

# A „3q21q26-szindróma” azonosítása sokpontos interfázis-FISH vizsgálattal gyermekkori myeloid leukaemiában

Haltrich Irén,<sup>1</sup> Maria Kost-Alimova,<sup>2</sup> Kovács Gábor,<sup>1</sup> Kriván Gergely,<sup>3</sup>  
Dobos Matild,<sup>1</sup> Stefan Imreh,<sup>2</sup> Fekete György<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II.sz Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest,

<sup>2</sup>Mikrobiológiai és Tumorbiológiai Központ, Karolinska Intézet, Stockholm, Svédország,

<sup>3</sup>Szent László Kórház, Budapest

A 3-as kromoszóma hosszú karjának 3q21 és 3q26 töréspontokat érintő átrendeződéseit „3q21q26-szindrómaként” ismeri a szakirodalom. A kórképet felnőtt akut myeloid leukaemiában (AML), krónikus myeloid leukaemia (CML) megakaryoblastos fázisában, myelodysplasiás szindrómában (MDS), illetve myeloproliferatív betegségekben azonosították. Jelen tanulmányunkban két gyermekkori esetet ismertetünk. A csontvelői sejteket hagyományos citogenetikai, interfázis „sokpontos” fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH), dual color-FISH és multicolor-FISH technikával vizsgáltuk. A sokpontos FISH-vizsgálat mindkét esetben 3-as inverziót, a CML-es esetben 3q-duplikációt is azonosított. A szindrómára jellemző normális vagy emelkedett thrombocytaszám mellett a mikromegakaryocytosis, mindhárom sejtvonal (vörösvérsejt, granulocyta/monocyta, thrombocyta) érintettsége és a konvencionális kemoterápiás kezelésre megszokott válasz hiánya. A 3q21q26-szindróma gyermekkorban alig ismert, 3q-inverzió és -duplikáció együttes előfordulásával a szakirodalomban nem talákoztunk. A szerzők hangsúlyozzák a hagyományos és modern citogenetikai vizsgálatok fontosságát a hematológiai malignitásokban, mert ezek a módszerek az esetek nagy részében olyan többletinformációt adnak, mely a betegség diagnózisa, pontos besorolása, prognózisa szempontjából fontos lehet. *Magyar Onkológia* 49:141–147, 2005

Cytogenetic syndrome involving bands 3q21 and 3q26, known as “3q21q26 syndrome” has been observed in adult patients with acute myelogenous leukemia (0,5-2%), chronic myelogenous leukemia in blast crisis (20%), myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders. In the present study bone marrow samples from two boys (12 and 16 years), diagnosed with CML and AML respectively, were investigated using conventional cytogenetic methods, interphase “multipoint” fluorescence in situ hybridization (FISH), dual color-FISH and multiplex FISH. The “multipoint” FISH analysis identified in de novo childhood AML case an inv(3)(q21q26) and a complex 3q rearrangement including inversion and duplication in the CML case. The “3q21q26 syndrome” is associated with normal or elevated platelet counts with marked abnormalities of megakaryocytopoiesis, involvement of multiple hematopoietic lineages. The affected patients were resistant to conventional chemotherapy and had a short survival. This syndrome is very rare in de novo childhood AML, and simultaneous presence of 3q inversion and duplication, to our knowledge, has not yet been identified in hematological malignancies. The results of our study underline the importance of classical and modern cytogenetic analysis in the diagnosis of hematological malignancies, because in the majority of cases they can provide additional diagnostic information for the clinicians in deciding the best therapeutic approach, precise classification and prognosis of the disease. *Haltrich I, Kost-Alimova M, Kovács G, Kriván G, Dobos M, Imreh S, Fekete G. Identification of 3q21q26 syndrome by „multipoint” interphase FISH analyses in childhood myeloid leukemia. Hungarian Oncology* 49:141–147, 2005



Közlésre érkezett: 2005. március 4.  
Elfogadva: 2005. március 31.

Levelezési cím: Dr. Haltrich Irén, SE II. sz Gyermekgyógyászati Klinika, 1094 Budapest Tűzoltó utca 5-7. Telefon: 1-213-1580, Fax: 1-217-5770, E-mail: Haltrich@gyer2.sote.hu

A jelen közlemény a Swedish Cancer Foundation, Swedish Medical Research Council, Cancer Society és a Svéd Intézet Ösztöndíj támogatásával készült.

## Bevezetés

A hármas kromoszóma hosszú karjának szerkezeti rendellenességeit és a humán leukaemia közötti összefüggéseket már a 70-es években, szinte a sávozási technikák bevezetésével egyidőben azonosították a különböző citogenetikai laboratóriumokban. Hamar felismerték, hogy a 3q-átrendeződések jellegzetes klinikai tünetekkel társulnak, és általában rossz prognózisúak. Normális vagy emelkedett thrombocytaszám mellett rendszerint kóros morfológiájú megakaryocyták láthatók. A betegek a kemoterápiára rosszul vagy egyáltalán nem reagálnak. A citogenetikai vizsgálat 3q21 és 3q26 töréspontokat érintő paracentrikus inverziót, inv(3)(q21;q26) vagy reciprok transzlokációt, t(3;3)(q21;q26) igazol, de más 3q kart érintő szerkezeti rendellenesség is előfordulhat. Ez a jellegzetes tünetcsoport „3q21q26-szindrómaként” ismert a citogenetikai szakirodalomban. A kórképet felnőtt akut myeloid leukaemia (AML) valamennyi FAB szubtypusában (legritkábban AML-M3-ban), myelodysplasiás szindrómában (MDS), illetve krónikus myeloid leukaemia (CML) megakaryoblastos fázisában azonosították. A szindróma incidenciája felnőttkori leukaemiában átlagosan 2%. Leggyakoribb az MDS talaján kialakuló, korábbi kemoterápiával összefüggő szekunder leukaemiában. A 3q21q26-szindróma gyermekkori előfordulása alacsony, a Mitelman adatbázis (18) 317 esetéből mindössze öt gyermekkori eredetű. Klinikánkon 2 esetben, egy AML-ben és egy CML-ben szenvedő gyermekben azonosítottuk a szindrómát. Rendkívül rossz prognosztikai hatása miatt a szindróma felismerése alapvetően fontos, és segítséget jelenthet a klinikus számára a megfelelő terápia megválasztásában, valamint a transzplantáció időbeni megtervezésében.

## Betegek

### Esetismertetés 1

2003 júniusában torokgyulladást követően egy 12 éves fiúgyermek jelentkezett kivizsgálásra klinikánkon. Véréképében 73,3 G/l-es fehérvérsejtszámot (1% blast, 3% promyelocytá, 29% myelocytá, 8% stáb, 16% szegment, 2% eozinofil, 9% lymphocytá sejttípussal), 102,7 g/l hemoglobint, 215 G/l thrombocytaszámot találtunk. Csontvelőkenetében 37% blastot észleltünk, háttérbe szorult erythropoesissal. A flow cytometriás immuntipizálás alapján 2 populáció volt elkülöníthető: 1. lymphocytá-blast méretű sejtek, magas arányú CD19<sup>+</sup> sejtekkel, melyek csaknem valamennyien CD34 és CD10 antigént is expresszáltak; 2. egy nagyobb méretű és más strukturájú sejtekből álló populáció, CD13<sup>-</sup>, CD33<sup>-</sup>, CD14<sup>-</sup> pozitívással. A CD33<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup> korai myeloid sejtek magas %-os aránya mellett CD19<sup>+</sup>/CD33<sup>+</sup> kóros immunfenotípusú sejtek jelenléte volt kimutatható. A megakaryocyták kissé felszaporodtak, polimorfak, köztük sok mikro- és hipolobulált alakkal (micromegakaryocyták). A real-time kvantitatív reverz transzkripció polimeráz lán-

reakción (RT-PCR) alapuló vizsgálat Philadelphia (Ph) kromoszóma jelenlétét igazolta. Az RT-PCR a BCR-ABL fúziós génre a minor töréspontot mutatta ki. A hagyományos citogenetikai vizsgálat a Ph kromoszóma variáns transzlokációja mellett egy ugráló szegment-transzlokációt (SJT-segmental jumping translocation) és a 3q szerkezeti rendellenességét is feltárta. A morfológiai, immunhisztokémiai, áramlásos citometriai, citogenetikai és molekuláris genetikai eredmények, valamint a klinikai paraméterek alapján a betegséget CML blastos fázisaként diagnosztizáltuk.

Citoredukciós kezelését hydroxycarbamide adagolással kezdtük meg, mely hatására a fehérvérsejtszám csökkent. Mivel egy hónappal később a fehérvérsejtszám ismét emelkedni kezdett, imatinib kezelést indítottunk el. Figyelembe véve a rossz prognosztikai jegyeket és a betegség agresszív lefolyását, haladéktalan donorkeresést kezdeményeztünk. 2003 októberében HLA-identikus testvérdonorával allogén őssejtátültetést (SCT) végeztünk. A többször ismételt kiméra, citogenetikai és molekuláris genetikai vizsgálatok teljes donor típusú kimérizmust, hematológiai és citogenetikai remissziót mutattak ki. A betegnél súlyos, IV-es fokozatú akut graft betegség (GVHD) fejlődött ki, és az agresszív immun-suppresszív kezelés ellenére a beteget öt hónap múlva elvesztettük.

### Esetismertetés 2

16 éves fiúgyermeket testszerte jelentkező lymphadenopathia, hőemelkedés és gyengeség miatt utalták be klinikánkra. Véréképében 53,1 G/l fehérvérsejtszámot (3% promyelocytá, 10% myelocytá, 9% jugend, 5% stáb, 3% szegment, 10% lymphocytá, 45% atípusos, 14% erythroid sejt), 101 g/l hemoglobint, 130 G/l thrombocytaszámot találtunk. Az immunfenotípus-vizsgálat CD33<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD7<sup>+</sup> kóros myeloid sejtpopulációt igazolt (85% HLA-DR<sup>+</sup>, 56% CD34/HLA-DR<sup>++</sup>, 51% CD7/CD33<sup>++</sup> sejt). A csontvelőkenet dysplasiás erythro- és myelopoesist mutatott, a blastok többsége myelocytá nagyságú volt, elvéve 1-1 Auerpálcával. A normális granulopoesis erősen visszatorzult. A megakaryocyták diffúzan mérsékelten felszaporodtak, szinte kizárólag hipolobulált magvú diszplasztikus alakok, micromegakaryocyták voltak azonosíthatók. A standard csontvelő-citogenetikai elemzés 7-es monoszómia mellett a 3-as hosszú kar szerkezeti rendellenességét azonosította. Az RT-PCR-vizsgálat BCR-ABL-negativitást mutatott. A betegséget myelodysplasia talaján kialakult akut myeloid leukaemiaként diagnosztizáltuk. A citosztatikus kezelést az AML-BFM-93 protokollnak megfelelően kezdtük el. E kemoterápiás kezelés mellett az alapbetegség progressziója jelentkezett, ezért kezelését ICE (Idarubicin, Cytosar, Etoposide), HAM (Cytosar, Mitoxantron) blokkokkal, később Cytosar, Lastet, illetve Litalir terápiával folytattuk. A fenti kezeléseket mellett részleges remissziót sem sikerült elérni. Megfelelő donor hiányában az őssejt-transzplantáció nem volt lehetséges. Az elhúzódó fertőzések, a kemoterápiára nem

reagáló alapbetegség progressziója következtében a beteget a diagnózis után egy évvel elveszítettük.

## Vizsgálati módszerek

### Hagyományos citogenetika

A diagnózis idején 24 órás, rövid idejű spontán tenyésztést végeztünk a csontvelői sejtekből standard technikával. Giemsa-Tripszin-Giemsa (GTG) sávozás után a kariotípust a nemzetközileg elfogadott ISCN 1995-ös nomenklátúra alapján írtuk le (19), 30 metafázist értékeltünk.

### FISH tanulmányok

A 3-as kromoszóma FISH-vizsgálatát  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tárolt fixált sejtszuspenzióból végeztük el egy későbbi időpontban a Stockholmi Karolinska Intézetben. A 3q kar rendellenességeinek vizsgálatához, a töréspontok azonosításához összesen 25 FISH-próbát használtunk, melyek az egész hosszú kart befedték („sokpontos” interfázis in situ hibridizáció vagy I-FISH) (2. ábra). A próbákat az USA-ból, a BACPAC Resources Center at the Children's Hospital Oakland Research Institute nevű kutatóközpontból szereztük be, és a National Center for Biotechnology Information (NCBI) fizikai és genetikai térképezésének megfelelően a számítógépes honlap (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/human>) felhasználásával választottuk ki. A próbákat biotin-dUTP (Bionick labeling system, BRL) és digoxigenin-dUTP (DIG-Nick translation mix, Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany) gyári kitékkel jelöltük. A biotinnal jelölt próbákat Cy3-konjugált sztreptavidinnel (Amersham Biosciences UK Limited, Little Chalfont, UK), a digoxigeninnel jelölt próbákat FITC-konjugált anti-digoxigenin (Roche Molecular Biochemicals) ellenanyaggal detektáltuk. A 3-as kromoszóma esetleges számbeli eltéréseit Spectrum Red CEP3  $\alpha$ -szatellita FISH (Vysis, Abbot GmbH and Company, KG, Germany) próbával ellenőriztük. A diagnózis idején a csontvelő citogenetikai sejtszuspenziójából FISH-vizsgálatot végeztünk még 9;22-es transzlokációra specifikus BCR-ABL dual-color fúziós próbával (Vysis, Abbot GmbH and Company) a CML-es betegünkönél, illetve a Spectrum Red CEP7  $\alpha$ -szatellita FISH próbával is azonosítottuk a 7-es monoszómiát az AML-es betegünk esetében. Az eredményeket Hamamatsu C 4800 CCD kamerával (Herrsching, Germany) felszerelt fluoreszcens mikroszkóppal (Leitz-DMRB, Leica, Heidelberg) értékeltük. A FISH-képeket Photoshop 7.0 (Adobe Systems) szoftverrel dolgoztuk fel. A FISH-jeleket 200 interfázisos sejt-magban számoltuk meg. Multicolor-FISH-vizsgálatot a CML-es betegünk szekunder rendellenességeinek azonosításához végeztünk  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tárolt, fixált sejtszuspenzióból, a Spectra Vision Assay (Vysis, Inc., Downers Grove, IL) protokollnak megfelelően. Az eredményeket Genus (Applied Imaging Corporation, Santa Clara, CA) szoftver segítségével dolgoztuk fel.

## A genetikai vizsgálatok eredményei

### Hagyományos citogenetika, dual-color és multicolor FISH eredmények

A CML-es betegünk standard G-sáv- és modern citogenetikai vizsgálatai mozaikszerű eredményeinek összerakásából 4 kóros klón jelenléte igazolódott (1. ábra, A):

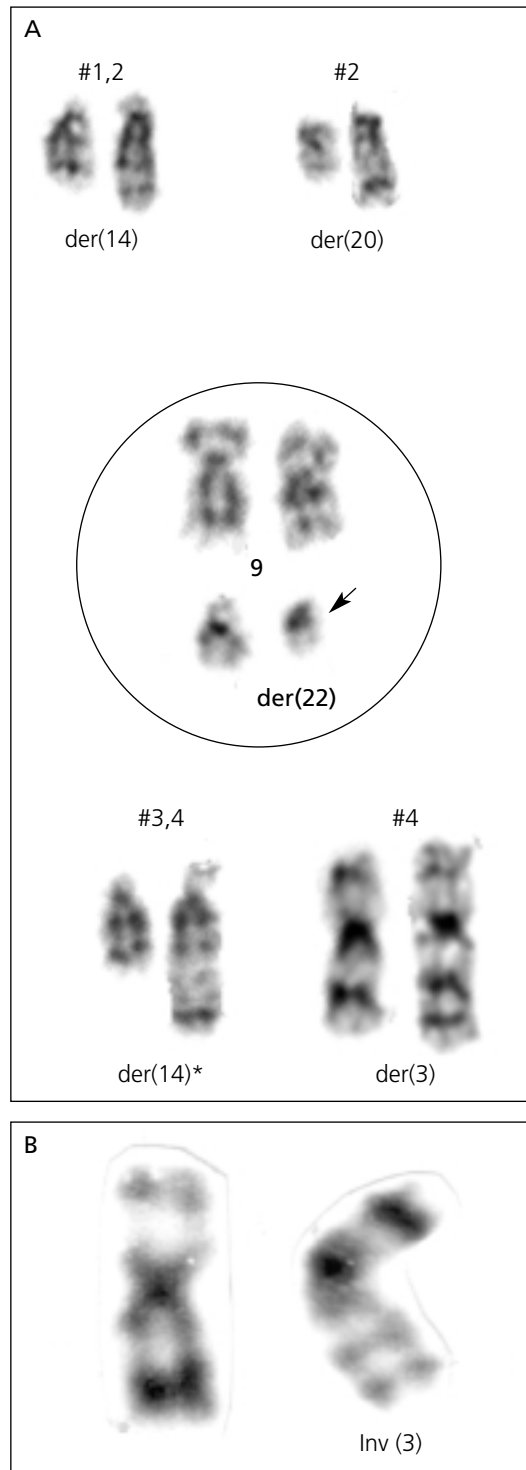
#1: 46, XY, t(9;14;22)(q34;q32;q11);

#2: 46, idem, der(20)t(17;20)(q11;q13);

#3: 46, XY,

der(14)t(9;14;22)(q34;q32;q11)t(17;22)(q11;q13);

#4: 46, idem, der(3)dup(3;3)(q?;q?).



1. ábra.

A 3q21q26-szindrómás esetek részleges kariotípusa.

A. CML-es beteg komplex variáns transzlokációjából és szekunder rendellenességeiből származó aberráns kromoszómák. Középen látható körben valamenyi metafázisban azonosított der(22), Philadelphia-kromoszóma és a normális G-sáv-mintázatú 9-es kromoszóma, alatta és fölötté a 4 különböző klónra jellemző derivátum kromoszómák láthatók.

B. Az AML-es beteg G-sávós 3-as kromoszómája

2. ábra. A hármaskromoszóma „multipoint“-FISH vizsgálata. Az első vízszintes sor a 3-as kromoszóma „sokpontos” I-FISH-vizsgálatára használt 3-as centroméra (CEP3) illetve a mindkét esetben használt 16 BACPAC próba nevét, a második a megabázis (Mb), a harmadik a FISH-pozícióját, a negyedik, A sor a CML-es beteg és ötödik, B sor az AML-es beteg hibridizációs jeleinek a számát nevezi meg. A gömbbel végződő vastag vonal a CML-es betegnél azonosított 3q-duplikációt, a nyíllal végződő vastagabb vonal pedig a mindkét esetben identifikált 3q-inverziót jelöli.

Klónok	CEP3	RP11-12p11	RP11-79h17	RP11-214a5	RP11-59j16	RP11-79l21	RP11-209h21	RP11-91f17	RP11-24l16	RP11-141c22	RP11-79o17	RP11-151p12	RP11-91k9	RP11-79k10	RP11-67e18	RP11-54i9	RP11-88h6
Mb pozíció		112,54	112,83	116,4	128,99	133,85	160,52	167,46	169,61	170,32	170,72	171,56	178,89	186,04	189,83	191,24	192,41
FISH pozíció		3q13.2	3q13.2	3q13.2	3q21	3q22	3q24-25	3q25	3q26.2	3q26.1	3q26.2	3q26.2	3q26.3	3q27	3q28	3q28	3q28
Jelek száma	A	2	2	2	2	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2
	B	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

Duplikáció (3;3)(q21;q26)      Duplikáció (3;3)(q26;q28)

Inverzió (3)(q21;q26)

Valamennyi metafázisban jelen volt a BCR-ABL fúzióból származó kóros 22-es, Ph kromoszóma. Az ABL-BCR reciprok fúziós szegmens viszont a megszokott helyéről, a 9q34-ról a 14-es kromoszóma hosszú karjára transzlokálódott. Ezenkívül egy 17q11-pter szegmens vagy a 20-as kromoszóma q karjának a terminális végéhez (#2 sejtvonalba), vagy a der(14)-hez (#3 sejtvonalba) kapcsolódott, és létrehozott egy kiegyensúlyozatlan „ugráló szegmens transzlokációt” („unbalanced segmental jumping translocation” – SJT) (16) (1. ábra, A).

A negyedik klónban (#4) előforduló 3q-átrendeződésről a fenti citogenetikai módszerek segítségével csak az igazolódott, hogy a 3q-többslet 3-as kromoszóma-eredetű.

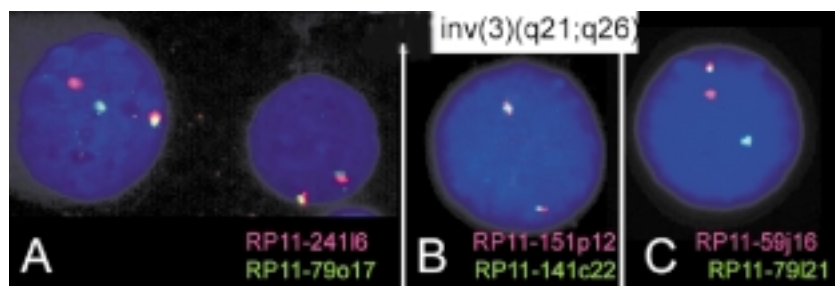
AML-es betegünkkel a csontvelő és perifériás vér citogenetikai vizsgálata egyaránt a 7-es monoszómiát és a 3-as kromoszóma szerkezeti rendellenességét igazolta a sejtek 94%-ában. Kariotípusa: 45, XY, inv?(3)(q21;q26),-7 (1. ábra, B).

3. ábra. A 3q-inverzió FISH-vizsgálata.

A. Az EVI1 gént körülvevő 3q26 FISH-próbák zöld-piros jelei közti nagy távolság az EVI1 génhez közeli inverziós töréspontot igazol az interfázisos magok nagy részében (balra), összehasonlítva a normális mintázatú magokkal (jobbra).

B. A töréspont az EVI1 gén centroméra felé eső végén található, mivel az EVI1-specifikus próba (RP11-141c22-zöld) és a hozzá közeli, telomerikus RP11-151p12 (piros) próba együttes hibridizációjának FISH-mintázata egymáshoz nagyon közeli vagy átfedő jeleket eredményezett.

C. Az RPN1 gént körülvevő 3q21 FISH-próbák zöld-piros jeleinek „eltávolodása” a második inverziós töréspontot azonosítja.



„3q21q26-szindróma” azonosítása „sokpontos” I-FISH vizsgálattal

„Sokpontos” I-FISH vizsgálattal a 3-as kromoszómának a gyermekkori CML és AML eseteinkben előforduló, hagyományos citogenetikai módszerrel észlelt szerkezeti rendellenességeit és töréspontjait határoztuk meg. A CEP3 centromérapróbával elvégzett FISH-vizsgálat a 3-as kromoszómára nézve normális, diploid sejtmagokat mutatott mindkét esetben. A 2. ábra a vizsgálathoz használt klónok nevének egy részét, Mb- és FISH-pozícióját szemlélteti, valamint azt, hogy bizonyos klónpárokkal elvégzett in situ hibridizációval milyen számú FISH-jelet kaptunk sejtmagonként: a szürke mezőkben a 3 jel a megfelelő klónra vonatkozó triszómiát, a fehérben maradt kockák normális diploid sejtmagokat jelölnek. A sokpontos I-FISH vizsgálat a 3q21-ben és 3q26-ban 1-1 interszticiális töréspontot azonosított, mely a citogenetikailag feltételezett paracentrikus inverziót igazolta mindkét esetben. Az EVI1 (ecotropic virus integration site-1) gént körülvevő RP11-24L16 (piros) és RP11-79O17 (zöld) próbák segítségével azonosítottuk a 3q26-ban az EVI1 génhez közeli töréspontot. Összehasonlítva a normális esetek ugyanazon próbákkal végzett FISH-mintázatával, a két próba közti távolság jelentősen megnövekedett az interfázisos magok többségében (3. ábra, A). A töréspont az EVI1 gén centroméra felé eső végén található, mivel az EVI1-specifikus próba (RP11-141c22, zöld) és a hozzá közeli, telomerikus RP11-151p12 (piros) próba együttes hibridizációjának FISH-mintázata egymáshoz nagyon közeli vagy átfedő jeleket eredményezett (3. ábra, B). A Ribophorin I (RPN1) gént körbefogó RP11-59j16 (piros) és RP11-79l21 (zöld) klónpár piros és zöld jelei közti nagy távolság az interfázisos magok nagy részében 3q21 töréspontra utal (3. ábra, C). A 3-as kromoszóma q karjának átrendeződését inv(3)(q21q26)-ként értelmeztük az RP11-59j16 (piros) és RP11-79l21 (zöld) szomszédos klónpár (169,61-170,72) FISH-

jeleinek látványos eltávolodása, valamint a G-sáv-mintázat alapján (1. ábra, A és B).

CML-es betegünknel a sokpontos I-FISH-vizsgálat sokkal komplexebb 3q-átrendeződést igazolt. Az említett 3q21 és 3q26 töréspontokat érintő inverzió mellett a 3q kar citogenetika alapján feltételezett részleges duplikációja is igazolódott. Kópiaszám-növekedést az RP11-79121 és RP11-24116, valamint az RP11-79017 és RP11-67e18 klónok közti szegmentekre igazoltunk (2. és 4. ábra). Valószínű, hogy az inv(3)(q21;q26) kialakulását egy másik átrendeződés, a 3q21;3q28 régió duplikációja követte. Az inverzió során az EVI1 gént tartalmazó és az RP11-141c22 klónnal azonosítható 3q26 szegmens a 3q21 régióval lett szomszédos, és a tőle lefelé, telomérikusan elhelyezkedő régió duplikálódott a 3q21-3q28 között (2. ábra).

## Megbeszélés

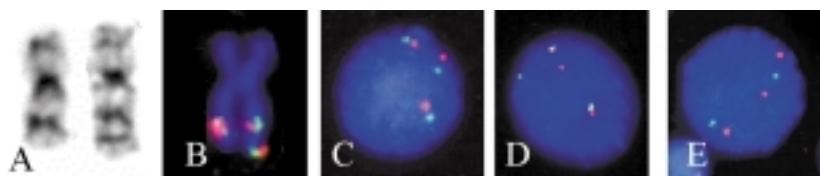
A 3q21 és 3q26 töréspontokat egyidejűleg érintő kórképet „3q21q26-szindrómaként” ismeri a szakirodalom. A szindróma gyakran társul 7-es monoszómiával és a felnőtt MDS-AML esetek 2%-ában, a CML blastos fázisának 20%-ában fordul elő (3, 10, 25, 32, 33). A 3q21 töréspontnál az RPN1, a 3q26-nál az EVI1 és a „myelodysplasia syndrome 1” MDS1 gének lehetnek az érintettek. A hármas inverzió töréspontját főleg az EVI1 gén kódoló régióját követő (downstream, lefelé) 3' vég irányában azonosították, de a töréspont akár több száz kilobázis hosszúságon „szóródhat”, és az EVI1 gén mind az 5' (upstream, fölfelé) mind a 3' végéről aktiválódhat (17, 21). Az ember és az egér EVI1 génjének cDNS- és aminosav-szekvenciája 91-94%-os homológiát mutat. Az EVI1 gént először az egér 3-as kromoszómában azonosították, és mivel az egérnél retrovírus inserciójával aktiválódott, az „ecotropic virus integration site-1” nevet kapta (23). A gén cinkujj típusú magi DNS-kötő fehérjét kódol. A fehérje amino-terminális végén 7, karboxi-terminális végéhez közel 3 cinkujj ismétlődést tartalmazó motívum található. Ilyen típusú cinkujj gyakran fordul elő azokban a transzkripció faktorokban, amelyek leukaemiával asszociált kromoszóma-transzlokációkban vesznek részt. Ilyen transzkripció faktor például a lymphomákból közismert BCL6/LAZ3 (B-cell lymphoma 6/lymphoma-associated zinc finger 3) a 3q27 régióból, melynek 16 különböző transzlokációs partnere lehet; a PLZF (promyelocytic leukemia zinc finger), mely a t(11;17)(q23;q21), az AML-M3 variáns transzlokációjában vesz részt, és az ETO (eight twenty-one), mely az AML-M2-re jellemző t(8;21)(q22;q22) transzlokációban vesz részt. Az in vitro csontvelői progenitor sejtekben az EVI1 gén szokatlan expressziója, a cinkujj doménje révén gátolja a sejtek terminális differenciálódását (21). Feltételezhető, hogy a „3q21q26-szindrómában” a 3q21 egy olyan elemet visz az EVI1 gén közelébe, mely annak fokozott aktivációjához vezet. A 3q21q26-átrendeződések nagy részében az EVI1 gén kódoló régiója a konstitutívan expresszálandó RPN1-enhancer, erősítő eleme mellé helyeződik.

A 3q21 töréspontok nagy része egy 30 kb hosszúságú „breakpoint cluster régióban” helyezkedik el, az RPN1 gén enhancer eleme mellett (26, 31), kisebb része pedig ettől 10-60 kilobázisig terjedő, váltakozó távolságban, a centroméra irányában (34). A 3q21-gyel kapcsolatos átrendeződések olyan mechanizmusokat indítanak el, melyek onkogén hatásukat bizonyos genetikai távolságról is képesek kifejteni. A GR6-EVI1 fúziós gént is összefüggésbe hozták az EVI1 fokozott expressziójával (24). A harmadik lehetséges onkogén hatás a normális MDS1-EVI1 fehérje megzavarása, mely promoter-aktivátorként működik, de az EVI1 fokozott aktivációjával egy erős represszor hatás éri. Több munkacsoport igazolta, hogy az EVI1 több mester-séges promoterre represszor hatást fejt ki, de az in vivo célzott promoterei egyelőre ismeretlenek (23). Az EVI1 gén szokatlan expressziója megakadályozza a granulocyták, erythroid sejtek és csontvelői progenitor sejtek terminális differenciálódását (4, 15).

A CML szekunder elváltozásainak nagy része specifikus fenotípussal összefüggő, genetikailag kiegyensúlyozatlan aberráció (trisómia, monoszómia, deléció), mely rendszerint nem társul a Philadelphia-kromoszómát kísérő jellegzetes elváltozásokkal, mint például a +8, i(17q) és +Ph (12). A „3q21q26-szindróma” azonos fenotípusú variáns átrendeződései, az inv(3)(q21;q26), t(3;3)(q21;q26) és ins(3;3)(q26;q21q26) a CML-es esetek blastos vagy akcelerált fázisára jellemzőek, és 30%-ban társulnak 7-es monoszómiával. A diagnózis idején jelenlévő szekunder elváltozásokat általában rövidebb túlélési eséllyel hozzák összefüggésbe (29). A t(9;22)(q34;q11) eredményeként keletkező fokozott tirozinkináz-aktivitású fúziós fehérje és az EVI1 transzkripció faktor expressziójának együttes hatása a myeloid irányú differenciálódást teljesen blokkolja és rövid idő alatt AML-t indukál in vivo egérkísérletekben (6).

A 3q21q26-inverzió és -duplikáció együttes előfordulásával sem gyermekkori, sem felnőttkori hematológiai malignitások szakirodalmában nem találkozunk. A sokpontos I-FISH-vizsgálat CML-es betegünknel (3)(q26;q26q28)-duplikációt is igazolt. Komparatív genomialis hibridizáció vizsgálattal több szolid tumorban (14, 22), marginális zóna B-sejtes lymphomában (9), köpenysejtes lymphomá-

4. ábra: A 3q-duplikáció FISH-vizsgálata. A G-sáv-mintázat (A) által sugallt 3q-duplikáció az RP11-209h21 (piros) és RP11-91f17 (zöld) próbákkal metafázisban (B) és interfázisban (C) is igazolódott. D. Az EVI1 gént körülvevő 3q26 FISH-próbákkal (RP11-24116 és RP11-79017) történő hibridizáció 3-3 piros-zöld jele e klónokra vonatkozó triszómiát jelöl. Az egyik közeli zöld-piros jel a normális 3-as kromoszómáról, a másik a (3)(q21;q28)-duplikációból származik. A harmadik zöld-piros pár közti nagy távolság az EVI1 génhez közeli inverziós töréspontot igazol. E. A 3q28 régió piros-zöld klónpárjával történő hibridizáció a duplikációs töréspontot jelöli (3 piros és 2 zöld jel).



ban (20), CD5-pozitív diffúz nagy B-sejtes lymphomában (13) is leírták ennek a szegmentnek a duplikációját, illetve amplifikációját. E régió kópiaszám-növekedése olyan (onko)génekkkel állhat összefüggésben, amelyek nem szövetspecifikusak, hanem általában a tumoriniciációban és -progresszióban játszanak szerepet (11).

A 3q26-3q28 régióban több gént térképeztek: az apoptózist indukáló tumornekrozis-faktor géncsaládot (TNFSF10, tumor necrosis factor ligand superfamily member 10) (35); humán telomeráz RNS-t (TERC/hTR), mely a legtöbb szolid tumorban fokozott expressziót mutat (28); a lymphomákban gyakran átrendeződő BCL6/LAZ3 protoonkogént, mely szekvenciaspecifikus transzkripcióss represszorként hat, és az apoptózist is gátolhatja (1, 2, 7).

### Következtetések

A 3q21q26-szindróma felnőttkori AML valamennyi FAB szubtypusában (az M3 kivételével) ismert, de novo AML-ben ritkán, t-AML-ben gyakrabban fordul elő. A szindrómát leírták még MDS-ben, polycytaemia verában (PV) és myelofibrosisban is (5, 18).

A 3q21q26-szindróma gyermekkori AML-ben és CML-ben alig ismert (8, 18, 30). Ezt részben magyarázhatjuk a CML és a t-AML ritkább előfordulásával ebben a korcsoportban.

Klinikánkon egy kb. 40 esetet átfogó beteganyagban (3 CML, a többi de novo AML) két esetben azonosítottuk a szindrómát (5%) hagyományos citogenetikai és sokpontos I-FISH vizsgálattal. Az esetek alacsony száma miatt komolyabb statisztikai értékelésre nincs lehetőségünk, ez a viszonylag magas arány mégis azt sejteti, hogy a gyermekeket genotoxikus környezeti hatás éri.

A 3q21 és 3q26 töréspontokat a felnőttekkel azonos régióban térképeztük. Az átrendeződés eredménye az EVI1 gén fokozott expressziója. Az EVI1 fehérje DNS-hez kötődve kulcsszerepet játszik a sejtek differenciálódásában.

A 3q-t érintő átrendeződések prognosztikai értéke egységesnek tűnik mind felnőtteknél, mind gyermekeknél. A mindhárom sejtvonalatat érintő dysplasia miatt multipotens őssejtdefektussal hozzák összefüggésbe (27).

A PCR-alapú molekuláris genetikai módszerek rendkívül gyors segítséget nyújtanak a diagnózis felállításában, a minimális reziduális betegség kimutatásában, de nem helyettesítik sem a klasszikus (GTG-sáv-alapú), sem a modern citogenetikai (FISH-alapú) módszereket.

A hagyományos és molekuláris citogenetikai módszerek kombinálása lehetőséget ad olyan magas rizikójú genotípus azonosítására, mint a 3q21q26-szindróma, mely a konvencionális kemoterápiától eltérő kezelést igényel.

### Irodalom

1. Albagli-Curiel O. Ambivalent role of BCL6 in cell survival and transformation. *Oncogene* 22:507-516, 2003
2. Baron BW, Anastasi J, Thirman MJ, et al. The human programmed cell death-2 (PDCD2) gene is a target of BCL6 repression: implications for a role of BCL6 in the

- down-regulation of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:2860-2865, 2002
3. Bitter MA, Neilly ME, Le Beau MM, et al. Rearrangements of chromosome 3 involving bands 3q21 and 3q26 are associated with normal or elevated platelet counts in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 66:1362-1370, 1985
4. Buonamici S, Chakraborty S, Senyuk V, et al. The role of EVI1 in normal and leukemic cells. *Blood Cells Mol Dis* 31:206-212, 2003
5. Charrin C, Belhabri A, Treille-Ritouet, et al. Structural rearrangements of chromosome 3 in 57 patients with acute myeloid leukemia: clinical, hematological and cytogenetic features. *Hematol J* 3:21-31, 2002
6. Cuenco GM, Ren R. Both AML1 and EVI1 oncogenic components are required for the cooperation of AML1/MDS1/EVI1 with BCR/ABL in the induction of acute myelogenous leukemia in mice. *Oncogene* 23:569-579, 2004
7. Deweindt C, Albagli O, Bernardin F, et al. The LAZ3/BCL6 oncogene encodes a sequence-specific transcriptional inhibitor: a novel function for the BTB/POZ domain as an autonomous repressing domain. *Cell Growth Differ* 6:1495-1503, 1995
8. Forestier E, Heim S, Blennow E, et al. Cytogenetic abnormalities in childhood acute myeloid leukaemia: a Nordic series comprising all children enrolled in the NOPHO-93-AML trial between 1993 and 2001. *Br J Haematol* 121:566-577, 2003
9. Gazzo S, Baseggio L, Coignet L, et al. Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 3q commonly gained in marginal zone B-cell lymphoma. *Haematologica* 88:31-38, 2003
10. Horsman DE, Gascoyne RD, Barnett MJ. Acute leukemia with structural rearrangements of chromosome 3. *Leuk Lymphoma* 16:369-377, 1995
11. Imreh S, Kost-Alimova M, Kholodnyuk I, et al. Differential elimination 3p/3q segments of human/mouse microcell hybrids during tumor growth. *Genes Chromosomes Cancer* 20:224-233, 1997
12. Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Haematol* 107:76-94, 2002
13. Karnan S, Tagawa H, Suzuki R, et al. Analysis of chromosomal imbalances in de novo CD5-positive diffuse large-B-cell lymphoma detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 39:77-81, 2004
14. Knuutila S, Aalto Y, Autio K, et al. DNA copy number losses in human neoplasms. *Am J Pathol* 155:683-694, 1999
15. Kreider BL, Orkin SH, Ihle JN. Loss of erythropoietin responsiveness in erythroid progenitors due to expression of the Evi-1 myeloid-transforming gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:6454-6458, 1993
16. Lejeune J, Maunoury C, Prieur M, et al. A jumping translocation (5p;15q), (8q;15q), and (12q;15q). *Ann Genet* 22:210-213, 1979
17. Martinelli G, Ottaviani E, Buonamici S, et al. Association of 3q21q26 syndrome with different RPN1/EVI1 fusion transcripts. *Haematologica* 88:1221-1227, 2003
18. Mitelman Database of Chromosome Aberrations in Cancer. Eds. Mitelman F, Johansson B, Mertens F. <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>, 2004
19. Mitelman F. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Ed. S. Karger, Basel 1995
20. Monni O, Oinonen R, Elonen E, et al. Gain of 3q and deletion of 11q22 are frequent aberrations in mantle cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 21:298-307, 1998
21. Morishita K, Parganas E, William CL, et al. Activation of EVI1 gene expression in human acute myelogenous leukemias by translocations spanning 300-400 kilobases on chromosome band 3q26. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:3937-3941, 1992
22. NCI and NCBI's SKY/M-FISH and CGH Database. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sky/skyweb.cgi>, 2001
23. Nucifora G. The EVI1 gene in myeloid leukemia. *Leukemia* 11:2022-2031, 1997

24. Pekarsky Y, Rynditch A, Wieser R, et al. Activation of a novel gene in 3q21 and identification of intergenic fusion transcripts with ecotropic viral insertion site I in leukemia. *Cancer Res* 57:3914-3919, 1997
25. Rowley JD, Potter D. Chromosomal banding patterns in acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 47:705-721, 1976
26. Rynditch A, Pekarsky Y, Schnittger S, Gardiner K. Leukemia breakpoint region in 3q21 is gene rich. *Gene* 193:49-57, 1997
27. Shi G, Weh HJ, Duhrsen U, Zeller W, et al. Chromosomal abnormality inv(3)(q21q26) associated with multilineage hematopoietic progenitor cells in hematopoietic malignancies. *Cancer Genet Cytogenet* 96:58-63, 1997
28. Soder AI, Hoare SF, Muir S, et al. Amplification, increased dosage and in situ expression of the telomerase RNA gene in human cancer. *Oncogene* 14:1013-1021, 1997
29. Sokal JE, Gomez GA, Baccarani M, et al. Prognostic significance of additional cytogenetic abnormalities at diagnosis of Philadelphia chromosome-positive chronic granulocytic leukemia. *Blood* 72: 294-298, 1988
30. Stark B, Jeison M, Shohat M, et al. Involvement of 11p15 and 3q21q26 in therapy-related myeloid leukemia (t-ML) in children. Case reports and review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet* 75:11-22, 1994
31. 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)(q21q26). *Blood* 84:2681-2688, 1994
32. Sweet DL, Golomb HM, Rowley JD, et al. Acute myelogenous leukemia and thrombocytopenia associated with an abnormality of chromosome No. 3. *Cancer Genet Cytogenet* 1:33-37, 1979
33. Testoni N, Borsaru G, Martinelli G, et al. 3q21 and 3q26 cytogenetic abnormalities in acute myeloblastic leukemia: biological and clinical features. *Haematologica* 84:690-664, 1999
34. Wieser R, Schreiner U, Pirc-Danoewinata H, et al. Interphase fluorescence in situ hybridization assay for the detection of 3q21 rearrangements in myeloid malignancies. *Genes Chromosomes Cancer* 32:373-380, 2001
35. Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 3:673-682, 1995