR* แต่ยังไม่ทราบความถี่ในการเกิด กลไกในการเกิดพยาธิสภาพ และอาการทางคลินิกที่จำเพาะ[9]

ต่อมาในปี พ.ศ. 2558 (ค.ศ. 2015) Jung-Sook Ha และ Yu-Kyung Kim ได้ทำการศึกษาความถี่และรูปแบบของการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* ในผู้ป่วยกลุ่มโรค MPNs จำนวน 168 คน (ประกอบด้วยผู้ป่วยโรค PV จำนวน 36 คน ผู้ป่วยโรค ET จำนวน 114 คน และผู้ป่วยโรค PMF จำนวน 18 คน) ด้วยเทคนิค Direct sequencing พบ *CALR* mutation ในผู้ป่วยโรค ET ร้อยละ 58.5 และผู้ป่วยโรค PMF ร้อยละ 33.3 แต่ไม่พบการกลายพันธุ์ชนิดนี้ในผู้ป่วยโรค PV และไม่พบร่วมกับการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* และยีน *MPL* นอกจากนี้ยังพบว่ารูปแบบการกลายพันธุ์ที่พบมากคือ L367fs*46 (ร้อยละ 53.6) และ K385fs*47 (ร้อยละ 35.7)[8] ยิ่งกว่านั้นยังมีผู้ศึกษาความชุกและความสัมพันธ์ทางคลินิกของ *CALR* mutation ในหลายกลุ่มประชากรของแต่ละประเทศ เช่น Bo Hyun Kim และคณะได้ทำการศึกษาในกลุ่มประชากรชาวเกาหลี[10] Nancy Labastida-Mercado และคณะทำการศึกษาในกลุ่มประชากรชาวเม็กซิโก[11] เป็นต้น ส่วนในประเทศไทยนั้น Htoo Pyei Hlaing และคณะได้ทำการศึกษาความถี่ของการกลายพันธุ์ชนิด *CALR* mutation ในผู้ป่วยโรคเกล็ดเลือดสูงโดยไม่ทราบสาเหตุ (ET) และผู้ป่วยโรคไขกระดูกฝ่อแบบปฐมภูมิ (PMF) ที่มี *JAK2*-Negative ในกลุ่มประชากรไทยจำนวน 49 คน พบว่ามีความถี่ *CALR* mutation ร้อยละ 42.85 ในผู้ป่วย ET ที่มี *JAK2*-Negative และร้อยละ 62.5% ในผู้ป่วย PMF ที่มี *JAK2*-Negative[12]

**ยีน *MPL* และโปรตีน MPL**

ยีน *MPL* (Myeloproliferative leukaemia) เป็นยีนที่อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 1 ตำแหน่งที่ 34 (Chromosome 1p34) ประกอบด้วย 12 Exons ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น Thrombopoietin (TPO) receptor มีบทบาทสำคัญในการแบ่งตัว (Proliferation) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (Differentiation) ของเมกะคาริโอไซต์ (Megakaryocyte) ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีหน้าที่สร้างเกล็ดเลือด โดยการกระตุ้นกระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลของ Thrombopoietin (TPO) มาจับกับโปรตีน MPL บนส่วนของ Cellular Domain ทำให้โปรตีน MPL เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเกิดกระบวนการ Dimerisation และกระตุ้นโปรตีน JAK2 ให้เกิดการเติมหมู่ฟอสเฟต (Cross-phosphorylation) จากนั้นโปรตีน JAK2 ที่ถูกเติมฟอสเฟต (Phosphorylated JAK2; p-JAK2) จะเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับกรดอะมิโน Tyrosine ในส่วน Cytoplasmic domain ของโปรตีน MPL ในตำแหน่งที่จำเพาะ เพื่อให้เหมาะกับการจับของโปรตีนชนิดอื่นที่ช่วยในการส่ส่งสัญญาณผ่าน JAK/STAT pathway[13]

**การกลายพันธุ์ของยีน *MPL***

การกลายพันธุ์ของยีน *MPL* เกิดขึ้นบน Exon ที่ 10 ลักษณะการกลายพันธุ์เป็นการแทนที่ลำดับเบสบนสาย DNA (Base substation) ทำให้การสร้างโปรตีนมีลำดับกรดอะมิโนเปลี่ยนไป โดยลักษณะการกลายพันธุ์

ของยีน *MPL* มีหลายรูปแบบ ซึ่งรูปแบบของการกลายพันธุ์ที่มักพบบ่อย ได้แก่ *MPLW515L*, *MPLW515K* และ *MPLW515A* เป็นต้น

การกลายพันธุ์แบบ *MPLW515L* เกิดจากการที่เบส Guanine (G) ตำแหน่งที่ 1544 บน Exon ที่ 10 ถูกแทนที่ด้วยเบส Thymine (T) (1544 G>T) ทำให้ลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Tryptophan (W) เปลี่ยนเป็น Leucine (L)

การกลายพันธุ์แบบ *MPLW515K* เกิดจากการที่ลำดับเบส TG ตำแหน่งที่ 1543 – 44 บน Exon ที่ 10 ถูกแทนที่ด้วยลำดับเบส AA (1543-44 TG>AA) ทำให้ลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Tryptophan (W) เปลี่ยนเป็น Lycine (K)

การกลายพันธุ์แบบ *MPLW515A* เกิดจากการที่ลำดับเบส TG ตำแหน่งที่ 1543-44 บน Exon ที่ 10 ถูกแทนที่ด้วยลำดับเบส GC (1543-44 TG>GC) ทำให้ลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนจาก Tryptophan (W) เปลี่ยนเป็น Alanine (A)

ผลจากการกลายพันธุ์ดังกล่าวข้างต้นก่อให้เกิดการสร้างโปรตีน Thrombopoietin (TPO) receptor ที่มีโครงสร้างและการทำงานที่ผิดปกติ ซึ่งมีผลต่อควบคุมการสร้างเกล็ดเลือดในร่างกาย[13]

## สรุป

แต่ละประเทศจะมีการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2V617F* ยีน *CALR* และยีน *MPL* ในกลุ่มโรคไขกระดูกผลิตเม็ดเลือดมากผิดปกติที่แตกต่างกันสำหรับความชุกและความสัมพันธ์ทางคลินิก ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเกี่ยวกับการกลายพันธุ์ของยีนดังกล่าวนี้ มีสำคัญยิ่งต่อการประยุกต์ใช้เพื่อวางแผนการรักษาและพยากรณ์โรคผู้ป่วยต่อไป[5-12,14-15]

## <u>เอกสารอ้างอิง</u>

(1). อภิชัย ลีละสิริ. ชมรมโรคเอ็มพีเอ็นแห่งประเทศไทย. เอกสารการประชุมเรื่องเม็ดเลือดสูง มฤตยูเงียบ; 23 พฤศจิกายน 2556; โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า. กรุงเทพฯ; 2556.

(2). สุพัตรา กันนิ่ม และ จิรายุ เอื้อวรากุล. การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ใน Myeloproliferative Neoplasms. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. กรุงเทพ; 2553. หน้า 55-60.

(3). นะโม สุขสมยศ. ความชุกและความสัมพันธ์ทางคลินิกของ *JAK2V617F* ในผู้ป่วยกลุ่มโรคไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดมากผิดปกติชาวไทย [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ; จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2554.

(4). Swerdlow SH, Campo E, Haris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. World Health Organization Classification of Tumours: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.

(5). Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of *calreticulin* in myeloproliferative neoplasms. N Engl J Med 2013;369:2379-90.

(6). Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, Barbui T. An overview on *CALR* and *CSF3R* mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. Leukemia 2014;28:1407-13.

(7). Levi N. Calreticulin Mutations in Myeloproliferative Neoplasms. Rambam Maimonides Med J 2014;5(4):e0035. doi:10.5041/RMMJ.10169.

(8). Jung-Sook Ha and Yu-Kyung Kim. *Calreticulin* Exon 9 Mutations in Myeloproliferative Neoplasms. Ann Leb Med 2015;35:22-7.

(9). Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic *CALR* Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with nonmutated *JAK2*. N Engl J Med 2013;369:2391-405.

(10). Bo Hyun Kim, Young-Uk Cho, Mi-Hyu Bae, Seongsoo Jang, Eul-Ju Seo, Hyun-Sook Chi, et al. *JAK2 V6 1 7 F*, *MPL* and *CALR* Mutations in Korean Patients with Essential Thrombocythemia and Primary Myelofibrosis. J Korean Med Sci 2015; 30:882-8.

(11). Nancy Labastida-Mercado, Samantha Galindo-Becerra, Javier Garcés-Eisele, Perla Colunga-Pedraza, Valeria Guzman-Olvera, Virginia Reyes-Nuñez, et al. The mutation profile of *JAK2*, *MPL* and *CALR* in Mexican patients with Philadelphia chromosome-negative Myeloproliferative Neoplasms. Hematol Oncol Stem Cell Ther 2015; 8(1): 16-21.

(12). Htoo Pyei Hlaing, Pichsinee Boonchuay, Dusit Jit-ueakul, Archrob Khuhapinant and Chalermchai Mitrpant. Frequency of *CALR* mutation in *JAK2* non-mutated MPN patients with essential thrombocythemia and primary myelofibrosis. Thai Journal of Genetics 2016; 1: 106-112.

(13). Yana Pikman, Benjamin H. Lee, Thomas Mercher, Elizabeth McDowell et al. *MPLW515L* is a Novel Somatic Activating Mutation in Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia. PLoS Medicine 2006; 3(7): 1140-51.

(14). Yonggoo Kim, Joonhong Park, Irene Jo, Gun Dong Lee et al. Genetic–pathologic characterization of myeloproliferative neoplasms. Experimental & Molecular Medicine (2016) 48, e247; doi:10.1038/emm.2016.55.

(15). Yani Lin, Enbin Liu, Qi Sun et al. The Prevalence of JAK2, MPL, and CALR Mutations in Chinese Patients With BCR-ABL1 –Negative Myeloproliferative Neoplasms. Am J Clin Pathol 2015;144:165-171.