

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2019-6-2-72-75>

## Мутация F359C гена *BCR-ABL1* у подростка с хроническим миелоидным лейкозом. Случай из практики

М.В. Борисевич, Т.В. Савицкая

ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»  
Министерства здравоохранения Республики Беларусь; Республика Беларусь, 223053, Минская область,  
Минский район, Боровлянский с/с, д. Боровляны, ул. Фрунзенская, 43

Контактные данные: Марина Владимировна Борисевич [borisevich10@mail.ru](mailto:borisevich10@mail.ru)

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) у детей встречается редко, составляя менее 3 % всех случаев лейкоза в детской практике. Наряду с успехами, достигнутыми в лечении ХМЛ с использованием иматиниба, актуальным является изучение факторов резистентности к терапии. По литературным данным, около 30 % взрослых пациентов с резистентностью к иматинибу имеют точечные мутации киназного домена гена *BCR-ABL1*. Число сообщений о спектре мутаций гена *BCR-ABL1* у детей с резистентными формами ХМЛ ограничено. В статье приведено описание клинического случая развития вторичной резистентности к иматинибу у 15-летней девочки с мутацией F359C гена *BCR-ABL1* и краткий обзор публикаций.

**Ключевые слова:** хронический миелоидный лейкоз, дети, мутации гена *BCR-ABL1*, мутация F359C, иматиниб, резистентность

**Для цитирования:** Борисевич М.В., Савицкая Т.В. Мутация F359C гена *BCR-ABL1* у подростка с хроническим миелоидным лейкозом. Случай из практики. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2019;6(2):72–5.

### F359C mutation of the *BCR-ABL1* gene in adolescent with chronic myeloid leukemia. Case report

M.V. Borisevich, T.V. Savitskaya

Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Ministry of Health of the Republic of Belarus; 43 Frunzenskaya St., Borovlyany village, Minsk district, Minsk region, 223053, Republic of Belarus

Chronic myeloid leukemia (CML) in children is rare, less than 3 % of all cases of leukemia in pediatric practice. Along with the successes achieved in the treatment of CML with imatinib, it's necessary to study of molecular factors in predicting resistance to therapy. According to the literature, about 30 % of adult patients with imatinib resistance have point mutations in the kinase domain of *BCR-ABL1* gene. The number of reports about mutation spectrum of the *BCR-ABL1* gene in children with resistant forms of CML is limited. This article describes the clinical case of secondary resistance to imatinib in a 15-year-old girl with the F359C mutation of *BCR-ABL1* gene and a review of the literature.

**Key words:** chronic myeloid leukemia, children, *BCR-ABL1* mutations, F359C mutation, imatinib, resistance

**For citation:** Borisevich M.V., Savitskaya T.V. F359C mutation of the *BCR-ABL1* gene in adolescent with chronic myeloid leukemia. Case report. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2019;6(2):72–5.

#### Информация об авторах

М.В. Борисевич: заместитель директора по организационно-методической работе РНПЦ ДОГИ, e-mail: [borisevich10@mail.ru](mailto:borisevich10@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5180-5584>

Т.В. Савицкая: к.б.н., ведущий научный сотрудник научного отдела РНПЦ ДОГИ, e-mail: [tat\\_savitskaya@mail.ru](mailto:tat_savitskaya@mail.ru)

#### Information about the authors

M.V. Borisevich: Deputy Director for organizational and methodical work of the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Ministry of Health of the Republic of Belarus, e-mail: [borisevich10@mail.ru](mailto:borisevich10@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-5180-5584>

T.V. Savitskaya: Cand. of Sci. (Biol.), Leading Researcher Research Department of the Republican Scientific and Practical Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Ministry of Health of the Republic of Belarus, e-mail: [tat\\_savitskaya@mail.ru](mailto:tat_savitskaya@mail.ru)

#### Вклад авторов

М.В. Борисевич: разработка дизайна статьи, анализ научного материала, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, подготовка списка литературы, написание текста рукописи, составление резюме

Т.В. Савицкая: молекулярно-биологическое исследование препаратов костного мозга и периферической крови

#### Authors' contributions

M.V. Borisevich: developing the research design, analysis of research material, article writing, analysis of the obtained data, editing of the article, reviewing of publications of the article's theme, composing a resume

T.V. Savitskaya: molecular biological study of bone marrow and peripheral blood products

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

**Введение**

Хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) — мие-лопролиферативное злокачественное новообразование, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией примитивных гемопоэтических предшественников. В основе ХМЛ лежит образование химерного гена *BCR-ABL1*, продуктом которого в большинстве случаев является белок с молекулярной массой 210 кДа, обладающий повышенной тирозинкиназной активностью [1, 2]. Иматиниб как ингибитор тирозинкиназы был лицензирован для лечения детей с ХМЛ в 2003 г. На фоне применения иматиниба в 1-й линии терапии у детей с ХМЛ в хронической фазе удалось достигнуть 97 % бессобытийной выживаемости (медиана наблюдения — 25 мес) [3]. Но, несмотря на впечатляющие успехи патогенетической терапии, некоторые пациенты либо изначально являются резистентными к иматинибу, либо теряют ответ на него в процессе лечения [4]. Вопросы резистентности к иматинибу, в частности роль мутаций гена *BCR-ABL1*, активно изучаются у взрослых пациентов с ХМЛ. По мнению большинства исследователей, наиболее частой причиной резистентности к иматинибу у взрослых больных являются точечные мутации гена *BCR-ABL1*, которые приводят к замене аминокислот в соответствующем белке и изменению структуры активного центра *BCR-ABL1*-киназы [5–13]. В результате вышеуказанных изменений иматиниб не способен эффективно связываться с *BCR-ABL1*-киназой и оказывать на нее ингибирующее действие [5]. Частота выявления мутаций в гене *BCR-ABL1* у взрослых пациентов, резистентных к иматинибу, варьирует от 25 до 90 % и зависит от фазы ХМЛ, методов исследования [5, 8]. По результатам исследований наиболее часто упоминаются следующие миссенс-мутации гена *BCR-ABL1*: G250E, T315I, M244V, F359C, Y253F/H, E255K, M351T, F359V, E459G, E355G, V379I, L387M, H396R [4–14]. При этом у 1 пациента могут встречаться сразу несколько мутаций [8]. Принципиальным является разграничение понятий первичной и вторичной (приобретенной) резистентности, поскольку механизмы, лежащие в их основе, различны [15]. Приобретенная резистентность определяется как потеря уже достигнутого гематологического, цитогенетического или молекулярного ответа и/или прогрессирование заболевания до фазы акселерации или бластного криза [16]. По результатам некоторых наблюдений, причиной приобретенной резистентности является процесс повторного фосфорилирования CrkL — белка, являющегося субстратом тирозинкиназы *BCR-ABL1*, приводящей к активации сигнальных путей [17]. Так, мутация F359C (замена фенилаланина (F) в положении 359 на цистеин (C)), расположенная в каталитическом домене гена *BCR-ABL1*, участвующем во взаимодействии с белками-регуляторами и передаче внутриклеточных сигналов, предположительно, может стимулировать аномально высокую тирозинкиназную активность [18].

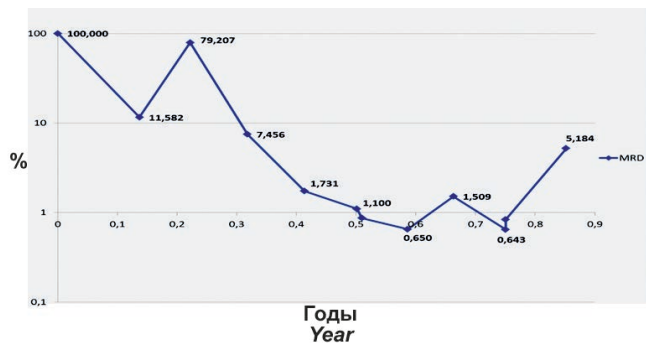
Указанная мутация выявляется у взрослых пациентов с ХМЛ, имеющих признаки вторичной резистентности к иматинибу, менее чем в 2 % случаев ХМЛ и Ph-позитивного острого лимфобластного лейкоза [19]. Мутация F359C играет роль в развитии вторичной резистентности как к иматинибу, так и к нилоти-нибу, с сохранением ответа на дазатиниб [20–23].

У детей число публикаций по поиску факторов, неблагоприятно влияющих на течение ХМЛ при лечении иматинибом, ограничено. Нет данных по частоте встречаемости и характеру мутаций гена *BCR-ABL1* у пациентов детского возраста, не отвечающих на иматиниб. Учитывая то, что появление мутаций киназного домена *BCR-ABL1* влияет на результаты лечения, снижая эффективность иматиниба, изучение их у детей с ХМЛ является актуальным. В статье описан клинический случай развития вторичной резистентности к иматинибу у 15-летней девочки с мутацией F359C. До настоящего времени случаи выявления мутаций в киназном домене гена *BCR-ABL1*, в частности F359C, у детей в доступной литературе описаны не были.

**Клинический случай**

*Девочка Б. заболела в возрасте 15 лет, когда при плановом обследовании выявили увеличение печени и селезенки, изменения в гемограмме. После проведенного комплекса лабораторных и инструментальных методов обследования, включающих общий анализ крови, цитологическое исследование препарата костного мозга (КМ), цитогенетическое исследование препарата КМ методами G-banding и флуоресцентной гибридизации in situ, гистологическое исследование препарата КМ, молекулярно-биологическое исследование препаратов КМ и периферической крови (ПК) методами обратнo-транскриптазной и количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), выставлен диагноз: ХМЛ, BCR-ABL-положительный. Согласно критериям European Leukemia Net выставлена хроническая фаза заболевания. Назначен иматиниба мезилат — 300 мг/сут/м<sup>2</sup>. Оценка ответа на терапию проводилась с использованием международных критериев [24]. Полный гематологический ответ (ПГО) достигнут через 1,5 мес от начала терапии, полный цитогенетический ответ (ПЦО) — через 6 мес от начала лечения. Для мониторинга молекулярного ответа количественно определялся BCR-ABL1 в образцах ПК методом ПЦР-РВ: первые 3 мес терапии 1 раз в месяц, затем каждые 3 мес. При проведении исследования в качестве мишени использовались химерный онкоген BCR-ABL1 и контрольный ген ABL1 согласно стандартизованному протоколу, предложенному в 2003 г. в рамках Европейской программы по борьбе с раком [25]. Динамика уровня экспрессии гена BCR-ABL1 представлена на рис. 1.*

*На рисунке видно, что у нашей пациентки не было стойкого снижения уровня экспрессии онкогена. В целях коррекции терапии доза иматиниба была увеличена до*



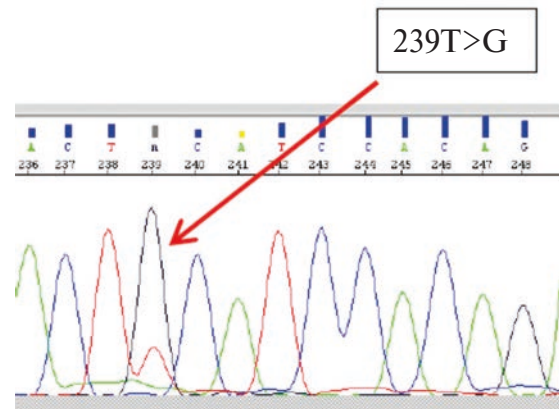
**Рис. 1.** Динамика уровня экспрессии гена *BCR-ABL1* (минимальная остаточная болезнь) у пациентки Б. на терапии иматинибом

**Fig. 1.** Dynamics of the expression level of the *BCR-ABL1* gene (minimal residual disease, MRD) in patient B. on imatinib therapy

400 мг/м<sup>2</sup>, на которой отмечалась некоторая положительная динамика со снижением уровня *BCR-ABL1/ABL1* (%). Однако на 9-м месяце терапии отмечается увеличение уровня экспрессии онкогена в 6 раз по сравнению с предыдущим исследованием. Увеличение дозы иматиниба до 500 мг/м<sup>2</sup> не привело к желаемому результату, и уже через месяц у пациентки был констатирован гематологический рецидив по типу лимфоидного бластного криза, начата терапия по протоколу лечения острого лимфобластного лейкоза ALL-MB-2015 + иматиниб – 500 мг/м<sup>2</sup>.

Учитывая развитие вторичной резистентности к иматинибу, пациентке были выполнены исследования образцов КМ на мутации киназного домена онкогена *BCR-ABL1* методом прямого секвенирования и дополнительные хромосомные анализы. В результате чего выявлена мутация *BCR-ABL1* с.239T>G (F359C), приводящая к замене аминокислоты F на C в положении 359 гена *BCR-ABL1* (рис. 2) и дополнительные хромосомные аномалии в Ph-позитивных клетках: 46,XX,t(9;22)(q34;q11),del(15)(q21)[2]/46,XX,t(9;22)(q34;q11)[18].

Учитывая отсутствие на тот момент возможности перевести пациентку на дазатиниб, было принято решение провести аллогенную трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) во II хронической фазе заболевания. Через 4 мес лечения по протоколу ALL-MB-2015 + иматиниб были достигнуты ПГО, ПЦО и снижение уровня экспрессии гена *BCR-ABL1* до 0,01 %. Пациентке после этапа кондиционирования



**Рис. 2.** Метод секвенирования транскрипта гена *BCR-ABL1* с определением мутации F359C (красной стрелкой указан участок замены нуклеотида, 239T>G)

**Fig. 2.** The method of sequencing the transcript of the gene *BCR-ABL1* with the definition of the F359C mutation (the red arrow indicates the nucleotide replacement region, 239T>G)

(тотальное облучение тела – 12 Гр, тиопена – 600 мг, эндоксан – 7200 мг, антитимоцитарный глобулин – 2700 мг) выполнена алло-ТГСК (ПК от неродственного совместимого донора). Через 6 мес после алло-ТГСК уровень молекулярного транскрипта снизился до предела чувствительности метода ПЦР-РВ (1 на 100 000 или ≤ 0,0001 %). Метод прямого секвенирования подтвердил отсутствие мутации F359C. Следует отметить, что после отмены иматиниба (за 1 мес до трансплантации) ингибиторы тирозинкиназы пациентке не назначались. Длительность наблюдения после алло-ТГСК составила 10 мес.

### Выводы

Представленный клинический случай демонстрирует неоднородность молекулярно-биологических основ начала и течения ХМЛ у детей. Появление мутаций гена *BCR-ABL1*, в частности мутации F359C, влечет за собой развитие вторичной резистентности к иматинибу.

Изучение молекулярной природы ХМЛ у детей с возможностью мониторинга минимальной остаточной болезни на фоне терапии иматинибом важно для принятия правильного и своевременного решения в отношении коррекции терапии.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Wang X., Zheng B., Li S., Mulvihill J. J., Chen X., Liu H. Automated identification of abnormal metaphase chromosome cells for the detection of chronic myeloid leukemia using microscopic images. *J Biomed Opt* 2010;15(4):046026. doi: 10.1117/1.3476336.
- Deininger M.W., Goldman J.M., Melo J.V. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000;96(10):3343–56. PMID: 11071626.
- Suttorp S., Schulze Ph., Glauche I., Göhring G., von Neuhoff N., Metzler M., Sedlacek P., de Bont E., Balduzzi A., Lausen B., Aleinikova O., Sufliarska S., Henze G., Strauss G., Eggert A., Kremens B., Groll A.H., Berthold F., Klein C., Groß-Wieltsch U., Sykora K.W., Borkhardt A., Kulozik A.E., Schrappe M., Nowasz C., Krumbholz M., Tauer J.T., Claviez A., Harbott J., Kreipe H.H., Schlegelberger B., Thiede C. Front-line imatinib treatment in children and adolescents with chronic myeloid leukemia: results from a phase III trial. *Leukemia* 2018;32(7):1657–69. doi: 10.1038/s41375-018-0179-9.
- Baccarani M., Pileri S., Steegmann J., Muller M., Soverini S., Dreyling M.; ESMO Guidelines Working Group. Chronic myeloid leukemia: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012;23 Suppl 7:vii72–7. doi:10.1093/annonc/mds228.

5. Кудев С.И., Вельченко М.В. Значение анализа мутаций гена *BCR-ABL* в оптимизации таргетной терапии хронического миелолейкоза. Клиническая онкогематология 2008;1(3):190–9. ID: 11670881. [Kutsev S.I., Velchenko M.V. The role of *BCR-ABL* gene mutation analysis in the optimization of target therapy of chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2008;1(3):190–9 (In Russ.).]
6. Branford S., Rudzki Z., Walsh S., Parkinson I., Grigg A., Szer J., Taylor K., Herrmann R., Seymour J.F., Arthur C., Joske D., Lynch K., Hughes T. Detection of *BCR-ABL* mutations in patients with CML treated with imatinib is virtually always accompanied by clinical resistance, and mutations in the ATP phosphate-binding loop (P-loop) are associated with a poor prognosis. Blood 2003;102:276–83. doi: 10.1182/blood-2002-09-2896.
7. Branford S., Rudzki Z., Walsh S., Grigg A., Arthur C., Taylor K., Herrmann R., Lynch K.P., Hughes T.P. High frequency of point mutations clustered within the adenosine triphosphate-binding region of *BCR/ABL* in patients with chronic myeloid leukemia or Ph-positive acute lymphoblastic leukemia who develop imatinib (STI571) resistance. Blood 2002;99(9):3472–5. PMID: 11964322.
8. Shah N., Nicoll J., Nagar B., Gorre M.E., Paquette R.L., Kuriyan J., Sawyers C.L. Multiple BCR-ABL kinase domain mutations confer polyclonal resistance to the tyrosine kinase inhibitor imatinib (STI571) in chronic phase and blast crisis chronic myeloid leukemia. Cancer Cell 2002;2:117–25. PMID: 12204532.
9. Gambacorti-Passerini C., Gunby R., Piazza R., Galietta A., Rostagno R., Scapozza L. Molecular mechanisms of resistance to imatinib in Philadelphia chromosome-positive leukaemias. Lancet Oncol 2003;4:75–85. PMID: 12573349.
10. Shah N., Sawyers C. Mechanisms of resistance to STI571 in Philadelphia chromosome-associated leukemias. Oncogene 2003;22:7389–95. doi:10.1038/sj.onc.1206942.
11. Al-Ali H., Heinrich M., Lange T., Krahl R., Mueller M., Müller C., Niederwieser D., Druker B.J., Deininger M.W. High incidence of *BCR-ABL* kinase domain mutations and absence of mutations of the PDGFR and KIT activation loops in CML patients with secondary resistance to imatinib. Hematol J 2004;5(1):55–60. doi: 10.1038/sj.thj.6200319.
12. Hochhaus A., La Rosee P. Imatinib therapy in chronic myelogenous leukemia: strategies to avoid and overcome resistance. Leukemia 2004;18:1321–31. doi: 10.1038/sj.leu.2403426.
13. Soverini S., Colarossi S., Gnani A., Rosti G., Castagnetti F., Poerio A., Iacobucci I., Amabile M., Abruzzese E., Orlandi E., Radaelli F., Ciccone F., Tiribelli M., di Lorenzo R., Caracciolo C., Izzo B., Pane F., Saglio G., Baccarani M., Martinelli G. Contribution of ABL kinase domain mutations to imatinib resistance in different subsets of Philadelphia positive patients: by the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. Clin Cancer Res 2006;12(24):7374–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1516.
14. Deininger M.W. Optimizing therapy of chronic myeloid leukemia. Exp Hematol 2007;35:144–54. PMID: 17379100.
15. Baccarani M., Saglio G., Goldman J., Hochhaus A., Simonsson B., Appelbaum F., Apperley J., Cervantes F., Cortes J., Deininger M., Gratwohl A., Guilhot F., Horowitz M., Hughes T., Kantarjian H., Larson R., Niederwieser D., Silver R., Hehlmann R. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 2006;108:1809–20. doi: 10.1182/blood-2006-02-005686.
16. Gorre M.E., Mohammed M., Ellwood K., Hsu N., Paquette R., Rao P.N., Sawyers C.L. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by *BCR-ABL* gene mutation or amplification. Science 2001;293:876–80. doi: 10.1126/science.1062538.
17. Чельшева Е.Ю., Шухов О.А., Лазарева О.В., Туркина А.Г. Мутации киназного домена гена *BCR-ABL* при хроническом миелолейкозе. Клиническая онкогематология 2012;5(1):13–21. [Chelysheva E.Yu., Shukhov O.A., Lazareva O.V., Turkina A.G. Mutations in the kinase domain of the *BCR-ABL* gene in chronic myeloid leukemia. Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology 2012;5(1):13–21. (In Russ.).]
18. Hughes T., Deininger M., Hochhaus A., Branford S., Radich J., Kaeda J., Baccarani M., Cortes J., Cross N.C., Druker B.J., Gabert J., Grimwade D., Hehlmann R., Kamel-Reid S., Lipton J.H., Longtine J., Martinelli G., Saglio G., Soverini S., Stock W., Goldman J.M. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: Review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting *BCR-ABL* transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. Blood 2006;108:28–37. doi: 10.1182/blood-2006-01-0092.
19. Hochhaus A., Saglio G., Larson R.A., Kim D.W., Etienne G., Rosti G., De Souza C., Kurokawa M., Kalaycio M.E., Hoenekopp A., Fan X., Shou Y., Kantarjian H.M., Hughes T.P. Nilotinib is associated with a reduced incidence of *BCR-ABL* mutations vs imatinib in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase. Blood 2013;121:3703–8. doi:10.1182/blood-2012-04-423418.
20. Hochhaus A., Baccarani M., Deininger M., Apperley J.F., Lipton J.H., Goldberg S.L., Corm S., Shah N.P., Cervantes F., Silver R.T., Niederwieser D., Stone R.M., Dombret H., Larson R.A., Roy L., Hughes T., Müller M.C., Ezzeddine R., Countouriotis A.M., Kantarjian H.M. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. Leukemia 2008;22:1200–6. doi: 10.1038/leu.2008.84.
21. Mauro M.J., Baccarani M., Cervantes F., Lipton J.H., Matloub Y., Sinha R., Stone R.M. Dasatinib 2-year efficacy in patients with chronic-phase chronic myelogenous leukemia (CML-CP) with resistance or intolerance to imatinib (START-C). J Clin Oncol 2008;26:abstr. 7009. doi:10.1200/jco.2008.26.15.
22. Yap E., Tumian N.R., Azma R.Z., Sharifah N.A., Salwati S., Hamidah N.H., Elias M.H., Wong C.L. Primary imatinib resistance in chronic myeloid leukemia patients in a developing country: *BCR-ABL* kinase domain mutations or BCR-ABL independent mechanisms? Malaysian J Pathol 2017;39(2):107–13. PMID: 28866691.
23. Baccarani M., Cortes J., Pane F., Niederwieser D., Saglio G., Apperley J., Cervantes F., Deininger M., Gratwohl A., Guilhot F., Hochhaus A., Horowitz M., Hughes T., Kantarjian H., Larson R., Radich J., Simonsson B., Silver R.T., Goldman J., Hehlmann R. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia Net. J Clin Oncol 2009;27(35):6041–51. doi:10.1200/JCO.2009.25.0779.
24. Gabert J., Beillard E., van der Velden V.H.J., Grimwade D., Pallisgaard N., Barbany G., Cazzaniga G., Cayuela J.M., Cavé H., Pane F., Aerts J.L., De Micheli D., Thirion X., Pradel V., González M., Viehmann S., Males M., Saglio G., van Dongen J.J. Standardization and quality control studies of ‘real-time’ quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia. A Europe Against Cancer Program. Leukemia 2003;17:2318–57. doi:10.1038/sj.leu.2403135.
25. Guilhot F., Apperley J., Kim D.W., Bullorsky E.O., Baccarani M., Roboz G.J., Amadori S., de Souza C.A., Lipton J.H., Hochhaus A., Heim D., Larson R.A., Branford S., Muller M.C., Agarwal P., Gollerkeri A., Talpaz M. Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. Blood 2007;109:4143–50. doi: 10.1182/blood-2006-09-046839.