Клиническая онкогематология. 2016;9(3):265–70

ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

Clinical oncohematology. 2016;9(3):265–70

ONCO clinical HEMATOLOGY

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Использование достижений современных геномных технологий при лимфомах

М.В. Немцова[1], М.В. Майорова[2]

[1] Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава России, ул. Баррикадная, д. 2/1, Москва, Российская Федерация, 125993

[2] Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИРЦ», 2-й Боткинский пр-д, д. 3, Москва, Российская Федерация, 125284

РЕФЕРАТ

Современные достижения в области геномики и биологии рака позволили значительно расширить объем знаний о молекулярном патогенезе лимфом. С использованием полногеномных методов исследования и других современных технологий удалось доказать, что разнообразные гистологические и иммуноморфологические подтипы лимфом различаются на молекулярном уровне и возникают в результате действия различных онкогенных механизмов. Стало понятно, что в основе вариабельности клинических симптомов, которые наблюдаются у пациентов с лимфомами, лежат как гетерогенность опухолевых клеток, так и особенности молекулярного патогенеза. Основываясь на полученных данных, предложены стратегии для разработки новых препаратов, которые сегодня используются в лечении лимфом. Они включают определение молекулярных этапов патогенеза, оценку значимости каждого этапа для развития опухоли и получение препарата с направленным действием на этот этап. В результате предложено несколько новых классов молекулярных таргетных агентов для лечения лимфом, которые сегодня изучаются в клинических исследованиях. В современную эпоху персонализированной медицины одной из основных задач при лечении пациентов с лимфомами является определение правильной таргетной терапии для каждого типа лимфоидной опухоли, характеризующейся уникальными молекулярными механизмами опухолеобразования.

Ключевые слова: лимфомы, профиль экспрессии генов, микроРНК, сигнальные пути, NF-κB.

Получено: 13 февраля 2016 г.
Принято в печать: 14 марта 2016 г.

Для переписки: Марина Вячеславовна Немцова, д-р биол. наук, профессор, ул. Баррикадная, д. 2/1, Москва, Российская Федерация, 125993; тел.: +7(499)252-21-04; e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

Для цитирования: Немцова М.В., Майорова М.В. Использование достижений современных геномных технологий при лимфомах. Клиническая онкогематология. 2016;9(3):265–70.

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-265-270

Application of Modern Genome Technologies in Treatment of Lymphomas

MV Nemtsova[1], MV Maiorova[2]

[1] Russian Medical Academy of Postgraduate Education, 2/1 Barrikadnaya str., Moscow, Russian Federation, 125993

[2] PA Hertzen Moscow Oncology Research Institute, 3 2-y Botkinskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125284

ABSTRACT

Modern achievements in genomics and cancer biology have provided an unprecedented body of knowledge regarding the molecular pathogenesis of lymphoma. Genome-wide association studies and modern computer technologies demonstrated that various histological and immunomorphological subtypes of lymphomas differ at the molecular level, and result from various oncogenic mechanisms. It is clear that the variability of clinical symptoms presented by patients with lymphomas is based on the heterogeneity of tumor cells and features of the molecular pathogenesis. Based on data obtained, strategies for the development of new drugs for treatment of lymphoma have been proposed, including identification of the molecular pathogenesis, assessment of the significance of each stage for the development of tumors and synthesis of a drug with a targeted effect. As a result, several new classes of molecular targeted agents for treatment of lymphomas have been proposed and are being tested in clinical trials. In the modern era of personalized medicine, correct targeted therapy for each type of lymphoma characterized by a unique molecular mechanism of tumor formation is a major challenge in lymphoma treatment.

Keywords: lymphoma, genes expression profile, microRNA, signaling pathways, NF-κB.

Received: February 13, 2016
Accepted: March 14, 2016

For correspondence: Marina Vyacheslavovna Nemtsova, DSci, Professor, 2/1 Barrikadnaya str., Moscow, Russian Federation, 125993; Tel: +7(499)252-21-04; e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

For citation: Nemtsova MV, Maiorova MV. Application of Modern Genome Technologies in Treatment of Lymphomas. Clinical oncohematology. 2016;9(3):265–70 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2016-9-3-265-270

© 2016 практическая медицина

Лимфомы остаются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире. По экспертным оценкам, в год регистрируется 450 000 новых случаев заболевания и 225 000 смертельных исходов [1]. Лимфомы представляют собой гетерогенные заболевания, их клиническое течение и результаты лечения могут значительно различаться у пациентов.

Неагрессивные индолентные В-клеточные лимфомы, такие как фолликулярная, из клеток маргинальной зоны, лимфоцитарная, протекают как хронические заболевания, для лечения которых, тем не менее, требуются регулярные воздействия токсичных цитостатических препаратов и/или лучевая терапия. При использовании полихимиотерапии в сочетании с лучевым лечением у пациентов отмечаются долгосрочные последствия токсических воздействий, которые оказывают негативное влияние на статус пациента, предрасполагают к развитию вторичных злокачественных опухолей и снижают качество жизни.

Хотя и в случае крупноклеточных лимфом современные программы лечения позволяют улучшить выживаемость у части пациентов (около 80 % при лимфоме Ходжкина, около 60 % при диффузной В-крупноклеточной лимфоме, около 30 % при периферических Т-клеточных лимфомах), все же основной причиной летальности остается прогрессирование заболевания [2, 3]. Понимание молекулярных механизмов развития лимфомы будет способствовать появлению новых видов лечения с более высокой эффективностью и меньшей токсичностью.

В 80–90-е годы прошлого столетия исследования в области лимфом основывались на гистологических классификациях, что привело к выделению более 60 опухолевых подтипов [4]. Однако такое деление не оказало значительного влияния на развитие терапии, и сегодня для лечения большинства подтипов используют стандартные схемы комбинированной химиотерапии. Для диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ) длительное время существовал «золотой стандарт» — режим CHOP, который включает циклофосфамид, доксорубицин, винкристин и преднизолон. Внедрение в последние 15 лет в клиническую практику химерного моноклонального антитела ритуксимаба (R) позволило добиться определенных успехов в лечении В-клеточных лимфом. Исторически с начала 1970-х годов применение комбинации CHOP позволяло получать стойкий противоопухолевый эффект у 50 % пациентов. Добавление ритуксимаба способствовало достижению более существенного прогресса в лечении. В нескольких рандомизированных исследованиях показано, что использование ритуксимаба в комбинации с химиотерапией привело к улучшению ответа на лечение и увеличению показателей 5-летней общей выживаемости больных ДВКЛ до 60 % [2]. Эффективность ритуксимаба доказана в монотерапии, в комбинации с химиотерапией (иммунохимиотерапия), а также при использовании на этапе поддерживающего лечения. Ритуксимаб является обязательным компонентом терапии ДВКЛ и всех В-клеточных, т. е. CD20-позитивных, лимфоидных опухолей. Однако, несмотря на эти достижения, почти у 50 % пациентов после терапии R-CHOP происходит прогрессирование заболевания и/или развитие рецидива, примерно 30 % пациентов в конечном итоге умирают [2].

Включение ритуксимаба в схемы терапии ДВКЛ и других В-клеточных опухолей можно считать одним из первых примеров лечения пациентов с лимфомами на основе использования биомаркеров. Клиническая активность ритуксимаба прямо связана с экспрессией трансмембранного белка CD20, расположенного на мембране В-лимфоцита. Ритуксимаб является моноклональным антителом к этому белку, запуская реакцию клеточной гибели при взаимодействии с CD20, однако исследования экспрессии маркера недостаточно для предсказания ответа на лечение у пациента. Кроме того, CD20 широко экспрессируется как опухолевыми клетками В-клеточных лимфом, так и нормальными лимфоцитами; в связи с этим для прогнозирования ответа на терапию ритуксимабом требуются дополнительные исследования.

Основным достижением последних лет следует считать успехи молекулярной генетики и молекулярной онкологии, которые позволили перейти от изучения единичных генов и маркеров к комплексным исследованиям сразу множества генов или продуктов их экспрессии в опухолях. Появление высокотехнологичных полногеномных методов исследования и интеграция их в общедоступные базы данных дают возможность получить более полную информацию о механизмах канцерогенеза, объяснить разделение опухолей по гистологическим типам, дифференцировать генные сети, определяющие основные этапы опухолевого патогенеза, и изучить механизмы лекарственной устойчивости.

Исследование профилей генной экспрессии в определенных типах и подтипах опухолей позволяет идентифицировать дополнительные маркеры, связанные с клиническим течением, появлением инвазии и метастазирования, а также дополнить и уточнить существующую классификацию или предложить новую, основанную в т. ч. на молекулярных характеристиках опухоли. Благодаря исследованию профилей генной экспрессии в опухолях с помощью технологии микрочипов можно одновременно изучать экспрессию нескольких тысяч генов. Эта технология дает возможность определять гены, обладающие специфической экспрессией, характерной для каждого типа опухоли [5].

Методом молекулярного профилирования было показано, что большинство даже иммуноморфологически сходных лимфом являются гетерогенными на молекулярном уровне. Соответственно, ответ пациентов на противоопухолевую терапию также неодинаков. Например, по результатам исследования профиля генной экспрессии ДВКЛ дополнительно разделена на подгруппы: герминального происхождения (GCB-тип), из активированных В-клеток (ABC-тип) и первичная медиастинальная тимическая В-крупноклеточная. Это согласуется с иммуноморфологической классификацией, которая выделяет эти группы на основании изучения суррогатных маркеров: CD10, MuM1, BCL6 [6]. Отмечено, что стандартное лечение R-CHOP приводит к лучшим результатам и увеличению показателей общей выживаемости у пациентов с ДВКЛ (GCB-типа) и первичной медиастинальной тимической В-крупноклеточной лимфомой по сравнению с ABC-подтипом [7]. Однако наблюдаемые при обоих подтипах рецидивы после R-CHOP предполагают существование дополнительных онкогенных событий, которые определяют устойчивость к лечению независимо от клеточного происхождения. Таким образом, для улучшения результатов лечения больных ДВКЛ необходимы новые стратегии, которые позволят предложить препараты, влияющие на конкретные онкогенные механизмы. Ис-

следование профилей генной экспрессии при лимфомах представляется одним из первых молекулярных подходов, с помощью которого можно разделить опухоли, находящиеся в пределах одной иммуноморфологической категории. Это позволяет предоставить патогенетические и прогностические характеристики разных типов лимфом, в т. ч. лимфомы Беркитта, фолликулярной, из клеток мантийной зоны и др. Анализ профилей генной экспрессии приводит к открытию онкогенных путей, которые могут быть потенциальными мишенями при лечении различных видов лимфом.

Значимым достижением последних лет является открытие новых эпигенетических регуляторов генной экспрессии, к которым относятся микроРНК. Определенный спектр этих молекул может маркировать опухоли разного типа и устанавливать их клинические особенности. В связи с этим микроРНК активно изучаются с помощью полногеномных методов исследования. Кроме того, способность микроРНК блокировать экспрессию некоторых генов с помощью РНК-интерференции делает их вероятными кандидатами на роль лекарственных таргетных препаратов, которые будут использоваться в клинической онкологии. В результате полногеномного скрининга микроРНК и РНК-интерференции стала возможна функциональная оценка различных онкогенных путей, что способствовало идентификации конкретных генов, необходимых для роста и выживания клеток лимфомы [8].

Показано, что развитие ABC-подтипа ДВКЛ зависит от конститутивной активации В-клеточного рецептора (BCR) и/или сигнального пути NF-κB. Кроме того, активация происходит вследствие частых соматических мутаций генов, кодирующих белки, составляющие эти пути, в т. ч. *CD79A/B, CARD11, MYD88* и *TNFAIP3* [9]. В качестве ключевого этапа был идентифицирован адаптерный белок CARD11 (семейство каспаз с рекрутированным доменом 11), который участвует в переключении сигналов с BCR на активацию сигнального пути NF-κB [10].

Активирующие мутации в *CARD11* или в нижерасположенных компонентах пути NF-κB могут привести к активации самого NF-κB независимо от BCR, что объясняет устойчивость некоторых лимфом к ингибиторам BCR-сигналинга, таким как ибрутиниб или иделалисиб [11]. Ибрутиниб, мишенью которого является тирозинкиназа Брутона, и иделалисиб, который воздействует на фосфатидилинозитол-3-киназу дельта (PI3Kδ), показали значительную клиническую активность у большинства пациентов с лимфоцитарной лимфомой/хроническим лимфолейкозом и лимфомой из клеток мантийной зоны, но оказались малоэффективными при ABC-подтипе ДВКЛ в результате активирующих мутаций в *CARD11* [12].

Другим революционным методом, позволившим направить молекулярно-генетические достижения в область клинического применения, является секвенирование нового поколения (NGS — Next Generation Sequencing), с помощью которого в одной пробирке можно анализировать от нескольких десятков до нескольких сотен генов, имеющих повышенную частоту мутаций в опухолях. Исследование мутаций в опухолевом геноме имеет как научный, так и практический выход, позволяя выявлять мутации, значимые для патогенеза опухоли, и использовать их в качестве маркера, ассоциированного с клиническим течением, и в качестве мишеней для разработки новых лекарственных агентов [5]. Наиболее полная молекулярная оценка генетики лимфом получена при полногеномном секвенировании всех кодирующих последовательностей (экзома) методом высокопроизводительного параллельного секвенирования следующего поколения (ExoME–NGS). Исследования ExoME–NGS были выполнены для каждого из основных иммуноморфологических подтипов лимфом: ДВКЛ, Беркитта, фолликулярной, из клеток мантийной зоны, маргинальной зоны селезенки и периферической Т-клеточной [1].

С помощью метода NGS удалось показать, что все подтипы лимфом имеют обогащение мутациями в генах, связанных с эпигенетической регуляцией и ремоделированием хроматина, таких как *MLL2, CREBBP, EP300, EZH2* (табл. 1) [13].

Конформация хроматина играет важную роль в регуляции генной экспрессии посредством изменения структуры и модификации гистоновых белков. Ацетилирование и деацетилирование гистонов регулируют два класса ферментов: гистонацетилтрансферазы (HAT) и гистондеацетилазы (HDAC). Изменение их активности приводит к появлению химических модификаций гистоновых белков, что способствует формированию плотной неактивной хроматиновой конформации. Такая конформация напрямую связана с эпигенетической инактивацией (гетерохроматиновым молчанием) опухолевых супрессоров и генов, участвующих в процессах дифференцировки, а следовательно, вносит свой вклад в канцерогенез [14]. Мутации и делеции генов *CREBBP* и *EP300*, выявленные у большинства пациентов с ДВКЛ и фолликулярной лимфомой, обычно происходят в одном из гомологов и являются моноаллельными. При этом возникает гаплонедостаточность белкового продукта, которая позволяет сдвинуть баланс в сторону деацетилирования гистонов и вызывает инактивацию

Таблица 1. Гены эпигенетической регуляции и ремоделирования хроматина и мутации в них при различных типах лимфом

Маркер	Биологическая функция	Тип повреждения	Метод выявления	Тип лимфомы	Таргетный агент
CREBBP, EP300	Гистонацетилтрансфераза	Мутация/делеция	NGS	ДВКЛ, ФЛ	HDAC-ингибитор
EZH2	H3K27-метилтрансфереза	Мутация Y641	NGS	GCB-тип ДВКЛ, ФЛ	EZH2-ингибитор
IDH2	Метаболический фермент	Мутации R172, R140	NGS	АИТЛ, ПТКЛ неуточненная	Ингибитор мутантного IDH2
CARD11	Переключение с BCR на активацию NF-κB	Мутации	NGS	ABC-тип ДВКЛ	MALT1-ингибитор
MYD88	Переключение с TLR на активацию NF-κB	Мутация L265P	NGS	ABC-тип ДВКЛ	IRAK1/4-ингибитор
TNFAIP3	Ингибитор активации NF-κB	Мутация/делеция	NGS	ABC-тип ДВКЛ	Протеасомные ингибиторы (бортезомиб, карфилзомиб)

ABC — активированный тип; BCR — В-клеточный рецептор; GCB — герминальный тип; HDAC — гистондеацетилаза; NGS — секвенирование нового поколения; TLR — Toll-подобный рецептор; АИТЛ — ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома; ПТКЛ — периферическая Т-клеточная лимфома; ФЛ — фолликулярная лимфома.

экспрессии ряда генов [15]. И хотя влияние этих мутаций на глобальное ацетилирование гистонов и хроматинную структуру пока не определено окончательно, гены *CREBBP* и *EP300* участвуют в ацетилировании многих негистоновых белков, таких как TP53 и BCL6, что приводит к модификации их функции. Показано, что ацетилирование TP53 стабилизирует и активирует его функцию, в то время как ацетилирование BCL6 приводит к его инактивации. Функциональные исследования мутаций в генах *CREBBP* и *EP300* выявили их влияние на TP53 и BCL6, что может способствовать развитию лимфом [15]. Благодаря участию HAT и HDAC в канцерогенезе ингибиторы этих ферментов служат потенциальными противоопухолевыми агентами. В нескольких клинических исследованиях были изучены различные ингибиторы HDAC у пациентов с ДВКЛ и другими вариантами лимфом. Интересно, что показатели ответа на терапию, как правило, находились в диапазоне 20–30 %, что согласуется с частотой мутаций в гене HAT, выявленных у пациентов [16].

Ранее было обнаружено, что активное участие в регуляции клеточной дифференцировки принимают белки группы поликомб (polycomb-repressor complexes, PRC). Эти белки способны модифицировать и ремоделировать хроматин таким образом, что транскрипционные факторы не имеют возможности связываться с промоторными последовательностями ДНК, приводя к инактивации экспрессии генов. Один из наиболее изученных белков этой группы — EZH2 (enhancer of zeste homolog 2), который является метилтрансферазой, катализирующей триметилирование гистона H3 по лизину 27. Такая модификация запускает PRC-опосредованную эпигенетическую инактивацию через образование неактивного компактного хроматина или через вмешательство регуляторов транскрипции. Белок EZH2 совместно с BCL6 играет важную роль в нормальной регуляции развития B-лимфоцитов. Соматические мутации в гене *EZH2* были определены в 20 % случаев ДВКЛ GCB-типа и при фолликулярной лимфоме. Мутация белка EZH2 происходит при замене тирозина в кодоне 641 на фенилаланин (Y641F) или аргинин (Y641N), приводя к изменению функции белка. В результате имеет место активация триметилирования гистона H3 по лизину (H3K27) и репрессия (подавление функции) таргетного гена *PRC2* [17]. Экспрессия мутантного EZH2 Y641N у мышей приводит к гиперплазии в зародышевом центре и ускоренному лимфомогенезу. Разработаны специфические ингибиторы для EZH2, которые способны блокировать как мутантные формы фермента, так и формы дикого типа [18]. Сегодня доклинические наблюдения дали начало клиническим исследованиям двух ингибиторов EZH2 (E743875 и GSK281612676) у пациентов с рецидивами ДВКЛ или фолликулярной лимфомы. Для этих исследований в настоящее время проводится регистрация пациентов, поэтому результаты, скорее всего, не будут доступны в течение нескольких лет.

Мутации в гене изоцитратдегидрогеназы-2 (*IDH2*) были идентифицированы при ряде злокачественных опухолей, в т. ч. низкодифференцированной глиоме, вторичной глиобластоме, острых миелоидных лейкозах, хондросаркоме, холангиокарциноме, а также в двух подтипах периферических Т-клеточных лимфом: ангиоиммунобластной Т-клеточной и периферической Т-клеточной неуточненной [17, 19]. IDH2 является компонентом цикла Кребса, который обычно катализирует превращение изоцитрата в α-кетоглутарат (α-КГ), важный промежуточный метаболический медиатор для нескольких ферментов, участвующих в эпигенетической регуляции экспрессии генов и адаптации к гипоксии. Мутация, связанная с развитием опухоли, происходит в активном центре IDH2 и изменяет функцию белка, способствуя превращению α-КГ в связанный 2-гидроксиглутарат (2Hg), который является онкометаболитом. Последний конкурентно ингибирует функцию α-КГ-зависимых ферментов и приводит к появлению репрессивной модификации хроматина с блокадой клеточной дифференцировки. Ингибиторы мутантных ферментов IDH2 продемонстрировали многообещающие результаты при испытаниях на мышиных моделях и в культурах лейкозных клеток человека, несущих мутации *IDH2* [20].

Использование высокотехнологичных полногеномных методов исследования показало, что мутации некоторых генов представлены во всех типах лимфом. Тем не менее можно выделить определенный мутационный спектр для каждого иммуноморфологического варианта. Это подтверждает предположение, что к возникновению разных типов лимфом могут приводить различные онкогенные механизмы. Оба подтипа ДВКЛ (GCB и ABC) имеют высокую частоту мутаций в генах, участвующих в осуществлении иммунного ответа (*B2M* и *CD58*), модификации хроматина (*MLL2, CREBBP* и *EP300*), регуляции активности B-клеточного лимфомного белка 6 (*BCL6*), клеточного цикла или апоптоза (*FOXO1* и *TP53*) [15]. Исследования NGS показали, что для ABC-подтипа ДКВЛ характерно обогащение мутациями в генах сигнальных путей BCR и NF-κB. Однако эти мутации присутствовали и в других типах B-клеточных лимфом, хотя значительно реже. В результате проведенных NGS-исследований определено, что мутации в генах *EZH2*, *GNA13* и *SGK1* характерны для GCB-подтипа ДВКЛ [21], а мутации в *ID3* и *TCF3* — для лимфомы Беркитта, что объясняет зависимость этого подтипа лимфомы от активации сигнального пути PI3K/AKT/mTOR [22]. Для лимфомы из клеток мантийной зоны характерны мутации в генах, участвующих в регуляции клеточного цикла и апоптоза, таких как *CCND1*, *ATM* и *TP53*. Однако для этого типа лимфомы были выявлены дополнительные мутации в генах *NOTCH1, NOTCH2, MLL2, WHSC1* и *BIRC3* [23].

Сигнальный путь Notch регулирует эмбриогенез и поддержание гомеостаза практически всех тканей и органов человека. Его действие во многом зависит от клеточного контекста. При одних условиях он может стимулировать пролиферацию клеток, при других — апоптоз или дифференцировку. Генетический анализ лимфомы маргинальной зоны селезенки привел к идентификации частых мутаций в гене *NOTCH2*, вызывающих активацию сигнального пути Notch. Они определены в 20–25 % случаев, что подтверждает важную роль белка NOTCH2 в регуляции развития и дифференцировки B-клеток маргинальной зоны селезенки [24]. *NOTCH1*-активирующие мутации в кодоне 2515 были обнаружены у 31 % пациентов с ДВКЛ [25].

Определение спектра молекулярных изменений в геноме опухолей является важным результатом NGS-исследований. С одной стороны, выявлены уникальные сочетания геномных изменений, характерных для определенного типа лимфомы [26]. С другой стороны, идентифицировано огромное количество соматических мутаций в генах, биологическая роль которых в патогенезе лимфом

еще не до конца ясна. Полученные результаты имеют большое значение, поскольку позволяют выделить мутации, которые служат ключевыми драйверами (водителями) в патогенезе лимфом. Мутации, которые связаны с изменением ферментативной активности или непосредственно участвуют в передаче сигнала, представляются достаточно привлекательными для использования их в качестве терапевтических мишеней.

В последние годы появилось два новых лекарственных средства: ибрутиниб, мишенью которого является тирозинкиназа Брутона, и иделалисиб, мишенью которого является фосфатидилинозитол-3-киназа дельта (PI3Kδ). Эти препараты показали значительную клиническую эффективность у большинства пациентов с лимфоцитарной лимфомой /хроническим лимфолейкозом и лимфомой из клеток мантийной зоны. Возникла необходимость определить биомаркеры для идентификации пациентов, устойчивых к лечению этими препаратами. У пациентов с лимфомой мантийной зоны были определены мутации в генах, кодирующих компоненты сигнального пути BCR, но иногда этот путь оказывался активированным без дополнительных активирующих мутаций в его компонентах. Ингибитор тирозинкиназы Брутона — ибрутиниб, получивший одобрение FDA (Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США) для лечения рецидивов и рефрактерной лимфомы из клеток мантийной зоны, после II фазы исследований демонстрировал частоту общего ответа у 68 % пациентов, а полный ответ — у 24 %, при средней его продолжительности 17,5 мес. [12]. Тирозинкиназа Брутона функционирует как проксимальная киназа, передающая сигнал от BCR. Чувствительность пациентов с лимфомой из клеток мантийной зоны к ибрутинибу предполагает, что активация этого пути происходит при канцерогенезе лимфомы из клеток мантийной зоны. Для понимания механизмов, лежащих в основе чувствительности или устойчивости к ибрутинибу или сотрастаурину (ингибитору протеинкиназы С), были проведены исследования 10 клеточных линий лимфомы. Оказалось, что 4 клеточных линии были чувствительны к действию обоих препаратов, а 6 — устойчивы. Биохимические анализы чувствительных клеточных линий показали конститутивную активацию классического пути NF-κB, а в устойчивых клеточных линиях определена конститутивная активация альтернативного пути NF-κB (рис. 1). Эти клеточные линии оказались устойчивыми к ингибированию NF-κB-индуцирующей киназы (NIK; кодируется геном MAP3K14), которая расположена выше по альтернативному пути NF-κB.

В устойчивых клеточных линиях выявили нонсенс-мутацию в гене *TRAF2* и гомозиготную делецию в гене *TRAF3*. Секвенирование образцов, полученных от пациентов с мантийноклеточной лимфомой (МКЛ), подтвердило наличие мутации в компонентах альтернативного пути NF-κB, в т. ч. *BIRC3* в 9,7 % случаев, *TRAF2* — в 6,1 % и *MAP3K14* — в 1,2 % [27]. Исследования показали, что мутации в *BIRC3* могут привести к активации альтернативного пути NF-κB в клеточных линиях МКЛ. Примерно у 15 % пациентов с МКЛ выявляют мутации в компонентах альтернативного пути NF-κB, что объясняет резистентность к ибрутинибу [12]. Однако они свидетельствуют, что определение мутаций в *BIRC3, TRAF2* и *MAP3K14* можно использовать в качестве маркеров резистентности к ибрутинибу и чувствительности к NIK-

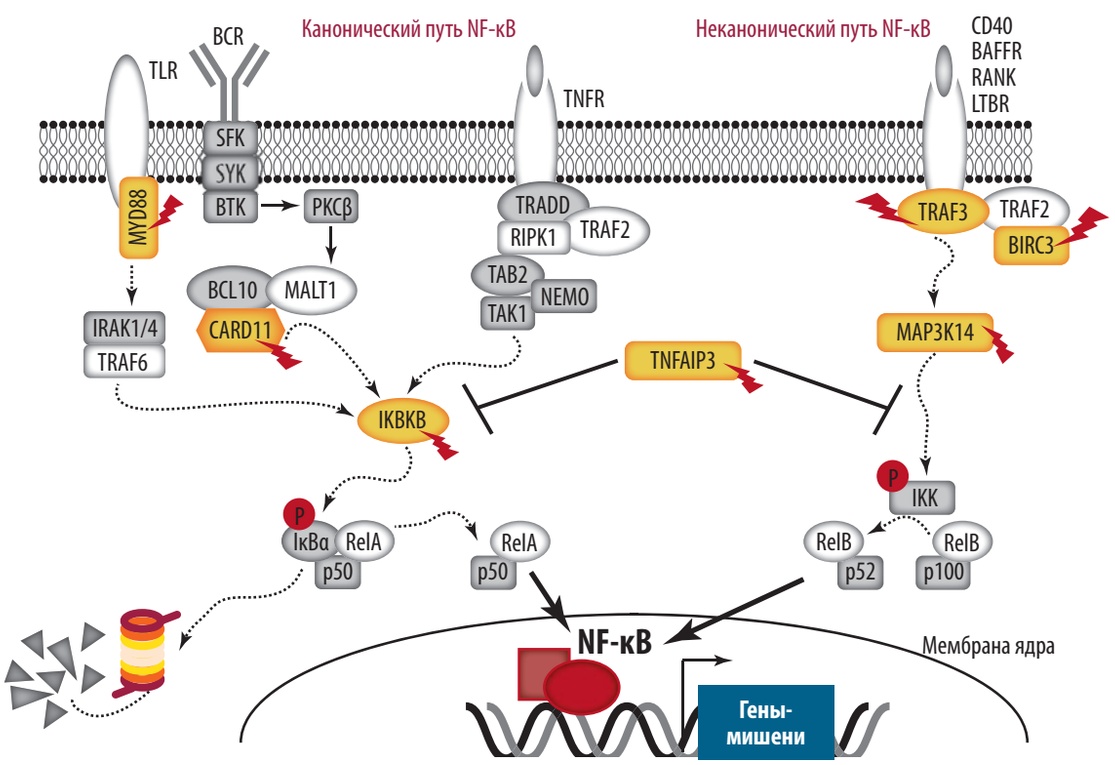

Рис. 1. Сигнальные пути, активированные при развитии различных типов лимфом. Желтым цветом отмечены белки, в генах которых определены мутации при разных типах лимфом (цит. по [30])

Fig. 1. Signaling pathways activated in different lymphomas. Proteins in whose genes mutations in different types of lymphomas are detected are marked with yellow (cited according to [30])

ингибитору, но эти данные должны быть подтверждены в проспективных клинических исследованиях.

Тем не менее уже сегодня ясно, что использование таргетных препаратов имеет некоторые ограничения. Неоднородность опухолей представляет собой потенциальное ограничение для использования биомаркеров и таргетных препаратов. Лимфоидные злокачественные опухоли, так же как и другие новообразования, состоят из нескольких клонов клеток, которые имеют собственный мутационный профиль [28, 29]. Определение конкретной мутации в качестве биологического маркера эффективности действия таргетного препарата может привести к игнорированию этой мутации, если она представлена в небольшом количестве клеток, или, наоборот, к размножению более агрессивного клеточного клона в результате направленного подавления клона с мутацией. Таким образом, клональная гетерогенность опухоли у конкретных пациентов может влиять на исход лечебного воздействия. Кроме того, свойство опухолевой клетки приспосабливаться к действию определенных препаратов и активировать другие альтернативные сигнальные пути приведет к тому, что эффективное применение современных таргетных средств будет ограничено коротким временны́м промежутком. В результате потребуется частая смена большого числа препаратов для их эффективной работы. Уже в настоящее время проводятся исследования комбинированного воздействия нескольких таргетных препаратов для лечения пациентов с лимфомами. Достаточно важен подбор препаратов, которые имеют синергическое влияние и не обладают комбинированной токсичностью.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа не имела спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: все авторы.
Сбор и обработка данных: все авторы.
Предоставление материалов исследования: все авторы.
Анализ и интерпретация данных: все авторы.
Подготовка рукописи: все авторы.
Окончательное одобрение рукописи: все авторы.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Intlekofer AM, Younes A. Precision therapy for lymphoma—current state and future directions. Nat Rev Clin Oncol. 2014;11(10):585–96. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.137.

2. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma—treatment approaches in the molecular era. Nat Rev Clin Oncol. 2014;11(1):12–23. doi: 10.1038/nrclinonc.2013.197.

3. Borchmann P, Eichenauer DA, Engert A. State of the art in the treatment of Hodgkin lymphoma. Nat Rev Clin Oncol. 2012;9(8):450–9. doi: 10.1038/nrclinonc.2012.91.

4. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Blood. 2011;117(19):5019–32. doi: 10.1182/blood-2011-01-293050.

5. Немцова М.В., Кушлинский Н.Е. Достижения высокотехнологичных геномных методов для практической онкологии. Медицинский алфавит. 2015;1(2):10–3.

[Nemtsova MV, Kushlinskii NE. The achievement of high-genomic methods for practical oncology. Meditsinskii alfavit. 2015;1(2):10–3. (In Russ)]

6. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. Nature. 2000;403(6769):503–11. doi: 10.1038/35000501.

7. Lenz G, Dave SS, Xiao W, et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. N Engl J Med. 2008;359(22):2313–23. doi: 10.1056/NEJMoa0802885.

8. Ngo VN, Davis RE, Lamy L, et al. A loss-of-function RNA interference screen for molecular targets in cancer. Nature. 2006;441(7089):106–10. doi: 10.1038/nature04687.

9. 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(7247):717–21. doi: 10.1038/nature07968.

10. Lenz G, Davis RE, Ngo VN, et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. Science. 2008;319(5870):1676–9. doi: 10.1126/science.1153629.

11. Wilson WH. The Bruton's tyrosine kinase (BTK) inhibitor, ibrutinib (PCI-32765), has preferential activity in the ABC subtype of relapsed/refractory de novo diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): interim results of a multicentre, open-label, phase 2 study. Blood. 2012;120: Abstract 686.

12. Wang ML, Rule S, Martin P, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. N Engl J Med. 2013;369(6):507–16. doi: 10.1056/NEJMoa1306220.

13. Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. Nature. 2011;476(7360):298–303. doi: 10.1038/nature10351.

14. Chi P, Allis CD, Wang GG. Covalent histone modifications—miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. Nat Rev Cancer. 2010;10(7):457–69. doi: 10.1038/nrc2876.

15. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. Nature. 2011;471(7337):189–95. doi: 10.1038/nature09730.

16. Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. J Clin Oncol. 2009;27(32):5459–68. doi: 10.1200/jco.2009.22.1291.

17. Yap DB, Chu J, Berg T, et al. Somatic mutations at EZH2 Y641 act dominantly through a mechanism of selectively altered PRC2 catalytic activity, to increase H3K27 trimethylation. Blood. 2011;117(8):2451–9. doi: 10.1182/blood-2010-11-321208.

18. Beguelin W, Popovic R, Teater M, et al. EZH2 is required for germinal centre formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. Cancer Cell. 2013;23(5):677–92. doi: 10.1016/j.ccr.2013.04.011.

19. Cairns RA, Iqbal J, Lemonnier F, et al. IDH2 mutations are frequent in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. Blood. 2012;119(8):1901–3. doi: 10.1182/blood-2011-11-391748.

20. Wang F, Travins J, DeLaBarre B, et al. Targeted inhibition of mutant IDH2 in leukemia cells induces cellular differentiation. Science. 2013;340(6132):622–6. doi: 10.1126/science.1234769.

21. Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. Cell Rep., 2014;6(1):130–40. doi: 10.1016/j.celrep.2013.12.027.

22. Schmitz R, Young RM, Ceribelli M, et al. Burkitt lymphoma pathogenesis and therapeutic targets from structural and functional genomics. Nature. 2012;490(7418):116–20. doi: 10.1038/nature11378.

23. Bea S, Valdes-Mas R, Navarro A, et al. Landscape of somatic mutations and clonal evolution in mantle cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA. 2013;110(45):18250–5. doi: 10.1073/pnas.1314608110.

24. Rossi D, Trifonov V, Fangazio M, et al. The coding genome of splenic marginal zone lymphoma: activation of NOTCH2 and other pathways regulating marginal zone development. J Exp Med. 2012;209(9):1537–51. doi: 10.1084/jem.20120904.

25. Новикова М.В., Рыбко В.А., Хромова Н.В. и др. Роль белков Notch в процессах канцерогенеза. Успехи молекулярной онкологии. 2015;2(3):30–42. doi: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-30-42.

[Novikova MV, Rybko VA, Khromova NV, et al. The role of Notch pathway in carcinogenesis. Advances in molecular oncology. 2015;2(3):30–42. doi: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-30-42. (In Russ)]

26. Zhang J, Grubor V, Love CL, et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA. 2013;110(4):1398–403. doi: 10.1073/pnas.1205299110.

27. Rahal R, Frick M, Romero R, et al. Pharmacological and genomic profiling identifies NF-kappaB-targeted treatment strategies for mantle cell lymphoma. Nat Med. 2014;20(1):87–92. doi: 10.1038/nm.3435.

28. Anderson K, Lutz C, van Delft FW, et al. Genetic variegation of clonal architecture and propagating cells in leukaemia. Nature. 2011;469(7330):356–61. doi: 10.1038/nature09650.

29. Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. Nature. 2012;481(7382):506–10. doi: 10.1038/nature10738.

30. Arcaini L, Rossi D. Nuclear Factor-κB Dysregulation In Splenic Marginal Zone Lymphoma: New Therapeutic Opportunities. Haematologica. 2012;97(5):638–40. doi: 10.3324/haematol.2011.058362.