



Juvenil Myelomonositik Lösemi (JMML)

Juvenile Myelomonocytic Leukemia (JMML)

Barbaros Şahin Karagün, İlgen Şaşmaz, Bülent Antmen, Yurdanur Kılınc

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

ÖZET

Juvenil miyelomonositik lösemi (JMML) bebekleri ve küçük çocukları etkileyen nadir görülen kronik ve agresif bir lösemi tipidir. Dünya Sağlık Örgütü JMML'yi miyelodisplastik ve miyeloproliferatif bozukluklar kategorisine dahil etmektedir. Hastaların ortalama tanı yaşı, 2 yaş civarındır ve 5-6 yaşından büyük çocuklarda nadir görülür. JMML aynı zamanda juvenil kronik miyelojenik lösemi (JKML), juvenil kronik granülositik lösemi, kronik ve subakut miyelomonositik lösemi olarak tanımlanmıştır. Bu hastalık erkek çocuklarında kız çocuklarından daha sık görülür. ABD'de çocukluk çağı lösemileri arasında %1-2 oranında görülmekte ve her yıl yaklaşık 25-50 olgu yeni tanı almaktadır. Yaklaşık %80 hastada, lösemi hücrelerinde laboratuvar testleri ile tanımlanmış genetik anormallikler vardır (nörofibromatozisli hastalar %7, RAS mutasyonları hastaların %20-30'unu ve PTPN11 mutasyonu hastaların %35 oluşturmaktadır). Hastaların temel klinik bulguları, monositozla birlikte anemi, lökositoz, trombositopeni ve masif splenomegalidir. Allojenik kök hücre nakli JMML için tek tedavidir. Ancak nakil sonrası relaps oranları da çok yüksektir. Son zamanlarda dünyada JMML için standart kemoterapi rejimleri oldukça tartışmalıdır. Gelecekteki çalışmalar bu hastaların tedavisi için ümit vericidir. *The Journal of Pediatric Research* 2014;1(3):118-26

Anahtar Kelimeler: Juvenil miyelomonositik lösemi, mutasyonlar, kemoterapi

ABSTRACT

Juvenile Myelomonocytic Leukemia (JMML) is a rare type of aggressive and chronic leukemia that affects infants and young children. JMML has been included in the category of myelodysplastic and myeloproliferative disorders by the World Health Organization. The average age of patients at diagnosis is 2 years and it is rarely seen in children older than 5-6 years of age. JMML has also been defined as Juvenile Chronic Myelogenous Leukemia (JCML), Juvenile Chronic Granulocytic Leukemia, Chronic and Subacute Myelomonocytic Leukemia. This disease is more common in boys than in girls. JMML is seen by 1-2% between childhood leukemias in the United States, and approximately 25-50 new cases are diagnosed each year. About 80% of JMML patients have genetic abnormality that is identified by laboratory tests in their leukemia cells (7% of patients had neurofibromatosis 1 (NF1), 20-30% of patients had RAS mutations and 35% of patients had PTPN11 mutation). The basic clinical findings of patients were anemia, leucocytosis with monocytosis, thrombocytopenia and massive splenomegaly. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation is the only treatment for JMML, although post-transplant relapse rate is very high. Recently, standard treatment regimens for JMML are quite controversial in the world. Future studies are promising for treatment of these patients. *The Journal of Pediatric Research* 2014;1(3):118-26

Key Words: Juvenile myelomonocytic leukaemia, mutations, chemotherapy

Juvenil Myelomonositik Lösemnin Patogenezindeki ve Yönetimindeki Son Gelişmeler

Juvenil miyelomonositik lösemi (JMML); çocukluk çağının erken dönemlerinde görülen fatal seyirli mikst tip (myelodisplastik ve miyeloproliferatif) bir bozukluktur. Hastaların büyük bir çoğunluğunu 2 yaşından küçük çocuklar oluşturmaktadır. İlk defa yaklaşık 40 yıl önce yetişkindeki kronik miyeloid lösemiye (KML) benzeri bir hastalık olarak tanımlanmıştır (1-5).

Hastalığa ait en önemli tanı koydurucu ve hastaların takibinde yardımcı bulgu, malign hücreler tarafından oluşturulan organ infiltrasyonlarıdır. Bunun dışında en sık rastlanan klinik bulgular; ateş, öksürük, infeksiyon varlığı, solukluk, halsizlik, lenfadenopati, hepatosplenomegali, farklı karakterde deri lezyonları (ekzema, ksantom, cafeau-lait vb.) ve değişik hemorajik bulgular dikkati çekmektedir (1-12).

Hastaların periferik kan yayması anemi, lökositoz, monositoz ve trombositopenilerle karakterizedir. Kemik iliği incelemesinde;

Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Dr. Barbaros Şahin Karagün, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye
Tel.: +90 322 338 60 60 E-posta: drbkaragun@yahoo.com.tr

Geliş tarihi/Received: 24.09.2013 Kabul tarihi/ Accepted: 21.01.2014

az sayıda megakaryositlerle birlikte miyeloid hiperplazi dikkati çekmektedir. Hastalara tanı koyabilmek için Avrupa çocukluk çağı MDS çalışma grubu (European Working Group of MDS in Childhood (EWOG-MDS)) tarafından belirlenen laboratuvar ve klinik kullanılmaktadır (2,3,7,13,14). Bu parametreler içinde zorunlu olması gerekenler dışında onkogenetik olanlar (bir parametre yeterli) ve onkogenetik olmayan (en az 2 parametre) yardımcı parametrelerin varlığı gereklidir (7) (Şekil 1).

Bazı viral (Epstein-Barr virüs (EBV), cytomegalovirüs (CMV), human herpesvirus 6 (HHV-6), Parvovirus B-19, vb.) enfeksiyonlar JMML'ye benzer şekilde klinik ve laboratuvar bulgu gösterebilirler. Bu enfeksiyöz hastalıklarla JMML arasında ayırım yapmak oldukça zordur (15). Hastalığın klinik seyri oldukça değişkenlik göstermektedir. Hastaların üçte biri çok ağır ve hızlı seyreden bir hastalığa sahip iken diğer üçte birlik kısım daha yavaş ve selim karakterde bir seyir gösterir. Geri kalan olgular da orta düzeyde bir kliniğe sahiptir (1,2).

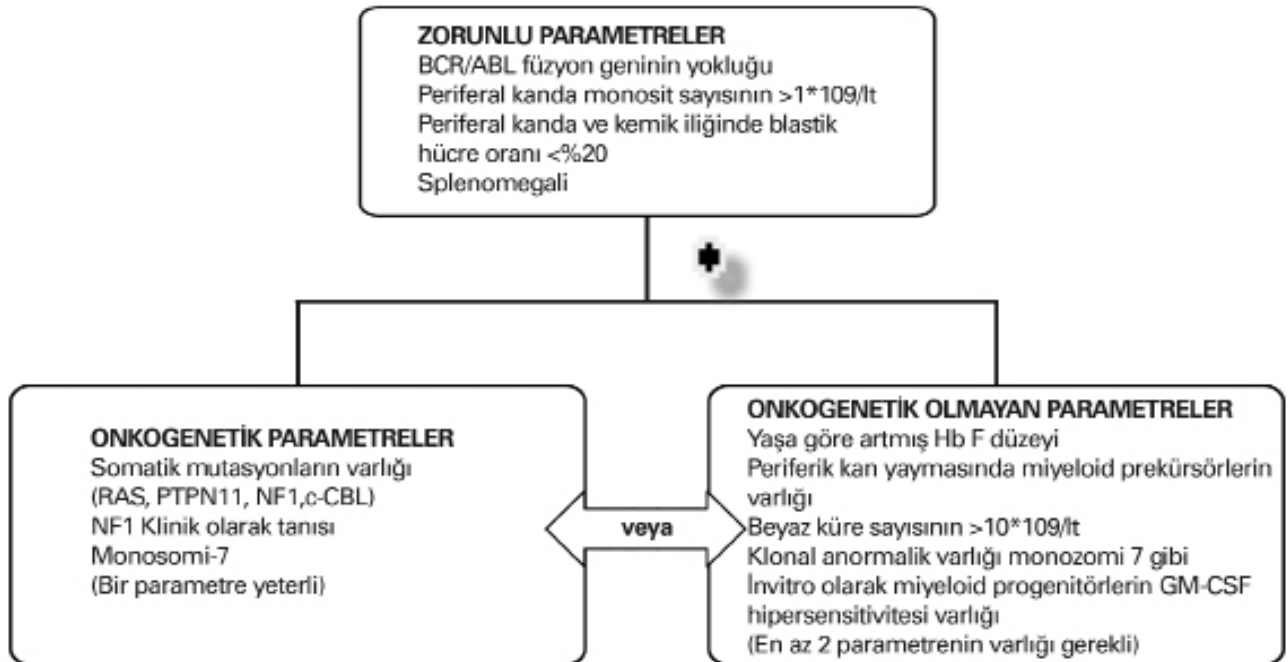
Transplantasyon yapılmayan hastalarda ortalama yaşam süresi 12 ayın altındadır ve bu hastaların on yıllık yaşam süreleri sadece %6'dır. Hastaların %15 kadarı hastalığın takibi sırasında Akut Miyeloblastik Lösemiye (AML) dönüşüm gösterir ve ortaya çıkan bu transformasyona blastik kriz denilmektedir. Hastaların tanı sırasında ki yaşı (2 yaş ve üzeri) trombosit sayısı ($<33 \times 10^9/\text{lt}$) ve HbF düzeyi ($>\%15$) yaşam süresinin belirlenmesinde, hastalığın prognozunu tahmin edilmesinde kullanılan önemli göstergelerdir. Miyelodisplastik sendrom için kullanılan kemik iliğindeki blast yüzdesi, sitopeni varlığı ve sitogenetik anormalliklerin varlığını esas alan uluslararası prognostik skorlama sisteminin JMML için sınırlı değeri vardır (1-5,16).

Epidemiyoloji

Hastalığın tam insidansı bilinmemektedir. Sadece toplum kaynaklı yapılan çalışmalarda çocukluk çağındaki tüm miyelodisplastik sendromlu olguların %18'den ve 15 yaş altındaki çocukluk yaş grubu hematolojik malignansilerinin %1,62'den sorumlu olduğu düşünülmektedir (yılda her 1 milyon çocuktan 0,61'inde yeni olgu JMML tanımlanmaktadır). Hastaların büyük çoğunluğuna 4 yaşından önce tanı alırken olguların %60'ı iki yaşından önce %40'ında bir yaşından önce tanı almaktadır. Bununla birlikte olguların %26'sı da üç yaş ve üzerinde tanı almaktadır. Erkek çocuklar kızlardan daha fazla (E/K: 2,5) hastalıktan etkilenmektedir (17-19). JMML hastaların %7'sine Nörofibromatosis tip-1 (NF1) eşlik etmektedir. Ayrıca olguların %9'unda değişik klinik anormallikler hastalığa eşlik etmektedir. İkizler arasında da hastalığın normal bireylere göre görülme sıklığı daha fazladır (1,2,20,21).

Klinik

Hastalığın ilk ortaya çıkışı sıklıkla akut ya da subakut bir enfeksiyonun başlangıcı ya da tekrarı şeklinde olmaktadır (1,2). En sık rastlanan klinik bulgular hepatosplenomegali ve lenfadenomegali'dir. Ayrıca olguların yarısından fazlasında ateş, faringotonsillit, bronşit gibi solunum yollarını ilgilendiren bulguların yanı sıra peteşi, purpura, ekimoz gibi kanama bulguları ve makülopapüller döküntüler hastalığa eşlik eder. Nadir olarak ksantom gibi cilt lezyonlarına da rastlanabilir. Eğer olgulara Nörofibromatosis tip-1 eşlik ediyorsa cafeo-lait lekelerine de görülmektedir (1-17).



Şekil 1. JMML için tanı kriterleri

Lökosit sayımı $50 \times 10^9/\text{lt}$ altında olmaya eğilimli olmakla birlikte olguların %8'inde $100 \times 10^9/\text{lt}$ üzerinde olmaktadır. Periferik kanda artmış monositozla ($5 \times 10^9/\text{lt}$) birlikte eritroblast ve immatürmiyeloid hücrelerin yanı sıra blastik hücre varlığı hastalık için tipik bir bulgudur. Lökosit Alkalen Fosfataz düzeyinde düşüklük %50'den fazla olguda görülmekte ancak hastalık için karakteristik bir bulgu değildir. Kan Hb düzeyi eritrosit anormallikleri ve azalmış serum demir konsantrasyonlarına bağlı olarak genellikle düşüktür. Hastalar için değişmiş bir hemoglobin paterni JMML için güvenilir ve kolay ulaşılabilir bir yol göstericidir. Tanı sırasında HbA2 seviyesi azalırken olguların 2/3'ünde Hb F düzeyinde %10'dan daha fazla artış saptanmaktadır (14).

Trombositopeni sık ve ciddi boyutdadır. Serum B12 düzeyleri de granülositlerdeki aktif protein sentezi ile ilişkili olarak artmıştır. Poliklonal hipergamaglobulinemi sık olmakla birlikte önemi anlaşılamamıştır. Dolaşımda artmış granülosit prekürsörlerinin sayısına bağlı olarak olguların 2/3'ünde serum lizozim düzeyleri yüksek saptanmıştır. Olguların 1/4'den daha azında farklı aktiviteye sahip antikor (ANA, COOMBS vb.) müspetlikleri saptanmakla birlikte bunların klinik önemi görülmemiştir (14).

Periferik kan yaymasının değerlendirilmesi kemik iliği aspirasyon ve biyopsi preparatlarının değerlendirilmesine göre daha fazla tanısal değere sahiptir. Kemik iliği örneklerinin değerlendirilmesinde, tipik olarak kemik iliği selülaritesi ve miyeloid serinin matürasyon evrelerinin hepsinde genel bir artış dikkati çekmektedir (Şekil 2). Tüm miyeloid hücrelerinin içinde akut lösemilerde görüldenden daha az sayıda (%5-10) monositik hücrelere rastlanmaktadır. Hastalığın seyri sırasında yapılan kemik iliği aspirasyonları çok anlamlı olmamaktadır.

Çocukluk çağına diğer lösemilerine karşı bu olgularda daha az yapısal ve kromozomal anormalliklerin varlığına rastlanmaktadır. Bu sonuç diğer çocukluk çağı lösemilerine göre daha yavaş ve selim karakterde olan klinik seyri açıklamaktadır (22-24).

Hastalığın Doğal Seyri ve Prognostik Faktörler

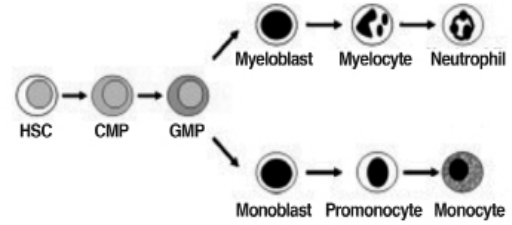
Tedavi edilmemiş ya da tedaviye yanıt vermeyen JMML hastalarının gözlenmesi bu hastalığın doğal seyri hakkında önemli bilgiler vermiştir. Hızlı seyir gösteren olguların gelişen kaşeksi, organomegali ve kemik iliği yetmezliği gibi komplikasyonlar nedeniyle hastaların erken dönemde ölümüne sebep olduğu görülmüştür. Yavaş klinik seyir gösteren olgularda, tedavisiz kan sayımında kısmi ya da tam düzelme ile birlikte klinik bulgularında da düzelme saptanmıştır. Bazı hastalarda splenomegali ile birlikte ılımlı lökositoz veya monositoz gibi değişken karakterde hastalığa bağlı tanı kriterleri devam etse de olgularda stabil bir klinik seyir görülür. Bu hastaların uzun dönem takiplerinde bazen enfeksiyöz epizotlarla birlikte lösemi yeniden aktive olabilir. Ancak sıklıkla da bu epizotlar kendini sınırlama eğilimindedir. Bu sırada verilen kemoterapiye çok iyi klinik yanıt alınır.

Hastaların lösemiye bağlı sonunu tahmin etmek zordur. Ancak olguların büyük çoğunluğu blastik kriz olarak adlandırılan

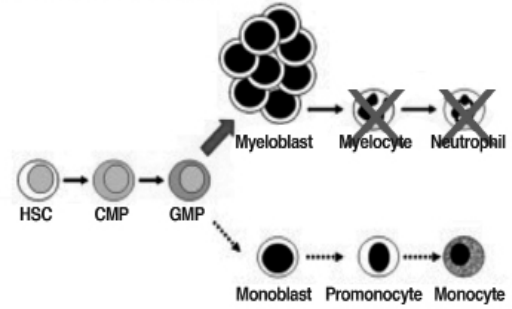
ve hızlı progresyon gösteren, masif hastalık olarak da bilinen klinik bir seyir gösterebilir. Geri kalan olgular orta düzeyde bir prognostik seyre sahiptir (25-27).

JMML tedavisi çok değişkendir, teröpatik seçenekler geniştir. Henüz tüm dünya tarafından kabul edilen klasik bir protokol uygulanmamaktadır. Bazı araştırmacılar hastaların sonucunu veya progresyonu tanımlayabilecek faktörleri saptamaya çalışmışlardır. Hastalığın prognozu belirleyen en önemli faktör olarak hastalığın ortaya çıktığı yaş gibi görünmektedir. Literatürde yapılmış çok sayıda çalışmada 1 ve 2 yaş altında hastalık ortaya çıkan olgularda yaşam süresinin daha uzun olduğu görülmektedir (25,28). Ayrıca geriye dönük olarak yapılan analizler sonucunda yüksek Hb F ve düşük trombosit sayılarının hastalık için kötü sayılabilecek risk faktörleri arasında olduğu ileri sürülmektedir (29).

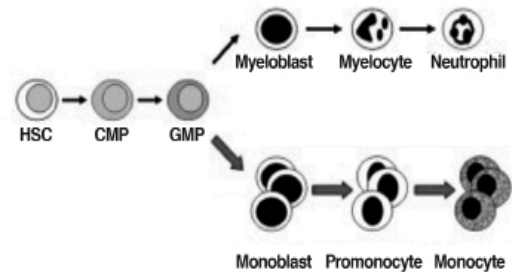
A. Normal Miyeloid Farklılaşma



B. Akut Miyeloid Lösemi



C. Juvenil Miyeloid Lösemi



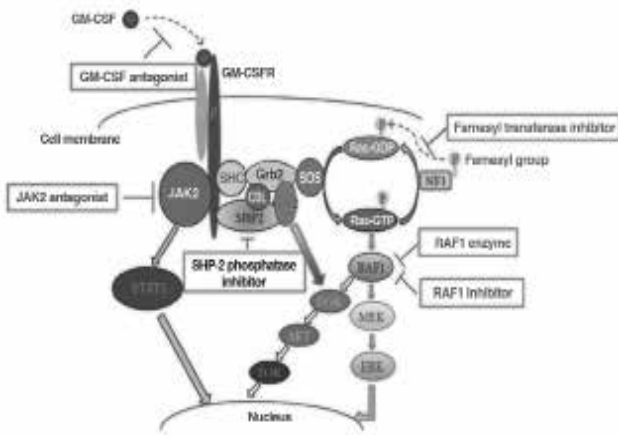
Şekil 2. Normal ve anormal miyeloid proliferasyonlar

Patobiyoloji

JMML'li hastalarda invitro koşullarda yapılan çalışmalarda birbirine benzer yapıda iki farklı anormallik saptanmıştır; bu anormalliklerden birisi eksojen büyüme faktörü olmadan GM-CSF'nin organizma tarafından spontan olarak aşırı üretilmesi ve hipersensitivitesi diğeri de normal hematopoetik progenitörlerin büyümelerinde ki bozulmalardır. Görülen hipersensitivite reaksiyonu oldukça selektiftir. GM-CSF hipersensitivitesi GM-CSF-Reseptör-RAS-RAF-MEK-ERK sinyal iletim yollarının aktivasyonundan kaynaklanır. Olgulardaki periferik kanda ve kemik iliğindeki progenitör hücrelerin sayıca fazlalığı ve hipersensitivitesinin, bu hastalarda spontan hücre büyümesi üzerine, muhtemelen birbirine bağımlı hücreler tarafından oluşturulan büyüme faktörleri ve çok düşük seviyelerdeki sitokinlere bağlı olduğu gösterilmiştir (1,30-33).

Kemik iliği ve periferik kandaki progenitör hücreler arasında ki monositler, kültürden önce ortamdaki uzaklaştırıldığı zaman spontan hücre büyümesinin son bulduğu dikkati çekmektedir (34). Sadece GM-CSF ile yapılan testlerde görülürken G-CSF ve IL-3 gibi miyelopoezin erken evrelerine etki eden büyüme faktörlerinin spontan hücre büyümesine etkisi olmadığı görülmüştür (31). GM-CSF reseptörlerinin moleküller analizi sonucunda reseptör düzeyinde bir anormallik saptanmamıştır (35).

RAS mutasyonu RAS genlerinin somatik nokta mutasyonları sonucunda oluşur ve (NRAS ve KRAS2) JMML'li hastaların yaklaşık %20-30'unda görülmektedir (Kalra ve ark. 1994; Flotho ve ark. 1999). RAS proteini 21 kDa boyutundadır. RAS gen ailesi tarafından kodlanır ve birçok hücre tipinin farklılaşmasında, proliferasyonun kontrolünde ve nükleusa ekstraselüler sinyallerin iletiminde rol oynar (NRAS, kromozom 1p13,2, HRAS, 11p15,5 ve KRAS2, 12p12,1). RAS proteini guanin nükleotidlerine bağlanarak, intrinsik GTP-az aktivitesi gösterir ve büyüme faktör reseptörlerinden efektörlerine sinyalleri aktararak hücresel işlevlerin düzenlenmesinde rol oynar. JMML'de kodon 12, 13 ve 61'deki aminoasit



Şekil 3. Ligand uyarılmasıyla birlikte RAS aktivasyonu, RAS-ERK etkileşimi, PTPN11 Mutasyonu

değişimlerine neden olan NRAS ya da KRAS2 nokta mutasyonları, aktif durumdaki (RAS bağımlı GTP) RAS'ı bloke ederek ve RAS ilişkili GTP-az aktivitesini azaltarak fonksiyonunu bozar. Buna bağlı olarak miyeloid progenitör hücrelerin neoplastik transformasyonu sırasında RAS genlerinde sıklıkla akkiz olarak oluşan nokta mutasyonları sonucunda hücre düzeyinde RAS-GTP düzeylerinde yükselmeye yol açmaktadır. RAS-GTP düzeylerinde ki bu artış hücre membranının da yaygın olarak bulunan sinyal iletim yollarında sürekli olarak aktivasyon oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 3) (2,36). RAS mutasyonuna sahip JMML'li hastaların daha çok ileri yaş grubunda olduğu ve kötü prognozla yakın ilişkili olduğu bulunmuştur (37-44).

Noonan sendromlu (NS) çocuklarda bazen monositoz ve miyeloproliferatif bozukluk gibi seyreden normal olmayan miyeloid proliferasyonlar görülebilir. Bu bozukluklar JMML'deki ile benzer şekilde klinik bir seyir gösterip bazen spontan gerileyebilirken bazen de agresive bir klinik seyir gösterebilir. PTPN11 mutasyonu da Noonan sendromlu olguların yaklaşık olarak %50'sinde görülen kromozom 12q24,1 üzerinde yer alan nonreseptör protein tirozin fosfataz SHP-2 kodlayan sesiz bir mutasyondur. Fosfatazlar genel olarak revers protein-tirozin kinaz aktivitesine sahip olduğu ve hücre proliferasyonunda sinyal azalmasında rolü olduğu düşünülür. PTPN11 genindeki mutasyon SHP2 proteininin fonksiyon kazanmasına sebep olur (Şekil 3). Bu sonuç RAS aktivasyonunun devamına ve bu yol üzerinde GNEFs'in aktivasyonu kazanması ile sonuçlanır (45,46).

SHP-2 bir adet katalitik protein tirozin fosfataz domaini ile bir adet Src homology 2 (SH2) olmak üzere iki adet domain içerir. Bu protein hematopoetik hücrelerde yüksek oranda ekspresse edilir ve sinyaller GM-CSF'yi de içeren hematopoetik büyüme faktörü reseptörleri aracılığıyla RAS yolağına aktarılır. Denovo non sendromik JMML hastalarının yaklaşık %35'de tanımlanan tüm somatik PTPN11 mutasyonları yanlış anlam değişikliklerine neden olmuştur (47). JMML ile ilgili mutasyonlar en sık ekson-3 ve ekson-13 bölgesinde bulunurken Glu76 JMML'de en fazla etkilenen kalıntıdır. Glu76Lys en sık rastlanan değişikliktir. Diğer yönden NS'de bulunan germ line mutasyonlar (%50) PTPN11 boyunca multiple eksonlar da meydana gelebilir. Böylelikle PTPN11 mutasyonlarının hem dağılımı hem de spektrumu NS ve JMML hastalar arasında büyük farklılıklar gösterir (48).

Farelerde kemik iliği hücrelerindeki PTPN11 mutant allelinin transduksiyonu GM-CSF'ye aşırı hassasiyete, sitokin bağımsız miyeloid büyümeye, bünyede Erk ve Akt aktivasyonuna ve miyeloproliferatif bir hastalık fenotipine neden olur (Şekil 3) (49-53).

JMML'li Nörofibrinatözis tip-1'li hastaların immatür hücrelerinde en sık rastlanan bulgu normal NF1 allelinin kayıp edilmesidir. NF1 Proteini GTP-az gibi rol oynayıp RAS-GTP'yi baskılayarak tümör süpresör gibi hareket eder. NF1'li çocukların prelösemik hücrelerinde RAS için 'NF1 like GTP az Activating Protein (GAP)' (NF1 benzeri GTP-az aktive edici protein) aktivitesi seçici olarak azalırken geri kalan hücrelerin normal selüler GAP aktivitesine sahip olduğu

saptanmıştır. Lösemik hücrelerde aynı zamanda GTP'ye bağlı RAS yüzdesinde artış olduğu gösterilmiştir.

Primer JMML hücrelerini içeren çok sayıda ki çalışmalardan elde edilen genetik ve biyokimyasal veriler; JMML gelişen NF1'li çocuk hastalardaki lökomogenesisde RAS deregülasyonunun önemli bir rolü olduğunu gösteren NF1 inaktivasyon hipotezini güçlü bir şekilde desteklemektedir. Bu fikir NF1 yapısı bozulmuş çok sayıda fare ile yapılan çalışma ile desteklenmiştir. NF1 allellerinin radyasyon tedavisi almış fare fetal karaciğer hücrelerine transplantasyonu sonrasında JMML'ye klinik ve patolojik özellikler açısından benzeyen miyeloproliferatif bozukluklar oluşmuştur. İnsanlardan ve farelerden elde edilen bütün bu bilgiler bir araya getirildiği zaman JMML progenitör hücrelerinin anormal büyümesinin RAS sinyal yolundaki regülasyon bozukluğundan kaynaklandığı görülmektedir (42-44).

Malign JMML hücrelerinden salınan farklı birkaç sitokinin JMML'nin büyüme sitümlasyon yolunda ve normal hematopoezin süpresyonunda önemli otokrin ve parakrin etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bapayb ve ark. tarafından JMML hastaların monositlerinden salınan ve diğer normal hücreler üzerine etki ederek büyüme faktörlerinin salınımını artıran IL-1'in fazla miktarda yapıldığını rapor edilmiştir (33). Yakın zamanda yapılan çalışmalarda IL-1 reseptör antagonistlerinin invitro koşullarda JMML'deki proliferasyonu spontan olarak inhibe ettiği görülmüştür (54,55). Ayrıca TNF-ALFA'nın normal hematopoetik progenitör hücrelerde inhibitör rol oynadığı ve JMML'nin klinik özelliklerini taşıyan anemi ve trombositopeniye neden olduğu düşünülmektedir (32). Eritroitserinin hastalığa bağlı etkilenmesi sonucunda matur fakat morfolojik olarak anormal hücrelerin (fetal eritropoez, anormal invitro büyüme özellikleri) varlığı şeklinde kendini gösteren tutulum JMML'nin en sık rastlanan özelliğidir (31,56).

Bir kromozom işaretleyici ile kolonilerinin sitokenetik analizi sonucu eritroid, monositik ve makarofaj hücrelerine farklılaşma yeteneğine sahip erken progenitör hücrelerden JMML geliştiği öne sürülmektedir (57,58). Bu klonal bozukluk sonucunda JMML'de eritroid serinin etkilenmesi, alfa ve gama globülin genleri, eritropoetin reseptör ekspresyonu ve GATA-1 ekspresyon artışı gözlenerek doğrulanmıştır (59). Çok yakın bir zaman önce JMML hastalarında normal NF1 allelinin Burst Forming Unit Erythroid (BFU-E) elde edilen eritroblastlar da kaybı bu hipotezi desteklemektedir (60).

JMML'nin klonal doğası farklı serilerde de gösterilmektedir. Öncelikle az sayıda ki JMML'li hastanın kemik iliğinde sitogenetik markırların varlığı klonaliteyi göstermektedir (57). Bu hastalığa sahip kız hastalarda X kromozomunun inaktivasyonu önemli bir klonal paterni oluşturmaktadır (35).

JMML'li hastalardan elde edilen son derece saf CD34+ ve CD38-erken progenitör hücreler (retikulosit, trombosit, monosit ve granülosit) human androjen receptor assay (HUMARA) ile incelendiğinde klonal kökeni olduğu gösterilebilmiştir. Normal NF1 allelinin kaybı CD34+ unfraksiyone kemik iliği örnekleri de bu görüşü desteklemektedir. JMML'nin kronik ve hızlı progresyon gösteren yani blastik kriz evrelerinin

de aynı klonal kökenli olması muhtemeldir (35,60). Ayrıca NF1 gene mutasyonunu taşıyan bir JMML'li hastanın preB lenfositlerinden elde edilmiş hücre serilerinde normal NF1 allelinin bulunabileceği bildirilmiştir (43).

Çocukluk çağında monozomi 7 ve JMML arasında ilişki kesin değildir. Her iki hastalıkta erken yaşta tanı almakta, erkek çocuklarda daha sık görülmekte, belirgin hepatosplenomegali varlığı, miyelomonositik proliferasyon varlığı, NF1 mutasyon sıklığının artmış olması, kemik iliği nakil olmadan yapılan kemoterapilerle kötü prognoz gibi benzer birkaç klinik özelliği içerir (61). Bunun yanı sıra monozomi-7 mutasyonu olmayan JMML hastalarında Hb F düzeyleri daha yüksek, LAP daha belirgin, cilt bulguları daha şiddetli, bakteriyal enfeksiyon gelişim sıklığı ve lökopeniye yatkınlık daha fazladır. Butcher ve ark. tarafından yapılan çalışmada JMML ve monozomi-7 farklı bozukluklar olduğunu ileri sürmüştür (1,14,62-66).

JMML hastalarının büyük çoğunluğunda tanı sırasında monozomi-7 varlığı bulunmaz iken hastalığın progresyon göstermesi ile birlikte oluşmaktadır. Matsua ve ark. (2006) tarafından FISH metodunu kullanarak yaptıkları çalışma ile başlangıçta normal karyotipe sahip ancak tedavi amacıyla 6-mercaptopurin (6-MP) ile tedavi gören olgularda tedaviden sonra kromozomal anormallikler kazanan bütün JMML'li hastalarda, anormal klonun zaten başlangıçta yaklaşık %5 oranında bütün kemik iliği hücrelerinde var olduğunu göstermişlerdir. Bundan dolayı, bilinen karyotipik analizlerle, tanı sırasında anormal karyotipe sahip küçük bir popülasyonu saptayamadığı ancak bunun sonucunda kromozomal anormalliklerin sıklığını az gibi gösteriliyor olabileceği sonucuna varılmıştır (67).

Yakın zamanda JMML'li hastaların %17'sinde c-CBL mutasyonu tanımlanmıştır. c-CBL bir E3-ubiquitin kinazdır ve tirozin kinaz reseptörlerinin yıkılması ve intraselüler transportundan sorumludur. Fakat aynı zamanda önemli bir adaptör fonksiyona sahiptir. c-CBL tarafından regüle edilen proteinlerden biride Grb2'dir. Bu adaptör molekül c-CBL ve SOS'a c-CBL bağlanmasını önler. c-CBL deki mutasyonlar sonucunda RAS aktivasyonunun devam ettiği gösterilmiştir (68,69).

Başlıca yetişkinlerde görülen Kronik miyelomonositik lösemisinin (KML) juvenil formu KML'de de GM-CSF hipersensitivitesinin bulunduğunu gösterilmiştir. Bununla birlikte JAK-2 mutasyonu KML'li hastaların %3-13'ünde saptanırken, JMML'de bu oran çok daha düşüktür. Fakat bu fark JMML ve KML arasındaki farkın altını çizmektedir. Ayrıca akım sitometri yöntemi kullanılarak GM-CSF'nin konsantrasyonunda ki doygunluktaki düşüklüğe yanıt olarak pSTAT5'in hiperfosforilasyonu saptanmıştır. Bu bulgu JMML'nin patogenezindeki JAK2-STAT5 işbirliği yaptığı rolünü destekler. Fakat JAK-STAT5'in aktivasyonu GM-CSF'ye JMML hücrelerinin anormal yanıtındaki RAS aktivasyonunun upstream olarak oluşması şeklinde görülür (68).

Tedavi

JMML'nin tedavisi konusunda devam eden bir anlaşmazlık söz konusudur. Tedaviye ilk klinik yanıt bazı araştırmacılar tarafından sitopeni düzelmeden lökositozda azalma olacağı

ileri sürülmektedir. Uygulanan ağır ve yoğun tedavilerin yanı sıra hafif orta düzeydeki kemoterapilerin hastaların sağ kalımlarına olan etkisi hala ciddi tartışma ve araştırma konusu olmuş ve olmaktadır (70).

Lilleyman tarafından kullanılan ardışık subkütan cytarabine ve oral merkaptopurine tedavilerini içeren erken terapatik yaklaşımlar hastaların klinik durumlarında belirgin bazı düzeltilmeler sağlamış ancak yaşam süresinde bir değişiklik olmadığı görülmüştür (71). Castro Malaspina ve ark.'nın prednisone alan ve almayan olgularla çok yoğun kemoterapi alan olguları içeren bir çalışmada, farklı tedavi modalitelerinin hastalığın tedavisinde yetersiz olduğu bildirilmiştir (25).

Yapılan büyük seri çalışmalarında araştırmacılar tarafından uygulanan kemoterapi rejimleri ile hastaların mutlaka tam remisyona girmediğini saptanmıştır. JMML'nin splenektomi, radyoterapi yada orta ve yoğun kemoterapi rejimleri ile tedavisinin zor olduğu ve bunun sonucunda çocukluk çağı lösemileri içerisinde JMML'nin kötü bir prognoza sahip olduğu sonucuna varılmıştır (1,25).

JMML hastalarının alt gruplarından elde edilen 10 yıllık deneyimler bu hastaların sadece kemoterapi rejimleri ile uzun dönem sağ kalımlarının elde edileceği yönde bilgilere ulaşılmaktadır. Chan ve ark. tarafından AML gibi yoğun kemoterapi rejimi benzeri tedavi uygulanan 4 hastanın, tedaviye başladıktan 11 ile 21 ay 3'ün relaps olduğu kalan bir hastanın 27 ay tam remisyonda kaldığı görülmüştür. Başka bir çalışmada ise daha az yoğun kemoterapi alan 5 çocuk hastanın hepsi 1-29 aylık süreçte kayıp edilmiştir. Yoğun kemoterapi başlanıp AML gibi tedavi edilen hastalarda 4 ile 8 hafta içerisinde hematolojik remisyona sağlanıp normal hematolojik değerlere ulaşılabilirdiği görülmüştür (72-74).

Kemik iliği nakli olan ya da olmayan 171 JMML hastasını içeren tedavi rejimleri değerlendirildiğinde tedavinin tipi ile hastanın yaşam süresi arasında yeterli bir ilişki saptanmıştır. Yoğun kemoterapi alan 30 hastanın yalnızca %10, yoğun olmayan kemoterapi alan 50 hastanın yalnızca %28'nin (1-307 ay) ortalama 9 aylık takip sonucunda yaşadıkları saptanmıştır. Bunun sonucunda hastaların yaşam olasılıkları değerlendirildiği zaman yoğun kemoterapi uygulanan hastaların hafif yada kemoterapi uygulanmayan hastalara karşı belirgin bir üstünlüğünün olmadığı görülmüştür (1-5).

JMML hastalarının tedavi edilmesindeki bu kötü sonuçlar normal kemoterapi rejimlerine ek olarak yeni kemoterapi rejimleri yanı sıra biyolojik yanıt düzenleyicileri ve sitokinleri içeren alternatif ajanların kullanılmasını gerekli kılmaktadır. Castleberry ve ark.'nın yaptıkları 10 hastayı içeren isotretinoin kullanılan bir çalışmada 2 hastada tam remisyona, 3 hastada parsiyel remisyona, bir hastada minimal cevap alınırken kalan 4 hasta progresif hastalığa gidiş görülmüştür (75).

JMML hücrelerinin interferon alfa'ya karşı artmış olan sensitivitesi nedeniyle CML'nin tedavisi için kullanılan interferonu akla getirmiş ve bazı araştırmacılar tarafından hastalığın juvenil formunda en kısa sürede bu sitokinin kullanılması gerektiğini ileri sürülmüştür (1,25,26,76,77). Ancak hastaların tedavisi için kullanılan yüksek doz (30

milyon ünite/m²) çocuklardaki interferon tedavisi için toksik kabul edilmiş ve hastalığın tedavisinde belirgin düzelme görülmediği için JMML hastalarının interferon ile tedavisi askıya alınmıştır (78).

Tüm tedavi yaklaşımları içerisinde açıkça görülmektedir ki kemik iliği nakli tedavinin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Araştırmacılar tarafından yapılan 16 farklı çalışmada kemik iliği nakli yapılan 91 hastanın 38'nin (%41) hayatta olduğu gösterilmiştir (1-10,79). Hastaların yaşam süreleri karşılaştırıldığı zaman aile içi donör yardımı ile nakil yapılan hastaların yaşam sürelerinin daha uzun olduğu görülmüştür. Uygulanan Agresif sitoredüksiyon veya splenektomi gibi lösemik blastik hücrelerin infiltrasyonunu azaltmak için yapılan çalışmalar bazı hastalarda transplantasyon öncesi komplikasyon riskini azaltırken yapılan bu işlemlerin gerçekte hastaların yaşam süreleri veya transplant sonrası lösemik relaps riskini azaltmak üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (80,81).

Kemik iliği nakli yapılamayan olgularda yeni tedavi edici yaklaşımlar denenmelidir örneğin JMML'de interlökin-1'in (IL-1) oynadığı patojenik rol ve IL-1'in invitro spontan hücre proliferasyonu üzerine inhibe edici etkisi ile reseptör antagonisti kullanılarak deneysel bir tedavi yapılması gerektiğini düşündürmektedir (82). Ayrıca IL-4'ün JMML'de büyüme paterni üzerine olan inhibitör etkisi önemli bir katkı sağlayıp GM-CSF, TNF, IL-1 ile olan sitokin temelli tedavi yaklaşımlarını desteklemektedir (83).

Son zamanlarda IL-10'un JMML'li hastalarda endojen GM-CSF salınımını baskılayarak periferik kandaki mononükleer hücrelerin otonomik büyümesini invitro olarak inhibe ettiği gösterilmiştir. Varılan bu sonuç IL-10'un JMML hastalarının tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir (84).

İnsan GM-CSF analogu olan E21R'nin hücre proliferasyonuna neden olan büyüme faktörünün etkilerini tamamen bloke ettiği görülmüştür. E21R'nin JMML'li hücrelerinin spontan büyümesini inhibe ettiği aynı zaman da in vitro olarak, hücrelerin apoptozisine neden olduğu bulunmuştur. Bu görüş doğrultusunda E21R'nin JMML'nin tedavisinde yeni bir terapatik yaklaşım olarak düşünülmektedir (85). Ancak tedavi için kullanılan GM-CSF E21R molekülünün klinik etkisi kısa süreli olduğu görülmüştür. Tedavinin başlangıç döneminde hem klinik hem de hematolojik düzelme görülürken devam eden tedavi sürecinde hematolojik bulguların yeniden ortaya çıktığı ve ortaya çıkan bulguların tedaviden fayda görmediği saptanmıştır (86,87).

Ayrıca tedavi için farnesil transferaz (farnesyltransferase inhibitors) inhibitörleri ve bifosfanatlar (biphosphonate) spesifik immünoterapi hedefleri için kullanılabilir. RAS'ın farnesil transferaz tarafından posttranslasyonel işlemleri biyolojik fonksiyonları için temel teşkil etmektedir. Onkogenik RAS proteinlerinin farnesillenmeden doku kültür hücrelerinde transforme olmadığına görülmesi FTPaz inhibitörlerinde JMML ve diğer neoplastik bozukluklarda hücre regülasyonunun bozulmasına katkıda bulunarak tedavide yararlı olabileceğini gösterilmiştir. Farnesiltransferaz'ın iki tip inhibitörü; JMML koloni büyümesinin doza bağımlı inhibisyonunu sağlarken

JMML hücrelerinin, normal yetişkin ilik hücrelerine oranla fransiltransferaz inhibitörlerine daha hassas olduklarını saptanmıştır (88,89).

Bifosfanatlar hem geranilasyon hem de farnesilasyonu süprese ederek RAS aktivasyonunun inhibisyonunu sağlama yeteneği yüzünden kemik hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Üçüncü jenerasyon bir bifosfanat olan zoledronik asitte, RAS aktivitesini bloke etmede etkili olduğu gösterilmiştir. Zoledronik asit, doz-bağımlı davranışla, JMML'li hastaların koloni oluşumunu baskıladıkları görülmüştür (90). Ancak zoledronik asitin özellikle ileri evre JMML hastalarında çok faydasının olmadığı görülmüştür (91).

Tedavi seçenekleri ayrıntıları ile incelendiğinde kemik iliği naklinin sağ kalımını etkileyen en önemli tedavi seçeneği olduğu gerçeği görülmektedir. Kemik iliği nakli yapılan JMML'li çocuklardaki tedavi başarısızlığın en sık nedenin nakil sonrası relaps riskinin devam ediyor olması oldukça dikkat çekicidir. Lösemi tekrarının kümülatif sıklığı yaklaşık %30-60 kadardır. Kemik iliği nakli sonrası relaps sıklıkla erken dönemde ortaya çıkar. Bu süre ortalama transplantasyondan sonra 6-12 ay olarak saptanmıştır. Relaps riski için hastaların sahip olduğu anormal karyotip önemli olmakla birlikte, kemik iliği nakli sonrası ileri yaşta önemli bir risk faktörü olarak ortaya çıkmaktadır (90,91).

Sonuç

Juvenil myelomonositik lösemi, pluripotent kök hücre kökenli klonal bir hastalıktır ve çeşitli büyüme faktörlerine karşı aşırı hassasiyeti, bozulmuş RAS sinyal transdüksiyonuna bağlı olduğu bilinmektedir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar bu makale ile ilgili olarak herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

Kaynaklar

1. Arico M, Biondi A, Pui CH. The Journal of The American Society of Hematology. Juvenile Myelomonocytic Leukemia. Blood 1997; 90: 479-88.
2. EWOG-MDS. Clinical Trial Protocol EWOG-MDS 2006. Prospective non-randomized multi-center study for epidemiology and characterization of Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Juvenile Myelomonocytic Leukemia (JMML) in childhood. 2007.
3. Chan RJ, Cooper T, Kratz CP, Weiss B, Loh ML. Juvenile myelomonocytic leukemia: a report from the 2nd International JMML Symposium. Leuk Res 2009; 33: 355-62.
4. Bergstraesser E, Hasle H, Rogge T, Fischer A, Zimmermann M. Non-hematopoietic stem cell transplantation treatment of juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis and definition of response criteria. Pediatric Blood & Cancer 2007; 49: 629-33.
5. Eisenberg AA, Wallerstein H. Chronic myelosis in children. J Lab Clin Med 1934; 19: 713-14.
6. Cooke JV. Chronic myelogenous leukemia in children. J Pediatr 1953; 42: 537-40.
7. de Vries AC, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink MM. Haematologica 2010;95: 179-82.
8. Reisman LE, Trujillo JM: Chronic granulocytic leukemia of childhood. Clinical and cytogenetic studies. J Pediatr 1963; 62: 710-12.
9. Weatherall DJ, Edwards JA, Donohoe WTA. Hemoglobin and red cell enzymes changes in juvenile myeloid leukemia. BMJ 1968; 1: 676-78.
10. Hardisty RM, Speed DE, Till M. Granulocytic leukemia in childhood. Br J Haematol 1964; 10: 551-3.
11. Cao A. Juvenile chronic myeloid leukemia. Lancet 1970; 1: 1002-3.
12. Maurer HS, Vida LN, Honig GR. Similarities of the erythrocytes in Juvenile Chronic Myelogenous Leukemia to fetal erythropoiesis. Blood 1972; 39: 778-81.
13. Weatherall DJ, Clegg JB, Wood WG. Foetal erythropoiesis in human leukemia. Nature 1975; 257: 710-3.
14. Niemeyer CM, Arico M, Basso G, Biondi A. Chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a retrospective analysis of 110 cases. European Working Group on myelodysplastic syndromes in childhood (EWOG-MDS). Blood 1997; 89: 3534-43.
15. Niemeyer CM, Fenu S, Hasle H, Mann G. Differentiating juvenile myelomonocytic leukemia from infectious disease. Blood 1998; 91: 365-7.
16. Luna-Fineman S, Shannon KM, Atwater SK, Davis J, Masterson M, Ortega J. Myelodysplastic and Myeloproliferative disorders of childhood: a study of 167 patients. Blood 1999; 93: 459-66.
17. Hasle H. Myelodysplastic syndromes in childhood-Classification, epidemiology, and treatment. Leuk Lymphoma 1994;13:11-3.
18. Hasle H, Jacobsen BB, Pedersen NT. Myelodysplastic syndromes in childhood. A population based study of nine cases. Br J Haematol 1992; 81: 495-7.
19. Royer B, Blondet C, Guillard J. Xantholeucemie du nourisson et neurofibromatose de Recklinghausen. Ann Pediatr 1958; 5: 260-65.
20. Bader JL, Miller RW. Neurofibromatosis and childhood leukemia. J Pediatr 1978; 92: 925-9.
21. Stiller CA, Chessels JM. Neurofibromatosis and childhood leukemia/lymphoma: A population-based UKCCSG study. Br J Cancer 1994; 70: 969-72.
22. Puchkova GP, Prigogina EL, Fleishmann EV. Chromosome abnormalities in chronic myeloid leukemia in children. Hum Genet 1983; 64: 257-60.
23. Ghione F, Mecucci C, Symann M, Michaux JL. Cytogenetic investigations in childhood chronic myelocytic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1986;20:317-20.
24. Brodeur GM, Dow LW, Williams DL. Cytogenetic features of juvenile chronic myelogenous leukemia. Blood 1979; 53: 812-17.
25. Castro-Malaspina H, Schaison G, Passe S, Pasquier A, Berger R. Subacute and chronic myelomonocytic leukemia in children. Clinical and hematologic observations, and identification of prognostic factors. Cancer 1984; 54: 675-82.
26. Owen G, Lewis IJ, Morgan M, Robinson A, Stevens RF. Prognostic factors in juvenile chronic granulocytic leukemia. Br J Cancer 1992; 66: 68-74.
27. Lau RC, Squire J, Brisson L, Kamel-Reid S, Grunberger T. Lymphoid blast crisis of B-lineage phenotype with monosomy 7 in a patient with juvenile chronic myelogenous leukemia. Leukemia 1994; 8: 903-08.
28. Passmore SJ, Hann IM, Stiller CA, Ramani P. Pediatric myelodysplasia: A study of 68 children and a new prognostic scoring system. Blood 1995; 85: 1742-48.
29. Arico M, Bossi G, Schiro R, Galimberti M, Longoni D. Juvenile chronic myelogenous leukemia: Report of the Italian Registry. Hematologica 1993; 78: 264-70.
30. Suda T, Miura H, Mizoguchi H. Characterization of hemopoietic precursor cells in juvenile-type chronic myelocytic leukemia. Leuk Res 1982; 6: 43-53.

31. Emanuel P, Bates LJ, Castleberry RP, Gualtieri RJ. Selective hypersensitivity to granulocyte macrophage colony stimulating factor by juvenile chronic myeloid leukemia hemopoietic progenitors. *Blood* 1991; 77: 925-31.
32. Freedman M, Cohen A, Grunberger T, Bunin N. Central role of tumor necrosis factor, GM-CSF, and interleukin-1 in the pathogenesis of juvenile chronic myelogenous leukemia. *Br J Haematol* 1992; 80: 40-48.
33. Bagby GC, Dinarello CA, Neerhout RC. Interleukin 1-dependent paracrine granulopoiesis in chronic granulocytic leukemia of the juvenile type. *J Clin Invest* 1988; 82: 1430-35.
34. Emanuel PD, Bates LJ, Zu S-W, Castleberry R, Gualtieri RJ, Zuckerman KS. The role of monocyte-derived hemopoietic growth factors in the regulation of myeloproliferation in juvenile chronic myelogenous leukemia. *Exp Hematol* 1991; 19: 1017-25.
35. Busque L, Gilliland DG, Prchal JT, Sieff CA. Clonality in Juvenile chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1995; 85: 21-7.
36. Flotho C, Valcamonica S, Mach-Pascual S, Schmahl G, Corral L, Ritterbach J, Hasle H, Aricò M, Biondi A, Niemeyer CM. RAS mutations and clonality analysis in children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 1988; 13: 32-7.
37. Lanfrancone L, Pelicci G, Brizzi MF, Arouica MG. Overexpression of the Shc proteins potentiates the proliferative response to the granulocyte macrophage colony-stimulating factor and recruitment of Grb2/SoS and Grb2/p140 complexes to the B receptor subunit. *Oncogene* 1995; 10: 907-15.
38. Hirsch-Ginberg C, LeMaistre AC, Kantarjian H. RAS mutations are rare events in Philadelphia chromosome-negative/bcr gene rearrangement-negative chronic myelogenous leukemia, but are prevalent in chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 1990; 76: 1214-22.
39. Tien H, Wang C-H, Chuang S-M, Chow J-M, Lee F-Y. Cytogenetic studies, ras mutation and clinical characteristics in primary myelodysplastic syndrome. A study of 68 Chinese patients in Taiwan. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 74: 40-7.
40. Kalra R, Paderanga DC, Olson K. Genetic analysis is consistent with the hypothesis that NF1 limits myeloid cell growth through p21ras. *Blood* 1994; 84: 3435-42.
41. Shannon KM, O'Connell P, Martin G, Paderanga D. Loss of the normal NF1 allele from the bone marrow of children with type 1 neurofibromatosis and malignant myeloid disorders. *N Engl J Med* 1994; 330: 597-65.
42. Bollag G, Clapp DW, Shih S, Adler F, Zhang YY. Loss of NF1 results in activation of the Ras signaling pathway and leads to aberrant growth in hematopoietic cells. *Nat Genet* 1996; 12: 144-52.
43. Largaespada DA, Brannan CI. NF1 deficiency causes Ras-mediated granulocyte/macrophage colony stimulating factor hypersensitivity and chronic myeloid leukemia. *Nat Genet* 1996; 12: 137-45.
44. Jack T, Shih S, Schmitt EM, Bronson RT, Bernards A, Weinberg RA. Tumorigenic and development consequences of a targeted nf1 in the mouse. *Nat Genet* 1994; 7: 353-62.
45. Tartaglia M, Mehler EL, Goldberg R. Mutations in PTPN11, encoding the protein tyrosine phosphatase SHP-2, cause Noonan syndrome. *Nature Genetics* 1992; 29: 465-8.
46. Bader-Meunier B, Tchernia G, Mielot F, Fontaine JL. Occurrence of myeloproliferative disorder in patients with Noonan syndrome. *Journal of Pediatrics* 1997; 130: 885-9.
47. Tartaglia M, Niemeyer CM, Fragale A, Song X, Buechner J. Somatic mutations in PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia, myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Nature Genetics* 2003; 34: 148-50.
48. Kratz CP, Niemeyer CM, Castleberry RP, Cetin M. The mutational spectrum of PTPN11 in juvenile myelomonocytic leukemia and Noonan syndrome/myeloproliferative disease. *Blood* 2005; 106: 2183-5.
49. Chan RJ, Leedy MB, Munugalavada V, Voorhorst CS. Human somatic PTPN11 mutations induce hematopoietic-cell hypersensitivity to granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood* 2005; 105: 3737-42.
50. Mohi MG, Williams IR, Dearolf CR, Chan G, Kutok JL, Cohen S. Prognostic, therapeutic, and mechanistic implications of a mouse model of leukemia evoked by Shp2 (PTPN11) mutations. *Cancer Cell* 2005; 7: 179-91.
51. Schubbert S, Lieu K, Rowe SL, Lee CM, Li X. Functional analysis of leukemia-associated PTPN11 mutations in primary hematopoietic cells. *Blood* 2005; 106: 311-7.
52. Chan RJ, Feng GS. PTPN11 is the first identified protooncogene that encodes a tyrosine phosphatase. *Blood* 2007; 109: 862-7.
53. Quelle FW, Sato N, Witthuhn BA, Inhorn RC. JAK2 associates with the beta chain of the receptor for granulocyte-macrophage colony stimulating factor, and its activation requires the membrane-proximal region. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 4335-40.
54. Schiro R, Longoni D, Rossi V, Maglia O. Suppression of juvenile chronic myelogenous leukemia colony growth factor by interleukin-1 receptor antagonist. *Blood* 1994; 83: 460-7.
55. Papayannopolou T, Nakamoto B, Anagnou NP, Chui D. Expression of embryonic globins by erythroid cells in juvenile chronic myelocytic leukemia. *Blood* 1991; 77: 2569-77.
56. Amenomori T, Tomonaga M, Yoshida Y, Kuriyama K. Cytogenetic evidence for partially committed myeloid progenitor cell origin of chronic myelomonocytic leukemia and juvenile chronic myeloid leukemia: Both granulocyte-macrophage precursors and erythroid precursors carry identical markers. *Br J Haematol* 1986; 64: 539-45.
57. Inoue S, Shibata T, Ravindranath Y. Clonal origin of erythroid cells in juvenile chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1987; 69: 975-82.
58. Privitera E, Schiro R, Longoni D, Ronchi A, Rambaldi A. Constitutive expression of GATA-1, EPOR, alpha-globin, and gamma-globin genes in myeloid clonogenic cells from juvenile chronic myelocytic leukemia. *Blood* 1995; 86: 323-30.
59. Miles DK, Feedman MH, Stephens K, Pallavicini M. Pattern of hematopoietic lineage involvement in children with neurofibromatosis, type 1 and malignant myeloid disorders. *Blood* 1996; 88: 4314-21.
60. Lapidot T, Gruneberger T, Vormoor J, Estrov Z, Kollet O, Bunin N. Identification of human juvenile chronic myelogenous leukemic stem cells capable of initiating the disease in primary and secondary SCID mice. *Blood* 1996; 88: 2655-71.
61. Hutter SJ, Hecht F, Kaiser-McCaw B, Hays T. Bone marrow monosomy 7: Hematologic and clinical manifestations in childhood and adolescence. *Hematol Oncol* 1984; 2: 5-12.
62. Freedman M, Estrov Z. Juvenile chronic myelogenous leukemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1998; 10: 261-73.
63. Gadner H, Haas OA. Experience in pediatric myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol North Am* 1992; 6: 655-72.
64. Luna-Finemann S, Shannon K, Ortega J, Steinhartz P. De novo childhood preleukemic conditions: Preliminary data from a retrospective study of 172 cases. *Blood* 1995; 86: 51-63.
65. Le Beau MM, Davis EM, Eisenbart JD, Larson RA, Green ED. Cytogenetic and Molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases. *Blood* 1996; 88: 1930-35.

66. Matsuda K, Matsuzaki S, Miki J, Hidaka E, Yanagisawa R. Chromosomal change during 6-mercaptopurine (6-MP) therapy in juvenile myelomonocytic leukemia: the growth of a 6-MP-refractory clone that already exists at onset. *Leukemia* 2006; 20: 485-90.
67. Morerio C, Acquila M, Rosanda C, Rapella A. HCMOGT-1 is a novel fusion partner to PDGFRB in juvenile myelomonocytic leukemia with t(5;17)(q33;p11.2). *Cancer Research* 2004; 64: 2649-51.
68. Loh ML, Sakai DS, Flotho C, Kang M, Fliegau M, Archambeault S. Mutations in CBL occur frequently in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 2009; 114: 1859-63.
69. Schmidt MH, Dikic I. The Cbl interactome and its functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6: 907-18.
70. Lillemann JS, Harrison JF, Black JA. Treatment of juvenile chronic myeloid leukemia with sequential subcutaneous cytarabine and oral mercaptopurine. *Blood* 1977; 49: 559-62.
71. Chan H, Estrov Z, Weitzman S, Freedman MH. The value of intensive combination chemotherapy for juvenile chronic myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 1987; 5: 1960-5.
72. Festa R, Shende A, Lanzkowski P. Juvenile chronic myelocytic leukemia: Experience with intensive chemotherapy. *Med Pediatr Oncol* 1990; 18: 311-6.
73. Hasle H, Kerndrup G, Yssing M. Intensive chemotherapy in childhood myelodysplastic syndrome. A comparison with results in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996; 10: 1269-76.
74. Castleberry RP, Emanuel PD, Zuckerman KS, Cohn S. A pilot study of isotretinoin in the treatment of juvenile chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1994; 331: 1680-7.
75. Estrov Z, Grunberger T, Chan H, Freedman M. Juvenile chronic myelogenous leukemia: Characterization of the disease using cell cultures. *Blood* 1986; 67: 1382-7.
76. Talpaz M, Kantarjian HM, McCredie K. Hematologic remission and cytogenetic improvement induced by recombinant human interferon alpha in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1986; 314: 1065-75.
77. Maybee D, Dubow Krischer J, Buchnan G. Unusual toxicity of high dose alpha interferon in the treatment of juvenile chronic myelogenous leukemia. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1992; 1: 285-91.
78. Locatelli F, Niemeyer C, Angelucci E, BenderGotze C. Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelomonocytic leukemia in childhood: a report from the European Working Group on myelodysplastic Syndrome in Childhood (EWOG-MDS). *J Clin Oncol* 1997; 15: 556-61.
79. Locatelli F, Pession A, Bonetti F, Maserati E, Prete L. Busulfan cyclophosphamide and melphalan as conditioning regimen for bone marrow transplantation in children with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1994; 8: 844-7.
80. Rubie H, Attal M, Demur C, Brousset P, Duchayne E. Intensified conditioning regimen with busulfan followed by allogeneic BMT in children with myelo-dysplasia. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13: 759-65.
81. Schiro R, Longoni D, Rossi V, Maglia O. Suppression of juvenile chronic myelogenous leukemia colony growth factor by interleukin-1 receptor antagonist. *Blood* 1994; 83: 460-7.
82. Akashi K. The role of interleukin-4 in the negative regulation of leukemia cell growth. *Leuk Lymphoma* 1993; 9: 205-10.
83. Geissler K, Ohler L, Fodinger M, Virgolini I, Leimer M. Interleukin 10 inhibits growth and granulocyte macrophage colony stimulating factor production in chronic myelomonocytic leukemia cells. *J Exp Med* 1996; 184: 1-11.
84. Iversen P, Rodwell RL, Pitcher L, Taylor KM. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in juvenile myelomonocytic leukemic cells by the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor analogue E21R. *Blood* 1996; 86: 2634-43.
85. Iversen PO, Lewis ID, Turczynowicz S, Hasle H. Inhibition of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor prevents dissemination and induces remission of juvenile myelomonocytic leukemia in engrafted immunodeficient mice. *Blood* 1997; 90: 4910-7.
86. Bernard F, Thomas C, Emile JF, Hercus T. Transient hematologic and clinical effect of E21R in a child with end-stage juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 2002; 99: 2615-6.
87. Emanuel PD, Snyder RC, Wiley T, Gopuram B. Inhibition of juvenile myelomonocytic leukemia cell growth in vitro by farnesyltransferase inhibitors. *Blood* 2000; 95: 639-45.
88. Castleberry RP, Loh ML, Jayaprakash N, Peterson A, Casey V. Phase II Window Study of the Farnesyltransferase Inhibitor R115777 in Untreated Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Blood* 2005; 106: 727-35.
89. Ohtsuka Y, Manabe A, Kawasaki H, Hasegawa D, Zaike Y, Watanabe S. RAS blocking bisphosphonate zoledronic acid inhibits the abnormal proliferation and differentiation of juvenile myelomonocytic leukemia cells in vitro. *Blood* 2005; 106: 3134-41.
90. Shimada H, Shima H, Shimasaki N, Yoshihara H. Little response to zoledronic acid in a child of juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) harboring the PTPN11 mutation. *Annals of Oncology* 2005; 16: 1400-16.
91. Locatelli F, Nollke P, Zecca M, Korthof E, Lanino E, Peters C, Pession A, Kabisch H. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. *Blood* 2005; 105: 410-9.