

出國報告 (出國類別：進修)

兒童急性淋巴性白血病的基因體變化

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院/檢驗醫學部

姓名職稱：楊永立/醫師

派赴國家：美國/St. Jude Children's Research Hospital

出國期間：101年11月08日至103年10月08日

報告日期：103年11月24日

單位主管核章：

摘要

兒童急性淋巴性白血病是兒童最常見的癌症，雖然近年來治癒率已經逐漸提高，但它仍然是兒童癌症死亡最重要的原因。St. Jude Children's Research Hospital 以最佳的治癒率聞名國際，近年來用新一代基因定序的方法，去探討高危險群急性淋巴性白血病的基因體變化，並尋找新的治療標的。

從 2007 年開始 St. Jude Children's Research Hospital 兒童急性淋巴性白血病基因體權威 Dr. Mulligan 發表了許多兒童急性淋巴性白血病重要的研究，並於 2009 年由 mRNA expression 發現一群類 *BCR-ABL1* 急性淋巴性白血病，這群病人的預後較差，但原因不明。Dr. Mulligan 於 2010 年開始利用 RNA-seq(RNA sequencings) 的方法去探討這群病人的致病機轉，並找到許多含有 kinase 的染色體轉位。而這些基因體的變化，目前有藥物可以使用，增加病人存活的機會。Dr. Mulligan 於 2012 年在 Cancer Cell 這本期刊先發表初步的結果。

我於 2012 年 11 月到達 St. Jude Children's Research Hospital，在 Dr. Mulligan 實驗室將這些染色體轉位 clone 到質體，並且在 Ba/F3 細胞株測試對藥物的反應。我們證明了不同的 kinase fusions 對 Tyrosine kinases inhibitor (TKI) 的藥物有效，而 *EPOR* 以及 *JAK2* 的 fusions 對 JAK2 inhibitor 有效。這些發現加上臨床的資料，已經發表在今年九月份的 New England Journal of Medicine 期刊(見附件)。此研究的重要性為，可以將原本對化學治療無效的病人，加上一個口服藥變成對化學治療有效，這對未來的治療有很大的幫助。

第二個我所參與的計劃為 Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) 這一型白血病的基因體變化，從 WHO 的定義去診斷 MPAL，然後根據病人發病時的 immunophenotypes 去尋找 sorting 的抗體，將其分成不同的癌細胞群，之後抽取 DNA 以及 RNA 送 WES (whole exome sequencing) 以及 RNA-seq。雖然無法在有限的時間內完成此一計劃，卻讓我學習到 St. Jude Children's Research Hospital 如何計劃整個研究，讓我受益良多。

目次

目的	Page 3
過程	Page 3-8
心得	Page 8-10
建議事項	Page 10-12
附錄	Page 13-13

本文

目的：

利用新一代基因定序(NGS, next-generation sequencing) 的方法，探討高危險群兒童急性淋巴性白血病病人的基因體變化，並找尋可以治療的基因體標的。

過程：

St. Jude Children's Research Hospital 由 Danny Thomas 於 1962 年所創立，他的名言為 "No child should die in the dawn of life." 因為這個理想，即使今日 St. Jude Children's Research Hospital 對整體兒童癌症的治癒率已經從創立時的 20% 到現今的 80%，兒童急性淋巴性白血病的五年存活率甚至於可以到達 95%，他們依然不滿足，一直問 "what could be possibly next?"，這是他們的文化亦是理想。這間醫院從 2010 年開始了目前人類最大規模的基因體定序的計劃：St. Jude Children's Research Hospital – Washington University Pediatric Cancer Genome Project (PCGP)。圖一為他們為此計劃所設計的 Logo，因為這個計劃，他們發現了許多新的關於兒童癌症的知識，從診斷、治療，甚至於有一天有可能可以預防兒童癌症。



圖一：PCGP 的 Logo

其中一位核心人物為 Dr. Ching-Hon Pui，Dr. Pui 來自香港，就讀臺灣大學醫學院醫學系，畢業後赴美完成小兒科住院醫師訓練，並在 St. Jude Children's Research Hospital 擔任主治醫師，目前則為腫瘤科的主任，在 St. Jude Children's Research Hospital 今年已經邁入第 38 年。Dr. Pui 一生專研兒童急性淋巴性白血

病的治療，有兒童急性淋巴性白血病教科書的稱號，在他的領導之下，兒童急性淋巴性白血病五年存活率一直上升到目前的 95%，我想這是很難超越的目標。也因為他的遠見，檢體有相當好的保存，讓 2000 年後從 mRNA expression array、2007 年 SNP arrays 一直到 2010 年 PCGP 的計劃，St. Jude Children's Research Hospital 得以在基因體的計劃以及應用上在世界上居領導地位。近年來也將這些經驗以及研究觸角延伸到成人急性淋巴性白血病的治療，提高成人急性淋巴性白血病治療的成績，也因此卓越貢獻，今年 Dr. Pui 也當選臺灣的中研院院士。

Dr. Pui 長期幫助臺灣的小兒血液腫瘤科醫師在白血病的治療以及療程設計提供其個人的經驗，因為這層淵源，幾乎大部份的小兒血液腫瘤科醫師去美國進修都會選擇這間醫院。我選擇的是 Dr. Mulligan 的實驗室，主要的原因是因為這間實驗室用最新的工具做高危險群病人的基因體定序，在近年來有很多重要的發現，如新的預後因子的發現以及藥物的標的，若能將其方法引進臺灣，對臺灣的病人應該會有很大的幫助。

傳統的染色體檢驗 (cytogenetics) 可以依據兒童急性淋巴性白血病血癌細胞的染色體套數以及轉位將兒童急性淋巴性白血病做初步的分類，如 *TCF3-PBX1*，*BCR-ABL1*，*MLL* 基因轉位以及染色體套數超過 53 套或是小於 44 套等。而這些資料和其他的臨床資料如病人的發病年齡、白血球數就成了臨床醫師分類不同的危險群的病人重要根據，因而使用不同強度化學治療。不過染色體檢驗依然有許多不足的地方，如大約 30% B 細胞兒童急性淋巴性白血病找不到染色體的變化無法分類。在老鼠的實驗中，大部分的染色體轉位不足以在老鼠模式誘發白血病，暗示著還有其它的基因變化才有辦法誘導白血病的形成。以及有些染色體變化無法用傳統的染色體檢驗看出如 *ETV6-RUNX1*，加上若病人的血癌細胞染色體無分裂，則染色體檢查則無法檢驗。

有鑑於此，從 2000 年開始，研究者使用不同的平台，開始尋找兒童急性淋巴性白血病新的基因變化，希望能對分類以及治療上有所幫助。一開始用 mRNA expression array 的確可以將不同類型的白血病做分類，不同藥物的反應也可以用 mRNA expression 來表示，但這樣的發現並沒有找到明顯新的預後因子以及藥物的標的，而且在不同的族群以及研究團隊無法找到相同的預後因子，因此無法直接應用於臨床預後因子的分類。St. Jude Children's Research

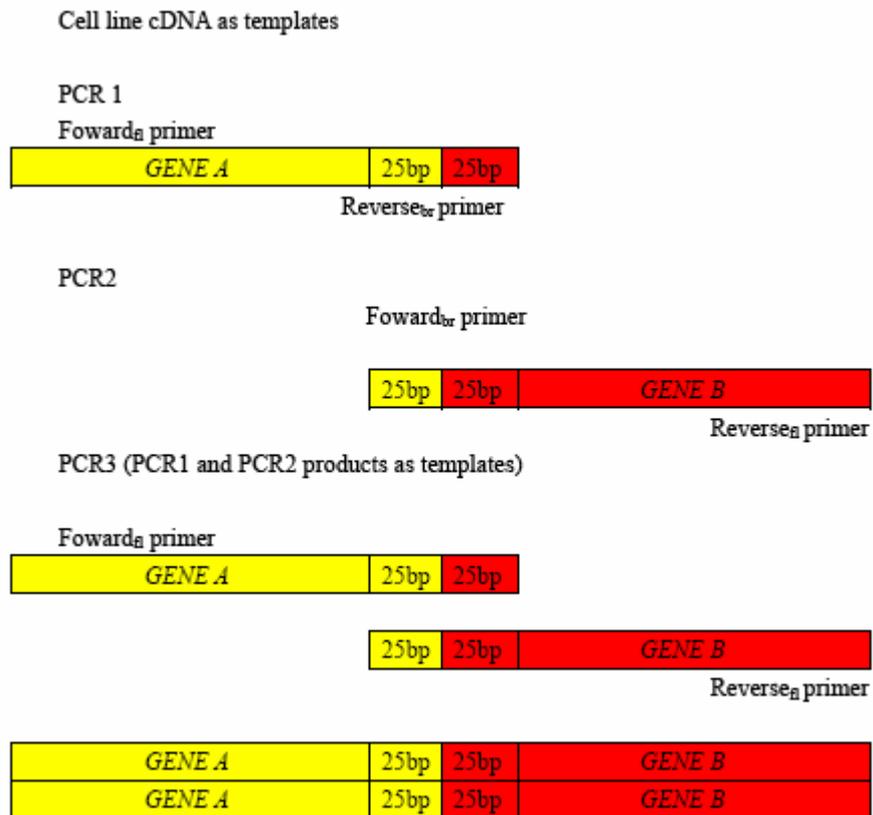
Hospital 的 Dr. Mullighan 於 2007 發表用 SNP arrays 找到新的兒童淋巴性白血病的致病機轉，包括大約 30% 的 B 細胞兒童急性淋巴性白血病帶有 *PAX5* 這個基因的突變或是缺失，*BCR-ABL1* 急性淋巴性白血病有很高的比率帶有 *IKZF1* deletion 或是點突變，而 *IKZF1* 的變異並不侷限於 *BCR-ABL1* 急性淋巴性白血病，且病人若帶有 *IKZF1* 的變異，其治療成績較差。這些發現在不同的研究族群其結果較為一致，包括我們在臺灣做的研究也是如此，因此研究者也逐漸由 mRNA 轉向尋找 DNA 標的以及研究。

在此同時 Dr. Mullighan 發現 *IKZF1* deletion 以及 *JAK2* 有突變的檢體，其 mRNA 的 expression 和 *BCR-ABL1* 急性淋巴性白血病有相類似的基因表現，歐洲的另外一個研究團隊亦有相同的發現。*BCR-ABL1* 在兩種不同的白血病皆可發現，一為慢性骨髓性白血病，另外一個為急性淋巴性白血病。TKI (Tyrosine kinase inhibitor) 用在慢性骨髓性白血病的治療在白血病的 target therapy 歷史上是很重要的一頁，近年來 TKI 的使用也增加了兒童 *BCR-ABL1* 急性淋巴性白血病的治療成果。但在當時對於這群 *BCR-ABL1*-like 急性淋巴性白血病的原因並不清楚，也不知道如何治療。

因為這群白血病和 *BCR-ABL1* 類似的基因表現，所以一開始的假說為是否有其他 Kinase 路徑有基因突變，因而去定序一些 kinase pathway 的基因，但只找到少部分檢體有 *FLT3*、*JAK2* 等突變，大部份的檢體沒有任何的發現。因為如此，假說改成 *BCR-ABL1*-like 急性淋巴性白血病是否有和 *BCR-ABL1* 類似的染色體轉位。2010 年開始 St. Jude Children's Research Hospital – Washington University Pediatric Cancer Genome Project 開始用 NGS 來研究兒童急性淋巴性白血病。Dr. Mullighan 用 RNA-seq 的方法，先針對 15 位 *BCR-ABL1*-like 兒童急性淋巴性白血病做 WES (whole exome sequencings) 以及 RNA-seq，發現了許多新的 Kinase fusions，如 *PAX5-JAK2*、*BCR-JAK2*、*RCSD1-ABL1*、*EBF1-PDGFRB* 以及 *IGH-EPOR* 等。其中他們發現 *EBF1-PDGFRB* 在 Ba/F3 細胞株的實驗對 Glivec 有效，可以考慮對這類的病人使用 TKI。另外一個 *BCR-JAK2* 的檢體，則在老鼠的實驗中對 *JAK2* inhibitor 有效，這些結果發表在 2012 年的 *Cancer Cell*。這時已經有一個臨床 *EBF1-PDGFRB* 的病人，因為化學治療無效而使用 Glivec 而緩解。這些另人振奮的結果讓 St. Jude Children's Research Hospital 擴大用 RNA-seq 來檢驗 *BCR-ABL1*-like 急性淋巴性白血病的病人是否有其他未知的 kinase fusions。

我於 2012 年 11 月到達 St. Jude Children’s Research Hospital，一開始的工作是將這些新發現的染色體轉位 Clone 到 plasmid 中。cloning 是分子生物學實驗的基礎，這個計劃我需要從病人的檢體用 PCR 去 amplify 全長的染色體轉位，之後再將其 cloning 到合適的質體去做實驗。第一個 fusion 是 PAX5-JAK2，遇到了一個無法克服的問題是 JAK2 exon 22 deletion，即使我挑了超過 200 個 clones 還是找不到一個完全正確的 clone。最後的解決辦法是換一個病人檢體才找到正確的 fusion 隨著，cloning 越做越多，技術以及經驗也日益成熟下，又遇到了另外一個問題。

有一個病人檢體其 RNA 品質不佳，但從 WES 中發現此病人有 MYB-TYK2 fusion，雖然 RT-PCR 可以證明這個斷點，但是我們無法從病人的檢體拿到整段的 MYB-TYK2 來做 cloning。為了解決這個問題，以及未來在台灣我們自己可能要自己做出 positive control，我查了文獻，發現 overlap PCR 可以解決此問題(圖二)，也成功用 cell line cDNA 將此 fusion clone 出來。此方法可以用於各式各樣的 fusion，我也成功的將此方法傳授於實驗室其他人員，用此方法亦可解決先前 JAK2 exon 22 deletion 的問題。



圖二：用 overlap PCR 可以將兩個不同的基因連接在一起。

隨後我們將 clone 好的 kinase fusions transfect 到 Ba/F3 細胞株中做藥物的測試，結果發現 *ABL1*、*ABL2*、*CSF1R* 的 kinase fusion 對 TKI 有效，而 *EPOR* 以及 *JAK2* 的 fusion 對 JAK2 inhibitor 有效。以上的結果，實驗室在今年的 *New England Journal of Medicine* 發表了一篇論文 (見附件)，主要是說明以上的成果可以使用在臨床。據我所知，目前 COG(Children's Oncology Groups) 已經根據這些檢驗結果在化學治療的療程加上 TKI 或是 *JAK2* inhibitor，而更大規模的臨床試驗將於明年開始進行。

因為第一年的成果不錯，因此後來我參與了另外一個計劃，可以從頭開始知道他們是如何用新一代基因定序去研究白血病的致病機轉。此計劃的研究主題為 mixed phenotype acute leukemia(簡稱為 MPAL) 的基因體變化，這是一種混著兩群以上的癌細胞，或是單一一群癌細胞表達淋巴以及骨髓的抗原，因為目前其病理機轉並不清楚，因此沒有一定治療的療程且病人的預後較差。因為這一類白血病的發生率較低，若只用 St. Jude Children's Research Hospital 的檢體其數量會不夠，開始的實驗設計除了 St. Jude Children's Research Hospital 的檢體，我們必須去從國際上其他的醫學中心去收集檢體。

在實驗設計上稍有不同於之前的研究，因為 MPAL 有幾個不同族群的癌細胞，因此由 St. Jude Children's Research Hospital 血液室負責人 Dr. Choi 負責分析診斷時流氏細胞儀的圖形，並給予 sorting 抗體的建議。我根據這些建議實際染色並將檢體上機，而 St. Jude Children's Research Hospital 分工相當細其細胞的 sorting 是由專門的人負責，有點像目前臺大醫院共研的服務。並由我自己抽取檢體取得 DNA 以及 RNA 送 SNP arrays，WES 以及 RNA-seq。雖然在我回國前無法獨立完成這個計劃，但能從頭學習檢體的處理，以及整個研究的過程，還是讓我受益良多。

心得：

過去十年因為人類基因定序已經完成，所以癌症的基因體變化為過去十年來最重要的研究課題，尤其是轉譯醫學。每當有新的基因檢驗的平台 St. Jude Children's Research Hospital 總是在第一個時間將其病人的檢體做分析，並發表重要的論文。要開始這樣的計劃，Dr. Pui 曾說需要三個要件，除了資金，新的技術平台，第三需要有保存良好的檢體。St. Jude Children's Research Hospital 在最後一個檢體的保存方面，令我最為欽佩。因為目前的研究已經朝向有機會去比較不同醫學中心所凍存的檢體，St. Jude Children's Research Hospital 相較於美國其他醫學中心所凍存的檢體，其品質更為出色。筆者曾經解凍一個 26 年前的檢體，其細胞的 viability 仍很好，可以 sorting，抽取之 RNA 品質亦加，可以送 RNA-seq。這代表在裡面工作的每個人，都將自己份內的工作做好，不去計較這個工作有多簡單。多年之後，這些凍存的細胞，可以透過今天的基因定序，了解當時治療成功或是失敗的原因。

2010 年一月之後有所謂的 PCGP 的計劃，對 St. Jude Children's Research Hospital 來說是非常重要的，主要的原因是用 array-based 來尋找基因體的變化以及新的標的已經無法再找到新的變化，直接用全基因定序的技術，探討高危險群的白血病是最為直接的做法。不僅找到許多新的藥物的標的，而大部份的藥物都已經上市，這樣的方式是找到這些藥物新的適應症，並更能針對病人的狀況做化學治療的調整，對於個人化的醫療又向前邁進了一步

臨床試驗的搭配也很重要，BCR-ABL1-like 急性淋巴性白血病很明顯的有許多 kinase fusion 在細胞株的試驗發現對一些藥物是有效，這樣的結果以及一些案例的 off-label use 讓和 St. Jude Children's Research Hospital 合作的 COG 已經將 BCR-ABL1-like 急性淋巴性白血病列為診斷最重要的一型白血病，並根據所找到的 kinase fusion 給予適當的 TKI or JAK2 inhibitor 藥物，加上原本傳統的化學治療，初步有很好的結果，預計於明年初 St. Jude Children's Research Hospital 和 COG 會擴大此臨床試驗的合作。

另外一個是團隊合作，因為新一代的基因定序，除了檢體以及資金，面對如此大的數據，統計分析亦是成功與否的重要原因。St. Jude Children's Research Hospital 有整個團隊分析這些數據，而和實驗室端亦有定期的開會討論這些數據，並由實驗去做驗證的工作以及機轉的分析。而 Dr. Mullighan 也針

對以上的結果和臨床醫師討論這些結果，做為將來療程設計，萬一臨床端有對化學治療反應不好的病人，且初步的檢驗並沒有發現在特殊的基因變化，亦會告知實驗端，再由實驗端來尋找可能的原因以及有無可以治療的標的。這樣成功的案例，發生在 COG 一位有 *EBF1-PDGFRB* 的病人。台灣兒童白血病的檢驗，還停留在非常早期的階段，這些先進的技術以上觀念還沒普及。未來若要增加病人治療成功的機會，導入這些技術以及方法是一定須要的。

這整個用新一代基因定序來研究兒童癌症的模式，不只發現了許多前所未聞的基因變化，除了我所研究的 *BCR-ABL1-like* 急性淋巴性白血病，Dr. Mullighan 發表了 ETP-ALL，Hypodiploid ALL 等的基因體變化。而在 St. Jude Children's Research Hospital 其他的實驗室也針對 AM7L，腦瘤等發表了許多重要的結果。因為有技術、分析、經費等門檻，就像是半導體產業，架上了很高的門檻，別人很難與其競爭。而良好的研究，伴隨而來的是更好的治療成果，以及更多的募款所得，這樣的良性循環使用 St. Jude Children's Research Hospital 得以在兒童的治療和研究上居於一個領導的地位。

未來的十年 St. Jude Children's Research Hospital 開始要實施所謂的 PCGP phase 2 的計劃，所有進入 St. Jude Children's Research Hospital 治療的個案，不管得到的是何種癌症，一律用 NGS 來找尋可以治療的標的，最後的目的除了提高治療的成績，亦可望有一天真正實現個人化的醫療。St. Jude Children's Research Hospital 所使用的模式，其實適用於所有疾病的研究，亦即有良好的檢體保存，用最新基因檢驗的方式進行研究，並且尋找臨床可以使用的標。St. Jude Children's Research Hospital 目前已經由小孩子的急性淋巴性白血病，轉至成人急性淋巴性白血病的研究，並參與臨床試驗，將小朋友成功的經驗推廣至成人的研究並增加其成功率，我想這應該是每一個臨床醫師的夢想。

建議事項：

St. Jude Children's Research Hospital 是一家私人的醫院，其經費來源是募款，而不是來自於治療病人之後保險的收入。這和臺大醫院有許多不同的地方，也因為如此，他們的醫療模式較不受限於保險的給付，因此能夠創造出獨特的治療和研究的成果。這部份受限於國內的保險，無法有效突破，而且背景以及文化差異太大，但因為臺大兒童醫院的成立，若能有效發展具特色，且很好的治療成果，未來也許可以考慮用 St. Jude Children's Research Hospital 的模式來募款。

其二是理想以及目標。因為他們的範圍較小，所以他們的是 "Finding cure, saving child"，非常清楚的說明要找尋治療的方式以解救小孩，我相信許多來 St. Jude Children's Research Hospital 工作的人，不管是長期，或是像我這種短時間的進修，都會被這句話所震撼而努力做好自己份內的工作，以在 St. Jude Children's Research Hospital 工作為自己的榮耀。St. Jude Children's Research Hospital 也連續多年被票選為全美最理想工作的地方前一百名，且年年名次往前，其所在地 Memphis 並不是一個真正很大的城市，可以明顯感受到在這個地方工作，所代表的榮耀。這種工作的動力，是我們所缺乏的，臺大醫院應該也可以有這樣的文化。

第三是開發新一代基因定序的平台。未來檢驗醫學部的分子檢驗，尤其和癌症相關檢驗的開發，已經不能再用 Sanger Sequencing 或是單純 RT-PCR 實驗設計的分式來進行。這有幾個原因，第一是新的染色體轉位比想像中還要多，不只在白血病還有其它的癌症也有類似的發現。而其基因和基因之間的斷點也不一致，這會增加傳統用 RT-PCR 去偵測的困難度。雖然不大可能用 RNA-seq 來做，但是有一些可以取代的方法發是值得我們學習，而用 NGS 的系統來研究癌症，在過去幾年改變了許多對疾病的看法，尤其是 clone 的概念。嚴格說來，癌症應該不是所謂的 single clone，在發病時應該有幾個 clone，有一個是主要，其他為次要。但在疾病復發時可能存在於發病時的微小 clone 復發造成疾病，而用傳統 Sanger Sequencing 已經無法偵測到這些變化，但用 NGS 則可以。因此對於一些高危險復發的基因體變化，用 NGS 才能夠早期偵測而提早做準備。

最後一個建議是，接下來的分析應該已經進入 Single cell WES 以及 RNA-seq，還有 whole epigenetics sequencing 這些平台，包括實驗與分析，若無院方的支持，只靠個人的研究計劃是不足以支撐整個研發的經費。這樣我們可能會錯失掉整個基因定序平台對個人化醫療所帶來的衝擊以及影響，因為建立這整個平台除了資金以及儀器，還須要有統計分析的人員，以及實驗室的人員去驗證。許多臺灣本土化的疾病，可以用此模式去探討其致病機轉，應該會有好的成果。

ORIGINAL ARTICLE

Targetable Kinase-Activating Lesions in Ph-like Acute Lymphoblastic Leukemia

K.G. Roberts, Y. Li, D. Payne-Turner, R.C. Harvey, Y.-L. Yang, D. Pei, K. McCastlain, L. Ding, C. Lu, G. Song, J. Ma, J. Becksfort, M. Rusch, S.-C. Chen, J. Easton, J. Cheng, K. Boggs, N. Santiago-Morales, I. Iacobucci, R.S. Fulton, J. Wen, M. Valentine, C. Cheng, S.W. Paugh, M. Devidas, I.-M. Chen, S. Reshmi, A. Smith, E. Hedlund, P. Gupta, P. Nagahawatte, G. Wu, X. Chen, D. Yergeau, B. Vadodaria, H. Mulder, N.J. Winick, E.C. Larsen, W.L. Carroll, N.A. Heerema, A.J. Carroll, G. Grayson, S.K. Tasian, A.S. Moore, F. Keller, M. Frei-Jones, J.A. Whitlock, E.A. Raetz, D.L. White, T.P. Hughes, J.M. Guidry Auvil, M.A. Smith, G. Marcucci, C.D. Bloomfield, K. Mrózek, J. Kohlschmidt, W. Stock, S.M. Kornblau, M. Konopleva, E. Paietta, C.-H. Pui, S. Jeha, M.V. Relling, W.E. Evans, D.S. Gerhard, J.M. Gastier-Foster, E. Mardis, R.K. Wilson, M.L. Loh, J.R. Downing, S.P. Hunger, C.L. Willman, J. Zhang, and C.G. Mullighan

ABSTRACT

BACKGROUND

Philadelphia chromosome–like acute lymphoblastic leukemia (Ph-like ALL) is characterized by a gene-expression profile similar to that of BCR–ABL1–positive ALL, alterations of lymphoid transcription factor genes, and a poor outcome. The frequency and spectrum of genetic alterations in Ph-like ALL and its responsiveness to tyrosine kinase inhibition are undefined, especially in adolescents and adults.

METHODS

We performed genomic profiling of 1725 patients with precursor B-cell ALL and detailed genomic analysis of 154 patients with Ph-like ALL. We examined the functional effects of fusion proteins and the efficacy of tyrosine kinase inhibitors in mouse pre-B cells and xenografts of human Ph-like ALL.

RESULTS

Ph-like ALL increased in frequency from 10% among children with standard-risk ALL to 27% among young adults with ALL and was associated with a poor outcome. Kinase-activating alterations were identified in 91% of patients with Ph-like ALL; rearrangements involving *ABL1*, *ABL2*, *CRLF2*, *CSF1R*, *EPOR*, *JAK2*, *NTRK3*, *PDGFRB*, *PTK2B*, *TSLP*, or *TYK2* and sequence mutations involving *FLT3*, *IL7R*, or *SH2B3* were most common. Expression of *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, *JAK2*, and *PDGFRB* fusions resulted in cytokine-independent proliferation and activation of phosphorylated STAT5. Cell lines and human leukemic cells expressing *ABL1*, *ABL2*, *CSF1R*, and *PDGFRB* fusions were sensitive in vitro to dasatinib, *EPOR* and *JAK2* rearrangements were sensitive to ruxolitinib, and the *ETV6*–*NTRK3* fusion was sensitive to crizotinib.

CONCLUSIONS

Ph-like ALL was found to be characterized by a range of genomic alterations that activate a limited number of signaling pathways, all of which may be amenable to inhibition with approved tyrosine kinase inhibitors. Trials identifying Ph-like ALL are needed to assess whether adding tyrosine kinase inhibitors to current therapy will improve the survival of patients with this type of leukemia. (Funded by the American Lebanese Syrian Associated Charities and others.)

The authors' full names, academic degrees, and affiliations are listed in the Appendix. Address reprint requests to Dr. Mullighan at St. Jude Children's Research Hospital, 262 Danny Thomas Pl., Mail Stop 342, Memphis, TN 38105; or at charles.mullighan@stjude.org.

Drs. Roberts and Li and Drs. Downing, Hunger, Willman, Zhang, and Mullighan contributed equally to this article.

N Engl J Med 2014;371:1005-15.

DOI: 10.1056/NEJMoa1403088

Copyright © 2014 Massachusetts Medical Society.