Клиническая онкогематология. 2016;9(3):245–56
ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

Clinical oncohematology. 2016;9(3):245–56
ONCO clinical HEMATOLOGY

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Мутации генов при острых миелоидных лейкозах

О.В. Блау

Клиника Шарите, Берлинский медицинский университет, ул. Хинденбургдамм, д. 30, Берлин, Германия, 12200

РЕФЕРАТ

Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) — клональное злокачественное заболевание, характеризующееся неэффективным гемопоэзом. Большинство больных ОМЛ имеют различные цитогенетические и молекулярно-генетические повреждения, которые сочетаются с определенными биологическими и клиническими особенностями заболевания. Примерно у 50–60 % больных *de novo* и у 80–95 % больных вторичными ОМЛ обнаруживаются хромосомные изменения. Следует отметить, что структурные цитогенетические аберрации являются наиболее частыми маркерами и встречаются примерно в 40 % случаев ОМЛ *de novo*. Достаточно большая группа больных с нормальным кариотипом (НК-ОМЛ), формально относящаяся к категории промежуточного риска, является крайне гетерогенной в отношении прогноза течения заболевания. В действующие прогностические классификации ОМЛ включены сегодня только некоторые мутации, характеризующиеся известным прогностическим значением, в частности *NPM1*, *FLT3* и *C/EBP*α. Пациенты с *NPM1*, но без мутаций *FLT3*-ITD или с мутациями *C/EBP*α характеризуются благоприятным прогнозом заболевания, а с мутацией *FLT3*-ITD — неблагоприятным. Недавно выявлен новый класс мутаций, при которых повреждаются гены, ответственные за эпигенетические процессы регуляции генома, в частности метилирование ДНК или модификацию гистонов. Среди них наиболее изученными к настоящему времени являются мутации в генах *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2* и некоторых других. В целом ряде исследований показан неблагоприятный прогностический эффект мутации *DNMT3A* при ОМЛ. Что касается прогностического значения *IDH1/2*, то данный вопрос еще не до конца ясен. На прогноз заболевания влияет ряд биологических факторов, в т. ч. сочетание с цитогенетическими аберрациями и другими мутациями, особенно *FLT3* и *NPM1*. Число исследований, посвященных генетическим мутациям при ОМЛ, постоянно растет. Накопленные к настоящему времени знания о генетических изменениях при ОМЛ подтверждают их роль в возникновении и развитии заболевания.

Ключевые слова: острый миелобластный лейкоз, ОМЛ, кариотип, цитогенетические аберрации, мутации генов, прогноз.

Genetic Mutations in Acute Myeloid Leukemia

OV Blau

Charite Clinic, Berlin Medical University, 30 Hindenburgdamm, Berlin, Germany, 12200

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a clonal malignancy characterized by ineffective hematopoiesis. Most AML patients present different cytogenetic and molecular defects associated with certain biologic and clinical features of the disease. Approximately 50–60 % of *de novo* AML and 80–95 % of secondary AML patients demonstrate chromosomal aberrations. Structural chromosomal aberrations are the most common cytogenetic abnormalities in about of 40 % of *de novo* AML patients. A relatively large group of intermediate risk patients with cytogenetically normal (CN) AML demonstrates a variety of outcomes. Current AML prognostic classifications include only some mutations with known prognostic value, namely *NPM1*, *FLT3* and *C/EBP*α. Patients with *NPM1* mutation, but without *FLT3*-ITD or *C/EBP*α mutations have a favorable prognosis, whereas patients with *FLT3*-ITD mutation have a poor prognosis. A new class of mutations affecting genes responsible for epigenetic mechanisms of genome regulations, namely for DNA methylation and histone modification, was found recently. Among them, mutations in genes *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2* and some others are the most well-studied mutations to date. A number of studies demonstrated an unfavorable prognostic effect of the *DNMT3A* mutation in AML. The prognostic significance of the *IDH1/2* gene is still unclear. The prognosis is affected by a number of biological factors, including those associated with cytogenetic aberrations and other mutations, especially *FLT3* and *NPM1*. The number of studies of genetic mutations in AML keeps growing. The data on genetic aberrations in AML obtained to date confirm their role in the onset and development of the disease.

Keywords: acute myeloid leukemia, AML, karyotype, cytogenetic aberrations, gene mutation, prognosis.

Получено: 23 января 2016 г.
Принято в печать: 4 апреля 2016 г.

Для переписки: Ольга Владимировна Блау, д-р мед. наук, Department of Hematology, Oncology and Tumorimmunology, Charite University School of Medicine, Hindenburgdamm 30, 12200, Berlin, Germany; e-mail: olga.blau@charite.de.

Для цитирования: Блау О.В. Мутации генов при острых миелоидных лейкозах. Клиническая онкогематология. 2016;9(3):245–56.
DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-245-256

Received: January 23, 2016
Accepted: April 4, 2016

For correspondence: Ol'ga Vladimirovna Blau, DSci, Department of Hematology, Oncology and Tumorimmunology, Charite University School of Medicine, Hindenburgdamm 30, 12200, Berlin, Germany; e-mail: olga.blau@charite.de.

For citation: Blau OV. Genetic Mutations in Acute Myeloid Leukemia. Clinical oncohematology. 2016;9(3):245–56 (In Russ).
DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-245-256

ВВЕДЕНИЕ

Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) — один из наиболее частых вариантов лейкозов взрослых. Достигнутый в последние годы прогресс в области молекулярных технологий привел к выявлению большого числа различных генетических дефектов у больных ОМЛ. В настоящее время доказано, что лейкозный клон образуется и развивается в результате ряда последовательных генетических аберраций, происходящих в клетках-предшественницах гемопоэза [1]. Согласно общепринятой гипотезе Кнудсона, для развития опухолевого процесса необходимо наличие нескольких последовательных мутаций. Многочисленные экспериментальные исследования, выполненные на мышах, подтвердили важное патогенетическое значение генетических аномалий при лейкозах. Полученные данные позволили первоначально разделить генетические изменения на две принципиально различные группы. Мутации, относящиеся к I классу, дают клетке преимущества пролиферации и выживания. В то же время мутации II класса блокируют дифференцировку клеток и поддерживают процессы самоподдержания и воспроизведения злокачественных клеток [2–4]. В последние годы, благодаря использованию возможностей глобального секвенирования, стало очевидным, что некоторые мутации появляются в клетках задолго до выявления симптомов заболевания [5].

То, что так называемые ранние мутации могут длительно существовать в гемопоэтических клетках без развития лейкоза, а также то, что такие клетки могут стать мишенью для последующих мутаций, доказано многими исследователями на экспериментальных моделях [6].

Классический анализ кариотипа позволяет выявить изменения хромосом примерно у половины больных ОМЛ. Многие хромосомные аберрации являются независимыми прогностическими факторами и включены в современную классификацию ОМЛ, опубликованную Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [7]. Больные с нормальным кариотипом (НК), согласно международной классификации, относятся к промежуточной группе риска. Однако хорошо известно, что клиническая картина и прогноз заболевания в этой группе больных бывают очень разными. Идентификация мутаций у больных с НК позволяет не только выделить категории больных с определенным прогнозом, но и понять молекулярный патогенез заболевания. Более 85 % больных НК-ОМЛ имеют мутации генома [8]. Некоторые из этих мутаций не только дополняют прогностическую информацию, но и являются потенциальной основой для развития новых возможностей таргетной терапии. Хотя уже сегодня некоторые мутации включены в действующую классификацию ВОЗ и рекомендации европейских экспертов, необходимо более детальное изучение молекулярной архитектоники лейкоза [9].

МУТАЦИИ ГЕНА *NPM1*

Семейство белков нуклеофосмина (nucleophosmin/nucleoplasmin, NPM) выполняет разнообразные функции в клетках человека. Ген *NPM1* находится на длинном плече хромосомы 5 (5q35) и кодирует фосфопротеид, который осуществляет связь между ядром и цитоплазмой. Этот белок вовлечен в целый ряд фундаментальных клеточных процессов, в частности он участвует в моделировании хроматина, поддержке стабильности генома, образовании рибосом, дупликации ДНК и регуляции транскрипции. Кроме того, ген *NPM1*, взаимодействуя с рядом белков митотического веретена и ядрышка, включен в регуляцию ARF/p53-зависимого пути [10, 11]. *NPM1* определенно имеет функции как гена — стимулятора роста, так и гена опухолевой супрессии [11, 12].

Известно несколько хромосомных транслокаций, в которые вовлечен ген *NPM1*. Эти генетические аберрации, как правило, повреждают клеточный транспорт *NPM1* [13]. В результате транслокации t(3;5)(q25;q35) образуется генетическая последовательность *NPM1–MLF1* (myelodysplasia/myeloid leukaemia factor 1). При этом нарушается нормальная экспрессия гена *NPM1* в цитоплазме [14]. В редких случаях острого промиелоцитарного лейкоза с транслокацией t(5;17) образуется слитный химерный белок NPM1-RARα [15]. Многими исследователями доказана трансформирующая роль генетических последовательностей, партнеров по транслокациям. Кроме того, в исследованиях на мышах было показано, что *NPM1* может играть роль гена опухолевой супрессии и, следовательно, участвовать в развитии лейкоза [16–18].

Мутации гена *NPM1* являются наиболее частыми генетическими изменениями и встречаются примерно в 25–30 % всех ОМЛ и в 60–85 % НК-ОМЛ [13, 19, 20]. Мутации гена *NPM1* отличаются большим разнообразием, известно более 50 их различных вариантов. Наиболее типичный тип мутации — это вставка четырех нуклеотидов в экзоне 12. Вариант А мутации *NPM1*, который выявлен примерно в 95 % всех мутаций *NPM1*, представляет собой вставку мотива TCTG в 288-й триплет, кодирующий триптофан [14, 20, 21]. В результате мутации происходят необратимые изменения в С-терминальном конце белка

и потеря его нормальной функции. Взаимодействие измененного белка с ядром становится невозможным. Накопление белка в цитоплазме можно определить, используя иммуноцитохимическую окраску [21, 22].

Мутация *NPM1* нередко выявляется одновременно с другими типичными мутациями, особенно часто она обнаруживается вместе с *FLT3* (fms-related tyrosine kinase 3), *DNMT3A* (DNA cytosine-5-methyltransferase 3 alpha), *IDH1* и *IDH2* (isocitrate dehydrogenase 1 and 2 [NADP+]), *NRAS* (neuroblastoma RAS viral [v-ras]) oncogene homolog) и некоторыми другими. Скорее всего, эти генетические изменения не накапливаются в случайном порядке, а появляются на разных этапах развития ОМЛ и в процессе его трансформации [5, 23].

Наличие мутации *NPM1* обычно свидетельствует о хорошем прогнозе заболевания, хотя прогноз в значительной степени зависит и от присутствия других конкурентных генетических изменений. Мутация *NPM1* является благоприятным прогностическим маркером даже у пожилых больных старше 60 лет, но только в тех случаях, когда не выявляется мутация *FLT3*-ITD [9]. В соответствии с рекомендациями ELN (European LeukaemiaNet) НК-ОМЛ с *NPM1* и без мутации *FLT3*-ITD соответствуют благоприятному прогнозу заболевания и не имеют показаний к выполнению аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) в первой полной ремиссии (ПР) [9]. Сообщения о прогнозе ОМЛ с мутациями *NPM1* и *IDH1* или *IDH2* пока достаточно противоречивые. С одной стороны, имеются публикации, свидетельствующие о благоприятном прогнозе заболевания у пациентов с мутациями *NPM1* и *IDH1* или *IDH2* [8]. В то же время есть данные о неблагоприятном прогнозе заболевания у данной категории больных даже в отсутствие мутации *FLT3*-ITD [24].

Поскольку мутация *NPM1* отличается стабильностью и относительной гомогенностью на протяжении заболевания, она представляет собой чувствительный генетический маркер для исследования минимальной остаточной болезни (МОБ). Изучение мутации *NPM1* позволяет рано и с высокой чувствительностью определять минимальный лейкозный клон клеток и выявлять больных с повышенным риском рецидива заболевания [25–28].

МУТАЦИИ ГЕНА *FLT3*

Ген *FLT3* находится на хромосоме 13, в локусе 13q12 и кодирует белок, известный как fms-like tyrosine kinase 3. Этот белок относится к семейству рецепторов тирозинкиназы (РТК). РТК передают сигналы от поверхности клетки посредством молекул сигнальной трансдукции. Белки, относящиеся к семейству FLT3, характеризуются наличием внеклеточного домена, состоящего из 5 иммуноглобулиноподобных и 2 цитоплазматических доменов со специфическим тирозинкиназным мотивом [29, 30]. FLT3 локализован на клеточной мембране определенных типов клеток, высоко экспрессируется на CD34+ гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) и менее выражен на поверхности более зрелых элементов моноцитарной линии. Кроме того, экспрессия гена *FLT3* описана в клетках печени, селезенки, тимуса и плаценты [30, 31].

Активация белка FLT3 происходит на клеточной мембране в результате связывания его с лигандом. Лиганд FLT3 (FL) относится к семейству цитокинов. Он представляет собой трансмембранный белок, который может переходить в растворимую форму во внеклеточном пространстве и взаимодействовать с рецептором. FL продуцируется клетками костномозгового микроокружения и некоторыми гемопоэтическими клетками. Связывание с FL вызывает димеризацию и активацию рецептора. Переход рецептора в активное состояние сопровождается фосфорилированием тирозиновых остатков тирозинкиназного домена ТК2. Эти аминокислотные остатки формируют зоны связывания внутриклеточных белков Src-киназ, что приводит к запуску целого каскада реакций, относящихся к различным сигнальным путям, включая STAT5, RAS/MAP и PI3K/AKT. Сигнальные пути, которые стимулируются FLT3, контролируют многие важные процессы в гемопоэтических клетках, а именно: клеточный рост, пролиферацию и продолжительность жизни клеток [32, 33].

FLT3 состоит из внеклеточного домена и 2 цитоплазматических тирозинкиназных доменов, связанных друг с другом трансмембранным доменом (ТМ). Рецепторная часть, расположенная на клеточной мембране, состоит из 5 иммуноглобулиноподобных доменов, которые могут связываться с лигандом. Внутриклеточная часть состоит из юкстамембранного или подмембранного домена (juxtamembrane domain, JMD) и двух каталитических тирозинкиназных доменов (tyrosine kinase domains, TKD1 и TKD2) [34].

При ОМЛ известно два основных типа мутации: внутреннее тандемное удвоение нуклеотидов (internal tandem duplication, ITD) иногда со вставками добавочных нуклеотидов в экзонах 14–15 и точечная мутация в домене TKD1.

FLT3-ITD является наиболее частой мутацией у больных ОМЛ. Она обнаружена у 25 % взрослых пациентов и у 15 % детей с ОМЛ [9, 35–37]. Известно, что мутация *FLT3*-ITD отличается значительным разнообразием как по своей локализации, так и по величине и числу тандемных повторов. Удвоенный участок варьирует по величине от 3 до 400 нуклеотидов, но всегда находится в пределах 14-го и 15-го экзонов *FLT3*. Образующиеся при этом последовательности нуклеотидов обычно определяются в пределах рамки считывания [38]. Удвоенные фрагменты не всегда локализуются в JMD, примерно 25 % всех мутаций выявлены за его пределами [39–41].

Мутации *FLT3* приводят к независимой от лиганда димеризации и неконтролируемой активации рецептора. В результате мутации рецептор переходит в состояние активации и проводит сигнал без контакта с FL. В данном варианте запускаемый каскад реакций становится более длительным, чем в норме, что может привести к неконтролируемой стимуляции экспрессии соответственных генов, направленных на пролиферацию [42, 43]. Кроме того, рецептор может активировать не только Src-киназы, но и другие активные молекулы, например STAT5. Это, в свою очередь, запускает активацию ассоциированных генов, что, в частности, может приводить к блокированию клеточного апоптоза [42, 43].

Больные ОМЛ с мутацией *FLT3*-ITD имеют неблагоприятный прогноз заболевания с высокой частотой рецидивов и короткой средней продолжительностью жизни [23, 36, 44–46]. Важное прогностическое значение имеет показатель соотношения мутации к дикому типу гена, так называемое соотношение аллелей, которое

можно определить при количественной оценке мутации с помощью анализа фрагментов ДНК. Многие исследователи показали, что прогноз заболевания статистически значимо хуже у больных с высоким уровнем аллельного соотношения, т. е. с бóльшим количеством мутировавших клеток [40, 41, 44]. Некоторые авторы обнаружили, что локализация мутации вне JMD связана с худшим прогнозом заболевания [40]. Наличие нескольких мутаций, по всей вероятности, не отражается на прогнозе заболевания [41]. Больным ОМЛ с мутацией *FLT3*-ITD показана аллоТГСК в первой ПР [47]. Результаты исследований, опубликованных германско-австрийской группой по изучению ОМЛ, показали, что выполнение аллоТГСК позволяет надеяться на хороший прогноз у больных ОМЛ с высоким аллельным соотношением [41].

Другой вариант мутации *FLT3* — это точечная мутация в домене TKD1, встречается примерно у 10 % больных ОМЛ, как детей, так и взрослых [48]. Эта мутация также приводит к активации тирозинкиназы. Наиболее часто мутация *FLT3*-TKD1 встречается в кодоне 835, трансформируя аспарагиновую кислоту в тирозин (D835Y). Описано также несколько других более редких мутаций в том же кодоне: D835V, D835E, D835H. Редко встречаются мутации в других кодонах, например мутация G831E или R834Q, а также делеция изолейцина в кодоне 836 [36, 45, 48]. Мутации *FLT3*-TKD1 отличаются от *FLT3*-ITD по своим трансформирующим возможностям. Прогностическое значение мутации *FLT3*-TKD1 остается неясным. Противоречивые данные, вероятно, объясняются редкостью этих мутаций [49, 50].

Имеются сообщения о специфических изменениях в генной экспрессии у больных НК-ОМЛ с мутациями *FLT3*-ITD или *FLT3*-TKD1. Было показано, что повышенная экспрессия гена *FLT3* дикого типа является неблагоприятным прогностическим фактором [51]. Результаты секвенирования свидетельствуют, что мутация *FLT3* довольно часто встречается вместе с другими генетическими аберрациями, особенно с такими, как мутации *DNMT3A* (13,3 %), *NPM1* (6,8 %), *WT1* (5 %), *RUNX1* (3,5 %), *MLL* (2,5 %), *C/EBP*α (1,5 %) и CBF (1,5 %) [8, 52]. Прогноз заболевания у больных с комплексными мутациями всегда определяется наличием *FLT3*-ITD. Было неоднократно показано, что мутация *FLT3* всегда определяет плохой прогноз и нивелирует благоприятное прогностическое значение других сопутствующих мутаций, в частности *NPM1* или *TET2* [8, 53].

При изучении мутационного статуса больных ОМЛ в динамике заболевания было выявлено, что примерно у 30 % пациентов тип мутации *FLT3*-ITD в дебюте заболевания может отличаться от типа мутации при рецидиве лейкоза. Кроме того, нередко *FLT3*-ITD выявляется впервые только при рецидиве болезни. Вероятно, эта мутация образуется в отдельном субклоне лейкозных клеток, отражая процесс прогрессии и клональной эволюции лейкоза. Данные о нестабильности мутации *FLT3*-ITD позволяют предположить патогенетическую трансформирующую роль мутации, которая, по-видимому, является вторичным событием в развитии лейкоза и поддерживает создание новых клонов лейкозных клеток [54, 55].

Достаточно высокая частота и важное прогностическое значение сделали мутацию *FLT3* перспективной терапевтической мишенью. В настоящее время разработан или изучается в клинических исследованиях целый ряд препаратов, направленных против тирозинкиназной активности FLT3. Различные препараты характеризуются разной степенью эффективности. Кроме того, нередко выявляется резистентность при монотерапии [56]. Одним из механизмов приобретенной резистентности к некоторым ингибиторам тирозинкиназы является присутствие мутации *FLT3*-TKD1 при рецидиве заболевания [57]. Более того, есть сообщения, что бласты с мутацией *FLT3*-TKD1 не проявляют достаточной чувствительности к ингибиторам тирозинкиназы [58].

МУТАЦИИ ГЕНА *C/EBP*α

Ген *C/EBP*α (CCAAT/enhancer-binding protein α) находится на хромосоме 19q13.1. Он кодирует транскрипционный фактор, который содержит 2 трансактивационных домена, ДНК-распознающий основной домен и спиральную структуру (так называемый zipper region), обеспечивающий димеризацию. Этот белок способен распознавать CCAAT-последовательности в промоторах определенных генов [59]. Активность *C/EBP*α может изменять экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию клеточного цикла. *C/EBP*α непосредственно взаимодействует с циклинзависимыми киназами-2 и -4 и, блокируя контакт этих киназ с циклинами, останавливает пролиферацию клеток [60]. Ген *C/EBP*α как транскрипционный фактор участвует в регуляции линейной дифференцировки клеток и влияет на образование нейтрофилов из клеток-предшественниц миелоидной линии. *C/EBP*α высоко экспрессируется в миеломоноцитах, его активирование необходимо для запуска процессов гранулоцитарной дифференцировки. Кроме того, как было показано в экспериментах, *C/EBP*α способен блокировать клеточную дифференцировку [61, 62]. *C/EBP*α участвует в регуляции экспрессии ряда других генов, среди которых гены рецепторов факторов роста гранулоцитов, макрофагов, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и некоторые другие [59, 61]. Многими исследователями было неоднократно показано, что *C/EBP*α как общий ингибитор клеточной пролиферации является геном опухолевой супрессии [63, 64].

В результате мутации в гене *C/EBP*α нарушается его способность связывания с ДНК. Впервые мутации в этом гене были описаны T. Pabst и соавт. в 2001 г. [65]. Мутации *C/EBP*α встречаются у 8–10 % больных НК-ОМЛ, причем значительно чаще у больных с M1- и M2-вариантами ОМЛ [65, 66]. Мутации *C/EBP*α, как правило, сопровождаются низким уровнем лейкоцитов в крови, низкой активностью лактатдегидрогеназы и аберрантной экспрессией Т-клеточных маркеров, например CD7, в дебюте заболевания [67].

Хотя мутации *C/EBP*α отмечены по всей длине кодирующего региона гена, значительно чаще повреждаются два фрагмента: N-терминальный и С-терминальный районы. N-терминальные мутации приводят к повреждению всего белка C/EBPα. N-терминальные мутации — это нонсенс-мутации, определяющие доминантно-негативное воздействие на неизмененный белок C/EBPα. Поскольку мутировавшие белки блокируют связывание белка дикого типа, происходит трансактивация генов-мишеней и блок дифференцировки миелоидных клеток-предшественниц. При N-терминальных мутациях развиваются частично

детерминированные миелоидные предшественники, которые и служат основой лейкозного клона клеток. С-терминальные мутации обычно расположены между основным кодирующим регионом и последовательностью, кодирующей zipper-регион. В результате мутации нарушается связывание ДНК поврежденным белком, а также изменение димеризации с другими белками-партнерами [66]. Большинство С-терминальных мутаций относится к гомозиготным. В таких ситуациях С-терминальные мутации приводят к повышенной пролиферации стволовых клеток и блокируют дифференцировку миелоидных клеток. Сочетание N- и С-терминальных мутаций обусловливает более быстрое развитие заболевания [59, 60, 66, 68]. Патогенез лейкоза, развивающегося при *C/EBP*α-мутациях, был хорошо продемонстрирован в экспериментальных исследованиях на мышах [69].

Предполагается, что мутации *C/EBP*α происходят на ранних стадиях развития ОМЛ. Отмечено, что в отличие от мутаций *FLT3* большинство пациентов с мутациями *C/EBP*α имеют тот же тип мутации при рецидивах, что и во время первичной диагностики лейкоза [69]. В частности, в одном исследовании было показано, что у 91 % больных с ОМЛ *de novo* и мутациями *C/EBP*α сохранялись те же типы мутаций в рецидиве заболевания, однако могла изменяться их аллельная локализация [70].

Известно три различных варианта мутаций С/ЕВРα у больных ОМЛ. Примерно у половины выявляется одиночная мутация в одном аллеле (single mutation, *C/EBP*α-sm), при этом сохраняется экспрессия гена дикого типа. Другая группа пациентов имеет двойную мутацию (double-mutated *C/EBP*α, *C/EBP*α-dm). В этих случаях белка дикого типа нет. Некоторые из таких пациентов имеют биаллельную мутацию с N-терминальной мутацией и сдвигом рамки считывания в одном аллеле и С-терминальную мутацию в пределах рамки считывания — в другом [71, 72]. Гомозиготные мутации *C/EBP*α — это третий вариант аберрации. В таких случаях также нет белка дикого типа [73].

Изучение экспрессии генов у больных с различными мутациями *C/EBP*α показало, что все они имеют похожую картину. Тем не менее было обнаружено, что пациенты с С-терминальной мутацией *C/EBP*α-sm меньше отличаются по профилю экспрессии генов от больных с *C/EBP*α-dm, чем пациенты с N-терминальной мутацией *C/EBP*α-sm [68, 71, 74]. Кроме того, известно, что гомозиготные мутации *C/EBP*α имеют аналогичную *C/EBP*α-dm экспрессию генов, что позволяет рассматривать эти мутации как эквивалентные [75].

Большинство пациентов с мутацией *C/EBP*α имеют НК. Более того, эти мутации не были обнаружены у пациентов с прогностически благоприятным кариотипом [76]. Тем не менее отмечено сочетание делеции 9q и мутации *C/EBP*α [77].

Наличие сопутствующих генетических мутаций выявлено значительно реже у пациентов с *C/EBP*α-dm, чем с *C/EBP*α-sm. Этот факт особенно четко прослеживается в отношении мутаций *FLT3* и *NPM1*, которые практически не обнаруживаются у больных с *C/EBP*α-dm [68, 78, 79]. Известно, что мутации транскрипционного фактора *GATA2* часто сопровождают *C/EBP*α-dm [75].

Мутации *C/EBP*α ассоциируются с благоприятным прогнозом заболевания. Показано, что больные с данным генетическим изменением характеризуются удовлетворительными показателями безрецидивной и общей выживаемости [80–84]. Тем не менее есть сообщения, что благоприятный прогноз заболевания более характерен для *C/EBP*α-dm [71, 78]. Только *C/EBP*α-dm следует относить к благоприятным генетическим прогностическим маркерам ОМЛ [84]. Однако в настоящее время пока неясно, имеет ли прогностическое значение наличие дополнительных мутаций, в частности таких, как *FLT3*-ITD. Хотя некоторые группы авторов уже показали неблагоприятное прогностическое значение *FLT3*-ITD [82, 85], другими исследователями не выявлено ухудшения прогноза у пациентов с *FLT3*-ITD и мутациями *C/EBP*α [81]. Очевидно, что необходимы дальнейшие исследования для установления прогностического значения сопутствующих генетических маркеров на исход заболевания.

МУТАЦИИ ГЕНА *RUNX1*

Ген *RUNX1* (runt-related transcription factor 1) находится на хромосоме 21 в локусе q22 и состоит из 10 экзонов. Известно, что представители семейства белков RUNX воздействуют на регуляцию экспрессии генов путем временной их дезактивации, а также эпигенетически через повреждение хроматина. Белок RUNX1 представляет собой α-субъединицу фактора связывания с белком (core binding factor, CBF) и участвует в развитии нормального кроветворения. CBF — это гетеродимерный транскрипционный фактор, который связывается с основными элементами многих промоторных или энхансерных фрагментов генов [86]. Белок RUNX1 состоит из runt-гомологичного, транскрипционного и репрессионного доменов [87]. Ген *RUNX1* повреждается при транслокации t(8;21), в результате которой образуется химерный ген. Это один из наиболее часто повреждаемых генов при ОМЛ. Частота мутации гена *RUNX1* варьирует от 3 до 46 %. Такая разбросанность данных объясняется не только тем, что исследуются различные группы больных, но и выбором методов исследования, а также изучением разных фрагментов гена [88–90]. Роль мутации *RUNX1* в патогенезе лейкоза окончательно не определена. Мутации *RUNX1* можно отнести как к категории мутаций II класса, т. к. результатом мутации является блокирование дифференцировки гемопоэтических клеток, так и I класса, поскольку мутация обеспечивает преимущества роста клеток и тем самым приводит к развитию лейкоза [88]. Отмечено, что большинство больных с мутацией *RUNX1* имеют и другие сопутствующие или конкурентные генетические изменения, в частности *FLT3/ITD*, *FLT3/TKD*, *MLL/PTD*, *N-RAS* и др. Большинство из них относится к категории мутаций I класса [88].

ОМЛ с мутацией *RUNX1* характеризуются неблагоприятным прогнозом, что очень отличает такой генетический вариант заболевания от прогностически благоприятного ОМЛ с *RUNX1* и транслокацией t(8;21) [88, 90].

RUNX1 мутация редко встречается у больных ОМЛ с хромосомными аберрациями, относящимися к высокому риску, также редко она выявляется при цитогенетически благоприятном ОМЛ. Среди больных с промежуточным прогнозом заболевания мутация *RUNX1* наиболее часто описана у пациентов с НК, трисомией хромосом 8 и 13 [90, 91]. В некоторых исследованиях обнаружена высокая частота сочетания *RUNX1* с мутациями *FLT3* [88, 92]. Однако некоторые исследователи не подтверждают данное

наблюдение [89, 91]. В ряде исследований обнаружена корреляция мутации *RUNX1* с *MLL*-PTD и *IDH* и редкое сочетание с *NPM1* или *C/EBP*α [90, 93, 94]. В одном из перечисленных исследований выявлено, что тип мутации *RUNX1* в таких случаях отличается от типичного. Однако другие авторы не подтвердили этих наблюдений. Выявление определенных конкурентных мутаций у больных с *RUNX1*-позитивным ОМЛ объясняет неслучайный характер генетических дефектов и их важную роль в патогенезе лейкоза.

МУТАЦИИ ГЕНА *RAS*

Поскольку онкоген *RAS* был первым генетическим маркером, описанным у больных раком, он достаточно хорошо изучен. Название гена происходит от «rat sarcoma». Семейство *RAS* включает три гена: *HRAS*, который находится на хромосоме 11(p15.5), *KRAS*, локализованный на коротком плече хромосомы 12 (p12.1), и *NRAS* на хромосоме 1 (p13.2). Все три гена семейства *RAS* кодируют РТК, которые являются важными компонентами целого ряда сигнальных путей, контролирующих функционирование разнообразных клеточных процессов, таких как развитие, рост, миграция, апоптоз, старение и др. Взаимодействие между разными сигнальными путями, в свою очередь, контролируется целым рядом сигнальных молекул, образующих сеть, необходимую для соблюдения баланса клеточных процессов [95, 96]. Белок RAS, принимая сигнал от РТК на поверхности клетки, передает его через сигнальных партнеров в ядро клетки, определяя активность транскрипции факторов клеточного роста [97]. В нормальных физиологических условиях связывание рецептора с лигандом приводит к димеризации, фосфорилированию и активации белка RAS [98].

Мутации *RAS* часто обнаруживаются у больных ОМЛ. Наиболее частыми среди них являются мутации генов *NRAS* (25 %) и *KRAS* (15 %) [52]. Мутации приводят к активации и повышенной экспрессии РТК без участия лиганда. Активированный белок NRAS обеспечивает онкогенный эффект таких сигнальных путей, как MAPK, PI3K-AKT и Ral-GDS [97, 98]. В отличие от многих других мутации *NRAS* часто обнаруживаются у больных с миелодиспластическим синдромом (МДС), а также у пациентов со вторичными ОМЛ, развивающимися после МДС [89].

Несмотря на то что физиологическая роль и патогенез мутаций генов *RAS* достаточно хорошо изучены, в отношении прогностического значения этих мутаций у больных ОМЛ пока нет определенного мнения. В нескольких исследованиях показано отсутствие прогностического значения мутаций *RAS* у больных ОМЛ [99, 100]. В то же время есть данные, демонстрирующие негативное влияние этих мутаций на прогноз заболевания [101]. Кроме того, было показано, что у детей с ОМЛ мутации *RAS* часто выявляются вместе с прогностически благоприятными мутациями *NPM1* и их наличие не ухудшает прогноз заболевания [102]. Хотя преимущественного установления этих мутаций у больных с определенными цитогенетическими аберрациями не обнаружено [102], есть сообщения о выявлении мутаций *RAS* у больных ОМЛ с поломками хромосом 3 и 16 [100, 103]. Сочетание мутаций *NRAS* с другими генетическими маркерами, характерными для ОМЛ, описано редко. Обнаружена тенденция к совместному выявлению мутаций *RAS* и *NPM1*, но сочетание *RAS* с *FLT3-ITD*, *C/EBP*α или *WT1* выявляется крайне редко [99, 102].

МУТАЦИИ ГЕНА *KIT*

Ген *KIT* находится на длинном плече хромосомы 4. Белок KIT представляет собой трансмембранный гликопротеид, относящийся к III классу РТК. Подобно другим РТК, он включает в себя внеклеточный иммуноглобулиноподобный домен, трансмембранный, подмембранный и внутриклеточный домены [104]. Рецептор локализован в клеточной мембране и в физиологических условиях активируется связыванием с лигандом. Активный белок KIT способен присоединять фосфатные группы к другим внутриклеточным белкам, обеспечивая их активацию. Сигнальные пути, которые может стимулировать активный рецептор KIT, контролируют рост, пролиферацию, выживаемость и миграцию клеток [104, 105].

Стволовые клетки костного мозга экспрессируют CD117 (KIT). Интенсивность экспрессии KIT в нормальных клетках костного мозга уменьшается по мере их созревания. Выраженная экспрессия KIT выявляется у 80 % больных.

Независимая от присоединения лиганда активация гена *KIT* объясняется его мутацией. Эта мутация неоднократно описана у больных ОМЛ с характерными изменениями хромосом, а именно с t(8;21)(q22;q22) и inv(16)/t(16;16)(q13;q22) [106, 107]. Эти изменения хромосом объединяются в одну группу, т. к. при них повреждаются гены, кодирующие субъединицы фактора CBF, и характеризуются благоприятным прогнозом заболевания. Мутации *KIT*, как правило, обнаруживаются либо в 17-м экзоне гена, который кодирует активационную часть киназного домена, либо в 8-м экзоне, где находится кодирующий регион внеклеточного домена рецептора [104, 108, 109]. Мутации *KIT* встречаются в 20–25 % случаев ОМЛ с t(8;21) и у 30 % больных ОМЛ с inv(16) [106].

В последние годы клиническое и прогностическое значение мутаций *KIT* при CBF-ассоциированном ОМЛ активно изучается. Результаты ряда исследований показали, что обнаружение мутации *KIT* ухудшает прогноз заболевания как у пациентов с inv(16), так и с t(8;21). У больных с мутациями выявлена статистически значимо более высокая частота рецидивов и меньшая выживаемость. Прогноз заболевания в данном случае зависит от типа мутации, а также от варианта хромосомной патологии и возраста пациента [106, 110]. В противоположность такому мнению есть единичные сообщения о независимости прогноза CBF-ассоциированного ОМЛ от наличия мутации *KIT* [107]. Кроме того, во многих исследованиях показано, что присутствие мутации *KIT* свидетельствует о плохом прогнозе заболевания у больных с t(8;21), но не с inv(16)/t(16;16) [108, 111–113]. Вследствие таких неоднозначных наблюдений нет и четких рекомендаций относительно определения группы риска для данной категории пациентов. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) включает больных с t(8;21), inv(16) и мутациями *KIT* в группу больных ОМЛ промежуточного риска, а в рекомендациях ELN пока нет стратификации риска данной группы больных [9, 114]. Результаты изучения мутации *KIT* показали статистически значимое ухудшение прогностических показателей у детей с CBF-ассоциированным ОМЛ при наличии мутации *KIT* [115].

МУТАЦИИ ГЕНА *TET2*

Семейство белков TET (ten-eleven translocation) включает три белка (TET1, TET2 и TET3), которые участвуют в эпигенетической регуляции генома, отвечая за процессы деметилирования. В патогенезе ОМЛ особую роль играет один из генов этого семейства — *TET2*. Он локализован на хромосоме 4 (4q24). Белок TET2 обладает каталитической активностью для конверсии 5-метилцитозина в 5-гидрометилцитозин в α-кетоглутарат-зависимой реакции [116]. В настоящее время подтверждена важная роль TET в регуляции экспрессии генов через модификацию хроматина в промоторных регионах [117]. Соматические мутации в гене *TET2* обнаружены у 7–10 % взрослых и у 1,5–4 % детей с ОМЛ [118–121]. Мутации *TET2* сопровождаются потерей функции гена [118, 122] и приводят к гипометилированию соответствующих участков генома [123]. Было показано, что эти мутации сопровождаются статистически значимо низким уровнем 5-гидрометилцитозина и высоким уровнем метилирования промоторов генов по сравнению с нормальным клетками, что подтверждает участие мутации *TET2* в патогенезе лейкоза [123]. Кроме того, было показано, что мутации *TET2* не поддерживают функцию белка дикого типа [118].

Ряд экспериментальных исследований, выполненных на мышах, подтвердил, что мутации *TET2* происходят в ранних гемопоэтических клетках, появление дополнительных вторичных мутаций может привести к развитию заболевания [124, 125].

Мутации *TET2* встречаются у больных ОМЛ с разными цитогенетическими изменениями. Они часто кооперируют с мутациями *NPM1* и *FLT3*-ITD [119, 121, 126]. Сочетание *TET2* с мутациями *IDH1/2* у больных ОМЛ *de novo* встречается крайне редко [123].

Прогностическое значение мутации *TET2* до сих пор остается неоднозначным. Результаты некоторых исследований не показали влияния мутации *TET2* на прогноз ОМЛ [121, 126]. Однако другие исследователи опровергают это мнение и сообщают о том, что мутация *TET2* оказывает неблагоприятное влияние на прогноз ОМЛ с нормальным кариотипом и благоприятными молекулярными маркерами, но не имеет прогностического значения при ОМЛ с промежуточным риском [120, 127]. Тем не менее и это мнение оспорено в другом исследовании, в котором показана низкая общая выживаемость у больных с промежуточным риском и мутацией *TET2* [119]. Отрицательное влияние мутации *TET2* на выживаемость было показано у молодых больных ОМЛ различных групп риска [118]. Кроме того, низкий уровень экспрессии *TET2* был выявлен как негативный прогностический маркер у больных без мутаций *TET2* [118].

МУТАЦИИ ГЕНОВ *IDH1* И *IDH2*

Изоцитратдегидрогеназы (IDH) 1 и 2 представляют собой NADP-зависимые ферменты цикла Кребса, которые способствуют переходу изоцитрата в α-кетоглутарат. Гены *IDH1* и *IDH2* кодируют соответственно цитоплазматическую изоцитратдегидрогеназу-1 и митохондриальную изоцитратдегидрогеназу-2. NADPH, образованный из NADP+, является важным ресурсом энергии и играет ключевую роль в клеточных процессах детоксикации. Функция обоих генов находится в центре процессов клеточного метаболизма, дыхания клетки, клеточной защиты от окислительного стресса и передачи сигналов [128].

Соматические мутации в генах *IDH1/2* наиболее часто описаны у взрослых больных с глиомами, при которых они встречаются в 50–80 % наблюдений [129]. При НК-ОМЛ мутации генов *IDH1/2* обнаружены в 15 % ОМЛ *de novo* и 20 % вторичных ОМЛ [24, 123, 130]. Частота выявления возрастает по мере увеличения возраста больных. В отличие от глиомы при ОМЛ мутации *IDH2* встречаются чаще, чем *IDH1*, причем мутация *IDH2*-R140Q наиболее характерна для больных ОМЛ [131, 132]. Самыми частыми являются точечные мутации в эволюционно стабильном аминокислотном триплете R132 (*IDH1*-R132) гена *IDH1*, а также в локусах R172 (*IDH2*-R172) и R140 (*IDH2*-R140) гена *IDH2* [133]. Мутации в этих генах отличаются значительным разнообразием. Все мутации обычно приводят к повреждению ферментных свойств кодируемых белков. Наиболее частые мутации, такие как *IDH2*-R140Q и *IDH1*-R132H, приводят к уменьшению продукции *D*-2-гидроксиклутарата (*D*-2HG), и наоборот, в результате мутации *IDH1*-R132C обнаружено его повышенное количество [129].

Была выдвинута гипотеза о том, что внутриклеточная концентрация *D*-2HG, обеспечивающая клетке преимущество роста, варьирует в зависимости от типа опухолевых клеток. Это могло бы объяснить, почему каждый тип рака имеет определенный специфический тип мутации *IDH*. Кроме того, мутации и последующий высокий уровень *D*-2HG могут повлиять на развитие определенного типа опухоли [129, 134]. Приобретенные соматические мутации генов *IDH1* и *IDH2* способствуют нарушению процессов обмена веществ в клетке. Несмотря на это, очевидно, что наличия только мутаций *IDH1/2* недостаточно для образования неоплазии [134]. В защиту предположения, что *IDH1* и *IDH2* не являются так называемыми драйвер-мутациями, можно привести тот факт, что они редко встречаются у больных с предлейкозными состояниями, такими как МДС, ночная пароксизмальная гемоглобинурия или апластическая анемия [135–137]. Мутации *IDH1* коррелируют с плохим прогнозом у больных ОМЛ, в то время как *IDH2*-R140Q ассоциируются с относительно лучшим прогнозом. На прогноз заболевания, как известно, влияет комплекс определенных биологических факторов, а также комбинации изменений кариотипа и наличие других сопутствующих мутаций, особенно *FLT3* и *NPM1* [24, 130–132]. Отмечено, что мутации *IDH* преимущественно встречаются у больных НК-ОМЛ, а также часто выявляются вместе с мутацией *NPM1*. Мутации *IDH1* и *IDH2* крайне редко обнаруживаются вместе, а также с мутацией *TET2*, что можно объяснить их сходным биологическим действием [123].

МУТАЦИИ ГЕНА *DNMT3A*

Соматические мутации *DNMT3A* встречаются примерно в 22 % ОМЛ *de novo*, у больных с НК-ОМЛ частота их достигает 36 % [138]. Впервые мутации *DNMT3A* были описаны T.J. Ley и соавт. в 2010 г. [139].

DNMT3A относится к группе генов, кодирующих метилтрансферазы, ответственные за эпигенетическую регуляцию экспрессии генов [140]. ДНК-метилтрансферазы представляют собой ферменты, регулирующие

процессы метилирования нуклеотидных остатков в составе ДНК, т. е. осуществляют регуляцию активности работы определенных генов. DNMT3A управляет *de novo* метилированием цитозиновых остатков CpG-островков путем ферментного переноса метильных групп от S-аденозид-L-метионина на азотистое основание цитозина. CpG-островки, как известно, чаще находятся на промоторах генов. Активно работающие гены имеют неметилированные CpG-островки, которые поддерживают транскрипционно активную структуру хроматина, а метилирование этих районов может приводить к дезактивации или «молчанию» гена [141, 142]. Геном опухолевой клетки характеризуется глобальным гипометилированием ДНК. Тем не менее некоторые гены, например гены опухолевой супрессии, могут иметь гипометилированные промоторные участки.

Несмотря на то что мутации *DNMT3A* характеризуются выраженной гетерогенностью, мутация в кодоне R882 метилтрансферазного домена гена самая частая [139, 143]. Патогенетическое значение мутации *DNMT3A* активно изучается. Вследствие мутации происходит полная либо частичная потеря каталитических свойств белка или же нарушается взаимодействие белка с другими партнерами [144]. Кроме того, было показано, что мутация R882 препятствует образованию активных тетраполимеров белка DNMT3A [145]. Вследствие нарушения функции белка происходит гипометилирование генома, что, по всей вероятности, способствует возникновению злокачественного новообразования и неблагоприятно влияет на его прогноз [146]. Мутации *DNMT3A*, как правило, гетерозиготные. В экспериментах *in vitro* была выявлена экспрессия как мутантного, так и нормального аллеля гена. Эти наблюдения позволяют сделать предположение о наличии доминантно-негативного эффекта мутации или об образовании у больных ОМЛ так называемой неоморфной мутации «gain of function» [143]. Поскольку мутация *DNMT3A* обнаружена в молодых предлейкозных клетках, ее можно отнести к типу «founder»-мутаций и считать одним из первичных событий развития острого лейкоза [147–149]. Эта мутация довольно часто встречается вместе с другими типичными генетическими изменениями, такими как мутации *NPM1*, *FLT3*, *IDH1/2* [150, 151]. ОМЛ с мутациями *DNMT3A* ассоциируется с более старшим возрастом больных, относительно высоким лейкоцитозом и особым вариантом лейкоза по FAB-классификации (M4/M5) [8].

ОМЛ с мутациями *DNMT3A* отличается плохим прогнозом заболевания [143, 150–153]. Важным отличием мутации *DNMT3A* от многих других приобретенных генетических дефектов у больных ОМЛ служит ее стабильность во время заболевания [154, 155]. Она выявляется не только в дебюте и при рецидиве ОМЛ, но и во время ПР [155]. Особенно интересным представляется тот факт, что данная мутация выявляется у больных во время длительной гематологической и молекулярной ремиссии, когда не определяются никакие другие маркеры МОБ, например *NPM1* [147, 156]. В других исследованиях было показано, что мутации *DNMT3A* присутствуют не только в миелоидных клетках, но и в лимфоцитах Т- и В-дифференцировки. Мутация была обнаружена у больных ОМЛ в клетках лимфоидной линии, как в дебюте заболевания, так и в ПР спустя несколько лет после установления заболевания. Данное наблюдение позволяет предположить, что мутации *DNMT3A* возникают в молодых ГСК на очень ранних этапах развития заболевания до возникновения других генетических изменений. Кроме того, возможно, что данная мутация приводит к резистентности клеток к химиотерапии [156]. Несомненно, требуются дальнейшие исследования для уточнения роли мутаций *DNMT3A* в возникновении и прогрессировании острого лейкоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значительный прогресс в области молекулярных технологий позволил в последние годы достичь больших успехов в изучении молекулярно-генетических изменений у больных со злокачественными опухолями. Известно о сотнях различных мутаций у больных лейкозами. Многие из них являются первичными или драйвер-мутациями, способными обеспечить возможность развития опухолевого процесса. Ряд мутаций можно отнести к добавочным, сопутствующим или passengers. Последние, как правило, не обеспечивают селективное преимущество клетке, появляются на более поздних стадиях развития новообразования, но при этом играют важную роль в прогрессировании лейкоза. Обнаружение множественных мутаций в лейкозной клетке подтверждает теорию многоступенчатого развития злокачественной опухоли.

Особый интерес с точки зрения понимания роли мутаций в генезе лейкоза представляют 2 исследования, результаты которых были опубликованы в конце 2014 г. Авторы этих исследований с помощью современных методов секвенирования проанализировали геном у большой группы лиц, не страдающих злокачественными новообразованиями. Они обнаружили соматические мутации у некоторой части лиц без злокачественных опухолей, причем частота выявления мутаций статистически значимо повышалась у лиц старше 65 лет. Наиболее частыми изменениями были мутации *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1* и *PPM1D* [5, 157]. Эти данные позволяют предполагать, что мутации в ранних предлейкозных клетках могут предшествовать возникновению заболевания в течение многих лет [5, 157].

Знания о генетических изменениях у больных лейкозами позволяют намного глубже и полноценнее представлять развитие заболевания, более точно оценивать прогностические особенности конкретного варианта лейкоза. Кроме того, понимание молекулярных процессов лейкозогенеза может привести в будущем к возможному развитию противолейкозной таргетной терапии, направленной на конкретные мишени.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Renneville A, Roumier C., Biggio V, et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. Leukemia. 2008;22(5):915–31. doi: 10.1038/leu.2008.19.

2. Knudson AG. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci USA. 1971;68(4):820–3. doi: 10.1073/pnas.68.4.820.

3. Tucker T, Friedman JM. Pathogenesis of hereditary tumors: beyond the "two-hit" hypothesis. Clin Genet. 2002;62(5):345–57. doi: 10.1034/j.1399-0004.2002.620501.x.

4. Park S, Koh Y, Yoon SS. Effects of Somatic Mutations Are Associated with SNP in the Progression of Individual Acute Myeloid Leukemia Patient: The Two-Hit Theory Explains Inherited Predisposition to Pathogenesis. Genom Inform. 2013;11(1):34–7. doi: 10.5808/gi.2013.11.1.34.

5. Genovese G, Kahler AK, Handsaker RE, et al. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. N Engl J Med. 2014;371(26):2477–87. doi: 10.1056/nejmoa1409405.

6. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature. 2001;414(6859):105–11. doi: 10.1038/35102167.

7. Grimwade D. The changing paradigm of prognostic factors in acute myeloid leukaemia. Best Pract Res Clin Haematol. 2012;25(4):419–25. 10.1016/j.beha.2012.10.004.

8. Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, et al. Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2012;366(12):1079–89. doi: 10.1056/nejmoa1112304.

9. Dohner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood. 2010;115(3):453–74. doi: 10.1182/blood-2009-07-235358.

10. Frehlick LJ, Eirin-Lopez JM, Ausio J. New insights into the nucleophosmin/nucleoplasmin family of nuclear chaperones. Bioessays. 2007;29(1):49–59. doi: 10.1002/bies.20512.

11. Kurki S, Peltonen K, Latonen L, et al. Nucleolar protein NPM interacts with HDM2 and protects tumor suppressor protein p53 from HDM2-mediated degradation. Cell. 2004;5(5):465–75. doi: 10.1016/s1535-6108(04)00110-2.

12. Lindstrom MS. NPM1/B23: A Multifunctional Chaperone in Ribosome Biogenesis and Chromatin Remodeling. Biochem Res Int. 2011;2011:1–16. doi: 10.1155/2011/195209.

13. Falini B, Bolli NI, Martelli MP, et al. Translocations and mutations involving the nucleophosmin (NPM1) gene in lymphomas and leukemias. Haematologica. 2007;92(4):519–32. doi: 10.3324/haematol.11007.

14. Falini B, Bigerna B, Pucciarini A, et al. Aberrant subcellular expression of nucleophosmin and NPM-MLF1 fusion protein in acute myeloid leukaemia carrying t(3;5): a comparison with NPMc+ AML. Leukemia. 2006;20(2):368–71. doi: 10.1038/sj.leu.2404068.

15. Redner R, Rush EA, Faas S, et al. The t(5;17) variant of acute promyelocytic leukemia expresses a nucleophosmin-retinoic acid receptor fusion. Blood. 1996;87(3):882–6.

16. Sportoletti P, Varasano E, Rossi R, et al. Mouse models of NPM1-mutated acute myeloid leukemia: biological and clinical implications. Leukemia. 2015;29(2):269–78. doi: 10.1038/leu.2014.257.

17. Grisendi S, Mecucci C, Falini B, Pandolfi PP. Nucleophosmin and cancer. Nat Rev Cancer. 2006;6(7):493–505. doi: 10.1038/nrc1885.

18. Sportoletti P, Grisendi S, Majid SM, et al. Npm1 is a haploinsufficient suppressor of myeloid and lymphoid malignancies in the mouse. Blood; 2008;111(7):3859–62. doi: 10.1182/blood-2007-06-098251.

19. Ferrara F, Schiffer CA. Acute myeloid leukaemia in adults. The Lancet. 2013;381(9865):484–95. doi: 10.1016/s0140-6736(12)61727-9.

20. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, et al. Cytoplasmic Nucleophosmin in Acute Myelogenous Leukemia with a Normal Karyotype. N Engl J Med. 2005;352(3):254–66. doi: 10.1056/nejmoa041974.

21. Falini B, Martelli MP, Pileri SA, Mecucci C. Molecular and alternative methods for diagnosis of acute myeloid leukemia with mutated NPM1: flexibility may help. Haematologica. 2010;95(4):529–34. doi: 10.3324/haematol.2009.017822.

22. Falini B, Albiero E, Bolli N, et al. Aberrant cytoplasmic expression of C-terminal-truncated NPM leukaemic mutant is dictated by tryptophans loss and a new NES motif. Leukemia. 2007;21(9):2052–4. doi: 10.1038/sj.leu.2404839.

23. Schlenk RF, Dohner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2008;358(18):1909–18. doi: 10.1056/nejmoa074306.

24. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, et al. IDH1 and IDH2 Mutations Are Frequent Genetic Alterations in Acute Myeloid Leukemia and Confer Adverse Prognosis in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia With NPM1 Mutation Without FLT3 Internal Tandem Duplication. J Clin Oncol. 2010. 28(22):3636–43. doi: 10.1200/jco.2010.28.3762.

25. Dvorakova D, Racil Z, Jeziskova I, et al. Monitoring of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with frequent and rare patient-specific NPM1 mutations. Am J Hematol. 2010;85(12):926–9. doi: 10.1002/ajh.21879.

26. Schnittger S, Kern W, Tschulik C, et al. Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation–specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML. Blood. 2009;114(11):2220–31. doi: 10.1182/blood-2009-03-213389.

27. Stahl T, Badbaran A, Kroger N, et al. Minimal residual disease diagnostics in patients with acute myeloid leukemia in the post-transplant period: comparison of peripheral blood and bone marrow analysis. Leuk Lymphoma. 2010;51(10):1837–43. doi: 10.3109/10428194.2010.508822.

28. Kronke J, Schlenk RF, Jensen KO, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. J Clin Oncol. 2011;29(19):2709–16. doi: 10.1200/jco.2011.35.0371.

29. Rosnet O, Schiff C, Pebusque MJ, et al. Human FLT3/FLK2 gene: cDNA cloning and expression in hematopoietic cells. Blood. 1993;82(4):1110–9.

30. Meshinchi S, Appelbaum FR. Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia. Clin Cancer Res. 2009;15(13):4263–9. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-08-1123.

31. Sitnicka E, Buza-Vidas N, Larsson S, et al. Human CD34+ hematopoietic stem cells capable of multilineage engrafting NOD/SCID mice express flt3: distinct flt3 and c-kit expression and response patterns on mouse and candidate human hematopoietic stem cells. Blood. 2003;102(3):881–6. doi: 10.1182/blood-2002-06-1694.

32. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. Blood. 2002;100(5):1532–42. doi: 10.1182/blood-2002-02-0492.

33. Adolfsson J, Borge OJ, Bryder D, et al. Upregulation of Flt3 Expression within the Bone Marrow Lin–Sca1+c-kit+ Stem Cell Compartment Is Accompanied by Loss of Self-Renewal Capacity. Immunity. 2001;15(4):659–69. doi: 10.1016/s1074-7613(01)00220-5.

34. Griffith J, Black J, Faerman C, et al. The Structural Basis for Autoinhibition of FLT3 by the Juxtamembrane Domain. Mol Cell. 2004;13(2):169–78. doi: 10.1016/s1097-2765(03)00505-7.

35. Gale RE, Green C, Allen C, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2008;111(5):2776–84. doi: 10.1182/blood-2007-08-109090.

36. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. Blood. 2001;98(6):1752–9. doi: 10.1182/blood.v98.6.1752.

37. Marcucci G, Haferlach T, Dohner H. Molecular Genetics of Adult Acute Myeloid Leukemia: Prognostic and Therapeutic Implications. J Clin Oncol. 2011;29(5):475–86. doi: 10.1200/jco.2010.30.2554.

38. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. Blood. 2002;100(1):59–66. doi: 10.1182/blood.v100.1.59.

39. Breitenbuecher F, Schnittger S, Grundler R, et al. Identification of a novel type of ITD mutations located in nonjuxtamembrane domains of the FLT3 tyrosine kinase receptor. Blood. 2009;113:4074–7. doi: 10.1182/blood-2007-11-125476.

40. Kayser S, Schlenk RF, Londono MC, et al. Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. Blood. 2009;114(12):2386–92. doi: 10.1182/blood-2009-03-209999.

41. Schlenk RF, Kayser S, Bullinger L, et al. Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3-ITD–positive AML with respect to allogeneic transplantation. Blood. 2014;124(23):3441–9. doi: 10.1182/blood-2014-05-578070.

42. Gu TL, Nardone J, Wang Y, et al. Survey of Activated FLT3 Signaling in Leukemia. PLoS One, 2011;6(4):e19169. doi: 10.1371/journal.pone.0019169.

43. Rocnik JL, Okabe R, Yu JC, et al. Roles of tyrosine 589 and 591 in STAT5 activation and transformation mediated by FLT3-ITD. Blood. 2006;108(4):1339–45. doi: 10.1182/blood-2005-11-011429.

44. Blau O, Berenstein R, Sindram A, Blau IW. Molecular analysis of different FLT3-ITD mutations in acute myeloid leukemia. Leuk Lymphoma. 2013;54(1):145–52. doi: 10.3109/10428194.2012.704999.

45. Frohling S, Schlenk RF, Breitruck J, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. Blood. 2002;100(13):4372–80. doi: 10.1182/blood-2002-05-1440.

46. Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, et al. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? Blood. 2007;109(2):431–48. doi: 10.1182/blood-2006-06-001149.

47. Sengsayadeth SM, Jagasia M, Engelhardt BG, et al. Allo-SCT for high-risk AML-CR1 in the molecular era: impact of FLT3/ITD outweighs the conventional markers. Bone Marrow Transplant. 2012;47(12):1535–7. doi: 10.1038/bmt.2012.88.

48. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood. 2001;97(8):2434–9. doi: 10.1182/blood.v97.8.2434.

49. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, et al. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. Blood. 2007;110(4):1262–70. doi: 10.1182/blood-2006-04-015826.

50. Whitman SP, Ruppert AS, Radmacher MD, et al. FLT3 D835/I836 mutations are associated with poor disease-free survival and a distinct gene-expression signature among younger adults with de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia lacking FLT3 internal tandem duplications. Blood. 2008;111(3):1552–9. doi: 10.1182/blood-2007-08-107946.

51. Ozeki K, Kiyoi H, Hirose Y, et al. Biologic and clinical significance of the FLT3 transcript level in acute myeloid leukemia. Blood. 2004;103(5):1901–8. doi: 10.1182/blood-2003-06-1845.

52. Ley TJ, Miller C, Ding L, et al. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2013;368(22):2059–74. doi: 10.1056/nejmoa1301689.

53. Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG). Blood. 2013;121(23):4769–77. doi: 10.1182/blood-2012-10-461624.

54. Kottaridis PD, Gale RE, Langabeer SE, et al. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. Blood. 2002;100(7):2393–8. doi: 10.1182/blood-2002-02-0420.

55. Shih LY, Huang CF, Wu JH, et al. Internal tandem duplication of FLT3 in relapsed acute myeloid leukemia: a comparative analysis of bone marrow samples from 108 adult patients at diagnosis and relapse. Blood. 2002;100(7):2387–92. doi: 10.1182/blood-2002-01-0195.

56. Chu SH, Small D. Mechanisms of resistance to FLT3 inhibitors. Drug Resist Update. 2009;12(1–2):8–16. doi: 10.1016/j.drup.2008.12.001.

57. Moore AS, Faisal A, Gonzalez de Castro D, et al. Selective FLT3 inhibition of FLT3-ITD+ acute myeloid leukaemia resulting in secondary D835Y mutation: a model for emerging clinical resistance patterns. Leukemia. 2012;26(7):1462–70. doi: 10.1038/leu.2012.52.

58. Mead AJ, Gale RE, Kottaridis PD, et al. Acute myeloid leukaemia blast cells with a tyrosine kinase domain mutation of FLT3 are less sensitive to lestaurtinib than those with a FLT3 internal tandem duplication. Br J Haematol. 2008;141(4):454–60. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07025.x.

59. Koschmieder S, Halmos B, Levantini E, Tenen DG. Dysregulation of the C/EBPα Differentiation Pathway in Human Cancer. J Clin Oncol. 2009;27(4):619–28. doi: 10.1200/jco.2008.17.9812.

60. Wang H, Iakova P, Wilde M, et al. C/EBPα Arrests Cell Proliferation through Direct Inhibition of Cdk2 and Cdk4. Mol Cell. 2001;8(4):817–28. doi: 10.1016/s1097-2765(01)00366-5.

61. Radomska HS, Huettner CS, Zhang P, et al. CCAAT enhancer binding protein alpha is a regulatory switch sufficient for induction of granulocytic development from bipotential myeloid progenitors. Mol Cell Biol. 1998;18(7):4301–14. doi: 10.1128/mcb.18.7.4301.

62. Zhang DE, Zhang P, Wang ND, et al. Absence of granulocyte colony-stimulating factor signaling and neutrophil development in CCAAT enhancer binding protein α-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94(2):569–74. doi: 10.1073/pnas.94.2.569.

63. Umek RM, Friedman AD, McKnight SL. CCAAT-enhancer binding protein: a component of a differentiation switch. Science. 1991;251(4991):288–92. doi: 10.1126/science.1987644.

64. Watkins PJ, Condreay JP, Huber BE, et al. Proliferation and tumorigenicity induced by CCAAT/enhancer-binding protein. Cancer Res. 1996;56(5):1063–7.

65. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-[alpha] (C/EBP [alpha]), in acute myeloid leukemia. Nat Genet. 2001;27(3):263–70. doi: 10.1038/85820.

66. Nerlov C. C/EBP [alpha] mutations in acute myeloid leukaemias. Nat Rev Cancer. 2004;4(5):394–400. doi: 10.1038/nrc1363.

67. Wouters BJ, Jorda MA, Keeshan K, et. al. Distinct gene expression profiles of acute myeloid/T-lymphoid leukemia with silenced CEBPA and mutations in NOTCH1. Blood. 2007;110(10):3706–14. doi: 10.1182/blood-2007-02-073486.

68. Taskesen E, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. Blood. 2011;117(8):2469–75. doi: 10.1182/blood-2010-09-307280.

69. Kirstetter P, Schuster MB, Bereshchenko O, et al. Modeling of C/EBPα Mutant Acute Myeloid Leukemia Reveals a Common Expression Signature of Committed Myeloid Leukemia-Initiating Cells. Cancer Cell. 2008;13(4):299–310. doi: 10.1016/j.ccr.2008.02.008.

70. Shih LY, Liang DC, Huang CF, et al. AML patients with CEBP [alpha] mutations mostly retain identical mutant patterns but frequently change in allelic distribution at relapse: a comparative analysis on paired diagnosis and relapse samples. Leukemia. 2006;20(4):604–9. doi: 10.1038/sj.leu.2404124.

71. Wouters BJ, Lowenberg B, Erpelinck-Verschueren CA, et al. Double CEBPA mutations, but not single CEBPA mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. Blood. 2009;113(13):3088–91. doi: 10.1182/blood-2008-09-179895.

72. Cagnetta A, Adamia S, Acharya C, et al. Role of genotype-based approach in the clinical management of adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. Leuk Res. 2014;38(6):649–59. doi: 10.1016/j.leukres.2014.03.006.

73. Wouters BJ, Sanders MA, Lugthart S, et al. Segmental uniparental disomy as a recurrent mechanism for homozygous CEBPA mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2007;21(11):2382–4. doi: 10.1038/sj.leu.2404795.

74. Valk PJM, Verhaak RG, Beijen MA, et al. Prognostically Useful Gene-Expression Profiles in Acute Myeloid Leukemia. N Engl J Med. 2004;350(16):1617–28. doi: 10.1056/nejmoa040465.

75. Marceau-Renaut A, Guihard S, Castaigne S, et al. Classification of CEBPA mutated acute myeloid leukemia by GATA2 mutations. Am J Hematol. 2015;90(5):E93–4. doi: 10.1002/ajh.23949.

76. Pabst T, Mueller BU. Transcriptional dysregulation during myeloid transformation in AML. Oncogene. 2007;26(47):6829–37. doi: 10.1038/sj.onc.1210765.

77. Frohling S, Schlenk RF, Krauter J, et al. Acute myeloid leukemia with deletion 9q within a noncomplex karyotype is associated with CEBPA loss-of-function mutations. Genes Chromos Cancer. 2005;42(4):427–32. doi: 10.1002/gcc.20152.

78. Green CL, Koo KK, Hills RK, et al. Prognostic Significance of CEBPA Mutations in a Large Cohort of Younger Adult Patients With Acute Myeloid Leukemia: Impact of Double CEBPA Mutations and the Interaction With FLT3 and NPM1 Mutations. J Clin Oncol. 2010;28(16):2739–47. doi: 10.1200/jco.2009.26.2501.

79. Behdad A, Weigelin HC, Elenitoba-Johnson KS, Betz BL. A Clinical Grade Sequencing-Based Assay for CEBPA Mutation Testing: Report of a Large Series of Myeloid Neoplasms. J Mol Diagn. 2015;17(1):76–84. doi: 10.1016/j.jmoldx.2014.09.007.

80. Bienz M, Ludwig M, Leibundgut EO, et al. Risk Assessment in Patients with Acute Myeloid Leukemia and a Normal Karyotype. Clin Cancer Res. 2005;11(4):1416–24. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-1552.

81. Frohling S, Schlenk RF, Stolze I, et al. CEBPA Mutations in Younger Adults With Acute Myeloid Leukemia and Normal Cytogenetics: Prognostic Relevance and Analysis of Cooperating Mutations. J Clin Oncol. 2004;22(4):624–33. doi: 10.1200/jco.2004.06.060.

82. Preudhomme C, Sagot C, Boissel N, et al. Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA). Blood. 2002;100(8):2717–23. doi: 10.1182/blood-2002-03-0990.

83. Pastore F, Kling D, Hoster E, et al. Long-term follow-up of cytogenetically normal CEBPA-mutated AML. J Hematol Oncol. 2014;7(1):55. doi: 10.1186/s13045-014-0055-7.

84. Park SH, Chi H-S, Cho Y-U, et al. CEBPA single mutation can be a possible favorable prognostic indicator in NPM1 and FLT3-ITD wild-type acute myeloid leukemia patients with intermediate cytogenetic risk. Leuk Res. 2013;37(11):1488–94. doi: 10.1016/j.leukres.2013.08.014.

85. Renneville A, Boissel N, Gachard N, et al. The favorable impact of CEBPA mutations in patients with acute myeloid leukemia is only observed in the absence of associated cytogenetic abnormalities and FLT3 internal duplication. Blood. 2009;113(21):5090–3. doi: 10.1182/blood-2008-12-194704.

86. Taniuchi I, Littman DR. Epigenetic gene silencing by Runx proteins. Oncogene. 2004;23(24):4341–5. doi: 10.1038/sj.onc.1207671.

87. Yoshida H, Kitabayashi I. Chromatin regulation by AML1 complex. Int J Hematol. 2008;87(1):19–24. doi: 10.1007/s12185-007-0004-0.

88. Tang JL, Hou HA, Chen CY, et al. AML1/RUNX1 mutations in 470 adult patients with de novo acute myeloid leukemia: prognostic implication and interaction with other gene alterations. Blood. 2009;114(26):5352–61. doi: 10.1182/blood-2009-05-223784.

89. Dicker F, Haferlach C, Sundermann J, et al. Mutation analysis for RUNX1, MLL-PTD, FLT3-ITD, NPM1 and NRAS in 269 patients with MDS or secondary AML. Leukemia. 2010;24(8):1528–32. doi: 10.1038/leu.2010.124.

90. Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, et al. RUNX1 Mutations in Acute Myeloid Leukemia: Results From a Comprehensive Genetic and Clinical Analysis From the AML Study Group. J Clin Oncol. 2011;29(10):1364–72. doi: 10.1200/jco.2010.30.7926.

91. Dicker F, Haferlach C, Kern W, et al. Trisomy 13 is strongly associated with AML1/RUNX1 mutations and increased FLT3 expression in acute myeloid leukemia. Blood. 2007;110:1308–16. doi: 10.1182/blood-2007-02-072595.

92. Matsuno N, Osato M, Yamashita N, et al. Dual mutations in the AML1 and FLT3 genes are associated with leukemogenesis in acute myeloblastic leukemia of the M0 subtype. Leukemia. 2003;17(12):2492–9. doi: 10.1038/sj.leu.2403160.

93. Mendler JH, Maharry K, Becker H, et al. In rare acute myeloid leukemia patients harboring both RUNX1 and NPM1 mutations, RUNX1 mutations are unusual in structure and present in the germline. Haematologica. 2013;98(8):e92–4. doi: 10.3324/haematol.2013.089904.

94. Fasan A, Haferlach C, Kohlmann A, et al. Rare coincident NPM1 and RUNX1 mutations in intermediate risk acute myeloid leukemia display similar patterns to single mutated cases. Haematologica. 2014;99(2):e20–1. doi: 10.3324/haematol.2013.099754.

95. Fernandez-Medarde A, Santos E. Ras in Cancer and Developmental Diseases. Genes Cancer. 2011;2(3):344–58. doi: 10.1177/1947601911411084.

96. Stites EC, Ravichandran KS. A Systems Perspective of Ras Signaling in Cancer. Clin Cancer Res. 2009;15(5):1510–3. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-08-2753.

97. Johnson DB, Smalley KSM, Sosman JA. Molecular Pathways: Targeting NRAS in Melanoma and Acute Myelogenous Leukemia. Clin Cancer Res. 2014;20(16):4186–92. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-13-3270.

98. Fedorenko IV, Gibney GT, Smalley KSM. NRAS mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management. Oncogene. 2013;32(25):3009–18. doi: 10.1038/onc.2012.

99. Reuter CM, Krauter J, Onono FO, et al. Lack of noncanonical RAS mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. Ann Hematol. 2014;93(6):977–82. doi: 10.1007/s00277-014-2061-9.

100. Bacher U, Haferlach T, Schoch C, et al. Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. Blood. 2006;107(10):3847–53. doi: 10.1182/blood-2005-08-3522.

101. Padua RA, West RR. Oncogene mutation and prognosis in the myelodysplastic syndromes. Br J Haematol. 2000;111(3):873–4. doi: 10.1111/j.1365-2141.2000.02472.x.

102. Berman JN, Gerbing RB, Alonzo TA, et al. Prevalence and clinical implications of NRAS mutations in childhood AML: a report from the Children's Oncology Group. Leukemia. 2011;25(6):1039–42. doi: 10.1038/leu.2011.31.

103. Bowen DT, Frew ME, Hills R, et al. RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. Blood. 2005;106(6):2113–9. doi: 10.1182/blood-2005-03-0867.

104. Roskoski R Jr. Structure and regulation of Kit protein-tyrosine kinase–The stem cell factor receptor. Biochem Biophys Res Commun. 2005;338(3):1307–15. doi: 10.1016/j.bbrc.2005.09.150.

105. Yarden Y, Ullrich A. Growth Factor Receptor Tyrosine Kinases. Ann Rev Biochem. 1988:57(1):443–78. doi: 10.1146/annurev.bi.57.070188.002303.

106. Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, et al. Adverse Prognostic Significance of KIT Mutations in Adult Acute Myeloid Leukemia With inv(16) and t(8;21): A Cancer and Leukemia Group B Study. J Clin Oncol. 2006;24(24):3904–11. doi: 10.1200/jco.2006.06.9500.

107. Riera L, Marmont F, Toppino D, et al. Core binding factor acute myeloid leukaemia and c-KIT mutations. Oncol Rep. 2013;29(5):1867–72. doi: 10.3892/or.2013.2328.

108. Cairoli R, Beghini A, Grillo G, et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor leukemias: an Italian retrospective study. Blood. 2006;107(9):3463–8. doi: 10.1182/blood-2005-09-3640.

109. Park SH, Chi HS, Min SK, et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia. Leuk Res. 2011;35(10):1376–83. doi: 10.1016/j.leukres.2011.06.003.

110. Hoyos M, Nomdedeu JF, Esteve J, et al. Core binding factor acute myeloid leukemia: the impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. Eur J Haematol. 2013;91(3):209–18. doi: 10.1111/ejh.12130.

111. Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. Blood. 2006;107(5):1791–9. doi: 10.1182/blood-2005-04-1466.

112. Jiao B, Wu CF, Liang Y, et al. AML1-ETO9a is correlated with C-KIT overexpression/mutations and indicates poor disease outcome in t(8;21) acute myeloid leukemia-M2. Leukemia. 2009;23(9):1598–604. doi: 10.1038/leu.2009.104.

113. Qin YZ, Zhu HH, Jiang Q, et al. Prevalence and prognostic significance of c-KIT mutations in core binding factor acute myeloid leukemia: A comprehensive large-scale study from a single Chinese center. Leuk Res. 2014;38(12):1435–40. doi: 10.1016/j.leukres.2014.09.017.

114. O'Donnell MR, Tallman MS, Abboud CN, et al. Acute Myeloid Leukemia, Version 2.2013. J Natl Compr Canc Netw. 2013;11(9):1047–55.

115. Tokumasu M, Murata C, Shimada A, et al. Adverse prognostic impact of KIT mutations in childhood CBF-AML: the results of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group AML-05 trial. Leukemia. 2015;29(12):2438–41. doi: 10.1038/leu.2015.121.

116. Ito S, D'Alessio AC, Taranova OV, et al. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. Nature. 2010;466(7310):1129–33. doi: 10.1038/nature09303.

117. Chen Q, Chen Y, Bian C, et al. TET2 promotes histone O-GlcNAcylation during gene transcription. Nature. 2013;493(7433):561–4. doi: 10.1038/nature11742.

118. Aslanyan M, Kroeze LI, Langemeijer SM, et al. Clinical and biological impact of TET2 mutations and expression in younger adult AML patients treated within the EORTC/GIMEMA AML-12 clinical trial. Ann Hematol. 2014;93(8):1401–12. doi: 10.1007/s00277-014-2055-7.

119. Chou WC, Chou SC, Liu CY, et al. TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics. Blood. 2011;118(14):3803–10. doi: 10.1182/blood-2011-02-339747.

120. Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, et al. TET2 Mutations Improve the New European LeukemiaNet Risk Classification of Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study. J Clin Oncol. 2011;29(10):1373–81. doi: 10.1200/jco.2010.32.7742.

121. Gaidzik VI, Paschka P, Spath D, et al. TET2 Mutations in Acute Myeloid Leukemia (AML): Results From a Comprehensive Genetic and Clinical Analysis of the AML Study Group. J Clin Oncol. 2012;30(12):1350–7. doi: 10.1200/jco.2011.39.2886.

122. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. Nature. 2010;468(7325):839–43. doi: 10.1038/nature09586.

123. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. Cancer Cell. 2010;18(6):553–67. doi: 10.1016/j.ccr.2010.11.015.

124. Moran-Crusio K, Reavie L, Shih A, et al. Tet2 Loss Leads to Increased Hematopoietic Stem Cell Self-Renewal and Myeloid Transformation. Cancer Cell. 2011;20(1):11–24. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.001.

125. Quivoron C, Couronne L, Della Valle V, et al. TET2 Inactivation Results in Pleiotropic Hematopoietic Abnormalities in Mouse and Is a Recurrent Event during Human Lymphomagenesis. Cancer Cell. 2011;20(1):25–38. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.003.

126. Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, et al. Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. Blood. 2010;116(7):1132–5. doi: 10.1182/blood-2009-07-234484.

127. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. Leukemia. 2012;26(5):934–42. doi: 10.1038/leu.2011.326.

128. Reitman ZJ, Yan H. Isocitrate Dehydrogenase 1 and 2 Mutations in Cancer: Alterations at a Crossroads of Cellular Metabolism. J Natl Cancer Inst. 2010;102(13):932–41. doi: 10.1093/jnci/djq187.

129. Molenaar RJ, Radivoyevitch T, Maciejewski JP, et al. The driver and passenger effects of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in oncogenesis and survival prolongation. Biochim Biophys Acta. 2014;1846(2):326–41. doi: 10.1016/j.bbcan.2014.05.004.

130. Emadi A, Faramand R, Carter-Cooper B, et al. Presence of isocitrate dehydrogenase (IDH) mutations may predict clinical response to hypomethylating agents in patients with acute myeloid leukemia (AML). Am J Hematol. 2015;90(5):E77–9. doi: 10.1002/ajh.23965.

131. Abbas S, Lugthart S, Kavelaars FG, et al. Acquired mutations in the genes encoding IDH1 and IDH2 both are recurrent aberrations in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. Blood. 2010;116(12):2122–6. doi: 10.1182/blood-2009-11-250878.

132. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, et al. IDH1 and IDH2 Gene Mutations Identify Novel Molecular Subsets Within De Novo Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia: A Cancer and Leukemia Group B Study. J Clin Oncol. 2010;28(14):2348–55. doi: 10.1200/jco.2009.27.3730.

133. Dang L, Jin S, Su SM. IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia. Trends Mol Med. 2010;16(9):387–97. doi: 10.1016/j.molmed.2010.07.002.

134. Horbinski C. What do we know about IDH1/2 mutations so far, and how do we use it? Acta Neuropathol. 2013;125(5):621–36. doi: 10.1007/s00401-013-1106-9.

135. Chotirat S, Thongnoppakhun W, Wanachiwanawin W, Auewarakul CU. Acquired somatic mutations of isocitrate dehydrogenases 1 and 2 (IDH1 and IDH2) in preleukemic disorders. Blood Cells Mol Dis. 2015;54(3):286–91. doi: 10.1016/j.bcmd.2014.11.017.

136. Green CL, Evans CM, Zhao L, et al. The prognostic significance of IDH2 mutations in AML depends on the location of the mutation. Blood. 2011;118(2):409–12. doi: 10.1182/blood-2010-12-322479.

137. Zhou KG, Jiang LJ, Shang Z, et al. Potential application of IDH1 and IDH2 mutations as prognostic indicators in non-promyelocytic acute myeloid leukemia: a meta-analysis. Leuk Lymphoma. 2012;53(12):2423–9. doi: 10.3109/10428194.2012.695359.

138. Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, et al. Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2012;30(7):742–50. doi: 10.1200/jco.2011.39.2092.

139. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. N Engl J Med. 2010;363(25):2424–33. doi: 10.1056/nejmoa1005143.

140. Zhang Y, Chen FQ, Sun YH, et al. Effects of DNMT1 silencing on malignant phenotype and methylated gene expression in cervical cancer cells. J Exp Clin Cancer Res. 2011;30(1):98. doi: 10.1186/1756-9966-30-98.

141. Jasielec J, Saloura V, Godley LA. The mechanistic role of DNA methylation in myeloid leukemogenesis. Leukemia. 2014;28(9):1765–73. doi: 10.1038/leu.2014.163.

142. Li KK, Luo LF, Shen Y, et al. DNA methyltransferases in hematologic malignancies. Semin Hematol. 2013;50(1):48–60. doi: 10.1053/j.seminhematol.2013.01.005.

143. O'Brien EC, Brewin J, Chevassut T. DNMT3A: the DioNysian MonsTer of acute myeloid leukaemia. Ther Adv Hematol. 2014;5(6):187–96. doi: 10.1177/2040620714554538.

144. Holz-Schietinger C, Matje DM, Reich NO. Mutations in DNA methyltransferase (DNMT3A) observed in acute myeloid leukemia patients disrupt processive methylation. J Biol Chem. 2012;287(37):30941–51. doi: 10.1074/jbc.m112.366625.

145. Russler-Germain DA, Spencer DH, Young MA, et al. The R882H DNMT3A mutation associated with AML dominantly inhibits wild-type DNMT3A by blocking its ability to form active tetramers. Cancer Cell. 2014;25(4):442–54. doi: 10.1016/j.ccr.2014.02.010146.

146. McDevitt MA. Clinical applications of epigenetic markers and epigenetic profiling in myeloid malignancies. Semin Oncol. 2012;39(1):109–22. doi: 10.1053/j.seminoncol.2011.11.003.

147. Berenstein R, Blau IW, Suckert N, et al. Quantitative detection of DNMT3A R882H mutation in acute myeloid leukemia. J Exp Clin Cancer Res. 2015;34(1):55. doi: 10.1186/s13046-015-0173-2.

148. Shlush LI, Zandi S, Mitchell A, et al. Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia. Nature. 2014;506(7488):328–33. doi: 10.1038/nature13038.

149. Corces-Zimmerman MR, Hong WJ, Weissman IL, et al. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111(7):2548–53. doi: 10.1073/pnas.1324297111.

150. Thol F, Damm F, Ludeking A, et al. Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2011;29(21):2889–96. doi: 10.1200/jco.2011.35.4894.

151. Ribeiro AF, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, et al. Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. Blood. 2012;119(24):5824–31. doi: 10.1182/blood-2011-07-367961.

152. Ibrahem L, Mahfouz R, Elhelw L, et al. Prognostic significance of DNMT3A mutations in patients with acute myeloid leukemia. Blood Cells Mol Dis. 2014;54(1):84–9. doi: 10.1016/j.bcmd.2014.07.015.

153. Shivarov V, Gueorguieva R, Stoimenov A, Tiu R. DNMT3A mutation is a poor prognosis biomarker in AML: results of a meta-analysis of 4500 AML patients. Leuk Res. 2013;37(11):1445–50. doi: 10.1016/j.leukres.2013.07.032.

154. Wakita S, Yamaguchi H, Omori I, et al. Mutations of the epigenetics-modifying gene (DNMT3a, TET2, IDH1/2) at diagnosis may induce FLT3-ITD at relapse in de novo acute myeloid leukemia. Leukemia. 2013;27(5):1044–52. doi: 10.1038/leu.2012.317.

155. Hou HA, Kuo YY, Liu CY, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. Blood. 2012;119(2):559–68. doi: 10.1182/blood-2011-07-369934.

156. Ploen GG, Nederby L, Guldberg P, et al. Persistence of DNMT3A mutations at long-term remission in adult patients with AML. Br J Haematol. 2014;167(4):478–86. doi: 10.1111/bjh.13062.

157. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. N Engl J Med. 2014;371(26):2488–98. doi: 10.1056/nejmoa1408617.