

GIUSEPPE AMADORI (\*)

## PRINCIPALI ANOMALIE GENETICHE IN CORSO DI NEOPLASIE EMATOLOGICHE

ABSTRACT - AMADORI G., 1998 - Main cytogenetic abnormalities in haematological neoplasies.

Atti Acc. Rov. Agiati, a. 248, 1998, ser. VII, vol. VIII, B: 293-341.

The malignant cells in many patients who have leukemia or lymphoma have acquired chromosomal abnormalities in a clonal fashion. A number of specific cytogenetic abnormalities have been recognized that are very closely, and sometimes uniquely, associated with morphologically and clinically distinct subsets of leukemia or lymphoma. The detection of one of these recurring abnormalities can be quite helpful in establishing the correct diagnosis and can add information of prognostic importance. The appearance of new abnormalities in the karyotype in a patient under observation often signals a change in the pace of the disease, usually to a more aggressive disorder. Certainly, the detection of a cytogenetic abnormality clearly distinguishes between benign reactive lymphoid or myeloid hyperplasia and a malignant proliferation. In the search for other molecular abnormalities in the acute leukemias that might serve as therapeutic targets, the chromosomal translocations associated with these disorders have been helpful in indicating where to look for potential cancer genes. The major challenge is to use this genetic information to understand the underlying biology of leukemia and gain clues to rational therapeutic intervention. This review focuses on the principal genetic abnormalities of leukemias and lymphomas.

KEY WORDS - Cytogenetic, abnormality, haematological neoplasies.

RIASSUNTO - AMADORI G., 1998 - Principali anomalie genetiche in corso di neoplasie ematologiche.

Nella maggioranza delle neoplasie ematologiche, quali leucemie e linfomi, si notano anomalie cromosomiche a carico della popolazione cellulare proliferante, più spesso specifiche, talvolta at random. Molte di esse, ben definite con le moderne tecnologie della biologia molecolare, definiscono entità morfologiche e cliniche ben distinte. Esse hanno assunto importanza definitiva non solo nella corretta distinzione tra forme reattive benigne e tumorali, ma anche nelle attuali classificazioni delle leu-

---

(\*) Professore Associato di Ematologia dell'Università di Padova.

cemie e dei linfomi e sono ritenute indici prognostici fondamentali, tali da guidare fino dall'inizio la scelta della strategia terapeutica. Essendo tuttavia lo sviluppo tumorale un processo a molti stadi, è chiaro che nel suo corso si possono osservare successive anomalie molecolari, che sommandosi tra loro portano ad un progressivo peggioramento del quadro. Questo articolo descrive molte delle anomalie genetiche di leucemie e linfomi ad oggi conosciute e ne registra, ove noto, il significato prognostico. Si sottolineano alcuni progressi terapeutici di notevole importanza ottenuti grazie a terapie mirate alla anomalia molecolare e si prospetta lo sviluppo di sostanze farmacologiche nuove, o di oligonucleotidi antisense, in grado di bloccare selettivamente l'azione oncogena dei geni interessati.

PAROLE CHIAVE - Anomalie genetiche, neoplasie ematologiche.

Eventi genetici quali traslocazioni, mutazioni e inversioni sono ritenuti importanti momenti patogenetici nello sviluppo di neoplasie ematologiche in quanto possono portare ad attivazione aberrante di proto-oncogeni, cioè di geni che possono indurre la trasformazione tumorale di cellule. I proto-oncogeni (c-onc) rappresentano geni cellulari normali, omologhi a oncogeni virali (v-onc), produttori proteine essenziali nella regolazione della crescita e di normali funzioni cellulari. Essi comprendono geni codificanti per fattori di crescita, per recettori di fattori di crescita, per trasduttori di segnali, e per fattori di trascrizione. Agli stessi eventi possono conseguire depressione di geni soppressori della crescita cellulare e creazione di geni di fusione, talvolta codificanti per proteine che causano proliferazione cellulare (1, 2, 3). Quasi tutte le classi dei fattori di trascrizione sono state implicate sia come causa di leucemie linfoide che mieloidi (4, 5). Quindi almeno alcuni di essi sono definibili come oncogeni e pertanto la loro disregolazione può avere un ruolo importante nella patogenesi dei tumori (6). La loro localizzazione cellulare può essere diversa.

È noto che in molte neoplasie ematologiche un'unica anomalia citogenetica non è sufficiente ad innescare un processo neoplastico ma è necessario l'intervento coordinato di più geni sotto la guida di elementi quali *homeobox* o *NF-KB*, ai quali spetta il ruolo di master. In effetti nelle leucemie umane, che tipicamente sono monoclonali, le analisi molecolari mostrano comunemente lesioni genetiche multiple, quali traslocazioni cromosomiche, amplificazioni geniche e mutazioni puntiformi. In certi casi sono state dimostrate nella stessa cellula sia mutazioni attivanti un oncogene che perdita di un gene soppressore del tumore.

Alterazioni della espressione di geni *homeobox* sono state descritte anche in molte neoplasie extraematologiche nelle quali lo studio genetico ha talvolta consentito l'identificazione di geni presenti anche in cellule normali ma precedentemente sconosciuti. È il caso del carcinoma

mammario nel quale sono stati dimostrati quattro nuovi homeobox: *HOXB6*, *HOXA1*, *HOXA10*, e *HOXC6* (7).

Anomalie genetiche ben caratterizzate si associano spesso a definiti tipi di leucemie e linfomi. In neoplasie linfoidi il sito di riarrangiamento genico aberrante è situato frequentemente nella regione dei geni Ig o del recettore T, e quindi il punto di frattura più comune nelle forme B è sul cromosoma *14q32*, dove è situato il locus per le catene pesanti, o in *2p12* o *22q11*, dove risiedono i geni per le catene leggere delle immunoglobuline. Le traslocazioni più frequenti sono la *t(8;14)(q24;q32)* del linfoma di Burkitt, la *t(14;18)(q32;q21)* del linfoma follicolare, la *t(11;14)(q13;q32)* del linfoma del mantello e la *t(3;14)(q27;q32)* del linfoma diffuso a grandi cellule (8).

Nelle forme T le bande *14q11* e *7q35* rappresentano i più frequenti punti di frattura cromosomica coinvolgendo i loci per le catene del «T cell receptor» (TCR)  $\alpha/\delta$  e  $\beta/\gamma$ . Le traslocazioni causano contrapposizione di oncogeni a questi geni e quindi attivazione.

Nella tab. I sono elencati i tipi di geni più frequentemente alterati nelle leucemie umane.

---

Geni che convertono segnali di stimolo alla crescita dalla membrana al nucleo;  
 Geni attivanti la trascrizione;  
 Geni coinvolti nella differenziazione;  
 Geni preposti all'apoptosi;  
 Anti-oncogeni

---

Tab. I - Famiglie di geni alterati nelle neoplasie ematologiche

## A) GENI DI FUSIONE (O CHIMERICI), CON O SENZA ATTIVITÀ DI FATTORI DI TRASCRIZIONE

### Leucemie mieloidi acute

#### 1) ETO-AML1; X-AML1

*Anomalie cromosomiche:* *t(8;21)(q22;q22)*, *t(1;21)(p36;q22)*, *t(5;21)(q13;q22)*, *t(17;21)(q11;q22)*. *Significato prognostico: favorevole.*

Nella leucemia mieloide acuta L.M.A. associata a *t(8;21)(q22;q22)* il gene *AML1* del cromosoma 21 è fratturato e fuso con il gene *ETO/CDR/MTG8* (eight twenty-one, myeloid translocation gene on 8) presente in *8q22*. La *t(8;21)(q22;q22)* è presente nel 20-40% dei casi di M2, caratterizzata da frequente CD34+ e inaspettatamente da CD19+, CD56+, talvolta CD7+, corpi di Auer, eosinofilia, vacuoli citoplasmatici,

buona risposta alla chemioterapia (9). È stato visto che la maggior parte dell'LMA CD7+ e con  $t(8;21)(q22;q22)$  sono *GATA-1+* e *SCL-* e spesso presentano riarrangiamenti per catene Ig pesanti e per *TCR*. Invece la maggior parte delle leucemie mieloidi M3, M4 e M5 sono *GATA-1-* e *SCL-*, mentre leucemie M6 e M7 esprimono comunemente sia *GATA-1* che *SCL* (10).

L'anomalia citogenetica è probabilmente più complessa prevedendo un passaggio della parte distale del braccio lungo del 21 sul 8, mentre la porzione finale del braccio lungo del 8 andrebbe su un terzo cromosoma, e parte del terzo cromosoma sul 21. La proteina ibrida che deriva dalla traslocazione può persistere in remissioni prolungate e con emopoiesi policlonale (11). L'*AML1* è una proteina legante il DNA sito-specifica che riconosce il motivo centrale dell'enhancer TGTGGT. Curiosamente il gene codificante è omologo ai runt della *Drosophila*. Il dominio runt della proteina è responsabile del legame con il DNA e della dimerizzazione. La  $t(8;21)$  fonde i primi 177 aminoacidi del *AML1* all'*ETO* dando luogo ad una proteina chimerica che mantiene il dominio legante il DNA di *AML1*.

In realtà esistono almeno 2 isoforme di *AML1*, *A* e *B*, o secondo altri tre forme, *A*, *B* e *C*, a causa di possibili splicing alternativi. L'espressione aumenta in cellule trattate con acido retinoico, a dimostrazione della sua partecipazione nella differenziazione mieloide (12). *AML1A* e *AML1B* agiscono in modo antagonistico sulla differenziazione mieloide. *AML1A* lega più avidamente il DNA ma non ha domini di attivazione trascrizionale. In linee cellulari mieloidi trattate con G-CSF sopprime l'attività trascrizionale e lo stimolo alla differenziazione esercitati da *AML1B* mentre stimola la proliferazione cellulare (13). La *AML1* è chiamata anche subunità  $\alpha$  del *CBF* (core binding factor) umano, al quale spettano compiti regolatori di geni mieloidi e di linfociti T, e che collabora con *ETS1* e *C-MYB* nell'influenzare la funzione di geni per *TCR* (14). Il *CBF* è un eterodimero formato da due subunità  $\alpha$  e  $\beta$ . Il gene per *CBF $\beta$*  è posto in *16p13* (15). La natura di proto-oncogeni di *CBF $\alpha$*  e  $\beta$  è supportata dalla presenza di punti di frattura e traslocazioni interessanti entrambe le strutture, osservate in certe leucemie mieloblastiche (16). L'*ETO*, probabile fattore di trascrizione importante nello sviluppo del sistema nervoso (17), non ha analogie (18). L'*AML 1* e *ETO* sono molto rappresentati nell'emopoiesi. Sia nella  $t(8;21)$  che nella  $t(3;21)$  l'*AML1* è fratturato in corrispondenza dell'introne immediatamente al di là del *runt*, che forma la parte '5, ed è fuso con un gene partner. Sembra che per la leucemogenesi sia più critico il troncamento di *AML1* che la fusione del *runt* (19). Certamente la traslocazione priva

la cellula mieloide primitiva dell'attività favorente la maturazione di *AML1*, mentre la persistenza del trascritto *AML1/ETO* in remissioni prolungate di leucemie depone contro un suo ruolo nella leucemogenesi. L' *AML 1* è spostato anche in traslocazioni rare quali  $t(1;21)(p36;q22)$ ,  $t(5;21)(q13;q22)$ ,  $t(17;21)(q11;q22)$ , riscontrate occasionalmente in mielodisplasie e leucemie mieloblastiche (20).

## 2) DEK-CAN

*Anomalia cromosomica:  $t(6;9)(p22;q34)$ . Significato prognostico: sfavorevole.*

La  $t(6;9)(p22;q34)$  è una traslocazione che può dare origine a proteina chimerica leucemogena, descritta in giovani adulti con leucemia mieloide acuta. Ha in generale prognosi cattiva. La maggior parte dei casi presenta forma M1 o M4 ma alcuni presentano varietà M7.

Sebbene sul cromosoma 9 ci sia il proto-oncogene *c-abl*, il punto di frattura in questo caso è ampio e collocato in genere in una regione di 8 kb di un introne di un gene chiamato *Cain (CAN)*, una lunga sequenza con funzione sconosciuta. La proteina chimerica di fusione contiene anche sequenze del gene *DEK*, posto sul cromosoma 6, ugualmente con funzione poco chiara. Il gene ibrido dà luogo ad una proteina nucleare di 165 Kd (21), responsabile di leucemia mieloblastica, analogamente alla simile *SET-CAN*, responsabile di leucemia indifferenziata (22). L'anomalia è stata descritta anche in mielodisplasie e leucemia mieloide cronica (23).

## 3) PML-RAR $\alpha$ ; PLZF-RAR $\alpha$ ; NPM-RAR $\alpha$

*Anomalie cromosomiche:  $t(15;17)(q22;q21)$ ;  $t(11;17)(q23;q21)$ ;  $t(5;17)(q32;q12)$ . Significato prognostico: favorevole.*

Come è noto la leucemia promielocitica è caratterizzata da una traslocazione reciproca che coinvolge i cromosomi 15 e 17, come tale o come variante, necessaria nella patogenesi, sulla base di considerazioni citogenetiche e molecolari. I punti di frattura si localizzano entro il gene strutturale per il recettore a dell'acido retinoico sul cromosoma 17 ed entro un gene del cromosoma 15, inizialmente denominato *MYL*, e successivamente *PML*. Prende in questo modo origine un gene di fusione *PML-RAR $\alpha$* , costituito da una porzione *RAR $\alpha$*  di lunghezza stabile e una porzione *PML*, di variabile lunghezza.

La proteina *PML* è parte di un organello macromolecolare nucleare, che comprende almeno altre tre proteine, chiamato dominio

oncogenico *PML* (*POD*). Nelle cellule di leucemia promielocitica il *POD* è rotto come conseguenza dell'espressione dell'oncoproteina *PML-RAR $\alpha$* , ma il trattamento con acido all-trans-retinoico (*ATRA*) innesca la riorganizzazione del *PML* fino a generare normale *POD*. È pertanto proponibile che uno degli effetti leucemogeni esercitati da *PML-RAR $\alpha$*  sia l'inibizione dell'assemblaggio del *POD* (24).

Quindi *PML* è fisiologicamente legata al *POD*, granulo ultrastrutturale che si nota prevalentemente nel nucleo di cellule in divisione, assieme ad altre contro cui si formano anticorpi nella cirrosi biliare. Il *PML-RAR $\alpha$*  è localizzato prevalentemente nel citoplasma mentre una frazione è nucleare e frantuma i *POD* stesso (25). È un fattore di trascrizione putativo zinc-finger con molte somiglianze con l'*Rb* (26). Sembra essere una fosfoproteina associata a matrice la cui espressione risulta correlata al ciclo cellulare, massima in G1. Almeno uno dei suoi siti è fosforilato da una tirosina-chinasi.

La proteina di fusione *PML-RAR $\alpha$*  blocca la normale differenziazione mieloide e partecipa alla patogenesi della leucemia promielocitica con vari possibili meccanismi. Oltre a produrre frattura del *POD* la traslocazione causa mancanza del normale recettore *RAR $\alpha$*  e quindi scarsa attività dei retinoidi a concentrazioni fisiologiche. Lega inoltre ulteriormente proteina *PML*, sottraendo dall'ambiente cellulare questa componente alla quale si attribuisce un ruolo di inibitore della crescita (27, 28).

La proteina ibrida consiste di tutti i domains funzionali importanti di *PML* e *RAR $\alpha$*  e si è dimostrata fattore di trascrizione dipendente dall'acido retinoico, però con target cromosomico diverso da quello del *RAR $\alpha$* . È stato visto che la transfezione di linee mieloidi U937 con cDNA per *PML-RAR $\alpha$*  inibisce la differenziazione e frena l'apoptosi (29). Ma il *PML-RAR $\alpha$*  può anche favorire la formazione di un eterodimero con membri di un'altra famiglia di recettori per retinoidi, gli *RXR*, e pertanto può agire in modo indiretto come inibitore di questi fattori. Complessati fisiologicamente con *RAR $\alpha$* , questi hanno la più elevata capacità di legare l'acido retinoico. Quindi l'avidità di *PML-RAR $\alpha$*  per *RXR* e *PML*, e la loro sottrazione dall'ambiente cellulare, possono rappresentare momenti patogenetici importanti della leucemia promielocitica.

La formazione di eterodimeri con il recettore per l'ormone tiroideo e con il recettore per la vitamina D3 risulta invece in aumento dell'attività trascrizionale nei geni bersaglio di questi ormoni.

L'*ATRA* è un importante morfogeno per lo sviluppo dei vertebrati, un costituente normale del sangue umano adulto coinvolto nella normale crescita cellulare. Coltivando cellule midollari primordiali con livelli saturanti di Il-3, GM-CSF ed EPO, esso induce drammatico shift

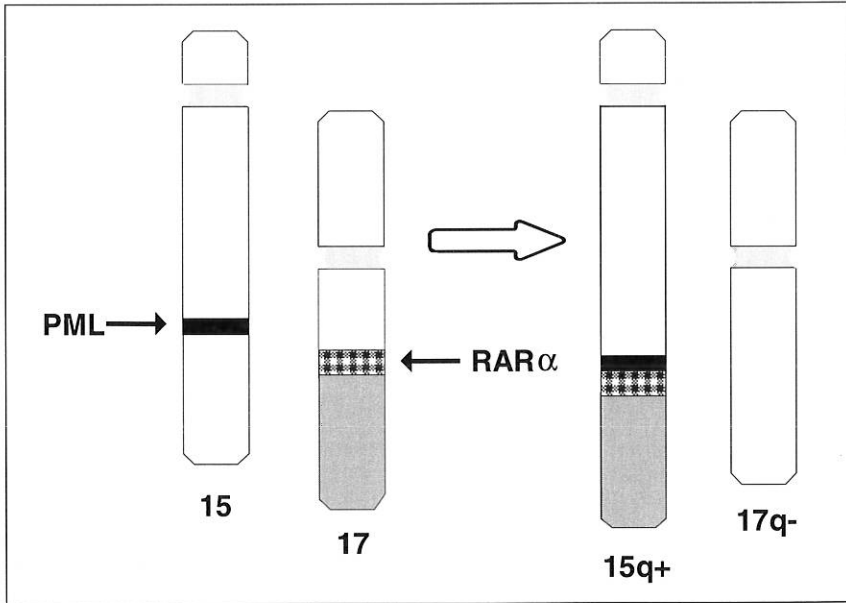


Fig. 1 - Rappresentazione schematica della traslocazione  $t(15;17)(q22;q21)$  della leucemia promielocitica.

dose-dipendente da colonie eritroidi a granulo-monocitarie, rappresentate essenzialmente da cloni granulocitari. L'aggiunta di ATRA a cellule primordiali stimolate verso la differenziazione unica eritroide in colture liquide causa inibizione virtualmente completa dell'induzione di mRNA per *GATA-1* (30). Quindi induce differenziazione mieloide e frena la crescita cellulare in modo simile alla proteina *Rb* (31), mentre la Vit.D3 causa differenziazione monocitica.

L'efficacia dell'ATRA nel trattamento della leucemia promielocitica è stata dimostrata occasionalmente notata da studiosi Cinesi i quali con il solo derivato vitaminico ottennero remissioni complete nel 100% dei casi, seppure di breve durata (32). L'associazione con chemioterapia o con CD33 marcato con  $I^{131}$  si mostrò poi capace di risultati superiori (33).

La variante  $t(11;17)(q23;q21)$  della leucemia promielocitica ha portato alla scoperta di un nuovo gene zinc-finger, tipo Krüppel, chiamato *PLZF*, (promyelocytic leukemia zinc finger), fuso con il gene per il *RAR $\alpha$* . Sono state identificate due isoforme di mRNA di *PLZF*, A e B (34). A questo fattore di trascrizione spetterebbe una funzione di controllo nel mantenere cellule immature con fenotipo «non committed», mentre proteine analoghe, quali *KROX-24* e *MZF-1* (myeloid zinc finger), sono necessarie rispettivamente per la differenziazione macrofagica

e granulocitaria (35, 36). Queste forme leucemiche presentano morfologia intermedia tra M2 e M3 (37), non sono sensibili ad ATRA ed hanno prognosi poco buona (38).

Si sono osservati trascritti *PML-RAR $\alpha$*  in leucemie promielocitiche senza *t(15;17)*, eventualmente con trisomia 8. Ciò suggerisce che l'accuratezza diagnostica presuppone l'analisi molecolare (39).

È stato descritto un paziente con leucemia promielocitica e *t(5;17)(q32;q12)* che presentava riarrangiamento del locus *RAR $\alpha$*  ed espressione di una proteina chimerica costituita dall'estremità 5' terminale di nucleofosmina (*NPM*), con l'estremità 3' terminale di *RAR $\alpha$* . La proteina di fusione funge come attivatore trascrizionale responsivo all'acido retinoico (40).

In un caso con normali 15 e 17 si è dimostrato *der(3) t(3;8)(p25;q12)*, trisomia di 8q, *PML* e *RAR $\alpha$*  contrapposti sul 15 ma presenti anche su 15 e 17 normali. Esiste quindi una varietà di leucemia promielocitica *t(15;17)* negativa e *PML-RAR $\alpha$*  positiva analoga alla leucemia mieloide cronica Filadelfia negativa e BCR-ABL positiva (41).

Peptidi di fusione quali quelli derivati da traslocazioni della LMC o della M3 sono in grado talvolta di legarsi a molecole HLA di classe I e stimolare linfociti T (42).

#### 4) CBF $\beta$ -MYH11

*Anomalia cromosomica: t(16;16)(p13;q22); inv(16)(p13;q22). Significato prognostico: favorevole.*

La LMA M4 con eosinofilia rappresenta una varietà distinta di leucemia acuta associata ad infiltrazione eosinofila midollare, comprendente circa il 6% delle leucemie mieloblastiche ed in particolare il 20% delle M4. Sul piano morfologico, citochimico ed ultrastrutturale è caratterizzata anche da anomalie degli eosinofili di vario tipo. È importante sia identificata con precisione perchè il numero e la durata delle remissioni complete ne configurano una prognosi relativamente buona (43).

La maggior parte delle L.M.A. M4 presenta anomalie strutturali a carico del cromosoma 16 coinvolgenti principalmente le bande 16p13 e 16q22, sia sotto forma di inversione pericentrica, *inv(16)(p13;q22)*, presente in circa il 10% delle L.M.A. (44), che di traslocazione *t(16;16)(p13;q22)*. La citogenetica tradizionale mette difficilmente in evidenza questi tipi di alterazioni, mentre più utile risulta l'esame in fluorescenza dopo ibidizzazione in situ.

Sebbene la maggior parte di queste inversioni sia stata dimostrata nelle L.M.A. M4Eo, occasionalmente sono state viste anche in altre



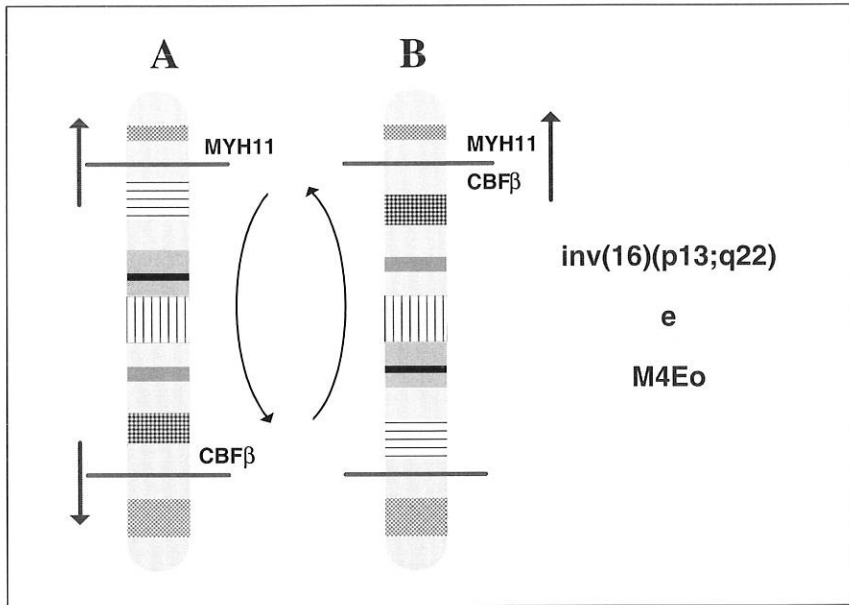


Fig. 2 - Rappresentazione schematica dell'inversione 16 e dei nuovi rapporti tra MYH11 e CBFβ.

neoplasie mieloidi, quali L.M.A. M2 ed M4 senza eosinofilia (10%), M5, mielodisplasie (M.D.S.) e leucemie mieloidi croniche (L.M.C.) in crisi blastica. La maggior parte di queste è associata con eosinofilia ed anomalie degli eosinofili o con trasformazione in L.M.A. M4Eo.

Le anomalie cromosomiche che coinvolgono il 16q22, ma anche regioni di cromosomi diversi, quali 3q24, 5q23, 14q32, 4q35 e 1p31, sono presenti in pazienti con neoplasie mieloidi, spesso associate con eosinofili anomali, lasciando ipotizzare che geni situati a livello di questi loci siano coinvolti in maturazione atipica della filiera. Come è noto le ipereosinofilie che si riscontrano in corso di processi mielo- o linfoproliferativi sono o di natura maligna (ad esempio M4-Eo con riarrangiamenti del cromosoma 16, M2 con t(8;21), leucemia mieloide cronica con differenziazione eosinofila) oppure rappresentano fenomeni di accompagnamento benigni, legati ad iperincrezione di citochine (ad esempio quella della leucemia linfoblastica B con t(5;14) (45, 46).

Il clonaggio del 16p ed il riconoscimento del punto di frattura sul 16q consentono di identificare i due geni coinvolti in traslocazioni e inversioni: il CBFβ e il MYH11. Il gene CBFβ, conosciuto anche come PEBP2b, una subunità del fattore di trascrizione eterodimerico CBF che regola i

geni espressi nei linfociti T, è posto in *16q22* e codifica per la subunità  $\beta$  del «core binding factor», che, come già visto, è un fattore di trascrizione eterodimerico che si lega agli enhancers di vari virus della leucemia murina, e a motivi simili negli enhancers di geni TCR. Nella Fig. 2 viene rappresentata l'inversione 16 ed i nuovi rapporti tra *MYH11* e *CBF $\beta$* .

La subunità  $\alpha$  di *CBF* corrisponde ad *AML-1*, nota in quanto coinvolta nella *t(8;21)* associata con la LMA M2. Il gene *MYH11*, situato sul *16p13*, codifica per una catena pesante della miosina della muscolatura liscia. I ripetuti avvolgimenti della miosina possono risultare nella dimerizzazione della proteina di fusione *CBF $\beta$ /MYH11* che a sua volta può dare alterazioni nella regolazione trascrizionale (47).

Analisi molecolari di campioni di *inv(16)* hanno dimostrato la presenza di fusione tra la regione codificante per i primi 165 aminoacidi di *CBF $\beta$*  con la regione terminale codificante per il *MYH11*. In tutti i casi studiati il punto di frattura nel mRNA fuso avviene nello stesso punto nella sequenza *CBF $\beta$* , portando alla rimozione degli ultimi 17 aminoacidi della potenziale proteina *CBF $\beta$* . Per quanto riguarda *MYH11*, sono stati invece descritti quattro punti di frattura entro l'mRNA di fusione. Si ritiene che il trascritto di fusione *CBF $\beta$ /MYH11* sia importante per la degenerazione leucemica (48, 49).

## 5) NUP98-HOXA9

*Anomalia cromosomica: t(7;11)(p15;p15). Significato prognostico: sfavorevole.*

È una rara traslocazione osservabile soprattutto in casi orientali di L.M.A. M2. Il neogene derivato dalla fusione da luogo ad una proteina ritenuta importante nella leucemogenesi (50).

## Leucemie linfoidi acute

### 1) PRO-B: HLF - E2A

*Anomalia cromosomica: t(17;19)(q22;p13). Significato prognostico: sfavorevole.*

La traslocazione *t(17;19)(q22;p13)* delle leucemie linfatiche acute (L.L.A.) pro-B risulta nella sintesi di proteine di fusione *HLF-E2A*, che contengono il dominio legante il DNA e di dimerizzazione della porzione aminotermine della proteina *HLF* del cromosoma 17 fuso con il dominio di transattivazione *E2A(E12/E47)* del cromosoma 19, con

proprietà di fattore di trascrizione (51, 52). La proteina si lega con elevata affinità a sequenze consenso GTTACGTAAT-3' (53). L'*HFLF* (hepatic leukemia factor) è normalmente espresso nel fegato e nel rene ma non nelle cellule linfoidi ed è strettamente correlato con fattori di trascrizione *DBP* (proteine albuminiche leganti D-box) contenenti zipper leucino e con il *TEF* (fattore embrionale tireotropico) (54). La proteina *E2A-HLF* ha proprietà altamente oncogene delle quali sono responsabili entrambe le costituenti. La leucemia acuta da essa causata ha prognosi poco buona e si accompagna talora a coagulazione intravascolare disseminata o ipercalcemia. La fusione avviene con due possibili tipi di riarrangiamento genico (55).

## 2) PRE-B: PBX1-E2A

*Anomalia cromosomica: t(1;19)(q23;p13.3). Significato prognostico: sfavorevole.*

Nella *t(1;19)(q23;p13.3)* della L.L.A. pre-B si verifica un punto di rottura sul gene per il fattore di trascrizione *E2A* sul cromosoma 19, codificante motivi bHLH, e fusione con la sequenza homeobox *PBX1* del cromosoma 1. L'RNA chimerico che ne deriva codifica per una proteina che manca di 171 aminoacidi dell'*E2A*, compresi i motivi di legame al DNA e di dimerizzazione. La produzione della proteina fusa *E2A/PBX1* può contribuire al fenotipo L.L.A. pre-B alterando direttamente l'espressione di geni normalmente rispondenti all'omeoproteina *PBX1* (56). Entrambe infatti legano la sequenza DNA ATCAATCAA (57). La traslocazione, una delle più comuni delle leucemie linfoblastiche, può essere dimostrata con la PCR, utile particolarmente nella ricerca della «minimal residual disease» (58).

Un cDNA del gene fuso è stato introdotto in cellule midollari di topo che dopo qualche mese hanno presentato LMA (quasi sempre sarcoma granulocitico) (59).

Il fenotipo della L.L.A. pre-B è CD19+/CD10+/CD22+/CD34-/CD20+/- . La prognosi delle forme pre-B precoci con iperploidia è relativamente favorevole (60).

## 3) C-ABL - BCR

*Anomalia cromosomica: t(9;22)(q34;q11). Significato prognostico: sfavorevole.*

Il cromosoma Ph1 e la *t(9;22)(q34;q11)* compaiono in circa il 5% delle LLA infantili e in oltre il 25% di quelle dell'adulto. Circa i 2/3 di

queste presentano la proteina P190 kD associata al riarrangiamento *BCR/ABL*, mentre gli altri hanno la P210 kD tipica della LMC. Queste anomalie sono più complesse nei casi di LLA pre-B.

Inoltre circa 1/3 dei soggetti con LLA Ph1+ mostra anomalie citogenetiche addizionali già al momento della diagnosi, quali +8, +19, +21, -7 e -9 (61). È anche descritto un caso di LLA-T con mosaicismismo del tipo  $t(11;14)(p13;q11)$ ,  $t(9;22)(q34;q11)$  e  $t(11;14)(p13;q11)$  (62).

Nelle LLA con Ph1+ si è notata una caratteristica ipometilazione della regione BCR (63).

## Leucemie mieloidi acute, leucemie linfoidi acute, mielodisplasie

### 1) EVI-1 - AML-1 ED ESPRESSIONE DI EVI-1

*Anomalie cromosomiche: t(3;21)(q26;22); inv(3)(q21;q26). Significato prognostico: sfavorevole.*

La proteina *EVI-1* (sito 1 di integrazione del virus ectropico) non è normalmente presente nelle cellule ematologiche. La sua espressione, ad esempio in cellule di leucemia mieloide, non cambia in maniera evidente la loro richiesta in fattori di crescita, ma altera la loro capacità di differenziarsi, in particolare in risposta al G-CSF. È stato dimostrato che l'espressione aberrante di *EVI-1* in cellule mieloidi può bloccare la differenziazione granulocitaria e l'eritropoiesi sopprimendo anche la trascrizione di un gene bersaglio *GATA-1* (64). Questo comportamento dimostra il suo potenziale ruolo nella trasformazione (5). La sua espressione è evento relativamente comune nelle leucemie mieloidi murine (65), dove l'*EVI-1* è stato identificato come associato alla leucemia mieloide indotta da virus. Si tratta di una proteina nucleare che lega il DNA e che contiene due domains cisteina-istidina, quindi zinc finger.

L'*EVI-1* umano, il cui gene è sito in  $3q26$ , è attivo sul piano trascrizionale nelle L.M.A., L.M.C. e M.D.S., in seguito a traslocazioni o inversioni che coinvolgono la banda  $3q26$  nella quale è collocato.

Sia inversioni che delezioni portano ad attivazione trascrizionale di *EVI-1*. Nel primo caso il punto di frattura è 3' rispetto al gene, nel secondo 5' (66).

In neoplasie ematologiche con  $t(3;21)(q26;22)$  l'*EVI-1* ed alcuni altri geni della regione si fondono con il gene *AML-1* del cromosoma 21 risultandone un nuovo trascritto.

Nella L.M.A. con  $inv(3)(q21;q26)$  si verifica un punto di frattura in una regione distale di 400 Kb rispetto al locus *EVI-1*.

La traslocazione  $t(3;21)(q26;q22)$  è osservata più spesso nella crisi blastica della leucemia mieloide cronica e in leucemie secondarie a MDS, o in altre neoplasie ematologiche, ma mai in forme insorte «de novo». Ad essa viene attribuito un ruolo critico nella progressione da una condizione preleucemica ad una francamente leucemica. Oltre che su geni controllanti la differenziazione, la proteina di fusione agisce in questo caso come fattore di trascrizione su diversi altri geni critici per i processi di proliferazione (67). L' *AML-1/EVI-1* sopprime in maniera dominante la transattivazione da parte del *AML-1* intatto, ritenuto uno stimolatore della differenziazione mieloide, soprattutto a causa della maggiore affinità del primo per siti di legame comuni nel DNA. Stimola inoltre la transattivazione di *C-FOS* ed aumenta quindi la sintesi di proteina *AP-1*, promotrice della crescita cellulare (68).

## 2) *MLL/LLA-1/HRX/HTRX-AF-4/FEL; MLL-MEN; AF-1P-MLL; AF-6-MLL; AF-9-MLL; MLL-AF-17; AF-X1-MLL*

*Anomalie cromosomiche:*  $t(4;11)(q21;q23)$ ,  $t(11;19)(q23;p13.1)$ ,  $t(1;11)(p32;q23)$ ;  $t(6;11)(q27;q23)$ ;  $t(9;11)(p21;q23)$ ;  $t(11;17)(q23;q21)$ ,  $t(X;11)(q13;q23)$ . *Significato prognostico:* sfavorevole.

In alcune malattie ematologiche sono stati scoperti vari riarrangiamenti che coinvolgono l' $11q23$ , dove ha sede il gene *MLL/LLA-1/HRX/HTRX* (mixed linearity leukemia), descritti sia in forme primitive di leucemia acuta (monocitica, mielomonocitica, monoblastica, linfoblastica, mista, o indifferenziata) che in forme secondarie mediate dalla terapia (più comunemente della linea mieloide). Esso codifica la proteina *MLL* di oltre 3910 aminoacidi, contenente tre regioni con omologie per sequenze del gene *trithorax* della *Drosophila* (*HRX* = *homologue of trithorax*). È riarrangiato, oltre che da traslocazioni, da delezioni interstiziali (69). La proteina *MLL* è ampiamente rappresentata nei mammiferi, con differenze tra i vari tessuti. A livello cellulare si colloca al di sotto della membrana nucleare, come avviene per altre proteine *HOX* (70).

Il difetto citogenetico interessante *MLL* consiste più spesso in traslocazioni promiscue nelle quali la banda  $11q13$  può fondersi con oltre 30 bande su più di 15 cromosomi partner con formazione di geni chimerici costituiti dalla porzione 5' di *MLL* e 3' del partner. In questo ruolo sono interessati prevalentemente i cromosomi 1, 4, 6, 9, 10 e 19.

Alcune delle traslocazioni coinvolgenti il locus sono relativamente comuni quali la  $t(4;11)(q21;q23)$ , la  $t(6;11)(q27;q23)$ , la  $t(9;11)(p21;q23)$  e la  $t(11;19)(q23;p13)$  mentre altre sono state descritte più raramente. La  $t(4;11)$  è trovata nel 10% dei casi di L.L.A., la  $t(11;19)$  nel 2%, la

$t(11;X)$  nel  $>1\%$ , la  $t(1;11)$  nel  $>1\%$ ; nelle mieloblastiche la  $t(9;11)$ , la  $t(6;11)$ , la  $t(10;11)$ , la  $t(11;17)$  e la  $t(11;19)$  sono state descritte nel 5-6% dei casi. La  $t(1;11)$  caratterizza la M4 infantile (71).

Si ritiene oggi che anomalie del sito 11q23 siano presenti nel 75% delle leucemie infantili, particolarmente nelle forme al di sotto dell'anno di età, e solo nel 5% delle forme adulte. Sono state descritte anche in linee cellulari di carcinoma gastrico. Le L.L.A. infantili con riarrangiamento di *MLL* sono generalmente caratterizzate da iperleucocitosi, CD10-, appartenenza a linee T o B e prognosi severa. Le possibili traslocazioni sono varie. In caso di delezioni o inversioni di 11q23 senza riarrangiamento di *MLL* la prognosi è meno severa (72).

Alcuni dei geni che sono situati al punto di rottura della traslocazione su cromosomi partner sono stati denominati con sigle: *AF1P* nella anomalia  $t(1;11)$ , *AF-4/FEL/LTG4* al sito 4q21 nella  $t(4;11)$ , *AF6* della  $t(6;11)$ , *AF-9/LTG9* al sito 9p22 nella  $t(9;11)$ , *AF17* nella  $t(11;17)$  ( $q23;q21$ ), *ENL/LTG19* al sito 19p13.3 nella  $t(11;19)$ , e *AFX1* nella ipotetica  $t(X;11)$ . Le proteine codificate da questi geni contengono comunemente sequenze con target nucleare, regioni ricche di serina e prolina, e molti aminoacidi basici. La proteina *ENL*, sicuramente dotata di attività di fattore di trascrizione, e la *AF-9*, presentano elevata omologia nelle loro sequenze. Le differenti proteine fuse alla porzione 5' di sequenze *MLL* che contengono un gancio AT possono contribuire alla leucemogenesi con meccanismi simili, quali il cambiamento della regolazione trascrizionale.

Nella  $t(1;11)$  sono interessati *AF-1* e *MLL*. L'isoforma *AF-1p* è omologa a proteine del citoplasma e del citoscheletro coinvolte nella trasduzione di segnali, mentre *AF-1q* è espresso in molti tessuti quali il timo ma non nelle cellule ematologiche mature, e in molti tumori emopoietici. Si ritiene che in M4 la proteina fusa oncogenica contenga il gancio AT legante il DNA mentre la parte oncogenica sarebbe quella contenente attività DNA-metiltrasferasica, proveniente da 11q23.

La  $t(4;11)(q21;q23)$  risulta in una sequenza di fusione reciproca codificante la proteina chimerica *MLL-AF4* (73). È riscontrabile frequentemente nella L.L.A. infantile, dove ha significato di prognosi particolarmente cattiva quando vi siano CD10-, età  $< 6$  mesi, GB  $> 50.000$ . Tra il 43% ed il 60% dei casi di L.L.A. infantile presenta il riarrangiamento di 11q23, sempre prognosticamente sfavorevole, nell'ambito di diverse traslocazioni, essendo la più frequente quella in questione. L'esistenza di forme di  $t(4;11)$  atipiche rende necessaria la valutazione con tecniche molecolari essendo l'esame citogenetico spesso insufficiente ai fini prognostici (74).

Una percentuale variabile tra l'1% ed il 15% di pazienti trattati

con chemioterapici antitumorali che interferiscono con la topoisomerasi II sviluppa L.M.A. secondaria, in particolare quelli trattati con epipodofillotossine ed antracicline, che causano anche traslocazioni, delezioni ed inversioni (75). La topoisomerasi II catalizza cambiamenti locali del DNA richiesti per la sua normale funzione, quali trascrizione, replicazione, ricombinazione. Gli inibitori della topoisomerasi II possono causare frattura in  $11q23$  in punti simili a quelli osservati in leucemie primitive, alle quali seguono vari tipi di traslocazione, cause di leucemie secondarie. Recentemente si è dimostrato che questi farmaci determinano un sito di clivaggio specifico (76).

È stato visto che i punti di frattura su  $4q21$  e  $11q23$  di L.M.A. di questo tipo sono in prossimità di sequenze consensus per topoisomerasi II, della quale le epipodofillotossine bloccano la funzione di riallacciamento di tratti di elica separati. È stata però descritta mielodisplasia dopo polichemioterapia per L.L.A. B anche senza epipodofillotossine (77).

La linearità delle leucemie con riarrangiamenti di  $11q23$  dipende dal partner che si fonde con *MLL* per dare luogo a proteine chimeriche diverse (78). È infatti noto che la  $t(4;11)$  e la  $t(11;19)$  sono frequenti in L.L.A. mentre la  $t(9;11)$ , e la  $t(6;11)$  in L.M.A.

La  $t(10;11)(p12;q23)$  della L.M.A. coinvolge il gene *AF-10/HRX* ed il *MLL*. È stato dimostrato che il punto di frattura sul cromosoma 11 cade entro il gene *MLL*. A livello di  $10p$  c'è invece eterogeneità, potendosi riarrangiare con  $11q23$  sia  $10p11$ ,  $10p12$ ,  $10p13$ ,  $10p14$  e  $10p15$ . Inoltre è stata notata in leucemie acute una inserzione complessa, la *ins(10;11)*, coinvolgente il  $10p11$  e il  $10p13$ . Nonostante l'apparente eterogeneità nel punto di frattura su  $10p$ , è importante stabilire che questi eventi sono limitati a casi di M4 o M5.

*AF-10* e *AF-17* sono tra loro correlati per la presenza all'estremità N di zinc-finger e C-terminale leucine-zipper (79).

Si ritiene che la traslocazione  $t(11;19)(q23;p13)$  giochi un ruolo importante nella patogenesi delle leucemie mieloidi nei pazienti anziani. Questa traslocazione fonde il gene *MLL* del cromosoma 11 con il *MEN* (traslocazione mieloide undici-diciannove), scoperto valutando librerie di cDNA di cellule presentanti l'anomalia  $t(11;19)(q23;p13.1)$ , poi dimostrato ubiquitariamente. La proteina *MEN* contiene un dominio altamente alcalino, ricco di lisina (80). Questa traslocazione, che forma un gene di fusione codificante una proteina chimerica, è stata descritta anche in L.L.A.-T, L.L.A.-B e L.M.A. Sia la  $t(11;19)$  che la  $t(4;11)$  delle leucemie infantili si accompagnano spesso ad aspetti bifenotipici con caratteristiche linfoidi e mielomonocitiche: si veda al riguardo la denominazione estesa di *MEN*.

Dal punto di vista citogenetico sono state osservate due varietà di frattura sul cromosoma 19p, la *19p13.3* e la *19p13.1*, con un possibile identico punto di frattura sul *11q23*. La traslocazione *t(11;19)(q23;p13.3)* risulta in *t(11q-;19p+)* e la *t(11;19)(q23;p13.1)* forma il *t(11q+;19p-)*. Nel primo caso, osservato in L.M.A. prevalentemente del tipo M1 e M5, è coinvolto il *MEN*, nel secondo, noto in L.L.A., il *ENL* (81).

Esistono casi linfoidi, bifenotipici e mieloidi. Alcuni sono congeniti e presentano un punto di frattura distale sul cromosoma *19p13.3*, mentre i casi più vecchi mostrano un punto di frattura prossimale sul cromosoma *19p13.1*. In effetti con l'ibridizzazione in situ si è dimostrata eterogeneità molecolare anche nel punto di frattura del locus *19p13.3*.

Un modello recente propone che i riarrangiamenti del gene *MLL* abbiano come conseguenza delle profonde modifiche funzionali della proteina codificata, e per modifiche strutturali conseguenti agli eventi genici e per effetto della proteina partner a cui si lega, talvolta in grado di reprimere l'attività della proteina *MLL*. La maggior parte dei punti di frattura su *11q23* si verificano in una regione di 9 Kb, che comprende gli esoni da 5 a 10 del gene *MLL*, tra i due siti zinc finger leganti il DNA.

In tre dei polipeptidi partner sono stati trovati domini noti per essere coinvolti in dimerizzazioni proteina-proteina: lo zipper leucinicco *AF17*, il dominio alfa elica coiled-coil del *AF1P*, e la regione con omologia con la catena pesante della miosina *AF6*.

In due traslocazioni descritte di recente, la *t(11;14)(q23;q32)* di linfomi non-Hodgkin B e la *t(11;17)(q23;q21)* di leucemie M3 il punto di frattura non è stato localizzato sul gene *MLL* ma in due altri geni limitrofi chiamati *RCK* e *PLZF* rispettivamente. Sembra in effetti che la regione *11q23* sia straordinariamente ricca in geni coinvolti in tumori, ed inoltre vi sono localizzati loci dell'atassia-telangiectasia, condizione nota come prelinfomatosa, ed un gene recentemente descritto putativo come soppressore di tumore (82, 83).

### **Leucemie mieloidi acute, leucemie linfoidi acute, mielodisplasie, sindromi mieloproliferative**

#### **1) ETV6/TEL-MN1; PDGFR $\beta$ -ETV6/TEL; ETV6/TEL-AML1; ETV6/TEL-ABL**

*Anomalie cromosomiche: t(12;22)(p13;q11). t(5;12)(q33;p13), t(7;12)(q11;p13), T(12;13)(p13;q14), t(12;17)(p13;q21), t(12;21)(p12;q22) t(12;22)(p13;q12). Significato prognostico: diverso.*

Traslocazioni e delezioni interstiziali a carico del ramo corto del



cromosoma 12, sul quale si trova il gene *ETV6/TEL* (Translocation Ets leukemia), sono state osservate in leucemie acute linfoidi e mieloidi, in mielodisplasie ed in malattie mieloproliferative caratterizzate da frequente monocitosi ed eosinofilia. Sono note in particolare la *t(5;12)(q33;p13)* della leucemia mielomonocitica cronica ed altre traslocazioni linea-specifiche coinvolgenti, oltre al 12, i cromosomi 3, 10 e 22 in proliferazioni mieloidi ed il 9 e il 22 in proliferazioni linfoidi. In alcune linee cellulari di leucemia linfoblastica pre-B sono state descritte *t(5;12)(q33;p12)* con punti di frattura diversi rispetto alla traslocazione delle mielodisplasie (84).

Nella *t(5;12)(q33;p13)* *ETV6/TEL* del cromosoma 12, codificante per l'omonimo fattore di trascrizione, una polipeptide di 432 aminoacidi, si fonde con *PDGFR $\beta$*  del cromosoma 5, codificante la catena  $\beta$  del recettore per il fattore di crescita piastrinico (85). Il trascritto *ETV6/TEL-PDGFR $\beta$*  dimostra potenziale oncogenico (86).

Sono anche conosciuti casi di leucemie mieloidi acute e mielodisplasie con *t(12;22)(p13;q11)*, nella quale il gene *MN1*, situato nel cromosoma 22q11, è fuso al *ETV6/TEL*, risultando traslazione di mRNA fuso per un fattore di trascrizione aberrante (87).

In alcune forme di leucemie linfoblastiche B e pre-B è presente la *t(12;21)(p12;q22)*, che da luogo alla proteina fusa *TEL-AML 1*. Come già visto, entrambi i geni sono interessati in traslocazioni specifiche di leucemie mieloidi acute. È interessante notare che nelle leucemie linfatiche acute al riarrangiamento del *TEL* su un allele si associa spesso la delezione dell'allele normale, configurandosi quindi la perdita dell'eterozigosi. La delezione si osserva particolarmente in subcloni leucemici, indicando che si tratta di evento secondario, successivo alla traslocazione, che conferisce ulteriore vantaggio proliferativo alle cellule leucemiche (88, 89). La presenza di riarrangiamento *EVT6/TEL* in leucemie linfoblastiche infantili della linea B comporta migliore risposta terapeutica ad associazioni contenenti antimetaboliti (90).

La perdita di eterozigosi per il 12p13 è stata dimostrata nel 25% di L.L.A. Nelle forme croniche caratterizzate dalla *t(5;12)*, prevalentemente leucemie mielomonolitiche croniche (L.M.M.L.), sono presenti entrambi gli alleli (91, 92).

Recentemente è stata identificata in malattie mieloproliferative una nuova traslocazione che porta all'attivazione dell'oncogene *ABL*, diversa dalla più nota *t(9;22)*. Si tratta della combinazione con il *TEL* con produzione di una proteina fusa con elevata attività tirosino-chinasica (93).

La perdita di materiale genetico dalla banda 12p13, assieme a molti tipi di traslocazioni, può essere seguita da leucemogenesi e suggerisce

pertanto la presenza in questa zona di elementi soppressori di tumori. Si ritiene che essa si verifichi con frequenza più elevata di quanto si ritenesse in precedenza perchè può essere non svelabile con le tecniche citogenetiche standard. Anche la delezione dell'intero braccio corto del cromosoma 12, la *del(p12)*, è da sola una delle più comuni nelle leucemie linfoblastiche infantili (5%) e mieloblastiche, nonché in M.D.S. (94). In molte forme di neoplasia ematologica si assiste alla delezione di un segmento che comprende *TEL* e *KIP1* (95). Sia il *TEL* che il *KIP-1* sono candidati geni soppressori di tumori. Il *KIP-1* produce il *p27*, inibitore del complesso *CDK4*, che gioca un importante ruolo negativo nella regolazione della crescita cellulare di almeno alcune linee emopoietiche. Il *TGF-β* esercita azione inibitrice sulla proliferazione alterando la distribuzione cellulare di *p27* mentre la *Il-2* attiva la proliferazione di T-linfociti promuovendo la degradazione intracellulare della stessa proteina. Una copia di *KIP-1* è deleta nel 75% di tumori ematologici mentre l'altra sembra normale. In queste situazioni si avrà pertanto calo del trascritto del 50% e quindi ridotto controllo del passaggio dalla fase G1 a S.

## Leucemia mieloide cronica

### C-ABL - BCR

*Anomalia cromosomica: t(9;22)(q34;q11). Significato prognostico: sfavorevole.*

La L.M.C. è stata la prima emopatia maligna messa in rapporto con una anomalia citogenetica. Il partner *der(22)* fu identificato in epoca pre-banding per le sue piccole dimensioni. Quindi la traslocazione meglio caratterizzata a livello molecolare è la *t(9;22)(q34;q11)* che si verifica nella L.M.C., L.L.A. e più raramente in L.M.A. In questa traslocazione il punto di frattura avviene entro il gene *Abl* sul cromosoma 9 ed in un cluster di frattura più o meno ampio sul cromosoma 22. La traslocazione ha per conseguenza il passaggio della maggior parte del gene *ABL* al gene *BCR* del 22. Ne risulta la formazione di un gene *Bcr-Abl* di 7 Kb nelle LLA e di 8,5 Kb nelle LMC, codificanti proteine di 190 e 210. Tali proteine hanno elevata attività proteino-chinasica e tumorigena (96).

L'attivazione del protooncogene *ABL* avviene in genere in seguito alla fusione con il *BCR*. Come visto prima, è stata descritta anche una traslocazione alternativa *t(9;12)* con fusione con un gene del cromosoma 12, il *TEL*, e formazione di proteina ibrida con motivo di dimerizzazione *TEL HLH* ed elevata attività tirosino-chinasica (97).

## **Leucemia mieloide acuta, leucemia mieloide cronica in crisi blastica, mielodisplasie.**

### **1) FUS-ERG**

*Anomalia cromosomica: t(16;21)(p11;q22). Significato prognostico: sfavorevole.*

Il gene *FUS/TLS* sito nel cromosoma 16p11, noto in precedenza nel liposarcoma mixoide, è fuso con il gene *ERG*, attivatore trascrizionale, membro della famiglia *ETS*, noto in precedenza nel sarcoma di Ewing, sito in 21q22, in alcune leucemie mieloblastiche, in M.D.S. ed in crisi blastiche di L.M.C., consentendo la formazione di un gene ed una proteina chimerica (98, 99). Sono espressi entrambi i geni chimerici. L'*ERG-TLS* e il *TLS-ERG*, formati rispettivamente sul *der(16)* e sul *der(21)*. Il gene *AML1*, coinvolto nella traslocazione *t(8;21)*, non è riarrangiato ed il punto di frattura è distale ad esso (100).

## **Linfomi non Hodgkin**

### **1) ALK - NPM**

*Anomalia cromosomica: t(2;5)(p23;q35). Significato prognostico: non noto.*

La *t(2;5)(p23;q35)* presente nel linfoma anaplastico a grandi cellule (A.L.C.L.) forma un nuovo gene chimerico ponendo giustapposti quello per la nucleofosmina (*NPM*), sito in 5q35, con quello per la chinasi del linfoma anaplastico (*ALK*) del cromosoma 2p23. Ha origine pertanto una nuova proteina.

L'*ALK* è una tirosin-chinasi appartenente alla famiglia dei recettori insulinici. La proteina ibrida *NPM-ALK* contiene l'intera porzione intracellulare di quest'ultimo. Sia *ALK* che *ALK-NPM* possono essere dimostrate in tessuti freschi o inclusi in paraffina con anticorpi monoclonali. Il primo è presente nel normale tessuto nervoso, il secondo in linfomi anaplastici (101).

Il gene *ALK* è espresso in alcuni tessuti normali ma non in quello linfatico ne nei linfomi *t(2;5)* negativi. Si ritiene che il gene *NPM* promuova l'espressione del dominio catalitico di *ALK*, incorporato nella proteina chimerica *NPM/ALK*. La proteina chimerica è stata trovata nel 73% di A.L.C.L., in percentuale ancora più elevata nei casi infantili, ma non nelle cellule di Sternberg, morfologicamente simili (102). Recentemente si è dimostrata espressione di chinasi *ALK* anche in casi di linfoma anaplastico senza *t(2;5)* (103).

STRUTTURE COINVOLTE	MALATTIA	ANOMALIE CITOGENETICHE	SIGNIFICATO PROGNOSTICO
ETO - AML1	L.M.A.	t(8;21)(q22;q22); t(1;21)(p36;q22);	SFAVOREVOLE
X - AML1		t(5;21)(q13;q22); t(17;21)(q11;q22)	
CAN - DEK	L.M.A.	t(6;9)(p22;q34)	SFAVOREVOLE
PML - RAR $\alpha$	L.M.A.	t(15;17)(q22;q21) t(11;17)(q23;q21) t(5;17)(q32;q12)	FAVOREVOLE
CBF $\beta$ - MYH11	L.M.A.	t(16;16)(p13;q22), Inv(16;16)(p13;q22)	FAVOREVOLE
NUP98 - HOXA9	L.M.A.	t(7;11)(p15;p15)	SFAVOREVOLE
HLF - E2A	L.L.A.	t(17;19)(q22;p13)	SFAVOREVOLE
PBX1 - E2A	L.L.A.	t(1;19)(q23;p13.3)	SFAVOREVOLE
ABL - BCR	L.L.A.	t(9;22)(q34;q11)	SFAVOREVOLE
EVI-1 - AML-1 EVI-1	L.M.A.	t(3;21)(q26;q22); inv(3)(q21;q26)	SFAVOREVOLE
AF1 - MLL	L.L.A.	t(1;11)	SFAVOREVOLE
AF4 - MLL	L.L.A. (10%), L.M.A. (dopo VP16); forme bifenotipiche	t(4;11)(q21;q23)	SFAVOREVOLE
AF6 - MLL	L.M.A.	t(6;11)(q27;q23)	SFAVOREVOLE
AF9 - MLL	L.M.A.	t(9;11)(p21;q23)	SFAVOREVOLE
AF10 - MLL	L.M.A.	t(10;11)(p12;q23)	SFAVOREVOLE
MLL - TCR $\alpha/\delta$	L.N.H. - B	t(11;14)(q23;q32)	SFAVOREVOLE
MLL - MEN	L.L.A.; L.M.A. (anziani); bifenotipiche	t(11;19)(q23;p13)	SFAVOREVOLE
RCK o PLZF - RAR $\alpha$	L.M.A. M3	t(11;17)(q23;q21)	SCONOSCIUTO
PDGF $\beta$ - TEL	M.M.P., M.D.S.	t(5;12)(q33;p13)	SCONOSCIUTO
TEL - MN1	L.M.A.	t(12;21)(p12;q21)	SCONOSCIUTO
TEL - AML-1	L.L.A.	t(12;21)(p12;q22)	SCONOSCIUTO
ABL - TEL	L.M.C.	t(9;12)(q34;p12)	SFAVOREVOLE
BCR - ABL	L.M.C.	t(9;22)(q34;q11)	SFAVOREVOLE
FUS - ERG	L.M.A., L.M.C., M.D.S.	t(6;21)(p11;q22)	SFAVOREVOLE
NPM - ALK	L.N.H.	t(2;5)(p23;q35)	SCONOSCIUTO

Tab. II - Principali anomalie citogenetiche causa di trascritti chimerici verosimilmente oncogeni.

## B) FATTORI DI TRASCRIZIONE E ONCOGENI ATTIVATI E DIFETTI DI GENI SOPPRESSORI

### Leucemia linfoblastica

#### 1) B: IL-3-IGH

*Anomalia cromosomica: t(5;14)(q31;q32). Significato prognostico: sconosciuto.*

La  $t(5;14)(q31;q32)$  caratterizza un sottotipo distinto di leucemia linfoblastica B associato con eosinofilia periferica di tipo reattivo (104). La regione joining del gene IGH risulta fusa con la regione promoter del gene Il-3 con orientamento trascrizionale opposto. L'attivazione del gene per l'Il-3 da parte dell'enhancer del gene IGH può essere causa della eosinofilia.

#### 2) B e T: Del 9p21

*Significato prognostico: sfavorevole.*

Alcuni geni che codificano proteine inducenti chinasi ciclina-dipendenti giocano un ruolo importante nella regolazione del ciclo e della differenziazione cellulare. La loro attività è controllata in senso negativo da alcune proteine codificate da geni posti nel braccio corto del cromosoma 9, la cui delezione è frequentemente osservata in neoplasie.

Le bande  $p21-22$  di detto cromosoma sono frequentemente coinvolte (in circa il 10% dei casi) in delezioni e traslocazioni, particolarmente nelle leucemie linfoblastiche (105). In  $9p21$  è stato descritto un gene con possibile funzione di soppressore tumorale, il  $p16^{INK4a}/MTS1$ , codificante una proteina con quattro motivi anchirinici, inibitrice specifica del complesso chinasi proteico ciclina  $D$ - $CDK4$  e ciclina  $D$ - $CDK6$  (106).

A queste anomalie corrisponde un quadro clinico ritenuto a rischio elevato caratterizzato da età pediatrica più alta, iperleucocitosi, immunofenotipo T, crescita tumorale di tipo linfomatosa ed elevata frequenza di compromissione del sistema nervoso centrale. La banda  $9p21$  è interessata da anomalie strutturali anche in melanomi, gliomi, carcinomi polmonari ed esofagei nei quali si osserva talvolta perdita di eterozigosi riguardo a molti marcatori molecolari, come se vi residessero altri geni soppressori di tumore. Spesso si osserva delezione bi-allelica del gene  $p16^{INK4a}$  e in linee tumorali conservanti un allele si sono dimostrate anomalie a suo carico.

L'espressione delle cicline di tipo D e delle chinasi associate è regolata da segnali extracellulari e da stimolazione cellulare, ad esempio da parte di mitogeni. Le chinasi associate integrano segnali extracellulari con sintesi di DNA attraverso fosforilazione di proteine che controllano la quantità di sintesi nella fase medio-tardiva di G1. Il complesso ciclina D-CDK-chinasi controlla inoltre la fosforilazione delle proteine Rb che innescano la liberazione di fattori di trascrizione Rb-associati necessari per l'inizio della fase S.

La  $p16^{INK4a}$  inibisce specificamente l'attività del complesso ciclina D-CDK4 chinasi e pertanto dovrebbe limitare la crescita indotta da mitogeni.

Sempre in  $9p21$ , in prossimità del  $16^{INK4a}$ , è stato localizzato un secondo inibitore specifico del complesso ciclina D-CDK4-chinasi, il  $p15^{INK4b}/MTS2$ , assente in una buona proporzione di tumori umani. La sua trascrizione è rapidamente indotta dal TGF $\beta$  (107).

La maggior parte di L.A.A. con generiche anomalie citogenetiche presenta delezione di  $p16^{INK4a}$  o  $p15^{INK4b}$ , mentre nei casi senza anomalie citogenetiche la delezione è presente in circa  $\frac{1}{4}$  dei casi, prevalentemente biallelica (108).

### 3) B e T: X - TCR $\delta$

*Anomalia cromosomica: t(5;14)(q33-34;q11). Significato prognostico: sconosciuto.*

È caratterizzata dalla giustapposizione di un gene non noto di  $5q33$  con quello per TCR $\delta$ . Compare in leucemie linfoblastiche infantili di tipo B e T in cui sono presenti organomegalia, allargamento mediastinico o lesioni «bulky». In un caso è stato notato switch verso la forma mieloblastica senza apparenti mutamenti genetici (109).

### 4) T: TAL-1/SCL/TCL5-TCR $\delta$ e TAL-1/SIL

*Anomalia cromosomica: t(1;14)(p34;q11); del (1pX). Significato prognostico: favorevole.*

La proteina TAL-1/SCL/TCL5, codificata da un gene del cromosoma 1, è espressa abbondantemente in cellule endoteliali, cerebrali, nel fegato umano fetale, nei megacariociti, mast-zellen e genericamente nel midollo emopoietico rigenerante, negli eritroblasti, nel timo e nello scheletro, dove favorisce la differenziazione (110). Non è invece dimostrabile in linee cellulari B o mieloidi, nè in linfociti T stimolati con PHA. Nello

sviluppo emopoietico è espressa in progenitori multipotenti prima dell'affidamento alle singole filiere maturative e rimane presente, in progressivo aumento, nel corso della differenziazione eritroide, megacariocitaria, basofila, mentre per la differenziazione mieloide sono richiesti bassi valori. Come già detto, nel corso dello sviluppo eritroide in vitro si è notato invece progressivo aumento di *TAL-1*. Si tratta di un fattore indispensabile per l'emopoiesi, come è dimostrato dal grave difetto dei precursori multipotenti che compare nell'embrione murino dopo distruzione del relativo gene, del tutto simile a quello descritto nel difetto di *GATA-1* o della proteina LIM *RBTN2* (111).

La proteina *TAL-1* è fosforilata e si complessa formando eterodimeri con prodotti del gene *E2A*, (*E12 ed E47*), e *RBTN2/RHOM2*. *E12 ed E47* sono enhancer immunoglobulinici appartenenti ai fattori di trascrizione bHLH, importanti nello sviluppo dei linfociti B ed anche induttori della miogenesi in quanto partner in fattori di trascrizione per miosina di muscolatura liscia. L'eterodimerizzazione con il *TAL-1* reprime la capacità transattivante di *E47* e quindi previene l'espressione di geni immunoglobulinici in cellule non-B. In linee mieloidi è stato invece osservato che la differenziazione terminale in macrofagi indotta da Il-6 si accompagna a perdita del legame di *E2A-TAL-1* al DNA, come se il fattore di trascrizione abolisse la maturazione cellulare. Il sito bersaglio di *TAL-1* rimane comunque non noto.

Il gene codificante per questo fattore di trascrizione può andare incontro a splice diversi. Ad esempio sia l'esone 1a che 1b possono dare splicing che li uniscono direttamente all'esone 5, codificando per una proteina troncata mancante di un dominio di transattivazione N-terminale.

In circa ¼ dei pazienti con leucemia linfoblastica T si ha espressione di *TAL-1/SCL* in quantità abbondante, corrispondentemente ad attivazione del gene rispettivo in seguito ad eventi cromosomici. Nel 3% si osserva *t(1;14)(p34;q11)*, nella quale il gene *TAL-1* passa dal cromosoma 1 al 14 in prossimità del gene *TCRα/δ*. Nel 25% si assiste a riarrangiamento tumore-specifico del gene *TAL-1* che non è evidenziabile alla tradizionale valutazione citogenetica. Si tratta di una delezione locale di 90-100 kb della sequenza al di qua del gene *TAL-1*, che causa riarrangiamento e congiunzione con un gene contiguo, il *SIL*: pertanto il riarrangiamento *TAL-1/SCL-SIL*, conseguente alla delezione, risulta uno dei più comuni nella leucemia linfoblastica T.

Non è escluso che l'espressione ectopica di *TAL-1* derivi da mutazioni puntiformi nelle sequenze regolatrici. È comunque osservabile in anomalie genetiche che interessano uno o due alleli (112).

Il prodotto del *TAL-1* è membro della famiglia bHLH e come tale contiene un dominio basico legante il DNA e un motivo di dimerizzazione.

L'allele riarrangiato del *TAL-1* è facilmente trascritto in cellule di leucemia linfoblastica T nonostante il fatto che la sua espressione non sia stata osservata nel caso del normale sviluppo di questi linfociti. Quindi il riarrangiamento tumore-specifico di *TAL-1* può promuovere la leucemogenesi inducendo l'espressione della relativa proteina ectopica in cellule della linea T, con effetto di inibizione della maturazione e mancato controllo della crescita e trasformazione maligna (113, 114, 115).

Il prodotto del gene *TAL-1* può formare eterodimeri ma non omeodimeri. Quindi le caratteristiche di oncogenicità del *TAL-1* possono essere dovute anche alla interazione obbligata con altri polipeptidi, tipo *E2A* (116). Gli eterodimeri riconoscono preferenzialmente sequenze *CANNTG* (117).

Gli aspetti alla presentazione ed il decorso clinico delle leucemie linfoblastiche T che presentano riarrangiamento del gene *TAL-1* sono indistinguibili dalle altre e pertanto in pazienti senza riarrangiamento *TAL-1* vi possono essere altre anomalie genetiche che sono equivalenti sul piano funzionale. La ricombinazione sito-specifica del gene *TAL-1* che avviene in seguito a *t(1;14)(p32;q11)* si osserva esclusivamente in forme T ma non B o in linfomi non-Hodgkin. Questi casi presentano fenotipo CD1- CD2+ CD4- CD7+ CD10-. La ricombinazione ha prognosi buona.

Secondo osservazioni recenti il trascritto *TAL-1* è presente nelle cellule della maggior parte di pazienti con leucemia linfoblastica T, compresi ovviamente quelli che non hanno evidenti alterazioni citogenetiche. Questo suggerisce ancora una volta che l'alterazione oncogena di *TAL-1* può verificarsi in assenza di evidenti riarrangiamenti del DNA e deve essere ricercata con adeguate tecniche di biologia molecolare.

## 5) T: TCR- $\beta$ -TAL-2

*Anomalia cromosomica: t(7;9)(q34;q32). Significato prognostico: favorevole.*

Il gene *TAL-2* è stato isolato sulla base della sua omologia di sequenza con il *TAL-1*. In conseguenza della traslocazione *t(7;9)(q34;q32)* specificamente associata alla leucemia linfoblastica T il *TAL-2* del cromosoma 9 è giustapposto a sequenze del gene *TCR $\beta$*  sul cromosoma 7. Il prodotto del suo gene è una proteina di 108 kD che comprende se-



quenze di dimerizzazione «bHLH» e domini leganti il DNA altamente omologhi a quelli codificati da *TAL-1* ed anche da *LYL-1* del cromosoma 19 (118). Anche se espressione di *TAL-2* è stata osservata in cellule emopoietiche normali, il trascritto del gene *TAL-2* è abbondante solo in cellule con traslocazione *t(7;9)* (119).

Sia il gene *TAL-1* che il *TAL-2* e il *LYL-1* sono attivati da traslocazioni cromosomiche ritenute tumore-specifiche ed associate a leucemie linfoblastiche T.

### 6) T - TCR-β-LYL-1

*Anomalia cromosomica: t(7;19)(q34;p13). Significato prognostico: non noto.*

La *t(7;19)(q34;p13)* altera strutturalmente il gene *LYL-1* della banda *19p13* giustapponendolo con il gene *TCRβ* e troncando l' RNA per *LYL-1*. La proteina prodotta dal gene *LYL-1* contiene un potenziale motivo «bHLH» legante il DNA. Non è chiaro quale sia il normale ruolo di questo gene nell'emopoiesi (120, 121).

### 7) T: LCK-TCRβ

*Anomalia cromosomica: t(1;7)(p34;q34). Significato prognostico: non noto.*

La *t(1;7)(p34;q34)* risulta nella giustapposizione del locus *LCK* del cromosoma 1 con il *TCRβ* del cromosoma 7. Il *LCK* codifica una proteina con attività tirosin-chinasica, la p56, che è espressa specificamente ed in alta quantità nelle cellule T. La traslocazione presso l'enhancer T *TCRβ* sembra permettere l'espressione continua ed incrementata del *LCK* (122).

### 8) T: TCRβ-TAN-1/TCI3

*Anomalia cromosomica: t(7;9)(q34;q34.3). Significato prognostico: non noto.*

Il gene *TAN-1* posto nella banda *9q34.3* presenta molte analogie con il gene Notch della *Drosophila*, importante nel controllo della crescita di molti tessuti. Nei mammiferi esistono tre simili entità, altamente conservate, ritenute egualmente importanti nella crescita e differenziazione tissutale o nella oncogenesi in caso di riarrangiamenti (123). Nella traslocazione *t(7;9)(q34;q34.3)*, notata in leucemie linfoblastiche T, il gene *TCRβ* posto in *7q34* si unisce a quello del *TAN-1*. Per effetto

della traslocazione si ha produzione di mRNA del *TAN-1* in versione troncata mentre nella sua forma completa è relativamente abbondante nel normale tessuto linfatico. L'mRNA per il *TAN-1* è espresso nei precursori CD34+ compreso quel subset di cellule immature che non presentano antigeni di linearità. Pertanto il *TAN-1* può essere coinvolto nel mediare il destino cellulare nel corso dell'emopoiesi (124).

### 9) T: HOX11-TCR $\delta$ ; TCR $\beta$ -HOX11

*Anomalie cromosomiche: t(10;14)(q24;q11), t(7;10)(q35;q24). Significato prognostico: non noto.*

La *t(10;14)(q24;q11)* e la sua variante *t(7;10)(q35;q24)* sono anomalie comuni nella leucemia linfoblastica T essendo presenti in una percentuale compresa tra il 5% ed il 10% di queste forme. La *t(10;14)* rappresenta probabilmente il risultato di una ricombinazione fisiologica aberrante durante il riarrangiamento di geni TCR. Il gene adiacente alla regione *10q24*, l'homeobox *HOX11/TCL3*, è attivato trascrizionalmente dopo traslocazione o su *TCR $\delta$*  (*14q11*) o su *TCR $\beta$*  (*7q35*). Ad esso spetta un ruolo importante nella crescita e differenziazione, probabilmente di tipo «master», mentre la sua espressione in cellule emopoietiche risulta oncogena (125). Il punto di frattura a livello *10q24* è compreso in un'area conservata dal punto di vista dell'evoluzione distinta da quella per la TdT. L'*HOX11* codifica per un gene homeobox ed è un transattivatore trascrizionale nucleare legante il DNA. mRNA per *HOX11* non è espresso in condizioni basali ma solo dopo attivazione con PHA, mediata da attività tirosino-chinasica, o in cellule che portano la *t(10;14)* o *t(7;10)* (126, 127, 128). Sono noti anche rari casi di leucemia linfoblastica T con *inv(10)(q11;q24)* (129).

### 10) T: TTG1-TCR $\delta$ , TTG2-TCR $\delta$ , TCR $\beta$ -TTG2

*Anomalie cromosomiche: t(11;14)(p15;q11) t(11;14)(p13;q11), t(7;11)(q35;p13). Significato prognostico: non noto.*

Nelle leucemie acute si può avere coinvolgimento degli oncogeni *TTG1/RBTN1* e *TTG2/RBTN2* (geni di traslocazione delle cellule T) situati in *11p15* e *11p13*, in prossimità di punti di frequenti fratture per traslocazioni con geni partners *TCR*, come conseguenza di errori di processi di ricongiungimento VDJ. I geni *TTG1/RBTN1* e *TTG2/RBTN2* codificano proteine ricche di cisteina classificate come «LIM», probabilmente fattori di trascrizione (130). Il primo è normalmente rappresentato solo nel tessuto nervoso, il secondo è presente in molti tessuti embrionali (131).

Nella leucemia linfoblastica T con  $t(11;14)(p15;q11)$  il gene *TTG1* è spostato entro loci genetici per recettori *TCR $\alpha$*  e deregolato (132). La  $t(11;14)(p15;q11)$  e la  $t(11;14)(p13;q11)$ , la  $t(7;11)(q35;p13)$  sono traslocazioni ricorrenti nelle leucemie linfoblastiche T che interessano il  $14q11$  (o nella variante il  $7q35$ ) mettendo contrapposti il locus *TCR $\delta$*  (o il locus *TCR $\beta$* ) e il gene *TTG1/RBTN1* o il *TTG2/RBTN2*. La regione del  $11p13$  dove avviene la maggior parte dei breakpoint è stata designata come «T-AAA/bcr». Le proteine *TTG1* e *TTG2* partecipano allo sviluppo embrionale di fegato e di cellule nervose, ma non sono espresse in maniera significativa in linfociti T normali o in timociti; entrambi invece possono essere espressi in cellule T portatrici del  $t(11;14)$ . Sono stati descritti tumori in topi transgenici per *TTG1* e *TTG2*.

In cellule eritroidi, come già visto, sono coespressi il *TTG2* ed il *TAL-1* ed entrambi sono importanti per la differenziazione rossa. Un'altra proteina, il *RBTN3*, è strettamente correlata con la *RBTN1*, ma invece non è coinvolta nell'oncogenesi (133).

Il dominio «LIM» è composto da due speciali «zinc fingers». Alcune proteine hanno un solo dominio mentre altre ne hanno parecchi. Esse comprendono fattori di trascrizione e proteine del citoscheletro. Il ruolo primario del dominio «LIM» è quello di favorire interazioni proteina-proteina attraverso la formazione di dimeri con domini identici o diversi. Le proteine solo-LIM sono anche implicate nel controllo della proliferazione cellulare poiché alcuni geni codificanti sono associati con traslocazioni oncogeniche (134). Interessamento di *TTG2* attraverso  $t(11;14)(p13;q11)$  è stato descritto anche in un caso di leucemia megacariocitica infantile (135).

## 11) T: TCR $\alpha$ -TCL1; TCR $\beta$ -TCL1

*Anomalie cromosomiche:*  $t(14;14)(q11;q32)$ ,  $inv(14)(q11;q32)$ ,  $t(7;14)(q35;q32)$ . *Significato prognostico:* sconosciuto.

È stato dimostrato che l'oncogene *TCL1*, sito in  $14q32$ , è coinvolto nella  $t(14;14)(q11;q32)$  e nella  $inv14(q11;q32)$ , assieme a loci *TCR $\alpha$*  del cromosoma  $14q11$ . Nel secondo caso tali eventi sarebbero responsabili di neoplasie T quali leucemie linfoblastiche e prolinfocitiche. Lo stesso oncogene *TCL1* sarebbe importante nelle L.L.A.-T insorgenti in corso di atassia-teleangiectasia e nell'espansione clonale che la precede. Le predette anomalie cromosomiche nel caso di concomitante atassia-teleangiectasia si accompagnano spesso a *trisomia 8* ed aumentata espressione di *C-MYC* (136)

I due punti di frattura-riassociazione identificati nell'inversione 14

sono stati oggetto di accurate valutazioni. Mentre la frattura a livello di *14q11* avviene sempre nel locus *TCR $\alpha$* , la frattura del secondo tipo in *14q32* è situata al di sotto (centromerica) rispetto al gene *IGH* in posizione *14q32*, in corrispondenza del putativo *TCL1*.

Nella variante *t(7;14)(q35;q32)* il gene *TCR $\beta$*  del locus *7q35* è giustapposto alla regione descritta *14q32* (137).

## **Leucemie mieloidi acute, mielodisplasie**

### **DEL(7), MONOSOMIA 7**

*Anomalia cromosomica: del(7q), monosomia 7. Significato prognostico: sfavorevole.*

Tutto o parte del cromosoma 7 viene deletato nel corso di molti disordini mieloidi. In tutti i gruppi di età la monosomia 7 o la *del(7q)* compaiono sia in sindromi mielodisplastiche che leucemie mieloblastiche e sono particolarmente frequenti dopo terapia antineoplastica con alchilanti o esposizione ad agenti mutageni. Queste anomalie cromosomiche si osservano anche in una quota di anemie aplastiche (138). La risposta alla terapia tradizionale è piuttosto deludente e l'esito è fatale.

Un gruppo diverso di disordini mieloidi con delezione del 7 compare prevalentemente nell'infanzia, dove esiste una «sindrome della monosomia 7» ben definita, caratterizzata da evidente displasia midollare ed epatosplenomegalia, che presenta molte analogie con la leucemia mieloide cronica giovanile. È associata con una serie di disturbi genetici della mielopoiesi oberati da alto rischio di leucemia acuta, quali anemia di Fanconi, neutropenia congenita grave, sindrome di Schwachman-Diamond ed alcune condizioni costituzionali multisistemiche come la neurofibromatosi di tipo 1 e probabilmente il Down (139).

La monosomia 7 familiare è talvolta associata con atassia cerebellare. L'associazione non-random della monosomia 7 con leucemia mieloblastica si accorda con perdita di funzione di uno o più geni siti sul 7 che regolano crescita e differenziazione mieloidi. Non si sa se la inattivazione di entrambi gli alleli sia necessaria per alterare il fenotipo di cellule mieloidi immature o se la delezione di un singolo possa contribuire a crescita anomala riducendo la concentrazione di una proteina critica. Sebbene la monosomia 7 o la *del(7q)* compaiano durante lo sviluppo di molte sindromi mielodisplastiche o leucemie mieloblastiche, ci sono convincenti dimostrazioni che la perdita del cromosoma 7 non è sufficiente per la completa trasformazione leucemica.

Con la monosomia 7 coesistono spesso alterazioni genetiche del segnale mediato da proteine RAS (140, 141).

Esiste una forma di monosomia 7 autolimitantesi descritta in corso di infezione da EBV (142).

## **Leucemie mieloblastiche, leucemia mieloide cronica**

### **1) WT1**

*Significato prognostico: sfavorevole.*

Questo gene, situato in *11p13*, è sovraespresso con varie anomalie, quali delezioni e mutazioni puntiformi, nel tumore di Wilms, ed è pertanto annoverato tra i geni soppressori di tumore (143). La proteina *WT1* si lega al sito *EGR-1* ed esercita soppressione di trascrizione nei confronti di un fattore di crescita simil-insulinico prodotto dalle cellule neoplastiche, che ha pertanto azione autocrina.

La proteina *WT1*, importante nella embriogenesi urogenitale, è espressa in misura molto ridotta nei normali precursori emopoietici (144).

Recentemente è stato osservato che cellule di leucemie mieloidi acute e croniche umane presentano alte quantità della proteina *WT1* e che il suo livello è inversamente correlato con la prognosi. La crescita delle cellule leucemiche in questione è inibita da oligonucleotidi non-senso per *WT1*, la cui proteina avrebbe quindi ruolo promotore sulla crescita leucemica (145).

## **Leucemia linfatica cronica**

### **1) IGH-BCL3; MDM2**

*Anomalia cromosomica: t(14;19)(q32;q13). Significato prognostico: sconosciuto.*

Il gene *BCL3*, omologo con altri coinvolti nel controllo del ciclo cellulare e nella determinazione di linearità, si trova sul cromosoma 19 nelle vicinanze del punto di frattura della traslocazione *t(14; 19) (q32; q13)* che si verifica in alcuni casi di leucemia linfatica cronica. Le cellule leucemiche che contengono questa traslocazione mostrano aumentata espressione della proteina, con struttura simile a *IKB*.

È probabile che la tumorigenicità derivi da un lato da competizione con *IkB* nell'impedire l'accesso nucleare a fattori di trascrizione della famiglia *NF-KB* (146, 147, 148) e dall'altro dal vero e proprio trasporto da parte di *BCL3* di questi ultimi nel nucleo (149, 150).

In una buona percentuale di leucemie linfatiche croniche B e di linfomi non-Hodgkin a bassa malignità è stata dimostrata aumentata presenza della fosfoproteina *MDM2* (murine double minute 2), di per se prodotto dell'omologo gene murino. Contiene due motivi «zinc finger» ed è in grado di complessarsi con *p53* inattivandolo in modo simile a quanto si osserva per prodotti di virus come gli spettasse un ruolo nella progressione della malattia, attraverso meccanismi non noti (151).

## 2) del13q14

*Significato prognostico: sconosciuto.*

Studi citogenetici nelle leucemie linfatiche croniche di tipo B hanno dimostrato che l'alterazione strutturale più comune è quella che coinvolge il *13q14*. In buona parte dei casi non vi sono però mutazioni cariotipiche ma solo delezione di questo locus, vicino e telomerico rispetto a *Rb*, candidato anch'esso alla funzione di soppressore di tumore (152). La delezione è stata descritta anche in linfomi non-Hodgkin e leucemie linfoblastiche.

## Leucemia prolinfocitica

### 1) C: MYC-X

*Anomalia citogenetica: t(8;17)(q24;q22). Significato prognostico: sconosciuto.*

Nella *t(8;17)(q24;q22)*, vista nella leucemia prolinfocitica, il gene *MYC* è situato nella regione regolatrice di un nuovo gene a livello *17q22*, la cui funzione non è nota. Il nuovo gene del sito *17q22* è trascritto in molte linee cellulari che rappresentano tutte le filiere emopoietiche (153).

## Linfomi non-Hodgkin

### 1) C-MYC - IGH; C-MYC - TCR $\alpha$ ; C-MYC- $\lambda$ ; $\kappa$ - C-MYC

*Anomalie cromosomiche: t(8;14)(q24;q32) t(8;14)(q24;q11), t(8;22)(q24;q11), t(2;8)(p12;q24) t(2;8)(q34;q24). Significato prognostico: incerto.*

La *t(8;14)(q24;q32)* è la prima traslocazione intercromosomica caratterizzata. Giustappone l'oncogene cellulare *C-MYC* della banda *8q24* a loci *IGH* nel linfoma di Burkitt, causandone la trascrizione. Si è poi

visto che l'espressione genica può essere attivata anche in seguito ad altre quattro traslocazioni, cioè la  $t(8;14)(q24;q11)$ , la  $t(8;22)(q24;q11)$ , la  $t(2;8)(p12;q24)$  e la  $t(2;8)(q34;q24)$ .

Nelle varianti  $t(2;8)$  e  $t(8;22)$  il gene *C-MYC* rimane sul cromosoma 8 mentre i loci per le regioni costanti delle catene  $\kappa$  e  $\lambda$  traslocano sul cromosoma 8 distalmente ad esso. La traslocazione  $t(8;14)(q24;q21)$ , nella quale il locus *TCR $\alpha$*  si porta in una regione 3' rispetto al gene *MYC*, è associata a neoplasie T.

Riarrangiamenti genici che interessano il *C-MYC* sono stati identificati pressoché in tutti i casi di linfoma di Burkitt. La  $t(8;14)(q24;q11)$  non altera le sequenze codificanti del gene, ma può comunque variare il livello di espressione. La traslocazione nelle vicinanze del locus *Ig $\lambda$*  può invece risultare in una serie di mutazioni nelle sequenze regolatrici del *C-MYC*, che possono contribuire alla sua disregolazione. È interessante notare che l'allele normale è silente.

Nella traslocazione  $t(2;8)(q34;q24)$  un locus derivato dalla regione 2q34, il *TCL4*, è attaccato alla estremità 3' dell'allele *MYC*.

Questi cinque diversi riarrangiamenti risultano nella deregolazione della trascrizione del *C-MYC* così che esso è espresso ad alti livelli, mentre in condizioni di normalità non si trova trascritto. Si tratta di una proteina contenente un dominio di attivazione trascrizionale, una regione basica legante il DNA con una struttura *bHLH* ed uno «zipper leucinic» (154). Topi transgenici con geni *C-MYC* attivati sotto l'influenza di enhancers IG sviluppano prematuramente e spontaneamente neoplasie B.

Come precedentemente accennato il *C-MYC* può formare eterodimeri con prodotti del gene *MAX* riconoscendo poi e legando strutture specifiche del DNA quali la sequenza CANNTG. In queste proteine i vari tipi di dimerizzazione tra i partners determinano l'attività trascrizionale finale del complesso *MYC-MAX*.

L'oncogene *C-MYC* è influenzato dal virus EBV e da suoi prodotti, alcuni dei quali presentano caratteri di fattori di trascrizione, quali l'*EBNA-1*, *EBNA-2*, *BZLF-1*, *BRLF-1*. La capacità di una proteina EBV di attivare l'espressione del *C-MYC* facilita probabilmente l'infezione produttiva ed è importantissima nella patogenesi dei linfomi (155).

La proteina EBV immediata precoce *BRLF1* transattiva il promoter del *C-MYC* umano e murino in diverse linee cellulari. Sia i promoter P1 che P2 del *C-MYC* possono essere attivati dal *BRLF1*, anche se il P1 è più importante di P2. La porzione del promoter del *C-MYC* umano da -228 a -63 è necessaria ma non sufficiente per la trasattivazione.

La proteina *LMP1* è considerata tumorigena in quanto trasforma

fibroblasti murini e cheratinociti umani e regola in eccesso l'espressione di *BCL-2*. Inoltre stimola la trasduzione di segnali inter- ed intracellulari e l'espressione massimale di *NF-KB* attraverso fosforilazione e degradazione di *Ikb $\alpha$* . Nelle malattie immunoproliferative EBV-correlate degli immunocompromessi si rinviene prevalentemente la variante *LMP1del*, mancante di una parte del dominio di attivazione del *NF-KB* (156).

La riattivazione dell'EBV indotta da vari stimoli in cellule con infezione latente è inibita dall'acido retinoico. Se essa è innescata dal prodotto del gene virale immediato-precoce *BRLF-1*, è repressa da recettori per *RA $\alpha$*  e *RXR $\alpha$* . Queste proteine regolano negativamente la trasattivazione del promoter mediata da *BRLF-1* per un prodotto di un gene precoce EBV, l'antigene precoce diffuso. C'è una interazione fisica diretta tra la proteina *B2LF-1*, simil-*AP-1*, e il *RXR $\alpha$* . Questa riattivazione suggerisce che, reciprocamente, la proteina virale *BRLF-1* può influenzare vie regolatrici cellulari.

Nel Burkitt e nel carcinoma rinofaringeo l'espressione della proteina antigene nucleare EBV (*EBNA-1*) è mediata dal promoter virale Fp. Questo promoter non è attivo in linee linfoblastoidi con infezione silente, e nella maggior parte di linee derivate da Burkitt. L'espressione dell' *EBNA-1* mediata da Fp è attivata da induzione della replicazione virale.

## 2) *BCL1-IGH*

*Anomalie cromosomiche: t(11;14)(q13;q32) t(11;22)(q13;q11). Significato prognostico: non noto.*

Le traslocazioni reciproche *t(11;14)(q13;q32)* e *t(11;22)(q13;q11)* sono state originariamente descritte in rari casi di linfomi non-Hodgkin, leucemia linfatica cronica e leucemia prolinfocitica. Come visto in precedenza, in seguito alle traslocazioni il *BCL1*, sito sulla banda *11q13*, viene giustapposto ad una sequenza enhancer *IGH* situata sul cromosoma 14. Nel sito *11q13* il punto di rottura è molto variabile ma sono comunque stati identificati un cluster maggiore ed uno minore di traslocazione. Un gene telomerico rispetto al cluster maggiore, chiamato *PRAD1*, descritto originariamente in adenomi paratiroidei, è stato ritenuto identico a *BCL1*; codifica per una proteina omologa alle cicline, designata ciclina G1 o *CCND1*. Si ritiene che la sua disregolazione perturbi il passaggio da G1 ad S e contribuisca allo sviluppo tumorale. È stato descritto che il riarrangiamento del *BCL1* è associato al linfoma mantellare e a linfomi linfocitici di differenziazione intermedia ma è stato riscontrato anche in altri tumori B quali il mieloma (157), mentre



la sua presenza non è stata provata in tessuti linfoidei e mieloidi normali. La traslocazione variante  $t(11;22)(q13;q11)$  è causata dalla contrapposizione del *PRAD1* con il gene *l* alla estremità 3' e risulta in sovraespressione di mRNA per *PRAD1* (158). La  $t(11;14)(q13;q32)$  in associazione a iperdiploidia caratterizzano linfomi del mantello con leucemia (159, 160).

### 3) BCL2-IGH; $\lambda$ -BCL2, BCL2- $\kappa$

*Anomalie cromosomiche:*  $t(14;18)(q32.3;q21)$ ,  $t(2;18)(p11;q21)$ ,  $t(18;22)(q21;22q11)$ . *Significato prognostico:* sfavorevole.

Il gene *BCL2* è stato inizialmente identificato nel punto di frattura della traslocazione  $t(14;18)(q32.3;q21)$ , che rappresenta la traslocazione cromosomica più frequente nelle neoplasie linfatiche, particolarmente nei linfomi follicolari (Fig. 3).

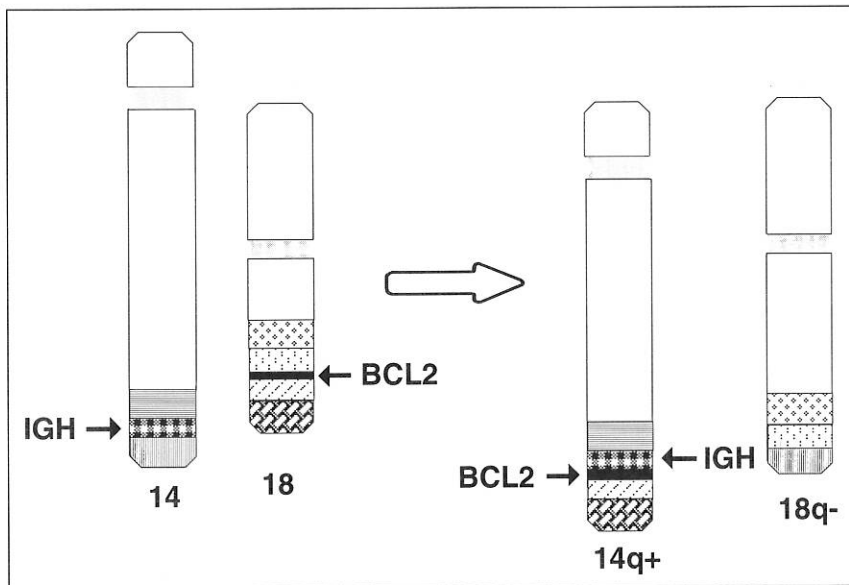


Fig. 3 - Rappresentazione schematica di una traslocazione attivante il BCL2, la  $t(14, 18)(q32, 3; q21)$ .

Essa si verifica precocemente a livello di sviluppo pre-B giustappo-ponendo il gene enhancer *IGH* al *BCL2*, con eccessiva attivazione di quest'ultimo e quindi disregolata produzione della proteina. Nei linfomi non-Hodgkin la frattura generalmente avviene in una zona 3' del gene, o

in una porzione non traslata del terzo esone (la regione maggiore di breakpoint, *MBR*) o in una regione non-trascritta (il cluster minore di breakpoint, *mbr*) situata circa 20 Kb distalmente al *MBR*. La regione codificante del gene *BCL2* è intatta a sinistra in tutte le traslocazioni *t(14;18)* così che il trascritto *BCL2-IGH* produce una proteina *BCL2* normale.

L'esagerata espressione di *BCL2* nelle cellule linfatiche in cultura ed in topi transgenici previene l'apoptosi. Il relativo gene è diverso da altri proto-oncogeni in quanto il suo prodotto è localizzato all'interno di membrane mitocondriali. La proteina è molto rappresentata nel corso dell'embriogenesi mentre nell'adulto la sua presenza è ristretta a cellule con lunga sopravvivenza, quali neuroni o linfociti T o B maturi (161).

Da poco si è riconosciuta una famiglia di geni correlati al *BCL2* che comprende il *BAX* (e anche il *BCL-X* e *MCL1*), un omologo conservato che eterodimerizza in vivo con il *BCL2* stesso. Un appropriato rapporto tra *BCL2* e *BAX* sembra determinare la morte o la sopravvivenza della cellula dopo stimoli apoptotici e l'elevata sopravvivenza cellulare rende possibile l'azione tumorigena di altri oncogeni attivati, quali il *C-MYC*.

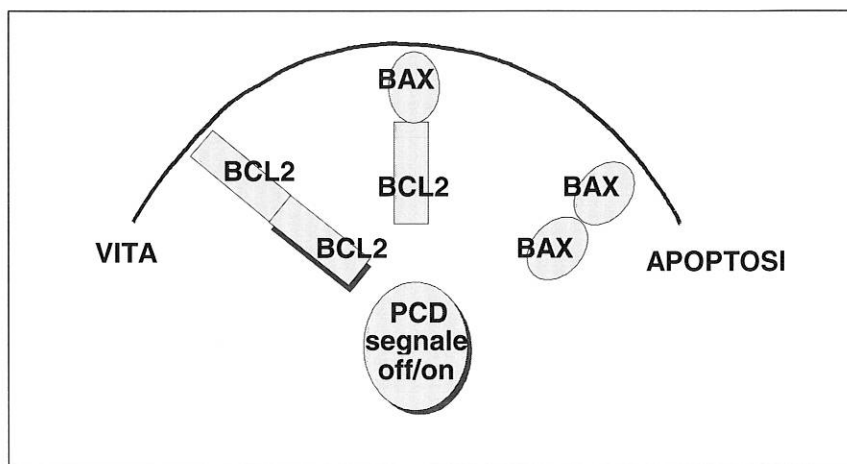


Fig. 4 - La quantità dell'eterodimero *BCL2/BAX* rispetto all'omodimero *BCL2/BCL2* determina la prevenzione dell'apoptosi (PCD).

Con metodiche immunostochimiche si è potuto stabilire che la proteina *BCL2* è espressa anche in altri tipi di linfoma, quali il linfoplasmacitico e la leucemia linfatica cronica, forme diffuse a grandi cellule B e T, ed anche in neoplasie non linfatiche come quelle

polmonari, mammarie, prostatiche ed epatiche. Recentemente è stata dimostrata anche in cellule normali quali i linfociti B, le cellule del mantello e linfociti T. Comunque l'espressione nei normali tessuti emopoietici è debole mentre una grande quantità di trascritto è osservata nelle neoplasie T (162).

Varianti di traslocazioni coinvolgenti il gene *BCL2* ed i loci per catene  $\kappa$  o  $\lambda$  (bande *2p11* o *22q11*) avvengono in alcuni casi di linfoma follicolare e nella leucemia linfatica cronica (>10%). In questi casi è coinvolta la porzione 5' del gene *BCL2*, chiamata regione cluster variante (VCR). La variante *t(2;18)(p11;q21)* osservata nel linfoma follicolare porta alla giustapposizione di un segmento *Igk* e una unità trascrizionale situata al di qua del locus *BCL2*, chiamata *FVT1*.

L'espressione di *BCL2* nei linfomi accorcia la durata delle remissioni e pertanto ha cattivo significato prognostico (163).

L'mRNA per *BCL2* codifica una proteina di 26 KD che è omologa all'ipotetica proteina dell'Epstein Barr *BHRF1*.

L'esagerata espressione di *BCL-2* può essere causa di aumento di resistenza ad agenti citotossici, come è stato descritto per i glucocorticoidi e le irradiazioni nei confronti di timociti (164, 165). La sensibilità aumenta riducendo la proteina *BCL-2* con citochine o oligonucleotidi antisense (166). Secondo altri i maggiori livelli che si osservano nelle leucemie linfoblastiche T e B si associano a maggiore crescita di blasti in cultura ma non ad aumento dell'aggressività della malattia o a resistenza alla chemioterapia. (167).

#### 4) BCL6-IGH

*Anomalia cromosomica: t(3;14)(q27;q32); significato prognostico: favorevole.*

In alcuni linfomi non-Hodgkin, in particolare nelle forme B diffuse a grandi cellule (40%), ma anche in forme follicolari (10%), si incontrano frequentemente traslocazioni cromosomiche che coinvolgono la banda *3q27*, nel cui punto di frattura si trova il *BCL6/LAZ3/BCL5*.

Queste traslocazioni sono al terzo posto per frequenza in linfomi non-Hodgkin.

La regione è coinvolta in traslocazioni con varie altre, comprese (ma non esclusivamente) quelle che codificano per catene pesanti Ig (*14q32*), e catene leggere (*2p12* o *22q11*). Tra queste è stata clonata la traslocazione *t(3;14)(q27;q32)*. (168). Questo gene codifica per una proteina «zinc finger» con attività di fattore di trascrizione, di cui si conosce poco (169, 170). Il punto di rottura della traslocazione *3q27* è nel primo esone del

*BCL6* e la regione regolatrice putativa è rimossa, portando a sovraespressione del gene stesso (171, 172). Si trovano alterazioni strutturali della regione 5' non codificante. La proteina *BCL6*, nucleare, è presente anche nelle cellule CD4+ intra- ed interfollicolari ma non nel mantello, in modo indipendente da riarrangiamenti genetici (173).

In presenza di anomalie del *BCL6* si osservano di frequente riarrangiamenti biallelici del DNA (174).

Oltre che in linfomi, la proteina *BCL6* è espressa nei nuclei della maggior parte delle cellule dei centri germinativi (169).

I linfomi non-Hodgkin diffusi a grandi cellule *BCL6*+ hanno prognosi migliore rispetto ai *BCL6*- (175).

## 5) LYT-10 - IGH

*Anomalia cromosomica: t(10;14)(q24;q32). Significato prognostico: sconosciuto.*

Invece la *t(10;14)(q24;q32)* che interessa prevalentemente linfomi non-Hodgkin B mette in contrapposizione il locus IgH del cromosoma 14 con un nuovo gene del 10, il *LYT-10/NF-KB2*. Sia la traslocazione che possibili delezioni interne causano perdita di materiale nella porzione carbossi-terminale, dove si trovano i domini anchirinici, e quindi sintesi di una proteina anomala (176, 177).

Quindi il *LYT-10/NF-KB2*, un probabile oncogene dei linfomi B, è membro della famiglia *NF-KB*. È riarrangiato nel 2% di linfomi B, T, mielomi. (178).

## 6) RCK-IGH

*Anomalia cromosomica: t(11;14)(q23;q32). Significato prognostico: sconosciuto.*

Sebbene la traslocazione *t(11;14)(q23;q32)* sia stata osservata in linee di linfoma non-Hodgkin B, sembra sia poco comune in tumori primitivi. Il punto di rottura a livello *11q23.3* è sito appunto nella regione chiamata *RCK*, centromerica rispetto al gene per PBGD (o alternativamente *p54*) e telomerica rispetto a *MLL* (179). L'analisi della sequenza ha predetto una nuova proteina di 472 aminoacidi con omologia a un fattore di inizio di translazione e a una superfamiglia di RNA-elicasi ATP-dipendenti (180). Il nuovo gene esprime un abbondante trascritto in molti tessuti di adulto.

STRUTTURE COINVOLTE	MALATTIA	ANOMALIE CITOGENETICHE	SIGNIFICATO PROGNOSTICO
IL-3 - IGH	L.L.A. B	t(5;14)(q31;q32)	SCONOSCIUTO
X - TCR $\delta$	L.L.A. B e T	t(5;14)(q33-24;q11)	SCONOSCIUTO
TAL1 - TCR $\alpha/\delta$ TAL1 - SIL	L.L.A. T	t(1;14)(p34;q11) del(1pX)	FAVOREVOLE
TCR $\beta$ - TAL2	L.L.A. T	t(7;9)(q34;q32)	FAVOREVOLE
TCR $\beta$ - LYL1	L.L.A. T	t(7;19)(q34;p13)	SCONOSCIUTO
LCK - TCR $\beta$	L.L.A. T	t(1;7)(p34;q34)	SCONOSCIUTO
TCR $\beta$ - TAN1	L.L.A. T	t(7;9)(q34;q34.3)	SCONOSCIUTO
HOX11 - TCR $\delta$	L.L.A. T	t(10;14)(q24;q11)	SCONOSCIUTO
TCR $\beta$ - HOX11	L.L.A. T	t(7;10)(q35;q24)	SCONOSCIUTO
TTG1 - TCR $\alpha/\delta$	L.L.A. T	t(11;14)(p15;q11)	SCONOSCIUTO
TTG2 - TCR $\alpha/\delta$	L.L.A. T	t(11;14)(p13;q11)	SCONOSCIUTO
TCR $\beta$ - TTG2	L.L.A. T	t(7;14)(q35;p13)	SCONOSCIUTO
TCR $\alpha$ - TCL1	L.L.A.	t(14;14)(q11;q32), inv(14;14)(q11;q32)	SCONOSCIUTO
TCR $\beta$ - TCL1	L.L.A. monosomia 7, del(q7)	t(7;14)(q35;q32) del(7), del(7qX)	SCONOSCIUTO SFAVOREVOLE
IGH - BCL3 MDM2	L.L.C.	t(14;19)(q32;q13)  del(13q14)	SCONOSCIUTO
C-MYC - IGH	BURKITT	t(8;14)(q24;q32)	INCERTO
C-MYC - $\lambda$	BURKITT	t(8;22)(q24;q11)	INCERTO
C-MYC - $\kappa$	BURKITT	t(2;8)(p12;q24)	INCERTO
p16 <sup>INK4a</sup>	L.L.A.	del9(p16)	SFAVOREVOLE
p15 <sup>INK4b</sup>	L.L.A.	del9(p15)	SFAVOREVOLE
p27	L.A. (5%)	del(11p13)	SCONOSCIUTO
BCL1 - IGH	L.N.H.	t(11;14)(q13;q32)	SCONOSCIUTO
BCL2 - IGH	L.N.H.	t(14;18)(q32.3;q21)	SFAVOREVOLE
$\lambda$ - BCL2	L.N.H.	t(2;18)(p11;q21)	SFAVOREVOLE
BCL2 - $\kappa$	L.N.H.	t(18;22)(q21;q11)	SFAVOREVOLE
BCL6 - IGH	L.N.H.	t(3;14)(q27;q32)	FAVOREVOLE
LYT-10 - IGH	L.N.H.	t(10;14)(q24;q32)	SCONOSCIUTO
RCK - IGH	L.N.H.	t(11;14)(q23;q32)	SCONOSCIUTO

Tabella III - Anomalie genetiche attivanti geni verosimilmente oncogeni, spesso con attività di fattore di trascrizione.

Alle crescenti informazioni riguardanti il meccanismo di azione di oncogeni e di fattori di trascrizione non sono seguite, per ora, applicazioni pratiche nella terapia e prevenzione delle neoplasie (181). Un tessuto che si presterà più di altri alla manipolazione genetica sarà sicuramente quello emopoietico per il fatto che poche cellule staminali trattate «ex vivo» potranno esprimere nuove caratteristiche in tutti gli elementi del midollo e del sangue periferico. In alcune condizioni la correzione del difetto genetico può portare a vantaggio di crescita rispetto a cellule difettose, come nella immunodeficienza grave combinata dopo introduzione del gene per l'adesosina-deaminasi o nell'anemia di Fanconi.

I problemi principali della terapia genica riguardano l'efficienza di vettori nel trasporto al nucleo di sequenze desiderate ed il loro buon funzionamento sul piano trascrizionale dopo l'integrazione nel genoma. Vengono attualmente usati come vettori principalmente retrovirus che entrano però solo in cellule in ciclo replicativo. Come è noto, la gran parte delle cellule staminali emopoietiche sono fuori ciclo, ma possono entrarvi dopo appropriati stimoli, come quelli esercitati da fattori di crescita. Ma non è detto che un gene inserito funzioni se non sono presenti sequenze regolatrici adeguate, che talvolta devono essere immesse assieme al gene stesso.

A proposito di queste, va ricordato come le ricerche di Pomerantz e coll. (182) lascino intravedere notevoli possibilità. Essi hanno sintetizzato proteine con proprietà di fattori di trascrizione basandosi sul loro modellamento sterico al computer, concepito in modo tale da legare definite sequenze di DNA. Ed in effetti queste proteine artificiali sono capaci di legare promoter naturali e di regolare la loro funzione.

Se da un lato la cellula manipolata può essere precocemente distrutta in seguito all'espressione di neoantigeni derivanti dal nuovo assetto genetico, è vero anche che esiste la possibilità di renderla resistente a farmaci citostatici immettendo, ad esempio, il gene per la glicoproteina G, che favorisce la loro espulsione dal citoplasma e consente la distruzione selettiva di cellule patologiche residue non resistenti ai farmaci.

Si prospetta anche lo sviluppo di molecole note per legare il DNA, quali agenti cloroetilanti e nitrosouree, in grado di bloccare siti di azione di fattori di trascrizione favorenti la crescita neoplastica (183). Potrebbe anche divenire possibile l'azione sulla trasduzione dei segnali attraverso lo sviluppo di ligandi sintetici in grado di controllare la oligomerizzazione intracellulare di proteine specifiche, quali recettori (184).

Questi sono alcuni dei presupposti che giustificano un cauto ottimismo in campi della medicina nei quali lo sviluppo di efficaci terapie segna il passo da anni. Sembra probabile che in un prossimo futuro alcune delle conoscenze derivate dalla biologia molecolare potranno divenire applicabili sul piano pratico con grandi vantaggi nella terapia di molte malattie ematologiche (185).

### BIBLIOGRAFIA

- 1) BOCKAMP E.O., McLAUGHLIN F., MURRELL A. *et al.* - Transcription factors and the regulation of haemopoiesis: lessons from GATA and SCL proteins. *Bioessays* 1994; 16: 481-488.
- 2) GRONEMEYER H. - Transcription activation by nuclear receptors. *J. Recept. Res.* 1993; 13: 667-691.
- 3) WILLIMAN C.L., WHITTAKER M.H. - The molecular biology of acute myeloid leukemia. Proto-oncogene expression and function in normal and neoplastic myeloid cells. *Clin. Lab. Med.* 1990; 10: 769-796.
- 4) DEXLER H.G., MACLEOD R.A., BORKHARDT A. *et al.* - Recurrent chromosomal translocations and fusion genes in leukemia and lymphoma cell lines. *Leukemia* 1995; 9: 489-500.
- 5) NICHOLS J., NIMER S.D. - Transcription factors, Translocations and Leukemia. *Blood* 1992; 80: 2953-2963.
- 6) DRUKER B.J., HARVEY M.D., MAMON B.S., *et al.* - Oncogenes, growth factors, and signal transduction. *N Engl J Med* 1989; 321: 1383-1391.
- 7) CASTRONOVO V., KUSAKA M., CHARIOT A. *et al.* - Homeobox genes: potential candidates for the transcriptional control of the transformed and invasive phenotype. *Biochem. Pharmacol.* 1994; 47: 137-143.
- 8) UEDA Y., MATSUDA F., MISAWA S. *et al.* - Tumor-specific rearrangements of the immunoglobulin heavy-chain gene in B-cell non-Hodgkin's lymphoma detected by in situ hybridization. *Blood* 1996; 87: 293-298.
- 9) KITA K., SHIRAKAWA S., KAMADA N. - Cellular characteristics of acute myeloblastic leukemia associated with t(8; 21)(q22; q22). The Japanese Cooperative Group of Leukemia/Lymphoma. [Review]. *Leukemia Lymphoma* 1994; 13: 229-234.
- 10) SHIMAMOTO T., OHYASHIKI J.H., OHYASHIKI K. *et al.* - GATA-1, GATA-2, and stem cell leukemia gene expression in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1994; 8: 1176-1180.
- 11) GUERRASIO A., ROSSO C., MARTINELLI C. *et al.* - Polyclonal hemopoiesis associated with long-term persistence of the AML-1-ETO transcript in patients with FAB M2 acute myeloid leukemia in continuous clinical remission. *Br J Hematol* 1995; 90: 364-368.
- 12) TANAKA K., TANAKA T., OGAWA S. *et al.* - Increased expression of AML-1 during retinoic-acid-induced differentiation of U937 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211: 1023-1030.
- 13) TANAKA T., TANAKA K., OGAWA S. *et al.* - An acute myeloid leukemia gene, AML-1, regulates hemopoietic myeloid cell differentiation and transcriptional activation antagonistically by two alternative spliced forms. *Embo J.* 1995; 14: 341-350.

- 14) NUCHPRAYOON I., MEYERS S., SCOTT L.M. *et al.* - PEBP2/CBF, the murine homolog of the human myeloid AML-1 and PEBP2 beta/CBF protooncproteins regulates the murine myeloperoxidase and neutrophil elastase genes in immature myeloid cells. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 5558-5568.
- 15) HAJRA A., LIU P.P., SPECK N. *et al.* - Overexpression of core-binding factor  $\alpha$  (CBF $\alpha$ ) reverses cellular transformation by the CBF $\beta$ -smooth muscle myosin heavy chain chimeric oncoprotein. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 4980-4989.
- 16) LU J., MARUYAMA M., SATAKE M. *et al.* - Subcellular localisation of the alfa and beta subunits of the acute myeloid leukemia-linked transcription factor PEBP2/CBF. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 1651-1661.
- 17) ERICKSON P.F., ROBINSON M., OWENS G. *et al.* - The ETO portion of acute myeloid leukemia t(8; 21) fusion transcript encodes a highly evolutionarily conserved, putative transcription factor. *Cancer Res* 1994; 54: 1782-1786.
- 18) LEVANON D., NEGREANU V., BERNSTEIN Y. *et al.* - AML-1, AML-2, and AML-3, the human members of the runt domain gene-family: cDNA structure, expression, and chromosomal localization. *Genomics* 1994; 23: 425-432.
- 19) TIGHE J.E., CALABI F. - Alternative, out-of-frame runt/MTG8 transcripts are encoded by the derivative (8) chromosome in the t(8; 21) of acute myeloid leukemia M2. *Blood* 1994; 84: 2115-2121.
- 20) NUCIFORA G., ROWLEY J.D. - AML-1 and the 8; 21 translocations in acute and chronic myeloid leukemia. *Blood* 1995; 86: 1-14.
- 21) SOEKARMAN D., VON LINDERN M., DAENEN S. *et al.* - Dek-Can rearrangement in translocation t(6; 9)(p23; q34). *Leukemia* 1992; 6: 489-494.
- 22) FORNEROD M., BOER J., VAN BAAL S. *et al.* - Relocation of the carboxyterminal part of CAN from the nuclear envelope to the nucleus as a result of leukemia-specific chromosome rearrangements. *Oncogene* 1995; 10: 1739-1748.
- 23) SOEKARMAN D., VON LINDERN M., DAENEN S. *et al.* - The translocation (6; 9) (p23; q34) shows consistent rearrangement of two genes and defines a myeloproliferative disorder with specific clinical features. *Blood* 1992; 79: 2990-2997.
- 24) DYCK J.A., MAUL G.G., MILLER W.H. *et al.* - A novel macromolecular structure is a target of the promyelocyte-retinoic acid receptor oncoprotein. *Cell* 1994; 76: 333-343.
- 25) ABRAMOWICZ M.J., VASSART G., CHRISTOPHE D. - Functional study of the human thyroid peroxidase gene promoter. *Eur. J. Biochem.* 1992; 203: 467-473.
- 26) CHANG K.S., FAN Y.H., ANDREEFF M. *et al.* - The PML gene encodes a phosphoprotein associated with the nuclear matrix. *Blood* 1995; 85: 3646-3653.
- 27) MU Z.M., CHIN K.V., LIU J.H. *et al.* - PML, a growth suppressor disrupted in acute promyelocytic leukemia. *Mol. Cell. Biol.* 1994; 14: 6858-6567.
- 28) ROUSSELOT P., HARDAS B., PATEL A. *et al.* - The PML-RAR alpha gene product of the t(15; 17) translocation inhibits retinoic acid-induced granulocytic differentiation and mediated transactivation in human myeloid cells. *Biochemistry* 1991; 30: 7947-7952.
- 29) GRIGNANI F., FERRUCCI P.F., TESTA U. *et al.* - The acute promyelocytic leukemia-specific PML-RAR $\alpha$  fusion protein inhibits differentiation and promotes survival of myeloid precursor cells. *Cell* 1993; 74: 423-429.
- 30) LABBAYE C., VALTIERI M., TESTA U. *et al.* - Retinoic acid downmodulates erythroid differentiation and GATA1 expression in purified adult-progenitor culture. *Blood* 1994; 83: 651-656.
- 31) BROOKS C. III, KAZMER S., LEVIN A.A. *et al.* - Myeloid differentiation and retinoblastoma phosphorylation changes in HL-60 cells induced by retinoic acid



- receptor- and retinoid X receptor- selective retinoic acid analogs. *Blood* 1996; 87: 227-237.
- 32) HUANG M.E., YE H.C., CHEN S.R, *et al.* - Use of all-trans-retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood* 1988; 72: 567-572.
  - 33) LOOK A.T., DOWNING J.R. - Molecular biology of leukemia and lymphoma. *Rev Invest Clin* 1994; apr. suppl. 124-134.
  - 34) CHEN Z., BRAND N.J., CHEN A. *et al.* - Fusion between a novel Kruppel-like zinc finger gene and the retinoic acid receptor- $\alpha$  locus due a variant t(11; 17) translocation associated with acute promyelocytic leukemia. *Embo J.* 1993; 12: 1161-1167.
  - 35) NGUYEN H.Q., HOFFMANN-LIEBERMANN B., LIEBERMANN D.A. - The zinc finger transcription factor Egr-1 is essential for and restricts differentiation along the macrophage lineage. *Cell* 1993; 72: 197-209.
  - 36) BAVISOTTO L., KAUSHANSKY K., LIN N. *et al.* - Antisense oligonucleotide from the stage-specific myeloid zinc finger gene MZF-1 inhibit granulopoiesis in vitro. *J Exp Med* 1991; 174: 1097-1101.
  - 37) LICHT J.D., CHOMIENNE C., GOY A. *et al.* - Clinical and molecular characterization of a rare syndrome of acute promyelocytic leukemia associated with translocation 11; 17. *Blood* 1995; 85: 1083-1094.
  - 38) CHEN Z., GUIDEZ F., ROUSSELOT P. *et al.* - PLZF-RAR $\alpha$  fusion protein generated from the variant t(11; 17)(q23; q21) translocation in acute promyelocytic leukemia inhibit ligand-dependent transactivation of wild-type retinoic acid receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 91: 1178-1182.
  - 39) IKEDA K., SASAKI K., TASAKA T. *et al.* - Detection of PML-retinoic acid receptor- $\alpha$  fusion transcripts in acute promyelocytic leukemia with trisomy 8 but without t(15; 17). *Am J. Hematol.* 1994; 45: 212-216.
  - 40) REDNER R.L., RUSH E.A., FAAS S. *et al.* - The t(5; 17) variant of acute promyelocytic leukemia express a nucleophosmin-retinoic acid receptor fusion. *Blood* 1996; 87: 882-886.
  - 41) HIORNS L.R., MIN T., SWANSBURY G.J. *et al.* - Interstitial insertion of retinoic acid receptor- $\alpha$  gene in acute promyelocytic leukemia with normal chromosomes 15 and 17. *Blood* 1994; 83: 2946-2951.
  - 42) BOCCHIA M., WENTWORTH P.A., SOUTHWOOD S. *et al.* - Specific binding of leukemia oncogene fusion protein peptides to HLA class I molecules. *Blood* 1995; 85: 2680-2684.
  - 43) SHURTLIFF S.A., MEYERS S., HIEBERT S.W. *et al.* - Heterogeneity in CBF beta/MYH11 fusion messages encoded by the inv(16)((p13; q22) and the t(16; 16)(p16; q22) in acute myeloid leukemia. *Blood* 1995; 85: 3695-3703.
  - 44) LANGABEER S.E., WALKER H., GALE R.E. *et al.* - Frequency of CBF $\beta$ /MYH11 fusion transcripts in patients entered into the U.K. MRC AML trials. *BR. J. Hematol* 1997; 96: 736-739.
  - 45) OKAMURA S., IKEMATSU W. - Hematological malignancies with eosinophilia. *Nippon Rinsbo* 1993; 51: 800-805.
  - 46) HAFERLACH T., WINKEMANN M., LOEFFLER H. *et al.* - The abnormal eosinophils are part of the leukemic cell population in acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils (AML M4 Eo) and carry the pericentric inversion 16: a combination of May-Gruenwald-Giemsa staining and fluorescence in situ hybridization. *Blood* 1996; 87: 2459-2463.
  - 47) HU C.H., McSTAY B., JEONG S. W. *et al.* - xUBF, an RNA polymerase I transcription factor, binds crossover DNA with low sequence specificity. *Mol. Cell. Biol.* 1994; 14: 2871-2882.

- 48) POIREL H., RADFORD-WEISS I., RACK K. *et al.* - Detection of the chromosome 16 CBF beta-MYH11 fusion transcript in myelomonocytic leukemias. *Blood* 1995; 85: 1313-1322.
- 49) VAN DER REIJDEN B.A., LOMBARDO M., DAUWERSE H.G. *et al.* - RT-PCR diagnosis of patients with acute nonlymphocytic leukemia and inv(16) (p13; q22) and identification of new alternative splicing in CBF $\beta$ -MYH11 transcript. *Blood* 1995; 86: 277-282.
- 50) HUANG S.Y., TANG J.L., LIANG Y.J. *et al.* - Clinical, hematological and molecular studies in patients with chromosome translocation t(7; 11): a study of four Chinese patients in Taiwan. *Br. J. Hematol.* 1997; 96: 682-687.
- 51) INABA T., SHAPIRO L.H., FUNABIKI T. *et al.* - DNA-binding specificity and transactivating potential of the leukemia-associated E2A-hepatic leukemia factor fusion protein. *Mol. Cell Biol.* 1994; 14: 3403-3413.
- 52) HUNGER S.P., OHYASHIKI K., TOYAMA K. *et al.* - Hlf, a novel hepatic bZIP protein, shows altered DNA-binding properties following fusion to E2A in t(17; 19) acute lymphoblastic leukemia. *Genes Dev.* 1992; 6: 1608-1620.
- 53) HUNGER S.P., BROWN R., CLEARY M.L. - DNA-binding and transcriptional regulatory properties of hepatic leukemia factor (HLF) and the t(17; 19) acute lymphoblastic leukemia chimera E2A-HLF. *Mol. Cell Biol.* 1994; 14: 5986-5996.
- 54) INABA T., ROBERTS W.M., SHAPIRO L.H. *et al.* - Fusion of the leucine zipper gene HLF to the E2A gene in human acute B-lineage leukemia. *Science* 1992; 257: 531-534.
- 55) YOSHIHARA T., INABA T., SHAPIRO L.H. *et al.* - E2A-HLF-mediated cell transformation requires both the trans-activation domains of E2A and the leucine zipper dimerization domain of HLF. *Mol. Cell Biol.* 1995; 15: 3247-3255.
- 56) KAMPS M.P., MURRE C., SUN X.H. *et al.* - A new homeobox gene contributes the DNA binding domain of the t(1; 19) translocation protein in pre-B ALL. *Cell* 1990; 60: 547-555.
- 57) LU Q., KNOEPFLER P.S., SCHEELE J. *et al.* - Both Pbx1 and E2A-Pbx1 bind the DNA motif ATCAATCAA cooperatively with the products of multiple murine Hox genes, some of which are themselves oncogenes. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3786-3795.
- 58) CRIST W.M., PUI C.H. - Clinical implications of cytogenetic and molecular analyses of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Stem Cells* 1993; 11: 81-87.
- 59) KAMPS M.P., BALTIMORE D. - E2A-Pbx-1, the t(1; 19) translocation protein of human pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia, causes acute myeloid leukemia in mice. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 351-357.
- 60) PUI C.H., RAIMONDI S.C., HANCOCK M.L. *et al.* - Immunologic, cytogenetic, and clinical characterization of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t(1; 19) (q23; p13) or its derivative. *J. Clin. Oncol.* 1994; 12: 2601-2606.
- 61) AUER I., SPARKES R.S., SCHILLER G. *et al.* - Ph1-chromosome positive acute lymphoblastic leukemia: is t(9; 22) the initial abnormality?. *AM. J. Hematol.* 1993; 43: 61-62.
- 62) FIZZOTTI M., CHEN E.Y., LINK M.P. *et al.* - Simultaneous expression of RBTN-2 and BCR-ABL oncogenes in a T-ALL with a t(11; 14)(p13; q11) and a late-appearing Philadelphia chromosome. *Leukemia* 1994; 8: 1124-1130.
- 63) OHYASHIKI J.H., OHYASHIKI K., KAWAKUBO K. *et al.* - The methylation status of the major breakpoint cluster region in human leukemia cells, including Philadelphia chromosome-positive cells, is linked to the lineage of hematopoietic cells. *Leukemia* 1993; 7: 801-807.

- 64) OHYASHIKI J.H., OHYASHIKI K., SHIMAMOTO T. *et al.* - Ectropic virus integration site-1 gene preferentially expressed in post-myelodysplasia acute myeloid leukemia: possible association with GATA-1, GATA-2, and stem cell leukemia gene expression. *Blood* 1995; 85: 3713-3718.
- 65) MLODZIK M., HIROMI Y., WEBER U. *et al.* - Drosophila seven-up gene, a member of the steroid receptor gene superfamily, controls photoreceptor cell fates. *Cell* 1990; 60: 211-224.
- 66) SUZUKAWA K., PARGANAS E., GAJJAR A. *et al.* - Identification of a breakpoint cluster region 3' of the ribophorin I gene at 3q21 associated with the transcriptional activation of the EVI1 gene in acute myelogenous leukemias with inv(3)(q21; q26). *Blood* 1994; 84: 2681-2688.
- 67) HIRAI H. - Diagnosis of hematological disorders by mutational analysis of oncogenesis. *Rinsho Byori* 1995; 43: 529-534.
- 68) TANAKA T., MITANI K., KUOKAWA M. *et al.* - Dual functions of the AML-1/Evi-1 chimeric protein in the mechanism of leukemogenesis in t(3; 21) leukemias. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2383-2392.
- 69) HARRIS N.B., DAVIS E.M., LE BEAU M.M. *et al.* - Variant translocations (9; 11): identification of the critical genetic rearrangement. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 30: 171-178.
- 70) BUTLER L. H., SLANY R., CUI XIANGMIN *et al.* - The HRX proto-oncogene product is widely expressed in human tissues and localizes to nuclear structures. *Blood* 1997; 89: 3361-3370.
- 71) TSE W., ZHU W., CHEN H.S. *et al.* - A novel gene, AF1q, fused to MLL in T(1; 11)(q21; q23), is specifically expressed in leukemic and immature hematopoietic cells. *Blood* 1995; 85: 650-656.
- 72) BEHM F.G., RAIMONDI S.C., FRESTEDT J.L. *et al.* - Rearrangement of the MLL gene confers a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia, regardless of presenting age. *Blood* 1996; 87: 2870-2877.
- 73) GU Y., NAKAMURA T., ALDER H. *et al.* - The t(4; 11) chromosome translocation of human acute leukemias fuses the ALL-1 gene, related to Drosophila trithorax, to the AF-4 gene. *Cell* 1992; 71: 701-708.
- 74) HILDEN J.M., FRESTEDT L., MOORE R.O. *et al.* - Molecular analysis of infant acute lymphoblastic leukemia: MLL gene rearrangement and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for t(4; 11)(q21; q23). *Blood* 1995; 86: 3876-3882.
- 75) GILL SUPER H.J., MCCABE N.R., THIRMAN M. *et al.* - Rearrangements of the MLL gene in therapy-related acute myeloid leukemia patients previously treated with agents targeting DNA topoisomerase II. *Blood* 1993; 82: 3705-3711.
- 76) APLAN P.D., CHERVINSKY D.S., STANULLA M. *et al.* - Site-specific DNA cleavage within the MLL breakpoint cluster region induced by topoisomerase II inhibitors. *Blood* 1996; 87: 2649-2658.
- 77) KUBOTA M., HOSHINO Y., DOI H. *et al.* - Myelodysplastic syndrome with t(9; 11)(p22; q23) after treatment for B-cell acute lymphoblastic leukemia without epipodophyllotoxins. *Acta Haematol* 1994; 92: 33-35.
- 78) MA C., STAUDT L.M. - LAF-4 encodes a lymphoid nuclear protein with transactivation potential that is homologous to AF-4, the gene fused to MLL in t(4; 11) leukemias. *Blood* 1996; 87: 734-745.
- 79) CHAPLIN T., BERNARD O., BEVERLOO H.B. *et al.* - The t(10; 11) translocation in acute myeloid leukemia (M5) consistently fuses the leucine zipper motif of AF10 onto the HRX gene. *Blood* 1995; 85: 2073-2076.
- 80) MITANI K., KANDA Y., OGAWA S. *et al.* - Cloning of several species of MLL/

- MEN chimeric cDNAs in myeloid leukemia with t(11; 19)(q23; p13.1) translocation. *Blood* 1995; 85: 2017-2024.
- 81) POIREL H., RACK K., DELABESSE E. *et al.* - Incidence and characterisation of MLL gene (11q23) rearrangements in acute myeloid leukemia M1 and M5. *Blood* 1996; 87: 2496-2505..
  - 82) AKAO Y., SETO M., TAKAHASHI T. *et al.* - Rearrangements on chromosome 11p23 in hematopoietic tumor-associated t(11; 14) and t(11; 19) translocations. *Cancer Res* 1991; 51: 6708-6711.
  - 83) REID A., GOULD A., BRAND N. *et al.* - Leukemia traslocation gene, PLZF, is expressed with a speckled nuclear pattern in early hematopoietic progenitors. *Blood* 1995; 86: 4544-4552.
  - 84) WŁODARSKA I., AVENTIN A., INGLÉS-ESTEVE J. *et al.* - A new subtype of pre-B acute lymphoblastic leukemia with t(5; 12)(q31q33; p12), molecularly and cytogenetically distinct from t(5; 12) in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 1997; 89: 1716-1722.
  - 85) GOLUB T.R., BARKER G.F., LOVETT M. *et al.* - Fusion of PDGF receptor beta to a novel ets-like gene, tel, in chronic myelomonocytic leukemia with t(5; 12) chromosomal translocation. *Cell*. 1994 Apr 22; 77(2): 307-316.
  - 86) WŁODARSKA I., MECUCCI C., MARYNEN P. *et al.* - TEL gene is involved in myelodysplastic syndromes with either the typical t(5; 12)(q33; p13) or its translocation variant t(10; 12)(q24; p13). *Blood* 1995; 85: 2848-2852.
  - 87) BUIJS A., SHERR S., VAN BAAL S. *et al.* - Translocation (12; 22)(p13; q11) in myeloproliferative disorders results in fusion of the ETS-like TEL gene on 12p13 to the MN1 gene on 22q11. *Oncogene* 1995; 10: 1511-1519.
  - 88) RAYNAUD S., CAVÈ H., BAENS M. *et al.* - The 12; 21 traslocation involving TEL and deletion of the other TEL allele: two frequently associated alterations found in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 2891-2899.
  - 89) STEGMAIER K., PENDE S., BARKER G.F. *et al.* - Frequent loss of heterozygosity at the TEL gene locus in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Blood* 1995; 86: 38-44.
  - 90) RUBNITZ J.E., SHUSTER J.J., LAND V.J. *et al.* - Case-control study suggest a favorable impact of TEL rearrangement in patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia treated with antimetabolite-based therapy: a pediatric oncology group study. *Blood* 1997; 89: 1143-1146.
  - 91) ROMANA S.P., MAUCHAUFFE M., LE CONIAT M. *et al.* - The t(12; 21) of acute lymphoblastic leukemia results in a tel-AML1 gene fusion. *Blood* 1995; 85: 3662-3670.
  - 92) GOLUB T.R., BARKER G.F., BOHLANDER S.K., *et al.*: Fusion of the TEL gene on 12p13 to the AML1 gene on 21q22 in acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 4917-4921.
  - 93) PAPADOPOULOS P., RIDGE S.A., BOUCHER C.A. *et al.* - The novel activation of ABL by fusion to an ets-related gene, *Tel. Cancer Res.* 1995; 55: 34-38.
  - 94) HOGLUND M., JOHANSSON B., PEDERSEN-BJERGAARD J. *et al.* - Molecular characterisation of 12p abnormalities in hematologic malignancies: deletion of KIP1, rearrangement of TEL, and amplification of CCND2. *Blood* 1996; 87: 324-330.
  - 95) SATO Y., SUTO Y., PIETENPOL J. *et al.* - TEL and KIP1 define the smallest region of deletions on 12p13 in hematopoietic malignancies. *Blood* 1995; 86: 1525-1533.
  - 96) KONOPKA J.B., WATANABE S.M., WITTE O.N. - An alteration of the human c-abl protein in K562 leukemia cells unmask associated tyrosine kinase activity. *Cell* 1984; 37: 1035-1042.

- 97) PAPADOPOULOS P., RIDGE S.A., BOUCHER C.A. - Chronic myeloid leukaemia. *Leuk. Res.* 1994; 18: 373-380.
- 98) PRASAD D.D., OUCHIDA M., LEE L. *et al.* - TLS/FUS fusion domain of TLS/FUS-erg chimeric protein resulting from the t(16; 21) chromosomal translocation in human myeloid leukemia functions as a transcriptional activation domain. *Oncogene* 1994; 9: 3717-3729.
- 99) HIYOSHI M., YAMANE T., HIRAI M. *et al.* - Establishment and characterization of IRTA17 and IRTA21, two novel acute non-lymphocytic leukaemia cell lines with t(16; 21) translocation. *Br. J. Haematol.* 1995; 90: 417-424.
- 100) RABBITTS T.H., FORSTER A., LARSON R. *et al.* - Fusion of the dominant negative transcription regulator CHOP with a novel gene FUS by translocation t(12; 16) in malignant liposarcoma. *Nature* 1993; 4: 175-180.
- 101) PULFORD K., LAMANT L., MORRIS S.W., *et al.* - Detection of anaplastic lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)-ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood* 1997; 89: 1394-1404.
- 102) LAMANT L., MAGGETTO F., AL SAATI T. *et al.* - High incidence of the t(2; 5)(p13; q35) translocations in anaplastic large cell lymphoma and its lack of detection in Hodgkin's disease. Comparison of cytogenetic analysis, reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and p-80 immunostaining. *Blood* 1996; 87: 284-291.
- 103) THOMIS D.C., BERG L.J. - Peripheral expression of Jak3 is required to maintain T lymphocyte function. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 197-206.
- 104) GRIMALDI J.C., MEEKER T.C. - The t(5; 14) chromosomal translocation in a case of acute lymphocytic leukemia joins the interleukin-3 gene to the immunoglobulin heavy chain gene. *Blood* 1989; 73: 2081-2085.
- 105) CLICOTE R.R., BROWN E., ROWLEY J.D. - Lymphoblastic leukemia with lymphomatous features associated with abnormalities of the short arm of chromosome 9. *N. Engl J Med* 1985; 313: 286-291.
- 106) SERRANO M., HANNON G.J., BEACH D. - A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 1993; 366: 704-707.
- 107) HANNON G.J., BEACH D. - p15<sup>INK4a</sup> is a potential effector of TGF- $\beta$  induced cell cycle arrest. *Nature* 1994; 371: 257-261.
- 108) OKUDA T., SHRTLIEFF S.A., VALENTINE M.B. *et al.* - Frequent deletion of p16<sup>INK4a</sup>/MTS1 and p15<sup>INK4b</sup>/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1995; 85: 2321-2330.
- 109) WHITLOCK J.A., RAIMONDI S.C., Harbott J. *et al.* - t(5; 14)(q33-34; q11), a new recurring cytogenetic abnormality in childhood acute leukemia. *Leukemia* 1994; 8: 1539-1543.
- 110) KALLIANPUR A.R., JORDAN J.E., BRANDT S.J. - The SCL/TAL-1 gene is expressed in progenitors of both the hematopoietic and vascular systems during embryogenesis. *Blood* 1994; 83: 1200-1208.
- 111) SHIVDASANI R.A., MAYER E.L., ORKIN S.H. - Absence of blood formation in mice lacking the T-cell leukemia oncoprotein TAL-1/SCL. *Nature* 1995; 373: 432-434.
- 112) BASH R.O., HALL S., TIMMONS C.F. *et al.* - Does activation of the TAL-1 gene occur in a majority of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia? A pediatric oncology group study. *Blood* 1995; 86: 666-676.
- 113) SANCHEZ-GARCIA I., RABBITTS T.H. - Transcriptional activation by TAL1 and FUS-CHOP proteins expressed in acute malignancies as a result of chromosomal abnormalities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 7869-7873.

- 114) TANIGAWA T., ROBB L., GREEN A.R. *et al.* - Constitutive expression of the putative transcription factor SCL associated with proviral insertion in the myeloid leukemic cell line WEHI-3BD. *Cell growth differ.* 1994; 5: 557-561.
- 115) HSU H.L., WADMAN I., BAER R. - Formation of in vivo complexes between the TAL1 and E2A polypeptides of leukemic T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 3181-3185.
- 116) HSU H.L., HUANG L., TSAN J.T. *et al.* - Preferred sequences for DNA recognition by the TAL1 helix-loop-helix proteins. *Mol. Cell Biol.* 1994; 14: 1256-1265.
- 117) BASH R.O., HALL S., TIMMONS C.F. *et al.* - Does activation of the TAL1 gene occur in a majority of patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia? A pediatric oncology group study. *Blood* 1995; 86: 666-676.
- 118) XIA Y., HWANG L.Y., COBB M.H. *et al.* - Products of the TAL2 oncogene in leukemic T cells: bHLH phosphoproteins with DNA-binding activity. *Oncogene* 1994; 9: 1437-1446.
- 119) XIA Y., BROWN L., YANG C.Y.C. *et al.* - TAL-2, a helix-loop-helix gene activated by the (7; 9)(q34; q32) translocation in human T cell leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 11416-11420.
- 120) MELLENTIN J.D., SMITH S.D., CLEARY M.L. - Lyl-1, a novel gene altered by chromosomal translocation in T-cell leukemia, codes for a protein with a helix-loop-helix DNA binding motif. *Cell* 1989; 58: 77-83.
- 121) KUO S.S., MELLENTIN J. D., COPELAND N.G. *et al.* - Structure, chromosome mapping, and expression of the mouse Lyl-1 gene. *Oncogene* 1991; 6: 961-968.
- 122) TYCKO B., SMITH S.D., SKLAR J. - Chromosomal translocations joining LCK and TCRB loci in human T cell leukemia. *J Exp Med* 1991; 174: 867-873.
- 123) LARSSON C., LARDELLI M., WHITE I. *et al.* - The human NOTCH1, 2, and 3 genes are located at chromosome positions 9q34, 1p13-p11, and 19p13.2-p13.1 in regions of neoplasia-associated translocation. *Genomics* 1994; 24: 253-258.
- 124) REYNOLDS T.C., SMITH S.D., SKLAR J. - Analysis of DNA surrounding T cell receptor gene in human lymphoblastic neoplasms. *Cell* 1987; 50: 107-117.
- 125) LIGHTY B.D., ACKLAND-SNOW J., NOBLE L. *et al.* - Dysregulation of HOX11 by chromosome translocations in T-cell acute lymphoblastic leukemia: a paradigm for homeobox gene involvement in human cancer. *Leuk. Lymphoma* 1995; 16: 209-215.
- 126) ZHANG N., SEHN W.F., HO A.D. *et al.* - Tyrosine phosphorylation is required for up-regulation of the HOX11 (TCL-3) homeobox proto-oncogene in T cells. *Cancer Res.* 1995; 55: 1117-1121.
- 127) KENNEDY M.A., GONZALEZ-SARMIENTO R., KEES U.R. *et al.* HOX11, a homeobox-containing T-cell oncogene on human chromosome 10q24. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 8900-8904.
- 128) HATANO M., ROBERTS C.W., MINDEN M. *et al.* - Deregulation of a homeobox gene, HOX11, by the t(10; 11) in T cell leukemia. *Science* 1991; 253: 79-82.
- 129) ITOYAMA T., SADAMORI N., NAKAMURA H. *et al.* - Inversion(10)(q11q24) in a case of adult T-cell leukemia. *Cancer. Genet. Cytogenet.* 1995; 81: 175-178.
- 130) SANCHEZ-GARCIA I., RABBITTS T. H. - LIM domain proteins in leukemia and development. *Semin. Cancer Biol.* 1993; 4: 349-358.
- 131) DONG W.F., BILLIA F., ATKINS H.L. *et al.* - Expression of rhombotin 2 in normal and leukemic haemopoietic cells. *Br. J. Hematol.* 1996; 93: 280-296.
- 132) MCGUIRE E.A., RINTOUL C.E., SCLAR G.M. *et al.* - Thymic overexpression of Ttg-1 in transgenic mice results in T-cell acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Mol. Cell. Biol.* 1992; 12: 4186-4196.

- 133) WARREN A.J., COLLEDGE W.H., CARITON M.R. et al. - The oncogenic cysteine-rich Lim domain protein Rbtp2 is essential for erythroid development. *Cell* 1994; 78: 45-48.
- 134) DAWID J.B., TOYAMA R., TAIRA M. - LIM domain proteins. *C.R. Acad Sci III* 1995; 318: 295-306.
- 135) SHIKANO T., KANEKO T., KONISHI T. et al. - A t(11; 14)(p13; q11) specific for T-cell malignancies in acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1995; 83: 42-45.
- 136) MALJAE S.H., BRITO-BABAPULLE V., MATUTES E. et al. - Expression of c-myc oncoprotein in chronic T cell leukemias. *Leukemia* 1995; 9: 1694-1699.
- 137) RUSSO G. et al. - Molecular analysis of a t(17; 14) (q35; q32) chromosome translocation in a T cell leukemia of a patient with ataxia teleangiectasia. *Cell* 1988; 53: 137-144.
- 138) DE PLANQUE M., KLUIN N.H., KLUIN P. et al. - Evolution of acquired severe aplastic anemia to myelodysplasia and subsequent leukemia in adults. *Br J Hematol* 1988; 70: 55-62.
- 139) KANEKO Y., ROWLBY J., VARIKOJIS D. et al. - Chromosome abnormalities in Down syndrome patients with acute leukemia. *Blood* 1981; 58: 459-466.
- 140) NEUBAUER A., SHANNON K., LIU E. - Mutations of the ras proto-oncogenes in childhood monosomy 7. *Blood* 1991; 77: 594-598.
- 141) LUNA-FINEMAN S., SHANNON K.M., LANGE B.J. - Childhood monosomy 7: epidemiology, biology, and mechanistic implications. *Blood* 1995; 85: 1985-1999.
- 142) STOLLMANN B., FONATSCH C., HAVERS W. - Persistent Epstein-Barr virus infection associated with monosomy 7 or chromosome 3 abnormalities in childhood myeloproliferative disorders. *Br J Hematol* 1985; 60: 183-196.
- 143) LITTLE M.H., PROSSER J., CONDIE A. et al. - Zinc finger point mutation within the WT1 gene in Wilms tumor patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 4791.
- 144) BERGMAN L., MIETHING C., MAURER U. et al. - High levels of Wilm's tumor gene (wt1) mRNA in acute myeloid leukemias are associated with a worse long-term outcome. *Blood* 1997; 90: 1217-1225.
- 145) YAMAGAMI T., SUGIYAMA H., INOUE K. et al. - Growth inhibition of human leukemic cells by WT1 (Wilms tumor gene) antisense oligodeoxynucleotides: implications for the involvement of WT1 in leukemogenesis. *Blood* 1996; 87: 2878-2884.
- 146) ZHANG Q., DIDONATO J.A., KARIN M. et al. - BCL3 encodes a nuclear protein which can alter the subcellular location of NF-kappa B proteins. *Mol. Cell Biol* 1994; 14: 3915-3926.
- 147) KERR L.D., DUCKETT C.S., WAMSLEY P. et al. - The proto-oncogene bcl-3 encodes an I kappa B protein. *Genes Dev* 1992; 6: 2352-2363.
- 148) OHNO H., TAKIMOTO G., MCKEITHAN T.W. - The candidate protooncogene BCL-3 is related to genes implicated in cell lineage determination and cell cycle control. *Cell* 1990; 60: 991-997.
- 149) BEG A., RUBEN S.M., SCHEINMAN R.I. et al. - Ikb interacts with the nuclear localisation sequences of the subunits of the NF-KB: a mechanism for cytoplasmatic retention. *Genes Dev* 1992; 6: 1899-1913.
- 150) BAEUEREP. A. - The inducible transcription factor NF-KB regulation by distinct protein subunits. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1072: 63-80.
- 151) WATANABE T., HOTTA T., ICHIKAWA A. et al. - The MDM2 oncogene overexpression in chronic lymphocytic leukemia and low-grade lymphoma of B-cell origin. *Blood* 1994; 84: 3158-3165.

- 152) LIU Y., HERMANSON M., GRANDER D. *et al.* - 13q deletions in lymphoid malignancies. *Blood* 1995; 86: 1911-1915.
- 153) DALLA FAVERA R., BREGNI M., ERIKSON J. *et al.* - *et al.* - Human c-myc oncogene is located on the region chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79: 7824-7827.
- 154) COLLUM R.G., ALT F.W. - Are myc proteins transcription factors? *Cancer cells* 1990; 2: 69-75.
- 155) GUTSCH D.E., MARCU K.B., KENNEY S.C. - The Epstein-Barr virus BRLF1 gene product transactivates the murine and human c-myc promoters. *Cell Mol Biol Noisy Le Grand* 1994; 40: 747-760.
- 156) LA ROSA F.A., PIERCE J.W., SONENSHEIN G.E. - Differential regulation of the c-myc oncogene promoter by the NF-kappa B rel family of transcription factors. *Mol. Cell Biol.* 1994; 14: 1039-1044.
- 157) MEEUS P., STUL M.S., MECUCCI C. *et al.* - Molecular breakpoints of t(11; 14)(q13; q32) in multiple myeloma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1995; 83: 25-27.
- 158) KOMATSU H., IIDA S., YAMAMOTO K. *et al.* - A variant chromosome translocation at 11q13 identifying PRAD-1/Cyclin D1 as the BCL-1 gene. *Blood* 1994; 84: 1226-1231.
- 159) BOSCH F., JARES P., CAMPO E. *et al.* - PRAD-1/cyclin D1 gene overexpression in chronic lymphoproliferative disorders: a highly specific marker of mantle cell lymphoma. *Blood* 1994; 84: 2726-2732.
- 160) DANIEL M.T., TIGAUD I., FLEXOR M.A. *et al.* - Leukaemic non-Hodgkin's lymphomas with hyperdiploid cells and t(11; 14)(q13; q32): a subtype of mantle cell lymphoma?. *Br. J. Haematol.* 1995; 90: 77-84.
- 161) MATSUZAKI Y., NAKAYAMA K.I., NAKAYAMA K. *et al.* - Role of bcl-2 in the development of lymphoid cells from the hematopoietic stem cells. *Blood* 1997; 89: 853-862.
- 162) HERMINE O., HAIOUN C., LEPAGE E. *et al.* - Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1996; 87: 265-272.
- 163) MIYASHITA T., REED J.C. - BCL-2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemia cell line. *Blood* 1993; 81: 151-157.
- 164) REED J.C. - BCL-2 prevention of apoptosis as a mechanism of drug resistance. *Hematol Oncol Clin North Amer* 1995; 9: 451-473.
- 165) LOTEM J., SACHS L. - Control of sensitivity to induction of apoptosis in myeloid leukemic cells by differentiation and BCL-2 dependent and independent pathways. *Cell Growth Diff* 1994; 5: 321-327.
- 166) REED J.C., KITADA S., TAKAYAMA S. *et al.* - Regulation of chemoresistance by the BCL-2 oncoprotein in non-Hodgkin's lymphoma and lymphocytic leukemia cell lines. *Ann Oncol* 1994(suppl.1)5: 61-65.
- 167) COUSTAN-SMITH E., KITANAKA A., PUI C.H. *et al.* - Clinical relevance of BCL-2 overexpression in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87: 1140-1146.
- 168) YE B.H., RAO P.H., CHAGANTI R.S.K. *et al.* - Cloning of BCL-6, the locus involved in chromosome translocations affecting band 3q27 in B cell lymphoma. *Cancer Res.* 1993; 53: 2732-2735.
- 169) ONIZUKA T., MORIYAMA M., YAMOCHI T. *et al.* - BCL-6 gene product, a 92- to 98-kD nuclear phosphoprotein, is highly expressed in germinal center B cells and their neoplastic counterparts. *Blood* 1995; 86: 28-37.
- 170) YE B.H., LISTA F., LO COCO F. *et al.* - Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993; 262: 747-750.



- 171) KAWAMATA N., MIKI T., FUKUDA T. *et al.* - The organization of the BCL6 gene. *Leukemia* 1994; 8: 1327-1330.
- 172) MIKI T., KAWAMATA N., HIROSAWA S. *et al.* - Gene involved in the 3q27 translocation associated with B-cell lymphoma, BCL5, encodes a Kruppel-like zinc-finger protein. *Blood*. 1994; 83: 26-32.
- 173) CATTORETTI G., CHANG C.C., CECHOVA K. *et al.* - BCL-6 protein is expressed in germinal center B cells. *Blood* 1995; 86: 45-53.
- 174) NAKAMURA Y., MIKI T., KAWAMATA N. *et al.* - Biallelic DNA rearrangement and deletions within the BCL-6 gene in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Hematol* 1995; 90: 404-408.
- 175) OFFIT K., LO COCO F., LOUIE D.C. *et al.* - Rearrangement of the bcl-6 gene as a prognostic marker in diffuse large-cell lymphoma [see comments] Comment in: *N Engl J Med* 1994 Jul 14; 331(2): 116-8. *N. Engl. J. Med.* 1994; 331: 74-80.
- 176) MIGLIAZZA A., LOMBARDI L., ROCCHI M. *et al.* - Heterogeneous chromosomal aberrations generate 3' truncations of the NF-KB2/lyt-10 gene in lymphoid malignancies. *Blood* 1994; 84: 3850-3860.
- 177) NERI A., CHANG C.C., LOMBARDI C. *et al.* - B-cell lymphoma associated chromosomal translocation involves candidate oncogene Lyt-10, homologous to NF-KB p50. *Cell* 1991; 67: 1075-1087.
- 178) FRACCHIOLLA N.S., LOMBARDI L., SALINA M. *et al.* - Structural alterations of the NF-KB transcription factor LYT-10 in lymphoid malignancies. *Oncogene* 1993; 8: 2839-2845.
- 179) AKAO Y., SETO M., YAMAMOTO K. *et al.* - The RCK gene associated with t(11; 14) translocation is distinct from the MLL/ALL-1 gene with t(4; 11) and t(11; 19) translocations. *Cancer Res* 1992 Nov 1; 52(21): 6083-6087.
- 180) LU D., YUNIS J.J. - Cloning, expression and localisation of an RNA helicase gene from a human lymphoid cell line with chromosomal breakpoint 11q23.3. *Nucl Acid Res* 1992; 20: 1967-1972..
- 181) GOTTESMANN M.M. - Report of a meeting: molecular basis of cancer therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 1994; 86: 1277-1285.
- 182) POMERANTZ J.L., SHARP P.A., PABO C.O. - Structure-based design of transcription factors. *Science* 1995; 267: 93-96.
- 183) BROGGINI M., D'INCALCI M. - Modulation of transcription factor-DNA interactions by anticancer drugs. *Anticancer Drug Des.* 1994; 9: 373-387.
- 184) SPENCER D.M., WANDLESS T.J., SCHREIBER S.L. *et al.* - Controlling signal transduction with synthetic ligands. *Science* 1993; 262: 1019-1024.
- 185) LOOK T.A. - Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias. *Science* 1997 Nov 7; 278(5340): 1059; 1064.

---

Indirizzo dell'autore:

Prof. Giuseppe Amadori, Via Monaco Padovano 12, I-35128 Padova  
E-Mail: Amdori@protec.it

---

