

Przewlekła białaczka eozynofilowa z proliferacją erytroblastyczną i translokacją t(8;9)(p22;p24) oraz genem fuzyjnym *PCM1-JAK2* — nowa jednostka histokliniczna i genetyczna z potencjalnym celem terapeutycznym?

Chronic eosinophilic leukemia with erythroblastic proliferation and the translocation (8;9)(p22;p24) with *PCM1-JAK2* fusion gene — a new clinical, pathological and genetic entity with potential treatment target?

Monika Prochorec-Sobieszek¹, Barbara Nasiłowska-Adamska²,
 Katarzyna Borg¹, Izabella Kopeć³, Kinga Kos-Zakrzewska³,
 Grażyna Nowak¹, Przemysław Juszczynski¹, Krzysztof Warzocha³

¹Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

²Klinika Przeszczepiania Komórek Krwiotwórczych, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

³Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Nowotwory układu krwiotwórczego i chłonnego, powstające w wyniku translokacji t(8;9)(p21-23;p23-24) z zaangażowaniem genów *PCM1* (*pericentriolar material 1*) i genu *JAK2* (*janus-activated kinase 2*), występują bardzo rzadko. Są to zazwyczaj nowotwory mieloproliferacyjne (MPN) lub nowotwory mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne (MDS-MPN) z towarzyszącą eozynofilią i włóknieniem szpiku. Ich przebieg kliniczny jest bardziej agresywny niż innych MPN i MDS-MPN, z tendencją do transformacji w ostrą białaczkę szpikową. Translokacja t(8;9)(p21-23;p23-24) prowadząca do powstania genu fuzyjnego *PCM1-JAK2* powoduje konstytutywną aktywację genu *JAK2*, co kwalifikuje ten gen do ewentualnej terapii celowanej inhibitorami kinaz tyrozynowych u tych chorych. W pracy przedstawiono przypadek chorej na przewlekłą białaczkę eozynofilową nieklasyfikowalną inaczej z towarzyszącą proliferacją erytroblastyczną o nieokreślonym znaczeniu i genem fuzyjnym *PCM1-JAK2* powstałym wskutek translokacji t(8;9)(p22;p24). Występowanie charakterystycznej klonalnej aberracji genetycznej z potencjalnym celem terapeutycznym skłania do wyodrębnienia tej choroby jako oddzielnej jednostki histoklinicznej.

Słowa kluczowe: przewlekła białaczka eozynofilowa, proliferacja erytroblastyczna, t(8;9)(p22;p24), gen fuzyjny *PCM1-JAK2*

Hematologia 2011; 2, 4: 370–377

Abstract

Myeloid and lymphoid neoplasms resulting from t(8;9)(p21-23;p23-24) involving pericentriolar material 1 (PCMI) gene and the janus-activated kinase 2 (JAK2) gene are very rare disorders. Most patients present with myeloproliferative neoplasms (MPN) or myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS-MPN) accompanied by eosinophilia and myelofibrosis. Their clinical course is more aggressive than other MPN and MDS-MPN with tendency to transformation to acute myeloid leukemia. Translocation t(8;9)(p22;p24) with PCMI-JAK2 fusion leads to constitutive activation of JAK2. Such patients might be candidates for target therapies with JAK2 inhibitors. We report a patient with chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified with erythroblastic proliferation of unclear significance and the translocation (8;9) (p22;p24) with PCMI-JAK2 fusion gene. The presence of characteristic genetic aberration with potential therapeutic target tends to separate this disease as a distinct clinical, histopathological and genetic entity.

Key words: chronic eosinophilic leukemia, erythroblastic proliferation, t(8;9)(p22;p24), *PCMI-JAK2* fusion gene

Hematologia 2011; 2, 4: 370–377

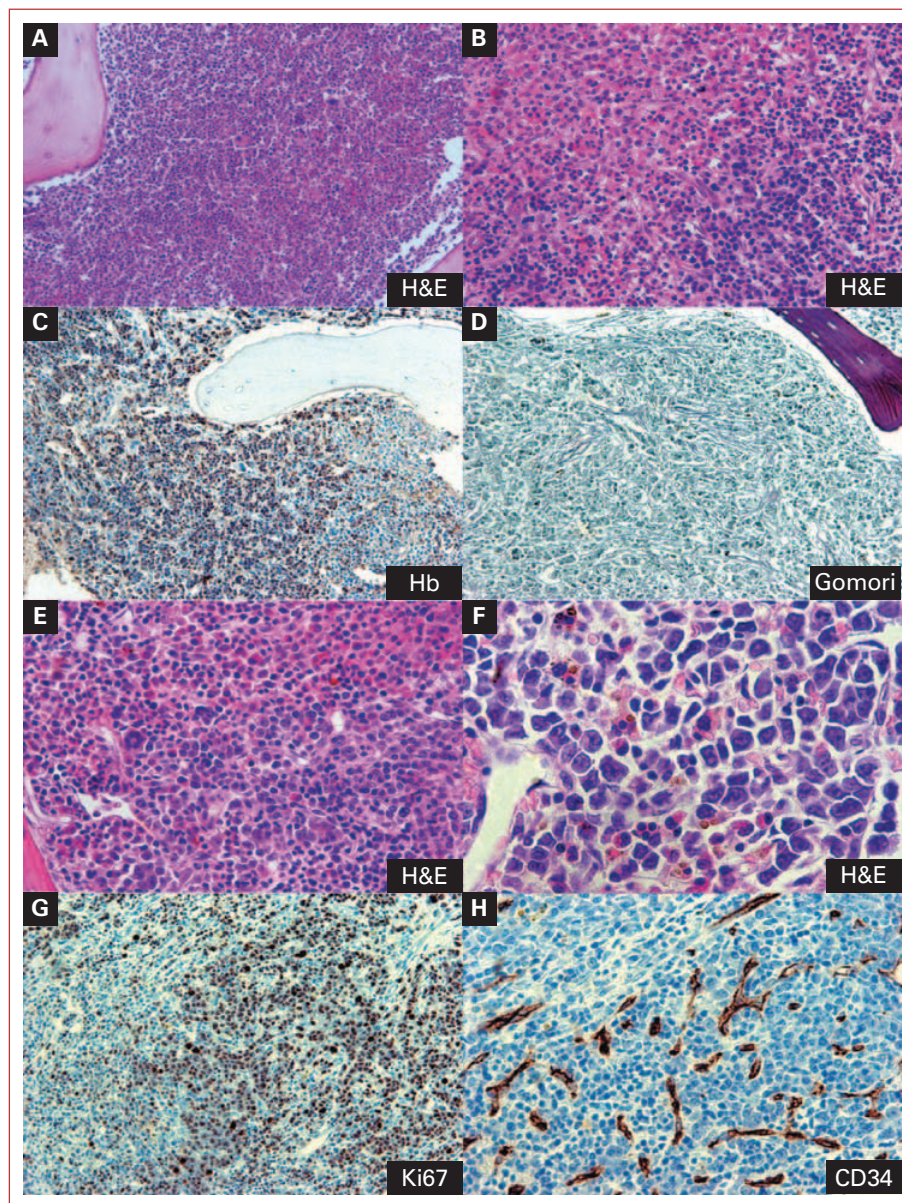
Wprowadzenie

Nowotwory mieloidalne i limfoidalne, powstające w wyniku translokacji t(8;9)(p21-23;p23-24) z miejscami złamań w obrębie genów *PCMI* (*pericentriolar material 1*) i genu *JAK2* (*janus-activated kinase 2*), występują bardzo rzadko. Dotychczas opublikowano opisy zaledwie 18 przypadków z obecnością genu fuzyjnego *PCMI-JAK2* powstałego w wyniku rearanzacji chromosomowej [1–10]. U większości chorych (13 z 18) rozpoznano nowotwory mieloproliferacyjne (MPN, *myeloproliferative neoplasms*) lub mielodysplastyczno-mieloproliferacyjne (MDS-MPN, *myelodysplastic-myeloproliferative neoplasms*), którym towarzyszyła eozynofilia (10 z 13 chorych na MPN lub MDS-MPN) i włóknienie szpiku (8 z 13 chorych na MPN lub MDS-MPN). U 5 chorych zdiagnozowano ostrą białaczkę szpikową (AML, *acute myeloid leukemia*) lub limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*), a u kolejnych 4 wystąpiła transformacja MPN lub MDS-MPN do AML. W 3 przypadkach obserwowano również wyraźny rozrost linii czerwokrwinkowej z transformacją do erytroleukemii u 1 chorego [4, 7, 8]. Tak duża częstość transformacji w ostre białaczki, niespotykana w innych przewlekłych nowotworach mieloproliferacyjnych, świadczy o agresywności choroby.

Opis przypadku

Dwudziestodwuletnia kobieta w 28. tygodniu ciąży została skierowana w grudniu 2008 roku do Instytutu Hematologii i Transfuzjologii z powodu leukocytozy oraz powiększenia śledziony i wątro-

by. Liczba krwinek białych wynosiła $29,9 \times 10^9/l$, w tym promielocyty stanowiły 2%, mielocyty 5%, metamielocyty 5%, pałki 15%, granulocyty obojętne 42%, kwasochłonne 10% ($2,99 \times 10^9/l$), zasadochłonne 1% oraz monocyty 4% i limfocyty 8%. Ponadto stwierdzono umiarkowaną niedokrwistość normocytową (stężenie hemoglobiny [Hb] 10,3 g/dl), retikulocytozę 5,6% i obniżoną liczbę płytek ($125 \times 10^9/l$). W badaniach biochemicznych obserwowano podwyższenie: stężenia bilirubiny — do 1,49 mg/dl, fosfatazy zasadowej — do 225 j.m./l i aktywności dehydrogenazy mleczanowej — do 540,6 j.m./l. Wykluczono hemolizę i nocną napadową hemoglobinurię. W badaniu ultrasonograficznym zaobserwowano powiększoną wątrobę, wystającą spod łuku żeberowego na około 20 mm, i powiększoną śledzionę o długości 220 mm, bez zmian ogniskowych. W rozmazie szpiku stwierdzono zwiększoną liczbę eozynofili i ich prekursorów, bez obecności blastów. W trepanobiopsji szpik był bogatokomórkowy z powodu proliferacji linii granulocytowej ze zwiększonym odsetkiem granulocytów kwasochłonnych i ich prekursorów. Obserwowano niewielkie odmłodzenie linii granulocytowej, bez zaburzeń dojrzewania, zubożała linię czerwokrwinkową i prawidłowe megakariocyty. Wykluczono układową mastocytozę (tryptaza komórek tłuszcznych — ujemna) oraz nacieki chłoniaka (CD20 i CD3-ujemne). W podścielisku występowało niewielkie włóknienie retikulino- w e stopniu 0.–1. według EUMNET (*European Myelofibrosis Network*) (ryc. 1.A) [11]. Ocena kariotypu w komórkach szpiku nie wykazała zmian klonalnych. W badaniach molekularnych krwi obwodowej wykluczono obec-



Rycina 1. Obraz histopatologiczny i immunohistochemiczny szpiku w trepanobiopsji: **A.** Badanie 1. (grudzień 2008 r.) — szpik bogatokomórkowy z cechami proliferacji granulocytów obojętnochłonnych i eozynofili. Barwienie hematoksylina i eozyną (H & E), × 100; **B.** Badanie 3. (marzec 2010 r.) — okołobelczkowe guzki z erytroblastów i nielicznych proerytroblastów. Barwienie H & E, × 200; **C.** Badanie 3. — erytroblasty wykazujące ekspresję hemoglobiny A. Barwienie *EnVision*, × 100; **D.** Badanie 3. — włóknienie retikulino we podścieliska (stopień 2.). Barwienie metodą Gomoriego, × 100; **E.** Badanie 5. (marzec 2011 r.) — w okołobelczkowych skupieniach erytroblastów widoczne komórki blastyczne. Barwienie H & E, × 200; **F.** Badanie 5. — cechy cytologiczne blastycznych komórek linii czerwono krwinkowej. Barwienie H & E, × 200; **G.** Badanie 5. — w guzkowych skupieniach komórek linii czerwono krwinkowej wysoki indeks proliferacyjny (Ki67 w ok. 90% jąder komórkowych). Barwienie *EnVision*, × 100; **H.** Badanie 5. — barwienie z CD34 ujawniające proliferację drobnych naczyń w guzkach. Barwienie *EnVision*, × 200

Figure 1. Bone marrow trephine biopsy — histopathologic and immunohistochemical findings: **A.** The first pathology report (December 2008) — hypercellular bone marrow with granulocytic and eosinophilic proliferation. Hematoxylin & eosin (H & E) stain, × 100; **B.** The third pathology report (March 2010) — peritrabecular nodules of erythroblasts and few proerythroblasts. H & E stain, × 200; **C.** Erythroblasts showing expression hemoglobin A. *EnVision* stain, × 100; **D.** Reticulin fibrosis (grade 2). Gomori stain, × 100; **E.** The fifth pathology report (March 2011) — in nodules composed of erythroblasts some blastic cells are observed; **F.** Cytological blasts features. H & E stain, × 200; **G.** Immunostaining for Ki67 showing high proliferation index (about 90%) in these cells. *EnVision* stain, × 100; **H.** Immunostaining for CD34 showing prominent microvessels hyperplasia in these nodules, *EnVision* stain, × 200

ność genów fuzyjnych *FIPIL1-PDGFR*, *ETV6-PDGFRB*, p210 i p190 *BCR-ABL* oraz mutacji V617F w genie *JAK2*. Zgodnie z kryteriami WHO (*World Health Organization*) z 2008 roku [12] rozpoznano idiopatyczny zespół hipereozynofilowy na podstawie wzrostu liczby granulocytów kwasochłonnych we krwi obwodowej powyżej $1,5 \times 10^9/l$ bez istotnej przyczyny, z towarzyszącymi objawami zajęcia narządów (hepatosplenomegalia), przy braku blastów we krwi obwodowej i szpiku oraz braku nieprawidłowości genetycznych i molekularnych świadczących o klonalności procesu. Ze względu na stabilny obraz morfologii krwi do 35. tygodnia ciąży nie zastosowano leczenia cytoredukcyjnego. Następnie, od 36. tygodnia ciąży, z powodu narastającej leukocytozy ($58,2 \times 10^9/l$) i odsetka granulocytów kwasochłonnych (18%), zastosowano interferon α (IFN α) 3 razy w tygodniu w dawce 3 mln j. Ciążę rozwiązano cięciem cesarskim w 38. tygodniu. Dziecko urodziło się zdrowe.

W okresie połogu chora była nadal leczona IFN α przez 12 tygodni, co umożliwiło utrzymanie leukocytozy poniżej $15 \times 10^9/l$ z odsetkiem granulocytów kwasochłonnych mniejszym niż 10% i zmniejszenie wielkości śledziony do 199 mm. W wykonanej w maju 2009 roku trepanobiopsji obraz histopatologiczny nie zmienił się, z wyjątkiem większego włóknienia retikulinozowego (stopień 1.–2.). Po odstawieniu IFN α , z powodu złej tolerancji leku, obserwowano powolny wzrost leukocytozy (do $15 \times 10^9/l$) i odsetka granulocytów kwasochłonnych (do 20%) oraz postępującą splenomegalię. W związku z tym od listopada 2009 roku zastosowano hydroksymocznik w dawce 500 mg, początkowo co drugi dzień, a od kwietnia 2010 roku — codziennie.

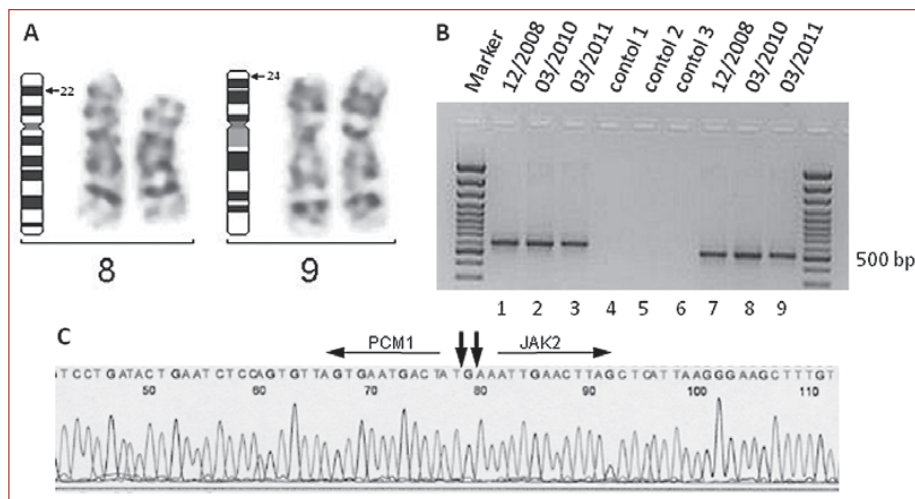
W marcu 2010 roku wykonano kolejne badanie szpiku. Nadal był on bogatokomórkowy z cechami rozrostu z granulocytów i eozynofili oraz ich prekursorów. Ponadto w okolicach okołoboleczkowych pojawiły się duże guzkowe skupienia, składające się głównie z erytroblastów i mniej licznych proerytroblastów (ryc. 1.B). W barwieniach immunohistochemicznych wykazywały one ekspresję HbA i CD71 (ryc. 1.C), przy braku ekspresji CD34, CD117, mieloperoksydazy, tryptazy komórek tucznych, CD25, CD68, CD20, CD3. Obserwowano dalszą progresję włóknienia retikulinozowego (stopień 2.) (ryc. 1.D). Ocena czynników molekularnych we krwi obwodowej ponownie wykluczyła obecność genów *FIPIL1-PDGFR*, p210 i p190 *BCR-ABL* i mutacji V617F *JAK2*.

W ciągu dalszej obserwacji, mimo stosowania hydroksymocznika, u chorej stwierdzono wzrost leukocytozy do $25 \times 10^9/l$ i odsetka granulocytów kwasochłonnych do 15%, powiększenie śledziony

do 240 mm oraz pogłębienie niedokrwistości. W lipcu 2010 roku zastosowano chemioterapię arabinozydem cytozyny (Ara-C) w dawce 100 mg/dobę przez 5 dni i zwiększono dawkę hydroksymocznika do 1000 mg/dobę. Mimo wdrożonego leczenia od września 2010 roku obserwowano istotne pogłębienie niedokrwistości (stężenie Hb 7,1 g/dl) i małopłytkowość. Kolejny kurs Ara-C podano w październiku 2010 roku. W 4. badaniu szpiku wykonanym w tym czasie obraz histopatologiczny nie uległ zmianie w stosunku do poprzedniego badania. Chorą zakwalifikowano do allogenicznego przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) od zgodnej antygenowo siostry, ale z uwagi na ciężą dawkę procedurę odroczone do okresu popołożowego.

W marcu 2011 roku przed transplantacją wykonano ponowną ocenę kariotypu komórek szpiku, w którym stwierdzono izolowaną translokację t(8;9)(p22;p24) w 19 z 20 analizowanych metafaz (ryc. 2.A). Obecność genu chimerowego *PCMI-JAK2*, powstałego w wyniku rearanżacji, potwierdzono metodą RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*) w badanym materiale ze szpiku, jak również we krwi obwodowej pobranej w grudniu 2008 i marcu 2010 roku (ryc. 2.B). Sekwencjonowanie amplikonu wykazało fuzję między eksonem 36 genu *PCMI* i eksonem 9 genu *JAK2* z miejscem złamania w pozycji odpowiednio 6281–6282 par zasad (pz) i 1710–1711 pz w odniesieniu do bazy *Ensembl Genome Browser* (RefSeq NM_006197.3 and NM_004972.3) (ryc. 2C). Ponownie wykonano badania molekularne szpiku, w których nie stwierdzono występowania markerów *FIPIL1-PDGFR*, *BCR-ABL* (p210, p190, p230) i mutacji *JAK2V617F*. Retrospektywna analiza kariotypu w materiale pobranym w 2008 roku nie potwierdziła jednoznacznie (niska rozdzielczość chromosomów) obecności translokacji t(8;9)(p22;p24).

W badaniu krwi obwodowej wykonanym przed allo-HSCT utrzymywały się podwyższona leukocytoza ($12,9 \times 10^9/l$), niedokrwistość (stężenie Hb 10,4 g/dl) i małopłytkowość ($91 \times 10^9/l$). Obserwowano znaczny wzrost odsetka granulocytów kwasochłonnych (37%) i pojawienie się erytroblastów (2%), przy braku mieloblastów. Uzyskano „suchą” biopsję szpiku z powodu znacznego włóknienia podścieliska szpiku. W trepanobiopsji, oprócz niezmiennie utrzymującego się rozrostu z granulocytów i eozynofili, w okołoboleczkowych guzkach zawierających erytroblasty i proerytroblasty zwiększyła się liczba niedojrzałych postaci linii czerwonej (HbA+, CD71+), które nie wykazywały



Rycina 2. Charakterystyka translokacji t(8;9)(p22;p24) i genu *PCM1-JAK2*: **A.** Częściowy kariotyp i ideogram chromosomów uczestniczących w translokacji z miejscami złamań (strzałki) w regionach 8p22 i 9p24; **B.** Transkrypt *PCM1-JAK2* stwierdzony w materiale pobranym w różnych odstępach czasu. Do reakcji wykorzystano startery specyficzne dla sekwencji eksonu 9 genu *JAK2* i dwóch regionów w eksonie 35 genu *PCM1* (pozycje 1.–3. i 7.–9.). Kontrolę stanowiło RNA uzyskane od pacjentów z rozpoznaniem nowotworu mieloproliferacyjnego i prawidłowym kariotypem (pozycje 4.–6.); **C.** Częściowa sekwencja genu chimerowego. Miejsca złamania i sekwencje genów *PCM1* i *JAK2* zaznaczono strzałkami

Figure 2. Characterization of *PCM1-JAK2* fusion in patient with t(8;9)(p22;p24): **A.** Ideogram and partial karyotype of aberrant cell line showing normal and derivative chromosomes 8 and 9 and associated translocation breakpoints 8p22 and 9p24 (arrows); **B.** The *PCM1-JAK2* fusion transcripts in patient samples obtained at different intervals amplified with primers derived from *PCM1* exon 35 (2 various) and *JAK2* exon 9 (lines 1–3, 7–9). Lanes 4–6 show negative controls with RNA from patients with myeloproliferative neoplasm and normal karyotype; **C.** Partial chimeric gene sequence. Arrows indicate the breakpoint and sequence of genes *PCM1* and *JAK2*

ekspresji antygenów komórek blastycznych (CD34–, CD117–) (ryc. 1.D, 1.E). Obserwowano w nich wysoki indeks proliferacyjny (Ki67 w ok. 90% jąder komórkowych) i rozplę drobnych naczyń (CD34+) (ryc. 1.F, 1.G). W podścielisku widoczne było znaczne włóknienie retikulinoe (stopień 3.). Ze względu na występowanie nieprawidłowości genetycznych, świadczących o klonalności procesu od początku choroby, i pojawienie się w szpiku rozrostu z erytroblastów, który nie spełniał kryteriów erytroleukemii, zweryfikowano poprzednie rozpoznanie idiopatycznego zespołu hipereozynofilowego na przewlekłą białaczkę eozynofilową nieklasyfikowalną inaczej (CEL-NOS, *chronic eosinophilic leukemia-not otherwise categorized*) z proliferacją erytroblastyczną o nieokreślonym znaczeniu.

Po kondycjonowaniu mieloablacyjnym busulfanem (Bu) *i.v.* (3,2 mg/kg mc./d. przez 4 dni) i fludarabiną (Flu, 30 mg/m²/d. przez 5 dni) w maju 2011 roku chorej przetoczono 7,2 × 10⁶/kg krwiotwórczych komórek macierzystych krwi obwodowej. W profilaktyce choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD, *graft versus host disease*) zastosowano cyklosporynę A i metotreksat (15 mg/m² *i.v.*

w +1. dniu oraz 10 mg/m² w dniach +3., +6., +11.). W okresie potransplantacyjnym nie obserwowano istotnych powikłań. Regeneracja układu krwiotwórczego przebiegała powoli, prawdopodobnie z powodu znacznego zwłóknienia szpiku przed transplantacją (leukocyty > 1,0 × 10⁹/l w +19. dobie, neutrofile > 0,5 × 10⁹/l w +22. dobie, płytki krwi > 20 × 10⁹/l w +17. dobie, płytki krwi > 50 × 10⁹/l w +42. dobie po allo-HSCT). W +30. i +60. dobie po allo-HSCT w badaniu metodą STR-PCR (*short tandem repeats* PCR) potwierdzono 100-procentowy chimeryzm dawcy. W trepanobiopsji wykonanej w +60. dobie nie obserwowano cech MPN. Szpik wykazywał prawidłową komórkowość, z cechami odnowy linii czerwonej i granulocytowej. Nadal obserwowano niewielkie włóknienie retikulinoe (stopień 1.). W badaniach kariotypu szpiku wykonanych w +60. i +100. dobie stwierdzono prawidłowy kariotyp żeński (46,XY[30]). Przeprowadzono analizę ilościową ekspresji genu *PCM1-JAK2* we wszystkich próbkach materiału pobranego od pacjentki od początku obserwacji. Badanie wykonano z użyciem technologii *TaqMan* i metody względnej oceny ilościowej $\Delta\Delta C_t$ (*relative quantification*)

w odniesieniu do genu kontrolnego *PBGD* (*porphobilinogen deaminase*). Obserwowano wyraźny spadek ilości transkrypty z 102,7543% (2008 r.) do 19,5922% (2010 r.) i 7,5177% (2011 r.) do wartości odpowiednio 0,1712% i 0,0564% *PCMI-JAK2* w aspiratach szpiku pobranych po allo-HSCT. W wykonanej w +100. dobie trepanobiopsji szpiku obecne były cechy dyserytropoezy, które korelowały z pojawieniem się niedokrwistości (stężenie Hb 7,1 g/dl).

Dyskusja

Cytoplazmatyczne kinazy tyrozynowe JAK1-3 odgrywają kluczową rolę w transdukcji sygnałów czynników wzrostu, hormonów i cytokin. Poprzez oddziaływanie z erytropoetyną, receptorami tromboopoetyny i czynnikami stymulującymi tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów oraz zaangażowanie w szlak transdukcji sygnałów JAK-STAT (*signal transducers and activators of transcription*) kinaza JAK2 pełni ważną funkcję w hemopoezie. Konstytutywna aktywacja genu *JAK2* wynikająca z obecności mutacji punktowej, translokacji chromosomowej lub amplifikacji może prowadzić do transformacji nowotworowej w komórkach układu krwiotwórczego [13].

Mutacje punktowe dotyczące V671, zlokalizowanego w eksonie 14 genu *JAK2* i, rzadziej, eksonu 12 genu *JAK2*, odgrywają kluczową rolę patogenezy w MPN BCR-ABL-ujemnych [14, 15]. W nielicznych danych z piśmiennictwa jest mowa o klonalnych translokacjach t(8;9)(p22;p24), t(9;12)(p24;p13) i t(9;11)(p24;q11.2) z zaangażowaniem genu *JAK2* skutkujących powstaniem genów fuzyjnych, odpowiednio: *PCMI-JAK2*, *ETV6-JAK2* i *BCR-JAK2* [1–10, 16, 17]. Mechanizm patogenezy prowadzący do transformacji nowotworowej jest związany z oddziaływaniem sekwencji aktywującej genu-partnera translokacji na przeniesiony w jego pobliżu gen *JAK2*. W obrębie genu *JAK2* mogą występować amplifikacje (np. 9p24) spotykane w pierwotnym chłoniaku śródpiersia z dużych komórek B i chłoniaku Hodgkina [9, 13].

Translokacja t(8;9)(p21-23; p23-24) z powstaniem genu fuzyjnego *PCMI-JAK2* jest rzadko spotykana w chorobach układu krwiotwórczego. Gen *PCMI* zmapowany w regionie 8p22 koduje białko kompleksu centrosomowego zaangażowane w cykl komórkowy poprzez utrzymanie prawidłowej budowy centrosomu oraz właściwe funkcjonowanie wrzeciona kariokinetycznego [18]. Białko PCMI zawiera domeny *coiled-coil* o złożonej strukturze kilku owiniętych wokół siebie α -*helis* umożliwiające oligomeryzację niezbędną do transformacji nowotwo-

rowej. Domeny *coiled-coil* występują w sekwencjach aminokwasowych większości receptorowych i nie-receptorowych kinaz tyrozynowych, przez co odgrywają kluczową rolę w konstytutywnej, niezależnej od ligandu, aktywacji onkogenów [19]. Aktywacja poprzez oligomeryzację została udokumentowana w przypadku wielu onkogenów, między innymi *BCR-ABL* i *PML-RAR* [20]. Translokację t(8;9)(p21-23;p23-24) opisano zarówno w nowotworach MPN (AML, atypowa przewlekła białaczka szpikowa, CEL) i MDS-MPN, jak i w nowotworach układu chłonnego, takich jak ALL z komórek B i T [1–8]. Sugeruje to, że jest to choroba komórek pnia, ponieważ brakuje jej liniowej specyficzności [1]. Tabela 1 zawiera zestawienie danych klinicznych i genetycznych oraz przebiegu klinicznego dotychczas opisanych chorych z genem fuzyjnym *PCMI-JAK2*.

W większości publikacji dotyczących chorych z genem fuzyjnym *PCMI-JAK2* opis obrazów histopatologicznych szpiku był mało precyzyjny. Należy podkreślić, że 3 przypadki opatrzone dokładnym opisem biopsji szpiku charakteryzowały się bardzo podobnymi cechami histopatologicznymi, w tym proliferacją linii granulocytowej ze zwiększoną liczbą eozynofili, włóknieniem podścieliska szpiku i proliferacją linii czerwonych z obecnością komórek niedojrzałych (blastycznych) w nieprawidłowej okołoboleczkowej lokalizacji oraz rozplemieniem drobnych naczyń, podobnie jak u opisywanej chorej [4, 7, 8]. Proliferacja linii czerwonych była nieefektywna, ponieważ chorzy mieli niedokrwistość. Dlatego niektórzy autorzy określali ją jako dysplastyczną i klasyfikowali te przypadki jako MDS-MPN. Proliferacja ta nie spełniała również kryteriów erytroleukemii, ze względu na brak markerów komórek blastycznych (CD34 i CD117) w niedojrzałych komórkach linii erytroidalnej, brak mieloblastów w szpiku i proerytroblastów we krwi obwodowej [12]. Jednak u jednego z opisanych chorych po 10 miesiącach trwania choroby doszło do transformacji w erytroleukemię [7]; dodatkowo opisano jeden przypadek rozpoznanej *de novo* erytroleukemii z tą translokacją [3].

Ze względu na trudności diagnostyczne u opisywanej chorej w ciągu 2,5-roczonej obserwacji wykonano 6 badań szpiku, co pozwoliło na prześledzenie ewolucji tej rzadkiej choroby od CEL, poprzez proliferację erytroblastów i proerytroblastów w nieprawidłowej lokalizacji, do pojawienia się niedojrzałych, blastycznych komórek linii erytroidalnej sugerujących morfologicznie transformację w erytroleukemię. Widoczna była również progresja włóknienia podścieliska szpiku. Interesujące są też obserwacje dotyczące przebiegu klinicznego ze

Tabela 1. Charakterystyka chorych z genem fuzyjnym *PCM1-JAK2*Table 1. Characteristics of patients with *PCM1-JAK2* fusion gene

Badanie	Wiek/płeć	Rozpoznanie	Eozynofilia	Włóknienie szpiku	Cytogenetyka	Miejsca złamań <i>PCM1-JAK2</i>	Przebieg choroby
Reiter i wsp. [1]	54/M	MF → AML	NA	MF-3	t(8;9)(p23;p24)	NA	Intensywna chemioterapia, IFN α — 6 lat, pacjent żyje 15 lat bez leczenia
Reiter i wsp. [1]	47/M	CEL	++	MF-2	t(8;9)(p22;p23)	<i>PCM1</i> ekson 38 — <i>JAK2</i> ekson 7	CR po IFN α , zgon 7,5 roku od rozpoznania
Reiter i wsp. [1]	74/M	Atypowa CML → AML	+	MF-1	t(8;9)(p22;p24)	<i>PCM1</i> ekson 26 — <i>JAK2</i> ekson 7	Bez leczenia, AML po 6 latach, zgon po roku od rozpoznania AML
Reiter i wsp. [1]	50/M	B-ALL	0,3 × 10 ⁹ /l	Brak	t(8;9)(p21;p24)	<i>PCM1</i> ekson 38 — <i>JAK2</i> ekson 9	Indukcja chemioterapii, zgon po 32 dniach
Reiter i wsp. [1]	42/M	Atypowa CML	1,3 × 10 ⁹ /l	MF-1	t(8;9)(p21;p24)	<i>PCM1</i> ekson 38 — <i>JAK2</i> ekson 9	IFN α przez 10 mies., allo-HSCT, CR 2 lata po przeszczepieniu
Reiter i wsp. [1]	72/M	Atypowa CML	NA	NA	t(8;9)(p22;p23) ins(1;1)(p34;p36p34)	<i>PCM1</i> ekson 38 — <i>JAK2</i> ekson 9	HU, zgon po 96 h
Reiter i wsp. [1]	32/M	Atypowa CML → ALL	NA	NA	t(8;9)(p21;p24)	<i>PCM1</i> ekson 28 — <i>JAK2</i> ekson 1	ALL 7 mies. od rozpoznania, allo-HSCT, pacjent żyje 53 mies. po przeszczepieniu
Bousquet i wsp. [2]	46/M	Atypowa CML	Brak	MF	t(8;9)(p22;p24)	<i>PCM1</i> ekson 38 — <i>JAK2</i> ekson 9	HU, allo-HSCT, zgon po roku od rozpoznania
Bousquet i wsp. [2]	44/M	AML M2	9,6 × 10 ⁹ /l	Brak	t(8;9)(p22;p24)	NA	Ara-C + idarubicyna, radioterapia, pacjent żyje, CR
Murati i wsp. [3]	45/M	Atypowy MPN	4,8 × 10 ⁹ /l	Brak	t(8;9)(p22;p24)	NA	HU, IFN α przez rok, imatynib przez 9 mies., pacjent żyje, bez leczenia
Murati i wsp. [3]	12/K	AML M6	Brak	Brak	t(8;9)(p22;p24)	<i>PCM1</i> ekson 24 — <i>JAK2</i> ekson 15	Cisplatyna, etopozyd LAME91, zgon 10 mies. od rozpoznania
Murati i wsp. [3]	43/M	CEL	11,4 × 10 ⁹ /l	NA	t(8;9)(p21;p24)	NA	HU, HU + IFN α , allo-HSCT, pacjent żyje 5 lat po przeszczepieniu
Murati i wsp. [3]	30/M	MDS-MPN	7 × 10 ⁹ /l	NA	t(8;9)(p22;p24) del(12)(p13p13)	<i>PCM1</i> ekson 23 — <i>JAK2</i> ekson 10 Reverse: <i>JAK2</i> ekson 9 — <i>PCM1</i> ekson 25	Splenektomia, HU przez 2 mies., IFN + Ara-C + HU, zgon po 22 mies. od rozpoznania
Heiss i wsp. [4]	61/M	MDS-MPN → AML M6	2,44 × 10 ⁹ /l	MF	t(8;9)(p23;p24)	NA	Transformacja w AML6 po 10 mies.
Adélaide i wsp. [5]		T-ALL	Brak	Brak	t(8;9)(p22;p24)	<i>PCM1</i> ekson 37 — <i>JAK2</i> ekson 9	Intensywna chemioterapia — CR, po 6 latach wznowa, chemioterapia, allo-HSCT — CR 7 mies.
Huang i wsp. [6]	57/M	AML M1	Brak	Brak	t(8;9)(p22;p24)	NA	Cytarabina + idarubicyna — CR, wznowa po 7 mies., fludarabina + cytarabina — zgon po 13 dniach
Dargent i wsp. [7]	31/K	MDS-MPN	2,49 × 10 ⁹ /l	MF-1	t(8;9)(p22;p24)	NA	HU, żyje 30 mies. od rozpoznania
Boveri i wsp. [8]	22/K	CEL	3,36 × 10 ⁹ /l	MF-1	t(8;9)(p22;p23)	NA	HU
Przypadek publikowany w niniejszej pracy		CEL	2,99 × 10 ⁹ /l	MF-3	t(8;9)(p22;p24)	<i>PCM1</i> ekson 36 — <i>JAK2</i> ekson 9	IFN α , HU, HU + Ara-C, allo-HSCT, CR, 100 dni po przeszczepieniu

MF (*myelofibrosis*) — mielofibroza; CEL (*chronic eosinophilic leukemia*) — przewlekła białaczka eozynofilowa; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa; B-ALL, T-ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B i T; CML (*chronic myeloid leukemia*) — przewlekła białaczka szpikowa; MPN (*myeloproliferative neoplasm*) — nowotwór mieloproliferacyjny; MDS-MPN (*myelodysplastic-myeloproliferative neoplasm*) — nowotwór mielodysplastyczno-mieloproliferacyjny; CR — całkowita remisja; IFN α — interferon α ; Ara-C — arabinozyd cytozynny; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych; HU (*hydroxyurea*) — hydroksymocznik; NA (*not available*) — brak danych

słabą odpowiedzią na leczenie IFN α , hydroksymocznikiem i Ara-C oraz jednocześnie osiągnięty sukces terapeutyczny — redukcję poziomu transkryptu genu *PCM1-JAK2* do bardzo niskich wartości po allo-HSCT.

Genetyczna i molekularna procedura diagnostyczna nowotworów mieloidalnych i limfoidalnych z obecnością genu fuzyjnego *PCM1-JAK2* jest procesem złożonym. Ze względu na często występującą w ich przebiegu eozynofilię w pierwszej kolejności w badaniu molekularnym należy wykluczyć rearanżacje genów *PDGFR* i *FGR1*. Następnym etapem jest badanie kariotypu, ale ze względu na niejednokrotnie zbyt niską do identyfikacji translokacji t(8;9)(p22;p24) rozdzielczość prążkową analizowanych chromosomów, co prawdopodobnie miało miejsce w pierwszym badaniu kariotypu u opisywanej chorej, wskazane jest badanie techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridisation*) z sondami specyficznymi dla genów *PCM1* i *JAK2*. Obecnie taka sonda FISH nie jest dostępna komercyjnie, dlatego stosuje się wyznakowane fragmenty DNA uzyskane z wektorów bakteryjnych.

W Pracowni Genetyki Zakładu Diagnostyki Hematologicznej Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w najbliższym czasie planowane jest wdrożenie diagnostyki eozynofilii techniką FISH pod kątem występowania translokacji t(8;9)(p22;p24). Szczegółowa analiza, mająca na celu określenie miejsc złamań w sekwencji genów uczestniczących w translokacji, wymaga zastosowania techniki RT-PCR i sekwencjonowania. Analogicznie do oceny mRNA dla *BCR-ABL* w minimalnej chorobie resztkowej u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową, autorzy pracy monitorowali u opisywanej pacjentki ilość transkryptu *PCM1-JAK2* po przeprowadzeniu allo-HSCT. Na uwagę zasługuje fakt, że badanie remisji molekularnej pod kątem genu *PCM1-JAK2* nie było do tej pory opisywane w innych publikacjach.

Translokacja prowadząca do powstania genu fuzyjnego *PCM1-JAK2* powoduje konstytutywną aktywację kinazy JAK2. Chorzy na MPN z obecnością tego genu fuzyjnego mogą być w przyszłości kandydatami do leczenia celowanego inhibitorami dla tej kinazy [9]. Ze względu na obecność aberracji genetycznej, która może się stać potencjalnym celem terapeutycznym, oraz charakterystycznego obrazu kliniczno-patologicznego, być może, w przyszłości choroba ta zostanie wyodrębniona w klasyfikacji WHO jako nowa jednostka o roboczej nazwie: „nowotwory mieloidalne i limfoidalne z eozynofilią, włóknieniem i *PCM1-JAK2*”.

Piśmiennictwo

1. Reiter A., Walz C., Watmore A. i wsp. The t(8;9)(p22;p24) is a recurrent abnormality in chronic and acute leukemia that fuses *PCM1* to *JAK2*. *Cancer Res.* 2005; 65: 2662–2667.
2. Bousquet M., Quelen C., De Mas V. i wsp. The t(8;9)(p22;p24) translocation in atypical chronic myeloid leukaemia yields a new *PCM1-JAK2* fusion gene. *Oncogene* 2005; 24: 7248–7252.
3. Murati A., Gelsi-Boyer V., Adélaïde J. i wsp. *PCM1-JAK2* fusion in myeloproliferative disorders and acute erythroid leukemia with t(8;9) translocation. *Leukemia* 2005; 19: 1692–1696.
4. Heiss S., Erdel M., Gunsilius E. i wsp. Myelodysplastic/myeloproliferative disease with erythropoietic hyperplasia (erythroid preleukemia) and the unique translocation (8;9)(p23;p24): first description of a case. *Hum. Pathol.* 2005; 36: 1148–1151.
5. Adélaïde J., Pérot C., Gelsi-Boyer V. i wsp. A t(8;9) translocation with *PCM1-JAK2* fusion in a patient with T-cell lymphoma. *Leukemia* 2006; 20: 536–537.
6. Huang K.P., Chase A.J., Cross N.C. i wsp. Evolutional change of karyotype with t(8;9)(p22;p24) and HLA-DR immunophenotype in relapsed acute myeloid leukemia. *Int. J. Hematol.* 2008; 88: 197–201.
7. Dargent J.L., Mathieux V., Vidrequin S. i wsp. Pathology of the bone marrow and spleen in a case of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm associated with t(8;9)(p22;p24) involving *PCM1* and *JAK2* genes. *Eur. J. Haematol.* 2011; 86: 87–90.
8. Boveri E., Croci G., Rumi E. X International Course on Bone Marrow Pathology. European Bone Marrow Working Group. 14–16 kwietnia 2011, Londyn.
9. Hoeller S., Walz C., Reiter A. i wsp. *PCM1-JAK2*-fusion: a potential treatment target in myelodysplastic-myeloproliferative and other hemato-lymphoid neoplasms. *Exp. Opin. Ther. Targets* 2011; 15: 53–62.
10. Bacher U., Reiter A., Haferlach T. i wsp. A combination of cytomorphology, cytogenetic analysis, fluorescence *in situ* hybridization and reverse transcriptase polymerase chain reaction for establishing clonality in cases of persisting hypereosinophilia. *Haematologica* 2006; 91: 817–820.
11. Thiele J., Kvasnicka H.M., Facchetti F. i wsp. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005; 90: 1128–1132.
12. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2008.
13. Smith C.A., Fan G. The saga of *JAK2* mutations and translocations in hematologic disorders: pathogenesis, diagnostic and therapeutic prospects, and revised World Health Organization diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Hum. Pathol.* 2008; 39: 795–810.
14. Saharinen P., Takaluoma K., Silvennoinen O. Regulation of the *Jak2* tyrosine kinase by its pseudokinase domain. *Mol. Cell. Biol.* 2000; 20: 3387–3395.
15. Scott L.M. The *JAK2* exon 12 mutations: A comprehensive review. *Am. J. Hematol.* 2011; 86: 668–676.
16. Andreasson P., Johansson B., Carlsson M. i wsp. *BCR/ABL*-negative chronic myeloid leukemia with *ETV6/ABL* fusion. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 20: 299–304.
17. Ren R. Mechanisms of *BCR-ABL* in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia. *Nat. Rev. Cancer* 2005; 5: 172–183.
18. Dammermann A., Merdes A. Assembly of centrosomal proteins and microtubule organization depends on *PCM-1*. *J. Cell Biol.* 2002; 159: 255–266.
19. Rodrigues G.A., Park M. Oncogenic activation of tyrosine kinases. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1994; 4: 15–24.
20. Grignani F., Gelmetti V., Fanelli M. i wsp. Formation of *PML/RAR* alpha high molecular weight nuclear complexes through the *PML* coiled-coil region is essential for the *PML/RAR* alpha-mediated retinoic acid response. *Oncogene* 1999; 18: 6313–6321.