

ROLE OF Bcr/Abl IN LEUKEMOGENESIS

G.D. Telegeev*, A.N. Dubrovskaya, M.V. Dybkov

*Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
03143, Ukraine*

РОЛЬ БЕЛКА Bcr/Abl В ЛЕЙКОЗОГЕНЕЗЕ

Г.Д. Телегеев*, А.Н. Дубровская, М.В. Дыбков

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

The review summarized data about the Bcr/Abl role in the development of chronic myelogenous leukemia and acute lymphoblastic leukemia. Bcr/Abl fusion protein is the main etiologic factor in the origin of Ph⁺-leukemias. Structure and function of Bcr/Abl domains as well as their interaction with cell proteins and participation in signal transduction are presented.

Key Words: chronic myelogenous leukemia, acute lymphoblastic leukemia, Ph⁺-chromosome, Bcr/Abl gene/protein, signal transduction.

В обзоре суммированы данные о роли белка Bcr/Abl в развитии хронической миелоидной лейкемии и острого лимфобластного лейкоза. Этот гибридный белок является главным фактором в развитии лейкоза, при котором обнаруживаются клетки, содержащие филадельфийскую хромосому. Основной акцент сделан на освещении структуры и функции доменов Bcr/Abl, особенностей их взаимодействия с другими белками в клетке, трансформирующих свойств, участия в передаче митогенного сигнала.

Ключевые слова: хроническая миелоидная лейкемия, острый лимфобластный лейкоз, филадельфийская хромосома, ген/белок Bcr/Abl, передача митогенного сигнала.

Первым цитогенетическим маркером опухолевого роста была описанная в 1960 г. маленькая G-окрашенная хромосома, названная филадельфийской (Ph) [1]. Образование данной хромосомы обусловлено реципрокной транслокацией между 9-й и 22-й хромосомами t(9;22)(q34;q11) [2]. Она выявляется приблизительно у 95% больных с хронической гранулоцитарной лейкемией, а также у 25-30% взрослых и 2-10% детей, больных острой лимфобластной лейкемией (ОЛЛ) [3]. На молекулярном уровне образование филадельфийской хромосомы сопровождается образованием нового слитного гена (представленного на 5'-конце участком гена *bcr*, а на 3'-конце — участком гена *abl* [4]). Как показывают многочисленные эксперименты, именно продукт транскрипции гена *bcr/abl* является главным этиологическим моментом в развитии Ph⁺-лей-

кемии. Это обусловлено не столько повышенной тирозинкиназной активностью гибридного белка, сколько особенностью структуры белка Bcr/Abl [3-5], взаимодействием различных его доменов между собой и с различными компонентами клетки. По-видимому, с этим связано изменение внутриклеточной локализации белка, расширение спектра вовлеченных во взаимодействие молекул, что определяет начальное развитие опухолевого процесса.

В обзоре представлены последние данные о структурно-функциональной организации белка Bcr/Abl, его трансформационных свойствах, влиянии на процесс прохождения различных сигналов в клетке.

Структура и функция белка Bcr

Ген *bcr* впервые идентифицирован как часть гибридного гена у больных с хронической миелоидной лейкемией (ХМЛ) с филадельфийской хромосомой. Ген *bcr* человека кодирует белок с молекулярной массой (м.м.) 160 кД, экспрессирующийся во многих тканях и имеющий несколько функциональных доменов [3-6].

Амино-концевая часть белка Bcr (1-63-й аминокислотный остаток — а. о.) (рисунок) включает домен олигомеризации. Мутации или делеции в гене, кодирующем эту область белка, не изменяют его тирозинкиназную активность, но упраздняют способность мутантных белков формировать олигомеры Bcr/Abl, Bcr/Abl-Bcr [7] и связываться с F-актином, что ослабляет трансформационные свойства белка [8].

Вторая область белка Bcr (176-427-й а. о.) определяет серин-треонин-киназную активность [9] и включает несколько функциональных участков — область (192-413-й а. о.), определяющая связывание с SH₂-доменом белка Abl [10], а также тирозин (177-й а. о.), фосфорилирование которого обеспечивает взаимодействие с адапторным белком Grb 2 [11]. Утрата этого участка в гибридном белке Bcr/Abl приводит к значительному снижению его трансформационных свойств, а также уменьшает независимость от факторов роста [12].

Белок p210 содержит часть белка Bcr, не представленного в белке p185 Bcr/Abl (рисунок). Эта область начинается с 427-го а. о. белка Bcr и заканчивается в большинстве случаев

Received: August 31, 1999.

* Correspondence.

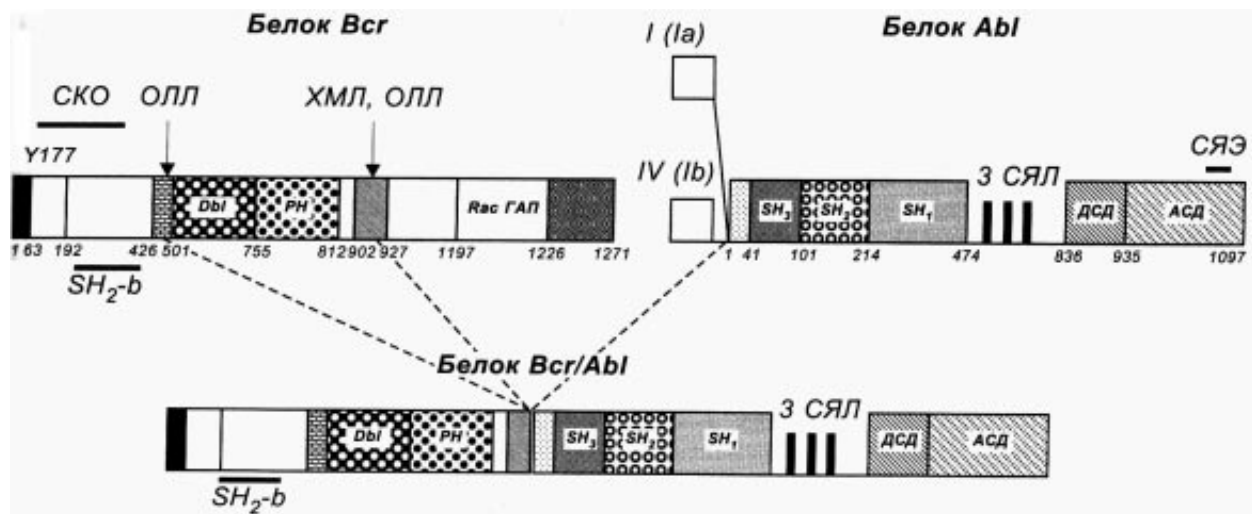


Рисунок. Структурно-функциональная организация белков Bcr, Abl и p210 Bcr/Abl.

Белок Bcr (1271 а. о.): 1-63 а) домен олигомеризации, б) домен, усиливающий связывание с актином; Y177 — точка связывания с доменом Grb2-SH₂; SKO — серин-треонин-киназная область; SH₂-b (192-413) SH₂-связывающий домен; DbI — область гомологии с продуктом протоонкогена DbI; PH — область гомологии с плекстрином; Rac-ГАП-домен (1197-1226) — ГТФазная активность для p21 гас.

Белок Abl (1097 а. о. + альтернативные домены Ia (26 а. о.) или Ib (45 а. о.)): SH₃ (42-101) и SH₂ (101-214) — некаталитические домены; 3 СЯЛ — сигнал ядерной локализации, определяет поступление белка в клетку; ДСД (836-935) — ДНК-связывающий домен; АСД (935-1097) — актинсвязывающий домен; СЯЭ (1057-1067) — область, определяющая выход белка из ядра. Стрелками указаны точки слияния белка Bcr с белком Abl в гибридном белке Bcr/Abl при ОЛЛ и ХМЛ

902-м или 927-м а. о. (область Major-Bcr). В дополнение к еще неохарактеризованной области между 427-м и 498-м а. о. белка Bcr, кодируемые 2, 3 экзонами гена, здесь представлены два хорошо охарактеризованных функциональных домена. Это, во-первых, домен DbI (498-750-й а. о.), названный так из-за высокой степени гомологии с продуктом протоонкогена DbI [13]. Эта область белка кодирует гуанин-нуклеотид-обменивающий фактор (GEF) для Rho-семейства ГТФ-связывающих белков (Rho, Rac, CDC42) *in vitro* [14]. Активация белка Rho в первую очередь обеспечивает образование F-актин-стрессовых волокон и фокальную адгезию [15].

Сразу за областью DbI располагается (частично перекрывая ее) и другая функциональная область, имеющая гомологию с широко распространенным мотивом — PH-доменом (pleckstrin homology). PH-домен присутствует в разнообразных белках, включая тирозинкиназы, связанные с цитоскелетом молекулы, ферменты липидного обмена, адапторные белки и регуляторы G-белков [16]. Он состоит примерно из 100 а. о., формируя трехмерную структуру, представленную 7 антипараллельными β-нитями и C-концевой α-спиралью. В белке DbI он представлен 703-812-м а. о. [17]. Предполагают, что PH-домен определяет связывание содержащего его белка с цитоплазматической мембраной посредством взаимодействия с фосфолипидами [18].

СООН-концевая часть Bcr содержит область гомологии с ГТФаза-активирующими белками (GAP) для белка p21 Rac.

Наибольшая область гомологии представлена в белке Bcr 1197-1226-м а. о. [19]. Активация этого домена ингибирует опосредованное белком Rac сморщивание мембраны — образование ламеллоподий [20]. Белок Rac, как известно, играет важную роль в "окислительном взрыве" в нейтрофилах *bcr⁺* мышей, предполагая роль белка Bcr в регуляции белка Rac [21, 22]. Мыши с гомозиготным нарушением гена *bcr* жизнеспособны [21].

В клетках белок Bcr является субстратом для нерецепторной тирозинкиназы c-Fes, связанной с ростом и дифференцировкой миелоидных клеток. Фосфорилирование приводит к ассоциации белка Bcr с SH₂-доменами различных белков, включая GRB2 (активируя Ras-путь), Ras-ГТФаза-активирующий белок, фосфолипазу C-γ, p85-субъединицу киназы PI-3 [23], стимулирует аутофосфорилирование самого белка c-Fes. Фосфорилированный Bcr подавляет серин-треонин-киназную активность в отношении VAP-1 (семейство 14-3-3 белков), уменьшая взаимодействие последнего с белком Raf-1.

Таким образом, представленные здесь данные свидетельствуют о том, что Bcr является полифункциональным белком, взаимодействующим со многими клеточными белками, что определяет его роль в передаче внутриклеточных сигналов и организации цитоскелета.

Структура и функции белка Abl

Протоонкоген *c-Abl* впервые был идентифицирован как нормальный клеточный гомолог вирусного онкогена *v-abl* (вируса лейкоза мышей Абельсона Ab-MuLV) и кодирует нерецептор-

ную тирозинкиназу [24]. Отличительной чертой гена *abl* является наличие двух альтернативных экзонов, называемых I и IV в геноме мыши и 1a и 1b в геноме человека [25, 26]. Роль подобных отличий неизвестна, хотя установлено, что белок, содержащий последовательности экзона 1b, находится преимущественно в ядре.

Гибридный белок *Vcr/Abl* содержит все функциональные домены *c-Abl*, за исключением части, кодируемой первым экзоном. В NH₂-концевой области белка в добавление к тирозинкиназному SH₁-домену, детерминирующему развитие опухолевого процесса [27], присутствуют и два некаталитических домена SH₂ и SH₃ [28]. Эти домены являются модульными структурами и определяют селективное белок-белковое взаимодействие [29]. Они присутствуют во многих белках, участвующих в передаче сигналов в клетке, и являются критическими при образовании стабильных сигнальных комплексов, регулирующих функцию белков. SH₂-домен связывается с высокой аффинностью с белком, содержащим фосфорилированный тирозин [30]. SH₃-домен связывается с пролин-богатым участком белков. В нормальном белке *c-Abl* SH₃-домен действует как негативный регулятор трансформации. Делеция SH₃-домена приводит к образованию трансформирующего белка *Abl* [31]. SH₃-домен в гибридном белке *Vcr/Abl* необходим для развития полного опухолевого фенотипа [32]. В клетке SH₃-домен связывается с различными белками [33, 34], включая семейство *Abl*-взаимодействующих белков (*Abl*-interactor) — *Abi-1* и *Abi-2* [35, 36]. Данные о влиянии SH₂-домена на развитие опухолевого процесса противоречивы и, как считают, определяются видом клеток, где экспрессируется *Vcr/Abl* [4, 37-39].

C-концевая часть белка *c-Abl* является областью, которая отличает его от других известных тирозинкиназ, большинство из которых локализовано на плазматической мембране или в ее области (рецепторные тирозинкиназы, *Src*, *Jak*, *FAK*). Помимо этого *c-Abl* находится также и в ядре [40], что вероятно, расширяет его роль в клетке. Укорочение C-концевой области *c-Abl* сочетается с неонатальной смертностью мышей с фенотипом, сходным с наблюдаемым у *c-abl*-null-мутантов [41]. Нахождение *c-Abl* в ядре обусловлено наличием трех сигналов ядерной локализации (NLS). Один из них представлен пятью остатками лизина (KKKKK) и находится в области 624-628-го а. о., два других — в области 569-583-го а. о. [42]. Замены этих а. о. приводят к замедлению поступления *c-Abl* в ядро, а наличие именно трех сигналов, по-видимому, определяет специфичность функционирования в различных тканях [42]. Наряду с сигналами ядерной локализации C-концевая область в положении 1057-1067-го а. о. (лейцин-богатый участок) содержит и сигналы

вывода из ядра (NES), что обеспечивает выход белка из ядра [43]. В той же области (935-1097-й а. о.) находится актин-связывающий домен, определяющий связывание белка с F-актином, а также с G-актином [44, 45], и предшествующий ему ДНК-связывающий домен (836-935-й а. о.), состоящий из высококомобильных доменов [46, 47].

Функциональная роль *c-Abl* в клетке неизвестна. м-РНК белка *c-Abl* имеется во всех тканях животных на протяжении всей жизни, ее наивысшая концентрация отмечается в тимусе и селезенке [48]. Нормальный *c-Abl* даже при 5-10-кратном повышении уровня концентрации не приводит к клеточной трансформации, а, вызывает остановку пролиферации [49, 50].

Субстратом для *c-Abl* в цитоплазме является CRK-семейство SH₂/SH₃-содержащих белков [51, 52] и Crk-связывающий белок p130Cas [53], а в ядре — РНК-полимераза II [54, 55]. Кроме того, цитоплазматический белок *Abl* взаимодействует с уже указанными выше белками *Abi-1*, *Abi-2* [35, 36]. Характерно, что количество белков *Abi* меняется при прогрессировании ХМЛ [56]. В ядре *c-Abl*, по-видимому, участвует в регуляции экспрессии генов. Взаимодействуя с белком *Rb*, *c-Abl* вовлекается в E2F-ДНК-связывающий комплекс [57]. Это приводит к ингибированию киназной активности *c-Abl* [58], что тормозит переход клеток в S-фазу цикла [42]. Фосфорилирование *Rb* в G₁/S-фазе клеточного цикла нарушает это взаимодействие, активируя *c-Abl* [59]. Активированная киназа фосфорилирует C-концевой домен РНК-полимеразы II, обуславливает транскрипцию с различных промоторов [60]. Активация *c-Abl* в S-фазе значительно усиливается под влиянием ДНК-повреждающих агентов, в том числе ионизирующего облучения [61].

Трансформирующие свойства, определяемые геном *bcr/abl*

Наличие характерного молекулярно-генетического маркера — слитного гена *bcr-Abl*, результатом экспрессии которого являются белки p210 *Vcr/Abl* и p190 *Vcr/Abl*, поставило вопрос о том, насколько специфичным является наличие последних в клетке для развития опухолевого фенотипа, а также обусловлено ли различное протекание ОЛЛ и ХМЛ различными функциональными (p210 и p190) белками. Первые эксперименты по оценке трансформирующих свойств были проведены на культуре клеток фибробластов с использованием ретровирусных конструкций, содержащих ген *p210 bcr/abl* [62]. Эти эксперименты показали, что в отличие от продукта гена *v-abl*, трансформирующего NIH/3T3-фибробласты, конструкции с геном *bcr/abl* их не трансформировали. В то же время при кооперации с онкогеном *v-myc* удается добиться трансформации фибробластов Rat-1,

хотя и со значительно меньшей эффективностью, чем при использовании гена *v-abl* [63, 64]. В этих же экспериментах было показано, что конструкции гена *p190 bcr/abl* обладали большей трансформирующей активностью, чем конструкции с геном *p210*.

Эксперименты с использованием культур клеток крови показали, что нормальные гемопоэтические клетки мыши, инфицированные ретровирусными конструкциями, содержащими *p210 Bcr/Abl*, приобретают способность к независимому от интерлейкина-3 росту [65] или к клональному размножению рге-В-лимфоидных клеток с высоким уровнем экспрессии белка *Bcr/Abl* [66-68]. В то же время различная степень туморогенности этих клонов предполагает, что наличия только гибридного белка недостаточно для индукции опухолевой трансформации [66, 67, 69].

Введение летально облученным мышам клеток костного мозга, трансформированных *Bcr/Abl*-содержащим ретровирусом, приводит к развитию лейкозов, при этом различные острые формы заболевания развивались с большей частотой, чем хронические при использовании ретровирусов с *p190* и *p210* [69-73]. Предполагают, что это связано с условиями культивирования клеток костного мозга, процедурой их инфицирования, генетической предрасположенностью реципиентных мышей, особенностями ретровирусных регуляторных последовательностей и т.д. [74, 75, 83].

У трансгенных мышей, во всех клетках которых экспрессировался гибридный ген *bcr/abl*, опухолевая трансформация наблюдалась только в гемопоэтических клетках, а использование конструкций с *p190 Bcr/Abl* приводило к быстрой смерти мышей вследствие острой лейкемии [76-78]. Попытки вызвать ХМЛ-подобные симптомы, используя конструкции с *p210 Bcr/Abl*, заканчивались либо ранней смертью эмбрионов [79], либо преимущественным развитием ОЛЛ [80, 81]. Изменение конструкции векторов, использование интронных участков гибридного гена позволило получить жизнеспособное потомство, у большей части которого через относительно длительный промежуток времени развивались В-, Т-клеточные, а также миелоидные (ХМЛ-подобные) лейкемии [82-84].

Итак, перечисленные данные свидетельствуют о том, что гибридный ген *bcr/abl* является необходимым компонентом для опухолевой трансформации клеток костного мозга. Установлено также, что экспрессия *p190* в клетках приводит к развитию острых лейкемий. В то же время однозначно показать, что хроническое течение лейкемии обусловлено наличием *p210*, пока не удалось, то есть вопрос об обусловленности острых и хронических форм лейкемии лишь *p190* и *p210* продолжает оставаться открытым.

Роль мутаций гена *bcr/abl* в механизме опухолевой трансформации

Хотя уже известна определенная корреляция между длиной *bcr/abl*-транскриптов и лейкоэмическим фенотипом, вопрос о природе полиморфизма Ph'-позитивных лейкозов остается открытым. Среди возможных причин были названы специфичность метилирования онкогена *bcr/abl* и неодинаковая активность регуляторных последовательностей при разных вариантах разрывов *bcr*, которые могут обусловить различные уровни экспрессии онкогена [85], а также отличия в локусах трансформации: в то время как начальные события при ХМЛ затрагивают исключительно мультипотентные гемопоэтические стволовые клетки, поражение более дифференцированных клеток системы кроветворения может вызывать только транзитный лейкоцитоз [86]. Но эти предположения не получили в дальнейшем экспериментальных подтверждений. Сравнительный анализ транскрипционной активности гена *bcr/abl* не выявил существенных различий при ХМЛ и ОЛЛ [87,88], а трансформация мультипотентных гемопоэтических стволовых клеток с участием *bcr/abl* практически с равной вероятностью способствует развитию как ХМЛ, так и ОЛЛ [89-91].

Помимо перечисленных существует предположение о накоплении вторичных генных и (или) хромосомных мутаций в дополнение к Ph'-транслокации, что приводит к появлению лейкозного фенотипа и к опухолевой прогрессии при ХМЛ [92, 93].

Действительно, во многих случаях экспрессия единичного онкогена не обеспечивает превращение нормальной клетки в опухолевую. В экспериментах на трансгенных мышах показано, что экспрессия только онкогена *myc* или *v-H-ras* обычно не вызывает возникновения опухолей. Даже у гибридов, полученных от *v-H-ras* и *myc*-трансгенных родителей, в тканях, экспрессирующих оба этих онкогена, не все клетки становились опухолевыми, хотя частота трансформации значительно возрастала [94]. Поэтому возможно, что даже в присутствии онкогена *bcr/abl* должны произойти какие-то добавочные случайные изменения для образования полного опухолевого фенотипа. Эти мутации могут изменить активность различных генов и (или) затрагивать сам онкоген *bcr/abl*.

Известно, что трансформирующие свойства *v-Abl* объясняются заменой NH₂-концевой аминокислотной последовательности нормального клеточного белка Abl, которая включает SH₃-домен, последовательностью GAG и некоторыми дополнительными аминокислотными заменами [10, 95, 96]. В то же время обе формы белка *Bcr/Abl* имеют интактный домен SH₃ и не несут сигналов миристилирования и добавочных изменений аминокислотной последовательности [5, 97].

Следовательно, повышение опухолеродного потенциала Abl-протеинкиназы должно обеспечиваться Vcr-частью химерного белка, которая функционально заменяет как делецию NH₂-концевого участка Abl-киназы, ингибирующего ее ферментную активность, так и сигналы миристилирования. Если же в случае Ph'-транслокации онкогенность определяется vcr-последовательностью, то это дает право предположить, что сценарий клеточной трансформации зависит от характера изменений vcr-части слитного гена.

Поскольку бластный криз ХМЛ, как и ОМЛ, сопряжен с увеличением количества незрелых миелоидных или лимфоидных клеток, но не сопровождается усилением экспрессии онкобелка p190 Vcr/Abl, характерной для ОЛЛ, то это может свидетельствовать в пользу точечных изменений в тех доменах, которые специфичны для p210 Vcr/Abl, но отсутствуют в белке p190 Vcr/Abl, в том числе и Dbl-домена, имеющего высокую степень гомологии к аминокислотным последовательностям человеческого онкобелка Dbl и белка CDC24 из *Saccharomyces cerevisiae* [98-100]. По своим внутриклеточным функциям он является гуанин-нуклеотид-обменивающим фактором (GEF) для некоторых представителей семейства Rho ГТФаз, наиболее специфичным для белков Cdc 42 и RhoA [14]. Активность GEF домена Dbl онкобелка Vcr/Abl, провоцирующая образование актиновых стрессовых волокон, наряду с F-актинсвязывающей способностью Vcr/Abl, может обусловить цитоплазматическое распределение активности опухолевой тирозинкиназы, что оказывается недостаточным для создания полного опухолевого фенотипа клеток, характерных для бластного криза при ХЛЛ и ОЛЛ. В то же время другая ГТФаза — Cdc42 Hs — может участвовать в приостановке цикла клеточного деления по пути, зависимому от p38-киназы [101].

Вследствие предполагаемых изменений в Dbl-домене Vcr/Abl, которые закрепляются опухолевой селекцией, большую активность смогли бы проявлять иные белки с GEF-активностью для тех же самых ГТФаз, в частности, белок Vav. Как указывалось выше, Vav является одной из мишеней Vcr/Abl-киназы, которая переводит его в активное состояние [102]. Dbl-домен Vcr/Abl и Vav имеют общие эффекторы из Rho-семейства, но действуют на них неодинаково — активность Vav направлена больше на Rad-ГТФазу [14, 103]. Возможно, что преимущественная активация Rac1 вызывает разрушение стрессовых волокон, увеличение диффузии актиновых мономеров, то есть перераспределение внутриклеточного пула Vcr/Abl и более локальное фосфорилирование ряда мембранных и околочелюстных белков: Lyn, Hsk, FAK, Shc, p190, c-Kit и ряда других, что влечет за собой активацию сигнала от многих

клеточных рецепторов, повышает экспрессию белков — индукторов клеточного выживания и деления и запускает аутокринный механизм образования ростовых факторов.

Есть много данных в пользу решающей роли околочелюстного расположения онкогенных протеинкиназ в малигнизации клетки. Например, аминокислотные замены в цепи NH₂-концевой миристиновой кислоты у c-Src-киназы нарушают ее способность прикрепляться к мембране и трансформировать клетки [104].

Белки Gag-v-Abl вируса мышиной лейкемии Абельсона и Gag-Vcr/Abl, связывающиеся с мембраной благодаря миристилированной NH₂-концевой области, обеспечивают независимость пролиферации трансформированных фибробластов P-3T3 как от адгезии, так и от ростовых факторов [95, 96, 105], в то время как немристилированный белок Vcr/Abl отменяет зависимость только от сигналов прикрепления [5, 95].

Таким образом, околочелюстная локализация протеинкиназной активности белка Vcr/Abl достаточна для обеспечения полной опухолевой трансформации и ей, вероятно, могут способствовать не только изменения в Dbl-домене, но и другие функциональные изменения доменов слитного онкобелка.

Вследствие Ph'-транслокации теряется COOH-концевая область Vcr с GAP (от GTPase activating protein) — активностью для белков Rac и Cdc42, которая переводит эти ГТФазы в неактивное, ГДФ-связанное состояние [14, 98]. Образование химерного белка Vcr/Abl сопряжено с двукратным уменьшением Vcr GAP-активности в клетке, а мутации интактного гена *vcr* могут приводить к полному ее исчезновению.

У мышиных vcr-null-мутантов наблюдается повышение количества мембраносвязанного, т.е. активированного белка Rac. Установлено, что Vcr играет заметную роль в регуляции функции Rac в лейкоцитах и участвует в Rac-зависимом лейкогенезе [14].

Повышение внутриклеточного уровня ГТФ-связанного Rac-белка вследствие дисфункции Vcr-Dbl и Vcr-GAP может вызывать активацию рибосомальной S6-киназы (p70S6K) [106], включение JNK/SAPK, p38-сигнальных каскадов [107-115], репликацию ДНК и деление клеток. Мышиные фибробласты P-3T3, трансформированные онкогеном *v-abl*, но мутантные по *rac*, теряют способность к делению без ростовых факторов [105]. В то же время доминантные неактивные мутации *c-jun* нарушают трансформацию клеток под действием онкогена *bcr/abl*. Клетки Т-лимфомы, которые экспрессируют гиперактивный Rac1, приобретают способность к инвазии [116]. Установлено, что повышение клеточной подвижности и инвазивности под действием Rac1 не требуют участия JNK- или p70S6-киназ, а определяется активностью киназы P1-3 [117]. Активация последней под

действием Cdc 42 и Rac1 изменяет организацию актинового цитоскелета опухолевых клеток, повышая их способность проникать через базальную мембрану и формировать вторичные колонии. Эти факты свидетельствуют о том, что Rac1-сигнальный путь необходим для развития событий Ph⁺-лейкозогенеза, процессов инвазии опухолевых клеток и метастазирования.

Следует учитывать и возможное участие в малигнизации белкового продукта нормального гена *c-abl* — *c-Abl*-протеинкиназы, относящейся к убиквитарным и полифункциональным клеточным белкам [118, 119]. Ее ядерная локализация, наличие ДНК-связывающего домена и тирозинкиназной активности обеспечивают *c-Abl* активное участие в регуляции клеточного цикла и генной экспрессии. Ферментные свойства *c-Abl* зависят от его ассоциации с опухолевым супрессорным белком ретинобластомы pRb. Реализация клеточного цикла сопровождается фосфорилированием белка Rb циклинзависимыми киназами в рестрикционной точке G₁-фазы и высвобождением активированной *c-Abl*-протеинкиназы, которая среди других ядерных белков фосфорилирует каталитическую субъединицу РНК-полимеразы II и тем самым способствует генной транскрипции [60, 120].

Но в то же время *c-Abl* причастен к остановке цикла деления и запуску стрессового сигнального пути при участии киназы JNK/SAPK в ответ на повреждения ДНК генотоксическими лекарственными препаратами или ионизирующим излучением [121-123]. Не исключено, что нарушение функции гена *abl* в случае Ph⁺-транслокации и, возможно, дополнительные мутации в нем могут способствовать возникновению лекарственной резистентности лейкоэмических клеток.

Как предполагают, блокирование клеточного цикла сопровождается образованием комплексов *c-Abl* и опухолевого супрессорного белка p53, повышением экспрессии гена *p21* и снижением активности циклинзависимой киназы Cdk2, необходимой для фосфорилирования белка Rb и отмены pRb-зависимой остановки цикла деления [122, 123].

Как известно, инактивация супрессорных генов опухолевого роста, в том числе *p53* и *Rb*, имеет большое значение в развитии многих опухолей [124, 125]. Тем не менее, анализ мутаций опухолевых супрессорных генов *Rb* и *p53* у больных ХМЛ с применением ПЦР-технологии, гибридизации с олигонуклеотидными зондами, секвенирования полинуклеотидных последовательностей опроверг выдвинутое ранее предположение о существенном вкладе этих генетических нарушений в Ph⁺-лейкозогенез. Хотя нарушение гена *p53* было обнаружено у 5% больных в острой стадии ХМЛ [93, 126], изменение гена *Rb* в острой и хронической ста-

диях и гена *p53* в хронической стадии Ph⁺-миелолейкоза не были обнаружены или их частота была очень низкой [92].

Интересно, что в случае острого Ph⁺-негативного миелолейкоза частота мутаций как опухолевых супрессорных генов, так и протоонкогенов намного выше, чем при Ph⁺-позитивных лейкомиях, — нарушения гена *p53* были выявлены у 30% пациентов с Ph⁺-негативным ОМЛ. Если частота мутаций протоонкогенов *H-, N-, K-ras* у больных с Ph⁺-позитивным ХМЛ составляет 0-3%, ОМЛ — 10%, то при Ph⁺-негативном ОМЛ она достигает 30% [126-128]. Это указывает на разные молекулярные предпосылки клеточной трансформации при Ph⁺-позитивных и Ph⁺-негативных миело-пролиферативных процессах.

Очевидно, что мутации супрессорных опухолевых генов и протоонкогенов *Ras*-семейства не влияют или влияют незначительно на формирование фенотипа Ph⁺-позитивных лейкозных клеток. Молекулярные основы опухолевой прогрессии, по-видимому, следует искать в изменениях самого онкогена *bcr/abl*, нормальных генов *abl*, *bcr*, а также тех онкогенов, экспрессия которых специфична для гемопоэтических клеток, а особенно для лимфоидного роста: *vav*, *cbl*, *crk* и других. Не исключено, что Ph⁺-трансформация происходит лишь при участии большого количества вторичных генетических изменений, которые сохраняются и накапливаются в клеточной популяции в ходе опухолевой селекции.

Белок Bcr-Abl и пути передачи внутриклеточного сигнала

Опухолевая тирозинкиназа Bcr/Abl способна фосфорилировать и связывать большое количество цитоплазматических белков [5, 12, 95, 129], что обеспечивает ее участие во многих параллельных путях передачи внутриклеточного сигнала, p210 Bcr/Abl уменьшает аффинность адгезивных рецепторов [129] и активирует интегринзависимый сигнальный путь [95, 129, 130]. При взаимодействии этого белка с внеклеточным матриксом контролируются деление, дифференцировка и апоптоз гемопоэтических клеток, что осуществляется за счет интегриновых рецепторов [131-135]. Центральное место в интегринзависимой сигнальной передаче принадлежит киназе фокальной адгезии (ФАК) [120, 134-137]. ФАК ассоциируется как с цитоплазматическими доменами β₁-субъединицы интегринового рецептора, так и с рядом внутриклеточных сигнальных молекул: тирозиновой протеинкиназой Src, адапторными белками Grb2 и Crk, цитоскелетным белком паксалином и фосфатидилинозитол-3-киназой (PI-3K) [120, 134, 135, 138], каждая из которых выступает эффектором для онкобелка p210 Bcr/ Abl [5, 11, 12, 39, 129, 139, 140].

Адапторные белки Grb 2 и Crk являются участниками RAS/MAPK-сигнального пути [98, 137, 141], ведущего как к экспрессии генов раннего ответа *c-fos* и *c-jun* [141, 142], так и к активации фосфолипазы A_2 (PLA₂) [134]. PLA₂ гидролизует глицерофосфолипиды с образованием лизофосфолипидов и арахидоновой кислоты, продукты превращений которой важны для контроля полимеризации актина [134].

Деление клеток зависит не только от адгезии к матриксу, но и от факторов роста. Трансформация онкогеном *bcr/abl* разных типов клеток по-разному изменяет условия митогенеза. Если для популяции фибробластов NIH 3T3 активность p210 Bcr/Abl обеспечивает независимость клеточного деления только от прикрепления, но не от факторов роста, то пролиферация гемопоэтических клеток ряда линий, трансформированных p210 Bcr/Abl, таких как BaF3, M07E, NFS/N1.H7, не зависит ни от адгезии, ни от экзогенных факторов роста [95, 142, 143]. Однако согласно другим сообщениям, p210 Bcr/Abl только уменьшает, а не полностью устраняет потребность в факторах роста у нормальных мышинных гемопоэтических клетках-предшественников [5]. Возможно, что неодинаковый трансформирующий потенциал p210 Bcr/Abl может зависеть как от особенностей отдельных клеток и клеточных линий из-за накопления ими специфических генных изменений, так и от характера генной экспрессии, присущей клеточному типу в целом. В перечисленных гемопоэтических клетках, но не в фибробластах, p210 Bcr/Abl способен активировать передачу митогенного сигнала от рецепторов факторов роста и вызывать образование аутокринных факторов роста [129, 143]. Среди цитокинов особая роль в контроле деления, выживания и дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников принадлежит IL-3, SF (stem cell factor), GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor) [131, 132, 144-150]. Передача сигнала от рецепторов во многом синергична. В ходе связывания с лигандом происходит активация рецепторных (*c-kit*) или нерецепторных (*c-Fes*, Yes, Lyn, Hsk, JAK) тирозиновых протеинкиназ, необходимая для связывания с цитоплазматическими доменами рецепторов и последующего фосфорилирования многих сигнальных молекул, а именно: Shc, Vav, PLC γ , STAT1, STAT5, STAT3 [144, 145, 147, 150, 151] и ассоциации с регуляторной p85-субъединицей PI-3K [144, 151, 152].

В трансформированных клеточных линиях активация RAS/MAPK-сигнальной передачи от рецепторов факторов роста происходит путем связывания адапторного белка Grb2 и фосфорилирования трех других адапторных белков — Shc, CrkL, Cbl — онкобелком p210 Bcr/Abl [5, 11, 38, 129, 137, 150].

Белки CrkL и Cbl имеют особое значение в лейкозогенезе, т.к. они фосфорилированы по тирозину еще в первичных Ph⁺-позитивных клетках-предшественниках [129]. В опытах по трансфекции онкоген *cbl* вызывает В-клеточную и миелоидную лейкемию мышей, а его белковый продукт взаимодействует со многими вспомогательными сигнальными молекулами — CrkL, Crk, Grb2 и с регуляторной единицей p85 PI-3K [153, 154].

Активация RAS/MAPK-сигнального пути важна, но недостаточна для формирования полного опухолевого фенотипа. Трансформированные клетки линии NIH3T3 с доминантными негативными мутациями генов *ras* и *raf* сохраняют способность расти без прикрепления к матриксу [95]. Активация Ras-сигнального пути необходима для выживания, но недостаточна для запуска митоза [12, 142, 155]. Существуют альтернативные сигнальные пути, участие в которых белка p210 Bcr/Abl ведет к необратимой опухолевой трансформации. К ним относятся PI-3K-, PLC γ -, JAK/STAT-, Vav-зависимые пути передачи внутриклеточного сигнала.

Фосфолипаза C γ (PLC γ) осуществляет расщепление фосфатидилинозитол-4, 5-дифосфата на инозитолтрифосфат (IP₃), образование которого приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺, и 1, 2-диацилглицерин (DAG), который активирует протеинкиназу C (PKC). PLC γ является важнейшим внутриклеточным регулятором митогенеза, перестроек цитоскелета и одним из эффекторов p210 Bcr/Abl-киназы [156].

Транскрипционные факторы STAT-семейства (signal transducer and activators transcription), белки STAT1, STAT5 фосфорилируются под действием JAK (Janus kinase) и киназы p210 Bcr/Abl и участвуют в экспрессии гена раннего ответа *c-fos* [145, 147, 157, 158].

Липидная киназа PI-3K фосфорилирует фосфатидилинозитол (PI) и его производные PI(4)P; PI (4, 5)P₂ в D₃-положении инозитольного кольца. Ее продукты играют важную роль в перестройках цитоскелета [134, 138, 159], клеточной пролиферации и трансформации [39, 139, 159, 160]. Инозитольные липиды, которые фосфорилируются PI-3K, необходимы для инактивации белка Bad, запускающего апоптоз.

Предполагаемая последовательность событий, способствующих выживанию клеток, такова: под действием факторов роста PI-3K образует вторичные мессенджеры PI(3, 4)P₂ и P1(3, 4, 5)P₃, которые связывают и активируют серинтреонин-протеинкиназы Akt и PDK (phosphoinositide-dependent kinase-1) через их PH (plekstrin homology)-домен [161]. Активированная киназа Akt фосфорилирует проапоптозный фактор Bad. Последующая диссоциация гетеродимеров Bcl-2 семейства Bad/Bcl-XL или Bad/Bcl-2

ведет к мобилизации путей клеточного "спасения", к подавлению выхода цитохрома С из митохондрий и последующего каспазного-протеазного каскада, ведущего к гибели клетки [161-165].

Помимо этого, активированная продуктами PI-3K протеинкиназа Akt повышает внутриклеточный уровень Bcl-2 и c-Myc [39]. Эти два сигнала достаточны для вступления клеток в цикл деления и обеспечивают гемопозитическим клеткам линии BaF3, трансфицированных гиперактивной киназой Akt, независимость от экзогенных факторов роста [39].

Регуляторная субъединица p85 фосфатидилинозитол-3-киназы взаимодействует с p210 Bcr/Abl-тирозинкиназой [139, 153], а специфический ингибитор PI-3K-вортманин — угнетает рост Ph⁺-позитивных клеточных линий [139]. Все эти факты свидетельствуют о важной роли PI-3K-пути в Ph⁺-индуцированном лейкозогенезе.

Еще одной важной мишенью для влияния фосфорилирования Bcr/Abl является Vav. Белковый продукт протоонкогена *vav* необходим для контроля, дифференцировки и функционирования T- и B-лимфоцитов [166-168]. Нарушение *vav*-локуса ведет к изменениям в лимфогенезе и развитию лимфопении. Vav является Db1-доменсодержащим гуанин-нуклеотид-обменивающим GEF-белком, наиболее специфичным для Rac1 и в меньшей степени — для RhoA и Cdc42 ГТФаз [103]. Активация белка Vav в Ph⁺-гемопозитических клетках происходит путем фосфорилирования под действием рецепторных тирозинкиназ и Bcr/Abl-киназы [102, 167, 168]. Фосфорилированный p95Vav катализирует замену ГДФ/ГТФ для указанных ГТФаз, переводя их в активное состояние [98].

RhoA, Rac1, Cdc42 — члены небольшого RhoA-семейства белков-регуляторов организации цитоскелета [98, 103, 107, 108, 116]. Активация Rac1 под действием факторов роста вызывает сморщивание клеточной мембраны и фосфорилирование тонких выростов — ламеллоподий [108, 116, 169]. RhoA необходим для образования актиновых стрессовых волокон и фокальных контактов, а Cdc42 — для появления микрошипов - филоподий [108, 169, 170]. На молекулярном уровне RhoA и Rac1 регулируют активность фосфатидилинозитол-4-фосфат-5-киназы (PIP₂-5K), т.е. образование фосфатидилинозитолбифосфатов (PIP₃), необходимых для актиновой полимеризации [108, 134, 169, 171]. Cdc42 связывает p85-субъединицу PI-3K и активирует киназную активность [172]. Cdc42 и Rac активируют JNK/SAPK (c-jun terminal kinase/stress activated protein kinase), а Rac и Rho — p38-путь регуляции деления клеток, их созревания и апоптоза [107, 108, 109-114]. Один из путей взаимодействия Ras- и Rac/ Rho-сигнальных каскадов осуществляется на

уровне GAP-белков (GTPase activating protein) — p120 RAS GAP и p190 Rho GAP, которые являются эффекторами p210 Bcr/Abl-тирозинкиназы в опухолевых клетках [160, 172, 115, 173]. Связывание p190 с Ras GAP, как и его фосфорилирование, ведет к повышению активности p190 Rho GAP, уменьшению содержания внутриклеточного Rho-ГТФ и к разрушению актиновых стрессовых волокон [160].

Таким образом, p210 Bcr/Abl активирует многие сигнальные пути, которые, по-видимому, отличаются в гемопозитических клетках и фибробластах, что создает разные условия для клеток Bcr/Abl-зависимой трансформации клеток.

Нарушение митогенного сигнала и увеличение продолжительности жизни клеток крови под действием p210 Bcr/Abl приводит к преимущественному накоплению миелоидных клеток, наблюдаемому в течение хронической фазы ХМЛ. Устойчивость к апоптозу и неконтролируемый рост клеточной популяции могут приводить к накоплению вторичных мутаций и опухолевой прогрессии,

Заключение

Продукт гибридного гена *bcr/abl* является главным первичным фактором, определяющим начальную стадию ХМЛ и ОЛЛ при наличии филадельфийской хромосомы. Накопление добавочных мутаций с течением времени приводит к селекции клеток, дающих начало бластному кризу. Однако все звенья этого процесса с участием Bcr/Abl и других сигнальных белков при развитии разных вариантов бластных кризов предстоит еще выяснить.

Несмотря на значительные успехи в понимании молекулярных основ возникновения ХМЛ, пока не разработаны достаточно эффективные методы терапии. Если первоначально основной мишенью для воздействия являлся ген/ белок BCR/ABL (использование антисенс олигонуклеотидов, рибозимов, антител, ингибиторов тирозинкиназ), то с расширением спектра взаимодействующих с Bcr/Abl молекул расширяется и выбор терапевтических подходов.

Работа была частично поддержана грантом UB 1-294 правительства Украины и Фонда гражданских исследований и развития (США).

Литература

1. Nowell PC, Hunderford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; **132**: 1497-9.
2. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; **243**: 290-3.
3. Телегеев ГД, Дыбков МВ, Карпенко ОИ, Черепенко ЕИ. Молекулярные основы Ph-лейкемий и пути их лечения. *Биополимеры и клетка* 1994; **10** (5): 78-92.
4. Gishizky ML. Molecular mechanisms of Bcr-Abl-induced oncogenesis. *Cytokines Mol Ther* 1996; **2**: 251-61.

5. **Butturini A, Arlinghaus RB, Gale RP.** BCR/ Abl and leukemia. *Leuk Res* 1996; **20**: 523-9.
6. **Heisterkamp N, Stam K, Groffen J, et al.** Structural organization of the *bcr* gene and its role in the Ph^ttranslocation. *Nature* 1985; **315**: 758-61.
7. **McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY.** A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins. *Mol Cell Biol* 1993; **13**: 7587-95.
8. **Muller AJ, Young JC, Pendergast AM, et al.** BCR first exon sequences specifically activate the BCR/Abl tyrosine kinase oncogene of Philadelphia chromosome-positive human leukemias. *Mol Cell Biol* 1991; **11**: 1785-92.
9. **Maru Y, Witte ON.** The BCR gene encodes a novel serine/threonine kinase activity within a single exon. *Cell* 1991; **67**: 459-68.
10. **Pendergast AM, Muller AJ, Havlik MH, et al.** BCR sequences essential for transformation by the BCR-Abl oncogene bind to the Abl SH₂ regulatory domain in a non-phosphotyrosine-dependent manner. *Cell* 1991; **66**: 161-71.
11. **Pendergast AM, Quilliam LA, Cripe LD, et al.** BCR-Abl-induced oncogenesis is mediated by direct interaction with the SH₂ domain of the GRB-2 adaptor protein. *Cell* 1993; **75**: 175-85.
12. **Cortez D, Kadlec L, Pendergast AM.** Structural and signaling requirements for BCR-Abl-mediated transformation and inhibition of apoptosis. *Mol Cell Biol* 1995; **15**: 5531-41.
13. **Ron D, Zannini M, Lewis M, et al.** A region of proto-dbl essential for its transforming activity shows sequence similarity to a yeast cell cycle gene, CDC24, and the human breakpoint cluster gene, *bcr*. *New Biol* 1991; **3**: 372-9.
14. **Chuang TH, Xu X, Kaartinen V, Heisterkamp N, et al.** *Abr* and *Bcr* are multifunctional regulators of the Rho GTP-binding protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**: 10282-6.
15. **Ridley AJ, Hall A.** The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* 1992; **70**: 389-99.
16. **Shaw G.** The pleckstrin homology domain: an intriguing multifunctional protein module. *Bioessays* 1996; **18**: 35-46.
17. **Zheng Y, Zangrilli D, Cerione RA, Eva A.** The pleckstrin homology domain mediates transformation by oncogenic *dbl* through specific intracellular targeting. *J Biol Chem* 1996; **271**: 190-20.
18. **Harlan JE, Hajduk PJ, Yoon HS, Fesik SW.** Pleckstrin homology domains bind to phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate. *Nature* 1994; **371**: 168-70.
19. **Diekmann D, Brill S, Garrett MD, et al.** *Bcr* encodes a GTPase-activating protein for p21rac. *Nature* 1991; **351**: 400-2.
20. **Ridley AJ, Self AJ, Kasmi F, et al.** rho family GTPase activating proteins p190, *bcr* and rhoGAP show distinct specificities *in vitro* and *in vivo*. *EMBO J* 1993; **12**: 5151-60.
21. **Voncken JW, van Schaick H, Kaartinen V, et al.** Increased neutrophil respiratory burst in *bcr*-null mutants. *Cell* 1995; **80**: 719-28.
22. **Diekmann D, Abo A, Johnston C, et al.** Interaction of Rac with p67phox and regulation of phagocytic NADPH oxidase activity. *Science* 1994; **265**: 531-3.
23. **Li J, Smithgall TE.** Co-expression with BCR induces activation of the FES tyrosine kinase and phosphorylation of specific N-terminal BCR tyrosine residues. *J Biol Chem* 1996; **271**: 32930-6.
24. **Goff SP, Gilboa E, Witte ON, Baltimore D.** Structure of the Abelson murine leukemia virus genome and the homologous cellular gene: studies with cloned viral DNA. *Cell* 1980; **22**: 777-85.
25. **Ben-Neriah Y, Bernards A, Paskind M, et al.** Alternative 5' exons in *c-abl* mRNA. *Cell* 1986; **44**: 577-86.
26. **Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, et al.** Alternative splicing of RNAs transcribed from the human *abl* gene and from the *bcr-abl* fused gene. *Cell* 1986; **47**: 277-84.
27. **Pendergast AM, Gishizky ML, Havlik MH, Witte ON.** SH1 domain autophosphorylation of P210 BCR/Abl is required for transformation but not growth factor independence. *Mol Cell Biol* 1993; **13**: 1728-36.
28. **Pawson T, Gish GD.** SH2 and SH3 domains: from structure to function. *Cell* 1992; **71**: 359-62.
29. **Rodaway AR, Sternberg MJ, Bentley DL.** Similarity in membrane proteins. *Nature* 1989; **342**: 624.
30. **Koch CA, Anderson D, Moran MF, et al.** SH2 and SH3 domains: elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. *Science* 1991; **252**: 668-74.
31. **Mayer BJ, Baltimore D.** Mutagenic analysis of the roles of SH2 and SH3 domains in regulation of the Abl tyrosine kinase. *Mol Cell Biol* 1994; **14**: 2883-94.
32. **Skorski T, Nieborowska-Skorska M, Wlo-darski P, et al.** The SH3 domain contributes to BCR/ Abl-dependent leukemogenesis *in vivo*: role in adhesion, invasion, and homing. *Blood* 1998; **91**: 406-18.
33. **Cicchetti P, Mayer BJ, Thiel G, Baltimore D.** Identification of a protein that binds to the SH3 region of Abl and is similar to Bcr and GAP-rho. *Science* 1992; **257**: 803-6.
34. **Ren R, Mayer BJ, Cicchetti P, Baltimore D.** Identification of a ten-amino acid proline-rich SH3 binding site. *Science* 1993; **259**: 1157-61.
35. **Shi Y, Alin K, Goff SP.** Abl-interactor-1, a novel SH3 protein binding to the carboxy-terminal portion of the Abl protein, suppresses *v-abl* transforming activity. *Genes Dev* 1995; **9**: 2583-97.
36. **Dai Z, Pendergast AM.** Abl-2, a novel SH3-containing protein interacts with the *c-Abl* tyrosine kinase and modulates *c-Abl* transforming activity. *Genes Dev* 1995; **9**: 2569-82.
37. **Oda T, Tamura S, Matsuguchi T, Griffin JD, Druker BJ.** The SH2 domain of Abl is not required for factor-independent growth induced by BCR-Abl in a murine myeloid cell line. *Leukemia* 1995; **9**: 295-301.
38. **Goga A, McLaughlin J, Afar DE, et al.** Alternative signals to RAS for hematopoietic transformation by the BCR-Abl oncogene. *Cell* 1995; **82**: 981-8.
39. **Skorski T, Bellacosa A, Nieborowska-Skorska M, et al.** Transformation of hematopoietic cells by BCR/Abl requires activation of a PI-3k/Akt-dependent pathway. *EMBO J* 1997; **16**: 6151-61.
40. **Van Etten RA, Jackson P, Baltimore D.** The mouse type IV *c-abl* gene product is a nuclear protein, and activation of transforming ability is associated with cytoplasmic localization. *Cell* 1989; **58**: 669-78.
41. **Tybulewicz VL, Crawford CE, Jackson PK, et al.** Neonatal lethality and lymphopenia in mice with a homozygous disruption of the *c-abl* protooncogene. *Cell* 1991; **65**: 1153-63.

42. **Wen ST, Jackson PK, Van Etten RA.** The cytostatic function of c-Abl is controlled by multiple nuclear localization signals and requires the p53 and Rb tumor suppressor gene products. *EMBO J* 1996; **15**: 1583-95.
43. **Taagepera S, McDonald D, Loeb JE, et al.** Nuclear-cytoplasmic shuttling of C-Abl tyrosine kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 7457-62.
44. **McWhirter JR, Wang JY.** Activation of tyrosine kinase and microfilament-binding functions of c-abl by bcr sequences in bcr/abl fusion proteins. *Mol Cell Biol* 1991; **11**: 1553-65.
45. **Van Etten RA, Jackson PK, Baltimore D, et al.** The COOH terminus of the c-Abl tyrosine kinase contains distinct F- and G-actin binding domains with bundling activity. *J Cell Biol* 1994; **124**: 325-40.
46. **Miao YJ, Wang JYJ.** Binding of A/T-rich DNA by three high mobility group-like domains in c-Abl tyrosine kinase. *J Biol Chem* 1996; **271**: 22823-30.
47. **Kipreos ET, Wang JY.** Cell cycle-regulated binding of c-Abl tyrosine kinase to DNA. *Science* 1992; **256**: 382-5.
48. **Renshaw MW, Capozza MA, Wang JY.** Differential expression of type-specific *c-abl* mRNAs in mouse tissues and cell lines. *Mol Cell Biol* 1988; **8**: 4547-51.
49. **Jackson P, Baltimore D.** N-terminal mutations activate the leukemogenic potential of the myristoylated form of c-abl. *EMBO J* 1989; **8**: 449-56.
50. **Sawyers CL, McLaughlin J, Goga A, et al.** The nuclear tyrosine kinase c-Abl negatively regulates cell growth. *Cell* 1994; **77**: 121-31.
51. **Feller SM, Knudsen B, Hanafusa H.** c-Abl kinase regulates the protein binding activity of c-Crk. *EMBO J* 1994; **13**: 2341-51.
52. **Ren R, Ye ZS, Baltimore D.** Abl protein-tyrosine kinase selects the Crk adapter as a substrate using SH3-binding sites. *Genes Dev* 1994; **8**: 783-95.
53. **Mayer BJ, Hirai H, Sakai R.** Evidence that SH2 domains promote processive phosphorylation by protein-tyrosine kinases. *Curr Biol* 1995; **5**: 296-305.
54. **Baskaran R, Dahmus ME, Wang JY.** Tyrosine phosphorylation of mammalian RNA polymerase II carboxyl-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: 11167-71.
55. **Duyster J, Baskaran R, Wang JY.** Src homology 2 domain as a specificity determinant in the c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation of the RNA polymerase II carboxyl-terminal repeated domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; **92**: 1555-9.
56. **Dai Z, Quackenbush RC, Courtney KD, et al.** Oncogenic Abl and Src tyrosine kinases elicit the ubiquitin-dependent degradation of target proteins through a Ras-independent pathway. *Genes Dev* 1998; **12**: 1415-24.
57. **Welch PJ, Wang JY.** Abrogation of retinoblastoma protein function by c-Abl through tyrosine kinase-dependent and independent mechanisms. *Mol Cell Biol* 1995; **15**: 5542-51.
58. **Welch PJ, Wang JY.** A C-terminal protein-binding domain in the retinoblastoma protein regulates nuclear c-Abl tyrosine kinase in the cell cycle. *Cell* 1993; **75**: 779-90.
59. **Welch PJ, Wang JY.** Disruption of retinoblastoma protein function by coexpression of its C pocket fragment. *Genes Dev* 1995; **9**: 31-46.
60. **Baskaran R, Chiang GC, Wang JY.** Identification of a binding site in c-Abl tyrosine kinase for the C-terminal repeated domain of RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 1996; **16**: 3361-9.
61. **Liu ZG, Baskaran R, Lea-Chou ET, et al.** Three distinct signalling responses by murine fibroblasts to genotoxic stress. *Nature* 1996; **384**: 273-6.
62. **Daley GQ, McLaughlin J, Witte ON, Baltimore D.** The CML-specific P210 bcr/abl protein, unlike v-abl, does not transform NIH/3T3 fibroblasts. *Science* 1987; **237**: 532-5.
63. **Lugo TG, Pendergast AM, Muller AJ, Witte ON.** Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science* 1990; **247**: 1079-82.
64. **Lugo TG, Witte ON.** The BCR-Abl oncogene transforms Rat-1 cells and cooperates with v-myc. *Mol Cell Biol* 1989; **9**: 1263-70.
65. **Daley GQ, Baltimore D.** Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myelogenous leukemia-specific P210bcr/abl protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; **85**: 9312-6.
66. **Gishizky ML, Witte ON.** Initiation of deregulated growth of multipotent progenitor cells by bcr-abl *in vitro*. *Science* 1992; **256**: 836-9.
67. **McLaughlin J, Chianese E, Witte ON.** *In vitro* transformation of immature hematopoietic cells by the P210 BCR/Abl oncogene product of the Philadelphia chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 6558-62.
68. **Young JC, Witte ON.** Selective transformation of primitive lymphoid cells by the BCR/Abl oncogene expressed in long-term lymphoid or myeloid cultures. *Mol Cell Biol* 1988; **8**: 4079-87.
69. **McLaughlin J, Chianese E, Witte ON.** Alternative forms of the BCR-Abl oncogene have quantitatively different potencies for stimulation of immature lymphoid cells. *Mol Cell Biol* 1989; **9**: 1866-74.
70. **Wang JYJ.** Modeling chronic myelogenous leukemia. *Curr Biol* 1992; **2**: 70-2.
71. **Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D.** Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990; **247**: 824-30.
72. **Kelliher MA, McLaughlin J, Witte ON, Rosenberg N.** Induction of a chronic myelogenous leukemia-like syndrome in mice with v-abl and BCR/Abl. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; **87**: 6649-53.
73. **Elefanty AG, Hariharan IK, Cory S.** BCR-ABL the hallmark of chronic myeloid leukaemia in man, induces multiple haemopoietic neoplasms in mice. *EMBO J* 1990; **9**: 1069-78.
74. **Elefanty AG, Cory S.** Hematologic disease induced in BALB/c mice by a bcr-abl retrovirus is influenced by the infection conditions. *Mol Cell Biol* 1992; **12**: 1755-63.
75. **Kelliher MA, Weckstein DJ, Knott AG, et al.** Abl oncogenes directly stimulate two distinct target cells in bone marrow from 5-fluorouracil-treated mice. *Oncogene* 1993; **8**: 1249-56.
76. **Helsterkamp N, Jenster G, ten Hoeve J, et al.** Acute leukaemia in *bcr/abl* transgenic mice. *Nature* 1990; **344**: 251-3.
77. **Voncken JW, Griffiths S, Greaves M.F, et al.** Restricted oncogenicity of BCR/Abl p190 in transgenic mice. *Cancer Res* 1992; **52**: 4534-9.
78. **Voncken JW, Morris C, Pattengale P, et al.** Clonal development and karyotype evolution during leukemogenesis of BCR/Abl transgenic mice. *Blood* 1992; **79**: 1029-36.

79. Heisterkamp N, Jenster G, Kioussis D, *et al.* Human *bcr-abl* gene has a lethal effect on embryogenesis. *Transgenic Res* 1991; **1**: 45-53.
80. Hariharan IK, Harris AW, Crawford M, *et al.* A *bcr-v-abl* oncogene induces lymphomas in transgenic mice. *Mol Cell Biol* 1989; **9**: 2798-805.
81. Honda H, Fujii T, Takatoku M, *et al.* Expression of p210bcr/abl by metallothionein promoter induced T-cell leukemia in transgenic mice. *Blood* 1995; **85**: 2853-61.
82. Champlin RE, Golde DW. Chronic myelogenous leukemia: recent advances. *Blood* 1985; **65**: 1039-47.
83. Voncken JW, Kaartinen V, Pattengale PK, *et al.* BCR/Abl P210 and P190 cause distinct leukemia in transgenic mice. *Blood* 1995; **86**: 4603-11.
84. Honda H, Oda H, Suzuki T, *et al.* Development of acute lymphoblastic leukemia and myelo-proliferative disorder in transgenic mice expressing p210bcr/abl: a novel transgenic model for human Phi-positive leukemias. *Blood* 1998; **91**: 2067-75.
85. Morris SW, Daniel L, Ahmed CM, *et al.* Relationship of bcr breakpoint to chronic phase duration, survival, and blast crisis lineage in chronic myelogenous leukemia patients presenting in early chronic phase. *Blood* 1990; **75**: 2035-41.
86. Gishizky ML, Johnson-White J, Witte ON. Evaluating the effect of P210 BCR/Abl on growth of hematopoietic progenitor cells and its role in the pathogenesis of human chronic myelogenous leukemia. *Semin Hematol* 1993; **30** (Suppl 3): 6-8.
87. Konopka JB, dark S, McLaughlin J, *et al.* Variable expression of the translocated *c-abl* oncogene in Philadelphia-chromosome-positive B-lymphoid cell lines from chronic myelogenous leukemia patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**: 4049-52.
88. Andrews DF3d, Collins SJ. Heterogeneity in expression of the *bcr-abl* fusion transcript in CML blast crisis. *Leukemia* 1987; **1**: 718-24.
89. Tachibana N, Raimondi SC, Lauer SJ, *et al.* Evidence for a multipotential stem cell disease in some childhood Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1987; **70**: 1458-61.
90. Turhan AG, Eaves CJ, Kalousek DK, *et al.* Molecular analysis of clonality and *bcr* rearrangements in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1988; **71**: 1495-8.
91. Estrov Z, Talpaz M, Kantarjian HM, *et al.* Heterogeneity in lineage derivation of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia expressing p190BCR-Abl or p210BCR-Abl: determination by analysis of individual colonies with the polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1993; **53**: 3289-93.
92. Gaidano G, Guerrasio A, Serra A, *et al.* Molecular mechanisms of tumor progression in chronic myeloproliferative disorders. *Leukemia* 1994; **8** (Suppl 1): 27-9.
93. Serra A, Guerrasio A, Gaidano G, *et al.* Molecular defects associated with the acute phase CML. *Leuk Lymphoma* 1993; **11** (Suppl 1): 25-8.
94. Sinn E, Muller W, Pattengale P, *et al.* Co-expression of MMTV/*v-Ha-ras* and MMTV/*c-myc* genes in transgenic mice: synergistic action of oncogenes *in vivo*. *Cell* 1987; **49**: 465-75.
95. Renshaw MW, McWhirter JR, Wang JY. The human leukemia oncogene *bcr-abl* abrogates the anchorage requirement but not the growth factor requirement for proliferation. *Mol Cell Biol* 1995; **15**: 1286-93.
96. Franz WM, Berger P, Wang JY. Deletion of an N-terminal regulatory domain of the *c-abl* tyrosine kinase activates its oncogenic potential. *EMBO J* 1989; **8**: 137-47.
97. Mes-Masson AM, McLaughlin J, Daley GQ, *et al.* Overlapping cDNA clones define the complete coding region for the P210c-abl gene product associated with chronic myelogenous leukemia cells containing the Philadelphia chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**: 9768-72.
98. Boguski MS, McCormick F. Proteins regulating Ras and its relatives. *Nature* 1993; **366**: 643-54.
99. Miki T, Smith CL, Long JE, *et al.* Oncogene *ect2* is related to regulators of small GTP-binding proteins. *Nature* 1993; **362**: 462-5.
100. Hart MJ, Eva A, Zangrilli D, *et al.* Cellular transformation and guanine nucleotide exchange activity are catalyzed by a common domain on the *dbl* oncogene product. *J Biol Chem* 1994; **269**: 62-5.
101. Molnar A, Theodoras AM, Zon LI, *et al.* Cdc42Hs, but not Rac1, inhibits serum-stimulated cell cycle progression at G₁/S through a mechanism requiring p38/RK. *J Biol Chem* 1997; **272**: 13229-35.
102. Matsuguchi T, Inhorn RC, Carlesso N, *et al.* Tyrosine phosphorylation of p95Vav in myeloid cells is regulated by GM-CSF, IL-3 and steel factor and is constitutively increased by p210BCR/Abl. *EMBO J* 1995; **14**: 257-65.
103. Crespo P, Bustelo XR, Aaronson DS, *et al.* Rac-1 dependent stimulation of the JNK/SAPK signaling pathway by Vav. *Oncogene* 1996; **13**: 455-60.
104. Kamps MP, Buss JE, Sefton BM. Mutation of NH₂-terminal glycine of p60src prevents both myristoylation and morphological transformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; **82**: 4625-8.
105. Renshaw MW, Lea-Chou E, Wang JY. Rac is required for *v-Abl* tyrosine kinase to activate mitogenesis. *Curr Biol* 1996; **6**: 76-83.
106. Chou MM, Blenis J. The 70 kDa S6 kinase complexes with and is activated by the Rho family G proteins Cdc42 and Rac1. *Cell* 1996; **85**: 573-83.
107. Lamarche N, Tapon N, Stowers L, *et al.* Rac and Cdc42 induce actin polymerization and G₁ cell cycle progression independently of p65PAK and the JNK/SAPK MAP kinase cascade. *Cell* 1996; **87**: 519-29.
108. Tapon N, Hall A. Rho, Rac and Cdc42 GTPases regulate the organization of the actin cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol* 1997; **9**: 86-92.
109. Minden A, Lin A, Claret FX, *et al.* Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell* 1995; **81**: 1147-57.
110. Lim L, Manser E, Leung T, Hall C. Regulation of phosphorylation pathways by p21 GTPases The p21 Ras-related Rho subfamily and its role in phosphorylation signalling pathways. *Eur J Biochem* 1996; **242**: 171-85.
111. Olson MF, Ashworth A, Hall A. An essential role for Rho, Rac, and Cdc42 GTPases in cell cycle progression through G₁. *Science* 1995; **269**: 1270-2.
112. Canman CE, Kastan MB. Signal transduction Three paths to stress relief. *Nature* 1996; **384**: 213-4.
113. Vojtek AB, Cooper JA. Rho family members activators of MAP kinase cascades. *Cell* 1995; **82**: 527-9.
114. Coso OA, Chiariello M, Yu JC, *et al.* Th(small GTP-binding proteins Rac1 and Cdc42 regulation

- the activity of the JNK/SAPK signaling pathway. *Cell* 1995; **81**: 1137-46.
115. **Frackelton AR Jr, Kumar PS, Kannan B, Clark JW.** Tyrosine phosphorylated proteins in chronic myelogenous leukemia. *Leuk Lymphoma* 1993; **11** (Suppl1): 125-9.
116. **Michiels F, Habets GG, Stam JC, et al.** A role for Rac in Tiam1-induced membrane ruffling and invasion. *Nature* 1995; **375**: 338-40.
117. **Keely PJ, Westwick JK, Whitehead IP, et al.** Cdc42 and Rad induce integrin-mediated cell motility and invasiveness through PI(3)K. *Nature* 1997; **390**: 632-6.
118. **Lewis JM, Baskaran R, Taagepera S, et al.** Integrin regulation of c-Abl tyrosine kinase activity and cytoplasmic-nuclear transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 15174-9.
119. **Wang JY.** Nuclear protein tyrosine kinases. *Trends Biochem Sci* 1994; **19**: 373-6.
120. **Schaller MD, Parsons JT.** pp125FAK-dependent tyrosine phosphorylation of paxillin creates a high-affinity binding site for Crk. *Mol Cell Biol* 1995; **15**: 2635-45.
121. **Kharbanda S, Ren R, Pandey P, et al.** Activation of the c-Abl tyrosine kinase in the stress response to DNA-damaging agents. *Nature* 1995; **376**: 785-8.
122. **Yuan ZM, Huang Y, Whang Y, et al.** Role for c-Abl tyrosine kinase in growth arrest response to DNA damage. *Nature* 1996; **382**: 272-4.
123. **Brown L, McCarthy N.** A sense-abl response. *Nature* 1991; **387**: 450-1.
124. **Weinberg RA.** How cancer arises. *Sci Am* 1996; **275**: 62-70.
125. **Oliff A, Gibbs JB, McCormick F.** New molecular targets for cancer therapy. *Sci Am* 1996; **275**: 144-9.
126. **Okabe M.** Molecular analysis of transformation into blast crisis in chronic myelogenous leukemia. *Hokkaido Igaku Zasshi* 1993; **68**: 237-50.
127. **Cogswell PC, Morgan R, Dunn M, et al.** Mutations of the ras protooncogenes in chronic myelogenous leukemia: a high frequency of ras mutations in bcr/abl rearrangement-negative chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1989; **74**: 2629-33.
128. **Urbano-Ispizua A, Gill R, Matutes E, et al.** Low frequency of ras oncogene mutations in Philadelphia-positive acute leukemia and report of a novel mutation H61 Leu in a single case. *Leukemia* 1992; **6**: 342-6.
129. **Verfaillie CM, Hurley R, Lundell BI, et al.** Integrin-mediated regulation of hematopoiesis: do BCR/Abl-induced defects in integrin function underlie the abnormal circulation and proliferation of CML progenitors? *Acta Haematol* 1997; **97**: 40-52.
130. **Gotoh A, Miyazawa K, Ohyashiki K, et al.** Tyrosine phosphorylation and activation of focal adhesion kinase (p125FAK) by BCR-Abl oncoprotein. *Exp Hematol* 1995; **23**: 1153-9.
131. **Levesque JP, Leavesley DI, Niutta S, et al.** Cytokines increase human hemopoietic cell adhesiveness by activation of very late antigen (VLA)-4 and VLA-5 integrins. *J Exp Med* 1995; **181**: 1805-15.
132. **Kovach NL, Lin N, Yednock T, et al.** Stem cell factor modulates avidity of alpha 4 beta 1 and alpha 5 beta 1 integrins expressed on hematopoietic cell lines. *Blood* 1995; **85**: 159-67. . . 133. **Juliano RL, Haskill S.** Signal transduction from Kfite extracellular matrix. *J Cell Biol* 1993; **120**: 577-85.
134. **Clark EA, Brugge JS.** Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science* 1995; **268**: 233-9.
135. **Miyamoto S, Teramoto H, Coso O.A, et al.** Integrin function: molecular hierarchies of cytoskeletal and signaling molecules. *J Cell Biol* 1995; **131**: 791-805.
136. **Schaller MD, Otey CA, Hildebrand JD, Parsons JT.** Focal adhesion kinase and paxillin bind to peptides mimicking beta integrin cytoplasmic domains. *J Cell Biol* 1995; **130**: 1181-7.
137. **Wang JYJ, McWhirter JR.** Tyrosine-kinase-dependent signaling pathways. *TCM* 1994; **6**: 264-70.
138. **Chen HC, Guan JL.** Stimulation of phosphatidylinositol 3'-kinase association with focal adhesion kinase by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 1994; **269**: 31229-33.
139. **Skorski T, Kanakaraj P, Nieborowska-Skor ska M, et al.** Phosphatidylinositol-3 kinase activity is regulated by BCR/Abl and is required for the growth of Philadelphia chromosome-positive cells. *Blood* 1995; **86**: 726-36.
140. **Salgia R, Li JL, Lo SH, et al.** Molecular cloning of human paxillin, a focal adhesion protein phosphorylated by P210BCR/Abl. *J Biol Chem* 1995; **270**: 5039-47.
141. **Krontiris TG.** Oncogenes. *N Engl J Med* 1995; **333**: 303-6.
142. **Mandanans RA, Leibowitz DS, Gharehbaghi K, et al.** Role of p21 RAS in p210 bcr-abl transformation of murine myeloid cells. *Blood* 1993; **82**: 1838-47.
143. **Sirard C, Laneuville P, Dick JE.** Expression of bcr-abl abrogates factor-dependent growth of human hematopoietic M07E cells by an autocrine mechanism. *Blood* 1994; **83**: 1575-85.
144. **Gotoh A, Takahira H, Mantel C, et al.** Steel factor induces serine phosphorylation of Stat3 in human growth factor-dependent myeloid cell lines. *Blood* 1996; **88**: 138-45.
145. **Rosen RL, Winestock KD, Chen G, et al.** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor preferentially activates the 94-kD STAT5A and an 80-kD STAT5A isoform in human peripheral blood mono-cytes. *Blood* 1996; **88**: 1206-14.
146. **Till KJ, Burthem J, Lopez A, Cawley JC.** Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor: stage-specific expression and function on late B cells. *Blood* 1996; **88**: 479-86.
147. **Rajotte D, Sadowski HB, Haman A, et al.** Contribution of both STAT and SRF/TCF to c-fos promoter activation by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1996; **88**: 2906-16.
148. **Piao X, Bernstein A.** A point mutation in the catalytic domain of c-kit induces growth factor independence, tumorigenicity, and differentiation of mast cells. *Blood* 1996; **87**: 3117-23.
149. **Kishimoto T, Taga T, Akira S.** Cytokine signal transduction. *Cell* 1994; **76**: 253-62.
150. **Matsuguchi T, Salgia R, Haliak M, et al.** She phosphorylation in myeloid cells is regulated by granulocyte macrophage colony-stimulating factor, interleukin-3, and steel factor and is constitutively increased by p210BCR/Abl. *J Biol Chem* 1994; **269**: 5016-21.
151. **Taniguchi T.** Cytokine signaling through non-receptor protein tyrosine kinases. *Science* 1995; **268**: 251-5.

152. **Ettinger SL, Lauener RW, Duronio V.** Protein kinase C delta specifically associates with phosphatidylinositol 3-kinase following cytokine stimulation. *J Biol Chem* 1996; **271**: 14514-8.
153. **Sattler M, Salgia R, Okuda K, et al.** The proto-oncogene production p210cbl links c-Abl, p190 BCR/Abl and p210 BCR/Abl to the phosphatidylinositol-3-kinase pathway. *Blood* 1985; **86**: 264a.
154. **Oda T, Heaney C, Hagopian JR, et al.** Crkl is the major tyrosine-phosphorylated protein in neurotrophils from patients with chronic myelogenous leukemia. *J Biol Chem* 1994; **269**: 22925-8.
155. **Miyazaki T, Liu Z.J, Kawahara A, et al.** Three distinct IL-2 signaling pathways mediated by bcl-2, c-myc, and lck cooperate in hematopoietic cell proliferation. *Cell* 1995; **81**: 223-31.
156. **Danhauser-Riedl S, Warmuth M, Druker BJ, et al.** Activation of Src kinases p53/56lyn and p59hck by p210bcr/abl in myeloid cells. *Cancer Res* 1996; **56**: 3589-96.
157. **Iliaria RL Jr, VanEtten RA.** Constitutive activation of stat family members in BA/F3 cells transformed by p210 BCR/Abl. *Blood* 1995; **86**: 264a.
158. **Carlesso N, Frank DA, Griffin JD.** Tyrosyl phosphorylation and DNA binding activity of stat protein in hematopoietic cells transformed by p210 BCR/Abl. *Blood* 1995; **86**: 264a.
159. **Vlahos CJ, Matter WF, Hui KY, Brown RF.** A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one (LY294002). *J Biol Chem* 1994; **269**: 5241-8.
160. **Chang JH, Gill S, Settleman J, Parsons SJ.** c-Src regulates the simultaneous rearrangement of actin cytoskeleton, p190RhoGAP, and p120RasGAP following epidermal growth factor stimulation. *J Cell Biol* 1995; **130**: 355-68.
161. **Franke TF, Cantley LC.** Apoptosis. A Bad kinase makes good. *Nature* 1997; **390**: 116-7.
162. **Gajewski TF, Thompson CB.** Apoptosis meets signal transduction: elimination of a BAD influence. *Cell* 1996; **87**: 589-92.
163. **del Peso L, Gonzalez-Garcia M, Page C, et al.** Interleukin-3-induced phosphorylation of BAD through the protein kinase Akt. *Science* 1997; **278**: 687-9.
164. **Tuscano JM, Druet KM, Riva A, et al.** Bcl-x rather than Bcl-2 mediates CD40-dependent centrocyte survival in the germinal center. *Blood* 1996; **88**: 1359-64.
165. **Gauthier ER, Piche L, Lemieux G, Lemieux R.** Role of bcl-X(L) in the control of apoptosis in murine myeloma cells. *Cancer Res* 1996; **56**: 1451-6.
166. **Shigematsu H, Iwasaki H, Otsuka T, et al.** Role of the vav proto-oncogene product (Vav) in erythropoietin-mediated cell proliferation and phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Biol Chem* 1997; **272**: 14334-40.
167. **Smit L, van der Horst G, Borst J.** Sos, Vav, and C3G participate in B cell receptor-induced signaling pathways and differentially associate with Shc-Grb2, Crk, and Crk-L adaptors. *J Biol Chem* 1996; **271**: 8564-9.
168. **Kon-Kozlowski M, Pani G, Pawson T, Siminovitch KA.** The tyrosine phosphatase PTP1C associates with Vav, Grb2, and mSos1 in hematopoietic cells. *J Biol Chem* 1996; **271**: 3856-62.
169. **Nobes CD, Hall A.** Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell* 1995; **81**: 53-62.
170. **Miki H, Sasaki T, Takai Y, Takenawa T.** Induction of filopodium formation by a WASP-related actin-depolymerizing protein N-WASP. *Nature* 1998; **391**: 93-6.
171. **Peppelenbosch MP, Qiu RG, de Vries-Smits AM, et al.** Rac mediates growth factor-induced arachidonic acid release. *Cell* 1995; **81**: 849-56.
172. **Chant J, Stowers L.** GTPase cascades choreographing cellular behavior: movement, morphogenesis, and more. *Cell* 1995; **81**: 1-4.
173. **Skorski T, Kanakaraj P, Ku DH, et al.** Negative regulation of p120GAP GTPase promoting activity by p210bcr/abl: implication for RAS-dependent Philadelphia chromosome positive cell growth. *J Exp Med* 1994; **179**: 1855-65.

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ
ТА РАДІОБІОЛОГІЇ
ім. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО
УКРАЇНСЬКА СЕКЦІЯ
ЄВРОПЕЙСЬКОГО ІНСТИТУТУ
ЕКОЛОГІЇ ТА РАКУ

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ
НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ПАТОЛОГИИ, ОНКОЛОГИИ И
РАДИОБИОЛОГИИ
им. Р.Е. КАВЕЦКОГО
УКРАИНСКАЯ СЕКЦИЯ
ЕВРОПЕЙСКОГО ИНСТИТУТА
ЭКОЛОГИИ И РАКА

NATIONAL ACADEMY
OF SCIENCES OF UKRAINE
R.E. KAVETSKY INSTITUTE
OF EXPERIMENTAL
PATHOLOGY, ONCOLOGY
AND RADIOBIOLOGY
UKRAINIAN SECTION OF
EUROPEAN INSTITUTE OF
ECOLOGY AND CANCER

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ ONCOLOGY

SCIENTIFIC VOLUME 21, NUMBER 3-4, 1999 (1999)

PUBLISHED QUARTERLY, FOUNDED IN 1979

CONTENTS

ON THE CENTENARY OF ACADEMICIAN R.E. KAVETSKY. *Butenko Z.A., Chekhun V.F.*

165

REVIEWS

INTERACTION OF INTERLEUKINS WITH TUMOR CELLS. *Berezhnaya N.M.* 171
ROLE OF Bcr/Abl IN
LEUKEMOGENESIS. *Telegeev G.D., Dubrovskaya A.N., Dybkov M.V.* 182
HUMAN CHROMOSOMAL FRAGILE SITES AND
MALIGNANT TUMOURS. *Nesina I.P., Polishchuk L.Z.* 195
ROLE OF MEMBRANE LECTINS AND THEIR LIGANDS IN
MAMMALIAN ONTOGENESIS AND ONCO-GENESIS. *Yakshibaeva Yu.R., Vinnitsky V.B.* 207

ORIGINAL PAPERS

EXPLOITATION OF TUMOR MICROENVIRONMENT FOR CREATION OF SELECTIVE ANTITUMOR DRUGS. *Oslnsky S.P., Levitin I.Ya., Bubnovskaya L.N., Ganusevich I.I., Sigan A.L., Tsykalova M.V., Zago-rujko U.*
216

MODIFYING EFFECT OF *Bacillus subtilis* AB.56 METABOLISM PRODUCTS ON THE IMMUNOGENECITY OF TUMOR CELLS. *Potebnya G.P., Semernikov V.A., Hutornoy S.V., Lisovenko G.S., Didenko G.V., Kolesnik E.A.*
223

THE EXPRESSION OF SOME STRUCTURES OF ADHESION, PROLIFERATION AND ACTIVATION ON TUMOR CELLS AND LYMPHOCYTES IN MICE C57BL/6 WITH MELANOMA B16. *Vinnichyk Yu.D., Splvak S.I., Berezhnaya N.M.*
227

GENERATION AND CHARACTERIZATION OF MONOCLONAL ANTIBODIES TO P70S6 KINASE a. *Pogrebnoy P.V., Kukhareno A.P., Tykhonkova I.A., Pal'chevskiy S.S., Savinskaya L.A., Pogrebnoy A.P., Valevka T.I., Markeeva N.V., Sotdatkina M.A., Matsuka G.Kh., Gout I.T., Filonenko V.V.*
232

THE ROLE OF PARIETAL FIBRIN DEPOSITS OF BLOOD VESSELS IN THE LUNG AS A TARGET ORGAN FOR METASTASIS IN C57BL/6 MICE WITH LEWIS CARCINOMA. *Petik A.V., Pyaskovskaya O.N., Vinnitsky V.B.*
239

RELAXATION AND PROLIFERATIVE REGIMENS IN THE FUNCTION OF THE POLYAMINE METABOLISM SYSTEM. REGIMEN SWITCH-OVER TECHNIQUE. *Berdinskikh N.K., Grinzhevskaya S.N., Kaz'min S.D., Ualyushko N.M.*
243

THE REARRANGEMENT OF POLYAMINE BIOSYNTHESIS REGULATION IN TUMOR CELLS: STABILIZATION OF THE PROLIFERATIVE REGIMEN AND INDUCTION OF AUTONOMOUS FLUCTUATIONS. *Berdinskikh N.K., Grinzhevskaya S.N., Kaz'min S.D., Ualyushko N.M.*
249

MODIFYING EFFECT OF HEPARIN SULFATE FROM HUMAN BLOOD LEUKEMIC CELLS ON THE MITO-GENIC ACTIVITY OF FIBROBLAST GROWTH FACTOR AND [¹⁴C]-ARACHIDONIC ACID METABOLISM IN CULTURE OF STROMAL FIBROBLASTS OF RAT BONE MARROW. *Myasishcheva N.V., Golenko O.D., Kudriavtsev I.A., Gudkova M. V., Oreshkin A.E., Batrak E.E.*
255

ANALYSIS OF TEXTURAL INDICES OF BUCCAL EPITHELIUM NUCLEI UPON BENIGN AND MALIGNANT PROCESSES IN THYROID GLAND. *Ganina K.P., Boroday N.V., Kljushin D.A., Petunin Yu.I.*
260

SELECTIVE MECHANISM OF THE EMERGENCE OF GUERIN'S CARCINOMA RESISTANCE TO DOXO-RUBICIN. *Solyanik G.I., Todorl.N., Kulik G.I., Chekhun V.F.*
264

EFFECTS OF COMBINED TREATMENT WITH NIFTOLIDE AND LOW DOSES OF ANTITUMOR ES-TROGEN PREPARATION, CHLOROTRIANIZENE, ON RAT PROSTATE. *Reznikov A. G., Chaikovskaya L.V., Polyakova L.I., Sachinskaya O.V., Bakhmach E.V.*
269

LETTER TO THE EDITOR

APOPTOSIS OR PROGRAMMED CELL DEATH: HOW TO AVOID A COMMON MISTAKE IN TERMINOLOGY. *Phylchenkov A.A.*
274 >