บทความปริทัศน์
(Review article)

การวินิจฉัย
มะเร็งเม็ดเลือดขาว

เฟื่องฉัตร จรินทร์ธนันต์
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต

บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัยเพื่อแยกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวระยะเฉียบพลัน เป็นสิ่งจำเป็นและมีความสำคัญทั้งต่อการรักษาและการทำนายโรค ตั้งแต่ ค.ศ. 1975 French-American-British (FAB) Classification มีการจำแนกมะเร็งเม็ดเลือดขาวระยะเฉียบพลัน เป็น Acute Non-Lymphocytic Leukemia (ANLL) หรือ Acute Myelogenous Leukemia (AML) และ ALL โดยอาศัยรูปร่างลักษณะของเซลล์ (morphology) และส่วนประกอบของสารเคมีภายในเซลล์เม็ดเลือด (cytochemistry) และเซลล์ในไขกระดูก ทำให้ AML แบ่งเป็น M1-M7 ส่วน Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) แบ่งเป็น L1-L3 การศึกษาเซลล์ของเม็ดเลือดขาวระยะตัวอ่อน (immature cells) และความก้าวหน้าทางอณูชีววิทยาอย่างต่อเนื่อง ทำให้มีการตรวจหาโมเลกุลบนผิวเซลล์ (immunological markers) หรือ อิมมูโนฟีโนทัยป์ (immunophenotype) และตรวจความผิดปกติในระดับโครโมโซมของเซลล์ (karyotype abnormality) ใน ค.ศ. 2008 องค์การอนามัยโลกได้จำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวระยะเฉียบพลัน โดยอาศัยรูปร่างลักษณะ (morphology) ของเซลล์ การตรวจหาโมเลกุลบนผิวเซลล์ การตรวจหาความผิดปกติในระดับโครโมโซม และการตรวจหาความผิดปกติระดับยีน (genetic disorders) การตรวจด้วยหลักการต่างๆ เหล่านี้ ทำให้สามารถจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวระยะเฉียบพลันได้อย่างแม่นยำ สามารถพยากรณ์โรคถูกต้อง การจำแนกและบ่งชี้ชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันจึงมีความสำคัญ ทำให้ประสิทธิภาพของการรักษาดีขึ้น ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต (survival rate) ของผู้ป่วยมีมากขึ้นตามลำดับ

คำสำคัญ: ลิวคีเมีย, โครโมโซม, อัตราการรอดชีวิต

ผู้นิพนธ์ประสานงาน
เฟื่องฉัตร จรินทร์ธนันต์
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต
52/347 หมู่บ้านเมืองเอก ถนนพหลโยธิน อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000
อีเมล์: fjarintanan@gmail.com

Leukemia diagnosis

Faongchat Jarintanan
Faculty of Medical Technology, Rangsit University

Abstract

Laboratory diagnosis for acute leukemia classification is necessary for both treatment and prognosis. According to French-American-British (FAB) classification in 1975, acute leukemia was classified into Acute Non Lymphocytic Leukemia (ANLL) or Acute Myelogenous Leukemia (AML) and Acute Lymphocytic Leukemia (ALL). Based on morphology and cytochemistry of peripheral blood cells and leukemic cells from bone marrow, AML was further categorized into M1-M7. For ALL, it was grouped in L1-L3. Due to the continuous knowledge in leukemic blast cells and advance in molecular biology, the classification of leukemia was developed by using surface marker molecules or immunophenotype and abnormality in the karyotype of chromosome. In 2008, WHO classification of acute leukemia is based on morphology, immunological markers on the cell surface, karyotypic abnormality and molecular cytogenetic disorders. Taken together, it is realizable to distinguish different types of acute leukemia and provide the valuable prognosis. At present, classification and identification of leukemic cells are of importance in effective therapeutic management and gradual increased in the survival rate.

Keywords: Leukemia, Chromosome, Survival rate

Corresponding author
Faongchat Jarintanan
Faculty of Medical Technology, Rangsit University
52/347 Muang-Ake Village, Phaholyothin Road, Muang District, Patumthani Province
E-mail: ffjarintanan@gmail.com

บทนำ

การตรวจวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาว นอกจากมีการประเมินได้ทางคลินิก เช่น อายุ อาการ จำนวนเม็ดเลือดขาวที่เพิ่มขึ้น การจำแนกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาวตัวอ่อน ต้องอาศัยการดูรูปร่าง ลักษณะ การติดสี แกรนูลภายในเซลล์ และส่วนประกอบเคมี (cytochemistry) ของเม็ดเลือดและเซลล์ในไขกระดูก ประกอบกัน เป็นวิธีที่ใช้มานานและแพร่หลาย การวินิจฉัยขึ้นอยู่กับประสบการณ์เป็นสำคัญ ในบางครั้งไม่สามารถแยกชนิดย่อยของมะเร็งเม็ดเลือดขาวได้อย่างชัดเจน[1] ดังนั้นจึงมีการศึกษาชนิดของโปรตีนบนผิวเซลล์ (surface marker หรือ immunophenotype) โดยอาศัยหลักการที่เซลล์ในระยะต่างๆ ของ maturation และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ มีโมเลกุลที่ปรากฏบนผิวเซลล์ต่างกัน โดยเทคนิคของโฟลซัยโตเมทรี (flow cytometry) จึงสามารถบอกชนิดและระยะของเม็ดเลือดขาวได้ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามการตรวจโดยวิธีนี้ไม่สามารถบอกถึงพยาธิกำเนิด (pathogenesis) การดำเนินโรค (disease progression) โอกาสการเกิดโรคกลับซ้ำ (relapse) และการพยากรณ์โรค (prognosis) ปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลันจึงมีการตรวจหาความผิดปกติระดับโครโมโซม (cytogenetics) และระดับยีน (molecular genetics)[2] ซึ่งสอดคล้องกับการจำแนกชนิดของมะเร็งตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก ทำให้ผลการรักษาดีขึ้นและอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมากขึ้น

การตรวจวินิจฉัยเพื่อจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวเฉียบพลัน

1. การตรวจดูขนาด รูปร่าง ลักษณะ การติดสีของ cytoplasm ลักษณะของ chromatin ใน nucleus ชนิดและจำนวนของแกรนูลภายในเซลล์เม็ดเลือดขาวในระยะตัวอ่อน ทั้งในกระแสเลือดและในไขกระดูกด้วยการย้อมสี ซึ่งการดู morphology อย่างเดียว บ่อยครั้งพบว่าลักษณะของ blast คล้ายกัน หรือพบ atypical blast ทำให้เกิดความยากลำบากในการวินิจฉัย เพื่อแยกชนิดของ leukemia จึงได้มีการย้อมพิเศษ (special stain) เพื่อตรวจหาส่วนประกอบของสารชนิดต่างๆ ภายในเซลล์[3]

2. การตรวจส่วนประกอบของสารเคมีภายในเซลล์ ดูลักษณะและการติดสีของ nucleus /cytoplasm ของเซลล์ด้วยวิธี cytochemistry โดยอาศัยหลักการที่เซลล์แต่ละชนิดมีส่วนประกอบของสารเคมี (chemical compound) ภายในเซลล์ต่างกัน และมีปริมาณมากน้อยต่างกัน ดังตารางที่ 1 สารประกอบทางเคมีเหล่านี้ ได้แก่ เอนไซม์ (enzyme), ไขมัน (lipid), คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate), DNA, RNA, เหล็ก (Iron) และชีวโมเลกุลต่างๆ (biological molecules) ซึ่งสารเหล่านี้เมื่อทำปฏิกิริยากับ substrate และเกิดสีที่จำเพาะภายในเซลล์นั้นๆ ทำให้แยกชนิดเซลล์ต่างๆ ได้ การย้อม cytochemistry ทำให้สามารถวินิจฉัยแยกชนิดมะเร็งเม็ดเลือดขาวมีดังนี้

2.1 การตรวจหาเอนไซม์ภายในเซลล์ โดยหลักการที่ substrate ทำปฏิกิริยากับสารเคมี ในภาวะที่มี enzyme จะทำให้เกิด final product ที่มีสี เช่น

2.1.1 Myeloperoxidase (MPO) เป็น lysosomal enzyme พบใน primary granules หรือ azurophilic granules ของ granulocytic series เนื่องจาก promyelocyte และ myelocyte มี primary granules มาก จึงย้อม peroxidase stain ติดสีเข้ม ในขณะที่ neutrophil ตัวเต็มวัยมี primary granules น้อย จะ

ตารางที่ 1 แสดงการย้อม Cytochemistry เพื่อแยก M1-M7[4]

ชนิด	เซลล์เป้าหมาย	Cytochemistry					
		PAS	MPO	SB	CAE	NSE	NaF
ALL	Lynphoblast	+++	-	-	-	-	-
M0	Undifferentiated	-	-	-	-	-	-
M1	Minimal differentiated	-	+/-	+/-	-	-	-
M2	Myeloblastic	-	++	++	++	+/-	+/++
M3	Promyelocytic	-	+++	+++	+++	-	+/++
M4	Myelomonocytic	-	++	++	++	++	-
M4E0	Monoblast and Eosinophil	-	+	+	++	++	-
M5a	Monoblast	-	+/-	-	-	+++	-
M5b	Monoblast, promonocytes	+/-	-	-	-	+++	-
M6	Erythroleukmia	+++	-	-	-	+/-	-

ย้อมติดสีจางหรือไม่ติดสี การย้อมติดสี MPO เป็น myeloid leukemia ทั้งชนิด AML (MO-M2), APL (M3) และ AMML (M4) โดยจะไม่พบการติดสี MPO ใน ALL, basophilic leukemia, pure erythroleukemia (M6) และ megakaryoblastic leukemia (M7)

2.1.2 Specific esterase (SE) ได้แก่ Naphthol AS-D choloroacetate esterase (CAE) พบในแกรนูลของ neutrophil และ mast cell แต่ไม่พบใน monocyte, megakaryocyte eosinophil, basophil, erythroblast และ lymphocyte โดยความไวน้อยกว่า MPO หรือ Sudan black B (SBB) มีประโยชน์ในการแยก AML (M1-M4) ส่วนใหญ่ และแยก ALL กับ granulocyteseries/monocytic series

2.1.3 Nonspecific esterase ได้แก่ alpha-naphthyl butyrate esterase (ANBE) และ alpha-naphthyl acetate esterase (ANAE) จะพบได้ในเซลล์ของ monocytic series พบทั้ง monoblast และ monocyte เป็นส่วนใหญ่ โดย monocyte จะถูกยับยั้งด้วยการเติม sodium fluoride (NaF) มีประโยชน์ในการแยก M5/M4 ออกจาก M0 หรือ M1 หรือ undifferentiated lymphoid leukemia

2.2 การตรวจหาไขมันภายในเซลล์

2.2.1 Sudan Black B (SBB) เป็นสีที่ละลายในไขมันใช้ย้อม lipid, phospholipid sterols และ neutral fat สามารถจำแนกเซลล์ประเภทที่เป็น myeloblast กับ lymphoblast ได้ โดย myeloblast, monocyte และ promyelocyte จะติด SBB แต่ erythroid, megakaryocyte และ lymphoid precursor จะไม่ติด ส่วน monoblast มักจะไม่ติดเช่นกัน ยกเว้นในกรณีที่พบ Aure rod จะติดสี SBB อย่างชัดเจน จึงเป็น marker ที่บอกว่าเป็น myeloblast หรือ myelomonocyte และไม่ใช่ lymphoid cell

2.3 การตรวจหาcarbohydrate ภายในเซลล์

2.3.1 Periodic acid–Schiff (PAS) เป็นการย้อมเพื่อตรวจหา carbohydrate macromolecule เช่น glycogen, glycoproteins, glycolipids โดยที่ PAS ให้ผลบวก กับ lymphoblast มีการติดสีแบบ block pattern ส่วน erythroleukemia การติดสีเป็นแบบ bright red granules

การตรวจวินิจฉัยโดยวิธี cytochemistry สามารถที่จะวินิจฉัยแยก acute myelogenous leukemia (AML) ออกจาก acute lymphoblastic leukemia (ALL) ออกเป็น M1-M7 ได้อย่างถูกต้องแม่นยำ แต่ต้องอาศัยประสบการณ์ในการดู slide และการแปลผลการย้อม ประกอบกับวิธีการย้อมสีเฉพาะสารเคมีบางชนิดต้องเตรียมทันที สารเคมีบางชนิดเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้นจึงมีการพัฒนาตรวจหาโมเลกุลที่จำเพาะบนผิวเซลล์ชนิดต่างๆ (surface markers) เพื่อแยกชนิดและระยะของเซลล์ตัวอ่อน โดยวิธี immunophenotype ซึ่งใช้ monoclonal antibody ต่อ surface markers ของเซลล์มะเร็ง (leukemic cell phenotype) การที่ monoclonal antibody ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง ทำให้ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง flow cytometry ได้สะดวกและรวดเร็ว

3. Immunophenotype classification การประยุกต์ใช้ความรู้ทาง immunology และ molecular biology โดยนำ monoclonal antibodies มาตรวจหา surface marker, cytoplasmic immunoglobulin ทำให้ทราบ immunophenotype ของเซลล์แต่ละชนิดและทราบระยะของการเจริญเติบโต (maturation stage) ของเซลล์ ซึ่ง Immunophenotypic markers ส่วนใหญ่มีสัญลักษณ์ที่เรียกว่า cluster of differentiation หรือ cluster designation (CD) เป็นเครื่องหมายและมีตัวเลขกำกับ

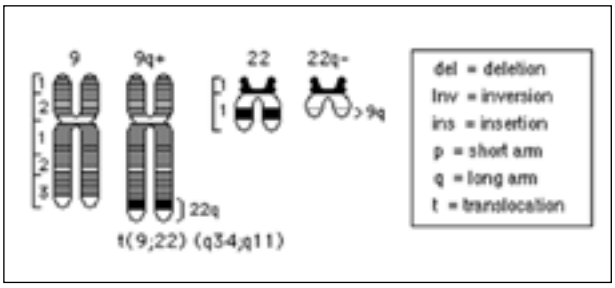
ตารางที่ 2 Monoclonal antibodies ที่ใช้ในการจำแนก AML (M0-M7)[5]

ชนิด	Immunophenotypic marker								
	CD33	CD13	CD34	CD117	CD14	CD61/41	GPA	HLA-DR	CD15
	Mono and myeloid	Mono and myeloid	Progenitor cells only	Progenitor cells	Mature monocytes	Megakaryocytes	Erythrocytes	Mono and myeloid	Mono and myeloid
M0	+	+	+	+	-	-	-	+	-
M1	+	+	+	+	-	-	-	+	-
M2	+	+	+/-	+/-	-	-	-	+	+
M3	+	+	-	+/-	-	-	-	-	+
M4	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	+
M5	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	+
M6	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	+	+/-	+/-
M7	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	-	+/-	-

วิธีนี้สามารถจำแนกชนิดและระยะของเซลล์ นิยมตรวจเป็นชุด (panel) ของ monoclonal antibodies ดังตารางที่ 2

การจำแนกชนิดของ ALL สามารถแยกชนิดของ T และ B-lymphocyte พร้อมทั้งสามารถระบุ maturation stage ได้อย่างดี แต่การจำแนก AML โดยวิธี FAB classification อาจจะไม่สอดคล้องกับการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี immunophenotype วิธีนี้สามารถตรวจวิเคราะห์ surface markers หลายชนิดได้พร้อมกัน เช่น biphenotypic acute leukemia (BAL)[6] ซึ่งเป็นเซลล์ตัวอ่อนของ lineage เดียว แต่มี coexpressing markers ของ lineage อื่นด้วย เช่น AML ที่มี lymphoid antigen หรือ ALL ที่มี myeloid antigens ในกลุ่มที่เป็น BAL มีการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี และมักพบร่วมกับความผิดปกติของ chromosome ดังนั้น ใน ค.ศ. 2008 การจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาวโดย องค์การอนามัยโลก (WHO classification) จึงมีการตรวจวิเคราะห์หาความผิดปกติในระดับโมเลกุล (molecular analysis)[7] และการตรวจ surface markers โดยวิธี flow cytometry ร่วมด้วย

4. Cytogenetic chromosome analysis การตรวจวิเคราะห์หาความผิดปกติของ chromosome ทั้งโครงสร้าง (karyotypic analysis) และจำนวน (DNA ploidy) ในระยะ metaphase ของเซลล์ ความผิดปกติของ chromosome ของ AML พบประมาณ 50-60% ในขณะที่ ALL พบมากกว่า 65%[7] ปัจจุบันมีการพัฒนาฉลาก (probe) เพื่อมุ่งเป้าไปจับที่ส่วนของยีนที่เป็นสาเหตุของมะเร็งได้อย่างจำเพาะในตำแหน่งที่พบบ่อย คือ มีการพัฒนาการตรวจโดยวิธี fluorescence in situ hybridization (FISH), interphase FISH, spectral karyotyping (SKY) และ comparative genomic hybridization (CGH) โดยเปรียบเทียบแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ การรายงานความผิดปกติของโครโมโซมใช้แนวทางของ ISCN (2009) โดยอ่านจำนวนทั้งหมดของโครโมโซมก่อน ตามด้วย sex chromosome แล้วจึงตามด้วยความผิดปกติของ autosome โดยเรียงตามเลขโครโมโซม โดยใช้ comma คั่น และใช้สัญลักษณ์บอก ตัวอย่างเช่น +(gain), -(loss), t (translocation), inv (inversion), del (deletion), der (derivative chromosome), dup (duplication), ins (insertion), mar (marker chromosome), i (isochromosome), r (ring chromosome) เป็นต้น โดยเลขโครโมโซมที่ผิดปกติให้ใส่ในวงเล็บตามหลังความผิดปกตินั้นๆ เช่น t(9;22)(q34;q11) หรือ Philadelphia chromosome ซึ่งมี translocation ของ chromosome คู่ที่ 9 และ 22 (รูปที่ 1) การตรวจ chromosome นอกจากมีประโยชน์ในด้านการวินิจฉัยโรค พยากรณ์โรคแล้ว ยังนำไปสู่การค้นหาสาเหตุของการเกิดโรคกลไกการดำเนินของโรค เพื่อพัฒนายาที่ใช้ในการรักษาในระดับเซลล์และโมเลกุล[8]



รูปที่ 1 แสดง Philadelphia chromosome[9]

ตารางที่ 3 ความผิดปกติของโครโมโซมที่สัมพันธ์กับชนิดของ leukemia[10-12]

ลักษณะจำเพาะที่พบ	ความผิดปกติของโครโมโซม
M1	del(9)(q11q32), normal karyotype
M2	t(8 ;21)(q22 ;q22),
	t(11 ;20)(p15 ;q11),
M3	t(15 ; 17)(q22 ;q11),
	t(1 ;17)(p36 ;q11),
M4	t(1 ;11)(q21 ;q23),
	del(11)(q23 ;q24)
	t(11 ;17)(q23 ;q25)
M4Eo	inv(16)(p13q22),
	t(16 ;16)(p13 ;q22), del(16)(q22)
M5	t(8 ;16)(p11 ;p13),
	t(6 ;11)(q27 ;q23),
	t(9 ;11)(p21 ;q23),
	t(10 ;11)(p11-15 ;q23-23),
	ins(10 ;11)(p11 ;q23q24)
M6	i(21q), del(20)(q11q13),
	ring chromosomes
M7	Too few cases studied to date
CML	t(9;22)
ALL-preB	t(1;19)
ALL-T	t(11;14)
ALL-Burkitt's (L3)	t(8;14), t(2;8), t(8;22)

การตรวจหาการกลายพันธุ์ของ gene ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเม็ดเลือดขาว เพื่อประสิทธิภาพในการรักษาในระยะที่โรคสงบแล้ว เป็นการตรวจที่เกี่ยวข้องกับ gene 2 กลุ่ม คือ proto oncogene และ tumor suppressor gene หากมีการกลายพันธุ์ที่ proto oncogene จะส่งผลให้มีการแบ่งเซลล์ (proliteration) เพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างควบคุมไม่ได้ ส่งเสริมให้เกิด leukemic cells ส่วน tumor suppressor gene นั้น ทำหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ผิดปกติ และควบคุมให้เซลล์มีการเจริญ (differentiation) จนถึงระยะตัวเต็มวัย (maturation) ยับยั้งการเกิด leukemic cells ซึ่งการตรวจดังกล่าวมีประโยชน์ในการตรวจติดตามหา minimal residual disease (MRD) หลังจากการรักษา ปัจจุบันได้มีการนำ molecular technique ต่างๆ ไปใช้ในตรวจหา gene ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งเม็ดเลือดขาว

สรุป

การตรวจวินิจฉัยเพื่อจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาว มีหลายวิธี เริ่มจากการดูรูปร่าง ลักษณะ (morphology) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ การตรวจหาสารชนิดต่างๆ ภายในเซลล์ (cytochemistry) ซึ่งเหมาะสมและสอดคล้องกับ FAB classification แต่จากความรู้และความก้าวหน้าทาง molecular biology ทำให้ใน ค.ศ. 2008 องค์การอนามัยโลกจำแนกชนิดของมะเร็งเม็ดเลือดขาว ตามการตรวจวิเคราะห์วิธีต่างๆ ได้แก่ immunophenotype, cytogenetics และ molecular genetics เพื่อตรวจหาความผิดปกติของเซลล์มะเร็งในระดับต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับพยาธิกำเนิด กลไกการดำเนินโรค และการพยากรณ์โรค ทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาดีขึ้น ส่งผลให้อัตราการหายขาดจากโรคมีมากขึ้น และอัตราการรอดชีวิตของผู้ป่วยมีมากขึ้นเป็นลำดับ

ตารางที่ 4 ความผิดปกติในระดับยีนที่พบในมะเร็งเม็ดเลือดขาว[13,14]

ยีนที่พบผิดปกติ	โรคที่พบความผิดปกติได้บ่อย
AML1/RUNX1 point mutation	MDS, AML (MO)
ETO-AML1/RUNX1	AML-M2 [AML with t(8;21)]
CEBPA mutation	AML (M1/M2)
PML-RARA	AML-M3 [APL with t(15;17)]
NPM1 muation	AML (M4/M5)
MYH11-CBFB	AML-M4Eo [AML with inv(16)/ t(16;16)]
GATA1 mutation	Down syndrome with AML-M7
BCR-ABL1	CML,AML,ALL[B-lymphoblastic leukemia with t (9;22)]
PBX1-E2A/TCF3	B-ALL [B-lymphoblastic leukemia with t (1;19)
TRA-TLX1	T-ALL
IGK-MYC/IGH-MYC/IGL-MYC	B-ALL (Burkitt)

เอกสารอ้างอิง

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. J Clin Pathol 1989;42:567-84.
2. Manolio TA, Collins FS. The HapMap and genome-wide association studies in diagnosis and therapy. Annu Rev Med 2009;60:443-56.
3. Lee RE, Young RH, Castleman B. James Homer Wright: a biography of the enigmatic creator of the Wright stain on the occasion of its centennial. Am J Surg Pathol 2002;26:88-96.
4. Hillman R AK, Leporrier M, eds. Hematology in Clinical Practice. New York: McGraw- Hill, 2010:217.
5. Auewarakul CU, Promsuwicha O, Y UP, et al. Immunophenotypic profile of adult acute myeloid leukemia (AML): analysis of 267 cases in Thailand. Asian Pac J Allergy Immunol 2003;21:153-60.
6 Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 1995;9:1783-6.
7. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. Nature 2009;458:719-24.
8. Druker BJ. Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML. Blood. 2008;112:4808-17.

9. The Philadelphia Chromosome. Available from: http://www.meded.virginia.edu/courses/path/innes/wcd/genetic.cfm.
10. Sabattini E, Bacci F, Sagramoso C, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview. Pathologica 2010;102:83-7.
11. Mrozek K. Cytogenetic, molecular genetic, and clinical characteristics of acute myeloid leukemia with a complex karyotype. Semin Oncol 2008;35:365-77.
12. Grimwade D, Walker H, Oliver F, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. Blood 1998;92:2322-33.
13. Bench AJ, Erber WN, Follows GA, et al. Molecular genetic analysis of haematological malignancies II: Mature lymphoid neoplasms. Int J Lab Hematol 2007;29:229-60.
14. Pabst T, Mueller BU. Transcriptional dysregulation during myeloid transformation in AML. Oncogene 2007;26:6829-37.