ОНКОГЕМАТОЛОГИЯ 4'2011

Семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза: описание новой семьи и мутации в гене *RUNX1*

В.О. Бобрынина[1], О.Ю. Баранова[2], Е.В. Самочатова[1], А.А. Масчан[1]
[1]ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России, Москва;
[2]ФГБУ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: *Власта Олеговна Бобрынина vlastabobrynina@yandex.ru*

Семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) является редким аутосомно-доминантным синдромом, связанным с мутацией в гене RUNX1. К настоящему времени известно 35 семей с данным заболеванием. Мы описываем семью, в которой у 6 членов в 4 поколениях зарегистрировано нарушение функции и числа тромбоцитов и у 3 членов в 2 поколениях развился ОМЛ. Возраст развития ОМЛ составил 11, 19 и 76 лет. При молекулярно-биологическом анализе у 5 доступных для исследования членов семьи выявлена новая мутация гена RUNX1 (c.2018 A > C, p.T147P), локализующаяся в Runt-домене. Описанная мутация должна нарушать связь транскрипционного комплекса CBF с ДНК. Два пациента с ОМЛ умерли и у 1 проведена успешная трансплантация гемопоэтических клеток от HLA-идентичного сиблинга, у которого было доказано отсутствие мутации в гене RUNX1.

Ключевые слова: *семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия, острый миелоидный лейкоз, RUNX1*

Family platelet disorder with propensity to acute myeloid leukemia: new family with *RUNX1* mutation

V.O. Bobrynina[1], O.Yu. Baranova[2], E.V. Samochatova[1], A.A. Maschan[1]
[1]Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow;
[2]N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia (FPD/AML) is a rare autosomal dominant disorder caused by inherited mutation of RUNX1. To date only 35 families have been described. We report on a family in which number and function of platelet were impaired in members of 4 generations. Acute myeloid leukemia developed in 3 members of 2 generations. The age of leukemia development was 11, 19 u 76 years. In all 5 affected family members available for study novel heterozygous mutation in runt domain of RUNX1 (c2018 A > C, pT147P) was detected by direct sequencing. This mutation is predicted to impair binding of CBF to core motif of DNA. Two affected patients died of leukemia; while in one complete remission was achieved with conventional and consolidated with allogeneic BMT from HLA-matched sister proved to be RUNX1 mutation negative.

Key words: *family thrombocytopenia/thrombocytopathia, acute myeloid leukemia, RUNX1*

Введение

Подавляющее большинство острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) у детей является редчайшими спорадическими событиями (частота составляет около 5 случаев на 1 млн детей в возрасте до 15 лет в год) и для их становления требуется минимум 2 последовательных генетических нарушения, затрагивающие процессы регуляции, пролиферации и дифференцировки предшественников миелопоэза. Относительно часто ОМЛ развивается в рамках наследственных синдромов, в патогенез которых вовлечены гены, ответственные за элиминацию опухолевых или предопухолевых клеток, репарацию ДНК и регуляцию пролиферации миелоидных предшественников. К этим заболеваниям относятся синдром Ли–Фромени, анемия Фанкони, нейрофиброматоз I типа, врожденная тяжелая нейтропения и некоторые другие. В 1985 г. Dowton et al. была описана большая семья из 192 человек, у 22 членов которой в 7 поколениях отмечена кровоточивость и тромбоцитопения и развитие острого лейкоза у 6 [1].

В дальнейшем было описано еще несколько десятков семей с подобными признаками. Кровоточивость – носовые кровотечения, метроррагии, кровотечения после удаления зубов – у пораженных членов этих семей не коррелировала с тяжестью тромбоцитопении и соответствовала «аспириноподобному» дефекту тромбоцитов со снижением агрегации под действием арахидоновой кислоты и адреналина [1].

Частота развития гемобластозов в описанных семьях варьирует в широких пределах от 24 до 57 %, причем помимо ОМЛ описаны и несколько случаев лимфобластных лейкозов и лимфом [1, 2].

Тип наследования заболевания согласно анализу родословных (поражение лиц обоего пола и передача от родителей детям) является аутосомно-доминантным. Медиана возраста развития ОМЛ / миелодиспластического синдрома составляет 33 года и варьирует в крайне широких пределах – от 5,5 до 62 лет и не коррелирует с возрастом развития тромбоцитопении и тромбоцитопатии – нередко от первых проявлений кровоточивости до момента диагностики ОМЛ проходит несколько 10-летий. Гематологические находки при синдроме, получившем название ***familial platelet disorder with propensity to develop acute myeloid leukemia (FPD/AML)***, разнообразны и зависят от фазы заболевания – на этапе тромбоцитопении/тромбоцитопатии характерным является морфологически нормальное костномозговое кроветворение с нормальным числом мегакариоцитов, имеющих черты незрелости. Другие ростки кроветворения морфологически не изменены.

В 1996 г. Ho et al. при исследовании 52 членов семьи, описанной Dowton, из которых 24 были здоровы, а у 28 была тромбоцитопения разной степени выраженности, показали, что ген-кандидат локализуется на длинном плече 21-й хромосомы (q22.1) в области, охватывающей гены *AML1*, рецептора интерферона α/β, фосфорибозилглицинамидформилтрансферазы и *SON* [3].

В 1999 г. Song et al. при анализе 6 семей было показано, что причиной FPD/AML во всех случаях являются мутации гена *AML1* (также известного как *AMLCR1*, *CBFA2* и *PEBP2A2*). В настоящее время ген *AML1* называется *RUNX1* по гомологичному гену *runt*, впервые описанному у дрозофилы [4].

Белок CBFα, кодируемый геном *RUNX1*, входит в состав гетеродимера CBF (Core Binding Factor), который является ключевым регулятором гемопоэза на всех этапах его развития и функционирования, за исключением кроветворения в желточном мешке. Сам *RUNX1* является геном, наиболее часто (за вычетом транслокаций с вовлечением гена *MLL* у детей до 1 года) вовлеченным в лейкемогенные транслокации, выявляемые при ОМЛ, – t(8;21), t(3;21), t(16;21) и транслокацию t(12;21) при остром лимфобластном лейкозе (ОЛЛ) [5–7]. Более того, нарушение числа копий гена *RUNX1* характерно для ОЛЛ с гипердиплоидным кариотипом и ОМЛ при синдроме Дауна.

В отечественной литературе описаний FPD/AML нет. Ниже мы рассказываем о семье с FPD/AML с прослеживанием ОМЛ в 4 поколениях и выявленную новую мутацию в гене *RUNX1*.

Описание семьи

Пациент III-3. *К.В., родился 27.10.1979, с 1-го года страдал геморрагическим синдромом в виде необычно множественных и крупных экхимозов на ногах. Ребенок развивался согласно возрасту, пороков внутренних органов и внешнего дисморфизма не было. С возраста 5,5 лет отмечалось снижение тромбоцитов до 75–80 × 10⁹/л, других изменений числа или морфологии клеточных элементов крови не было. Миелограмма: костный мозг клеточный с небольшим раздражением гранулоцитарного ростка. Мегакариоцитов нормальное количество; небольшое количество мегакариоцитов – со слабой «отшнуровкой» тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов с ристомицином и АДФ – в норме, с арахидоновой кислотой и адреналином – не исследовалась. Учитывая выраженный кожный геморрагический синдром и тромбоцитопению, ребенку назначалась длительная терапия преднизолоном в дозе 2 мг/кг в сутки и нандролоном без эффекта в отношении геморрагического синдрома. В возрасте 8 лет отмечена спленомегалия до + 5 см, падение количества тромбоцитов до единичных, появление эритробластов 2:100 в периферической крови и базофильная пунктация эритроцитов. В 1987 г. проведена спленэктомия – без эффекта в отношении числа тромбоцитов. В 1989 г. отмечено нарастание гемопоэтической недостаточности: гемоглобин – 72 г/л, лейкоциты 16 × 10⁹/л, нормобласты – 330:100, тромбоциты – единичные. В миелограмме: эритроидный росток 47,7 %, лимфоциты 15 %, бластные клетки 17,2 % (> 30 % от неэритроидного компонента), что соответствовало диагнозу эритромиелоза (ОМЛ, М6). 23 марта 1989 г. зафиксирована смерть от кровоизлияния в головной мозг.*

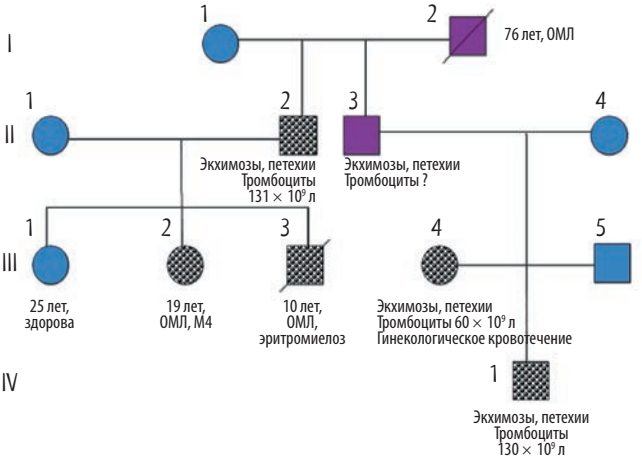

Рис. 1. *Родословная семьи К.*

Пациентка III-2. *К.Т., родилась 01.01.1981. Была клинически здорова до февраля 2010 г., когда отмечено появление геморрагического синдрома в виде носовых кровотечений и синяков. В апреле 2010 г. госпитализирована в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. В миелограмме – бластные клетки 65 %, с положительной окраской на миелопероксидазу (20 %), черный судан (45 %) и неспецифическую эстеразу с ингибицией NaF (30 %). Иммунофенотип бластных клеток CD34⁺, CD33⁺, CD13⁺, CD64⁺. На основании морфологических, цитохимических и иммунофенотипических характеристик бластных клеток был установлен диагноз ОМЛ, М4 субвариант. Цитогенетическое исследование бластных клеток – кариотип 46 XX, методом FISH inv 16 не обнаружена. Ремиссия достигнута после курса стандартных доз цитозин-арабинозида (AraC), идарубицина и этопозида по схеме 7 + 3 + 2 и консолидирована 2 курсами высоких доз AraC 3000 мг/м² в сутки в дни 1, 3, 5-й и ида-*

рубицином 12 мг/м² в дни 2-й и 4-й. При HLA-типировании выявлено, что старшая сестра является геноидентичной и запланирована аллогенная трансплантация.

У отца пациенток в 1987 г. также выявлена тромбоцитопения 30:1000 и отмечена кровоточивость в виде легкого возникновения петехий и экхимозов. В анализе крови от января 2011 г.: лейкоциты 6,1 × 10⁹/л, Hb 126 г/л, тромбоциты 131 × 10⁹/л. Дед по линии отца умер в возрасте 76 лет от ОМЛ. Учитывая семейный анамнез, заподозрен синдром FPD/AML и предпринято исследование мутационного статуса гена RUNX1 для подтверждения диагноза и определения, может ли геноидентичная сестра стать донором гемопоэтических клеток.

Материалы и методы

К настоящему моменту описано более 10 различных транслируемых мРНК гена *RUNX1*, образующихся в результате альтернативного сплайсинга. Методом прямого секвенирования на приборе 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) с использованием ABI PRISM BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit были проанализированы все транскрибируемые последовательности гена *RUNX1* и прилегающие к ним участки интронов. Одни и те же пары праймеров были использованы для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) и реакции секвенирования:

Название	Последовательность 5'-3'
RUNX1 1–3 exon F	GGGGAACAGTTAAATTTGTAATTTGG
RUNX1 1–3 exon R	GCTGAGCAAAAGTAGATATTACAAGACC
RUNX1 4 exon F	TCGGGGGAAAGTTAATTTTTAAAC
RUNX1 4 exon R	AAATCATATACACATCTATGAAGGTGTGTAC
RUNX1 5 exon F	GTGGAGGGACTCATGGTGAC
RUNX1 5 exon R	GCTGGAAGGAAAGTTGAAAGC
RUNX1 6–8 exon F	CCCTGAACGTGTATGTTGGTC
RUNX1 6–8 exon R	GGGCCCCTTTCCAGAATC
RUNX1 9–11 exon F	GATGTCTGCATTTGTCCTTTGAC
RUNX1 9–11 exon R	AACGTGTTTCAAGCATAGTTTTGAC
RUNX1 12–13 exon F	GCTGGACAGCATAAATTAATGATTG
RUNX1 12–13 exon R	GCTCAGTGCACAGAAACAAGC
RUNX1 14 exon F	GGAAATCCACAATACTTTTTCTGATC
RUNX1 14 exon R	GGGAAACCCCAGTTGGTC
RUNX1 15 exon F	CGCGGCTCTATAAAGAATTGTC
RUNX1 15 exon R	GAGGATGAGATGGAAAAGATAGCTC
RUNX1 16 exon F	CATAGGCCACATACATGTATGTGAC
RUNX1 16 exon R	CTCCTTCATGCACCTCTAGTCTC
RUNX1 17–21 exon F	CCATCCTCCTAGGCGGTATC
RUNX1 17–21 exon R	GGGCTTGTCGCGAACAG

Условия ПЦР: 95 °C 5 мин, 10 циклов (95 °C 20 с, 65 °C 20 с, 72 °C 40 с); 26 циклов (95 °C 20 с, 60 °C 20 с, 72 °C 40 с; финальный шаг 72 °C 10 мин). Очистка ПЦР-продукта, реакция секвенирования и очистка продукта реакции секвенирования проводились согласно инструкции производителя.

У пациентки III-2 были выявлены 2 ранее не описанные мутации в последовательности гена *RUNX1*. Одна из мутаций расположена в 5'-некодирующей области (c.310 A > G), вторая затрагивает Runt-домен (c.2018 A > C, p. T147P). Координаты мутаций указаны в соответствии с формами мРНК *AML1c* (c.310 A > G) и *AML1b* (c.2018 A > C), впервые найденными в библиотеках кДНК, полученных из человеческих тканей и культур человеческих клеток и описанными Miyoshi et al. в 1995 г. [8].

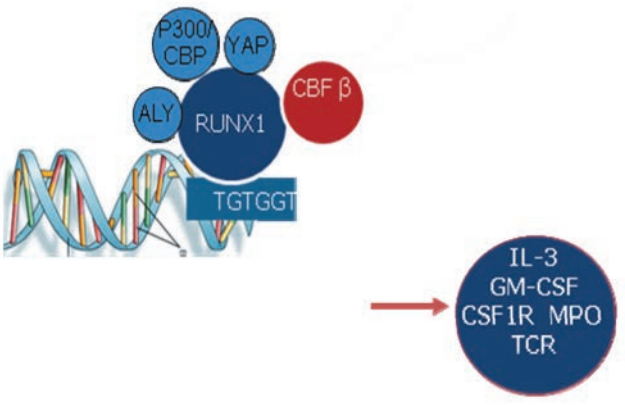

Рис. 2. *Активирующий комплекс CBF*

Обе мутации были обнаружены и у отца пациентки. При этом ни у матери пациентки, ни у HLA-идентичной сестры не было найдено каких-либо изменений в экзонах и прилежащих к ним интронных последовательностях гена *RUNX1*. На основании этого можно предположить, что обе мутации присутствуют в одном аллеле гена *RUNX1* (цис-положение).

Таким образом, мутации в гене *RUNX1* выявлены у пациентки III-2 и у ее отца, но не были обнаружены у клинически и гематологически здоровой, HLA-идентичной сестры. Аллогенная трансплантация Г-КСФ стимулированных предшественников периферической крови после немиелоаблативного кондиционирования бусульфаном 8 мг/кг, флударабином 150 мг/м² и антитимоцитарным глобулином была проведена 29.10.2010. В настоящее время пациентка находится в промежуточном посттрансплантационном периоде, протекающем без осложнений.

После обнаружения мутации в гене *RUNX1* нами был предпринят расширенный поиск пораженных членов семьи по линии отца, и выявлено еще 3 его родственника с гематологическими аномалиями: брат отца (II-3), его дочь (III-4) 28 лет и ее сын (IV-1) 3 лет.

Брат отца отмечает повышенную кровоточивость, однако анализы крови его неизвестны. У доче-

ри (двоюродной сестры пациенток) выявлена тромбоцитопения 84 × 10^9/л и сниженный средний объем тромбоцитов (MPV 7,81fl), у ее сына (двоюродный племянник пациенток) – геморрагический синдром в виде петехий и экхимозов и тромбоцитопения 86 × 10^9/л со сниженным MPV (7,24fl). Молекулярное исследование показало у обоих наличие идентичной мутации в гене *RUNX1* (c.2018 A > C). Остальные клинические признаки, а также количественные и качественные показатели периферической крови были в норме, в связи с чем проведение расширенного гематологического обследования с выполнением миелограммы и кариотипирования было решено отложить.

Обсуждение

Наследственные случаи злокачественных новообразований представляют собой уникальные модели для изучения процессов онкогенеза. Благодаря анемии Фанкони, синдрому Ли–Фромени, семейному раку молочной железы и яичника и др., расшифрованы сложнейшие системы репарации повреждений ДНК и функционирования точек «онкологического» контроля, что позволяет не только надеяться на создание в будущем препаратов, корригирующих функцию пораженных генов, но и уже сегодня заниматься грамотным генетическим консультированием и скринингом ранних стадий опухолей.

Семейные случаи ОМЛ крайне редки, и обсуждаемая в данной статье семейная тромбоцитопения/тромбоцитопатия с предрасположенностью к развитию ОМЛ является одним из таких редких синдромов. Включая наше наблюдение, анализирующее первую российскую семью, в мировой литературе описано всего лишь 35 родословных с FPD/AML.

Транскрипционный фактор CBF состоит из 2 субъединиц – CBFα и CBFβ. Именно α-субъединица распознает *core*-последовательность (Pu/T)ACCPuCA в промоторных участках тех генов, экспрессия которых зависит от CBF. Комплекс CBFα с ДНК стабилизируется β-субъединицей. За взаимодействие и с ДНК, и с CBFβ отвечает филогенетически консервативный Runt-домен CBFα [9].

CBF регулирует активность важнейших для миело- и лимфопоэза генов, кодирующих рецептор макрофагального колониестимулирующего фактора, Т-клеточный рецептор α и β, миелопероксидазу, эластазу нейтрофилов и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, IL-3. Если к комплексу CBF-ДНК присоединяются ассоциированные с ним транскрипционные факторы (C/EBP-α, PU.1, c-MYB, ETS, LEF-1) и коактиваторы (p300, CBP, ALY, YAP), то экспрессия зависимых генов увеличивается, а если CBF-ДНК вступает во взаимодействие с репрессорами (Sin3A, Ear-2, TLE), то транскрипция зависимых генов подавляется [10–18].

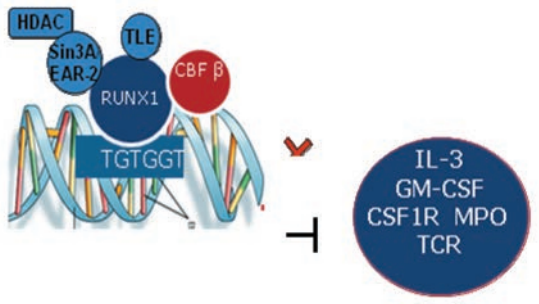

Рис. 3. *Репрессирующий комплекс CBF*

В частности, CBF играет важную роль в регуляции мегакариоцитопоэза [19–22].

Кроме того, *RUNX1* регулирует экспрессию легкой цепи миозина тромбоцитов, которая является важным компонентом в обеспечении нормальной адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов, что может объяснять тромбоцитопатию при FPD/AML [23].

Ген *RUNX1*, расположенный на 21-й хромосоме, кодирует субъединицу CBFα, а ген *CBFB* на 16-й хромосоме – CBFβ. *RUNX1* и *CBFB* наиболее часто становятся мишенью транслокаций и точечных мутаций, выявляемых при ОМЛ. Если транслокации касаются CBFα, то в состав химерного гена неизменно включается Runt-домен.

При FPD/AML описаны самые разнообразные мутации – от точечных замен до крупных делеций, захватывающих весь ген *RUNX1*. Интересно, что вероятность развития ОМЛ при полной делеции *RUNX1* существенно ниже, чем при точечных мутациях [24–28].

Первая из 2 нуклеотидных замен, выявленных в описываемой нами семье, является нейтральной мутацией, поскольку она расположена вне кодирующих или регуляторных участков гена [29]. При анализе 30 образцов крови здоровых доноров эта замена была обнаружена на 25 из 60 хромосом.

Что касается 2-й замены треонина в положении 147 на пролин, то, согласно структуре Runt-домена, представленной в работе Tahirov et al.(2001), боковая цепь треонина стабилизирует структуру α-субъединицы за счет водородных связей и входит в состав одной из двух гидрофильных зон контакта между α- и β-субъединицей CBF [9]. Li et al. на примере индуцированного мутагенеза штаммов дрожжей продемонстрировали, что замена соседнего фенилаланина 146 на аланин в 10 раз снижает прочность комплекса CBF-ДНК и ведет к снижению уровня транскрипции зависимых генов [30].

Появление пролина вместо треонина изменяет конформацию α-субъединицы, во-первых, за счет обязательного поворота аминокислотной цепи в месте включения пролина, во-вторых, за счет потери водородных связей треонина, стабилизирующих вторичную структуру. Разрушается и одна из гидрофильных зон, обеспечивающих контакт

с β-субъединицей. Все эти изменения должны со всей очевидностью привести к дестабилизации комплекса CBF-ДНК.

Гомологи гетеродимера CBF найдены у нематод, насекомых, рыб и т. д. Они принимают участие в каскадах, регулирующих эмбриональное развитие. Первоначально функции гена *runt* были установлены именно в ходе сегментации эмбриона дрозофилы, а потом было показано, что тот же ген включается и на более поздних этапах уже в составе других каскадов, например, при определении пола и в нейрогенезе.

Можно надеяться, что современные методы анализа полного транскриптома клетки позволят в ближайшее время очертить круг зависимых от CBF генов, нарушение активности которых влечет за собой изменение структуры и/или функции мегакариоцитов человека и облегчает трансформацию клетки [31].

Кажется естественным предположить, что нарушение функции тромбоцитов или их числа вызваны пониженной активностью транскрипционных комплексов, включивших в свой состав мутантную α-субъединицу. Подробное описание известных мутаций приведено в обзоре Osato (2004) [32].

Механизм развития ОМЛ при FPD/AML не до конца ясен. Возможно, наличие мутации в гене *RUNX1* ведет также к нарушению функционирования репрессорных комплексов, в которые входит мутантная α-субъединица, что облегчает трансформацию клеток. Но очевидно, что наличия самой по себе мутации *RUNX1* недостаточно для развития лейкоза – в пользу этого говорят как широкие вариации в частоте развития гемобластозов в пораженных семьях, так и подчас очень длинный интервал между выявлением тромбоцитопении и развитием ОМЛ. Так, в нашем наблюдении у первого пациента ОМЛ развился в возрасте 10 лет, у его сестры – в 19 лет, а у деда – в 78 лет. Это говорит о том, что для развития ОМЛ, как это и предсказывает современная модель лейкемогенеза, при FPD/AML необходимо 2-е генетическое событие. Таким вторым событием часто бывает мутация 2-го аллеля *RUNX1* или другие, «классические» лейкемогенные хромосомные нарушения – трисомия 8, трисомия 21, моносомия 5 и 7, FLT3-ITD [32–34].

Хотя подход к лечению FPD/AML с развившимся ОМЛ или МДС не отработан, логичным представляется выполнение аллогенной ТГСК, поскольку даже успешная химиотерапия не вылечивает пациента, а лишь возвращает его к предлейкемическому заболеванию. В этой ситуации, так же как и при других семейных генетических синдромах, чрезвычайно важной задачей является проведение соответствующего молекулярно-генетического исследования потенциального донора (сиблинга или другого семейного совместимого донора) во избежание выполнения трансплантации от больного FPD/AML. Случаи таких трансплантаций с развитием лейкозов из клеток донора описаны в литературе [34, 35].

К счастью, у нашей пациентки идентифицирована HLA-геноидентичная сестра, у которой было продемонстрировано отсутствие мутации в гене *RUNX1*, что позволило без опасений предложить проведение аллогенной трансплантации.

В заключение отметим, что, как показывает наше наблюдение, часть случаев FPD/AML может оставаться недиагностированной, учитывая зачастую умеренную тромбоцитопению и трудность выявления нетяжелых семейных случаев кровоточивости. Любой факт тромбоцитопении, прослеживающийся более чем в одном поколении одной семьи, особенно при сочетании с выявлением лейкозов (не только ОМЛ, но и ОЛЛ), должен быть исследован на предмет наличия мутаций в гене *RUNX1*.

Литература

1. Dowton S.B., Beardsley D., Jamison D. et al. Studies of a familial platelet disorder. Blood 1985 Mar;65(3):557–63.
2. Linden T., Schnittger S., Groll A.H. et al. Childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia in a patient with familial thrombocytopenia and *RUNX1* mutation. Br J Haematol 2010 Dec;151(5):528–30.
3. Ho C.Y., Otterud B., Legare R.D. et al. Linkage of a familial platelet disorder with a propensity to develop myeloid malignancies to human chromosome 21q22.1-22.2. Blood 1996 Jun 15;87(12):5218–24.
4. Song W.J., Sullivan M.G., Legare R.D.et al. Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia. Nat Genet 1999;23(2):166–75.
5. De Braekeleer E., Douet-Guilbert N., Morel F. et al. *RUNX1* translocations and fusion genes in malignant hemopathies. Future Oncol 2011 Jan;7(1):77–91.
6. Swiers G., de Bruijn M., Speck N.A. Hematopoietic stem cell emergence in the conceptus and the role of *Runx1*. Int J Dev Biol 2010;54(6–7):1151–63.
7. Dowdy C.R., Xie R., Frederick D.et al. Definitive hematopoiesis requires *Runx1* C-terminal-mediated subnuclear targeting and transactivation. Hum Mol Genet 2010 Mar 15;19(6):1048–57.
8. Miyoshi H., Ohira M., Shimizu K. et al. Alternative splicing and genomic structure of the AML1 gene involved in acute myeloid leukemia. Nucl Acids Res 1995;23(14): 2762–9.
9. Tahirov T.H., Inoue-Bungo T., Morii H. et al. Structural analyses of DNA recognition by the *AML1/Runx-1* Runt domain and its allosteric control by CBFβ. Cell 2001;104(5):755–67.
10. Kamachi Y., Ogawa E., Asano M. et al. Purification of a mouse nuclear factor that binds to both the A and B cores of the polyomavirus enhancer. J Virol 1990;64(10):4808–19.
11. Ogawa E., Maruyama M., Kagoshima H. et al. PEBP2/PEA2 represents a family of transcription factors homologous to the products of the Drosophila runt gene and the human *AML1* gene. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90(14):6859–63.
12. Mikhail F.M., Sinha K.K., Saunthararajah Y. and Nucifora G. Normal and transforming functions of RUNX1: a perspective. J Cell Physiol 2006;207(3):582–93.
13. Speck N.A., Terryl S. A new transcription factor family associated with human leukemias. Crit Rev Eukaryot Gene Expr

1995;5(3–4):337–64.
14. Zhang D.E., Fujioka K., Hetherington C.J. et al. Identification of a region which directs the monocytic activity of the colony-stimulating factor 1 (macrophage colony-stimulating factor) receptor promoter and binds PEBP2/CBF (AML1). Mol Cell Biol 1994;14:8085–95.
15. Sun W., Graves B.J., Speck N.A. Transactivation of the Moloney murine leukemia virus and T-cell receptor betta-chain enhancers by CBF and ets requires intact binding sites for both proteins. J Virol 1995;69:4941–9.
16. Cockerill P.N., Osborne C.S., Bert A.G., Grotto R.J. Regulation of GM-CSF gene transcription by core-binding factor. Cell Growth Differ 1996;7:917–22.
17. Austin G.E., Zhao W.G., Regmi A. et al. Identification of an upstream enhancer containing an AML1 site in the human myeloperoxidase (MPO) gene. Leuk Res 1998;22:1037–48.
18. Nuchprayoon I., Meyers S., Scott L.M. et al. PEBP2/CBF, the murine homolog of the human myeloid AML1 and PEBP2/CBF proto-oncoproteins, regulates the murine myeloperoxidase and neutrophil elastase genes in immature myeloid cells. Mol Cell Biol 1994;14:5558–68.
19. Elagib K.E., Racke F.K., Mogass M. et al. RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation. Blood 2003 Jun 1;101(11):4333–41.
20. Ben-Ami O., Pencovich N., Lotem J. et al. A regulatory interplay between miR-27a and *Runx1* during megakaryopoiesis. Proc Natl Acad Sci USA 2009 Jan 6;106(1):238–43.
21. Goldfarb A.N. Megakaryocytic programming by a transcriptional regulatory loop: A circle connecting RUNX1, GATA-1, and P-TEFb. J Cell Biochem 2009 Jun 1;107(3):377–82.
22. Pencovich N., Jaschek R., Tanay A., Groner Y. Dynamic combinatorial interactions of RUNX1 and cooperating partners regulates megakaryocytic differentiation in cell line models. Blood 2011 Jan 6;117(1):e1–14.
23. Jalagadugula G., Mao G., Kaur G. et al. Regulation of platelet myosin light chain (MYL9) by RUNX1: implications for thrombocytopenia and platelet dysfunction in RUNX1 haplodeficiency. Blood 2010 Dec 23;116(26):6037–45.
24. Michaud J., Wu F., Osato M. et al. *In vitro* analyses of known and novel RUNX1/AML1 mutations in dominant familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia: implications for mechanisms of pathogenesis. Blood 2002 Feb 15;99(4):1364–72.
25. Minelli A., Maserati E., Rossi G. et al. Familial platelet disorder with propensity to acute myelogenous leukemia: genetic heterogeneity and progression to leukemia via acquisition of clonal chromosome anomalies. Genes Chromosomes Cancer 2004 Jul;40(3):165–71.
26. Kirito K., Sakoe K., Shinoda D. et al. A novel *RUNX1* mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. Haematologica 2008 Jan;93(1):155–6.
27. Owen C.J., Toze C.L., Koochin A. et al. Five new pedigrees with inherited RUNX1 mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. Blood 2008 Dec1;112(12):4639–45.
28. Béri-Dexheimer M., Latger-Cannard V., Philippe C. et al. Clinical phenotype of germline RUNX1 haploinsufficiency: from point mutations to large genomic deletions. Eur J Hum Genet 2008 Aug;16(8):1014–8.
29. Levanon D., Glusman G., Bangsow T. et al. Architecture and anatomy of the genomic locus encoding the human leukemia-associated transcription factor RUNX1/AML1. Gene 2001 Jan 10;262(1–2):23–33.
30. Li Z., Yan J., Matheny C.J. et al. Energetic contribution of residues in the Runx1 Runt domain to DNA binding. J Biol Chem 2003 August 29;278(35):33088–96.
31. Michaud J., Simpson K.M., Escher R. et al. Integrative analysis of *RUNX1* downstream pathways and target genes. BMC Genomics 2008;9:363.
32. Osato M. Point mutations in the *RUNX1/AML1* gene: another actor in RUNX leukemia. Oncogene 2004;23(24):4284–96.
33. Preudhomme C., Renneville A., Bourdon V. et al. High frequency of RUNX1 biallelic alteration in acute myeloid leukemia secondary to familial platelet disorder. Blood 2009 May 28;113(22):5583–7.
34. Buijs A., Poddighe P., van Wijk R. et al. A novel CBFA2 single-nucleotide mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. Blood 2001;98:2856–8.
35. Owen C.J., Toze C.L., Koochin A.et al. Five new pedigrees with inherited RUNX1 mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. Blood 2008;112:4639–45.