

Wykorzystanie metod cytogenetycznych i molekularnych w ocenie statusu genetycznego oraz przebieg leczenia u pacjenta z rzadką dziecięcą postacią ALL *BCR-ABL1-like* spowodowaną translokacją t(9;10)(q34;q22)

Article history:
Received: 06.08.2019
Accepted: 28.10.2019

The use of cytogenetic and molecular methods in the assessment of genetic status and the course of treatment in a patient with rare childhood form of *BCR-ABL1-like* ALL due to the translocation t(9;10)(q34;q22)

Streszczenie

Badania cytogenetyczne są niezbędne w ocenie czynników rokowniczych w ostrej białaczce limfoblastycznej (ALL) u dzieci. Głównymi niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi są: translokacja t(9;22) prowadząca do fuzji genów *BCR-ABL1* oraz translokacje chromosomu 11 w prążku 11q23, warunkujące rearanżację genu *KMT2A*. Gen *ABL1* może tworzyć fuzję z kilkoma innymi genami, prowadząc do profilu ekspresji zbliżonego do obserwowanego w Ph(+) ALL. Przypadki ALL z takimi fuzjami genetycznymi zostały zakwalifikowane do nowego podtypu określanego jako *BCR-ABL1-like*. W pracy przedstawiamy rolę badań cytogenetycznych i molekularnych w terapii 14-miesięcznego chłopca z rozpoznaniem common ALL. Podczas diagnostyki ALL za pomocą badania FISH wykluczono fuzję genów *BCR-ABL1* i rearanżację genu *KMT2A*. Stwierdzono natomiast obecność trzech i czterech sygnałów genu *ABL1*. Analiza kariotypu i dodatkowo wykonane badania FISH pozwoliły ustalić kariotyp pacjenta jako nieprawidłowy, złożony z ewolucją klonalną. Zaobserwowane punkty pęknięć wskazywały na możliwość zaangażowania w fuzję genu *ZMIZ1*. Obecność genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1* została stwierdzona metodą multiplex PCR i potwierdzona sekwencjonowaniem metodą Sanger. Gen fuzyjny *ZMIZ1-ABL1* może kodować aktywowaną konstytutywnie formę kinazy tyrozynowej, dlatego stanowi on potencjalny cel działania leków będących inhibitorami tych enzymów. Z uwagi na nieliczne odnotowane przypadki fuzji genów *ZMIZ1-ABL1* istnieje konieczność przyglądania się z uwagą efektem leczenia u pacjentów obciążonych tą translokacją. Nasz manuskrypt przedstawia przypadek *ZMIZ1-ABL1* pozytywnego ALL, zarówno opracowanie diagnostyczne, jak i dane kliniczne pacjenta.

Abstract

Cytogenetic tests are necessary for the assessment of prognosis in pediatric acute lymphoblastic leukemia. The main unfavorable prognostic factors are: t(9;22) translocation leading to *BCR-ABL1* gene fusion and chromosome 11 translocations at breakpoint 11q23, which determine the rearrangement of the *KMT2A* gene. The *ABL1* gene can form a fusion with several other genes leading to expression profile similar to that observed in Ph(+) ALL. ALL cases with such genetic fusion have been classified as new subtype referred to as *BCR-ABL1-like*. We present the role of cytogenetic and molecular investigations in the treatment of a 14-month-old boy diagnosed with common ALL. Using the FISH test, the *BCR-ABL1* gene fusion and *KMT2A* gene rearrangement were ruled out. On the other hand, three and four signals of the *ABL1* gene were found. The analysis of karyotype and additional FISH tests enabled us to identify an abnormal, complex karyotype with clonal evolution. The observed breakpoints indicated the possibility of involvement of *ZMIZ1* gene in this fusion. The presence of the *ZMIZ1-ABL1* fusion gene was confirmed by the multiplex PCR method and Sanger's sequencing. The *ZMIZ1-ABL1* fusion gene can encode a constitutive tyrosine kinase activity, hence it is a potential target point for the activity of drugs that inhibit these enzymes. Because of few reported cases of *ZMIZ1-ABL1* genes fusion, it is particularly important to follow patients affected with this translocation. Our manuscript presents clinical case of *ZMIZ1-ABL1* positive ALL, together with the diagnostic work-up and clinical data of the patient treated.

© 2019 Polish Society of Hematology and Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine. Published by Sciendo. All rights reserved.

Słowa kluczowe:

dziecięca ALL, *BCR-ABL1-like*, cytogenetyka, *ZMIZ1-ABL1*

Keywords:

childhood ALL, *BCR-ABL1-like*, cytogenetics, *ZMIZ1-ABL1*

Anna Kulikowska¹,
Anna Pastwińska^{2*},
Agnieszka Stefaniak¹,
Karolina Karabin³,
Katarzyna Pawelec⁴,
Borys Styka⁵,
Marta Libura³,
Monika Lejman⁶,
Elżbieta Chmarzyńska-Mróż¹

¹ Pracownia Cytogenetyki, Uniwersyteckie Centrum Patomorfologii, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa, Polska

² Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

³ Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

⁴ Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa, Polska

⁵ Dział Diagnostyki Genetycznej, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Lublinie, Lublin, Polska

⁶ Pracownia Diagnostyki Genetycznej II Katedry Pediatrii, Klinika Hematologii, Onkologii i Transplantologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin, Polska

* Corresponding author: Anna Pastwińska, Katedra i Zakład Patomorfologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Pawińskiego 7, 02-106 Warszawa, Polska, tel. +48 22 317 99 70, fax. +48 22 317 99 60, e-mail: apastwinska@gmail.com

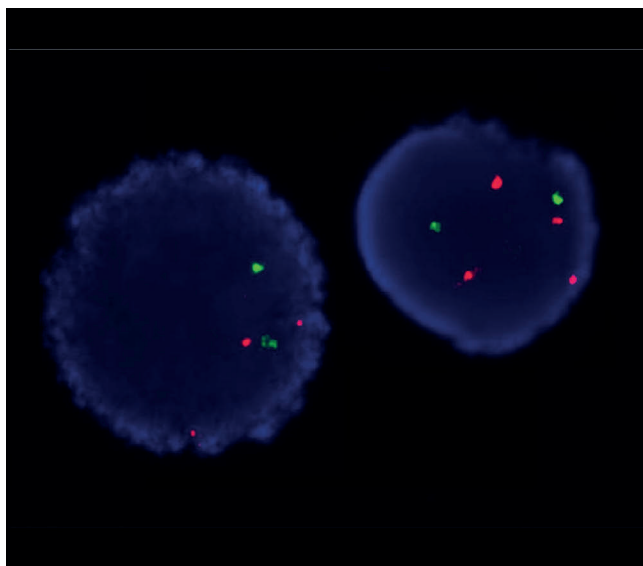
WSTĘP

Badania cytogenetyczne są niezbędne w ocenie czynników rokowniczych w ostrej białaczce limfoblastycznej (*acute lymphoblastic leukemia* – ALL) u dzieci. Do niekorzystnych czynników rokowniczych w ALL u dzieci zalicza się: translokację t(9;22) prowadzącą do fuzji genów *BCR-ABL1*, translokację chromosomu 11 w prążku 11q23, warunkującą rearanżację genu *KMT2A* oraz hipodiploidię [1, 2]. Gen *ABL1* może tworzyć fuzję z innymi genami partnerskimi, prowadząc do profilu ekspresji zbliżonego do obserwowanego w ALL *BCR-ABL1*-pozytywnej. Przypadki ALL z takimi fuzjami genowymi zostały zakwalifikowane do nowego podtypu, określanego jako *BCR-ABL1-like* [3, 4]. W naszej pracy przedstawiamy diagnostykę i leczenie 14-miesięcznego chłopca, u którego stwierdzono ALL *BCR-ABL1-like*.

OPIS PRZYPADKU I WYNIKI BADAŃ

Chłopiec został przekazany w styczniu 2017 r. do Katedry i Kliniki Pediatrii, Hematologii i Onkologii WUM z powodu podejrzenia choroby rozrostowej, wysuniętego na podstawie obecności 3% blastów we krwi obwodowej, leukopenii, neutropenii oraz niedokrwistości. Dziecko gorączkowało do 40°C przez 4 dni, bez uchwytanych cech infekcji w badaniu przedmiotowym i z tego powodu było leczone antybiotykami. Pancytopenia krwi obwodowej i odmłodzenie w układzie białokrwińkowym (3% blastów) oraz utrzymująca się gorączka, zadecydowały o wykonaniu biopsji aspiracyjnej szpiku. W wykonanym badaniu stwierdzono podwyższoną liczbę blastów do 19%. Z uwagi na niejasny wynik oceny morfologicznej, pobranie powtórzono po 4 dniach – wówczas stwierdzono odsetek blastów w ocenie morfologicznej nieprzekraczający normy 5%. Wykonane jednocześnie badanie immunofenotypowe było zgodne z oceną morfologiczną. U pacjenta rozpoznano odczyn blastyczny w przebiegu gorączki neutropenicznej. Po zakończeniu antybiotykoterapii, ze znormalizowanymi wartościami morfologii, chłopiec został wypisany do domu. W kolejnym miesiącu dziecko było dwukrotnie hospitalizowane w szpitalu rejonowym z powodu obturacyjnego zapalenia oskrzeli i małopłytkowości (najprawdopodobniej pierwotnej małopłytkowości immunologicznej ITP) w przebiegu infekcji górnych dróg oddechowych. Z powodu małopłytkowości był on leczony za pomocą dożylnych preparatów immunoglobulin (IVIG) z dobrym efektem. W badaniach kontrolnych morfologii z rozmazem ręcznym, wykonanych na początku marca 2017 r., poza łagodną niedokrwistością nie stwierdzono nieprawidłowości. W połowie marca pacjent został ponownie przyjęty do Kliniki z powodu podejrzenia choroby rozrostowej, na podstawie rutynowo wykonanej morfologii, w której stwierdzono: WBC $27 \times 10^3/\mu\text{l}$, LYMPH 87%, HGB 10,2 g/dl, PLT $65 \times 10^3/\mu\text{l}$. Przy przyjęciu chłopiec był w stanie dobrym, bez klinicznych cech infekcji. W badaniach laboratoryjnych stwierdzono: WBC $29 \times 10^3/\mu\text{l}$, HGB 9,8 g/dl, PLT $65 \times 10^3/\mu\text{l}$, URCA (kwas moczowy) 5,2 mmol, LDH 1850 j.m./l. Na podstawie badań cytomorfologicznych i immunofenotypowych, wykonanych z krwi obwodowej i szpiku (blasty odpowiednio 66% i 88,6%), rozpoznano B-komórkową ALL typu common bez zajęcia ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Chłopiec został zakwalifikowany do leczenia zgodnie z protokołem ALL IC-BFM 2009 (*ALL Intercontinental-BFM*

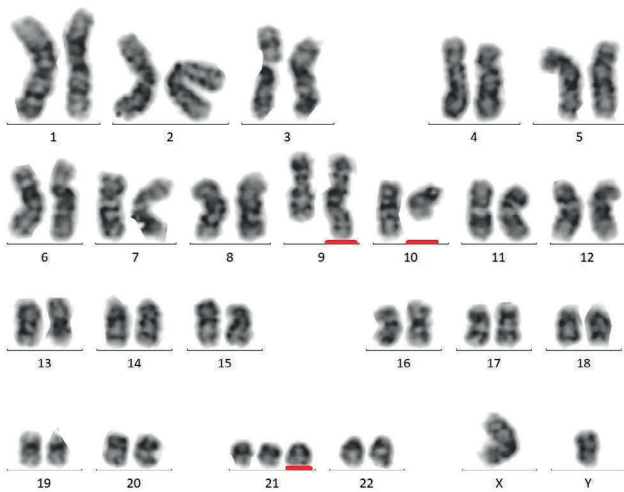
2009). W 8. dobie stwierdzono dobrą odpowiedź na leczenie, a w 15. dobie szpik M2 oraz minimalną chorobę resztkową (*minimal residual disease* – MRD) 10,7% – ocenione metodą cytometrii przepływowej, co było podstawą zmiany grupy terapeutycznej na grupę wysokiego ryzyka. Obligatoryjne badania FISH (fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*) nie wykazały obecności fuzji genów *BCR-ABL1* (Dual Color, Dual Fusion, Vysis) ani rearanżacji genu *KMT2A* (Dual Color, Break Apart, Vysis), stwierdzono natomiast obecność 3 i 4 sygnałów genu *ABL1*, odpowiednio w 46,5% i 3,5% jąder interfazowych (Ryc. 1). Taki obraz mógł wskazywać na powielenie genu *ABL1* do odpowiednio 3 i 4 kopii lub fuzji z innym niż *BCR* partnerem genowym. Analiza kariotypu pacjenta wykazała obecność tylko 2 nieprawidłowych metafaz (Ryc. 2A i 2B). Ich obraz wykluczył powielenie genu *ABL1* w mechanizmie polisomii chromosomu 9, stwierdzono bowiem obecność translokacji pomiędzy chromosomami 9 i 10 (Ryc. 3). W drugiej z nieprawidłowych metafaz zaobserwowano dodatkowy chromosom grupy C. Ze względu na obecność w badaniu FISH klonu z 4 sygnałami genu *ABL1* oraz struktury obserwowanego chromosomu markerowego, zachodziło podejrzenie powielenia nieprawidłowego pochodnego chromosomu 10. Badanie FISH z zastosowaniem sondy PTEN/CEP10 (Dual Color, Vysis) pozwoliło na potwierdzenie tego podejrzenia (trzeci sygnał centromeru chromosomu 10). Dodatkowo metafaza obecna na preparacie FISH, pozwoliła na stwierdzenie przeniesienia nienaruszonego genu *PTEN* na pochodny chromosom 9 (Ryc. 3). Ta obserwacja, przewidywane na podstawie kariotypu punkty pęknięć oraz analiza literatury, pozwoliły na wytypowanie genu *ZMIZ1* jako genu partnerskiego w obserwowanej translokacji [5, 6]. Poza translokacją t(9;10), w obrazie nieprawidłowych metafaz stwierdzono również trisomię chromosomu 21, co potwierdzono badaniem FISH sondą ETV6/RUNX1 (Dual Color, Extra Signal, Vysis), wykluczając jednocześnie fuzję tych genów. Ostateczny kariotyp pacjenta został opisany jako



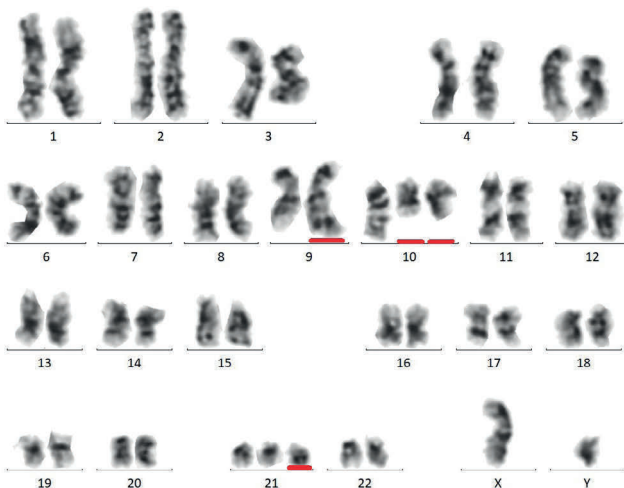
Ryc. 1. Obraz badania FISH z sondą *BCR/ABL* (DC, DF, Vysis). Powielenie sygnałów genu *ABL1* do trzech i czterech kopii. Sygnał genu *ABL1* (czerwony), sygnał genu *BCR* (zielony)
Fig. 1. Image of the FISH study with the *BCR/ABL* probe (DC, DF, Vysis). Multiplication of *ABL1* gene signals to three and four copies. *ABL1* gene signal (red), *BCR* gene signal (green)

nieprawidłowy, złożony, męski z ewolucją klonalną: 47,XY,t(9;10)(q34;q22),+21[1]/48,sl,+der(10)t(9;10)[1]/46,XY[21].

Badania cytogenetyczne wykonano z komórek szpiku pacjenta z 24-godzinnej niestymulowanej hodowli *in vitro*, wykorzystując barwienie prążkowe metodą GTG i CBG oraz technikę FISH. Obecność genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1* potwierdzono w badaniach molekularnych. RNA został wyizolowany z komórek jednojądrzastych

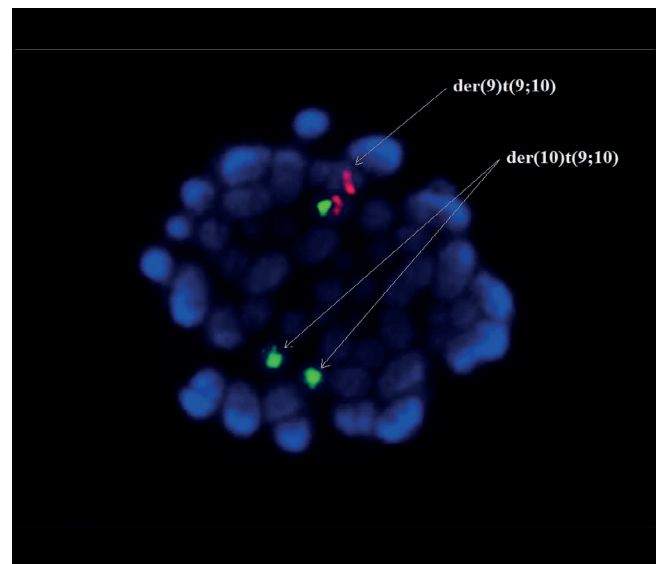


Ryc. 2A. Analiza cytogenetyczna. Karyotyp: 47,XY,t(9;10)(q34;q22),+21
Fig. 2A. Cytogenetic analysis. Karyotype: 47,XY,t(9;10)(q34;q22),+21



Ryc. 2B. Analiza cytogenetyczna. Karyotyp: 48,XY,t(9;10)(q34;q22),+der(10)t(9;10),+21. Widoczny dodatkowy, pochodny chromosom der(10) odpowiadający czwartemu sygnałowi genu *ABL1*
Fig. 2B. Cytogenetic analysis. Karyotype: 48,XY,t(9;10)(q34;q22),+der(10)t(9;10),+21. Visible additional derived chromosome der(10) corresponding to the fourth *ABL1* gene signal

pacjenta za pomocą zmodyfikowanej metody Chomczyńskiego. Następnie 1 µg RNA został przepisany przy użyciu odwrotnej transkryptazy na cDNA. Integralność RNA została oceniona poprzez ekspresję genu *GUS*. Obecność genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1* została wykryta przy użyciu metody multipleksowej reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Sekwencje starterów użytych do reakcji zostały wcześniej opublikowane [7]. Następnie uzyskany produkt PCR został zwizualizowany w 1,5% żelu agarozowym i miał długość około 950 par zasad (Ryc. 4). W celu potwierdzenia obecności genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1* i lokalizacji miejsc złamań genów, produkt PCR został zsekwencjonowany za pomocą metody Sangera (Ryc. 5). W opisanym powyżej przypadku miejsca złamań wystąpiły pomiędzy eksonem 18 genu *ZMIZ1* a eksonem 2 genu *ABL1*. Badania molekularne całogenomowe z użyciem metody macierzy SNP CytoScanHD (Affymetrix) umożliwiły rozpoznanie mozaikowej trisomii chromosomu 14 (około 50% komórek), chromosomu 21 (około 60% komórek) oraz dodatkowo stwierdzono delecje w regionach: 6p22.2(26037403_26102630), w obrębie genu *HFE*, 10p13(17092235_17121697), w obrębie genu *CUBN*, 12p13.2(11956309_11958210), w obrębie genu *ETV6* (Ryc. 6). Materiałem do badania był genomowy DNA wyizolowany ze szpiku kostnego pacjenta. Wynik opracowano przy pomocy analizy komputerowej z użyciem programu ChAS v 3.1.0.15. Jakość badania oceniono według parametrów snpQC (16.9), mapd (0,18) i wavinessSd (0,12). Ilość zmienionych regionów została znormalizowana przy użyciu modelu referencyjnego NA33. Stwierdzenie u chłopca fuzji genów *ZMIZ1-ABL1* z panelu B-OBL *BCR-ABL1-like* stało się powodem zakwalifikowania go w dalszym etapie leczenia

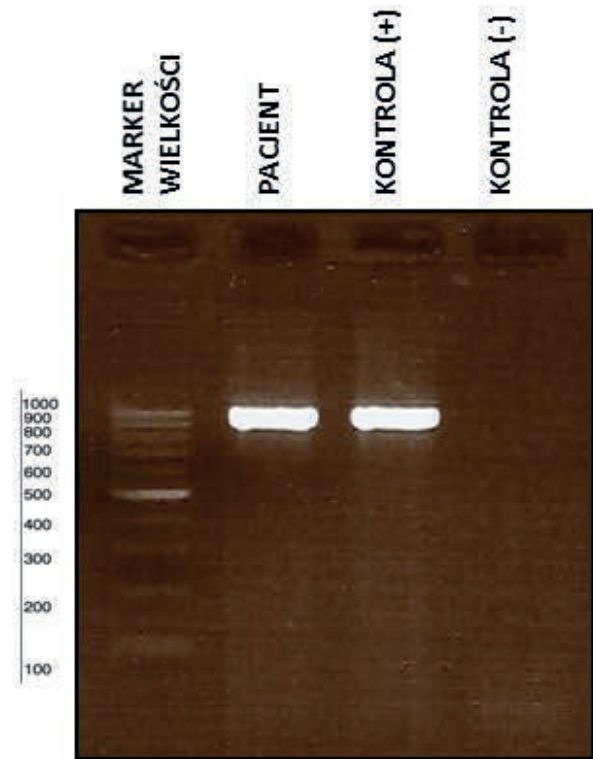


Ryc. 3. Obraz badania FISH z sondą CEP10/PTEN (DC, Vysis) na metafazie. Sygnał centromeru chromosomu 10 (zielony), sygnał genu *PTEN* (czerwony). Widoczny prawidłowy chromosom 10 (z sygnałem centromeru i genu *PTEN*), pochodny chromosom der(9) oraz dwa pochodne chromosomy der(10)
Fig. 3. Image of the FISH test with the CEP10/PTEN probe (DC, Vysis) on metaphase. Chromosome 10 centromere signal (green), *PTEN* gene signal (red). Visible normal chromosome 10 (with a centromere and *PTEN* gene signal), derivative chromosome der(9) and two derivative chromosomes der(10)

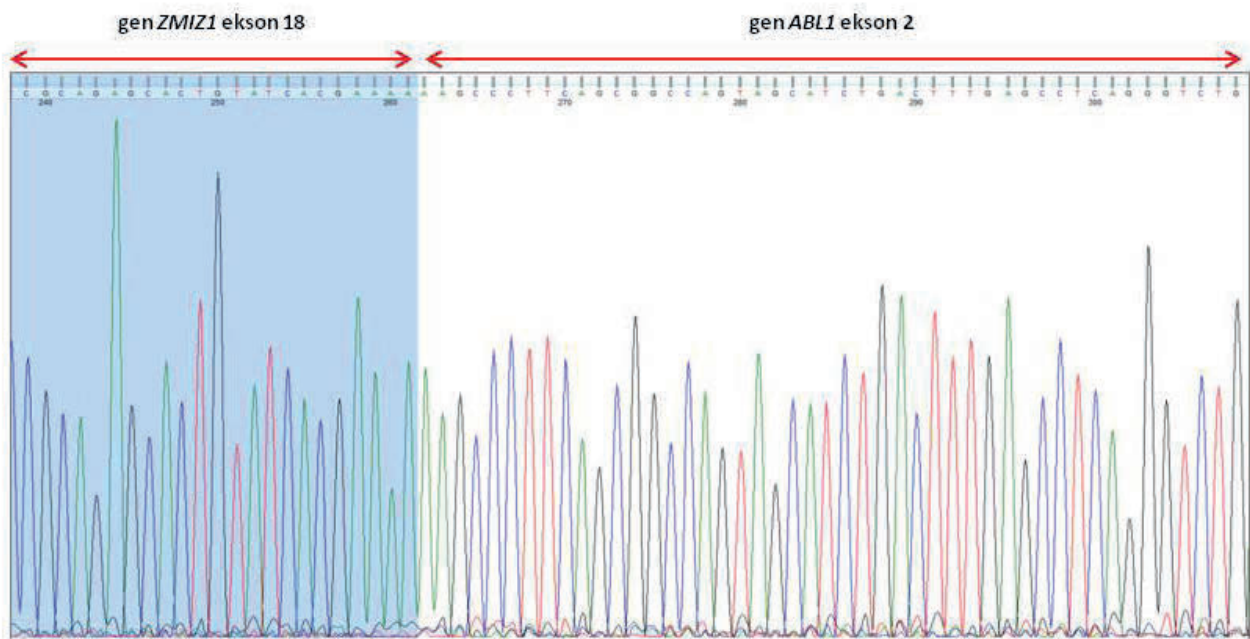
do przeszczepienia macierzystych komórek hemopoetycznych w pełnej remisji. W 33. dobie leczenia według programu ALL IC-BFM 2009, w planowym kontrolnym badaniu szpiku stwierdzono szpik aplastyczny, w 40. dobie pancytopenię krwi obwodowej. Pełną remisję określono u dziecka dopiero w 47. dobie leczenia. W ocenie remisji wykorzystano również m.in. badania genetyczne, tj. badanie FISH z sondą BCR/ABL i badanie molekularne (ocena obecności genu fuzyjnego *ZMIZ1-ABL1*). Okres chemioterapii był powikłany epizodami pancytopenii, gorączki neutropenicznej i zapalenia śluzówek po wlewach metotreksatu. Pacjent po leczeniu indukcyjnym (prot. IA i IB Augmented) i konsolidacyjnym (bloki HR1, HR2 i HR3) miał wykonane przeszczepienie komórek hematopoetycznych od całkowicie zgodnego w układzie HLA dawcy niespokrewnionego (10/10 antygenów). Okres poprzyszczepowy nie był powikłany ostrą chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi (*graft-versus-host disease* – GvHD). Ze względu na 5% chimeryzm autologiczny, miał on wcześniej zakończoną immunosupresję prowadzoną za pomocą cyklosporyny. Badania kontrolne szpiku wykonane w grudniu 2018 r. wykazały 100% chimeryzm dawcy i utrzymującą się remisję.

DYSKUSJA

Translokacja t(9;10)(q34;q22) prowadzi do fuzji genów *ZMIZ1-ABL1* w wyniku złamania w eksonie 14 lub 18 genu *ZMIZ1*, z eksonem 2 genu *ABL1* [4, 5, 7]. Transkrypt *ZMIZ1-ABL1* ulega translacji do chimerycznego białka o wielkości 197 kDa i zawiera bogatą w prolinę domenę białka *ZMIZ1* oraz domenę kinazową białka *ABL1* [5]. Prawdopodobnie posiada ono zdolność transformacji komórki poprzez konstytutywną aktywację kinazy tyrozynowej. Dlatego u pacjentów z tym genem fuzyjnym korzystne może okazać się



Ryc. 4. Obraz rozdziłu elektroforetycznego produktu PCR w 1,5% żelu agarozowym
Fig. 4. Image of electrophoretic separation of the PCR product in 1.5% agarose gel



Ryc. 5. Chromatogram z miejscami złamań genów *ZMIZ1* i *ABL1*
Fig. 5. Chromatogram of *ZMIZ1* and *ABL1* gene breakpoints



Ryc. 6. Analiza metodą mikromacierzy całogenomowych (CytoScan HD) w kierunku detekcji zmian w liczbie kopii materiału genetycznego. Wynik wskazuje na obecność trisomii chromosomów 14 i 21 oraz mikrodelecji w obrębie genów CUBN, ETV6 i HFE
Fig. 6. Analysis using the whole genome microarray (CytoScan HD) method for detecting copy number variation (CNV) of genetic material. The result indicates the presence of trisomies of chromosomes 14 and 21 and microdeletion involving the CUBN, ETV6 and HFE genes

stosowanie inhibitorów kinaz tyrozynowych [7]. Zaobserwowana przez nas translokacja występuje głównie u młodych osób z częstością poniżej 1% [4, 6]. Opisany przez nas przypadek, z uwagi na zdiagnozowane aberracje typu *BCR-ABL1-like* ALL, został zaliczony do grupy wysokiego ryzyka i tym samym zakwalifikowany do procedury przeszczepowej allo-HSCT. Ta ścieżka terapeutyczna choć agresywna i niepozbawiona skutków ubocznych, być może przyczyniła się do osiągnięcia długotrwałej remisji. U chłopca nie zaistniała zatem konieczność leczenia inhibitorami kinaz tyrozynowych (*tyrosine kinase inhibitor* – TKI). Z uwagi jednak na nieliczne odnotowane przypadki fuzji genów *ZMIZ1-ABL1* istnieje konieczność przyglądania się z uwagą efektem leczenia u pacjentów obciążonych tą translokacją, w tym tych, którzy poddani zostaną terapii eksperymentalnej z zastosowaniem TKI.

PODSUMOWANIE

Pełne ustalenie obrazu zmian genetycznych w komórkach nowotworowych oraz ich wykorzystanie w trakcie leczenia, wymaga współpracy zespołów cytogenetycznych i molekularnych oraz lekarza prowadzącego. Badanie kariotypu jest nadal istotną metodą całogenomową, pozwalającą na ocenę obecności zmian zarówno zrównoważonych, jak i niezrównoważonych, które mogą mieć istotny wpływ na podejmowane decyzje terapeutyczne. Jednakże z uwagi na jego ograniczoną rozdzielczość, należy zaobserwowane fuzje genowe potwierdzać metodami cytogenetyki molekularnej (FISH) lub genetyki molekularnej. Wnikliwa ocena statusu genetycznego pozwala również na

wyodrębnienie tych zmian, które mogą zostać wykorzystane w monitorowaniu przebiegu leczenia pacjenta lub stwierdzeniu ewentualnej wznowy. Techniki molekularne, takie jak analiza mikromacierzy pozwalają na ustalenie zmian niezrównoważonych, ale nie znajdują zastosowania w identyfikacji aberracji zrównoważonych. Należy pamiętać, że każda ze stosowanych współcześnie metod diagnostyki genetycznej, posiada swoje ograniczenia. Dlatego powinny być wykorzystywane łącznie, zwłaszcza w trakcie badań diagnostycznych przed rozpoczęciem leczenia.

Wkład autorów / Authors' contribution

AK – 54%, AP – 7%, AS – 5%, KK – 10%, KP – 6%, BS – 5%, ML – 4%, ML – 5%, ECh-M – 4%

Konflikt interesów / Conflict of interest

Nie występuje.

Finansowanie / Financial support

Nie występuje.

Etyka/Ethics

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami UE oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Piśmiennictwo
References

- [1] Moorman AV. The clinical relevance of chromosomal and genomic abnormalities in B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia. *Blood Rev* 2012;26(3):123–35.
- [2] Mrózek K, Harper DP, Aplan PD. Cytogenetics and molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(5):991–1010.
- [3] Tasian SK, Loh ML, Hunger SP. Philadelphia chromosome-like lymphoblastic leukemia. *Blood* 2017;130(19):2064–72.
- [4] Boer JM, Steeghs EM, Marchante JR, et al. Tyrosine kinase fusion genes in pediatric *BCR-ABL1*-like acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget* 2017;8(3):4618–28.
- [5] Soler G, Radford-Weiss I, Ben-Abdelali R, et al. Fusion of *ZMIZ1* to *ABL1* in a B-cell acute lymphoblastic leukaemia with a t(9;10)(q34;q22.3) translocation. *Leukemia* 2008;22(6):1278–80.
- [6] Harrison CJ, Johansson B. Acute lymphoblastic leukemia. In: Heim S, Mitelman F, editors. *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*, Fourth Edition. Wiley Blackwell; 2015, p. 198–251.
- [7] Roberts KG, Li Y, Payne-Turner D, et al. Targetable kinase-activating lesions in Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(11):1005–15.