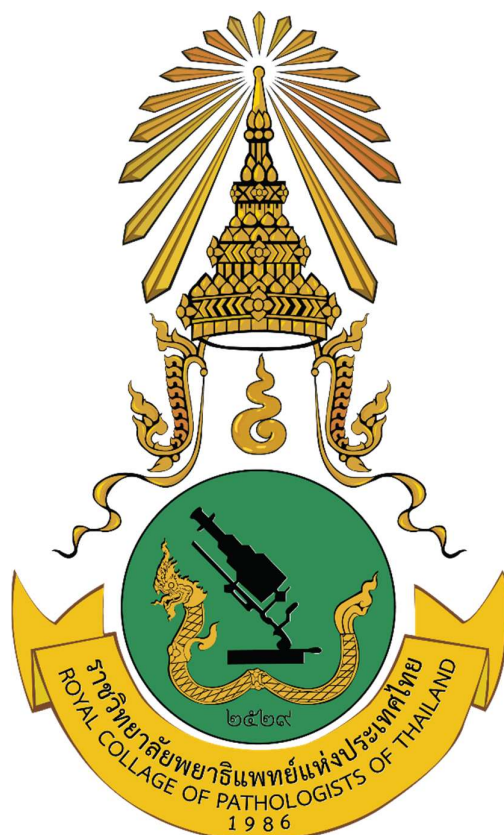


ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

THE OFFICIAL JOURNAL OF THE ROYAL COLLEGE OF PATHOLOGISTS OF THAILAND



Volume 3
Number 2
April – June 2021

INDEX  COPERNICUS
INTERNATIONAL

Print ISSN: 1905-9183
Online ISSN: 2673-0499

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD

Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

Associate Editors

- **Associate Professor Dr Mongkol Kunakorn**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Associate Professor Dr Theerapong Krajaejun**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Thirayost Nimmanon**
MD, FRCPath (Thailand), MRes, PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Wisarn Worasuwanarak**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Dr Anirut Worawat**
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Dr Arnon Jumlongkul**
MD, FRCPath (Thailand)
Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand
- **Dr Panuwat Chutivongse**
MD, FRCPath (Thailand)
Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Editorial Consultant

Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta

MD, FRCPath (Thailand)

Rangsit University, Pathumtani, Thailand

ABOUT THE JOURNAL

Aims and Scope

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access, peer-reviewed journal. The journal was first published in 2002 under the Thai name “วารสารราชวิทยาลัยพยาธิแห่งประเทศไทย” and English name “Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”. The journal is a publication for workers in all disciplines of pathology and forensic medicine. In the first 3 years (volumes), the journal was published every 4 months. Until 2005, the journal has changed its name to be “Asian Archives of Pathology: The Official Journal of the Royal College of Pathologists of Thailand”, published quarterly to expand the collaboration among people in the fields of pathology and forensic medicine in the Asia-Pacific regions and the Western countries.

The full articles of the journal are appeared in either Thai or English. However, the abstracts of all Thai articles are published in both Thai and English languages. The journal features letters to the editor, original articles, review articles, case reports, case illustrations, and technical notes. Diagnostic and research areas covered consist of (1) **Anatomical Pathology** (including cellular pathology, cytopathology, haematopathology, histopathology, immunopathology, and surgical pathology); (2) **Clinical Pathology (Laboratory Medicine)** [including blood banking and transfusion medicine, clinical chemistry (chemical pathology or clinical biochemistry), clinical immunology, clinical microbiology, clinical toxicology, cytogenetics, parasitology, and point-of-care testing]; (3) **Forensic Medicine (Legal Medicine or Medical Jurisprudence)** (including forensic science and forensic pathology); (4) **Molecular Medicine** (including molecular genetics, molecular oncology, and molecular pathology); (5) **Pathobiology**; and (6) **Pathophysiology**.

All issues of our journal have been printed in hard copy since the beginning. Around the late 2014, we developed our website (www.asianarchpath.com) in order to increase our visibility. We would like to acknowledge that our journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

On the other hand, if any authors request a printed copy of the journal issue containing the articles, each of the copied journals costs 450 bahts for Thai authors and 30 United States dollars (USD) for international authors.

Publication Frequency

Four issues per year

Disclaimer

The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board cannot be held responsible for errors or any consequences arising from the use of information contained in Asian Archives of Pathology. It should also be noted that the views and opinions expressed in this journal do not necessarily reflect those of The Royal College of Pathologists of Thailand and Editorial Board.

MANUSCRIPT REVIEWERS

- **Professor Dr Aileen Wee**
MBBS, FRCPath, FRCPA
National University Hospital, Singapore
- **Professor Dr Eiichi Morii**
MD, PhD
Osaka University Hospital, Osaka, Japan
- **Professor Dr Jasvir Khurana**
MBBS, FCAP
Temple University, Lewis Katz School of Medicine, Pennsylvania, The United States of America
- **Professor Dr Paisit Paueksakon**
MD, FRCPath (Thailand), FCAP
Vanderbilt University School of Medicine, Tennessee, The United States of America
- **Professor Dr Nidhi Chongchitnant**
MD, FRCPath (Thailand)
Bangkok Hospital, Bangkok, Thailand
- **Professor Dr Vorachai Sirikulchayanonta**
MD, FRCPath (Thailand)
Rangsit University, Pathumtani, Thailand
- **Professor Dr Oytip Na-thalang**
PhD
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Associate Professor Dr Phaibul Punyarit**
MD, FCAP, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Associate Professor Dr Mongkon Charoenpitakchai**
MD, FRCPath (Thailand)
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Yingluck Visessiri**
MD, FRCPath (Thailand)
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
- **Assistant Professor Dr Pasra Arnutti**
PhD
Phramongkutklao College of Medicine, Bangkok, Thailand

- **Dr Jutatip Kintarak**
MD, FRCPath (Thailand)
Thammasat University Rangsit Campus, Pathumtani, Thailand
- **Dr Kantang Satayasontorn**
MD, FRCPath (Thailand)
Army Institute of Pathology, Bangkok, Thailand
- **Dr Sivinee Charoenthammaraksa**
MD, FRCPath (Thailand)
Bumrungrad International Hospital, Bangkok, Thailand
- **Dr Sorranart Muangsomboon**
MD, FRCPath (Thailand)
Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

CONTENTS

About the journal	i
Aims and scope	i
Publication frequency	i
Disclaimer	ii
Manuscript reviewers	iii
Letter to the Editor	1
▪ Zinc levels in breast cancer tissue	1
Thirayost Nimmanon	
Review Article	5
▪ The <i>JAK2V617F</i> , <i>CALR</i> and <i>MPL</i> gene mutations in	5
myeloproliferative neoplasms	
Dollapak Apipongrat	
Case Report	13
▪ Congenital pulmonary airway malformation of Lung:	13
a report of three cases	
Smita Singh, Kiran Agarwal and Neha Suman	
Appendix 1: Information for authors	21
Categories of manuscripts	21
Organisation of manuscripts	24
Proofreading	30
Revised manuscripts	30
Appendix 2: Benefits of publishing with Asian Archives of Pathology	31
Appendix 3: Submission of the manuscripts	32
Appendix 4: Contact the journal	33
Appendix 5: Support the journal	34

LETTER TO THE EDITOR

ระดับธาตุสังกะสีในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม (Zinc levels in breast cancer tissue)

ธีรยสธ นิมมานนท์

ภาควิชาพยาธิวิทยา ชั้น 6 อาคารเจ้าฟ้าเพชรรัตน วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า
เลขที่ 317 ถนนราชมงคล แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี จังหวัดกรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10400
โทรศัพท์: +66 (0) 89 050 7776 และ +66 (0) 95 175 3052 โทรสาร: +66 (0) 2 354 7791
Email: thirayost@pcm.ac.th, thirayost@pcmpathology.org, thirayost@outlook.com

ส่งต้นฉบับ: วันที่ 1 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564
รับลงตีพิมพ์: วันที่ 8 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564
ตีพิมพ์เผยแพร่: วันที่ 26 เดือนมีนาคม พ.ศ. 2564

มะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งของอวัยวะภายในที่พบได้บ่อยที่สุดในเพศหญิง และเป็นสาเหตุการเสียชีวิตจากมะเร็งอันดับต้น ๆ ทั่วโลก⁽¹⁾ โดยมะเร็งชนิดนี้เป็นมะเร็งที่ได้รับการวินิจฉัยมากที่สุดเช่นเดียวกัน ตามสถิติของสถาบันมะเร็งในปี พ.ศ. 2561⁽²⁾ ด้วยเหตุนี้ มะเร็งเต้านมจึงนับเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญอย่างยิ่งยวดทั้งในระดับประเทศและในระดับโลก โดยมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องให้การวินิจฉัยอย่างรวดเร็ว รักษาอย่างทันที่ และให้การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดที่มีประสิทธิภาพในรายที่โรครออยู่ในระยะลุกลาม

ปัจจุบันมะเร็งเต้านมไม่ได้แบ่งประเภทเพียงแค่ว่าจากลักษณะของเซลล์ที่พบเท่านั้น แต่ยังสามารถแบ่งประเภทโดยลักษณะการแสดงออกตามการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน (Oestrogen receptor) และตัวรับโปรเจสเตอโรน (Progesterone receptor) ที่นิวเคลียส และตัวรับปัจจัยกระตุ้นการเติบโตของเซลล์เปปโตไกว (Human epidermal growth factor receptor, HER2) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการกำหนดแนวทางการรักษาในกรณีที่ต้องให้เคมีบำบัดว่า จะเลือกใช้ยาในกลุ่มใดที่จะเฉพาะเจาะจงต่อผู้ป่วยแต่ละราย ตามหลักการดูแลสุขภาพเฉพาะบุคคล⁽³⁾ โดยรวมถึงการพิจารณาใช้ยารักษาโรคมะเร็งอย่างตรงจุด (Targeted therapy)⁽⁴⁾

อย่างไรก็ตามผู้ป่วยร้อยละ 12 – 20 ไม่มีการแสดงออกของทั้งตัวรับฮอร์โมนและตัวรับปัจจัยกระตุ้นการเติบโตของเซลล์เปปโตไกว เรียกว่า “มะเร็งเต้านมชนิดทริเปิ้ลเนกาทีฟ (Triple negative breast cancer)” ซึ่งเป็นมะเร็งเต้านมชนิดที่รุนแรง มีพยากรณ์โรคที่ไม่ดี และไม่ได้รับประโยชน์จากการรักษาด้วยยาฮอร์โมนหรือยารักษาโรคมะเร็งอย่างตรงจุด⁽⁵⁾ ด้วยเหตุนี้การพัฒนาสำหรับผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงมีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อเพิ่มการอยู่รอดและพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยเหล่านี้

จากการศึกษาพบว่า เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมมีปริมาณของธาตุสังกะสีสูงกว่าเนื้อเยื่อเต้านมปกติประมาณ 2 – 7 เท่า⁽⁶⁻⁹⁾ ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของการแสดงออกของโปรตีนขนส่งธาตุสังกะสีในเซลล์มะเร็งเต้านม

นม⁽¹⁰⁾ โดยการสูญเสียการควบคุมของสมดุลธาตุสังกะสี ส่งผลให้มีปริมาณธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้น และเกิดการกระตุ้นสารที่ส่งเสริมความรุนแรงของชีววิทยาของเซลล์มะเร็งเต้านม รวมถึงการเติบโตที่เพิ่มขึ้น การรุกรานและการกระจายไปยังอวัยวะอื่น ๆ⁽¹¹⁾ การควบคุมปริมาณธาตุสังกะสีในเซลล์มะเร็งเต้านม จึงอาจเป็นกลยุทธ์หลักในการควบคุมการเจริญเติบโตและความรุนแรงของเซลล์มะเร็งเต้านม ซึ่งอาจช่วยทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของยาเคมีบำบัดชนิดอื่น ๆ และเป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วยที่ไม่มียารักษาที่จำเพาะอื่น ๆ ได้ด้วย

ธาตุสังกะสีมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และการกำจัดสารอนุมูลอิสระในร่างกายด้วยเหตุนี้ จึงเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายว่า ธาตุสังกะสีมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมะเร็ง⁽¹²⁾ ซึ่งความเชื่อดังกล่าวได้รับการสนับสนุนด้วยการพบว่า ผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่าง ๆ มีระดับธาตุสังกะสีในซีรัมน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้เป็นมะเร็ง ไม่ว่าจะเป็มะเร็งเต้านม มะเร็งบริเวณศีรษะและคอ มะเร็งปอด มะเร็งทางเดินอาหาร มะเร็งตับ มะเร็งถุงน้ำดี มะเร็งระบบสืบพันธุ์สตรี และมะเร็งต่อมลูกหมาก⁽¹⁰⁾ การตรวจหาปริมาณธาตุสังกะสีในเนื้อเยื่อหรือเซลล์มะเร็งเต้านม ก็พบว่ามะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด และมะเร็งต่อมไทรอยด์ มีปริมาณธาตุสังกะสีน้อยกว่าเนื้อเยื่อที่ไม่ได้เป็นมะเร็ง ซึ่งสอดคล้องกับระดับธาตุสังกะสีในซีรัม⁽¹¹⁾ แต่เป็นที่น่าประหลาดใจว่าเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมกลับมีปริมาณธาตุสังกะสีสูงกว่าเนื้อเยื่อเต้านมปกติ⁽⁶⁾ โดยมีระดับสูงกว่าถึง 7 เท่า เมื่อตรวจด้วยการวัดการคายแสง (Emission spectrophotometry)⁽⁷⁾ 2 เท่า เมื่อตรวจด้วยการวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม (Atomic absorption spectrophotometry)^(8,9) และ 1.5 เท่า เมื่อตรวจด้วยการวัดรังสีเอ็กซ์ฟลูออเรสเซนส์ร่วมกับแสงซินโครตรอน (Synchrotron radiation x-ray fluorescence)⁽¹³⁾

การที่เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมมีปริมาณธาตุสังกะสีในปริมาณที่สูง ถึงแม้ว่าผู้ป่วยมีระดับธาตุสังกะสีในซีรัมต่ำก็ตาม สามารถอธิบายได้โดยการเปลี่ยนแปลงการทำงานของตัวขนส่งธาตุสังกะสี อันได้แก่ โปรตีน ZIP ซึ่งมีหน้าที่เพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเซลล์ ด้วยการนำเข้าสู่ธาตุสังกะสีจากนอกเซลล์ และนำธาตุสังกะสีออกจากเอนโดพลาสมิก เรติคูลัม⁽⁶⁾ โปรตีน ZIP ที่มีความสัมพันธ์กับมะเร็งเต้านมอย่างใกล้ชิด ได้แก่ โปรตีน ZIP6 โปรตีน ZIP10 และโปรตีน ZIP7 โดยโปรตีน ZIP6 กับโปรตีน ZIP10 สัมพันธ์กับการแสดงออกของตัวรับเอสโตรเจนและการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองใกล้เชิงของเซลล์มะเร็งเต้านม⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ และโปรตีน ZIP7 มีความเชื่อมโยงกับมะเร็งเต้านมที่ดื้อต่อยาต้านมะเร็ง⁽¹⁵⁾ และความรุนแรงของมะเร็งกลุ่มนี้⁽¹⁷⁾ โดยระดับของธาตุสังกะสีอิสระที่เพิ่มขึ้นในไซโทซอลจากการทำงานเพิ่มขึ้นของโปรตีน ZIP7 เมื่อถูกกระตุ้นด้วยโปรตีน CK2 ทำให้เกิดการกระตุ้นโปรตีน MAPK โปรตีน PI3K โปรตีน mTOR โปรตีน ERK1/2 และโปรตีน AKT ซึ่งส่งเสริมการเติบโตของเซลล์ และการรุกรานของเซลล์มะเร็งเต้านมในที่สุด^(11,18-21)

การศึกษาวิจัยต่าง ๆ เกี่ยวกับบทบาทของธาตุสังกะสีในพยาธิกำเนิดมะเร็งเต้านมได้แสดงให้เห็นว่า ธาตุสังกะสีในเซลล์ส่งผลให้มีการกระตุ้นโปรตีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับ การเติบโตของมะเร็ง การกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองของมะเร็ง และการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็ง⁽¹¹⁾ ซึ่งล้วนเป็นปัจจัยพยากรณ์โรคสำคัญสำหรับการรอดชีวิตในระยะยาวของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม⁽²²⁾ ด้วยเหตุนี้ การควบคุมปริมาณธาตุสังกะสีในเซลล์มะเร็งเต้านม ด้วยการควบคุมการทำงานของตัวขนส่งธาตุสังกะสีภายในเซลล์ หรือด้วยวิธีอื่น ๆ จึงอาจเป็นกลยุทธ์ที่ดีในการหยุดการเติบโตและรุกรานของเซลล์มะเร็งเต้านม⁽¹⁹⁾ โดยเฉพาะมะเร็งเต้านมชนิดทริปเปิ้ลเนกาทีฟซึ่งดื้อต่อยารักษา⁽⁵⁾ อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลที่จำเพาะเกี่ยวกับปริมาณธาตุสังกะสีในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของสตรีไทย

เอกสารอ้างอิง

- (1). Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018 Nov;68(6):394–424.
- (2). Institute NC. Hospital-Based Cancer Registry 2018. 2019.
- (3). Jeibouei S, Akbari ME, Kalbasi A, Aref A reza, Ajoudanian M, Rezvani A, et al. Personalized medicine in breast cancer: pharmacogenomics approaches. *Pharmgenomics Pers Med.* 2019 May;Volume 12:59–73.
- (4). Masoud V, Pagès G. Targeted therapies in breast cancer: New challenges to fight against resistance. *World J Clin Oncol.* 2017;8(2):120.
- (5). Wahba HA, El-Hadaad HA. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Med.* 2015 Jun;12(2):106–16.
- (6). Taylor KM, Gee JMW, Kille P. Zinc and Cancer. In: Rink L, editor. *Zinc in Human Health, Biomedical and Health Research*, vol 76. Amsterdam: IOS Press; 2011. p. 283–304.
- (7). Mulay IL, Roy R, Knox BE, Suhr NH, Delaney WE. Trace-metal analysis of cancerous and noncancerous human tissues. *J Natl Cancer Inst.* 1971 Jul;47(1):1–13.
- (8). Margalioth EJ, Schenker JG, Chevion M. Copper and zinc levels in normal and malignant tissues. *Cancer.* 1983 Sep 1;52(5):868–72.
- (9). Jin R, Bay B, Tan P, Tan BK. Metallothionein expression and zinc levels in invasive ductal breast carcinoma. *Oncol Rep.* 1999;6(4):871–5.
- (10). Nimmanon T, Taylor KM. Zinc signaling and cancer. In: Fukada T, Kambe T, editors. *Zinc Signals in Cellular Functions and Disorders.* Tokyo: Springer Japan; 2014. p. 285–313.
- (11). Nimmanon T, Taylor KM. Post-translational Mechanisms of Zinc Signalling in Cancer. In: Fukada T, Kambe T, editors. *Zinc Signaling.* 2nd ed. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 319–45.
- (12). Dhawan DK, Chadha VD. Zinc: a promising agent in dietary chemoprevention of cancer. *Indian J Med Res.* 2010 Dec;132(December):676–82.
- (13). Farquharson MJ, Al-Ebraheem A, Geraki K, Leek R, Harris AL. Zinc presence in invasive ductal carcinoma of the breast and its correlation with oestrogen receptor status. *Phys Med Biol.* 2009 Jul 7;54(13):4213–23.
- (14). Taylor KM, Muraina IA, Brethour D, Schmitt-Ulms G, Nimmanon T, Ziliotto S, et al. Zinc transporter ZIP10 forms a heteromer with ZIP6 which regulates embryonic development and cell migration. *Biochem J.* 2016;473(16):2531–44.
- (15). Taylor KM, Morgan HE, Smart K, Zahari NM, Pumford S, Ellis IO, et al. The emerging role of the LIV-1 subfamily of zinc transporters in breast cancer. *Mol Med.* 2007;13(7–8):396–406.
- (16). Kagara N, Tanaka N, Noguchi S, Hirano T. Zinc and its transporter ZIP10 are involved in invasive behavior of breast cancer cells. *Cancer Sci.* 2007 May;98(5):692–7.

- (17). Taylor KM, Vichova P, Jordan N, Hiscox S, Hendley R, Nicholson RI. ZIP7-mediated intracellular zinc transport contributes to aberrant growth factor signaling in antihormone-resistant breast cancer Cells. *Endocrinology*. 2008 Oct;149(10):4912–20.
- (18). Taylor KM, Hiscox S, Nicholson RI, Hogstrand C, Kille P. Protein kinase CK2 triggers cytosolic zinc signaling pathways by phosphorylation of zinc channel ZIP7. *Sci Signal*. 2012 Feb 7;5(210):ra11.
- (19). Nimmanon T, Taylor KM. Cellular zinc signalling is triggered by CK2. In: Ahmed K, Issinger O-G, Szyszka R, editors. *Protein Kinase CK2 Cellular Function in Normal and Disease States*. Switzerland: Springer International Publishing; 2015. p. 141–57.
- (20). Nimmanon T, Taylor KM. Posttranslational Mechanisms of Zinc Signaling. In: *Molecular, Genetic, and Nutritional Aspects of Major and Trace Minerals*. 2016. p. 273–81.
- (21). Nimmanon T, Ziliotto S, Morris S, Flanagan L, Taylor KM. Phosphorylation of zinc channel ZIP7 drives MAPK, PI3K and mTOR growth and proliferation signalling. *Metallomics*. 2017;9(5):471–81.
- (22). Soerjomataram I, Louwman MWJ, Ribot JG, Roukema JA, Coebergh JWW. An overview of prognostic factors for long-term survivors of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Feb 22;107(3):309–30.

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 อภิพงค์รัตน์

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* ในกลุ่มโรคนี้มีความเกี่ยวข้องต่อการรักษาและการพยากรณ์โรคอย่างมาก

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 กลไกการเกิดโรคลักษณะนี้เกิดจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์เม็ดเลือดมากผิดปกติ เนื่องจากมีความผิดปกติของกระบวนการควบคุมการสร้างดังกล่าว ในขณะที่ยังสามารถมีกระบวนการ maturation ได้ ดังนั้นในเลือดของผู้ป่วยจึงพบเซลล์ตัวแก่ (Mature cells) มีจำนวนมากมาย สามารถแบ่งเป็นแบบที่มีฟีลาเดลเฟีย โครโมโซม (Ph+MPN) คือ Chronic myeloid leukaemia (CML) และไม่มีฟีลาเดลเฟียโครโมโซม (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 สำหรับในประเทศไทยพบอุบัติการณ์ของโรคนี้อีกประมาณ 1 – 3 รายต่อประชากรแสนคนต่อปี โดยจำแนกเป็นโรคเลือดชั้น (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* จะอยู่ภายในเซลล์โดยจับอยู่กับตัวรับไซโตไคน์ประเภทที่ 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* จะจับอยู่กับตัวรับไซโตไคน์ประเภทที่ 1 ที่เป็นตัวกลางสำคัญในการส่งสัญญาณภายในเซลล์ กระบวนการส่งสัญญาณผ่านโปรตีน *JAK2* จะเกิดขึ้นหลังจากที่มีการจับกันระหว่างไซโตไคน์และตัวรับ โปรตีน *JAK2* ที่ติดอยู่กับตัวรับนั้นจะเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับตัวเองได้เป็นโปรตีน *JAK2* ในรูปที่กระตุ้นแล้ว (Phosphorylated *JAK2*; p-*JAK2*) ซึ่ง p-*JAK2* จะเติมหมู่ฟอสเฟต ให้กับตัวรับไซโตไคน์ในตำแหน่งจำเพาะเพื่อให้เหมาะกับการจับของโปรตีนชนิดอื่นที่ช่วยในการส่งสัญญาณ เช่น โปรตีน STAT5 (signal transducer and activator of transcription 5) หลังจากโปรตีน STAT5 เข้ามาจับที่ตัวรับไซโตไคน์แล้วจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟต หลังจากนั้นโปรตีน STAT5 ที่ได้รับการเติมหมู่ฟอสเฟตแล้ว (Phosphorylated STAT5; p-STAT5) จะหลุดออกจากตัวรับไซโตไคน์แล้วจับคู่กันเอง (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 ส่วนในผู้ป่วยโรคเกล็ดเลือดมากผิดปกติ (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 ซึ่งเป็นไซโตไคน์ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดแดง 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 ไม่พบว่ามี การกลายพันธุ์ดังกล่าวเลย ผู้ป่วยที่มีการกลายพันธุ์มีประวัติ Bleeding และ MCV น้อยกว่ากลุ่มที่ไม่กลายพันธุ์ ผู้วิจัยไม่พบความแตกต่างทางคลินิกระหว่างผู้ป่วย ET ทั้งสองกลุ่ม ในผู้ป่วย PV พบว่ากลุ่มที่มีการกลายพันธุ์มีระดับฮีโมโกลบินต่ำกว่า และมีจำนวนเกล็ดเลือดสูงกว่ากลุ่มไม่กลายพันธุ์⁽³⁾

อนึ่งข้อกำหนดองค์การอนามัยโลกปี พ.ศ. 2551 (ค.ศ. 2008) ระบุให้การกลายพันธุ์ชนิด *JAK2V617F* เป็นหนึ่งในเกณฑ์สำหรับวินิจฉัยโรคในกลุ่มดังกล่าวรวมกับการกลายพันธุ์ของยีน *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 ซึ่งเป็น การกลายพันธุ์บนโครโมโซมคู่ที่ 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) โดยทำหน้าที่ร่วมกับโปรตีนแคลเนกซิน (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 และพบว่ามี การขาดหายไปของ 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 ได้ทำการศึกษารายการกลายพันธุ์ในผู้ป่วยกลุ่มโรค MPNs จำนวน 151 คน ด้วยเทคนิค Exome sequencing โดยผลการศึกษารายการกลายพันธุ์ของยีน *CALR* ถึง 26 คนในจำนวน 31 คน (ร้อยละ 84) ของผู้ป่วยโรค ET หรือผู้ป่วยโรค PMF แต่ให้ผลการกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* และยีน *MPL* เป็น Negative นอกจากนี้ผู้ป่วยโรค 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 ได้ทำการศึกษาคความถี่และรูปแบบของการเกิดการกลายพันธุ์ของยีน *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 และคณะได้ทำการศึกษาคความถี่ของการกลายพันธุ์ชนิด *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 เพื่อให้เหมาะกับการจับของโปรตีนชนิดอื่นที่ช่วยในการส่งสัญญาณผ่าน *JAK/STAT* pathway⁽¹³⁾

การกลายพันธุ์ของยีน *MPL*

การกลายพันธุ์ของยีน *MPL* เกิดขึ้นบน Exon ที่ 10 ลักษณะการกลายพันธุ์เป็นการแทนที่ลำดับเบสบนสาย DNA (Base substitution) 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 Lysine (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)

เอกสารอ้างอิง

- (1). อภิชัย สิละสิทธิ์. ชมรมโรคเอ็มพีเอ็นแห่งประเทศไทย. เอกสารการประชุมเรื่องเม็ดเลือดสูง มฤตยูเจียบ; 23 พฤศจิกายน 2556; โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า. กรุงเทพฯ; 2556.
- (2). สุพัทธรา กันนิมิ และ จิรายุ เอื้อวรากุล. การกลายพันธุ์ของยีน *JAK2* ใน Myeloproliferative Neoplasms. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. กรุงเทพฯ; 2553. หน้า 55-60.
- (3). นะโม สุขสมยศ. ความชุกและความสัมพันธ์ทางคลินิกของ *JAK2V617F* ในผู้ป่วยกลุ่มโรคไขกระดูกสร้างเม็ดเลือดมากผิดปกติชาวไทย [วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต]. กรุงเทพฯ; จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2554.
- (4). Swerdlow SH, Campo E, Harris 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 V617F*, *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.

CASE REPORT

Congenital pulmonary airway malformation of lung: a report of three cases

Smita Singh, Kiran Agarwal and Neha Suman*

Department of Pathology, Lady Hardinge Medical College, New Delhi, India

* Correspondence to: Dr Neha Suman, Department of Pathology, Lady Hardinge Medical College, Shaheed Bhagat Singh Marg, New Delhi 110001, India. Telephone: +91 (0) 11 2336 3728 Email: drnehasuman@gmail.com

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

Submitted: 12 February 2021

Accepted: 20 February 2021

Published: 26 March 2021

Abstract

Congenital pulmonary airway malformation (CPAM), also known as congenital cystic adenomatoid malformation is a rare congenital anomaly of lung involving the foetal tracheobronchial tree. It is a rare cause of respiratory distress in neonates. The reported incidence of this entity is 1 in 11,000 to 1 in 35,000. Here we present three such cases of CPAM because of its rarity and also to emphasise on the cystic diseases of lung. We also briefly summarise the CPAM subtypes and differential diagnosis of cystic lung diseases of childhood. Correct diagnosis is important for better management and hence better outcome in patients.

Keywords: congenital pulmonary airway malformation; neonate; respiratory distress

Introduction

Congenital pulmonary airway malformation (CPAM), also known as congenital cystic adenomatoid malformation is a rare congenital anomaly of lung, first described by Chin and Tang in 1949⁽¹⁾. The reported incidence of this entity is 1 in 11,000 to 1 in 35,000. The patients commonly present with respiratory distress, recurrent chest infection and haemoptysis⁽²⁾. The exact aetiology is not known but there is evidence suggestive of arrested lung development between 35 and 55 days of gestation⁽³⁾. Here we report 3 interesting cases of CPAM – one case of CPAM Type 1 and two cases of CPAM Type 2 (Stocker's classification), along with a brief summary of CPAM subtypes according to Stocker's classification and differential diagnosis of congenital cystic lung diseases.

Case 1

A one-year-old male baby presented with the chief complaint of respiratory distress in the paediatric emergency. On examination, tachypnoea was present. He had history of recurrent chest infections since birth. Computed tomography (CT) scan of the thorax showed multicystic lesion involving the upper lobe of the right lung. He underwent lobectomy. Grossly, the resected lobe measured 9 x 6 x 2 cm. External surface was light brown, congested and pleura was thinned out. Cut section was spongy in texture and showed multiple cysts, largest measuring 5.5 cm in greatest dimension. Normal lung parenchyma was identified. Microscopy revealed cysts resembling abnormal bronchiole like structures. These cysts were lined by ciliated cuboidal epithelium resting on thin fibromuscular wall (*Figure 1*). Based on gross feature and histology, the final diagnosis of CPAM of the lung (Stocker Type 2) was made. Also, there were features of emphysema and interstitial pneumonitis in the adjacent lung. The post-operative period of the patient was uneventful.

Case 2

A five-month-old male baby presented with respiratory distress. He had significant history of recurrent chest infections since birth. The clinical history revealed that the antenatal ultrasonography of the mother was suggestive of cystic lesion in the left upper lobe of lung of the foetus. The patient underwent CT scan of the chest which revealed cystic lesions involving the upper lobe of the left lung. Left-sided lobectomy was done. The post-operative period was uneventful. Grossly, the lobectomy specimen measured 8.5 x 6.5 x 2 cm. There was presence of single large cyst measuring 7 x 6 cm with wall thickness varying from 0.2 to 0.3 cm. Also, few smaller cysts varying in size from 0.2 to 0.5 cm were noted. Normal lung tissue was identified at the periphery. On microscopic examination, these cysts were lined by pseudostratified ciliated columnar epithelium (*Figure 2*). The diagnosis of CPAM of the lung (Stocker Type 1) was confirmed.

Case 3

A one-day-old male infant presented with respiratory distress since birth. On examination, tachypnoea and diminished breath sounds in the left lower lung field were present. There was history of prolonged labour and the antenatal ultrasonography of the mother was suggestive of cystic lesion in left lung of the foetus. He underwent CT scan of the chest which revealed multicystic lesions involving the lower lobe of left lung. Left-sided lobectomy was done. Gross appearance of the resected lobe showed smooth outer surface covered with pleura. It measured 7 × 6.5 × 1.4 cm. Cut surface showed 3 cysts, largest measuring 5 cm in maximum dimension. Microscopically, variable-sized intercommunicating cysts resembling bronchioles were seen. These cysts were lined by ciliated cuboidal epithelium (Figure 3). Focal areas showed features of emphysema and meconium in adjacent alveoli. The diagnosis of CPAM of the lung (Stocker Type 2) was made. The post-operative period of the patient was uneventful.

Discussion

CPAM is a rare malformation of lung, presenting usually in children within first 2 years of life. Antenatal ultrasound plays a very important role in diagnosis of this congenital anomaly. Approximately one-third of the antenatally diagnosed lesions resolve before birth⁽⁴⁾. The exact aetiology of CPAM is not known, however, few reports describing the probable aetiopathogenesis have been documented. Embryogenic insults occurring between 35 and 55 days of gestation leads to abnormal development of terminal bronchiolar structures of the lung. Many genes are implicated in the development of *lung-thyroid transcription factor* gene (*Nkx2*), *sex-determining region Y-box 2* gene (*Sox2*), *Hox* gene (*Hoxb-5*), *Ying Yang 1* gene (*Yy1*), *fatty acid-binding protein-7* gene (*FABP-7*), *acyl-CoA synthetase 5* gene (*ACSL5*), *platelet-derived growth factor B* gene (*PDGF-B*), *sonic hedgehog* gene (*SHH*), *bone morphogenetic protein 4* gene (*BMP4*), *sprouty 2* gene (*SPRY2*), Wnt signalling pathways, *transforming growth factor beta* gene (*TGF-β*) and *fibroblast growth factors 7, 9 and 10* genes (*FGF7, 9 and 10*). All of these genes have a role in cell proliferation or apoptosis, leading to the various types of malformations classified under the CPAM classification. These genes are involved in cell proliferation or apoptosis during various stages of embryogenesis. Any defect in these genes result in imbalance in cell proliferation and apoptosis leading to malformation of lung^(3,5,6). Bronchography studies in these cases have revealed that bronchial atresia is the primary defect leading to the development of CPAM. The type of malformation is based on abnormal lung growth beyond the atretic segment.

The patients usually present with respiratory distress in approximately 80% of the cases. It is secondary to pulmonary hypoplasia or compression. Recurrent chest infections, pneumothorax and rare instances of haemopneumothorax are also seen. It is usually restricted to one lobe (as observed in our cases), but can involve whole of one lung, or both the lungs.

The most acceptable classification used for diagnosis and treatment was published by Stocker (Table)⁽⁷⁾. In our report, one case was of CPAM type 1 and two cases belonged to Type 2. Antenatal ultrasonography had revealed cystic lung lesion in two cases. All the three cases were males and they presented with respiratory distress.



Figure 1 Cysts lined by ciliated cuboidal epithelium, resembling bronchiole [Haematoxylin and eosin (H&E), x400].

Imaging studies – chest x-ray and CT are helpful in diagnosing the cystic lesions of lung but the confirmatory diagnosis of CPAM is made only by histopathological examination. Bronchopulmonary sequestration (BPS) is a very important differential diagnosis and its exclusion especially in cases of Type 3 CPAM is very crucial. Both Type 3 CPAM and BPS are solid-appearing echogenic masses with well-defined borders. However, BPS has no connection to the tracheobronchial tree. It receives its blood supply from the systemic circulation via an anomalous systemic artery rather than the pulmonary circulation, as in CPAM⁽⁸⁾. Other differential diagnoses to consider are congenital diaphragmatic hernia (CDH), bronchogenic cyst, congenital lobar over-inflation (CLO), primary ciliary dyskinesia (PCD), cystic fibrosis (CF) and Williams-Campbell syndrome (WCS)⁽⁸⁻¹¹⁾. In CDH, the herniated organ is intestine. Bronchogenic cysts are usually isolated lesions originating from the upper airway. There is unilocular thin walled cyst with smooth surface. Microscopically, the cyst wall is lined by

ciliated pseudostratified columnar cells. Hyaline cartilage, seromucinous glands and smooth muscle are seen in the cyst wall. The absence of cartilage in CPAM excludes bronchogenic cyst⁽⁸⁾. Congenital lobar over-inflation (CLO) also known as congenital lobar emphysema shows mild alveolar dilatation without destruction of the alveolar septa⁽¹²⁾. In PCD, there is abnormality in the structure or function of the cilia resulting in mucus accumulation in the lungs. Bronchial dilation is present secondary to mucus accumulation⁽¹³⁾. CF is an autosomal recessive disorder, with primary defect in the function or absence of *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)* gene. There is thick viscous mucus leading to obstruction of exocrine glands and bronchi lumens. Features of bronchiectasis, emphysema and abscess secondary to infections can be seen in CF⁽¹⁴⁾. WCS is a rare congenital syndrome characterised by cystic lung lesions associated with absence of cartilage in the subsegmental bronchi leading to bronchiectasis distal to the affected bronchi. There is bilateral involvement of lungs along with associated anomalies such as congenital cardiac diseases. Microscopic examination reveals absence of cartilage in the bronchial wall⁽¹⁵⁾. Other cystic lesions in lung are cystic teratoma and enteric duplication cyst. Cystic teratoma contains derivatives from all the three germ layers⁽¹¹⁾. Enteric (oesophageal) duplication cyst is lined by stratified squamous or gastrointestinal epithelium and contains smooth muscle layer. These entities may also be considered in the differential.

Early pathological diagnosis is very important in congenital cystic lung diseases to determine the prognosis. Surgical resection – lobectomy or non-anatomical segmentectomy is mostly recommended for management of CPAM. Early surgery may help in adequate growth and expansion of the remaining lung to restore the total lung volume and ensure satisfactory pulmonary function⁽¹⁶⁾.

Conclusion

To summarise, CPAM is a rare congenital malformation of lung presenting with respiratory distress in most of the cases. Proper histopathological examination is crucial for excluding other differential diagnosis and rendering correct diagnosis. The classification of the lesion further helps in management and allows assessing the prognosis of the patients.



Figure 2 Cysts lined by pseudostratified ciliated columnar epithelium. A (H&E, x100); B (H&E, x400)



Figure 3 Cysts lined by ciliated cuboidal epithelium, resembling bronchiole (H&E, x100).

Table Stocker's classification of congenital cystic adenomatoid malformation of lung.

Stocker type	Incidence (%)	Associated congenital anomaly	Origin	Gross feature	Microscopic feature	Prognosis
0	1 – 3	None	Tracheobronchial	Small and firm lungs with diffusely granular surface	Bronchiolar type structure with cartilage, smooth muscle and glands separated by abundant mesenchymal tissue	Incompatible with life
I	50 – 70	11%	Bronchi/bronchiole	Predominantly cystic type (3 – 10 cm) surrounded by smaller cysts confined to one lobe	Cysts lined by pseudostratified ciliated columnar epithelium, fibromuscular wall with occasional cartilage plate	Excellent following resection, Rarely undergoes malignant transformation
II	10 – 15	50%	Bronchiole	Multiple medium sized cysts (0.5 – 2.0 cm) and blend with the adjacent normal parenchyma	Cysts resemble bronchiole-like structure with cuboidal or columnar lining epithelium, thin fibromuscular wall, no mucous cells and cartilage	Good, No malignant potential
III	5 – 10	None	Bronchiolar/alveolar	Large bulky lesion with small cysts (< 0.2 cm), involving an entire lobe or even an entire lung	Irregular, stellate shaped bronchiole-like structures lined by cuboidal epithelium, surrounded by alveolar ductules and saccules that are lined by cuboidal epithelium	Good, No malignant potential
IV	2 – 8	None	Distal acinar	Large cysts, up to 10 cm, involve an entire lobe	Cysts lined by flattened alveolar epithelial lining cells with underlying loose, fibrovascular mesenchymal tissue	Associated with type 1 Pleuropulmonary blastomas

References

- (1). Ch'in KY, Tang MY. Congenital adenomatoid malformation of one lobe of a lung with general anasarca. *Arch Pathol* 1949; 48:221-9.
- (2). Gornall AS, Budd JL, Draper ES, Konje JC, Kurinczuk JJ. Congenital cystic adenomatoid malformation: Accuracy of prenatal diagnosis, prevalence and outcome in a general population. *Prenat Diagn* 2003; 23:997-1002.
- (3). Laberge JM, Flageole H, Pugash D, Khalife S, Blaie S, Filiatraut D, et al. Outcome of the prenatally diagnosed congenital cystic adenomatoid lung malformation: A Canadian experience. *Fetal Diagn Ther* 2001; 16:178-86.
- (4). Davenport M, Warne SA, Cacciaguerra S, Patel S, Greenough A, Nicolaides K. Current outcome of antenatally diagnosed cystic lung disease. *J Pediatr Surg* 2004; 39:549-56.
- (5). Moerman P, Fryns JP, Vandenberghe K, Devlieger H, Lauweryns JM. Pathogenesis of congenital cystic adenomatoid malformation of the lung. *Histopathol* 1992; 21: 315-21.
- (6). David M, Lamas-Pinheiro R, Henriques-Coelho T. Prenatal and Postnatal Management of Congenital Pulmonary Airway Malformation. *Neonatology*. 2016; 110:101-15.
- (7). Stocker JT. Congenital pulmonary airway malformation: A new name and an expanded classification of congenital cystic adenomatoid malformations of the lung. *Histopathol* 2002; 41: 424-31.
- (8). Sfakianaki AK, Copel JA. Congenital cystic lesions of the lung: congenital cystic adenomatoid malformation and bronchopulmonary sequestration. *Rev Obstet Gynecol*. 2012; 5:85-93.
- (9). Durell J, Lakhoo K. Congenital cystic lesions of the lung. *Early Hum Dev*. 2014; 90:935-9.
- (10). Ursini WP, Ponce CC. Congenital pulmonary airway malformation. *Autops Case Rep*. 2018; 8(2):e2018022.
- (11). Barman S, Mandal KC, Kumar R, Biswas SK, Mukhopadhyay M, Mukhopadhyay B. Congenital cystic lesions of lung in the paediatric population: A 5-year single institutional study with review of literature. *Afr J Paediatr Surg* 2015; 12:66-70.
- (12). Cataneo DC, Rodrigues OR, Hasimoto EN, Schmidt AF Jr, Cataneo AJ. Congenital lobar emphysema: 30-year case series in two university hospitals. *J Bras Pneumol*. 2013; 39:418-26.
- (13). Mirra V, Werner C, Santamaria F. Primary ciliary dyskinesia: an update on clinical aspects, genetics, diagnosis, and future treatment strategies. *Front Pediatr*. 2017; 5:135.
- (14). Jain M, Goss CH. Update in cystic fibrosis 2013. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014; 189:1181-6.
- (15). Wayne KS, Taussig LM. Probable familial congenital bronchiectasis due to cartilage deficiency (Williams-Campbell syndrome). *Am Rev Respir Dis*. 1976; 114:15-22.
- (16). Baird R, Puligandla PS, Laberge JM. Congenital lung malformations: informing best practice. *Semin Pediatr Surg*. 2014; 23:270-7.

APPENDIX 1

INFORMATION FOR AUTHORS

All authors listed in a paper submitted to Asian Archives of Pathology (AAP) must have contributed substantially to the work. It is the corresponding author who takes responsibility for obtaining permission from all co-authors for the submission. When submitting the paper, the corresponding author is encouraged to indicate the specific contributions of all authors (the author statement, with signatures from all authors and percentage of each contribution can be accepted). Examples of contributions include: designed research, performed research, contributed vital new reagents or analytical tools, analysed data, and wrote the paper. An author may list more than one type of contribution, and more than one author may have contributed to the same aspect of the work.

Authors should take care to exclude overlap and duplication in papers dealing with related materials. See also paragraph on Redundant or Duplicate Publication in “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” at <http://www.icmje.org/index.html>.

The submitted manuscripts will be reviewed by the members of the Editorial Board or the expert reviewers. At the discretion of the Editorial Board, the manuscripts may be returned immediately without full review, if deemed not competitive or outside the realm of interests of the majority of the readership of the Journal. The decision (reject, invite revision, and accept) letter will be coming from the Editorial Board who has assumed responsibility for the manuscript’s review. The editor’s decision is based not just on technical merit of the work, but also on other factors such as the priority for publication and the relevance to the Journal’s general readership. All papers are judged in relation to other submissions currently under consideration.

Categories of Manuscripts

1. Letters to the Editor

The letters to the editor are the reactions to any papers published in AAP. These letters will be reviewed by the Editorial Board and sent to the authors of the original paper with an invitation to respond. Letters and eventual responses will be published together, when appropriate.

- *Word Count: 300 – 500 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figure or Table: Maximum of 1 (if needed)*

2. Original Articles

The original articles are the researches describing the novel understanding of anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. Systematic reviews, meta-analyses and clinical trials are classified as articles. The articles should be clearly and concisely written in the well-organised form (see *Organisation of Manuscripts*): abstract; introduction; materials and methods; results; discussion; and conclusions. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two or more experts in the field.

- *Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Structured Abstract (see Organisation of Manuscripts): 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 150*
- *Figures or Tables: Maximum of 6*

3. Review Articles

The review articles are generally invited by the Editor-in-Chief. They should focus on a topic of broad scientific interest and on recent advances. These articles are peer-reviewed before the final decision to accept or reject the manuscript for publication. Therefore, revisions may be required.

- *Word Count: 3,000 – 5,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Unstructured Abstract: 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 150*
- *Figures or Tables: Maximum of 4*

4. Case Reports

AAP limits publication of case reports to those that are truly novel, unexpected or unusual, provide new information about anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine) or forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence). In addition, they must have educational value for the aforementioned fields. The journal will not consider case reports describing preventive or therapeutic interventions, as these generally require stronger evidence. Case reports that involve a substantial literature review should be submitted as a review article. The submitted case reports will undergo the usual peer-reviewed process.

- *Word Count: 1,200 – 2,000 words (excluding abstract, references, and figure or table legends)*
- *Unstructured Abstract: 150 – 200 words*
- *References: Maximum of 20*
- *Figures or Tables: Maximum of 4*

5. Case Illustrations

Case illustrations are aimed to provide education to readers through multidisciplinary clinicopathological discussions of interesting cases. The manuscript consists of a clinical presentation or description, laboratory investigations, discussion, final diagnosis, and up to 5 take-home messages (learning points). Regarding continuous learning through self-assessment, each of the case illustrations will contain 3 – 5 multiple choice questions (MCQs) with 4 – 5 suggested answers for each question. These MCQs are placed after the final diagnosis and the correct answers should be revealed after the references. The questions and take-home messages (learning points) are included in the total word count. The manuscripts that have passed an initial screening by the Editorial Board will be reviewed by two experts in the field.

- *Word Count: 1,000 – 2,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 10*
- *Figures: Maximum of 2*
- *Tables: Maximum of 5*

6. Technical Notes

The technical notes are brief descriptions of scientific techniques used in the anatomical pathology, clinical pathology (laboratory medicine), forensic medicine (legal medicine or medical jurisprudence), molecular medicine or pathobiology. The submitted manuscripts are usually peer-reviewed.

- *Word Count: Maximum of 1,000 words (excluding references and figure or table legends)*
- *Abstract: Not required*
- *References: Maximum of 5*
- *Figures or Tables: Maximum of 2*

Organisation of Manuscripts

1. General Format

The manuscripts written in English language are preferable. However, Thai papers are also acceptable, but their title pages, abstracts, and keywords must contain both Thai and English. These English and Thai manuscripts are prepared in A4-sized Microsoft Word documents with leaving 2.54-cm (1-inch) margins on all sides. All documents are required to be aligned left and double-spaced throughout the entire manuscript. The text should be typed in 12-point regular Times New Roman font for English manuscript and 16-point regular TH SarabunPSK font for Thai manuscript.

The running titles of English and Thai manuscripts are placed in the top left-hand corner of each page. They cannot exceed 50 characters, including spaces between words and punctuation. For the header of English paper, the running title will be typed in all capital letters. The page number goes on the top right-hand corner.

Footnotes are not used in the manuscripts, but parenthetical statements within text are applied instead and sparingly. Abbreviations should be defined at first mention and thereafter used consistently throughout the article. The standard abbreviations for units of measure must be used in conjunction with numbers.

All studies that involve human subjects should not mention subjects' identifying information (e.g. initials) unless the information is essential for scientific purposes and the patients (or parents or guardians) give written informed consent for publication.

2. Title Page

The title page is the first page of the manuscripts and must contain the following:

- The title of the paper (not more than 150 characters, including spaces between words)
- The full names, institutional addresses, and email addresses for all authors (If authors regard it as essential to indicate that two or more co-authors are equal in status, they may be identified by an asterisk symbol with the caption "These authors contributed equally to this work" immediately under the address list.)
- The name, surname, full postal address, telephone number, facsimile number, and email address of the corresponding author who will take primary responsibility for communication with AAP.
- Conflict of interest statement (If there are no conflicts of interest for any author, the following statement should be inserted: "The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.")

3. Abstract

A structured form of abstract is used in all Original Article manuscripts and must include the following separate sections:

- *Background: The main context of the study*
- *Objective: The main purpose of the study*
- *Materials and Methods: How the study was performed*
- *Results: The main findings*
- *Conclusions: Brief summary and potential implications*
- *Keywords: 3 – 5 words or phrases (listed in alphabetical order) representing the main content of the article*

4. Introduction

The Introduction section should clearly explain the background to the study, its aims, a summary of the existing literature and why this study was necessary or its contribution to the field.

5. Materials and Methods

The Materials and Methods section must be described in sufficient detail to allow the experiments or data collection to be reproduced by others. Common routine methods that have been published in detail elsewhere should not be described in detail. They need only be described in outline with an appropriate reference to a full description. Authors should provide the names of the manufacturers and their locations for any specifically named medical equipment and instruments, and all chemicals and drugs should be identified by their systematic and pharmaceutical names, and by their trivial and trade names if relevant, respectively. Calculations and the statistical methods employed must be described in this section.

All studies involving animal or human subjects must abide by the rules of the appropriate Internal Review Board and the tenets of the recently revised Helsinki protocol. Hence, the manuscripts must include the name of the ethics committee that approved the study and the committee's reference number if appropriate.

6. Results

The Results section should concisely describe the findings of the study including, if appropriate, results of statistical analysis which must be presented either in the text or as tables and figures. It should follow a logical sequence. However, the description of results should not simply repeat the data that appear in tables and figures and, likewise, the same data should not be displayed in both tables and figures. Any chemical equations, structural

formulas or mathematical equations should be placed between successive lines of text. The authors do not discuss the results or draw any conclusions in this section.

7. Discussion

The Discussion section should focus on the interpretation and the significance of the findings against the background of existing knowledge. The discussion should not repeat information in the results. The authors will clearly identify any aspects that are novel. In addition, there is the relation between the results and other work in the area.

8. Conclusion

The Conclusion section should state clearly the main summaries and provide an explanation of the importance and relevance of the study reported. The author will also describe some indication of the direction future research should take.

9. Acknowledgements

The Acknowledgements section should be any brief notes of thanks to the following:

- *Funding sources*
- *A person who provided purely technical help or writing assistance*
- *A department chair who provided only general support*
- *Sources of material (e.g. novel drugs) not available commercially*

Thanks to anonymous reviewers are not allowed. If you do not have anyone to acknowledge, please write “Not applicable” in this section.

10. References

The Vancouver system of referencing should be used in the manuscripts. References should be cited numerically in the order they appear in the text. The authors should identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses or as superscripts. Please give names of all authors and editors. The references should be numbered and listed in order of appearance in the text. The names of all authors are cited when there are six or fewer. When there are seven or more, only the first three followed by “et al.” should be given. The names of journals should be abbreviated in the style used in Index Medicus (see examples below). Reference to unpublished data and personal communications should not appear in the list but should be cited in the text only (e.g. A Smith, unpubl. Data, 2000).

- *Journal article*
 1. Sibai BM. Magnesium sulfate is the ideal anticonvulsant in preeclampsia – eclampsia. Am J Obstet Gynecol 1990; 162: 1141 – 5.

- *Books*
 2. Remington JS, Swartz MN. Current Topics in Infectious Diseases, Vol 21. Boston: Blackwell Science Publication, 2001.
- *Chapter in a book*
 3. Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Bloom SL, Wenstrom KD. Hypertensive disorders in pregnancy. In: Cunningham FG, Hauth JC, Leveno KJ, Gilstrap L III, Brom SL, Wenstrom KD, eds. Williams Obstetrics, 22nd ed. New York: McGraw-Hill, 2005: 761 – 808.

11. Tables

The tables should be self-contained and complement, but without duplication, information contained in the text. They should be numbered consecutively in Arabic numerals (Table 1, Table 2, etc.). Each table should be presented on a separate page with a comprehensive but concise legend above the table. The tables should be double-spaced and vertical lines should not be used to separate the columns. The column headings should be brief, with units of measurement in parentheses. All abbreviations should be defined in footnotes. The tables and their legends and footnotes should be understandable without reference to the text. The authors should ensure that the data in the tables are consistent with those cited in the relevant places in the text, totals add up correctly, and percentages have been calculated correctly.

12. Figure Legends

The legends should be self-explanatory and typed on a separate page titled “Figure Legends”. They should incorporate definitions of any symbols used and all abbreviations and units of measurement should be explained so that the figures and their legends are understandable without reference to the text.

If the tables or figures have been published before, the authors must obtain written permission to reproduce the materials in both print and electronic formats from the copyright owner and submit them with the manuscripts. These also follow for quotes, illustrations, and other materials taken from previously published works not in the public domain. The original resources should be cited in the figure captions or table footnotes.

13. Figures

All illustrations (line drawings and photographs) are classified as figures. The figures should be numbered consecutively in Arabic numerals (Figure 1, Figure 2, etc.). They are submitted electronically along with the manuscripts. These figures should be referred to specifically in the text of the papers but should not be embedded within the text. The following information must be stated to each microscopic image: staining method,

magnification (especially for electron micrograph), and numerical aperture of the objective lens. The authors are encouraged to use digital images (at least 300 d.p.i.) in .jpg or .tif formats. The use of three-dimensional histograms is strongly discouraged when the addition of these histograms gives no extra information.

14. Components

14.1. Letters to the Editor

The Letter to the Editor manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Main Text*
- *References*
- *Table (if needed)*
- *Figure Legend (if needed)*
- *Figure (if needed)*

14.2. Original Articles

The Original Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Structured Abstract*
- *Introduction*
- *Materials and Methods*
- *Results*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.3. Review Articles

The Review Article manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Main Text*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*

- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.4. Case Reports

The Case Report manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Unstructured Abstract*
- *Introduction*
- *Case Description*
- *Discussion*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.5. Case Illustrations

The Case Illustration manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Clinical Presentation or Description*
- *Laboratory Investigations*
- *Discussion*
- *Final Diagnosis*
- *Multiple Choice Questions (MCQs)*
- *Take-Home Messages (Learning Points)*
- *Acknowledgements*
- *References*
- *Correct Answers to MCQs*
- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

14.6. Technical Notes

The Technical Note manuscripts consist of the following order:

- *Title Page*
- *Introduction*
- *Main text*
- *Conclusions*
- *Acknowledgements*
- *References*

- *Table (s)*
- *Figure Legend (s)*
- *Figure (s)*

Proofreading

The authors of the accepted manuscripts will receive proofs and are responsible for proofreading and checking the entire article, including tables, figures, and references. These authors should correct only typesetting errors at this stage and may be charged for extensive alterations. Page proofs must be returned within 48 hours to avoid delays in publication.

Revised Manuscripts

In many cases, the authors will be invited to make revisions to their manuscripts. The revised manuscripts must generally be received by the Editorial Board within 3 months of the date on the decision letter or they will be considered a new submission. An extension can sometimes be negotiated with the Editorial Board.

APPENDIX 2

BENEFITS OF PUBLISHING WITH ASIAN ARCHIVES OF PATHOLOGY

Asian Archives of Pathology (AAP) is an open access journal. Open Access makes your works freely available to everyone in the world. It provides a significant boost to the readership of your articles, and has been shown to have an increase in positive influence on citations and reuse. Hence, open-access leads to more recognition for our esteemed authors.

The journal has been sponsored by the Royal College of Pathologists of Thailand. We have the policy to disseminate the verified scientific knowledge to the public on a non-profit basis. Hence, we have not charged the authors whose manuscripts have been submitted or accepted for publication in our journal.

Since AAP is also a peer-reviewed journal, the submitted manuscripts will be reviewed by the members of the Editorial Board or the expert reviewers. The decision on these manuscripts is processed very fast without any delay and in shortest possible time. The processing period is 1 – 2 weeks. These decisions of the reviewers are unbiased and the decision (reject, invite revision, and accept) letter coming from the Editorial Board is always conveyed to the authors.

APPENDIX 3

SUBMISSION OF THE MANUSCRIPTS

- Step 1:** Access www.asianarchpath.com
- Step 2:** If you did not register before, please create an account first.
- Step 3:** Login with your username and password.
- Step 4:** Click the “+ New Submission” button on the upper right-hand side of the page.
- Step 5:** Proceed to fill up the Submission Form online and follow the directions given therein.
- Step 6:** Upload your manuscript file (s).
- Step 7:** Re-check the content of your manuscript (s) and the uploaded file (s) more carefully prior to the submission. If you have submitted your manuscript file (s) incorrectly, you must contact Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology immediately. The Editor-in-Chief can clear the incorrect attempt and allow you another submission.
- Step 8:** Click the “Submit Manuscript” button under Important Notice.

If you have any further enquiries, please do not hesitate to contact the Journal.

APPENDIX 4 CONTACT THE JOURNAL

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building
Phramongkutklo College of Medicine
317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

APPENDIX 5

SUPPORT THE JOURNAL

Asian Archives of Pathology (AAP) has a mission of disseminating the unbiased and reliable medical knowledge on a non-profit basis. If you consider that this journal is useful for the public, you can support us by submitting your advertisements via the contact information below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building

Phramongkutkloa College of Medicine

317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

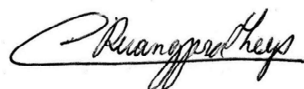
Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

Every support, small or big, can make a difference.

Thank you



Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

MD, FRCPath (Thailand), MSc, PhD

Editor-in-Chief of Asian Archives of Pathology

ACADEMIC MEETINGS AND CONFERENCES

Announcements of academic meetings and conferences that are of interest to the readers of Asian Archives of Pathology (AAP) should be sent to the Editor-in-Chief at least 3 months before the first day of the month of issue. The contact information is shown below.

Assistant Professor Dr Chetana Ruangpratheep

The Editorial Office of Asian Archives of Pathology

Department of Pathology, Floor 6, Her Royal Highness Princess Bejaratana Building

Phramongkutklao College of Medicine

317 Rajavithi Road, Rajadevi, Bangkok 10400 Thailand

Telephone: +66 (0) 90 132 2047

Fax: +66 (0) 2 354 7791

Email: editor@asianarchpath.com

WHAT IS INSIDE THIS ISSUE?

Letter to the Editor:

Zinc levels in breast cancer tissue	1
Thirayost Nimmanon	

Review Article:

The <i>JAK2V617F</i> , <i>CALR</i> and <i>MPL</i> gene mutations in	5
myeloproliferative neoplasms	
Dollapak Apipongrat	

Case Report:

Congenital pulmonary airway malformation of Lung:	13
a report of three cases	
Smita Singh, Kiran Agarwal and Neha Suman	