



## PATOMECHANIZMY CHOROBY

Redaktor serii Robert S. Schwartz, MD

# Chłoniaki agresywne

Georg Lenz, MD, Louis M. Staudt, MD, PhD

N Engl J Med 2010; 362: 1417-1429.

Pełna analiza molekularna genomu pozwoliła na identyfikację nowych podtypów chłoniaków wywodzących się z limfocytów w różnym stadium rozwoju, wykorzystujących odrębne programy onkogenne, nie do odróżnienia jednak w obrazie mikroskopowym. W niniejszym artykule omówiono najnowsze postępy genetyki molekularnej chłoniaków agresywnych. Skupiono się na najczęstszej postaci tej choroby, chłoniaku rozlanym z dużych komórek B, stanowiącym 30-40% nowo rozpoznawanych chłoniaków.

### DOJRZEWANIE LIMFOCYTÓW B I PATOGENEZA CHŁONIAKÓW

Chłoniaki z komórek B włączają biologiczne mechanizmy regulacyjne prawidłowych limfocytów B do własnych procesów patologicznych. Oznacza to, że biologia tych nowotworów zależy w dużej mierze od stopnia zróżnicowania limfocytów B, z których się wywodzą (ryc. 1). Podczas dojrzewania limfocytów B w szpiku kostnym w wyniku rekombinacji segmentów genowych V, D i J dochodzi do zestawienia genów kodujących ciężkie (IgH) i lekkie łańcuchy (IgL) immunoglobinowe. W trakcie tego procesu dwa enzymy kodowane przez geny aktywujące rekombinację (RAG1 i RAG2) zapoczątkowują pęknięcia w dwuniciowym DNA, niwelowane w procesie naprawy DNA przez łączenie niehomologicznych końców. W chłoniakach takie pęknięcia mogą jednak powodować translokacje chromosomalne.<sup>1</sup>

Wiele typów chłoniaków wywodzi się prawdopodobnie z ośrodków rozmnażania znajdujących się w grudkach chłonnych.<sup>2</sup> Odczyn zachodzący w tych ośrodkach zaczyna się, gdy antygen wraz z sygnałami z limfocytów T aktywuje dojrzałe limfocyty B. Swoiste antygenowo limfocyty T oraz komórki dendrytyczne niosące antygen otaczają limfocyty B. Centroblasty (szybko dzielące się limfocyty B o nierozszczepionym jądrze) mnożą się w znacznym tempie w ciemnej strefie ośrodka rozmnażania. Komórki te okresowo wkraczają do strefy jasnej ośrodka rozmnażania, w której ulegają przekształceniu w centrocyty (niedzielące się limfocyty B z rozszczepionym jądrem). Centrocyty pobierają antygen z komórek dendrytycznych i przetwarzają go do prezentacji obecnym w otoczeniu limfocytom T.<sup>3</sup> Centrocyty mogą ponownie przekształcać się w centroblasty i wznowić proliferację lub różnicować się w komórki pamięci albo plazmocyty.

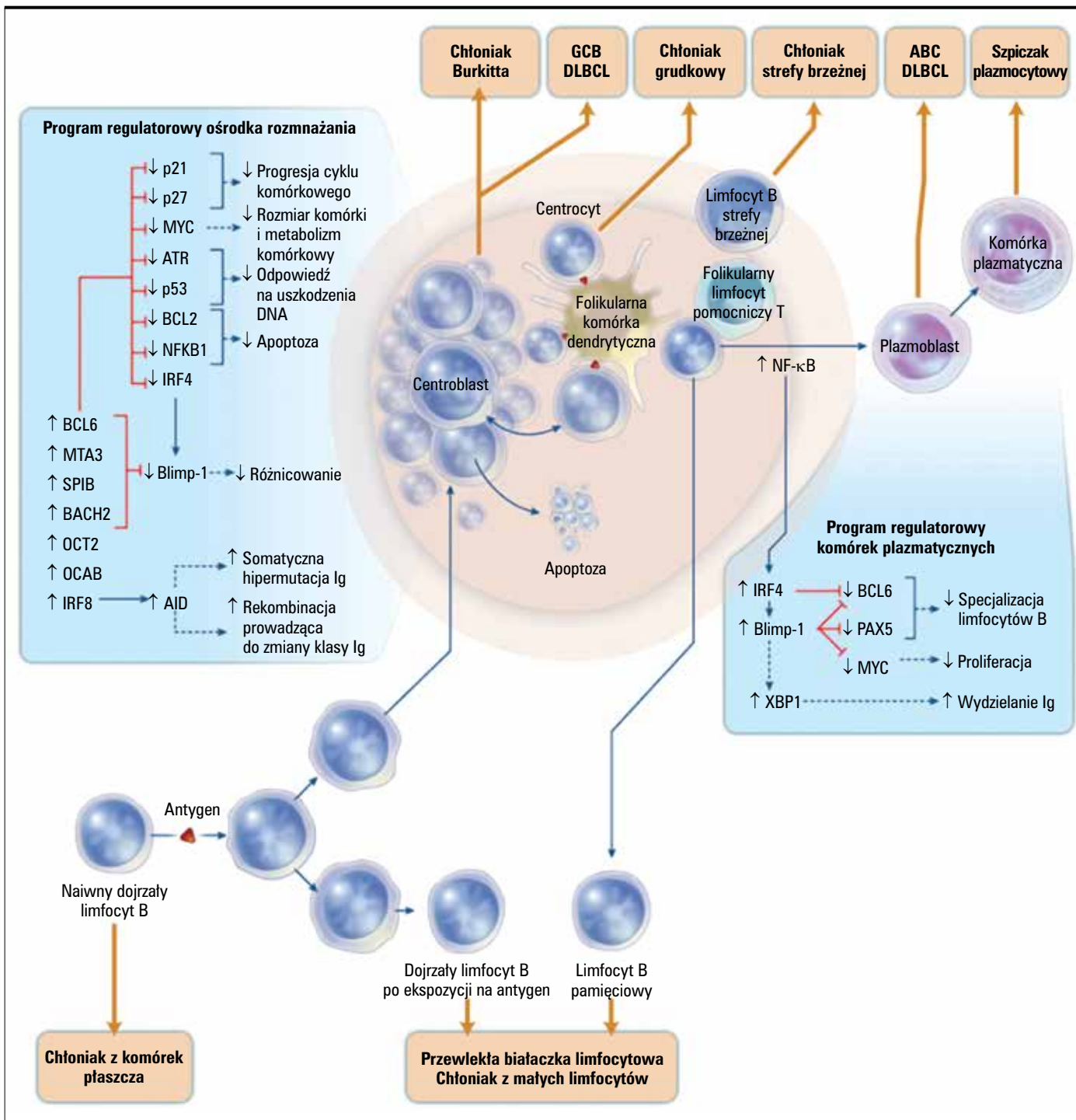
W trakcie procesu odczynu ośrodka rozmnażania dwie różne modyfikacje DNA zmieniają receptor komórki B: hipermutacja somatyczna oraz rekombinacja przestawienia klasy immunoglobulin – obie wymagają dezaminazy cytydyny indukowanej aktywacją (activation-induced cytidine deaminase, AID).<sup>4</sup> Rekombinacja przestawienia klasy zmienia klasę łańcucha ciężkiego immunoglobulin z IgM na IgG, IgA lub IgE, podczas gdy hipermutacja somatyczna wywołuje mutacje w zmiennym regionie immunoglobulin, co prowadzi do powstania populacji limfocytów B o zwiększonym lub

**Dr Lenz,**  
Metabolism Branch,  
National Cancer Institute,  
Bethesda, MD,  
Stany Zjednoczone  
i Charité-Humboldt University,  
Campus Virchow,  
Department  
of Hematology-Oncology,  
Berlin, Niemcy.

**Dr Schwartz,**  
Metabolism Branch,  
National Cancer Institute,  
Bethesda, MD,  
Stany Zjednoczone.

**Adres do korespondencji:**  
Dr Staudt,  
Metabolism Branch,  
Center for Cancer Research,  
National Cancer Institute,  
Bldg. 10, Rm. 4N114,  
National Institutes of Health,  
9000 Rockville Pike,  
Bethesda, MD 20892, USA;  
e-mail: lstaudt@mail.nih.gov.

RYCINA 1



zmniejszonym powinowactwie do określonego antygeny. Te modyfikacje genetyczne mają zasadnicze znaczenie dla prawidłowej odpowiedzi immunologicznej, ale są również źródłem uszkodzeń DNA, które mogą mieć znaczenie patologiczne w chłoniakach.

Fenotyp limfocytów B ośrodka rozmnażania kształtuje się pod wpływem zestawu czynników transkrypcji (ryc. 1). Komórki te wykazują wybiórczą ekspresję BCL6 (B-cell lymphoma 6), represora transkrypcji. Translokacje genetyczne w chłoniaku rozlanym z dużych komórek B i w in-

**RYCINA 1.** (na sąsiedniej stronie)**Różnicowanie limfocytów B i rozwój chłoniaka.**

Chłoniaki mogą powstać na wielu etapach rozwoju prawidłowych limfocytów B. Po stymulacji dojrzałego naiwnego limfocyta B antygenem zależnym od limfocyta T dochodzi do zapoczątkowania odczynu w ośrodku rozmnażania. Komórka B ośrodka rozmnażania odpowiada odrębnemu, względnie stabilnemu etapowi różnicowania cechującemu się swoistą siecią sygnałów regulatorowych i działaniem indukowanej przez aktywację deaminazy cytydyny (AID), która indukuje zarówno somatyczną hipermutację immunoglobulin (Ig), jak i zmiany w klasie łańcuchów ciężkich. Ustanowienie i utrzymanie charakteru oraz funkcji komórek B ośrodka rozmnażania wymaga współdziałania kilku czynników transkrypcji. Należą do nich BCL6, MTA3, SPIB, BACH2, OCT2, OCAB i IRF8. Linie czerwone oznaczają, że czynnik regulatorowy hamuje dany gen lub funkcję komórkową, linie niebieskie wskazują na regulację dodatnią. Wspólnie czynniki te uniemożliwiają różnicowanie komórek plazmatycznych, hamując aktywność Blimp-1. Promują także progresję cyklu komórkowego bez wzrostu komórek, blokując odpowiedź wywołaną uszkodzeniami DNA wynikającymi z mutacji zależnych od AID i pęknięcia DNA. Obecne w ośrodku rozmnażania szybko dzielące się centroblasty są podatne na śmierć komórkową. Okresowo centroblasty przemieszczają się do podregionu ośrodka rozmnażania, w którym występują liczne komórki dendrytyczne i limfocyty pomocnicze T ośrodka rozmnażania. W ośrodku rozmnażania centroblasty ulegają przekształceniu do centrocytów. Centrocyty mogą uniknąć śmierci komórkowej dzięki stymulacji przez antygeny prezentowane przez komórki dendrytyczne i ligandy CD40 na limfocytach T. Następnie mogą ponownie ulegać przekształceniu do centroblastów i wznowiać podziały komórkowe. IRF4 inicjuje różnicowanie do plazmacytów, uruchamiając charakterystyczną sieć regulatorową, która hamuje program dojrzałych limfocytów B, jednocześnie promując ostateczne różnicowanie i wydzielanie immunoglobulin. Na rycinie zaznaczono prawdopodobne punkty wyjściowe różnych chłoniaków niezmiernych, w tym dwóch podtypów chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL): chłoniaka z komórek typu ośrodka rozmnażania (germinal center B-cell-like, GCB) i z komórek typu aktywowanych limfocytów B (activated B cell-like, ABC). Chłoniaki wywodzące się z komórek B ośrodka rozmnażania wykazują powtarzające się zaburzenia genetyczne, umożliwiające obejście prawidłowego programu genetycznego sprzyjające zahamowaniu różnicowania do komórek plazmatycznych, wzrost komórek i uniknięcie apoptozy. NF-κB – czynnik jądrowy κB.

nych chłoniakach<sup>5</sup> rozregulowują *BCL6*, a uszkodzenie genu znosi odpowiedź ośrodka rozmnażania u myszy.<sup>6-8</sup> Białko BCL6 powoduje represję wielu genów zaangażowanych w różnicowanie komórek plazmatycznych, progresję cyklu komórkowego, odpowiedź na uszkodzenia DNA oraz śmierć komórki. Co ważne, jednym z tych genów jest *Blimp-1*,<sup>9,10</sup> główny regulator różnicowania komórek plazmatycznych, wygaszający program ekspresji genów dojrzałych limfocytów B.<sup>11,12</sup> Gdy limfocyty B w ośrodku rozmnażania zaczynają się różnicować do komórek plazmatycznych, zwiększają ekspresję 4 czynnika regulującego interferon (interferon regulatory factor, IRF4), czynnika transkrypcyjnego koniecznego do konwersji limfocytów w komórki plazmatyczne. IRF4 zwiększa następnie ekspresję *Blimp-1*,<sup>13-15</sup> co powoduje represję *BCL6* i przekierowuje różnicowanie na korzyść komórek plazmatycznych.<sup>11</sup>

Limfocyty B ośrodka rozmnażania są punktem wyjścia wielu typów chłoniaków, w tym rozlanego z dużych komórek B, grudkowego oraz chłoniaka Burkitta. Te rodzaje chłoniaków mają program różnicowania prawidłowych limfocytów B, z których się rozwijają,<sup>16-18</sup> ale występujące w nich zaburzenia onkogenne często niszczą prawidłowy program ekspresji genów. Na przykład prawidłowe centroblasty nie posiadają aktywności antyapoptotycznej białka BCL2 (B-cell lymphoma 2) i szlaku czynnika jądrowego κB (NF-κB), dlatego ostatecznie obumierają.<sup>17,19</sup> Tymczasem centroblasty, które przeszły transformację nowotworową, unikają śmierci komórkowej dzięki nabytym aktywującym translokacjom w obrębie genu *BCL2* lub konstytutywnej aktywacji szlaku NF-κB. Podobnie w większości prawidłowych centroblastów *BCL6* hamuje onkogen *MYC*,<sup>17,18,20</sup> ale centroblasty nowotworowe wymykają się spod tej kontroli w wyniku translokacji lub amplifikacji *MYC*, dzięki czemu staje się możliwa ekspresja tego silnego regulatora metabolizmu komórki i wzrostu.

## ZMIANY W DNA LIMFOCYTÓW B W CHŁONIAKACH

**Rekombinaza RAG**

Prawidłowy mechanizm rekombinacji V(D)J, hipermutacje somatyczne oraz rekombinacje przestawienia klasy mogą prowadzić do zmian w genomie chłoniaków. Pęknięcia chromosomów, w których pośredniczy RAG, mogą się utrzymywać w komórkach pro-B przez wiele podziałów komórkowych, stwarzając w ten sposób możliwość wystąpienia translokacji, w wyniku których loci immunoglobulin tworzą fuzje z końcami pęknięć DNA w obrębie innych genów.<sup>21</sup> Aktywacja rekombinazy RAG w dojrzałych limfocytach B podczas edycji receptorów immunoglobulin także może promować translokacje.<sup>22</sup> Translokacja chromosomowa t(14;18), która występuje w większości chłoniaków grudkowych oraz w niektórych chłoniakach rozlanych z dużych komórek B, przenosi gen *BCL2* pod kontrolę wzmacniaczy locus IgH. Translokacja ta wymaga rekombinazy RAG, która rozszczepia DNA w locus IgH oraz w nietypowej strukturze DNA w genie *BCL2*.<sup>23</sup> W chłoniaku z komórek płaszczą rekombinaza RAG umożliwia translokację t(11;14), która łączy gen *CCND1* z locus IgH, prowadząc do nadekspresji cykliny D1, a przez to do deregulacji cyklu komórkowego. Punkty pęknięcia w t(14;18) i t(11;14) sugerują, że AID współdziała z rekombinazą RAG w tworzeniu dwuniciowych pęknięć DNA w *BCL2* i *CCND1*.<sup>24</sup>

**AID**

AID, enzym mutator, odgrywa szereg ról w patogenezie chłoniaków. W modelach mysich powstanie chłoniaka rozlanego z dużych komórek B wymaga AID,<sup>25</sup> a transgeniczna nadekspresja AID wywołuje powstawanie chłoniaków z komórek B.<sup>26</sup> AID może powodować mutacje genów

nieimmunoglobulinowych komórek B ośrodka rozmnażania u myszy z częstością większą o wiele rzędów wielkości od częstości tła.<sup>29</sup> Chłoniaki rozlane z dużych komórek B akumulują mutacje zależne od AID w wielu genach, w tym w onkogenach *MYC* i *PIM1*.<sup>30</sup> Mutacje te mogą się gromadzić w wyniku nieskutecznej naprawy błędnie sparowanych zasad w DNA lub selekcji komórek z mutacjami korzystnymi.<sup>29</sup> Regiony, w których występują mutacje zależne od AID, pokrywają się z punktami pęknięć w translokacjach chromosomowych, co wskazuje, że AID powoduje pęknięcia dwuniciowe sprzyjające translokacjom.<sup>30</sup>

Rekombinacja przestawienia klas immunoglobulin, która jest zależna od AID, powoduje pęknięcia dwuniciowego DNA w regionach zmiany klas IgH, które mogą powodować translokacje *MYC-IgH* i pęknięcia w locus *MYC*.<sup>31-36</sup> W odmianie chłoniaka rozlanego z dużych komórek B typu aktywowanej komórki B (ABC) nie tylko występują niezwykle duże stężenia AID, lecz również dochodzi do nieprawidłowej rekombinacji zmiany klasy immunoglobulin, w wyniku której regiony zmiany klasy IgH zachowują delecje, insercje oraz mutacje, ale nie uczestniczą w fizjologicznym procesie zmiany klasy.<sup>32</sup> Być może dlatego ten rodzaj chłoniaka akumuluje translokacje chromosomowe regionów zmiany klasy IgH.<sup>32</sup>

#### PATOGENEZA CHŁONIAKA ROZLANEGO Z DUŻYCH KOMÓREK B

Chłoniak rozlany z dużych komórek B, najczęściej występujący rodzaj chłoniaka, stanowi 30-40% nowo rozpoznanych chłoniaków. Chemioterapia wielolekowa z rytuksymabem umożliwia wyleczenie około 50% chorych. Badania profilów ekspresji genów pozwalają na wyróżnienie w tym rodzaju chłoniaka trzech odmian molekularnych, które nie różnią się pod względem histopatologicznym: odmiany ABC, odmiany typu komórki B ośrodka rozmnażania (germinal-center B-cell-like, GCB) oraz pierwotnego chłoniaka śródpiersia z komórek B (primary mediastinal B-cell lymphoma, PMBL).<sup>16,37-40</sup> Podtypy te różnią się pod względem ekspresji tysięcy genów i najwyraźniej powstają z limfocytów B będących na różnych etapach różnicowania. Ponadto proces transformacji nowotworowej jest różny dla każdego z podtypów, na co wskazują odmienne zaburzenia genetyczne. Typy te różnią się także obrazem klinicznym, częstością wyleczeń pod wpływem chemioterapii oraz odpowiedzią na metody leczenia ukierunkowanego. Dlatego odmiany te uznaje się za odrębne nowotwory.

Chłoniaki GCB wykazują ekspresję setek genów, które definiują komórki B ośrodka rozmnażania.<sup>16,37,41</sup> Klony komórek nowotworowych przechodzą kolejne somatyczne hipermutacje<sup>42</sup> i często mają zmienione klasy IgH.<sup>32</sup> Z kolei chłoniaki ABC mają profil ekspresji odpowiadający komórkom plazmatycznym, zawierający czynnik transkrypcji XBP1, główny regulator wydzielania immunoglobulin.<sup>38,43</sup> Konstytywna aktywacja szlaku

NF-κB indukuje w chłoniakach ABC ekspresję czynnika transkrypcyjnego IRF4, co może wymuszać różnicowanie w kierunku komórek plazmatycznych.<sup>44,45</sup> W chłoniakach ABC następują jednak zmiany genetyczne zakłócające czynność *Blimp-1*, co dopuszcza do pełnego zróżnicowania do komórek plazmatycznych.<sup>9,46-50</sup>

Zahamowanie różnicowania może być ważnym etapem patogenezy podtypu ABC, ale nie jest jasne, która komórka jest prekursorem. Chłoniaki te zawierają duże stężenia AID, a w ich genach dla IgH występują liczne mutacje.<sup>32,38,42,41</sup> Niemniej jednak w większości chłoniaków ABC nie zachodzi rekombinacyjna zmiana klasy immunoglobulin i wytwarzają one IgM, w przeciwieństwie do większości prawidłowych limfocytów B w ośrodkach rozmnażania i chłoniaków GCB.<sup>32,38</sup> Mogą powstawać z zawierających IgM komórek pamięci, które przeszły już przez ośrodek rozmnażania,<sup>52</sup> lub z limfocytów B, które jeszcze nie wkroczyły do ośrodka rozmnażania, wytwarzających AID, co jest cechą charakterystyczną pewnych limfocytów B występujących poza grudkami chłonnymi.<sup>53</sup>

Trzeci z podtypów chłoniaka rozlanego, PMBL, na ogół ujawnia się jako masa w śródpiersiu u młodych kobiet (mediana wieku chorych wynosi 30-35 lat). Guz często zawiera pozostałości grasicy, co świadczy, że może się on wywodzić z rzadkich limfocytów B grasicy. O ile podtypy ABC i GCB mogą zasiedlać przewód pokarmowy i szpik kostny, PMBL szerzy się przez ciągłość do przylegających struktur klatki piersiowej.<sup>39</sup> Sam obraz kliniczny nie pozwala na odróżnienie PMBL od innych podtypów, umożliwia to jednak analiza profilu ekspresji genów.<sup>39,40</sup> Genetyczny znak tożsamości PMBL wykazuje wspólne cechy molekularne z chłoniakiem Hodgkina, który także może powstawać z grasiczych komórek B.<sup>39,40</sup> Są to jednak różne chłoniaki, ponieważ PMBL zazwyczaj wykazuje ekspresję genów dojrzałych komórek B, a chłoniak Hodgkina nie wykazuje ekspresji tych genów.<sup>39</sup>

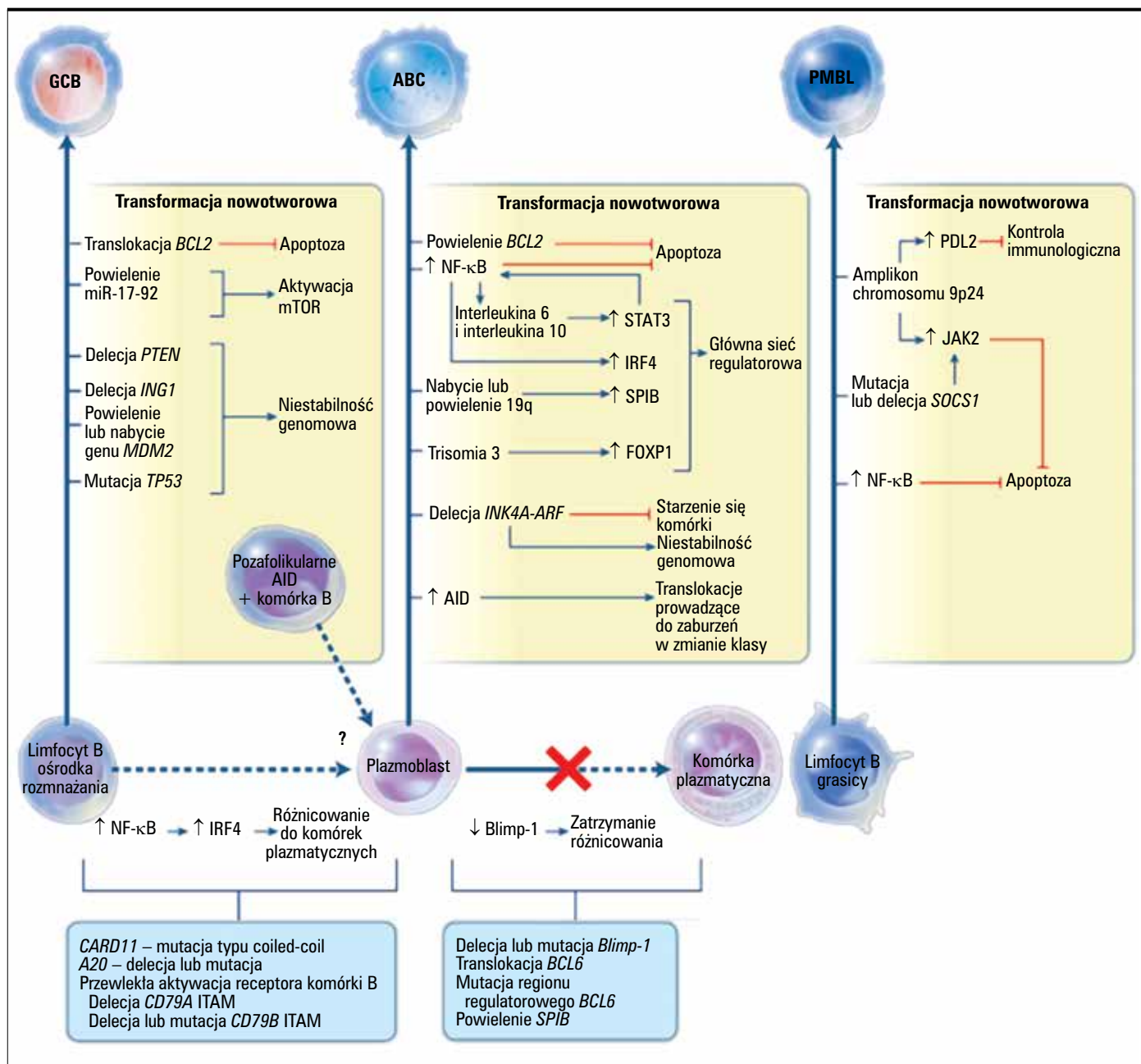
#### ABERRACJE GENETYCZNE

##### Szlaki onkogenne w podtypach chłoniaków

Niektóre zaburzenia onkogenne występują w więcej niż jednym podtypie chłoniaka rozlanego z dużych komórek B,<sup>54,55</sup> ale wiele szlaków onkogennych jest wykorzystywanych przede wszystkim lub wyłącznie przez tylko jeden z podtypów chłoniaka (ryc. 2). Zmiany genetyczne charakterystyczne dla chłoniaka GCB to translokacja t(14;18),<sup>37,50</sup> delecja supresora nowotworzenia *PTEN*, amplifikacja grupy mikroRNA miR-17-92 (które hamują ekspresję *PTEN*)<sup>55</sup> oraz mutacje p53.<sup>56</sup>

Liczne zaburzenia genetyczne występujące w podtypie ABC w innych podtypach występują rzadko lub wcale. Większość chłoniaków ABC cechuje nadmierna ekspresja *BCL2*, a w wielu dochodzi do powielenia locus *BCL2*.<sup>50</sup> W wielu ma miejsce delecja locus *INK4A-ARF* kodującego p16, inhibitor procesów starzenia się komór-

RYCINA 2



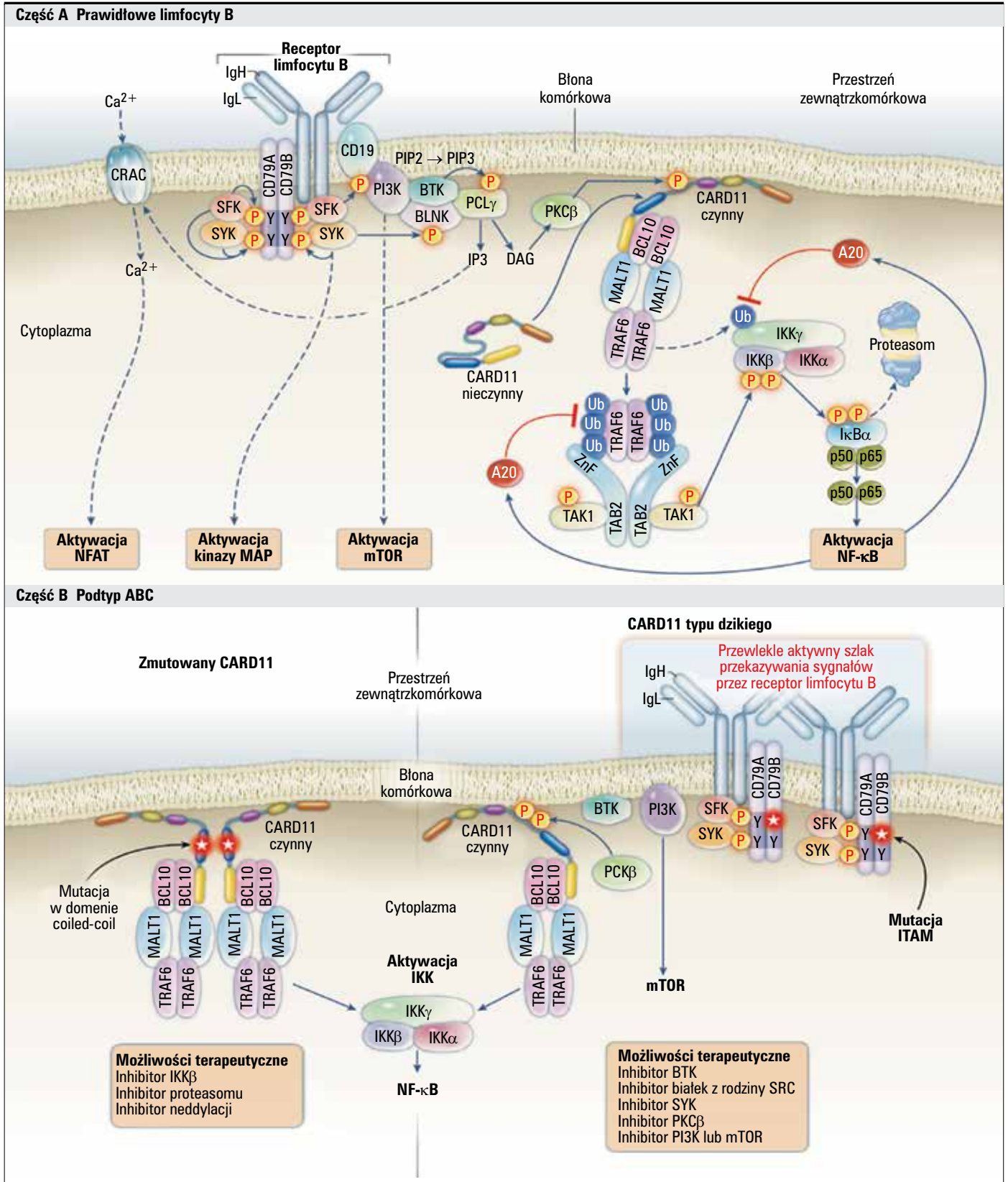
**Szlaki onkogenne trzech podtypów chłoniaka rozlanego z dużych komórek B.**

Na podstawie profiliów ekspresji genów wyróżnia się trzy podtypy molekularne chłoniaka rozlanego z dużych komórek B: podtyp z komórek B typu ośrodka rozmnażania (germinal-center B cell-like, GCB), z komórek typu aktywowanych limfocytów B (activated B-cell-like, ABC) oraz pierwotny chłoniak śródpiersia (primary mediastinal B-cell lymphoma, PMBL). Podtypy te wywodzą się z limfocytów B w różnych stadiach różnicowania i nabywają odrębnych, charakterystycznych cech onkogennych. Zaburzenia przedstawione na rycinie występują we wskazanych podtypach najczęściej lub wyłącznie. AID – indukowana aktywnością dezaminaza cytydyny, ITAM – motywy aktywacji receptora immunologicznego oparte na tyrozynie, mTOR – inhibitor celu rapamycyny u ssaków, NF-κB – czynnik jądrowy κB.

rek oraz *p14<sup>ARF</sup>*, inhibitora aktywacji *p53*.<sup>50,57</sup> Utrata tych supresorów nowotworzenia hamuje aktywność chemioterapii i może się przyczyniać do złego rokowania związanego z podtypem ABC.<sup>50</sup>

Genetyczną cechą charakterystyczną dla PMBL jest powielenie regionu na chromosomie 9p24, stwierdzane u niemal połowy chorych na ten podtyp chłoniaka, a także u chorych na chłoniaka Hodgkina.<sup>39,50,58</sup> Region

RYCINA 3



**RYCINA 3.** (na sąsiedniej stronie)**Szlaki przekazywania sygnałów receptora komórki B i jądrowego czynnika  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) w limfocytach prawidłowych i nowotworowych.**

Część A. Szlaki przekazywania sygnałów receptora komórek B i NF- $\kappa$ B w prawidłowych komórkach B. Związanie receptora komórki B z antygenem uruchamia kaskadę sygnałową, której kulminacją jest aktywacja szlaków NF- $\kappa$ B, mTOR (celu rapamycyny u ssaków), kinazy ERK MAP i czynnika jądrowego aktywowanych limfocytów T (NFAT). Do zapoczątkowania przekazywania sygnałów dochodzi, gdy kinaza z rodziny SRC (SFK) fosforyluje tyrozyny w zawierających reszty tyrozynowe motywach aktywacyjnych immunoreceptora (ITAM) podjednostek limfocytów B, CD79A i CD79B. Kinaza tyrozynowa SYK ulega rekrutacji do ITAM za pośrednictwem tandemowych domen SH2 i staje się aktywna enzymatycznie. SYK fosforyluje wiele położonych dalej w szlaku sygnałowym cząsteczek docelowych, w tym adapter BLNK, zapoczątkowuje też przekazywanie sygnałów przez kinazę ERK MAP. Równolegle, w wyniku rekrutacji do koreceptora limfocytów B CD19, dochodzi do aktywacji kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (PI3K), co prowadzi do powstania błonowego lipidu, fosfatydyloinozytol-3,4,5-trifosforanu (PIP3) i aktywacji szlaku mTOR. BTK jest rekrutowany do błony przez wiązanie z PIP3, w wyniku czego powstaje kompleks z BLNK i fosfolipazą  $C\gamma$  (PLC $\gamma$ ). PLC $\gamma$  generuje wtórny przekaźnik IP3, który inicjuje napływ jonów wapnia przez kanał wapniowy aktywowany uwalnianiem wapnia (CRAC) oraz aktywację szlaku NFAT, jak również diacyloglicerol (DAG), aktywujący kinazę białkową  $C\beta$  (PKC $\beta$ ). Sygnałowe białko rusztowania CARD11 występuje w formie latentnej w cytoplazmie limfocytów B znajdujących się w fazie spoczynku, ale po fosforylacji przez PKC $\beta$  przemieszcza się do błony plazmatycznej. CARD11 inicjuje tam powstanie wielobiałkowego kompleksu, w skład którego wchodzi: MALT1, BCL10 i TRAF6. W trakcie tego procesu dochodzi do aktywacji ligazy ubikwityny TRAF6, co prowadzi do ubikwitynacji podjednostki  $\gamma$  kinazy I $\kappa$ B (IKK), etapu niezbędnego dla aktywacji IKK. TRAF6 ulega samoubikwitynacji, co prowadzi do jego połączenia z kompleksem składającym się z TAB2 i kinazy TAK1. TAK1 fosforyluje podjednostkę IKK $\beta$  w jej pętli aktywacyjnej, dzięki temu aktywowana IKK fosforyluje I $\kappa$ B $\alpha$  i inicjuje szlak przekazywania sygnałów NF- $\kappa$ B. A20, gen docelowy NF- $\kappa$ B, hamuje przekazywanie sygnałów przez ten szlak poprzez deubikwitynację IKK $\gamma$  i TRAF6.

Część B. Szlaki aktywacji NF- $\kappa$ B w podtypie aktywowanych limfocytów B (activated B-cell, ABC) chłoniaka rozlanego z dużych komórek. Około 10% chłoniaków ABC zawiera mutacje aktywujące CARD11 w domenie coiled-coil (lewy panel). Mutacje te prowadzą do powstawania dużych agregatów białka CARD11 w cytoplazmie, które następnie rekrutują inne elementy szlaku przekazywania sygnałów, w tym IKK, prowadząc do konstytutywnej aktywacji szlaku NF- $\kappa$ B. W innych chłoniakach ABC CARD11 jest typu dzikiego. Chłoniaki te charakteryzują się przewlekłą aktywnością szlaku przekazywania sygnałów receptora limfocytów B (lewa część ryciny). W takich przypadkach receptory limfocytów B tworzą niemobilne zgrupowania w błonie plazmatycznej i uruchamiają liczne położone dalej szlaki przekazywania sygnałów, w tym NF- $\kappa$ B. W 21% chłoniaków ABC przewlekła aktywność szlaku przekazywania sygnałów przez receptory limfocytów B związana jest z obecnością mutacji somatycznych w uczestniczących w przekazywaniu sygnałów motywach ITAM, CD79B lub CD79A; większość z tych mutacji zmienia większą tyrozynę w CD79B ITAM. Dobór leczenia w chłoniakach ABC zależy będzie od mechanizmów aktywacji NF- $\kappa$ B. Linie niebieskie – aktywacja, linie czerwone – hamowanie.

ten koduje JAK2, kinazę tyrozynową, która fosforyluje i aktywuje czynnik transkrypcji STAT6.<sup>59</sup> Ponadto SOCS1, supresor szlaku przekazywania sygnałów JAK, zwykle ulega delecji w PMBL i chłoniaku Hodgkina.<sup>60-62</sup> Powielony region w 9p24 zawiera wiele megazasad DNA, co wskazuje na zaangażowanie innych genów. Na przykład amplifikacja *PDL1* (określanego także jako *CD274*) i *PDL2* (określanego także jako *CD273*), które kodują inhibitory odpowiedzi limfocytów T, mogłyby umożliwiać przetrwanie klonu komórek nowotworowych w grasicy.<sup>39</sup>

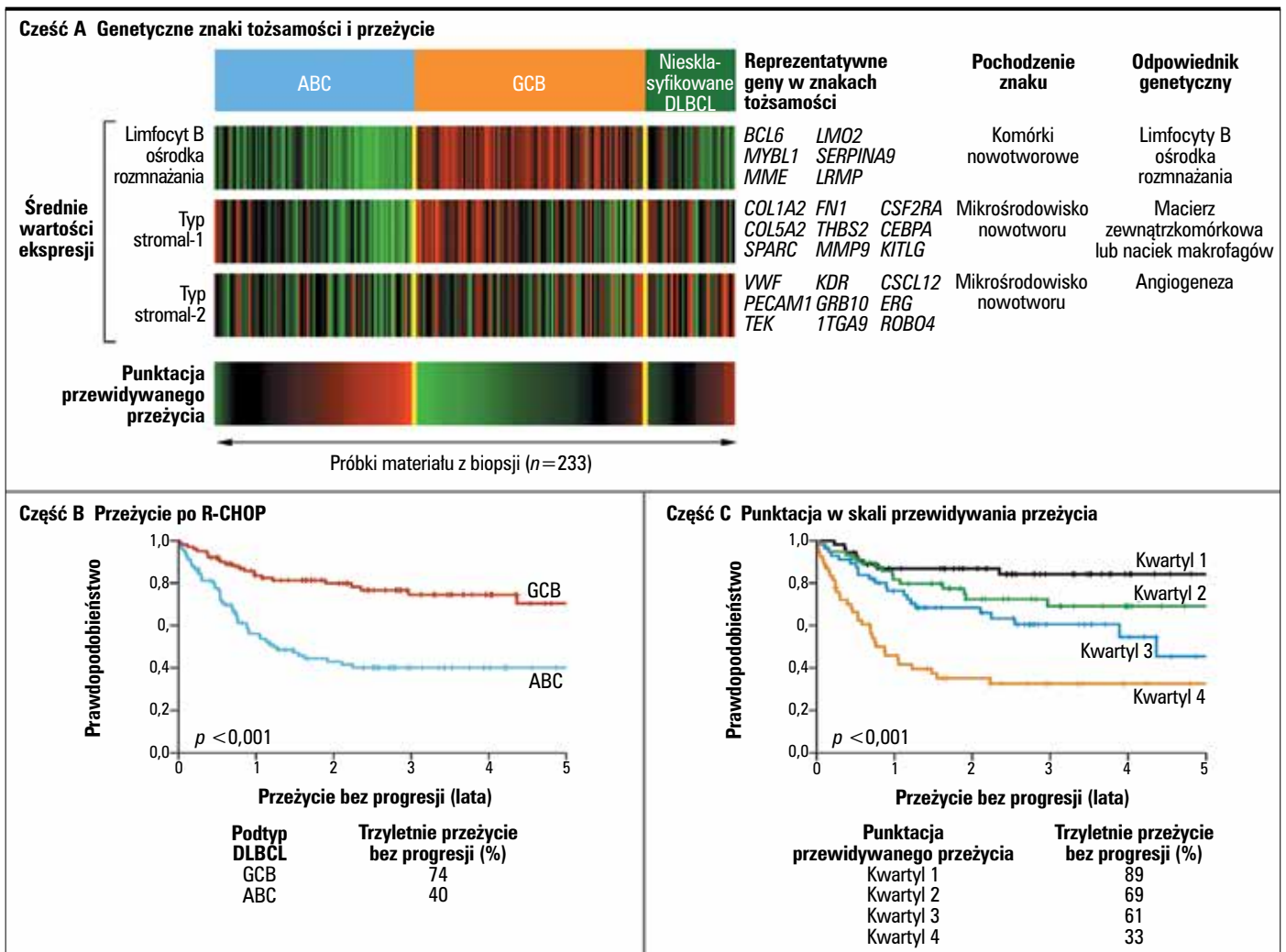
**Konstytutywna aktywacja szlaku NF- $\kappa$ B**

W podtypie ABC występuje ekspresja genów charakterystyczna dla prawidłowych komórek B, które uległy aktywacji w wyniku związania receptora tych komórek.<sup>16</sup> Dalsze badania wiążą bezpośrednio aktywację receptora z patogenezą tego chłoniaka. W prawidłowych spoczynkowych limfocytach B hamujące białko I $\kappa$ B $\alpha$  powoduje sekwestrację czynników transkrypcyjnych NF- $\kappa$ B w cytoplazmie.<sup>63</sup> Stymulacja tych komórek za pośrednictwem pewnych receptorów powierzchniowych komórki prowadzi do fosforylacji I $\kappa$ B $\alpha$ , czego skutkiem jest degradacja tego białka w proteasomach. Cytoplazmatyczne czynniki NF- $\kappa$ B mogą następnie przemieszczać się do jądra komórkowego, gdzie aktywują swoje geny docelowe. W prawidłowych limfocytach B receptor limfocytów B angażuje szlak NF- $\kappa$ B przejściowo, ale w podtypie ABC szlak NF- $\kappa$ B jest aktywny konstytutywnie (ryc. 2 i 3A).<sup>44</sup> Zakłócenie szlaku NF- $\kappa$ B zabija komórki chłoniaka ABC, ale nie GCB, co dowodzi, że podtyp ABC jest zależny od stałej aktywności tego szlaku.<sup>44,45</sup>

Wiele cząsteczek będących punktami uchwytu dla NF- $\kappa$ B wspólnie zapobiega apoptozie, hamując przez to działanie wielu typów chemioterapii.<sup>64</sup> Konstytutywna aktywacja szlaków NF- $\kappa$ B może zatem przyczyniać się do słabej odpowiedzi podtypu ABC na chemioterapię.<sup>16,37,65</sup> W podtypie ABC szlak przekazywania sygnałów NF- $\kappa$ B indukuje też autokrynne sygnały dla komórki w postaci cytokin IL-6 i IL-10, które działają za pośrednictwem kinaz JAK oraz czynnika transkrypcji STAT3.<sup>66,67</sup> Zahamowanie szlaku przekazywania sygnałów JAK oraz hamowanie NF- $\kappa$ B synergistycznie prowadzą do śmierci komórek ABC.<sup>66</sup>

Opracowano metodę wykrywania tzw. pięty achillesowej komórek nowotworu, która pozwoliłaby zidentyfikować geny niezbędne do proliferacji lub przetrwania tych komórek jako możliwe punkty uchwytu dla leczenia celowanego.<sup>68</sup> Zastosowanie tej metody umożliwiło wykazanie, że podtyp ABC wymaga do aktywacji NF- $\kappa$ B trzech cząsteczek: CARD11, BCL10 i MALT1 (kompleks CBM). Gdy prawidłowe limfocyty napotykały antygen, przekazywanie sygnału przez receptor komórki B prowadzi do fosforylacji CARD11, co umożliwia połączenie tego białka z BCL10 i MALT1 w kompleks, który aktywuje kinazę I $\kappa$ B (IKK), enzym fosforylujący I $\kappa$ B $\alpha$ <sup>69</sup> (ryc. 3A).

RYCINA 4



**Przewidywane przeżycie chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B na podstawie profilu ekspresji genów.**

Część A. Trzy charakterystyczne typy ekspresji genów związane z przeżyciem całkowitym u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (diffuse large-B-cell lymphoma), otrzymujących chemioterapię z zastosowaniem cyklofosfamidu, doksorubicyny, winkrystyny i prednizonu z rytuksymabem (R-CHOP). Przedstawiono średnie wartości ekspresji genów w każdym z typów w 233 próbkach biopsji; każda linia pionowa przedstawia pojedynczą próbkę. Typ ekspresji genów komórek B ośrodka rozmnażania wiąże się z korzystnym rokowaniem i odzwierciedla różnice między dwoma najczęściej występującymi podtypami, z komórek podobnych do aktywowanych limfocytów B (ABC) i z komórek podobnych do limfocytów B z ośrodka rozmnażania (GCB). Typy ekspresji genowej stromal-1 i stromal-2 komórek zrębu odzwierciedlają cechy prawidłowych komórek obecnych w materiale biopsji. Typ stromal-1 wiąże się z dłuższym przeżyciem, typ stromal-2 – z krótszym przeżyciem. Wszystkie trzy typy ekspresji genów włączono do modelu matematycznego, który pozwala obliczyć punktację przewidywanego przeżycia (prostokąt na dole); punktację tę można wykorzystać do oceny ryzyka dla każdego chorego otrzymującego R-CHOP. Przedstawione poziomy ekspresji genów i punktacja przewidywanego przeżycia obejmują zakres różnic 16-krotnych, któremu odpowiada skala zielono-czerwona. W odniesieniu do ekspresji genów kolor czerwony oznacza ekspresję silną, zielony słabą. W odniesieniu do przewidywanego czasu przeżycia kolor czerwony oznacza przeżycie krótsze, zielony przeżycie dłuższe. Przedstawiono geny reprezentatywne dla danego typu, których ekspresja jest zwiększona.

Część B. Odsetki przeżycia chorych z ABC lub GCB po leczeniu R-CHOP.

Część C. Model predykcyjny długości przeżycia na podstawie ekspresji genów. Chorych uszeregowano według punktacji przewidywanego przeżycia (jak pokazano w części A) i podzielono na kwartyle. W przedstawionej analizie Kaplana-Meiera model oparty na ekspresji genów określa różnice trzyletniego przeżycia bez progresji u chorych leczonych programem R-CHOP.

Kompleks CBM powstaje w prawidłowych komórkach B jedynie tymczasowo w kontekście wiązania antygeny, ale w podtypie ABC tworzy się bezwarunkowo. Różne zaburzenia genetyczne aktywują *CARD11* w podtypie ABC. U około 10% chorych *CARD11* staje się onkogenem przez

nabywanie mutacji aktywujących NF-κB i wydłużających przeżycie komórek.<sup>70</sup> Zmutowane izoformy *CARD11* tworzą duże agregaty białkowe w cytoplazmie, będące prawdopodobnym miejscem konstytutywnej aktywacji NF-κB (ryc. 3B).



### Przewlekłe czyny szlak przekazywania sygnałów receptora komórek B

Chociaż w wielu chłoniakach ABC gen *CARD11* ma postać niezmienną, warunkuje on aktywację NF- $\kappa$ B.<sup>68,70</sup> W tych chłoniakach dochodzi do przewlekłej aktywacji szlaku przekazywania sygnałów receptora limfocytów B, który uruchamia szlak CBM.<sup>71</sup> Receptor limfocytów B składa się z wiążących antygen łańcuchów IgH i IgL oraz dwóch podjednostek sygnałowych, CD79A i CD79B (ryc. 3A). Związanie receptora z antygenem uruchamia kaskadę kinaz aktywujących liczne kolejne szlaki przekazywania sygnałów. Przeżycie komórek podtypu ABC z prawidłowym genem *CARD11* zależy od receptora limfocytów B i kinaz zlokalizowanych dalej na szlaku przekazywania sygnałów.<sup>71</sup> Podobnie jak stymulowane przez antygeny prawidłowe limfocyty B, komórki ABC prezentują na swej powierzchni zestawy receptorów limfocytów.<sup>71</sup> W około 20% chłoniaków ABC występują mutacje w *CD79A* lub *CD79B*, rzadko spotykane lub nieobecne w GCB oraz innych podtypach chłoniaków.<sup>71</sup> Zmutowane białka CD79 zwiększają ekspresję receptorów limfocytów B i ograniczają aktywność LYN,<sup>71</sup> ujemnego regulatora szlaku przekazywania sygnałów za pośrednictwem receptorów limfocytów B.<sup>72,73</sup>

Dowody te wydają się wskazywać, że przewlekła aktywacja szlaku przekazywania sygnałów za pośrednictwem receptora limfocytów B jest zasadniczym etapem patogenezy chłoniaka podtypu ABC. Można przypuszczać, że chłoniaki ABC mogą się rozwijać z limfocytów B, w których wystąpi mutacja w genie *CD79A* lub *CD79B*, umożliwiającą w ten sposób ekspansję klonalną i zwiększającą prawdopodobieństwo dodatkowych zdarzeń onkogennych.

Inaktywacja A20, ujemnego regulatora szlaku przekazywania sygnałów NF- $\kappa$ B, zwiększa aktywność tego szlaku w podtypie ABC.<sup>74-76</sup> Zaburzenia A20 występują w podtypie GCB rzadko, ale są obecne w innych chłoniakach z aktywnym szlakiem NF- $\kappa$ B.<sup>74,75,77-79</sup> Ekspresja A20 wymaga przekazywania sygnałów przez szlak NF- $\kappa$ B, co wskazuje, że nowotwory z nieczynnym A20 są uzależnione od dodatkowych mechanizmów aktywacji szlaku sygnałowego NF- $\kappa$ B, takich jak przewlekła aktywność szlaku przekazywania sygnałów przez receptory limfocytów B lub mutacja *CARD11*.

### MOLEKULARNE WYKŁADNIKI ODPOWIEDZI NA LECZENIE

Podtypy chłoniaka rozlanego z dużych komórek B wykazują znacząco różne częstości przeżycia całkowitego w odpowiedzi na chemioterapię zawierającą antracykliny: przeżycie chorych na chłoniaka podtypu GCB i PMBL jest dłuższe, a przeżycie chorych na chłoniaka podtypu ABC krótsze.<sup>37,39,80-82</sup> Dodanie rytuksymabu do standardowej chemioterapii złożonej z cyklofosfami-

du, doksorubicyny, winkrystyny i prednizonu (R-CHOP) poprawiło przeżycie chorych na chłoniaka podtypu ABC,<sup>83</sup> jednak możliwość wyleczenia chorych z podtypem ABC pozostaje mniejsza niż chorych z podtypem GCB<sup>65</sup> (ryc. 4B).

Czynniki biologiczne wpływające na przeżycie całkowite zidentyfikowano dzięki poszukiwaniu genetycznych znaków tożsamości odpowiadających badanym cechom klinicznym. Jedno z takich podejść polega na wbudowaniu cech genowych do modelu statystycznego, w którym ryzyko dla każdego chorego szacuje się na podstawie punktacji pozwalającej przewidzieć przeżycie<sup>65</sup> (ryc. 4A i 4C). W podtypie GCB charakterystyka ekspresji genów komórek B ośrodka rozmnażania wiąże się z dłuższym przeżyciem i odzwierciedla różnice między podtypami GCB i ABC.<sup>65</sup> Charakterystyka genu dwóch pozostałych podtypów wykazuje różnice dotyczące komórek nienowotworowych mikrośrodowiska tych nowotworów.<sup>65</sup> Korzystna charakterystyka genu typu stromal-1 odpowiada odkładaniu się macierzy zewnątrzkomórkowej i naciekaniu tkanki nowotworowej przez makrofagi. Włóknienie może być wywołane czynnikiem wzrostu tkanki łącznej, cytokiną pobudzającą komórki mezenchymalne do włóknienia.<sup>65</sup> Makrofagi mogą przekazywać czynniki troficzne nowotworu, hamować przeciwnowotworową odpowiedź układu odpornościowego lub pełnić obie te funkcje.<sup>84</sup> W przeciwieństwie do tego charakterystyka genu typu stromal-2 wiąże się z gorszym przeżyciem i cechuje nowotwory o dużej gęstości sieci naczyń krwionośnych.<sup>65</sup> Wzmocniona angiogeneza w tych nowotworach może być skutkiem słabej ekspresji inhibitora angiogenezy, trombospondyny 2 i silnej ekspresji chemokinowego czynnika 1 pochodzącego z komórek zrębu (SDF-1), który może rekrutować prekursorów komórek śródbłonna do nowotworu.<sup>65</sup>

### MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE

#### Szlak NF- $\kappa$ B

Metody leczenia, dla których punktem uchwytu jest antyapoptotyczny szlak NF- $\kappa$ B, wydają się szczególnie atrakcyjne ze względu na dowody udziału tego szlaku w patogenezie podtypu ABC, PMBL, chłoniaka strefy brzeżnej i chłoniaka Hodgkina.<sup>74,75,77-79</sup> Nowotwory te korzystają z klasycznego szlaku NF- $\kappa$ B, w którym podjednostka  $\beta$  IKK (IKK $\beta$ ) fosforyluje I $\kappa$ B $\alpha$ , wywołując jego ubikwitynację przez ligazę ubikwitynową SCF $^{\beta}$ -TrCP (ligaza ubikwitynowa Skp1-Cul1-F-box z podjednostką białkową zawierającą powtórzenia beta-transducyny), a następnie degradację w proteasomie. Wybiórcze inhibitory IKK $\beta$  okazały się obiecujące w leczeniu chorych na chłoniaki,<sup>45</sup> ale nie były jeszcze oceniane w badaniach klinicznych. Także inhibitory białka szoku cieplnego 90 (HSP90)<sup>85</sup> mogą hamować IKK, ponieważ HSP90 jest

składnikiem makrocząsteczkowego kompleksu IKK.<sup>86</sup> Inną możliwością hamowania NF- $\kappa$ B jest hamowanie degradacji I $\kappa$ B $\alpha$  przez blokowanie ligazy ubikwityny SCF $\beta$ -TrCP za pomocą drobnocząsteczkowego antagonisty enzymu aktywującego NEDD8.<sup>87</sup> MALT1 wyłania się ostatnio z tego szlaku jako możliwy punkt uchwytu, ponieważ posiada aktywność proteazową, konieczną do przekazywania sygnałów w szlaku NF- $\kappa$ B i przeżywalności komórek chłoniaka ABC.<sup>88,89</sup>

Metodą pośrednią hamowania NF- $\kappa$ B jest hamowanie degradacji I $\kappa$ B $\alpha$  w proteasomach za pomocą bortezomibu. W badaniu fazy II bortezomibu z chemioterapią u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B nawrotowego lub opornego<sup>90</sup> częstość odpowiedzi była większa u chorych na chłoniaka podtypu ABC niż u chorych na chłoniaka podtypu GCB (85 vs 13%) i dłuższy był czas przeżycia całkowitego chorych na chłoniaka podtypu ABC. Wyniki te są godne uwagi ze względu na ogólnie słabą odpowiedź chłoniaka ABC na samą chemioterapię.<sup>16,37,65,80,81</sup> Zahamowanie NF- $\kappa$ B mogło uwrażliwić nowotwór na cytotoksyczne działanie chemioterapii,<sup>64</sup> chociaż bortezomib wpływa na wiele innych szlaków, które mogą być wykorzystywane w zróżnicowany sposób w podtypach ABC i GCB.

#### Aktywacja receptora komórki B

Przewlekła aktywność szlaku sygnałowego receptora komórki B u chorych na chłoniaka podtypu ABC może być przerwana przez hamowanie kinaz BTK, SYK i PKC $\beta$  z rodziny SYK lub szlaku kinazy 3 fosfatydyloinozitolowej mTOR – (PBK)-mTOR (ryc. 3A i 3B).<sup>71</sup> Wybiórczy inhibitor BTK zabija komórki ABC z przewlekłą aktywacją receptora, podobnie jak inhibitor wielokinazowy dasatynib, który hamuje BTK i kinazy rodziny SRC.<sup>71</sup> Inhibitor SYK, R406, może wywoływać remisję u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B, które trwają wiele miesięcy.<sup>91,92</sup> Jednak R406 wykazuje aktywność *in vitro* wobec chłoniaków rozlanych z dużych komórek B, które nie są zależne od SYK, co sugeruje, że aktywność tego inhibitora *in vivo* może wynikać z hamowania innych kinaz.<sup>71</sup> Drobnocząsteczkowy inhibitor PKC $\beta$  wywoływał remisję całkowitą lub częściową u niewielkiego odsetka chorych, ale nie określono, czy występujące u nich nowotwory były chłoniakami ABC.<sup>93</sup> Ponieważ zarówno szlak PI3K, jak i NF- $\kappa$ B dostarczają komórkom ABC sygnałów umożliwiających przeżycie,<sup>71,94</sup> skojarzenie leków, które hamują oba szlaki, może wykazać synergizm u chorych z przewlekłą aktywacją receptora komórki B.

#### BCL2

Dane wynikające z badań przedklinicznych prowadzonych na liniach komórek chłoniaka i materiale pochodzącym z pierwotnych ognisk nowotworu świadczą o dużej skuteczności przeciwchłoniakowej inhibitora BCL2

– ABT-737.<sup>95</sup> Podatność *in vitro* na leczenie ABT-737 można przewidzieć na podstawie rodzaju i względnego nadmiaru antyapoptotycznych składników rodziny BCL2 oraz proapoptotycznych białek z wyłączną domeną BH3.<sup>96,97</sup>

#### BCL6

W wielu liniach komórkowych chłoniaka rozlanego z dużych komórek B i chłoniaka Burkitta dochodzi do zatrzymania wzrostu i apoptozy w następstwie zahamowania BCL6.<sup>9,98</sup> Zależność od BCL6 występuje w liniach komórkowych ABC i GCB, z translokacją BCL6 lub bez niej, co prawdopodobnie odzwierciedla zależność prawidłowych komórek B ośrodka rozmnażania od BCL6.<sup>6-8</sup> Zahamowanie BCL6 przez penetrujący komórki peptyd zaburzający oddziaływanie BCL6 z białkami korepresorowymi eliminuje przeszczepy obcogatunkowe i nie jest ewidentnie toksyczne u myszy, co sugeruje, że terapeutyczna modyfikacja BCL6 jest obiecująca.<sup>98</sup>

#### Mikrośrodowisko nowotworowe

Niezbadaną dotąd możliwością leczenia chorych na chłoniaki jest modyfikacja mikrośrodowiska nowotworu. Chorzy, u których stwierdza się cechy genowe nowotworu typu stromal-2 i zwiększoną gęstość sieci naczyń krwionośnych w nowotworze, być może odpowiedzialiby na leczenie ukierunkowane przeciw czynnikowi wzrostu śródbłonna naczyń.<sup>65</sup> Jeden z składników układu genowego stromal-2, SDF-1, jest czynnikiem angiogennym, co sugeruje, że czynniki hamujące jego receptor (CXCR4) powinny zostać zbadane u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B.<sup>99</sup> Komórki linii mieloidalnej, występujące w niektórych z tych chłoniaków, mogą dostarczać komórkom nowotworowym sygnałów troficznych,<sup>65</sup> co umożliwia skuteczność przeciwciał monoklonalnych ukierunkowanych przeciw tym komórkom. Włóknienie niektórych nowotworów być może sprzyja aktywności cytokin lub chemokin,<sup>65</sup> a przeciwciała monoklonalne przeciw cytokinie CTGF stymulującej proces włóknienia mogłyby hamować to działanie.<sup>100</sup>

#### PODSUMOWANIE

W związku z pojawieniem się wielu nowych leków wpływających na zasadnicze szlaki regulatorowe chłoniaków wyzwaniem jest obecnie wykrycie racjonalnych kombinacji leków, które wykazują synergistycznie działanie przeciwnowotworowe. Zadanie to wymaga zarówno oceny przedklinicznej, jak i opracowania strategii badań klinicznych, które uwzględniłyby ocenę molekularną. Ocena profili ekspresji genów może być zastosowana do określenia podtypu chłoniaka i do oszacowania ryzyka związanego z zastosowaniem leczenia

standardowego. Resekwencjonowanie genów związanych z nowotworem mogłoby być wykorzystane do identyfikacji jednostek chorobowych prawdopodobnie zależnych od określonego szlaku sygnałowego i do określenia elementu do zablokowania w ramach tego szlaku. Ponadto aktywność szlaku docelowego przed i w czasie leczenia może być wykorzystana do oceny jego skuteczności. Można się spodziewać, że owo podejście typu dziel i rządź umożliwi opracowanie coraz bardziej skutecznych i nietoksycznych metod leczenia dla chorych na chłoniaki.

Praca finansowana przez Intramural Research Program, the National Cancer Institute, Center for Cancer Research, National Institutes of Health oraz z grantu przyznanego dr Lenzowi przez German Research Foundation.

Formularze dotyczące konfliktu interesów dostarczone przez autorów są dostępne wraz z pełnym tekstem artykułu na stronie NEJM.org.

From The New England Journal of Medicine 2010; 1417-1429. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2010, 2011 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

## PIŚMIENNICTWO

- Jung D, Giallourakis I. C, Mostoslavsky R, Alt FW. Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. *Annu Rev Immunol* 2006;24:541-70.
- Allen CD, Okada T, Cyster JG. Germinal-center organization and cellular dynamics. *Immunity* 2007; 27:190-202.
- Batista FD, Harwood NE. The who, how and where of antigen presentation to B cells. *Nat Rev Immunol* 2009;9:15-27.
- Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* 2000;102:553-63.
- Ye BH, Lista F, Lo Coco F, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993;262:747-50.
- Dent AL, Shaffer AL, Yu X, Allman D, Staudt LM. Control of inflammation, cytokine expression, and germinal center formation by BCL-6. *Science* 1997;276:589-92.
- Fukuda T, Yoshida T, Okada S, et al. Disruption of the Bcl6 gene results in an impaired germinal center formation. *J Exp Med* 1997;186:439-48.
- Ye BH, Cattoretti G, Shen Q, et al. The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation. *Nat Genet* 1997;16:161-70.
- Shaffer AL, Yu X, He Y, Boldrick J, Chan EP, Staudt LM. BCL-6 represses genes that function in lymphocyte differentiation, inflammation, and cell cycle control. *Immunity* 2000;13:199-212.
- Reljic R, Wagner SD, Peakman LJ, Fearon DT. Suppression of signal transducer and activator of transcription 3-dependent B lymphocyte terminal differentiation by BCL-6. *J Exp Med* 2000;192:1841-8.
- Shaffer AL, Lin KI, Kuo TC, et al. Blimp-1 orchestrates plasma cell differentiation by extinguishing the mature B cell gene expression program. *Immunity* 2002;17:51-62.
- Turner CA Jr, Mack DH, Davis MM. Blimp-1, a novel zinc finger-containing protein that can drive the maturation of B lymphocytes into immunoglobulin-secreting cells. *Cell* 1994;77:297-306.
- Sciammas R, Shaffer AL, Schatz JH, Zhao H, Staudt LM, Singh H. Graded expression of interferon regulatory factor-4 coordinates isotype switching with plasma cell differentiation. *Immunity* 2006;25:225-36.
- Klein U, Casola S, Cattoretti G, et al. Transcription factor IRF4 controls plasma cell differentiation and class-switch recombination. *Nat Immunol* 2006;7:773-82.
- Shaffer AL, Emre NC, Lamy L, et al. IRF4 addiction in multiple myeloma. *Nature* 2008;454:226-31.
- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
- Shaffer AL, Rosenwald A, Hurt EM, et al. Signatures of the immune response. *Immunity* 2001;15:375-85.
- Klein U, Tu Y, Stolovitzky GA, et al. Transcriptional analysis of the B cell germinal center reaction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:2639-44.
- Basso K, Klein U, Niu H, et al. Tracking CD40 signaling during germinal center development. *Blood* 2004; 104:4088-96.
- Ci W, Polo JM, Cerchietti L, et al. The BCL6 transcriptional program features repression of multiple oncogenes in primary B cells and is deregulated in DLBCL. *Blood* 2009;113:5536-48.
- Callén E, Jankovic M, Difilippantonio S, et al. ATM prevents the persistence and propagation of chromosome breaks in lymphocytes. *Cell* 2007;130:63-75.
- Wang JH, Gostissa M, Yan CT, et al. Mechanisms promoting translocations in editing and switching peripheral B cells. *Nature* 2009;460:231-6.
- Raghavan SC, Swanson PC, Wu X, Hsieh CL, Lieber MR. A non-B-DNA structure at the Bcl-2 major breakpoint region is cleaved by the RAG complex. *Nature* 2004;428:88-93.
- Tsai AG, Lu H, Raghavan SC, Muschen M, Hsieh CL, Lieber MR. Human chromosomal translocations at CpG sites and a theoretical basis for their lineage and stage specificity. *Cell* 2008;135:1130-42.
- Pasqualucci L, Bhagat G, Jankovic M, et al. AID is required for germinal center-derived lymphomagenesis. *Nat Genet* 2008;40:108-12.
- Robbiani DF, Bunting S, Feldhahn N, et al. AID produces DNA double-strand breaks in non-Ig genes and mature B cell lymphomas with reciprocal chromosome translocations. *Mol Cell* 2009;36:631-41.
- Shen HM, Peters A, Baron B, Zhu X, Storb U. Mutation of BCL-6 gene in normal B cells by the process of somatic hypermutation of Ig genes. *Science* 1998; 280:1750-2.
- Pasqualucci L, Migliazza A, Fracchiolla N, et al. BCL-6 mutations in normal germinal center B cells: evidence of somatic hypermutation acting outside Ig loci. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:11816-21.
- Liu M, Duke JL, Richter DJ, et al. Two levels of protection for the B cell genome during somatic hypermutation. *Nature* 2008;451:841-6.
- Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001;412:341-6.
- Bergsagel PL, Chesi M, Nardini E, Brents LA, Kirby SL, Kuehl WM. Promiscuous translocations into immunoglobulin heavy chain switch regions in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:13931-6.
- Lenz G, Nagel I, Siebert R, et al. Aberrant immunoglobulin class switch recombination and switch translocations in activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma. *J Exp Med* 2007;204:633-43.
- Ramiro AR, Jankovic M, Eisenreich T, et al. AID is required for c-myc/IgH chromosome translocations *in vivo*. *Cell* 2004;118:431-8.
- Ramiro AR, Jankovic M, Callen E, et al. Role of genomic instability and p53 in AID-induced c-myc-IgH translocations. *Nature* 2006;440:105-9.
- Franco S, Gostissa M, Zha S, et al. H2AX prevents DNA breaks from progressing to chromosome breaks and translocations. *Mol Cell* 2006;21:201-14.
- Robbiani DF, Bothmer A, Callen E, et al. AID is required for the chromosomal breaks in c-myc that lead to c-myc/IgH translocations. *Cell* 2008;135:1028-38.
- Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346:1937-47.
- Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9991-6.
- Rosenwald A, Wright G, Leroy K, et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 2003;198:851-62.
- Savage KJ, Monti S, Kutok JL, et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003;102:3871-9.
- Dave SS, Fu K, Wright GW, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006;354:2431-42.
- Lossos IS, Alizadeh AA, Eisen MB, et al. Ongoing immunoglobulin somatic mutation in germinal center B cell-like but not in activated B cell-like diffuse large cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97:10209-13.
- Shaffer AL, Shapiro-Shelef M, Iwakoshi NN, et al. XBP1, downstream of Blimp-1, expands the secretory apparatus and other organelles, and increases protein synthesis in plasma cell differentiation. *Immunity* 2004; 21:81-93.
- Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, Staudt LM. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001;194:1861-74.

- 45 Lam LT, Davis RE, Pierce J, et al. Small molecule inhibitors of I $\kappa$ B kinase are selectively toxic for subgroups of diffuse large B-cell lymphoma defined by gene expression profiling. *Clin Cancer Res* 2005; 11:28-40.
- 46 Tam W, Gomez M, Chadburn A, Lee JW, Chan WC, Knowles DM. Mutational analysis of PRDM1 indicates a tumor-suppressor role in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2006;107:4090-100.
- 47 Pasqualucci L, Compagno M, Houldsorth J, et al. Inactivation of the PRDM1/BLIMP1 gene in diffuse large B cell lymphoma. *J Exp Med* 2006;203:311-7.
- 48 Saito M, Gao J, Basso K, et al. A signaling pathway mediating downregulation of BCL6 in germinal center B cells is blocked by BCL6 gene alterations in B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2007;12:280-92.
- 49 Iqbal J, Greiner TC, Patel K, et al. Distinctive patterns of BCL6 molecular alterations and their functional consequences in different subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2007;21:2332-43.
- 50 Lenz G, Wright GW, Emre NC, et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105:13520-5.
- 51 Pasqualucci L, Guglielmino R, Houldsorth J, et al. Expression of the AID protein in normal and neoplastic B cells. *Blood* 2004;104:3318-25.
- 52 Seifert M, Küppers R. Molecular footprints of a germinal center derivation of human IgM+(IgD+)CD27+ B cells and the dynamics of memory B cell generation. *J Exp Med* 2009;206:2659-69.
- 53 Cattoretti G, Büttner M, Shaknovich R, Kremmer E, Alobeid B, Niedobitek G. Nuclear and cytoplasmic AID in extrafollicular and germinal center B cells. *Blood* 2006; 107:3967-75.
- 54 Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009;114: 3533-7.
- 55 Xiao C, Srinivasan L, Calado DP, et al. Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes. *Nat Immunol* 2008;9:405-14.
- 56 Young KH, Leroy K, Möller MB, et al. Structural profiles of TP53 gene mutations predict clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma: an international collaborative study. *Blood* 2008;112:3088-98.
- 57 Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005; 106:1770-7. [Erratum, *Blood* 2006;107:3052.]
- 58 Joos S, Küpper M, Ohl S, et al. Genomic imbalances including amplification of the tyrosine kinase gene JAK2 in CD30+ Hodgkin cells. *Cancer Res* 2000; 60:549-52.
- 59 Guiter C, Dusanter-Fourt I, Copie-Bergman C, et al. Constitutive STAT6 activation in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2004;104:543-9.
- 60 Weniger MA, Melzner I, Menz CK, et al. Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation. *Oncogene* 2006; 25:2679-84.
- 61 Mestre C, Rubio-Moscardo F, Rosenwald A, et al. Homozygous deletion of SOCS1 in primary mediastinal B-cell lymphoma detected by CGH to BAC microarrays. *Leukemia* 2005;19:1082-4.
- 62 Melzner I, Bucur AJ, Brüderlein S, et al. Biallelic mutation of SOCS-1 impairs JAK2 degradation and sustains phospho-JAK2 action in the MedB-1 mediastinal lymphoma line. *Blood* 2005;105:2535-42.
- 63 Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF- $\kappa$ B transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 2009;27:693-733.
- 64 Baldwin AS. Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NF- $\kappa$ B. *J Clin Invest* 2001;107:241-6.
- 65 Lenz G, Wright G, Dave SS, et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008; 359:2313-23.
- 66 Lam LT, Wright G, Davis RE, et al. Cooperative signaling through the signal transducer and activator of transcription 3 and nuclear factor- $\kappa$ B pathways in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2008;111:3701-13.
- 67 Ding BB, Yu JJ, Yu RY, et al. Constitutively activated STAT3 promotes cell proliferation and survival in the activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2008;111:1515-23.
- 68 Ngo VN, Davis RE, Lamy L, et al. A loss-of-function RNA interference screen for molecular targets in cancer. *Nature* 2006;441:106-10.
- 69 Rawlings DJ, Sommer K, Moreno-García ME. The CARMA1 signalosome links the signalling machinery of adaptive and innate immunity in lymphocytes. *Nat Rev Immunol* 2006;6:799-812.
- 70 Lenz G, Davis RE, Ngo VN, et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* 2008;319:1676-9.
- 71 Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2010;463:88-92.
- 72 Dal Porto JM, Gauld SB, Merrell KT, Mills D, Pugh-Bernard AE, Cambier J. B cell antigen receptor signaling 101. *Mol Immunol* 2004;41:599-613.
- 73 Gauld SB, Cambier JC. Src-family kinases in B-cell development and signaling. *Oncogene* 2004;23:8001-6.
- 74 Compagno M, Lim WK, Grunn A, et al. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF- $\kappa$ B in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009;459:717-21.
- 75 Honma K, Tsuzuki S, Nakagawa M, et al. TNFAIP3/A20 functions as a novel tumor suppressor gene in several subtypes of non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 2009; 114:2467-75.
- 76 Wertz IE, O'Rourke KM, Zhou H, et al. De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF- $\kappa$ B signalling. *Nature* 2004;430:694-9.
- 77 Kato M, Sanada M, Kato I, et al. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature* 2009;459:712-6.
- 78 Schmitz R, Hansmann ML, Bohle V, et al. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med* 2009;206:981-9.
- 79 Novak U, Rinaldi A, Kwee I, et al. The NF- $\kappa$ B negative regulator TNFAIP3 (A20) is inactivated by somatic mutations and genomic deletions in marginal zone lymphomas. *Blood* 2009;113:4918-21.
- 80 Monti S, Savage KJ, Kutok JL, et al. Molecular profiling of diffuse large B-cell lymphoma identifies robust subtypes including one characterized by host inflammatory response. *Blood* 2005;105:1851-61.
- 81 Hummel M, Bentink S, Berger H, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006;354:2419-30.
- 82 Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, et al. Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004; 350:1828-37.
- 83 Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235-42.
- 84 Wels J, Kaplan RN, Rafii S, Lyden D. Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells. *Genes Dev* 2008;22:559-74.
- 85 Workman P, Burrows F, Neckers L, Rosen N. Drugging the cancer chaperone HSP90: combinatorial therapeutic exploitation of oncogene addiction and tumor stress. *Ann NY Acad Sci* 2007;1113:202-16.
- 86 Chen G, Cao P, Goeddel DV. TNF-induced recruitment and activation of the IKK complex require Cdc37 and Hsp90. *Mol Cell* 2002;9:401-10.
- 87 Soucy TA, Smith PG, Milhollen MA, et al. An inhibitor of NEDD8-activating enzyme as a new approach to treat cancer. *Nature* 2009;458:732-6.
- 88 Hailfinger S, Lenz G, Ngo V, et al. Essential role of MALT1 protease activity in activated B cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106:19946-51.
- 89 Ferch U, Kloos B, Gewies A, et al. Inhibition of MALT1 protease activity is selectively toxic for activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2009;206:2313-20.
- 90 Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009;113:6069-76.
- 91 Chen L, Monti S, Juszczynski P, et al. SYK-dependent tonic B-cell receptor signaling is a rational treatment target in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2008; 111:2230-7.
- 92 Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J, et al. Inhibition of Syk with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009 November 17 (Epub ahead of print).
- 93 Robertson MJ, Kahl BS, Vose JM, et al. Phase II study of enzastaurin, a protein kinase C beta inhibitor, in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:1741-6.
- 94 Jin S, DiPaola RS, Mathew R, White E. Metabolic catastrophe as a means to cancer cell death. *J Cell Sci* 2007;120:379-83.
- 95 Oltersdorf T, Elmore SW, Shoemaker AR, et al. An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature* 2005;435:677-81.
- 96 Deng J, Carlson N, Takeyama K, Dal Cin P, Shipp M, Letai A. BH3 profiling identifies three distinct classes of apoptotic blocks to predict response to ABT-737 and conventional chemotherapeutic agents. *Cancer Cell* 2007; 12:171-85.
- 97 van Delft MF, Wei AH, Mason KD, et al. The BH3 mimetic ABT-737 targets selective Bcl-2 proteins and efficiently induces apoptosis via Bak/Bax if Mcl-1 is neutralized. *Cancer Cell* 2006;10:389-99.
- 98 Polo JM, Dell'Oso T, Ranuncolo SM, et al. Specific peptide interference reveals BCL6 transcriptional and oncogenic mechanisms in B-cell lymphoma cells. *Nat Med* 2004;10:1329-35.
- 99 Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends Immunol* 2007;28:299-307.
- 100 Aikawa T, Gunn J, Spong SM, Klaus SJ, Korc M. Connective tissue growth factor-specific antibody attenuates tumor growth, metastasis, and angiogenesis in an orthotopic mouse model of pancreatic cancer. *Mol Cancer Ther* 2006;5:1108-16.

## KOMENTARZ



*Prof. dr hab. n. med.  
Jan Walewski  
Klinika Nowotworów  
Układu Chłonnego,  
Centrum Onkologii  
– Instytut  
im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
Warszawa*

W bieżącym numerze prezentujemy pracę przeglądową dotyczącą biologii molekularnej chłoniaków agresywnych z komórek B, autorstwa liderów jednego z najbardziej zasłużonych na świecie ośrodków badawczych w tej dziedzinie – National Cancer Institute, Bethesda w Stanach Zjednoczonych. W czasie dorocznego zjazdu American Society of Hematology w Nowym Orleanie w 2009 r. dr Louis M. Staudt został uhonorowany nagrodą im. Williama Damesheka, pierwszego redaktora pisma *Blood*, za wybitny dorobek w dziedzinie diagnostyki i leczenia chłoniaków w ostatnich latach. Dr Staudt zainicjował pionierskie badania nad profilami ekspresji genów w chłoniakach z komórek B i zorganizował międzynarodową sieć instytucji badawczych znaną jako Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project (LLMPP), która okazała się skuteczna w podejmowaniu i rozwiązywaniu problemów istotnych klinicznie dzięki zastosowaniu metod genetyki molekularnej.

Do najważniejszych osiągnięć tej linii badań należy molekularna klasyfikacja chłoniaków agresywnych (chłoniak rozlany z dużych komórek B, diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) na podstawie genetycznego profilu komórki początkowej (cell of origin, COO), wyróżniająca podtypy: GCB (germinal center B cell-like), ABC (activated B cell-like) i PMBL (primary mediastinal B-cell lymphoma), w których wykazano odrębną szlaki molekularnej onkogenezy. Te kategorie molekularne, znajdujące odzwierciedlenie w obrazie klinicznym, odpowiedzi na leczenie i rokowaniu, zostały uwzględnione w najnowszej klasyfikacji chłoniaków WHO 2008.

Innym osiągnięciem, stanowiącym nowe podejście do poszukiwań molekularnych celów terapeutycznych w onkologii w ogóle, było opracowanie metody genetycznego przesiewu na podstawie oceny ubytku funkcji komórki w wyniku interferencji RNA (loss-of-function RNA interference screen), dzięki której można poszukiwać tzw. piąty achillesowej w patomechanizmach molekularnych danej jednostki chorobowej, do dalszego wykorzystania w próbach terapeutycznych i projektowania leków ukierunkowanych molekularnie. Badania te doprowadziły m.in. do odkrycia roli szlaku NF- $\kappa$ B (czynnika jądrowego  $\kappa$ B) w oporności podtypu ABC na leczenie standardowe i rozpoczęcia badań klinicz-

nych z zastosowaniem leków ukierunkowanych na inaktywację tego szlaku (bortezomib), które przynoszą już obiecujące wyniki wstępne.

Autorzy wspominają tylko zdawkowo i krytycznie inne podejścia badawcze (Chen L, Monti S, Juszczynski P i wsp., *Blood* 2008) reprezentowane przez równie zasłużone dla biologii molekularnej chłoniaków konkurencyjne ośrodki, takie jak Dana-Farber Cancer Institute, Division of Hematologic Neoplasia Uniwersytetu Harvarda w Bostonie pod kierunkiem dr Margaret A. Shipp. Jednym z ważniejszych osiągnięć tego zespołu było opracowanie klasyfikacji molekularnej chłoniaków agresywnych identyfikującej wśród chłoniaków DLBCL trzy podgrupy, charakteryzujące się odmiennym profilem ekspresji genów i odmienną biologią kliniczną, określone operacyjnie na podstawie dominującego pod względem ekspresji rodzaju genów jako: Ox phos (fosforylacja oksydacyjna), BCR (receptor limfocyta B i proliferacja) oraz HR (host-response, obejmująca geny związane z odpowiedzią immunologiczną i odczynem zapalnym). Klasyfikacja ta, alternatywna wobec klasyfikacji Staudta opartej na komórce początkowej (COO), definiuje odmienny, funkcjonalny aspekt różnorodności genetycznej DLBCL. Wyniki badań tego zespołu układają się w spójny model patomechanizmu chłoniaków DLBCL typu BCR, w którym szlak sygnałowy receptora BCR i program transkrypcyjny BCL6 współdziałają w podtrzymaniu i progresji tego nowotworu. Model ten ma bezpośrednie implikacje kliniczne, ponieważ oba szlaki niezależnie podlegają interwencji farmakologicznej. Jej skojarzone zastosowanie wobec obu szlaków może wywierać działanie synergistyczne i prowadzić do eliminacji klonu. Niedawno opublikowano pierwsze wyniki badania klinicznego, w którym zastosowano takie postępowanie.<sup>1</sup>

Jednym z głównych motywów inspirujących badania molekularne jest rysująca się perspektywa racjonalnego leczenia opartego na poddających się modulacji mechanizmach patogenetycznych, która wydaje się obecnie bliższa niż kiedyś, m.in. dzięki takim osiągnięciom naukowym, jak przedstawione w pracy przeglądowej Staudta lub prowadzone w zespole Margaret Shipp. Są jednak okoliczności, które tę perspektywę mogą czynić dalszą, niż oczekujemy.<sup>2</sup>

Wiele przykładów z historii leczenia systemowego chorób nowotworowych świadczy o tym, że główne postępy dokonały się metodą empiryczną i najbardziej pomocny okazał się tzw. efekt serendypicji (serendipity), tj. zdolność dokonywania szczęśliwych odkryć przez przypadek, a nie dzięki opieraniu się na racjonalnych modelach lub teoriach, których słuszność rzadko się potwierdzała. W ostatniej dekadzie przykładem tego efektu może być odkrycie przeciwnowotworowej

i immunomodulującej aktywności talidomidu i jego pochodnych oraz ponownie po 40 latach odkrycie bendamustyny – leku o wyjątkowej aktywności alkilującej, a być może również immunomodulującej, który, wbrew oczekiwaniom wynikającym z jego konstrukcji, nie jest prostą kombinacją aktywności purynowej i alkilującej.

Są liczne powody, dla których obecny imponujący stan wiedzy w dziedzinie biologii molekularnej i genetyki nowotworów może nie wystarczyć do bliskiego zrealizowania postulatu terapii racjonalnej. Oto niektóre z nich. Wiadomo, że komórka nowotworowa charakteryzująca się zwykle niestabilnością genetyczną, często znajduje obejście zablokowanego szlaku przeżycia, a także, że w praktyce istnieje poważne trudności operacyjne w zintegrowaniu wiedzy o różnych patomechanizmach, a wydaje się nieprawdopodobne, aby udało się znaleźć pojedyncze szlaki, których zablokowanie przyniesie znaczący sukces. Ponadto okazuje się, że nowe leki ukierunkowane na zdefiniowany cel molekularny wykazują działania oboczne (off-target), które w konsekwencji mogą zmieniać ich potencjalne zastosowanie, a przez to zwiększać lub zmniejszać (np. z powodu toksyczności) ich przydatność w leczeniu.<sup>3</sup>

W ostatnich latach w badaniach klinicznych I i II fazy wykazano aktywność szeregu nowych leków ukierunkowanych na cele molekularne. Aktywność ta wydaje się jednak zbyt mała, by mogły być one stosowane pojedynczo. Dotyczy to wielu obiecujących leków różnych klas: leków immunomodulujących, małych cząsteczek hamujących krytyczne szlaki sygnałowe, inhibitorów proteasomów, leków proapoptotycznych, modulujących mikrośrodowisko lub uszkadzających DNA. Konwencjonalne metody oceny klinicznej nowych leków (kryteria odpowiedzi, badanie jednego leku w jednym czasie) wydają się nieadekwatne do substan-

cji działających raczej na drodze modulacji receptorów lub mechanizmów wewnątrzkomórkowych niż przez ich toksyczne zniszczenie.

Istnieje potrzeba opracowania nowych strategii badania nowych leków, by można było wykryć synergizm działania kilku substancji, które pojedynczo nie wykazują spodziewanej aktywności. Taką sytuację wykazano w wyniku badania klinicznego z rozwinięciem molekularnym w National Cancer Institute w odniesieniu do inhibitora proteasomu, bortezomibu, który w monoterapii chorych na nawrotowe chłoniaki DLBCL nie wykazuje aktywności, zaś w kombinacji z immunochemioterapią wielolekową okazuje wybiórczą skuteczność u chorych na chłoniaki podtypu ABC, w którym występuje konstytutywna aktywacja szlaku NF-κB.

Ponadto istnieje potrzeba zidentyfikowania biomarkerów odpowiedzi, które mogłyby stanowić wiarygodne parametry oceny skuteczności tych leków, skoro tradycyjne parametry zawodzą, a w konsekwencji, pełnić rolę czynników predykcyjnych.<sup>4</sup> Jedno z podejść badawczych prowadzących do tego celu jest realizowane w National Cancer Institute, co opisano w omawianym artykule.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J, et al. Inhibition of Syk with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010; 115:2578-2585.
2. Watson JD. To fight cancer, know the enemy. *The New York Times*, August 6, 2009; <http://www.nytimes.com/2009/08/06/opinion/06/watson.html>
3. Reeder CB, Ansell SM. Novel therapeutic agents for B-cell lymphoma: developing rational combinations. *Blood* 2011;117:1453-1462.
4. Lazar AA, Cole BF, Bonetti M, Gelber RD. Evaluation of treatment-effect heterogeneity using biomarkers measured on a continuous scale: subpopulation treatment effect pattern plot. *J Clin Oncol* 2010;28:4539-4544.