

Factor Steel: lecciones de supervivencia celular

Julio Roberto Cáceres-Cortés*

RESUMEN

Los ratones portadores de mutaciones en cualquiera de los loci *dominant white spotting (W)* y *Steel (Sl)*, tienen defectos serios en el desarrollo de tres diferentes linajes celulares con actividad migratoria: melanocitos, gametos y células hematopoyéticas. El análisis genético ha revelado que el locus Sl codifica para el factor Steel, que es el ligando del receptor de tipo tirosina cinasa c-Kit que es producto del locus W. El factor Steel juega un papel decisivo en la formación de células hematopoyéticas. Recientemente se pudo establecer que regula el autorrenuevo, la diferenciación y muerte celular durante la generación de células hematopoyéticas, actúa como un factor de supervivencia. Entender cómo las células primitivas hematopoyéticas sufren una restricción progresiva en su potencial de diferenciación y adquieren características de células maduras bajo el efecto del factor Steel, representa un reto importante en biología celular. El patrón en la expresión genética en una célula está establecido por factores de transcripción que regulan procesos antagónicos como la supervivencia y la muerte celular. Aquí se explica que el efecto de supervivencia del factor Steel está modulado por el factor de transcripción de tipo básico hélice-asa-hélice SCL. Las propiedades mostradas por el factor Steel indican que juega un papel decisivo en la potenciación de la proliferación y supervivencia celular durante el desarrollo de los progenitores hematopoyéticos y no hematopoyéticos.

Palabras clave: factor Steel, SCL, factores de transcripción.

ABSTRACT

Mice bearing mutations at either of two loci, *dominant White spotting (W)* or *Steel (Sl)*, exhibit development defects in hematopoietic, melanocytic and gametes. Genetics studies have shown that the Sl locus encodes the Steel factor (SF), which is the ligand for the tyrosine kinase receptor c-kit, the product of the W locus.

The SF factor plays an essential role during the formation of hematopoietic cells. Recently, it has been established that it regulates self-renewal, differentiation, cell death and cell survival. Understanding how the hematopoietic stem cells undergo a progressive cell restriction in their differentiation potential and acquire new mature features under the control of SF, is a challenge in cell biology. The genetic expression pattern in a cell is established by transcription factors that regulate antagonistic processes like survival and cell death. Here I explain that the survival effect of SF is modulated by the basic helix-loop-helix SCL transcription factor. The properties shown by SF indicate that not only SF maintains cells alive, but also potentiates proliferation of hematopoietic and non-hematopoietic progenitors.

Key words: Steel factor, SCL, transcription factors.

El receptor c-Kit, y su ligando el factor Steel, activan una vía esencial de señalamiento en la hematopoyesis del ratón.¹ La mutación W se ha demostrado que es alélica con el proto-oncogen c-kit que codifica para

un receptor de tipo tirosina cinasa,² mientras que la mutación Steel afecta un gen que codifica para el factor Steel (*Steel factor*, SF), también llamado factor de crecimiento de la célula madre (*stem cell factor*, SCF), ligando de Kit (*Kit ligand*, KL),³ o factor de crecimiento del mastocito (*mast cell growth factor*, MCGF).⁴ Las características más sobresalientes del fenotipo de los ratones mutantes W o Sl son los defectos en la fertilidad, la pigmentación y la hematopoyesis.

El aislamiento del ADN complementario que codifica para el factor Steel permitió la demostración formal de que el factor Steel era el ligando del producto del proto-oncogen c-kit.⁵ Posteriormente se demostró que el factor Steel era el producto del locus Steel sobre el cromosoma 10 del ratón.⁶ La caracterización de las mutaciones W y

* Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina. Instituto Politécnico Nacional.

Correspondencia: Dr. Julio Roberto Cáceres Cortés. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n, colonia Casco de Santo Tomas, México 11340, DF. Correo electrónico: jcacortes@gmail.com
 Recibido: noviembre, 2010. Aceptado: diciembre, 2010.

Este artículo debe citarse como: Cáceres-Cortés JR. Factor Steel: lecciones de supervivencia celular. Rev Hematol Mex 2010;12(1):32-38.

Sl en estudios de trasplantes intergenotípicos condujo a la demostración de que estos loci codificaban para productos de genes interactuantes. De estas observaciones se concluyó que los ratones Steel no pueden ser curados de sus problemas hematológicos mediante trasplante de médula ósea proveniente de ratones W o de tipo silvestre. Sin embargo, la trasplatación de ratones W con médula ósea de ratones Steel o de tipo silvestre resultó en su reconstitución hematológica. Así, los defectos de los ratones W son inherentes a las células hematopoyéticas y el defecto en los ratones Sl está en el microambiente medular donde se desarrollan las células hematopoyéticas.⁴ La caracterización del factor Steel y de su receptor c-Kit ha revelado el mecanismo de la deficiencia estromal en el ratón Sl convirtiéndose éste en un modelo clásico de la deficiencia microambiental. Las mutaciones W y Sl en el ratón son mutaciones que generan el mismo fenotipo: son anémicos, estériles y de color blanco. La hematopoyesis importantemente disminuida y la letalidad en el estado homocigótico en los ratones Sl indican la importancia del factor Steel en la hematopoyesis. El factor SF y su receptor c-Kit juegan un papel decisivo en el desarrollo de las células hematopoyéticas a través de la inhibición de la apoptosis o muerte celular programada,⁷ aunque el mecanismo por el que lo hace aún no está completamente entendido. Sin embargo, puede estar relacionado con la activación persistente de distintas vías de señalización esenciales, de tal manera que el estudio del factor Steel ha alcanzado el tema del origen del cáncer. Hace poco se estudió ampliamente la transformación maligna de células progenitoras adultas en células madre cancerosas. Estas últimas pueden ser generadas por alteraciones genéticas o epigenéticas, y también por cambios en el microambiente local, incluidas las células estromales. Las células iniciadoras de tumores estromales típicamente expresan varios marcadores de células madre entre los que podemos encontrar, además del factor Steel, a la telomerasa, la aldehído deshidrogenasa (ALDH), CD133, CD44, CXC4, transportadores de drogas y factores de transcripción, como OCT-3/4, Nanog y SOX2.⁸

El factor de transcripción SCL: componente esencial de la ruta de c-Kit

Durante el desarrollo del embrión humano la hematopoyesis ocurre en etapas migratorias, las primeras células madre hematopoyéticas son generadas en el saco vitelino, luego migran al hígado y de ahí a la médula ósea por el

torrente circulatorio. La migración es una propiedad de estas células mediada por factores quimioattractantes presentes en los sitios de destino. En los mamíferos, las células rojas embrionarias son producidas en el saco vitelino, mientras que las células de otros linajes aparecen en el hígado fetal junto con las células rojas definitivas. Un problema central en biología es la identificación de los genes que participan en la diferenciación y formación del sistema hematopoyético.

Hace poco recibió apoyo científico la indagación sobre el papel que juega SCL (*stem cell leukemia*) en el surgimiento de las células madre hematopoyéticas.⁹ Krosly y sus colaboradores demostraron con anterioridad la implicación del factor de transcripción SCL en la supervivencia mediada por el factor Steel en células hematopoyéticas CD34+.¹⁰ El factor de transcripción SCL ha emergido como un candidato en la regulación de la hematopoyesis temprana.^{11,12} Luego de su descubrimiento a través de una translocación en el locus del receptor de la célula T en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (ALL), el SCL se catalogó como miembro de la familia de los factores de tipo hélice-asa-hélice básico (bHLH) Figura 1.^{13,14}

El factor de transcripción SCL es decisivo para el desarrollo de la hematopoyesis *in vivo* como lo demuestra el estado homocigoto *scl*^{-/-} en embriones de ratón.¹⁵ En ausencia de SCL durante la hematopoyesis no se detecta la generación de células rojas, mieloides, megacariocitos, células mast, y linfocitos T y B.¹⁶ Sin embargo, la función de SCL requiere más demostraciones. Por lo tanto, Hoang

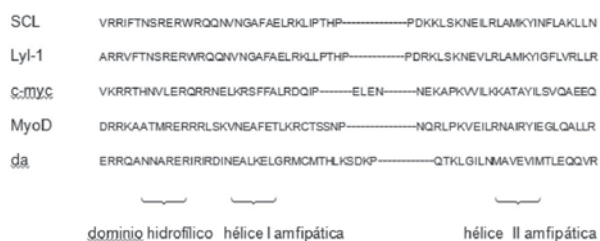


Figura 1. Relación de secuencia de aminoácidos (código en letra sencilla) entre SCL y algunas proteínas. Parte del SCL muestra homología estrecha con el dominio de unión al ADN de varias proteínas con genes importantes en la neurogénesis, desarrollo de la capa germinal y determinación del sexo en *Drosophila*; con Lyl-1 en leucemia linfoblástica aguda; con MyoD importante en la miogénesis; con incrementadores de inmunoglobulinas; y con la familia myc.

T y colaboradores¹⁰ buscaron modular negativamente la función de SCL en células TF-1 CD34+ que requieren factor Steel, interleucina-3 (IL-3) o factor estimulante a la formación de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF) para sobrevivir. La expresión ectópica de una forma dominante negativa de SCL (dnSCL) carente del dominio básico, o el ADNc antisentido de SCL (SCL-as), redujo significativamente la unión al ADN medido en los ensayos de retardo de la movilidad electroforética. Cuando se compararon con las células parentales o los controles expresando el vector solo, la respuesta de supervivencia al factor Steel por estas células transfectadas se vio reducida mientras que la respuesta a GM-CSF o IL-3 no se vio afectada, lo que indica una especificidad distinta para la vía activada por SF/c-Kit. La expresión ectópica de bcl-2 humano, un proto-oncogen que confiere supervivencia celular, transferido en un gen retroviral, bloqueó la muerte por apoptosis inducida por dnSCL o SCL-as. En células CD34+ primarias, la población sin estimular por factores de crecimiento es de casi 70% SCL+. Después de 10 días de cultivo en presencia de factor Steel el nivel de SCL era elevado pero indetectable ante GM-CSF. Estos resultados indican que SCL es esencial en la vía del factor Steel pero no en la vía dependiente de GM-CSF y que las funciones de SCL se encuentran río arriba de los miembros de la familia de bcl-2. La deficiencia estromal de factor Steel en el ratón Sl y la ausencia o alteración del receptor c-Kit en el ratón W podría llevar a alteraciones en los niveles de SCL. Sería interesante tomar como objeto de estudio a los ratones W y Sl en cuanto a la presencia e influencia de SCL en la hematopoyesis.

El factor Steel y su receptor c-Kit han sido implicados en el control de múltiples procesos biológicos que incluyen: supervivencia, proliferación, diferenciación y migración de cuatro tipos diferentes de células: hematopoyéticas, mastocitos, melanocitos y gametocitos. Más aún, como inhibidor de la apoptosis el oncogen c-kit es una vía para la expansión celular en varios tipos de cáncer. Un importante hallazgo ha sido comprobar la existencia del oncogen c-kit en el genoma de cánceres de diversa índole, como el de testículo, de la célula pequeña de pulmón y el cérvico uterino. Existe la posibilidad de reducir la expansión de células cancerosas primarias reduciendo la función de SCL y, por lo tanto, el suministro o fuente de energía de la vía de c-Kit. Se ha comprobado que en tejidos no hematopoyéticos SCL está expresado, por ejemplo, en progenitores

de células endoteliales y endotelios de otros órganos^{17,18} y ciertas áreas del cerebro en desarrollo.¹⁹ Existe evidencia considerable que sugiere que el factor Steel y su receptor c-Kit están involucrados en la patogénesis de tumores de origen no hematológico. Como podría esperarse a partir de los estudios sobre el desarrollo, c-kit está sobre-expresado en tumores de células germinales de testículo²⁰ y en melanomas.²¹ En los tumores ginecológicos,^{22,23} líneas celulares de cáncer del colon,²⁴ y el cáncer de la célula pequeña de pulmón^{25,26} se ha demostrado la co-expresión de c-kit y de factor Steel. La mayoría de los especímenes de cáncer de mama y líneas celulares derivadas de éste co-expresan c-Kit y el factor Steel, lo que resulta en una ventaja de crecimiento para las células tumorales con este origen.²⁷ ¿SCL se expresa cuando las células pueden activarse con la vía factor Steel/c-Kit? ¿Cuál es el papel de SCL donde factor Steel está implicado en la estimulación autocrina? Para el caso del cáncer cérvico uterino: a) en la activación constitutiva de factor Steel/c-Kit ¿SCL juega un papel crítico en la carcinogénesis? b) ¿el papiloma virus humano HPV, implicado en la iniciación de la transformación maligna en cáncer cérvico uterino, necesita de SCL para replicarse? En leucemia linfocítica aguda se ha visto que los oncogenes SCL y LMO1 colaboran en la expansión de progenitores de timocitos e inhiben las etapas tardías de la diferenciación.²⁸

Cuando hace años se comenzó a estudiar la estimulación autocrina como un mecanismo en el desarrollo del tumor, el proyecto parecía utópico y reduccionista para muchos. Los recientes estudios abren nuevas posibilidades en el estudio del cáncer, como la inducción de la apoptosis que ataca vías de autoestimulación receptor/ligando y factores de transcripción.

El compromiso de linaje

Un proceso biológico importante en la generación de las células hematopoyéticas, es el compromiso de linaje que puede ocurrir concomitantemente con la supervivencia y la proliferación. La exposición de células primarias CD34+ al GM-CSF ha demostrado resultar en diferenciación granulomonocítica,^{29,30,31} mientras que la eritropoyetina (Epo) y las bajas concentraciones de interleucina-3 (IL-3) favorecen la diferenciación eritroide.³⁰ Se han propuesto dos modelos para explicar el efecto de los factores de crecimiento hematopoyéticos: el modelo estocástico^{32,33} y el modelo instructivo/inductivo.³⁴ Para apoyar el último

modelo se han reportado factores estimulantes de colonias que modulan la diferenciación³⁵ ejemplificados por la expresión ectópica de *c-fms*, el gen que codifica el receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF o CSF-1), en una línea celular pre-B y que resulta en la diferenciación irreversible hacia macrófagos en presencia de CSF-1, pero no de IL-7.³⁶ De manera similar, la expresión ectópica de GM-CSF en una línea celular multipotente dependiente de IL-3, FDCP-Mix, resulta en la diferenciación sincrónica de macrófagos y granulocitos.³⁷ Más aún, la diferenciación de macrófagos o eritrocitos en la línea FDCP-Mix ocurre en ausencia de señales inductivas,³⁸ lo que sugiere que el compromiso de linaje es estocástico y probablemente no influido por citocinas o receptores de citocinas que están constitutivamente activados.^{39,40}

Estos datos indican que las decisiones entre los tipos de división pueden no ser controlados por moléculas reguladoras extrínsecas sino más bien por mecanismos intrínsecos. Sin embargo, usando células purificadas CD34-KLS⁴¹ de ratón se ha demostrado que en cultivos con factor Steel y IL3, que inducen un gran nivel de diferenciación lleva a divisiones asimétricas (52%–62%), mientras que el cultivo con factor Steel y Tpo tienden a preservar indiferenciadas a las células y a divisiones asimétricas en solo 17% de éstas.⁴² Los precursores en un medio ambiente prodiferenciador prefieren dividirse asimétricamente, mientras que las que están en un medio de prorrenuevo se dividen simétricamente.⁴³ Ampliando esto, la inducción a la diferenciación mielocítica por CSF-1 en la línea mielóide 32D transfectada con *c-fms* se ha demostrado que es reversible,⁴⁴ a diferencia de lo visto en células pre-B,³⁶ otra vez sugiriendo que el papel de CSF-1 en este modelo puede ser permisivo más que determinístico. Al parecer, hay un periodo transitorio en estas células donde las características anteriores aún no han desaparecido, y las nuevas aún no han surgido, donde es fácil el retroceso.

Recientemente se propuso otro modelo que comulga ambas teorías de compromiso instructivas y estocásticas. Esta nueva teoría sostiene que los destinos celulares están dirigidos por factores de transcripción linaje específicos, pero las citocinas pueden dirigir el compromiso de linaje regulando el “ruido inherente” con complejas acciones, como la ultrasensibilidad mediada por el ligando y una robusta multiestabilidad. Las simulaciones sugieren que las cinéticas de diferenciación dependen del estado inicial del progenitor y de la ruta de compromiso que escoge.⁴⁵

El papel biológico del factor Steel parece ser el de mantener a las células en un estado indiferenciado.^{7,42,46,47} Un aspecto importante en trasplante autólogo de médula ósea es la conservación del valor hematopoyético de los injertos. El factor Steel puede utilizarse durante la purga de médula ósea de células cancerosas (tumores sólidos *c-Kit*) al ser un factor determinante en la conservación y mantenimiento de las células hematopoyéticas sin afectar su diferenciación.^{46,48} Nosotros hemos encontrado que los progenitores de macrófagos y granulocitos (CFU-GM) sobreviven durante siete días en presencia de factor Steel, y no se obtienen granulocitos ni macrófagos. La transferencia de estas células a cultivos que contienen GM-CSF, que favorece la emergencia de macrófagos y granulocitos, provoca la proliferación y diferenciación terminal de ellas. Nuestros datos indican que el factor Steel induce la supervivencia de progenitores hematopoyéticos y, en especial, favorece la de progenitores de granulocitos sobre la de progenitores de monocitos.⁴⁷

El diagrama de equilibrio triangular para tres componentes obtenidos: blastos (células inmaduras), macrófagos y granulocitos, revela que el sistema se desplaza hacia granulocitos en células de médula ósea mantenidas con factor Steel (Figura 2).

La identificación de genes que participan en las decisiones de diferenciación y durante el desarrollo del sistema hematopoyético, ha sido decisiva en el entendimiento de la regulación de la producción de los

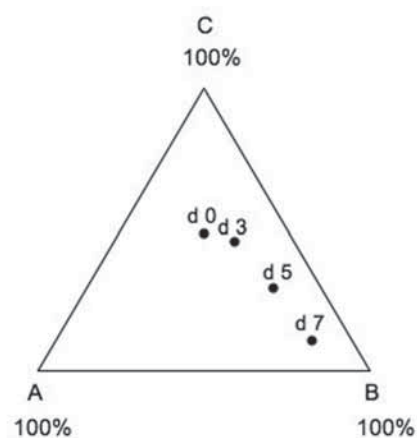


Figura 2. Diagrama de equilibrio para un sistema de tres componentes. Los vértices del triángulo representan A: blastos, B: granulocitos y C: macrófagos. Las células hematopoyéticas son puestas en cultivo *in vitro* en presencia de factor Steel durante siete días, y la diferenciación terminal se logra en cultivos secundarios ante GM-CSF a los tiempos indicados.

diferentes tipos de células. Hemos visto que con factor Steel las células son conducidas hacia la supervivencia (mediada por SCL) principalmente de precursores de granulocitos, mientras que con GM-CSF las células se diferencian. Lo anterior sugiere que este modelo celular *in vitro* se comporta determinísticamente o según el modelo inductivo.

De la Figura 3 se obtiene que en ausencia de factores tardíos, como el GM-CSF, las células que evolucionan más allá del estadio CFU-GM pierden la expresión de c-Kit y mueren. El factor Steel y GM-CSF permite la continua supervivencia y expansión de los progenitores hematopoyéticos en cultivo y su posterior diferenciación en macrófagos y granulocitos. También puede observarse que las células que expresan c-Kit son susceptibles al estímulo con factor Steel. La diferenciación gránulo-monocítica se acompaña de una pérdida

en la expresión de c-Kit y la aparición concomitante del receptor para GM-CSF. Las células RGM-CSF⁺/c-Kit son capaces de sufrir una diferenciación terminal total en presencia de GM-CSF pero mueren en su ausencia. Estos datos sugieren que las señales de supervivencia son decisivas durante el proceso de diferenciación. Reuniendo todos los datos, en el ámbito molecular y como mecanismo de acción, el factor de transcripción SCL es un componente de la ruta de c-Kit implicado en la supervivencia celular.

Agradecimientos

Al CONACYT (52682), al Ing. Andrés Ayala Pimentel y al químico Louis Robichaud por el apoyo otorgado para la realización del presente trabajo. La habilidosa asistencia técnica de AA. Cáceres Pérez es muy apreciada.

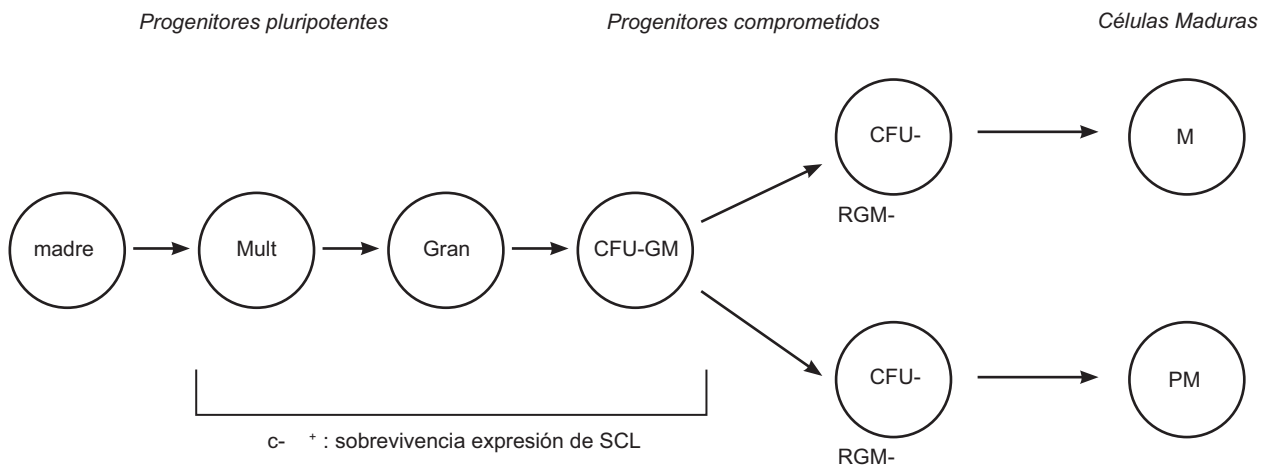


Figura 3. Diagrama esquemático de la supervivencia otorgada por el factor Steel. Mult=célula multipotente; Gran/Ma = precursor de granulocitos y macrófagos; CFU-GM=unidad formadora de colonias de macrófagos y granulocitos; CFU-M=unidad formadora de colonias de macrófagos; CFU-G=unidad formadora de colonias de granulocitos; MO=macrófagos; PMN=polimorfonucleares; RGM-CSF⁺=célula que expresa el receptor para GM-CSF.

REFERENCIAS

1. Russell, E.S. Hereditary anemias of the mouse: a review for geneticists. *Advances in Genetics* 1979;20:357-359.
2. Chabot, B., Stephenson, D.A., Chapman, V.M., Besmer, P., Bernstein, A. The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. *Nature* 1988;335:88-89.
3. Zsebo K.M., Williams, D.A., Geissler, E.N., Broudy, V.C., Martin, F.H., Atkins, H.L., Hsu, R.Y., Birkett, N.C., Okino, K.H., Murdock, D.C., and et al. Stem cell factor is encoded at the Sl locus of the mouse and is the ligand for the c-kit tyrosine kinase receptor. *Cell* 1990;63:213-224.
4. Anderson, D.M., Lyman, S.D., Baird, A., Wignall, J.M., Eisenman, J., Rauch, C., March, C.J., Boswell, H.S., Gimpel, S.D., Cosman, D., and et al. Molecular cloning of mast cell growth factor, a hematopoietin that is active in both membrane bound and soluble forms. *Cell* 1990; 63:235-243.
5. Huang, E., Nocka, K., Beier, D.R., Chu, T.Y., Buck, J., Lahm, H.W., Wellner, D., Leder, P., Besmer, P. The hematopoietic growth factor KL is encoded by the Sl locus and is the ligand of the c-kit receptor, the gene product of the W locus. *Cell* 1990;63:225-233.
6. Copeland, N.G. Gilbert, D.J., Cho, B.C., Donovan, P.J., Jenkins, N.A., Cosman, D., Anderson, D., Lyman, S.D., Williams, D.E. Mast cell growth factor maps near the steel locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number of steel alleles. *Cell* 1990;63:175-183.
7. Cáceres-Cortés, J., Rajotte, D., Dumouchel, J., Haddad, P., Hoang, T. Product of the steel locus suppresses apoptosis in hemopoietic cells Comparison with pathways activated by granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *J Biol Chem* 1994;269:12084-12091.
8. Mimeault M, Batra SK. New advances on critical implications of tumor- and metastasis-initiating cells in cancer progression, treatment resistance and disease recurrence. *Histol Histopathol.* 2010;25:1057-73.
9. Loose M, Swiers G, Patient R. Transcriptional networks regulating hematopoietic cell fate decisions. *Curr Opin Hematol.* 2007;14:307-14.
10. Cáceres-Cortés JR, Krosi G, Tessier N, Hugo P, Hoang T. Steel factor sustains SCL expression and the survival of purified CD34+ bone marrow cells in the absence of detectable cell differentiation. *Stem Cells.* 2001;19:59-70.
11. Lécuyer E, Hoang T. SCL: from the origin of hematopoiesis to stem cells and leukemia. *Exp Hematol.* 2004;32:11-24.
12. Scl regulates the quiescence and the long-term competence of hematopoietic stem cells. Lacombe J, Herblot S, Rojas-Sutterlin S, Haman A, Barakat S, Iscove NN, Sauvageau G, Hoang T. *Blood.* 2010;115:792-803.
13. Chen, Q., Cheng, J.T., Tsai, L.H., Schneider, N., Buchanan, G., Carroll, A., Crist, W., Ozanne, B., Siciliano, M.J., Baer, R. The tal gene undergoes chromosome translocation in T cell leukemia and potentially encodes a helix-loop-helix protein. *EMBO Journal* 1990;9:415-424.
14. Finger, L.R., Kagan, J., Christopher, G., Kurtzberg, J., Hershfield, M.S., Nowell, P.C., Croce, C.M. Involvement of the TCL5 gene on human chromosome 1 in T cell leukemia and melanoma. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989;86:5039-5043.
15. Cheung AM, Kwong YL, Liang R, Leung AY. Stem cell model of hematopoiesis. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2006;1:305-15.
16. Porcher, C., Swat, W., Rockwell, K., Fujiwara, Y., Alt, F.W., Orkin, S.H. The T cell leukemia oncoprotein SCL/tal-1 is essential for development of all hematopoietic lineages. *Cell* 1996;86:47-57.
17. Hwang, L.Y., Siegelman, M., Davis, L., Oppenheimer-Marks, N., Baer, R. Expression of the TAL1 proto-oncogene in cultured endothelial cells and blood vessels of the spleen. *Oncogene* 1993;8:3043-3046.
18. Kallianpur, A.R., Jordan, J.E., Brandt, S.J. The SCL/TAL1 gene is expressed in progenitors of both the hematopoietic and vascular systems during embryogenesis. *Blood* 1994;83:1200-1208.
19. Green, A.R., Lints, T., Visvader, J., Harvey, R., Begley, C.G. SCL is coexpressed with GATA-1 in hemopoietic cells but is also expressed in developing brain. *Oncogene* 1992;7:653-660.
20. Strohmeyer, T., Peter, S., Hartmann, M., Munemitsu, S., Ackermann, R., Ullrich, A., Slamon, D. Expression of the hst-1 and c-kit protooncogenes in human testicular germ cell tumors. *Cancer Res* 1991;51:1811-1816.
21. Lassam, N., Bickford, S. Loss of c-kit expression in cultured melanoma cells. *Oncogene* 1992;7:51-56.
22. Cáceres-Cortés JR, Alvarado-Moreno JA, Waga K, Rangel-Corona R, Monroy-García A, Rocha-Zavaleta L, Urdiales-Ramos J, Weiss-Steider B, Haman A, Hugo P, Brousseau R, Hoang T. Implication of tyrosine kinase receptor and steel factor in cell density-dependent growth in cervical cancers and leukemias. *Cancer Res.* 2001;61:6281-9.
23. Inoue, M., Kyo, S., Fujita, M., Enomoto, T., Kondoh, G. Co-expression of the c-kit receptor and the stem cell factor in gynecological tumors. *Cancer Res* 1994;54:3049-3053.
24. Toyota, M., Hinoda, Y., Takaoka, A., Makiguchi, Y., Takahashi, T., Itoh, F., Imai, K., Tsukamoto, T., Hida, T., Shimokata, Zsebo, K., Takahashi, T. Expression of c-kit and kit ligand in human colon carcinoma cells. *Tumour Biol* 1993;14:295-302.
25. Wolff NC, Randle DE, Egorin MJ, Minna JD, Ilaria RL Jr. Imatinib mesylate efficiently achieves therapeutic intratumor concentrations in vivo but has limited activity in a xenograft model of small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:3528-34.
26. Krystal, G.W., Hines, S.J., Organ, C.P. Autocrine growth of small cell lung cancer mediated by coexpression of c-kit and stem cell factor. *Cancer Res* 1996;56:370-376.
27. Hines, S.J., Organ, C., Kornstein, M.J., Krystal, G.W. Co-expression of the c-kit and stem cell factor genes in breast carcinomas. *Cell Growth Diff* 1995;6:769-79.
28. Modeling T-cell acute lymphoblastic leukemia induced by the SCL and LMO1 oncogenes. Tremblay M, Tremblay CS, Herblot S, Aplan PD, Hébert J, Perreault C, Hoang T. *Genes Dev.* 2010;24:1093-105.
29. Brumatti G, Salmanidis M, Ekert PG. Crossing paths: interactions between the cell death machinery and growth factor survival signals. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67:1619-30.
30. Sposi, N.M., Zon, L.I., Care, A., Valtieri, M., Testa, U., Gabbianelli, M., Mariani, G., Bottero, L., Mather, C., Orkin, S.H., Peschle, C. Cell cycle-dependent initiation and lineage-dependent abrogation of GATA-1 expression in pure differentiating hematopoietic progenitors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992;89:6353-6357.

31. Voso, M.T., Burn, T.C., Wulf, G., Lim, B., Leone, G., Tenen, D.G. Inhibition of hematopoiesis by competitive binding of transcription factor PU.1. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994;91:7932-7936.
32. Till, J.E., McCulloch, E.A., Siminovitch, L. A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 1963;51:29-36.
33. Nakahata, T., Gross, A.J., Ogawa, M. A stochastic model of self-renewal and commitment to differentiation of the primitive hemopoietic stem cells in culture. *J Cell Physiol* 1982;113:455-8.
34. Curry JL, Trentin JJ. Hemopoietic spleen colony studies. I. Growth and differentiation. *Dev Biol.* 1967;15:395-413.
35. Metcalf, D. Lineage commitment of hemopoietic progenitor cells in developing blast cell colonies: influence of colony-stimulating factors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991;88:1310-1314.
36. Borzillo, G.V., Ashmun, R.A., Sherr, C.J. Macrophage lineage switching of murine early pre-B lymphoid cells expressing transduced *fms* genes. *Mol Cell Biol* 1990;10:2703-14.
37. Just, U., Stocking, C., Spooncer, E., Dexter, T.M., Ostertag, W. Expression of the GM-CSF gene after retroviral transfer in hematopoietic stem cell lines induces synchronous granulocyte-macrophage differentiation. *Cell* 1991;64:1163-1173.
38. Fairbairn, L.J., Cowling, G.J., Reipert, B.M., Dexter, T.M. Suppression of apoptosis allows differentiation and development of a multipotent hemopoietic cell line in the absence of added growth factors. *Cell* 1993;74:823-832.
39. Mayani, H., Dragowska, W., Lansdorp, P.M. Lineage commitment in human hemopoiesis involves asymmetric cell division of multipotent progenitors and does not appear to be influenced by cytokines. *J Cell Physiol* 1993;157:579-586.
40. Pharr, P.N., Ogawa, M., Hofbauer, A., Longmore, G.D. Expression of an activated erythropoietin or a colony-stimulating factor 1 receptor by pluripotent progenitors enhances colony formation but does not induce differentiation. *Proc Nat Acad Sci USA* 1994; 91:7482-7486.
41. Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science.* 1996;273:242-5.
42. Takano H, Ema H, Sudo K, Nakauchi H. Asymmetric division and lineage commitment at the level of hematopoietic stem cells: inference from differentiation in daughter cell and granddaughter cell pairs. *J Exp Med.* 2004;199:295-302.
43. Wu M, Kwon HY, Rattis F, Blum J, Zhao C, Ashkenazi R, Jackson TL, Gaiano N, Oliver T, Reya T. Imaging hematopoietic precursor division in real time. *Cell Stem Cell.* 2007;1:541-54.
44. Pierce, J.H., Di Marco, E., Cox, G.W., Lombardi, D., Ruggiero, M., Varesio, L., Wang, L.M., Choudhury, G.G., Sakaguchi, A.Y., Di Fiore, P.P., Aaronson, S.A. Macrophage-colony-stimulating factor (CSF-1) induces proliferation, chemotaxis, and reversible monocytic differentiation in myeloid progenitor cells transfected with the human *c-fms*/CSF-1 receptor cDNA. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990;87:5613-7.
45. Palani S, Sarkar CA. Integrating extrinsic and intrinsic cues into a minimal model of lineage commitment for hematopoietic progenitors. *PLoS Comput Biol.* 2009;5:e1000518.
46. Brandt, J., Bhalla, K., Hoffman, R. Effects of interleukin-3 and c-kit ligand on the survival of various classes of human hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1994 83:1507-1514.
47. Cáceres-Cortés JR, Santiago-Osorio E, Monroy-García A, Mora-García L, Weiss-Steider B.[Stem cell factor (SCF) supports granulocyte progenitor survival in mouse bone marrow cultures]. *Rev Invest Clin Méx.* 1999;51:107-16.
48. Yonemura, Y., Ku, H., Hirayama, F., Souza, L.M., Ogawa, M. Interleukin 3 or interleukin 1 abrogates the reconstituting ability of hematopoietic stem cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 1996;93:4040-4044.