

Patogeneza nowotworów układu krwiotwórczego

Pathogenesis of myeloid malignancies

Maciej Szydłowski, Przemysław Juszczynski

Pracownia Hematologii Doświadczalnej, Zakład Diagnostyki Hematologicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Nowotwory układu krwiotwórczego stanowią heterogenną grupę chorób o złożonej patogenezie. Postęp w zakresie poznania i zrozumienia mechanizmów molekularnych transformacji nowotworowej w ostatniej dekadzie stał się podstawą dla racjonalizacji i uporządkowania klasyfikacji tych schorzeń oraz bardziej precyzyjnej stratyfikacji chorych do grup ryzyka. Nowotwory te wywodzą się z prekursorowych komórek krwiotworzenia, w których — wskutek aberracji genetycznych i deregulacji epigenetycznej — dochodzi do zaburzeń w ekspresji genów, aktywacji onkogenów i zaburzeń w przewodzeniu sygnałów, deregulacji aktywności czynników transkrypcyjnych regulujących przebieg mielopoiezy lub inaktywacji białek supresorowych. Konsekwencją tych aberracji są zaburzenia w kluczowych procesach hematopoiezy, tj. samoodnowy, proliferacji oraz różnicowania. W pracy przedstawiono w zarysie główne czynniki kontrolujące prawidłowe różnicowanie się komórek linii mieloidalnej z komórek macierzystych krwi oraz zaburzenia funkcji tych czynników i wynikające z nich mechanizmy odpowiedzialne za patogenezę nowotworów układu krwiotwórczego. Przedstawiono także znaczenie prognostyczne omawianych zaburzeń.

Słowa kluczowe: nowotwory układu krwiotwórczego, patogeneza, mutacje, translokacje

Hematologia 2013; 4, 4: 279–290

Abstract

Myeloid malignancies are heterogeneous group of disorders with complex molecular background and pathogenesis. Recent advances in understanding molecular mechanisms underlying malignant transformation allowed to rationalize and organize classification of these diseases and also provided molecular markers for more precise stratification of patients to risk groups. Myeloid malignancies originate from the hematopoietic stem and progenitor cells, in which genetic and epigenetic alterations lead to the abnormal gene expression, activation of oncogenes, inactivation of tumor suppressors, aberrant signal transduction and deregulation of transcription factors involved in myelopoiesis. As a functional consequence, the key hematopoietic processes such as self-renewal, proliferation and differentiation are disrupted. This review outlines major factors that control normal differentiation of myeloid precursor cells and mechanisms of their deregulation in malignant cells. The manuscript also reviews the prognostic value of discussed alterations in clinical practice.

Key words: myeloid malignancies, pathogenesis, molecular background, prognostic factors

Hematologia 2013; 4, 4: 279–290

Wprowadzenie

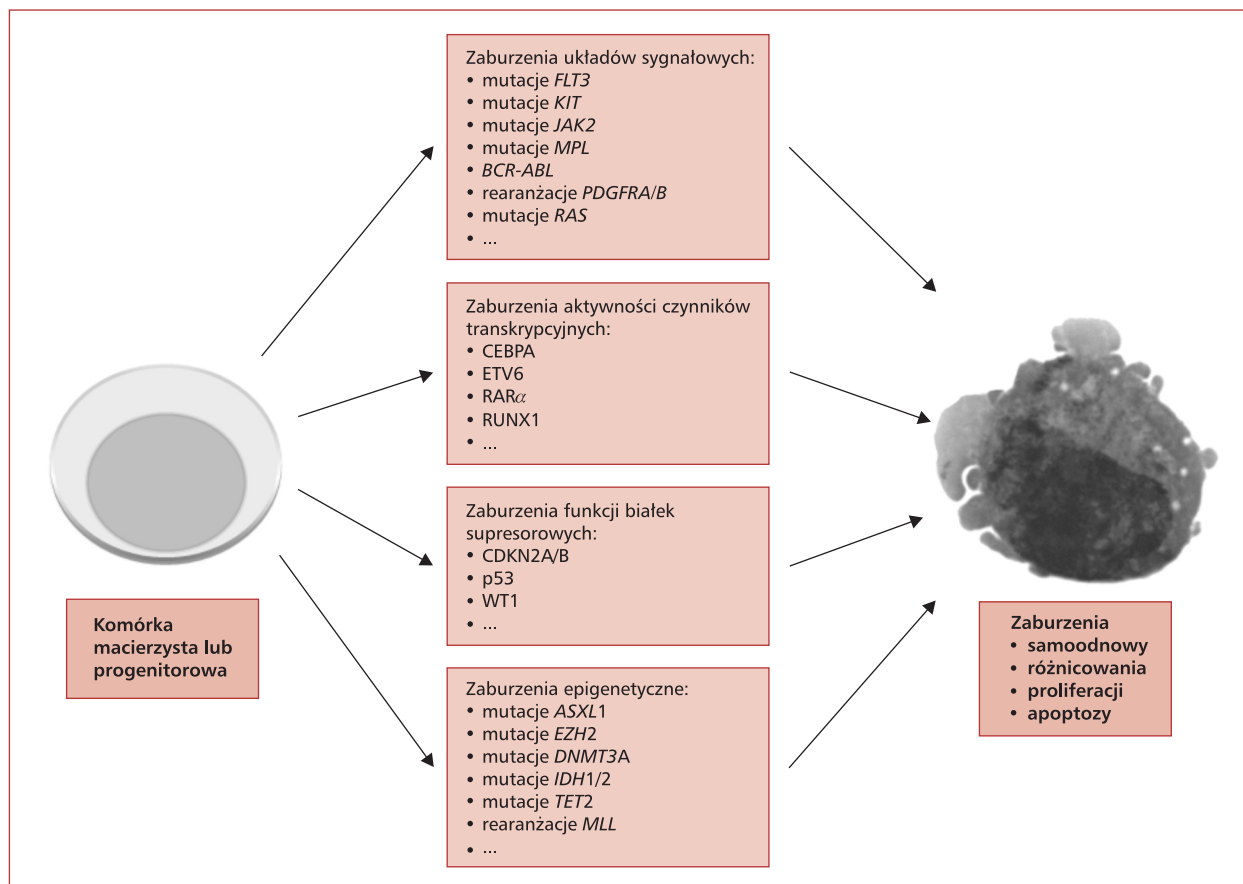
Nowotwory układu krwiotwórczego są chorobami klonalnymi krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC, *hematopoietic stem cell*) lub komórek progenitorowych linii mieloidalnej. Czynniki powodującymi transformację nowotworową są zmiany genetyczne oraz epigenetyczne prowadzące do zaburzeń w transdukcji sygnałów i ekspresji genów, a w konsekwencji — do zaburzeń w kluczowych procesach hematopoezy, tj. samoodnowy, proliferacji oraz różnicowania (ryc. 1).

Hematopoeza jest wieloetapowym i hierarchicznym procesem różnicowania się wszystkich rodzajów komórek krwi z wielopotencjalnych HSC [1]. Proces hematopoezy rozpoczyna się od asymetrycznego podziału HSC, w wyniku którego jedna z komórek potomnych pozostaje komórką macierzystą, zapewniając samoodnowę populacji HSC, natomiast druga komórka ulega dalszemu różnicowaniu (ryc. 2). Krwiotwórcze komórki macierzyste wymagają wsparcia mikrośrodowiska, które wpływa także na wzrost i różnicowanie

komórek potomnych [2]. Mikrośrodowisko to jest ukształtowane między innymi przez komórki stromalne szpiku, adipocyty, fibroblasty, komórki endotelialne, makrofagi oraz macierz pozakomórkową. Istotną rolą komórek stromalnych jest wydzielanie cytokin i czynników wzrostu podtrzymujących populację HSC oraz wpływających na ich różnicowanie [3–5]. Wysoka zdolność do samoodnowy to jedna z głównych cech, które odróżniają HSC od komórek późniejszych stadiów rozwojowych.

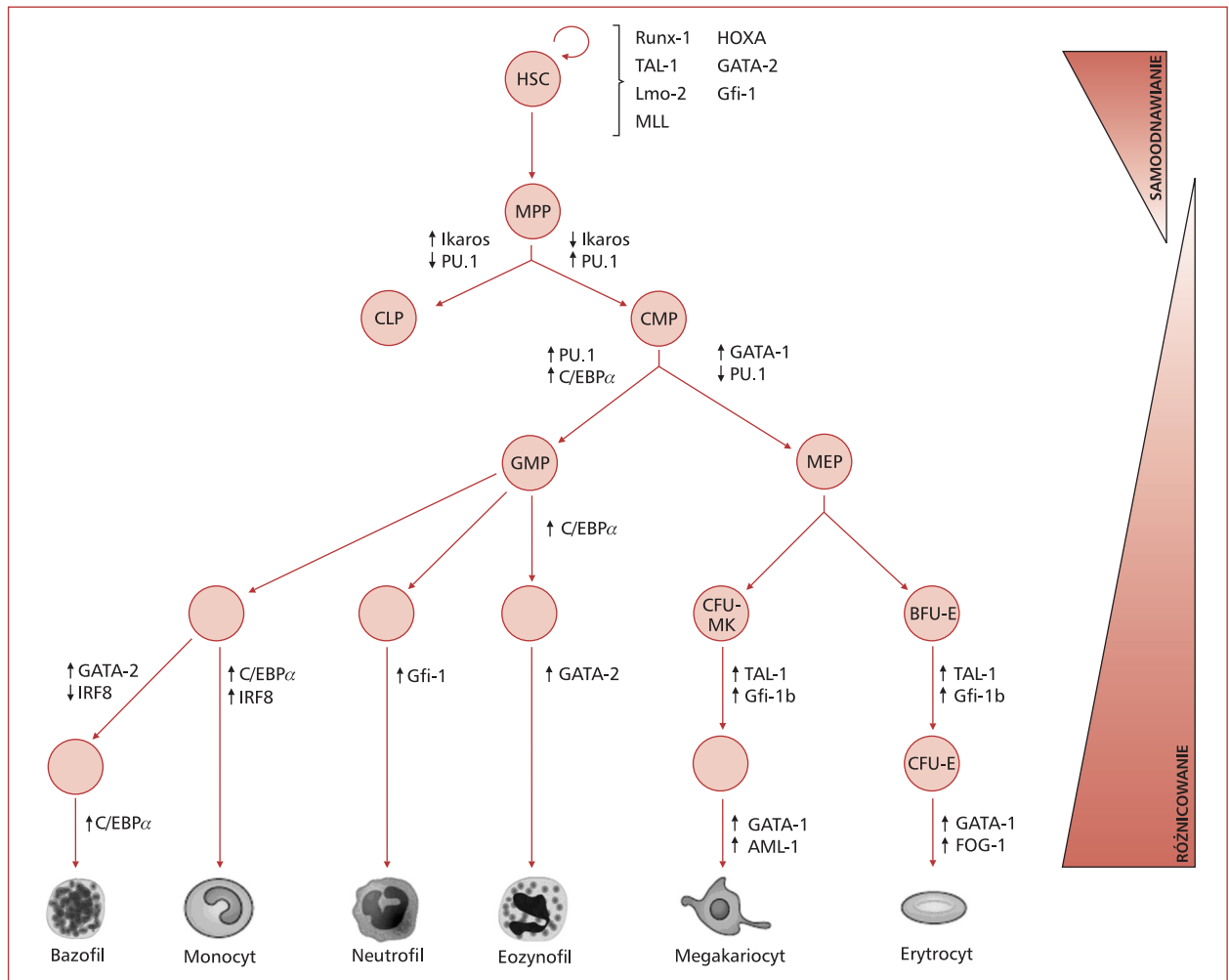
Wielopotencjalne komórki progenitorowe (MPP, *multipotent progenitor*), powstające z HSC, mogą się różnicować do komórek progenitorowych linii mieloidalnej (CMP, *common myeloid progenitor*) i limfoidalnej (CLP, *common lymphoid progenitor*) (ryc. 2). Wybór i kontrola dalszej drogi różnicowania podlegają ścisłej kontroli przez skoordynowane działanie cytokin, czynników wzrostu, aktywowanych czynników transkrypcyjnych oraz czynników epigenetycznych [6, 7].

Cytokiny i czynniki wzrostu są glikoproteinami regulującymi proliferację i różnicowanie się komórek progenitorowych oraz funkcje dojrzałych komórek krwi (tab. 1) [8]. Białka te działają hierar-



Rycina 1. Najważniejsze mechanizmy patogenetyczne chorób nowotworowych układu krwiotwórczego

Figure 1. Overview of pathogenetic mechanisms in myeloid malignancies



Rycina 2. Mielopoeza. Zaznaczono czynniki transkrypcyjne regulujące różnicowanie w kolejnych etapach mielopoezy, których zaburzenia odgrywają patogenetyczną rolę w rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego; ↑ — wysoka ekspresja; ↓ — niska ekspresja; HSC — krwiotwórcza komórka macierzysta; MPP — wielopotencjalna komórka progenitorowa; CLP — komórka progenitorowa linii limfoidalnej; CMP — komórka progenitorowa linii mieloidalnej; GMP — komórka progenitorowa granulocytów i monocytów; MEP — komórka progenitorowa megakariocytów i erytrocytów; CFU-MK — komórka prekursorowa megakariocytów; BFU-E/CFU-E — komórki prekursorowe erytrocytów

Figure 2. Myelopoiesis. Transcription factors regulating differentiation and progression through subsequent stages of hematopoiesis linked to leukemogenesis are indicated; ↑ — high expression; ↓ — low expression; HSC — hematopoietic stem cell; MPP — multipotent progenitor; CLP — common lymphoid progenitor; CMP — common myeloid progenitor; GMP — granulocyte-monocyte progenitor; MEP — megakaryocyte-erythroid progenitor; CFU-MK — colony forming unit-megakaryocyte; BFU-E/CFU-E — burst forming unit/colony forming unit-erythroid

chicznie, w niskich stężeniach, często na komórki więcej niż jednej linii, wiążąc się ze swoistym receptorem i prowadząc do aktywacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych zależnych od danego receptora. Kluczowymi receptorami na wczesnych etapach hematopoezy są receptory kinaz tyrozynowych FLT3 (*fms-related tyrosine kinase 3*) oraz KIT (*kit oncogene*). Receptor FLT3 pełni istotną rolę w indukowaniu ekspansji wczesnych komórek progenitorowych, a aktywność receptora KIT jest niezbędna w podtrzymaniu populacji

HSC oraz ukierunkowanych CMP, komórek progenitorowych granulocytów i makrofagów (GMP, *granulocyte-macrophage progenitor*) i komórek progenitorowych megakariocytów i erytrocytów (MEP, *megakaryocyte-erythroid progenitor*) [9–11].

Czynniki transkrypcyjne należą do głównych białek efektorowych ścieżek sygnałowych aktywowanych przez czynniki wzrostu i cytokiny, a ich działanie determinuje funkcjonalne konsekwencje aktywacji szlaków sygnałowych w komórce. Większość czynników transkrypcyjnych wykazuje

Tabela 1. Cytokiny i czynniki wzrostu regulujące hematopoezę**Table1.** Cytokines and growth factors regulating hematopoiesis

Komórki docelowe	Czynnik wzrostu
Krwiotwórcze komórki macierzyste	SCF Flt-L
Wielopotencjalne komórki progenitorowe	IL-3 GM-CSF IL-6 G-CSF Trombopoetyna
Ukierunkowane komórki prekursorowe	G-CSF M-CSF IL-5 Erytropoetyna Trombopoetyna

SCF (*stem cell factor*) — czynnik wzrostu komórek macierzystych; IL-3 — interleukina 3; GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów; IL-6 — interleukina 6; G-CSF (*granulocyte colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów; M-CSF (*macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów; IL-5 — interleukina 5

ekspresję ograniczoną tylko do komórek określonych linii i stadiów rozwojowych (ryc. 2), wskazując na istnienie mechanizmów zapewniających precyzyjną kontrolę ich aktywności na poszczególnych etapach hematopoezy. Deregulacja ekspresji tych czynników lub ich mutacje są częstą przyczyną zablokowania programu różnicowania się komórek macierzystych i progenitorowych, co jest jedną z podstawowych cech komórek nowotworów układu krwiotwórczego.

Kolejnym istotnym czynnikiem regulującym prawidłowy przebieg hematopoezy są modyfikacje epigenetyczne. Metylacja DNA oraz metylacja i acetylacja białek histonowych prowadzą do zmian struktury chromatyny i modulują ekspresję genów. Zmiany te mogą być dziedziczone przez komórki potomne, przez co pozwalają na „zapamiętanie” profilu ekspresji genów po kolejnych podziałach i mogą służyć „wzmocnieniu” kierunkowania komórek progenitorowych do konkretnej linii [12]. Metylacja DNA pełni ponadto ważną rolę w utrzymaniu potencjału samoodnowy HSC oraz w różnicowaniu się komórek MPP do linii mieloidalnej lub limfoidalnej [13, 14]. Mutacje białek odpowiadających za modyfikacje epigenetyczne są często obserwowane w nowotworach hematologicznych i odgrywają rolę w patogenezie tych chorób.

Predyspozycje genetyczne nowotworowych chorób układu krwiotwórczego

Ryzyko rozwoju nowotworów układu krwiotwórczego jest znacznie podwyższone u osób

z niektórymi chorobami wrodzonymi, związanymi najczęściej z zaburzeniem funkcjonowania mechanizmów naprawy DNA, deregulacją cyklu komórkowego i różnicowania.

Zespół Blooma jest zaburzeniem spowodowanym mutacjami helikazy DNA (15q21.1). U około 25% osób z tym zaburzeniem dochodzi do rozwoju nowotworu układu krwiotwórczego, najczęściej ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*). Niedokrwistość Fanconiego to zaburzenie prowadzące do niewydolności szpiku, któremu towarzyszą liczne wady rozwojowe. Zaburzenie to jest najczęściej dziedziczone w sposób autosomalny recesywny i wiąże się z mutacją genów *FANC*, których produkty białkowe są zaangażowane w naprawę DNA. U około 50% chorych z niedokrwistością Fanconiego, średnio w wieku 40 lat, rozwija się mielodysplazja szpiku lub AML.

Zespół Noonan jest zaburzeniem występującym z częstością 1/1000–1/2500 urodzeń związanym z mutacjami genów kodujących białka szlaku sygnałowego RAS/MAPK (np. PTPN11 [$> 50\%$], SOS1, RAF1, K-RAS, BRAF, N-RAS), prowadzącymi do deregulacji tego szlaku. U osób z zespołem Noonan obserwuje się zwiększoną częstość występowania młodzieńczej białaczki mielomonocytovej (JMML, *juvenile myelomonocytic leukemia*), AML i B-komórkowej ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*).

Ciężka wrodzona neutropenia (SCN, *severe congenital neutropenia*) to grupa wrodzonych zaburzeń objawiających się długotrwale i głęboko obniżoną liczbą neutrofilów. Najczęstszą przyczyną zespołu są zaburzenia różnicowania i dojrzewania neutrofilów spowodowane mutacjami genów *HAX1* i *ELANE*. U chorych na SCN długotrwale leczenie czynnikami stymulującymi tworzenie kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) sprzyja mutacjom receptora CSF3R, obserwowanym u 30% leczonych, i rozwojowi białaczek szpikowych.

Trisomia chromosomu 21 (zespół Downa) sprzyja rozwojowi białaczek w wieku dziecięcym. Ryzyko zachorowania jest 10–20 razy wyższe niż u dzieci bez tej aberracji, a szczególnie wysokie ryzyko dotyczy wystąpienia ostrej białaczki megakariocytowej.

Translokacje w komórkach nowotworów układu krwiotwórczego

Translokacje t(8;21): CBF α -ETO, t(16;16): CBF β -SMMHC lub inv(16) prowadzą do zaburzenia funkcji czynnika transkrypcyjnego CBF (*core binding factor*) (tab. 2). Występuje on w postaci

Tabela 2. Najczęstsze translokacje w nowotworach układu krwiotwórczego i ich znaczenie prognostyczne**Table 2.** Recurrent chromosomal translocations in myeloid malignancies and their prognostic value

Translokacja	Gen fuzyjny	Choroba/uwagi
t(8;21)	<i>CBFα-ETO</i>	AML/korzystne rokowanie
t(16;16)(p13.1;q22)	<i>CBFβ-SMMHC</i>	AML/korzystne rokowanie
t(8;21)(q22;q22)	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	AML/korzystne rokowanie
t(15;17)(q22;q12)	<i>PML-RARα</i>	AML (APL)/korzystne rokowanie
t(9;11)(p23;q23)	<i>AF9-MLL</i>	AML, ALL/niekorzystne rokowanie
t(9;22)(q34;q11.2)	<i>BCR-ABL1</i>	CML (> 95%), ALL
t(5;12)(q31~33;p12)	<i>ETV6-PDGFRB</i>	CMML, aCML, CEL
t(6;9)(p23;q34)	<i>DEK-NUP214</i>	AML/niekorzystne rokowanie
t(1;22)(p13;q13)	<i>RBM15-MKL1</i>	AML/niekorzystne rokowanie
t(3;3)(q21;q26.2)	<i>RPN1-EVI1</i>	AML/niekorzystne rokowanie

AML (*acute myelogenous leukemia*) — ostra białaczka szpikowa; APL (*acute promyelocytic leukemia*) — ostra białaczka promielocytowa; ALL (*acute lymphoblastic leukemia*) — ostra białaczka limfoblastyczna; CML (*chronic myelogenous leukemia*) — przewlekła białaczka szpikowa; CMML (*chronic myelomonocytic leukemia*) — przewlekła białaczka mielomonocytowa; aCML (*atypical chronic myelogenous leukemia*) — atypowa przewlekła białaczka szpikowa; CEL (*chronic eosinophilic leukemia*) — przewlekła białaczka eozynofilowa

heterodimeru złożonego z jednej z podjednostek wiążących DNA — RUNX1, RUNX2 lub RUNX3 (*runt-related transcription factor 1,2,3*) oraz podjednostki niewiążącej DNA — CBF β . Podjednostki RUNX1 (znanego także jako CBF α lub AML1) i CBF β pełnią istotną rolę w aktywacji genów niezbędnych do różnicowania się HSC podczas embriogenezy [15].

Translokacja t(8;21), występująca w około 8% przypadków AML, powoduje fuzję genu *AML1* z chromosomu 21 z genem *ETO* (*eight-twenty one*) z chromosomu 8 (tab. 2). Powstały gen chimeryczny koduje białko fuzyjne AML1-ETO, które działa antagonistycznie do AML1 typu dzikiego, blokując niezbędną do prawidłowej hematopoezy aktywację transkrypcji genów zależnych od czynnika [16]. Inwersja chromosomu 16 (p13.1;q22) lub translokacja 16;16(p13.1;q22), występująca w około 9% przypadków AML, prowadzi do fuzji genu *CBF β* z genem *SMMHC* (*myosin, heavy chain 11, smooth muscle*). Funkcja powstałego białka fuzyjnego jest podobna jak w przypadku AML1-ETO i prowadzi do zablokowania transkrypcji zależnej od CBF. Występowanie translokacji t(8;21) i t(16;16) jest korzystnym czynnikiem rokowniczym w AML.

Translokacja t(15;17) (q22;q12): PML-RAR α obejmuje gen receptora RAR α (*retinoic acid receptor, alpha*) będącego czynnikiem transkrypcyjnym regulującym ekspresję genów istotnych dla różnicowania się komórek progenitorowych linii mieloidalnej, którego aktywność reguluje kwas retinowy (tab. 2). Translokacje genu *RAR α* , znajdującego się na chromosomie 17, są typowe dla ostrej białaczki promielocytowej (APL, *acute promyelocytic leukemia*). Trans-

lokacja t(15;17) powoduje ekspresję białka fuzyjnego PML-RAR α , które zachowuje zdolność wiązania się do swoistych sekwencji DNA, ale nie indukuje transkrypcji. Działa zatem antagonistycznie do funkcji RAR α typu dzikiego. Dzieje się tak wskutek przyłączenia jądrowego kompleksu represorowego deacetylaz histonowych, który poprzez deacetylację okolicznych białek histonowych prowadzi do zablokowania transkrypcji. Zastosowanie kwasu retinowego w komórkach APL powoduje zmiany konformacyjne w białku fuzyjnym, które prowadzą do uwolnienia kompleksu deacetylaz histonowych, acetylację histonów, a w konsekwencji — indukcję transkrypcji i różnicowanie się komórek [17].

Translokacje MLL, t(11q23;...) obejmują gen *MLL* (*mixed-lineage leukemia*), który koduje modulator epigenetyczny posiadający domenę SET o aktywności transferazy grup metylowych dla lizyny 4 histonu H3 (H3K4) (tab. 2). Białko MLL pełni istotną rolę w rozwoju i ekspansji komórek macierzystych i progenitorowych, wpływając na ekspresję genów *HOX* (*homeobox*) oraz niektórych genów regulatorowych cyklu komórkowego [18, 19]. Translokacje genu *MLL* dotyczą około 10% wszystkich przypadków ostrych białaczek (AML i ALL). Dotychczas opisano ponad 80 różnych translokacji *MLL* oraz ponad 50 odmiennych genów partnerskich ulegających fuzji z *MLL*. Do najczęstszych translokacji genu *MLL* zlokalizowanego na chromosomie 11q23 należą: t(9;11)(p23;q23) AF9-MLL, t(4;11)(q21;q23) AF4-MLL, t(10;11)(p12;q23) AF10-MLL, t(19;11)(p13.3;q23) ENL-MLL i t(19;11)(p13.1;q23) ELL-MLL, występujące w około 80% przypadków ostrych białaczek

z rearanżacją *MLL*. Translokacje te prowadzą do utraty domeny SET przez *MLL*, natomiast większość białek, które uległy fuzji z *MLL*, wykazuje zdolność przyłączania białka DOT1L (*DOT1-like protein*) o aktywności transferazy grup metylowych dla lizyny 79 histonu H3 (H3K79) i związanego aktywacją transkrypcji. Ekspresja białek fuzyjnych *MLL* (np. AF9-*MLL*) w komórkach progenitorowych powoduje aktywację programu transkrypcyjnego charakterystycznego dla HSC (m.in. nadekspresję genów *HOX*) i zwiększenie potencjału samoodnowy tak stransformowanych komórek (LSC, *leukemia stem cells*) [20]. Rearanżacje *MLL* są niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych na AML i ALL.

Translokacja t(9;22)(q34;q11.2): BCR-ABL1 prowadzi do powstania chromosomu *Philadelphia* (Ph) (tab. 2). Jest ona charakterystyczna dla komórek przewlekłej białaczki szpikowej (CML, *chronic myelogenous leukemia*) (ok. 95% przypadków), ale jest też wykrywana u części chorych na ALL (ok. 30% chorych). Chimeryczny gen *BCR-ABL1* koduje białko o konstytutywnej aktywności kinazy tyrozynowej. Aktywność kinazy BCR-ABL1 powoduje aktywację wielu szlaków sygnałowych, głównie kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK, *mitogen activated protein kinase*) i PI3K-AKT (*phosphatidylinositol-3-kinase, v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1*) oraz czynników transkrypcyjnych STAT5 i c-MYC, prowadząc do zahamowania apoptozy i nasilenia proliferacji komórek [21].

Translokacja t(5;12)(q31~33;p12) ETV6-PDGFRB i rearanżacje PDGFRA-FIP1L1 prowadzą do powstania białek fuzyjnych o aktywności receptorowych kinaz tyrozynowych PDGFRα i PDGFRβ (*platelet-derived growth factor receptor alpha/beta*) zaangażowanych w regulację proliferacji i apoptozy [22]. Translokacja t(5;23)(q31~33;p12) jest spotykana u chorych na przewlekłą białaczkę mielomonocytową (CMML, *chronic myelomonocytic leukemia*), atypową przewlekłą białaczkę szpikową (aCML, *atypical chronic myelogenous leukemia*) i przewlekłą białaczkę eozynofilową (CEL, *chronic eosinophilic leukemia*). U chorych na CEL może występować także submikroskopowa delecja chromosomu 4q12, prowadząca do fuzji genu *PDGFRA* z genem *FIP1L* (*FIP1-like 1*). Rezultatem tej fuzji jest ekspresja białka chimerycznego PDGFRA-FIP1L, które — podobnie jak ETV6-PDGFRB — charakteryzuje się konstytutywną aktywnością kinazy tyrozynowej. Nowotwory mieloproliferacyjne z rearanżacją PDGFRB/A są wrażliwe na inhibitory kinaz tyrozynowych (imatynib).

Translokacje t(6;9)(p23;q34) *DEK-NUP214* i t(1;22)(p13;q13) *RBM15-MKL1*, prowadzące do ekspresji białek chimerycznych DEK-NUP214 i RBM15-MKL1, należą do rzadko występujących aberracji w AML (< 2% wszystkich przypadków). Aktywność DEK-NUP214 powoduje zaburzenia w regulacji transkrypcji, natomiast białko fuzyjne RBM15-MKL1 może wpływać na niewłaściwą organizację chromatyny oraz szlaki sygnałowe związane z procesem różnicowania [23]. Występowanie translokacji t(6;9) lub t(1;22) jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych na AML.

Aneuploidie i nie zrównoważone aberracje chromosomalne

Aneuploidie oraz nie zrównoważone aberracje chromosomalne są identyfikowane w ponad 50% przypadków chorych z zespołami mielodysplastycznymi (MDS, *myelodysplastic syndrome*), AML i CML. U chorych z wtórnym MDS zmiany te dotyczą nawet 80% przypadków (tab. 3).

Chorzy z MDS i izolowaną utratą długiego ramienia chromosomu 5 (5q-) charakteryzują się zespołem objawów klinicznych, obejmującym między innymi głęboką niedokrwistość z monocytózą, prawidłową lub nieznacznie obniżoną liczbą neutrofili i prawidłową lub podwyższoną liczbą płytek krwi (PLT, *platelets*). Jeśli jest to jedyne występujące zaburzenie, to wiąże się z dobrym rokowaniem. U osób z 5q- stosunkowo rzadko dochodzi do progresji do AML. Nie zidentyfikowano jednoznacznie genu supresorowego, którego utrata miałaby kluczowe znaczenie u chorych z zespołem 5q-. Prawdopodobnym mechanizmem molekularnym odpowiadającym za fenotyp 5q- jest utrata rybosomalnego białka RPS14 oraz wywołana stresem rybosomalnym aktywacja *TP53* [24].

Monosomia chromosomu 7 i delecja 7q są często obserwowanymi aberracjami u chorych z MDS. Wiążą się one z hiperproliferacją, cytopenią oporną na leczenie, nawracającymi infekcjami oraz stopniową progresją do AML. Zaburzenia chromosomu 7 często są związane z występowaniem wtórnych MDS lub AML po przebytej terapii z użyciem środków alkilujących. Rokowanie jest mniej korzystne u chorych z izolowaną monosomią chromosomu 7 niż w przypadku izolowanej delecji 7q.

Za kariotypy złożone (CK, *complex karyotype*) uważa się występowanie kilku (zwykle ≥ 3) niepowiązanych aberracji cytogenetycznych w tym samym klonie komórkowym. Występowanie CK

Tabela 3. Niezrównoważone aberracje chromosomalne i aneuploidie najczęściej spotykane w komórkach nowotworowych układu krwiotwórczego**Table 3.** Unbalanced chromosomal abnormalities and aneuploidies in myeloid malignancies

Zaburzenie	Choroba	Częstość występowania (%)	Znaczenie prognostyczne
Delecja 5q lub –5	AML	6	Niekorzystne
	MDS	30	Korzystne (5q)
Delecja 7q lub –7	AML	8	Niekorzystne
	MDS	15–20	Niekorzystne
Delecja chromosomu 20	AML	3	Korzystne
Trisomia chromosomu 8	AML	9	Pośrednie
	MDS	19	Pośrednie
	CML	40	Niekorzystne
		(faza blastyczna)	
Trisomia chromosomu 21	AML	3	Brak danych
Kariotyp złożony	AML	10–12	Niekorzystne
	MDS	12	Niekorzystne

AML (acute myeloid leukemia) — ostra białaczka szpikowa; MDS (myelodysplastic syndromes) — zespoły mielodysplastyczne; CML (chronic myelogenous leukemia) — przewlekła białaczka szpikowa

ma zwykle niekorzystne znaczenie rokownicze, w porównaniu z aberracjami izolowanymi. W MDS i AML dotyczą najczęściej zaburzeń chromosomów 5 i 7 (–5/del(5q) i –7/del(7q).

Mutacje punktowe i zaburzenia ekspresji genów w nowotworach układu krwiotwórczego

Zaburzenia cytogenetyczne nie występują u wszystkich chorych na nowotwory mieloproliferacyjne (MPN, *myeloproliferative neoplasms*). W nowotworach przebiegających z prawidłowym kariotypem zaburzenia proliferacji, apoptozy, odnawialności i przebiegu różnicowania mogą wynikać z genetycznych zaburzeń submikroskopowych. Zmiany te najczęściej dotyczą genów wpływających na transdukcję sygnału, aktywność czynników transkrypcyjnych i/lub epigenetycznych modulatorów ekspresji genów oraz nowotworowych genów supresorowych. Zaburzenia te często wpływają na agresywność klinicznego przebiegu choroby (tab. 4, 5).

Mutacje genów kodujących receptorowe i niereceptorowe kinazy tyrozynowe oraz białka sygnałowe

Mutacje receptora *FLT3* zdarzają się w około 30% przypadków AML i 5% przypadków MDS. Najczęstszymi mutacjami *FLT3* spotykanymi w AML są duplikacje (*FLT3-ITD*, *internal tandem duplication*) i mutacje punktowe domeny kinazowej (*FLT3-TKD*, *tyrosine kinase domain*), prowadzące do konstytutywnej i niezależnej od ligandu akty-

wacji receptora oraz szlaków sygnałowych PI3K-AKT, RAS/RAF/MEK/ERK i aktywacji czynnika transkrypcyjnego STAT5, które chronią komórki ze zmutowanym *FLT3* przed apoptozą oraz stymulują proliferację [9].

Mutacje receptora KIT dotyczą około 2% przypadków AML i prowadzą do jego patologicznej aktywacji. Mutacje występujące w obrębie domeny pozakomórkowej, odpowiedzialnej za interakcje receptor–receptor (najczęściej delecje lub insercje), powodują dimeryzację receptorów KIT prowadzącą do zwiększenia aktywności kinazy i aktywacji zależnych od receptora ścieżek sygnałowych RAS i PI3K-AKT [25, 26]. Mutacje w obrębie pętli aktywującej (substytucje lub małe insercje) powodują aktywację kaskady PI3K-AKT, natomiast najprawdopodobniej nie pobudzają osi RAS/RAF/MEK/ERK. Receptor KIT typu dzikiego ulega ekspresji w 80–90% komórek AML i również może odgrywać rolę w patogenezie tej choroby. W tym przypadku jego konstytutywna aktywacja może wynikać z autokrynnej lub parakrynnej stymulacji przez czynnik wzrostu komórek macierzystych (SCF, *stem cell factor*).

Kinaza JAK2 (*Janus kinase 2*) należy do cytoplazmatycznych kinaz tyrozynowych i jest elementem szlaku sygnałowego zależnego od receptorów cytokinowych, prowadzącego do aktywacji czynników transkrypcyjnych STAT. Mutacje genu *JAK2*, dotyczące eksonów 12, 13, 14 i 15, są często spotykanymi mutacjami w przewlekłych nowotworach mieloproliferacyjnych (MPN, *myeloproliferative neoplasms*). Mutacja V617F jest najczęściej spotykaną mutacją w tych chorobach i prowadzi do

Tabela 4. Mutacje punktowe i zaburzenia ekspresji genów w nowotworach układu krwiotwórczego

Table 4. Point mutations and gene expression abnormalities in myeloid malignancies

Zaburzenie genetyczne	Choroba	Uwagi
Mutacje <i>KIT</i>	AML	Konstitutywna aktywacja KIT Niekorzystne rokowanie u chorych z mutacjami KIT i t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13.1;q22) lub t(16;16)(p13.1;q22)
Mutacje <i>FLT3-ITD</i> i <i>FLT3-TKD</i>	AML	Konstitutywna aktywacja FLT3 Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML
<i>MLL-PTD</i>	AML	Deregulacja ekspresji genów zależnych od MLL i zwiększenie potencjału samoodnowy Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML
Mutacje <i>CEBPA</i>	AML	Utrata funkcji CEBPA Korzystne rokowanie (zwłaszcza mutacje bialleliczne)
Mutacje <i>NPM1</i>	AML	Korzystne rokowanie u chorych na CN-AML i bez FLT3-ITD
Mutacje <i>WT1</i>	AML	Utrata funkcji genu supresorowego Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML
Mutacje <i>TP53</i>	AML Wtórna AML Wtórny MDS	Utrata funkcji genu supresorowego Niekorzystne rokowanie
Mutacja <i>JAK2 V617F</i>	PV ET	Konstitutywna aktywność kinazy JAK2 Mieloproliferacja, nadreaktywność na czynniki wzrostu Znaczenie rokownicze niejasne
Mutacje <i>RAS</i>	AML MDS	Konstitutywna aktywacja RAS i szlaku kinaz MAPK Niekorzystne rokowanie
Mutacje <i>MPL</i>	PMF ET	Receptor trombopoetyny, mutacje sprzyjają proliferacji megakariocytów Niejasne znaczenie rokownicze
Mutacje <i>SETBP1</i>	aCML	Niekorzystne rokowanie
Mutacje <i>SF3B1</i>	MDS CMML RARS	Zaburzenia procesów edycji mRNA
Nadekspresja <i>BAALC</i>	AML	Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML
Nadekspresja <i>ERG</i>	AML	Niekorzystne rokowanie Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML
Nadekspresja <i>MN1</i>	AML	Niekorzystne rokowanie Niekorzystne rokowanie u chorych na CN-AML

KIT — *proto-oncogene tyrosine-protein kinase* Kit; FLT3 — *fms-like tyrosine kinase receptor 3*; ITD — *internal tandem duplication*; TKD — *tyrosine kinase domain*; AML (*acute myelogenous leukemia*) — ostra białaczka szpikowa; CN-AML (*cytogenetically normal AML*) — ostra białaczka szpikowa z normalnym kariotypem; MLL — *mixed-lineage leukemia*; PTD — *partial tandem duplication*; CEBPA — *CCAAT/enhancer binding protein alpha*; NPM1 — *nucleophosmin 1*; WT1 — *Wilms tumor 1*; TP53 — *tumor protein p53*; MDS (*myelodysplastic syndromes*) — zespoły mielodysplastyczne; JAK2 — *Janus kinase 2*; PV (*polycythemia vera*) — czerwienica prawdziwa; ET (*essential thrombocythemia*) — nadpłytkowość samoistna; RAS — *rat sarcoma*; MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) — kinaza białka aktywowanego przez mitogen; MPL — *myeloproliferative leukemia virus oncogene*; PMF (*primary myelofibrosis*) — pierwotna mielofibroza; SETBP1 — *SET binding protein 1*; aCML (*atypical chronic myelogenous leukemia*) — atypowa przewlekła białaczka szpikowa; SF3B1 — *splicing factor 3b, subunit 1*; CMML (*chronic myelomonocytic leukemia*) — przewlekła białaczka mielomonocytowa; RARS (*refractory anemia with ring sideroblasts*) — niedokrwistość oporna na leczenie z obecnością pierścieniowatych syderoblastów; BAALC — *brain and acute leukemia, cytoplasmic*; ERG — *ETS-related gene*; MN1 — *meningioma 1*

konstitutywnej aktywacji osi JAK/STAT [27]. Charakteryzuje ona 80–90% przypadków czerwienicy prawdziwej (PV, *polycythemia vera*), 35–45% przypadków nadpłytkowości samoistnej (ET, *essential thrombocythemia*) i 35–45% przypadków pierwotnej mielofibrozy (PMF, *primary myelofibrosis*).

Białka RAS spełniają ważną funkcję w transdukcji sygnałów z receptorów błonowych, takich jak KIT czy FLT3, i są zaangażowane w regulację proliferacji, różnicowania i apoptozy. Wykazują one aktywność GTPazy i zdolność wiązania gua-

nozynu-5'-trifosforanu (GTP, *guanosine triphosphate*) i guanozynu-5'-difosforanu (GDP, *guanosine diphosphate*). Formy związane z GTP są aktywne, natomiast związane z GDP — nieaktywne. Mutacje punktowe genów *N-RAS* (*neuroblastoma RAS viral (v-ras) oncogene homolog*) i *K-RAS* (*Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) występują u 10–15% (*N-RAS*) i 5% (*K-RAS*) chorych na AML oraz 40% chorych z MDS. Dotyczą one prawie wyłącznie kodonów 12, 13 i 61 tych białek i prowadzą do utraty funkcji GTPazy, a w konsekwencji — do

Tabela 5. Mutacje genów kodujących czynniki epigenetyczne w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego

Table 5. Mutations of epigenetic regulators in myeloid malignancies

Gen	Choroba	Częstość mutacji (%)	Biologia	Znaczenie kliniczne
<i>TET2</i>	AML	7–23	Hipermetylacja DNA i zwiększenie potencjału samoodnowy HSC i zaburzenia w różnicowaniu	Gorsze rokowanie w CN-AML Znaczenie prognostyczne w odniesieniu do MDS i MPN nieznane
	MDS	20–25		
	MPN	4–13		
<i>IDH1 i IDH2</i>	AML	15–33	Zmutowane białka syntetyzują 2-hydroksyglutaran (2-HG) hamujący aktywność <i>TET2</i>	Korzystne znaczenie prognostyczne mutacji <i>IDH2-R140Q</i> w AML
	MDS	3,5		
	MPN	2,5–5		
<i>DNMT3A</i>	AML	12–22	Metylacja DNA <i>de novo</i> , mutacje prowadzą do utraty aktywności	Krótsze OS u chorych na AML Niekorzystny czynnik prognostyczny w MDS (?)
	MDS	8		
	MPN	7–15		
<i>ASXL1</i>	AML	5,2	Niejasne konsekwencje mutacji	Krótszy OS u chorych z MDS i AML
	MDS	14		
	MPN	2–23		
<i>EZH2</i>	AML	Rzadkie	Transferaza grup metylowych H3K27 Mutacje powodują utratę funkcji w komórkach nowotworów mieloidalnych	Krótszy OS w MDS i PMF, CMML
	MDS	6,4		
	MPN	3–13		
<i>MLL</i>	AML	4–7 (z duplikacją <i>MLL</i>) 10–15 (z translokacją <i>MLL</i>)	Deregulacja ekspresji genów odpowiedzialnych za samoodnowę	Niekorzystne rokowanie

TET2 — *tet methylcytosine dioxygenase 2*; AML (*acute myeloid leukemia*) — ostra białaczka szpikowa; MDS (*myelodysplastic syndromes*) — zespoły mielodysplastyczne; MPN (*myeloproliferative neoplasms*) — nowotwory mieloproliferacyjne; HSC (*hematopoietic stem cells*) — krwiotwórcze komórki macierzyste; CN-AML (*cytogenetically normal AML*) — ostra białaczka szpikowa z normalnym karyotypem; *IDH1/2* — *isocitrate dehydrogenase 1/2*; *DNMT3A* — *DNA (cytosine-5-)-methyltransferase 3 alpha*; OS (*overall survival*) — przeżycie całkowite; *ASXL1* — *additional sex combs-like protein 1*; *EZH2* — *enhancer of zeste homolog 2*; PMF (*primary myelofibrosis*) — pierwotna mielofibroza; CMML (*chronic myelomonocytic leukemia*) — przewlekła białaczka mielomonocytoza; *MLL* — *mixed-lineage leukemia*

konstytutywnej aktywacji RAS oraz wzbudzenia białek efektorowych RAS, między innymi kinaz RAF (*v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1*), ERK (MAPK1, *mitogen-activated protein kinase 1*) i PI3K [28, 29]. Występowanie mutacji RAS u chorych z MDS jest niekorzystne rokowniczo i powiązane ze zwiększonym prawdopodobieństwem progresji do AML.

Mutacje genu *MPL* (*myeloproliferative leukemia virus oncogene*), kodującego receptor trombopoetyny, są identyfikowane w niektórych MPN, w tym PMF (ok. 5% przypadków) i ET (ok. 1% przypadków). Mutacje *MPL* W515L/K są najczęściej spotykanymi mutacjami *MPL* w MPN i — podobnie jak w przypadku mutacji JAK2 V617F — prowadzą do aktywacji ścieżki JAK-STAT [30]. Mutacje *MPL* u chorych na ET występują częściej u osób w starszym wieku i wiążą się z obniżonym stężeniem hemoglobiny, podwyższoną ilością PLT i zwiększonym ryzykiem wystąpienia zakrzepicy. Mutacje *MPL* w PMF występują głównie u kobiet, wiążą się z bardziej zaawansowanym wiekiem, obniżonym stężeniem hemoglobiny i zwiększonym prawdopodobieństwem wystąpienia zależności od transfuzji.

Mutacje genów kodujących białka supresorowe

Gen *TP53* koduje czynnik transkrypcyjny należący do najczęściej mutowanych białek supresorowych (ok. 50% wszystkich przypadków nowotworów litych i hematologicznych). Aktywowane przez różne czynniki (np. uszkodzenia DNA, hipoksja) białko p53 wpływa na zatrzymanie cyklu komórkowego lub indukcję apoptozy. Zaburzona funkcja p53 w AML może być spowodowana delecjami i mutacjami punktowymi, prowadzącymi najczęściej do zmian w sekwencji aminokwasów białka. Mutacje te występują w około 10% przypadków AML *de novo*. Częstość występowania mutacji genu *TP53* jest większa także we wtórnych MDS i AML, związanych z wcześniejszym stosowaniem czynników alkilujących, pochodnych platyny lub inhibitorów topoizomerazy II. Chorych z mutacjami *TP53* charakteryzuje skrócone przeżycie całkowite (OS, *overall survival*).

Gen *WT1* zlokalizowany na chromosomie 11p13 koduje czynnik transkrypcyjny, który może pełnić zarówno rolę supresorową, jak i onkogeną. Jego mutacje są spotykane u 5–10% chorych na AML. Większość mutacji dotyczy eksonów 7 i 9 i ma

charakter mutacji punktowych i insercji. Obecność tych mutacji u chorych na AML poniżej 60. roku życia jest związana z krótszym przeżyciem wolnym od progresji (PFS, *progression-free survival*) oraz krótszym OS.

Zmiany epigenetyczne w nowotworach układu krwiotwórczego

Zaburzenia epigenetycznej regulacji ekspresji genów zaangażowanych w proces różnicowania stanowią częstą cechę chorych na MPN, MDS i AML. Mechanizmami odpowiedzialnymi za te zaburzenia są mutacje genów kodujących białka odpowiedzialne za modyfikacje epigenetyczne, między innymi *IDH1*, *IDH2* (*isocitrate dehydrogenase 1/2*), *TET2* (*tet methylcytosine dioxygenase 2*), *DNMT3A* (*DNA cytosine methyltransferase 3*), *ASXL1* (*additional sex combs like 1*) i *EZH2* (*enhancer of zeste homolog 2*). Poza rolę w patogenezie MDS, MPN i AML ich mutacje wpływają na przebieg kliniczny tych nowotworów (tab. 5) [31].

Mutacje genów kodujących inne białka związane z patogenezą chorób nowotworowych układu krwiotwórczego o znaczeniu prognostycznym

Gen *CEBPA* (*CCAAT/enhancer binding protein alpha*) koduje czynnik transkrypcyjny, który pełni istotną rolę w proliferacji i różnicowaniu granulocytów [32]. Stymuluje on transkrypcję genów kodujących, między innymi interleukiny 6 (IL-6), G-CSF i mieloperoksydazę. Mutacje tego genu są spotykane w 5–15% przypadków AML i powodują ekspresję skróconej formy proteiny o utraconej funkcji transaktywacyjnej lub formy niezdolnej do dimeryzacji i wiązania DNA. Komórki białaczkowe z mutacjami *CEBPA* wykazują odmienny profil ekspresji genów od komórek niezmutowanych, obserwowany zwłaszcza w przypadkach mutacji biallelicznych. Mutacja *CEBPA* jest korzystnym czynnikiem rokowniczym, szczególnie wśród chorych z niezmutowanym receptorem FLT3.

Gen *NPM1* koduje wielofunkcyjne białko, zaangażowane między innymi w biogenezę rybosomów, duplikację centrosomu, naprawę DNA, odpowiedź na stres oraz regulację białek supresorowych p53 i ARF [33, 34]. Mutacje *NPM1* występują w około 50% przypadków AML z prawidłowym kariotypem. W 5–15% przypadków AML z mutacją tego genu diagnozuje się dodatkowe zaburzenia, takie jak trisomia chromosomu 8 lub delecja chromosomu 9. Białko NPM1 typu dzikie-

go przemieszcza się dynamicznie między jądrem a cytozolem, a jego mutacje w AML prowadzą do retencji NPM1 w cytoplazmie. Komórki białaczkowe z mutacjami *NPM1* charakteryzują się unikatowym profilem ekspresji genów, obejmującym między innymi nadekspresję genów *HOX* i niską ekspresję niekorzystnych rokowniczo BAALC (*brain and acute leukemia, cytoplasmic*) i ERG (*ets related gene*). U chorych, u których nie występują dodatkowe zaburzenia, mutacja *NPM1* jest korzystnym czynnikiem rokowniczym.

Mutacje *SETBP1* (*SET binding protein 1*) występują u około 25% chorych na aCML, różniące się od CML brakiem genu fuzyjnego *BCR-ABL1*. Mutacje tego genu występują również u chorych na CMML (ok. 4% przypadków). Mutacje *SETBP1* u chorych na aCML wiążą się z gorszym rokowaniem niż u chorych bez mutacji. Gen *SF3B1* (*splicing factor 3b, subunit 1*) koduje białko regulujące proces edycji i składania RNA (*splicing*), a jego mutacje są najczęściej identyfikowane u chorych z MDS [35]. Konsekwencje tych mutacji to retencja intronów lub niewłaściwy alternatywny *splicing* transkrybowanych genów. W przypadku mutacji *SF3B1* wiążą się one najprawdopodobniej z niewłaściwą edycją mRNA dla białka RUNX1. Mutacje *SF3B1* występują u 7% chorych na MDS, u 4,5% chorych na CMML i u 5% chorych na AML/MDS.

Zaburzenia ekspresji genów o znaczeniu prognostycznym w nowotworach układu krwiotwórczego

Prawidłowe komórki progenitorowe charakteryzują się niską ekspresją genu *BAALC*. Jego wysoka ekspresja u chorych na AML z prawidłowym kariotypem (CN-AML, *cytogenetically normal AML*) jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. Najsilniejszy efekt prognostyczny związany z nadekspresją BAALC obserwuje się u chorych, u których nie stwierdzono towarzyszących mutacji *CEBPA* i *FLT3-ITD*. Wysoka ekspresja genu *ERG*, podobnie jak w przypadku *BAALC*, jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych na CN-AML i wiąże się ze zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby oraz krótszym czasem przeżycia chorych [36].

Gen *MN1* (*meningioma [disrupted in balanced translocation] 1*) koduje koaktywator transkrypcyjny związany z regulacją aktywności p53 i Bim [37]. Ekspresja genu *MN1* jest niezależnym czynnikiem prognostycznym u chorych na CN-AML. Wysoka ekspresja tego genu koreluje ze słabą odpowiedzią na leczenie indukujące, zwiększonym prawdopo-

dobieństwem nawrotu choroby oraz krótkim OS u tych pacjentów.

MikroRNA w patogenezie nowotworów układu krwiotwórczego

MikroRNA (miRNA) należą do krótkich (18–25 zasad) niekodujących RNA, które regulują ekspresję genów poprzez wiązanie się do częściowo komplementarnych sekwencji zlokalizowanych w 3'UTR (*untranslated region*) mRNA, prowadząc do zahamowania translacji białka lub degradacji mRNA. Ekspresja niektórych mikroRNA (np. miR-155, miR-196b, miR-223, miR-29b-1) wpływa na prawidłowy przebieg różnicowania komórek krwi, a zaburzenia w ich ekspresji prowadzą do aktywacji onkogenów lub inaktywacji białek supresorowych i stanowią istotny czynnik w patogenezie białaczek [38, 39]. Patogenetyczny wpływ ekspresji poszczególnych mikroRNA lub ich grup w AML sugeruje również ich związek z przebiegiem klinicznym choroby. Wysoka ekspresja miR-181a wiąże się z wyższym odsetkiem uzyskiwanych całkowitych remisji i dłuższym OS u chorych na CN-AML oraz u chorych obciążonych molekularnymi czynnikami ryzyka [40].

Podsumowanie

Nowotwory układu krwiotwórczego wywodzą się z prekursorowych komórek krwiotwórczych i stanowią heterogenną pod względem molekularnym i klinicznym grupę chorób. Zdarzeniem inicjującym nowotworzenie są genetyczne aberracje strukturalne prowadzące do deregulacji onkogenów i/lub utraty genów supresorowych, a w konsekwencji — zaburzeń różnicowania, niekontrolowanej proliferacji i wzrostu, zaburzeń w kontroli i przebiegu apoptozy, deregulacji układów przewodzenia sygnału i zmian metabolicznych. Poznanie tych mechanizmów patogenetycznych pozwala uporządkować klasyfikację wspomnianych chorób oraz wskazać zaburzenia molekularne o największym wpływie na przebieg kliniczny. Ich włączenie do panelu badań diagnostycznych pozwala na bardziej precyzyjną ocenę ryzyka u chorych na AML. Badania dotyczące podstaw molekularnych w nowotworach układu krwiotwórczego stanowią ponadto podstawę do poszukiwań racjonalnych celów i strategii terapeutycznych, ukierunkowanych na wyłączenie kluczowych mechanizmów patogenetycznych w tych nowotworach oraz personalizacji terapii.

Piśmiennictwo

1. Ceredig R., Rolink A.G., Brown G. Models of haematopoiesis: seeing the wood for the trees. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 293–300.
2. Wang L.D., Wagers A.J. Dynamic niches in the origination and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2011; 12: 643–655.
3. Mendez-Ferrer S., Michurina T.V., Ferraro F. i wsp. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010; 466: 829–834.
4. Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W. i wsp. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003; 425: 841–846.
5. Sugiyama T., Kohara H., Noda M., Nagasawa T. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity* 2006; 25: 977–988.
6. Rosenbauer F., Tenen D.G. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7: 105–117.
7. Cedar H., Bergman Y. Epigenetics of haematopoietic cell development. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11: 478–488.
8. Metcalf D. Hematopoietic cytokines. *Blood* 2008; 111: 485–491.
9. Gilliland D.G., Griffin J.D. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* 2002; 100: 1532–1542.
10. Broudy V.C. Stem cell factor and hematopoiesis. *Blood* 1997; 90: 1345–1364.
11. Ronnstrand L. Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit. *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 2535–2548.
12. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 2002; 16: 6–21.
13. Broske A.M., Vockentanz L., Kharazi S. i wsp. DNA methylation protects hematopoietic stem cell multipotency from myeloerythroid restriction. *Nat. Genet.* 2009; 41: 1207–1215.
14. Trowbridge J.J., Snow J.W., Kim J., Orkin S.H. DNA methyltransferase 1 is essential for and uniquely regulates hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell. Stem Cell.* 2009; 5: 442–449.
15. Link K.A., Chou F.S., Mulloy J.C. Core binding factor at the crossroads: determining the fate of the HSC. *J. Cell. Physiol.* 2010; 222: 50–56.
16. Linggi B., Muller-Tidow C., van de Locht L. i wsp. The t(8;21) fusion protein, AML1 ETO, specifically represses the transcription of the p14(ARF) tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Nat. Med.* 2002; 8: 743–750.
17. Grignani F., De Matteis S., Nervi C. i wsp. Fusion proteins of the retinoic acid receptor-alpha recruit histone deacetylase in promyelocytic leukaemia. *Nature* 1998; 391: 815–818.
18. Ernst P., Mabon M., Davidson A.J., Zon L.I., Korsmeyer S.J. An Mll-dependent Hox program drives hematopoietic progenitor expansion. *Curr. Biol.* 2004; 14: 2063–2069.
19. Artinger E.L., Mishra B.P., Zaffuto K.M. i wsp. An MLL-dependent network sustains hematopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2013; 110: 12000–12005.
20. Somervaille T.C., Cleary M.L. Identification and characterization of leukemia stem cells in murine MLL-AF9 acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2006; 10: 257–268.
21. Cilloni D., Saglio G. Molecular pathways: BCR-ABL. *Clin. Cancer Res.* 2011; 18: 930–937.
22. Toffalini F., Hellberg C., Demoulin J.B. Critical role of the platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) beta transmembrane

- domain in the TEL-PDGFRbeta cytosolic oncoprotein. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 12268–12278.
23. Lee J.H., Skalniak D.G. Rbm15-Mkl1 interacts with the Setd1b histone H3-Lys4 methyltransferase via a SPOC domain that is required for cytokine-independent proliferation. *PLoS One* 2012; 7: e42965.
24. Boultonwood J. The role of haploinsufficiency of RPS14 and p53 activation in the molecular pathogenesis of the 5q- syndrome. *Pediatr. Rep.* 2011; 3: e10.
25. Chian R., Young S., Danilkovitch-Miagkova A. i wsp. Phosphatidylinositol 3 kinase contributes to the transformation of hematopoietic cells by the D816V c-Kit mutant. *Blood* 2001; 98: 1365–1373.
26. Kohl T.M., Schnittger S., Ellwart J.W., Hiddemann W., Spiekermann K. KIT exon 8 mutations associated with core-binding factor (CBF)-acute myeloid leukemia (AML) cause hyperactivation of the receptor in response to stem cell factor. *Blood* 2005; 105: 3319–3321.
27. Kralovics R., Passamonti F., Buser A.S. i wsp. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 1779–1790.
28. Malumbres M., Barbacid M. RAS oncogenes: the first 30 years. *Nat. Rev. Cancer* 2003; 3: 459–465.
29. Van Meter M.E., Diaz-Flores E., Archard J.A. i wsp. K-RasG12D expression induces hyperproliferation and aberrant signaling in primary hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood* 2007; 109: 3945–3952.
30. Chaligne R., Tonetti C., Besancenot R. i wsp. New mutations of MPL in primitive myelofibrosis: only the MPL W515 mutations promote a G1/S-phase transition. *Leukemia* 2008; 22: 1557–1566.
31. Shih A.H., Abdel-Wahab O., Patel J.P., Levine R.L. The role of mutations in epigenetic regulators in myeloid malignancies. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12: 599–612.
32. Tenen D.G., Hromas R., Licht J.D., Zhang D.E. Transcription factors, normal myeloid development, and leukemia. *Blood* 1997; 90: 489–519.
33. Bertwistle D., Sugimoto M., Sherr C.J. Physical and functional interactions of the Arf tumor suppressor protein with nucleophosmin/B23. *Mol. Cell. Biol.* 2004; 24: 985–996.
34. Colombo E., Marine J.C., Danovi D., Falini B., Pelicci P.G. Nucleophosmin regulates the stability and transcriptional activity of p53. *Nat. Cell. Biol.* 2002; 4: 529–533.
35. Yoshida K., Sanada M., Shiraishi Y. i wsp. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature* 2011; 478: 64–69.
36. Metzeler K.H., Dufour A., Benthaus T. i wsp. ERG expression is an independent prognostic factor and allows refined risk stratification in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a comprehensive analysis of ERG, MN1, and BAALC transcript levels using oligonucleotide microarrays. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 5031–5038.
37. Pardee T.S. Overexpression of MN1 confers resistance to chemotherapy, accelerates leukemia onset, and suppresses p53 and Bim induction. *PLoS One* 2012; 7: e43185.
38. Fazi F., Rosa A., Fatica A. i wsp. A minicircuitry comprised of microRNA-223 and transcription factors NFI-A and C/EBPalpha regulates human granulopoiesis. *Cell* 2005; 123: 819–831.
39. O'Connell R.M., Rao D.S., Chaudhuri A.A. i wsp. Sustained expression of microRNA-155 in hematopoietic stem cells causes a myeloproliferative disorder. *J. Exp. Med.* 2008; 205: 585–594.
40. Marcucci G., Mrozek K., Radmacher M.D., Garzon R., Bloomfield C.D. The prognostic and functional role of microRNAs in acute myeloid leukemia. *Blood* 2011; 117: 1121–1129.