

Роль экспрессии генов *c-MYC*, *BCL2* и *BCL6* в патогенезе диффузной В-крупноклеточной лимфомы

А.Е. Мисюрина¹, В.А. Мисюрин², Е.А. Барях¹,
А.М. Ковригина¹, С.К. Кравченко¹

¹ ФГБУ «Гематологический научный центр» МЗ РФ, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

² ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Каширское ш., д. 24, Москва, Российская Федерация, 115478

РЕФЕРАТ

Согласно современным представлениям, опирающимся на результаты исследования профиля экспрессии генов, существует несколько подтипов диффузной В-крупноклеточной лимфомы (ДВКЛ): из В-клеток герминативного центра и из активированных В-клеток. Гены *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* являются ключевыми регуляторами развития В-лимфоцитов на уровне герминальной (фолликулярной) дифференцировки. В патогенезе ДВКЛ наиболее часто играют роль генетические аномалии с их участием. От общего уровня активности и механизмов, приводящих к гиперэкспрессии каждого из этих генов и продукции соответствующих белков, зависит прогноз заболевания. Не исключено, что определение аномалий генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2*, а также количественных параметров экспрессии кодируемых ими белков позволит с высокой вероятностью выделять группы риска среди больных ДВКЛ.

Ключевые слова: диффузная В-крупноклеточная лимфома, молекулярные подтипы, группы риска, *c-MYC*, *BCL6*, *BCL2*.

Принято в печать: 8 сентября 2014 г.

Для переписки: А.Е. Мисюрина, аспирант, Новый Зыковский проезд, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167; e-mail: anna.lukina1@gmail.com

Для цитирования: Мисюрина А.Е., Мисюрин В.А., Барях Е.А., Ковригина А.М., Кравченко С.К. Роль экспрессии генов *c-MYC*, *BCL2* и *BCL6* в патогенезе диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Клин. онкогематол. 2014; 7(4): 512–521.

Role of *c-MYC*, *BCL2*, and *BCL6* Expression in Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma

А.Е. Мисюрина¹, В.А. Мисюрин², Е.А. Барях¹,
А.М. Ковригина¹, С.К. Кравченко¹

¹ Hematology Research Center under the Ministry of Health of the Russian Federation, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

² N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 24 Kashirskoye sh., Moscow, Russian Federation, 115478

ABSTRACT

According to modern concepts based on results of examination of the gene expression profile examination, there are several subtypes of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): germinal center B-cell-like (GCB) and activated B-cell-like (ABC) lymphomas. Genes *c-MYC*, *BCL6*, and *BCL2* are key regulators of B-cell germinal (follicular) differentiation. Genetic abnormalities with their participation are most common in molecular pathogenesis of DLBCL. A total level of activity as well as mechanisms that lead to overexpression each of these genes and production of corresponding proteins have an impact on a disease prognosis. We assume that identification of *c-MYC*, *BCL6*, and *BCL2* genes abnormalities as well as expression levels evaluation of encoded proteins can allow to determine high risk DLBCL patients with great accuracy.

Keywords: diffuse large B-cell lymphoma, molecular subtypes, risk groups, *c-MYC*, *BCL6*, *BCL2*.

Accepted: September 8, 2014

For correspondence: А.Е. Мисюрина, Graduate student, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167; e-mail: anna.lukina1@gmail.com

For citation: Мисюрина А.Е., Мисюрин В.А., Барях Е.А., Ковригина А.М., Кравченко С.К. Role of *c-MYC*, *BCL2*, and *BCL6* Expression in Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Klin. Onkogematol.* 2014; 7(4): 512–521 (In Russ.).

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) составляет 40 % всех неходжкинских лимфом взрослых. Согласно определению в классификации опухолей кроветворной и лимфоидной тканей Всемирной организации здравоохранения 2008 г., под нозологической формой ДВКЛ объединены опухоли, представленные крупными В-клетками, размер ядра которых сопоставим с таковым макрофага либо в 2 раза превышает размер ядра лимфоцита и имеющие диффузный характер роста [1]. В рамках группы ДВКЛ выявляется гетерогенность по многим признакам: морфологическим, иммунофенотипическим, молекулярно-генетическим, а также по ответу на противоопухолевое лечение. Среди факторов прогноза принято учитывать международный прогностический индекс (IPI), гистологический вариант ДВКЛ, наличие хромосомных поломок с вовлечением ключевых генов, регулирующих дифференцировку и созревание В-лимфоцитов.

В настоящее время сформирована точка зрения, согласно которой патогенез и клинические проявления В-клеточных лимфом в целом и ДВКЛ в частности напрямую связаны с биологическими характеристиками так называемых неопухолевых аналогов, т. е. нормальных В-клеток. Молекулярные процессы, происходящие на различных стадиях развития нормальных В-клеток, интенсивно изучаются на протяжении последних 15 лет [2–8]. Так, при сравнении профиля экспрессии генов в клетках В-крупноклеточной лимфомы, наивных В-клетках, активированных В-клетках, В-клетках центра фолликулов и В-клетках памяти были выделены молекулярные подтипы ДВКЛ из клеток герминативного центра (GCB) и из активированных В-клеток (ABC) [2, 4, 8]. Данное разделение коррелирует с прогнозом заболевания. Так, при применении химиотерапии по схеме R-CHOP общая 5-летняя выживаемость в группе GCB статистически значимо выше (60 vs 30 % соответственно) [2–9].

Настоящий обзор посвящен молекулярным аспектам развития ДВКЛ, роли генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* в норме, взаимодействия их с другими регуляторными факторами, ответственными за созревание В-лимфоцитов. Кроме того, остановимся на клинической значимости нарушений регуляции этих генов и кодируемых ими белков. Прежде чем рассмотреть свойства генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2*, необходимо в целом охарактеризовать молекулярные этапы дифференцировки В-клеток и их функции.

НОРМАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА В-ЛИМФОЦИТОВ

В норме В-лимфоцит развивается из клетки-предшественницы, находящейся в костном мозге. Наиболее ранние из идентифицируемых В-клеток называются про-В-лимфоцитами, и для них характерна реаранжировка (слияние, сопровождающееся потерей промежуточных участков ДНК) D- и J-участков гена, кодирующего тяжелую цепь иммуноглобулина (Ig) [10]. Далее про-В-клетка приобретает специфические маркеры и дифференцируется в пре-В-лимфоцит. В геноме пре-В-клетки участок V-гена тяжелых цепей Ig сливается со структурой DJ, образованной на предыдущем этапе развития лимфоцита. Подвергаются «редактированию» гены, кодирующие легкие цепи Ig (κ - или λ -цепи), что позволяет пре-В-клетке превратиться в неактивированный (или

незрелый) В-лимфоцит с экспрессией полноценного поверхностного IgM [11, 12]. Известно, что для предотвращения аутоиммунных реакций незрелая IgM-позитивная В-клетка уничтожается путем апоптоза, если ее IgM распознает собственные антигены, экспрессируемые клетками стромы костного мозга. В то же время В-лимфоцит может избежать гибели путем апоптоза, пройдя процесс так называемого редактирования рецептора, при котором происходит повторная реаранжировка переменных участков генов легких цепей до тех пор, пока рецептор не потеряет специфичность к собственным антигенам.

Дальнейшее развитие В-лимфоцит проходит вне костного мозга. В-клетка циркулирует в кровяном русле и посредством хемотаксиса может быть привлечена в очаг инфекции, где вступает в контакт с антигенпрезентирующими клетками. В случае успешного распознавания чужеродного антигена В-лимфоцит активируется и превращается в плазматическую клетку, экспрессирующую IgM, направленный против чужеродного антигена [13].

Интересен феномен «созревания аффинности» антитела, при котором активированная IgM-позитивная В-клетка мигрирует во вторичные лимфоидные органы [14]. Достигнув лимфоидного органа, активированная В-клетка, получив специфические сигналы от Т-лимфоцита, активно пролиферирует, формируя так называемый герминативный центр из множества собственных клонов. Находясь в постоянном контакте с фолликулярной дендритной клеткой, презентующей антиген, клоны В-лимфоцита (на данной стадии их называют центробластами) запускают процесс соматической гипермутации переменных участков генов, кодирующих тяжелые цепи Ig [15]. Те В-клетки, у которых в результате гипермутаций Ig приобретает способность связываться с презентированным антигеном с еще более высокой аффинностью, выживают и пролиферируют дальше. Участок зародышевого (герминативного) центра фолликула с преобладанием центробластов, где происходит клональная экспансия и соматический гипермутагенез, на гистологических препаратах приобретает наиболее темную окраску, и потому его называют темной зоной зародышевого центра [16].

Пройдя клональную экспансию и гипермутагенез, центробласты формируют так называемую светлую зону герминативного центра. В-лимфоцит многократно циркулирует между темной и светлой зоной зародышевого центра для приобретения множества соматических гипермутаций, что приводит к формированию высокоаффинного В-клеточного рецептора (BCR). Кроме того, в зародышевом центре фолликула происходит процесс переключения класса антител. Сигналы к переключению центробласт получает от Т-клеток и производит еще одну реаранжировку генов, кодирующих Ig. В результате повторной реаранжировки созревший В-лимфоцит, так называемый центроцит, утрачивает способность продуцировать Ig класса M, но начинает экспрессировать какой-либо Ig класса G, A или E [17]. В процессе терминальной дифференцировки В-лимфоцит превращается в плазматическую клетку, не имеющую на своей поверхности Ig, но продуцирующую его растворимую форму [18].

Таким образом, на многих этапах развития В-лимфоцита его гены, кодирующие легкие и тяжелые цепи Ig, подвергаются «редактированию». Предполагается, что именно по этой причине хромосомные перестройки наблюдаются при В-клеточных лимфомах часто.

Слияние V-, D- и J-фрагментов, «редактирование» рецептора и переключение класса антител осуществляются под контролем белков RAG1 (recombination-activating gene 1) и RAG2. Для В-клеток характерно также присутствие уникального фермента TdT (терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза), ответственного за нематричное, т. е. случайное, введение нуклеотидов в разорванные участки ДНК [19]. Результатом работы этих ферментов становятся неустраняемые изменения в генах, кодирующих тяжелые и легкие цепи Ig В-клетки. Поскольку системы репарации ДНК очень чувствительны, они могут распознать вносимые RAG1 и RAG2 разрывы как нежелательные повреждения и начать работу по их устранению [20]. Развитие адаптивного иммунного ответа является жизненно необходимой функцией, в связи с чем клетка включает механизмы для временной инактивации систем репарации ДНК и запуска апоптоза во время подготовки лимфоцита к экспрессии нужного Ig. Гены *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* играют решающую роль в этих процессах и позволяют В-лимфоциту нормально функционировать во время его многостадийного процесса созревания (рис. 1). В качестве возможного механизма возникновения перестроек, приводящих к дисфункции генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* при ДВКЛ, указывают на активность белков RAG1 и RAG2 [21].

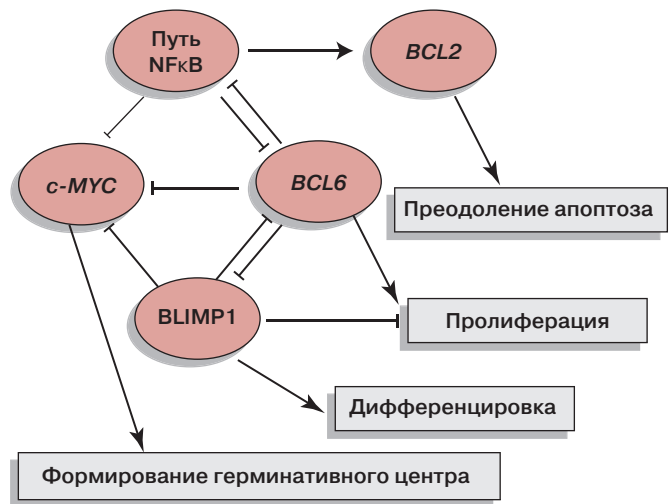


Рис. 1. Схема прямых и опосредованных взаимосвязей между генами *c-MYC*, *BCL6*, *BCL2* и ключевыми процессами развития В-лимфоцита

БИОЛОГИЯ ГЕНА *c-MYC* И ЕГО РОЛЬ В РАЗВИТИИ В-ЛИМФОЦИТА

Ген *c-MYC* расположен на хромосоме 8. Кодированный белок MYC имеет α -спиральную многодоменную структуру, в которой выделены участки связывания с ДНК и другими белками. MYC имеет рецептор ядерной локализации, за счет чего он всегда находится в клеточном ядре. В составе функционально активного белка также имеется специальный домен, который позволяет MYC образовывать как гомодимеры (MYC/MYC), так и гетеродимеры (например, MYC/MAX). Для нормального функционирования белок MYC должен быть фосфорилирован [22].

Отмечено, что в норме этот белок присутствует в клетках всех типов тканей, где осуществляет регуляторные функции. Основная функция MYC — модуляция экспрессии генов. Считается, что под непосредственным контролем *c-MYC* находится экспрессия около 15 % всего человеческого генома [23].

Механизм MYC-опосредованной регуляции активности генов достаточно прост. Комплекс MYC/MYC либо димер MYC/MAX специфически присоединяются к промоторной области гена. Присоединяясь к ДНК, комплекс приобретает сродство к гистонацетилазе НАТ1. НАТ1 вводят в гистоны остаток уксусной кислоты, за счет чего они приобретают отрицательный заряд и отталкиваются друг от друга, что облегчает последующую транскрипцию гена [24].

Комплекс MYC/MAX может диссоциировать, причем в димере наблюдается замена субъединицы MYC на MAD с образованием MAD/MAX. Данный комплекс остается закрепленным на молекуле ДНК на том же сайте связывания, где перед этим находился димер MYC/MAX. Однако MAD/MAX не имеет сродства к НАТ1, которые немедленно диссоциируют [22, 23]. Таким образом, теряется ранее созданный димером MYC/MAX эффект локального расплетания ДНК и экспрессия целевого гена прекращается.

Белок MYC может также подавлять экспрессию генов, в промоторах которых имеется последовательность E-boxes (белок-связывающий мотив ДНК CANNTG, где N — любой нуклеотид). Присоединяясь к промоторам, содержащим E-boxes, MYC образует сначала комплекс MYC/MAX, затем формируется комплекс MAD/MAX, привлекающий гистондеацетилазы (histone deacetylases, HDAC), которые модифицируют гистоны, отщепляя от них заряженную ацетогруппу. Лишившись заряда, гистоны больше не отталкиваются друг от друга и затрудняют транскрипцию генов [25].

В целом MYC играет важную роль в пролиферации клетки, т. к. контролирует экспрессию генов, кодирующих факторы клеточного цикла. MYC обеспечивает переход из G_{0/1}-фазы клеточного цикла в S-фазу, активируя прямо или косвенно экспрессию CCND2 и CDK, и подавляет экспрессию ингибиторов клеточного цикла [26–28]. Кроме того, при участии MYC в клетке останавливается апоптоз, вызванный белком p53. В частности, MYC опосредованно инактивирует факторы p21 и p27, которые стимулируют клеточный арест в фазе G₁ [24, 27].

Генетический профиль транскрибируемых под контролем MYC генов варьирует между различными клеточными типами в связи с тем, что MYC усиливает транскрипцию только активных генов, не связываясь с промоторами молчащих генов [29, 30]. Эта функция MYC имеет значение для понимания повышенной агрессивности опухолей, несущих кроме перестройки гена *c-MYC* дополнительные генетические поломки.

Остановимся на влиянии белка MYC на процессы, происходящие в герминативном центре. В норме экспрессия MYC зрелыми В-клетками служит сигналом для формирования герминативного центра. Замечено, что на ранних этапах формирования герминативного центра ген *c-MYC* транзитивно активируется перед тем, как начинает экспрессироваться ген *BCL6*. Белок BCL6 в норме подавляет экспрессию гена *c-MYC*. Таким образом, в темной зоне герминативного центра с активно пролиферирующими клетками не выявляется экспрессия белка MYC [24, 26–28].

В ряде активированных клеток светлой зоны, в которых запущен NF κ B-путь, ген *c-MYC* также не экс-

прессуруется. МУС-негативные В-клетки светлой зоны выходят из герминативного центра как клетки памяти или незрелые плазмобласты. Однако специфическая стимуляция В-клеток Т-лимфоцитами посредством взаимодействия между их поверхностными молекулами приводит к возобновлению экспрессии гена *c-MYC*. Предполагается, что МУС-позитивные клетки светлой зоны фолликула соответствуют субпопуляции В-клеток, обладающей высокоаффинным BCR, готовых к возвращению в герминативный центр для повторения цикла пролиферации и приобретения соматических мутаций. С активностью гена *c-MYC* на завершающих стадиях дифференцировки связывают формирование В-клеток памяти. Окончательная дифференцировка В-лимфоцитов в плазматические клетки осуществляется при участии белка BLIMP1 (B-Lymphocyte-Induced Maturation Protein 1). Данный белок имеет множество эффекторных функций, в том числе способность ингибировать экспрессию *c-MYC*, что будет подробно рассмотрено далее [31].

БИОЛОГИЯ ГЕНА *BCL6*

Ген *BCL6* находится на длинном плече хромосомы 3 в районе 27. Белок, кодируемый этим геном, обладает способностью к специфическому связыванию с промоторными областями некоторых генов с последующей репрессией их транскрипции, которая обусловлена привлечением корепрессоров. Основной мотив ДНК, с которым связывается белок BCL6, имеет последовательность ТТССТ(А/С)ГАА. Сам BCL6 имеет домен ВТВ/РОЗ, предназначенный для связывания с корепрессорами (например, гистондеацетилазой HDAC1 и репрессором NCOR2) и другими белками, имеющими домен типа «цинковых пальцев», распознающий ДНК. Кроме того, на С-конце функционально активного BCL6 содержится собственный ДНК-связывающий домен типа «цинковых пальцев» [32].

С молекулой ДНК BCL6 связывается в форме гомодимера, к которому присоединяются корепрессоры, а к последним, в свою очередь, присоединяются HDAC. Комплекс, образованный BCL6 и HDAC, очень стабилен за счет образования связей между HDAC и С-концевым доменом BCL6. При этом возможна ассоциация HDAC с доменом типа «цинковых пальцев» белка BCL6. Связанные HDAC репрессируют транскрипцию генов, с промоторами которых соединился BCL6. Кроме того, известно, что BCL6, связываясь с фактором ZBTB17, репрессирует транскрипцию *CDKN1A* и *BCL2* [33].

Регуляция активности BCL6 осуществляется как на белковом уровне, так и на уровне ДНК. BCR, связавшись с антигеном, передает сигнал по MAPK-пути. Один из компонентов MAPK-пути, MAPK1, фосфорилирует субъединицу BCL6 по остаткам серина (положения 333 и 343 в полипептидной цепи), и это приводит к быстрой деградации BCL6 по убиквитин-протеосомному пути [34]. При повреждении ДНК возрастает активность киназы ATM, которая также фосфорилирует BCL6, после чего белок деградирует в протеосоме [35].

В норме ген *BCL6* активен в В-клетках, находящихся в герминативных центрах периферических лимфоидных органов. Экспрессия *BCL6* наблюдается при пролиферации В-клеток, соматических гипермутациях в антиген-распознающем домене BCR и при переключении класса

антител. Белок BCL6 предохраняет клетку от апоптоза, индуцированного белком p53 во время «редактирования» последовательности ДНК при переключении класса Ig и гипермутациях вариабельного участка [36].

Известно о нескольких сотнях генов, которые служат мишенями BCL6 и подвергаются репрессии под его воздействием. В числе наиболее значимых генов-мишеней следует упомянуть гены BCR и CD40 (участвующий в активации MAPK, NF-AT и NFκB), гены, контролирующие активацию В-клеток Т-лимфоцитами, апоптотические гены (например, *BCL2*), гены, распознающие повреждения в структуре ДНК (*ATM*, *TP53*, *CDKN1A*, *CDKN1B*), гены рецепторов интерферона и интерлейкинов (IL), активирующие передачу сигнала по JAK/STAT-пути, Toll-подобный рецептор (TLR) и ген *c-MYC* [37].

Одной из основных мишеней BCL6 является белок BLIMP1, служащий ключевым регулятором дифференцировки В-лимфоцитов в плазматические клетки. Белок BLIMP1 блокирует передачу сигнала через BCR, индуцирует соматическую гипермутацию, переключение кодируемого класса антител и другие процессы, связанные с созреванием В-лимфоцитов. Белки BCL6 и BLIMP1 могут подавлять экспрессию друг друга (но не до полной инактивации), в результате чего они образуют регуляторную петлю с отрицательной обратной связью. Преобладание экспрессии гена *BCL6* препятствует преждевременной дифференцировке до плазматической клетки, а доминирование BLIMP1, наоборот, способствует ей.

В физиологических условиях В-лимфоциты герминативного центра, успешно перестроившие свои гены, которые кодируют Ig, получают активационные сигналы от двух поверхностных рецепторов: CD40 (от Т-клетки) и BCR (от антигена). Оба сигнала активируют сигнальный путь NFκB, который опосредованно через эффектор IRF4 приводит к снижению общего уровня экспрессии *BCL6*. В результате в клетке преобладает экспрессия BLIMP1 и запускается терминальная плазматическая дифференцировка.

Таким образом, BCL6 подавляет гены, участвующие в В-клеточной активации, воспалении и терминальной дифференцировке лимфоцитов [38, 39].

БИОЛОГИЯ ГЕНА *BCL2*

Ген *BCL2* расположен на длинном плече хромосомы 18 в районе 21.3. У белка, кодируемого данным геном, существует две изоформы. Первая изоформа состоит из 205 аминокислотных остатков и представляет собой глобулярный белок. Вторая изоформа отличается наличием дополнительного гидрофобного участка из 34 аминокислотных остатков, предназначенного для закрепления белка в митохондриальной мембране. Обе изоформы структурно подобны друг другу. Главное отличие белка BCL2 от BCL6 и МУС заключается в структуре субстрата. Если BCL6 и МУС относятся к ДНК-связывающим регуляторным факторам, то BCL2 связывается с другими белками.

BCL2 функционирует как антиапоптотический фактор: связывает и инактивирует проапоптотический белок BAX. Кроме того, BCL2 образует комплекс с фактором апоптоза APAF1, предотвращая его способность активировать каспаза-зависимый путь апоптоза [40–44].

При развитии В-клетки ген *BCL2* экспрессируется на всех стадиях, кроме этапа непосредственно после сома-

тической гипермутации и миграции из темной в светлую зону герминативного центра. В этот момент клетка находится на границе темной и светлой зон герминативного центра и использует перестроенный Ig для распознавания целевого антигена. В случае, если поверхностный Ig связался с антигеном с большей аффинностью, чем до «редактирования», сигнал от Ig активирует программу противодействия апоптозу. Если перестроенный Ig распознает целевой антиген с меньшей аффинностью, то его антиапоптотический сигнал также оказывается недостаточным. Таким образом, снижение уровня экспрессии *BCL2* и возможность регуляции антиапоптотического сигнала BCR позволяют проводить отбор только тех В-лимфоцитов, которые смогли выработать эффективные антитела [18].

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ РАЗВИТИЯ ДВКЛ

Следует отметить, что разделение ДВКЛ на молекулярные подтипы GCB и ABC основано на данных об экспрессии нескольких сотен генов, однако лишь несколько десятков из них можно отнести к ключевым регуляторам. Мы остановимся на роли нарушений регуляции генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* в патогенезе ДВКЛ в контексте молекулярных подтипов болезни, а также их взаимодействии с другими регуляторными элементами.

При ДВКЛ подтипа GCB выявляется экспрессия генов, в норме определяющихся в В-клетках герминативного центра, таких как *CD10* или *LMO2* [2, 3].

Кроме того, GCB-подтип ДВКЛ характеризуется высоким уровнем экспрессии транскрипционного репрессора *BCL6*, служащего, как было сказано ранее, ключевым регулятором реакции герминативного центра [45, 46]. В частности, это происходит в результате перестройки локуса, содержащего ген *BCL6*. Данный локус и, соответственно, сам ген утрачивают связь с энхансерами, регулирующими активность гена *BCL6* посредством сигналов, поступающих через BCR и CD40. Наступает блокировка дифференцировки В-клетки в плазматические клетки, «замораживание» клеток — носительниц транслокации на стадии герминативного центра, что способствует неконтрольной В-клеточной пролиферации и развитию лимфомы. Описано три варианта перестройки гена *BCL6*, при которых осуществляется перенос кодирующих последовательностей гена *BCL6* в область промоторов генов тяжелой или легкой цепей Ig: t(3;14)(q27;q32), t(2;3)(p12;q27), t(3;22)(q27;q11.2).

В значительной части случаев при GCB-подтипе ДВКЛ выявляется перестройка гена *BCL2*, представленная транслокацией t(14;18)(q32;q21) (приблизительно 35 % случаев), при которой ген *BCL2* попадает под влияние энхансера, ответственного за экспрессию тяжелых цепей BCR (IgH). Поскольку в норме необходим очень высокий уровень экспрессии генов IgH, это свойство после транслокации переходит к гену *BCL2* и также проявляется в виде его гиперэкспрессии. Наличие транслокации в данном случае коррелирует с уровнем мРНК *BCL2* и уровнем экспрессии белка. *BCL2*, как было отмечено ранее, блокирует действие каспаз, а следовательно, апоптоз в некоторых типах клеток, в т. ч. малигнизированных лимфоцитах, и играет ключевую роль в формировании лекарственной резистентности [40–44]. При многих онкологических заболеваниях наблюдается

деметилование генома в области промоторных зон гена *BCL2*, что сопровождается его гиперэкспрессией. Тем не менее роль гиперэкспрессии *BCL2* в развитии лимфомы носит сложный характер. Транслокация происходит рано, на уровне пре-В-клеток, но это не препятствует дальнейшему созреванию В-клетки. Клетки — носительницы транслокации успешно проходят антигеннезависимый этап и дозревают до стадии наивных В-клеток IgM/D+. Как и другие наивные клетки, многие из них погибают в течение нескольких дней, поскольку не контактируют с антигеном. Если же клетка — носительница t(14;18) контактирует с антигеном, она активируется и делится. Потомки этой клетки устойчивы к апоптозу, и их пролиферация не может быть завершена обычными механизмами ограничения иммунного ответа. Размноженный клон длительно персистирует. Лишь накопление дополнительных генетических повреждений приводит к появлению лимфомы [47].

При ABC-подтипе ДВКЛ наблюдается экспрессия ряда генов, характеризующих нормальные плазматические клетки [3]. Как было сказано ранее, программу дифференцировки В-клеток в плазматические запускает активация *BLIMP1*, что приводит к подавлению экспрессии *BCL6*, а также *c-MYC* путем связывания с его промотором.

Однако при ABC-подтипе ДВКЛ полная дифференцировка заблокирована генетическими аномалиями, затрагивающими функцию *BLIMP1* [1–3]. Кроме того, отличительной чертой патогенеза ABC-подтипа ДВКЛ является конститутивная активация сигнального пути NFκB, приводящая к устойчивости клеток к апоптозу, повышению пролиферативной активности [48]. Комплекс NFκB составляет группа из пяти индуцибельных транскрипционных факторов, обозначаемых как RelA (p65), RelB, c-Rel, NFκB1 (p50 и его предшественник p105) и NFκB2 (p52 и его предшественник p100), которые регулируют таргетные гены с помощью образования гомо- и гетеродимеров. В физиологических условиях белки комплекса NFκB находятся в неактивном состоянии благодаря ассоциации с цитоплазматическими ингибиторными белками (*IκBa*, *IκBb*, *IκBe*, так же, как и предшественники p50 и p52 — p105 и p100 соответственно). Различные стимулы приводят к транзитной активации членов NFκB, которые высвобождаются и транслоцируются в ядро, где активируют таргетные гены [49].

Ключевым моментом для понимания патогенеза ABC-подтипа ДВКЛ представляется процесс устойчивой активации сигнального пути BCR. В норме вследствие антигенной стимуляции В-лимфоцитов происходит формирование сигнального комплекса, образованного белками *CARD11*, *BCL10* и *MALT1* (CBM), который приводит, в свою очередь, к активации NFκB-сигнального пути [50, 51]. В нормально функционирующих В-лимфоцитах формирование комплекса CBM является временным событием, в то время как при ABC-подтипе ДВКЛ он постоянно активирован вследствие генетических aberrаций. Так, приблизительно у 10 % больных ABC-ДВКЛ обнаруживаются активирующие мутации в домене *CARD11* [52]. В качестве альтернативного механизма активации комплекса CBM при ABC-подтипе ДВКЛ рассматриваются aberrации сигнальных молекул *CD79A* и *CD79B* [53]. Эти аномалии редки или вовсе отсутствуют при других типах лимфом.

У пациентов с мутациями *CD79A* и *CD79B* BCR на поверхности клеток формирует выступающий кластер, похожий на тот, что имеется у стимулированных антигеном нормальных В-лимфоцитов, что свидетельствует о наличии постоянно активного сигнального пути BCR в подобных случаях. В 30 % случаев ДВКЛ был выявлен альтернативный механизм активации NFκB, который включает биаллельные мутации/делеции A20, кодирующего убиквитин-связывающий белок. A20 является негативным регулятором сигнального пути NFκB [54, 55]. Добавление A20 к A20-дефицитным клеточным линиям ABC-ДВКЛ приводило к апоптозу и клеточному аресту.

Наконец, последние публикации подчеркивают патогенетическую роль MYD88, который действует как адаптерный белок, включенный в TLR и рецепторный сигнальный путь IL-1. Приблизительно 30 % ABC-ДВКЛ несут активирующие мутации TLR/IL-1 рецепторного домена MYD88, облигатно приводящие к конститутивной активации сигнального каскада NFκB, а также JAK/STAT3-сигнального пути, который опосредует выживание клеток лимфомы при ABC-подтипе ДВКЛ [50, 56, 57]. Интересно, что был выявлен перекрест MYD88 и других онкогенных мутаций. В частности, 34 % ABC-ДВКЛ с мутациями MYD88 также имели мутации *CD79A* и *CD79B*, вовлечение которых приводит к формированию сигналов, обеспечивающих выживание клеток ABC-подтипа ДВКЛ [58]. Наконец, ABC-ДВКЛ характеризуется амплификацией или конститутивной гиперэкспрессией антиапоптотического гена *BCL2*, а также делециями, вовлекающими локус опухолевого супрессора INK4a/ARF [52, 59]. При ABC-подтипе ДВКЛ уровень экспрессии *BCL2* в 4 раза выше в сравнении с GCB-подтипом ДВКЛ. Однако при ABC-подтипе гиперэкспрессия *BCL2* ассоциирована с амплификацией гена или активацией NFκB-сигнального пути транскрипционной активности [3, 4, 48]. MALT1 вместе с CD10 может усиливать экспрессию *BCL2*.

АНОМАЛИИ ГЕНА *c-MYC* И ИХ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Как было сказано выше, гиперэкспрессия гена *c-MYC* оказывает влияние на большое число других генов, в т. ч. ответственных за внутриклеточную регуляцию. Аномалии гена *c-MYC* при В-клеточных лимфомах могут быть представлены следующими вариантами: перестройки, амплификация и точечные мутации гена *c-MYC* [26]. Эти онкогенные нарушения могут приводить к активации *c-MYC*, которая преодолевает ингибиторный эффект физиологических репрессоров, таких как *BCL6* в герминативном центре или *BLIMP1* в В-лимфоцитах, коммитированных к терминальной дифференцировке.

Перестройка гена *c-MYC* при В-клеточных лимфомах может являться иницирующим событием, например, в случае лимфомы Беркитта (ЛБ), когда происходит перенос гена *c-MYC* в область, кодирующую ген тяжелых или легких цепей Ig. Как правило, при ЛБ перестройка *c-MYC* сочетается с небольшим числом нарушений кариотипа [60–62]. Среди них могут обнаруживаться мутации *TP53* (40 % случаев), мутации, затрагивающие функциональный домен, который усиливает онкогенный потенциал MYC различными механизмами, включая повышение белковой стабильности и транскрипционной активности, а также с помощью снижения экспрессии

антиапоптотического белка BIM [63–66]. Похожие мутации *c-MYC* были также идентифицированы при ДВКЛ и, по-видимому, происходят в герминативном центре [63].

В отличие от ЛБ при других В-клеточных лимфомах, например в случае неклассифицируемой лимфомы, занимающей промежуточное положение между ДВКЛ и ЛБ, как правило, слияние *c-MYC* происходит с немундоглобулиновыми партнерами (*BCL6*, *BCL11A*, *PAX5* и *IKAROS*), а также сопровождается комплексными нарушениями кариотипа [60–62, 67–69].

При ДВКЛ перестройка гена *c-MYC* встречается приблизительно в 5–14 % случаев [70, 71]. Большинство таких опухолей имеет фенотип клеток герминативного центра [72, 75].

Как было показано, перестройка *c-MYC* обуславливает агрессивное течение заболевания и худшую выживаемость больных ДВКЛ. Так, по данным литературы, в большинстве случаев ДВКЛ с перестройкой *c-MYC* манифестирует экстранодальными поражениями, поздней стадией болезни (III–IV стадия по классификации Ann-Arbor). Опухолевые клетки характеризуются высоким пролиферативным индексом Ki-67 (> 80 %). Больные имеют более низкую общую выживаемость (ОВ), худший ответ на терапию по схеме R-CHOP в сравнении со случаями без перестройки *c-MYC*. Увеличивается частота рецидивов заболевания с вовлечением ЦНС [71, 73].

Однако в большинстве исследований, показавших отрицательное влияние перестройки гена *c-MYC* на прогноз ДВКЛ, группа double-hit (DH) и triple-hit (TH) лимфом не исключалась из общей группы пациентов, что не позволяет оценить прогностическое значение этого фактора [72–77].

В случае DH/TH-лимфомы перестройка гена *c-MYC* может сочетаться с транслокациями, затрагивающими ключевые регуляторные гены *BCL2*, *BCL6* и др. DH/TH-лимфомы характеризуются наихудшим прогнозом среди всех агрессивных В-клеточных лимфом. В дебюте заболевания может иметь место множественность очагов поражения, часто вовлекается костный мозг. Нередки наблюдения с вовлечением экстранодальных областей (ЦНС, яичко), выявляется высокая активность лактатдегидрогеназы. Медиана выживаемости больных DH-лимфомами варьирует от 4,5 до 18 мес. [68, 78–83]. Как правило, пациенты с DH/TH-лимфомами резистентны к режимам CHOP-21, R-CHOP-21 [68]. Агрессивное течение опухоли может указывать на синергизм воздействия онкогенов [84].

В работе 1988 г. исследователи вводили в клетки костного мозга здоровых и трансгенных мышей Eμm1-тус, конститутивно экспрессирующих В-клетками ген *c-MYC*, комплементарную ДНК гена *BCL2*, используя ретровирусный вектор. В-клетка, коэкспрессирующая оба гена, имела более высокий пролиферативный потенциал. Скорее всего, онкогенный эффект *BCL2* связан с тем, что он обеспечивает выживание клеточных клонов, и в случае накопления дополнительных мутаций, например патологической активации *c-MYC*, содействует бесконтрольной клеточной пролиферации [85]. В более поздних работах в качестве одного из механизмов сочетанного влияния онкогенов описано связывание аминокислотной последовательности белка *BCL2* с VH4-доменом *c-MYC*, что приводит к усилению транскрипционной активности *c-MYC* и супрессии репарации ДНК [84, 86–88].

Важно отметить, что гиперэкспрессия гена *c-MYC* может быть вызвана не только его транслокацией и сливанием с мощным энхансером какого-либо другого гена. В качестве альтернативного фактора указана активность некоторых микроРНК, повышающих экспрессию гена [89, 90].

Приблизительно в 2 % ДВКЛ выявляется амплификация гена *c-MYC* (число копий гена от 4 до 10) [74]. Случаи ДВКЛ с увеличением количества копий *c-MYC* (число копий гена до 4) встречаются чаще (19–38 %) и могут быть связаны с более высоким уровнем экспрессии микроРНК [91].

В заключение этого раздела следует подчеркнуть, что именно высокая транскрипционная активность гена *c-MYC* приводит к снижению выживаемости больных независимо от наличия транслокации [92–94].

В последние годы для более точной оценки группы риска ДВКЛ применяется иммуногистохимическое окрашивание, позволяющее определить уровень экспрессии продукта гена. Проведен целый ряд исследований по определению уровня экспрессии белков MYC, BCL2 и BCL6 у пациентов с ДВКЛ и их прогностической значимости.

Клиническая значимость экспрессии белка MYC при ДВКЛ

Экспрессия белка MYC выявляется во многих случаях ДВКЛ, однако число положительных клеток варьирует. Целый ряд работ посвящен определению порогового значения клинически значимой экспрессии белка MYC [74, 95]. При соотнесении уровня экспрессии белка методом иммуногистохимического окрашивания с результатами флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) было показано, что высокий уровень ядерной экспрессии белка MYC (≥ 70 % клеток) служит предиктором перестройки гена *c-MYC*, а также обнаруживается в случае наличия амплификации гена [96, 97]. Независимо от механизма, по которому происходит гиперэкспрессия гена *c-MYC*, с неблагоприятным исходом связывают лишь случаи, сопровождающиеся повышенным содержанием белка [97–99]. Так, исследовательской группой A. Valera и соавт. было выявлено, что наличие амплификации гена *c-MYC* ассоциируется с более короткой ОВ, а увеличение количества копий *c-MYC* (до 4) не оказывает отрицательного влияния на прогноз заболевания. По данным литературы, случаи с повышением числа копий *c-MYC* характеризуются неблагоприятным прогнозом только в сочетании с *del(8p)* [74, 100].

Тем не менее, гиперэкспрессия MYC остается статистически значимой в отношении прогноза ДВКЛ только в случае коэкспрессии белка BCL2 [74, 98, 101].

Клиническая значимость экспрессии белка BCL2 при ДВКЛ

Исследования по соотнесению уровня экспрессии BCL2 с выживаемостью больных ДВКЛ противоречивы. Некоторые из них свидетельствуют, что нет различий в ОВ в зависимости от уровня экспрессии белка [44, 102, 103] либо ОВ в группе с гиперпродукцией белка ниже [104–107]. Другие авторы показали обратную корреляцию экспрессии BCL2 с безрецидивной выживаемостью, но не с ОВ [108–110]. Возможно, отчасти различия связаны с пороговыми значениями уровня экспрессии белка. R.D. Gascoigne и соавт. показали, что более всего на прогноз влияет механизм, по которому происходит гиперэкспрессия белка, а не факт гиперэкспрессии сам

по себе. Так, гиперэкспрессия BCL2 ассоциировалась с плохим прогнозом ДВКЛ только в отсутствие *t(14;18)* (*q32;q21*) при ABC-подтипе [106, 111].

Клиническая значимость коэкспрессии белков MYC/BCL2

Как было сказано ранее, многими исследователями подчеркивается отрицательное влияние на прогноз ДВКЛ именно коэкспрессии белков MYC и BCL2.

В исследовании S. Hu и соавт. при сопоставлении результатов иммуногистохимического исследования, FISH и определения профиля экспрессии генов (GER) с клиническими данными было показано, что случаи ДВКЛ с коэкспрессией MYC/BCL2 (пороговое значение 40 % для MYC, 70 % для BCL2) имеют наиболее неблагоприятные исходы лечения. Кроме того, при наличии экспрессии обоих белков подавляются гены, кодирующие белки экстрацеллюлярного матрикса, белки клеточной адгезии, а также активируются гены, ассоциированные с пролиферативной активностью клеток [101].

T.M. Green и соавт. в группе из 193 больных ДВКЛ показали, что коэкспрессия MYC/BCL2 (пороговое значение более 40 и 70 % соответственно) коррелировала с неблагоприятным прогнозом заболевания при применении режима R-CHOP (3-летняя ОВ 43 vs 86 %; выживаемость без прогрессирования [ВБП] 39 vs 75 %). В группе с коэкспрессией MYC/BCL2 54 % пациентов имели генетические аномалии соответствующих генов согласно результатам FISH-исследования. Прогностический эффект коэкспрессии MYC/BCL2 был статистически значимым при учете других факторов (например, IPI, принадлежность к подтипу GCB/nonGCB, присутствие перестроек *c-MYC/BCL2*) [112].

H. Horn и соавт. в 2013 г., проанализировав данные 442 больных, сделали вывод о том, что высокий уровень экспрессии белков MYC (≥ 40 %) и BCL2 (> 0 %), низкий уровень экспрессии белка BCL6 (< 25 %) связаны с худшей выживаемостью независимо от IPI [72].

В работе N.A. Johnson и соавт. [113] были проанализированы данные 167 больных ДВКЛ. Экспрессия MYC и BCL2 выявлялась в 29 и 44 % случаев соответственно, одновременная экспрессия MYC/BCL2 обнаруживалась в 21 % случаев (пороговое значение ≥ 40 % для MYC, ≥ 50 % для BCL2). Наличие экспрессии белка MYC коррелировало с присутствием большого количества мРНК гена *c-MYC* и перестройки *c-MYC* (11 %) ($p < 0,001$). Экспрессия белка MYC ассоциировалась с худшими показателями 5-летней ОВ и ВБП только в случае коэкспрессии белка BCL2 (36 и 32 % соответственно; $p < 0,001$), случаи с перестройкой гена *c-MYC* и BCL2 составили 5 % в группе [113].

В работе A. Valera и соавт. сопоставлены результаты FISH-исследования с зондами для выявления транслокаций генов *c-MYC*, BCL2 и BCL6 и данные об экспрессии белков MYC и BCL2 с результатами лечения у 219 больных ДВКЛ [114]. С учетом генетических аномалий, выявленных методом FISH, данная группа пациентов была представлена в следующем соотношении: single-hit *c-MYC* — 3 %, double/triple hit — 4 %, амплификации *c-MYC* — 2 %, увеличение количества копий *c-MYC* — 19 %. По результатам иммуногистохимического окрашивания доля случаев с положительной экспрессией MYC составила 83 (пороговое значение 10 %) и 18 % (пороговое значение 40 %). В то же время было показано,

что генетические изменения, затрагивающие *BCL2*, *BCL6* и *MALT1*, так же как и экспрессия белка *BCL6*, не влияли на исход заболевания у пациентов с ДВКЛ. Больные, у которых опухоли экспрессировали *BCL2*, имели более короткую ВВП и ОВ в сравнении с пациентами, у которых опухоли оказались *BCL2*-негативными (5-летняя ВВП 49 vs 69 % соответственно, $p = 0,009$; 5-летняя ОВ 57 vs 73 % соответственно, $p = 0,09$). Экспрессия белка *MYC* была независимым прогностическим фактором для ОВ и ВВП. При повышении порогового значения с 10 до 40 % экспрессия белка *MYC* сохраняла свое значение только для ОВ. Однако самый плохой прогноз все же имели пациенты с коэкспрессией *MYC/BCL2*, что согласуется с предыдущими исследованиями [72, 113].

ВЫВОДЫ

Во всех предыдущих исследованиях была проанализирована прогностическая значимость коэкспрессии *MYC/BCL2*. В каждой группе пациентов ДН-лимфома составляла приблизительно 5 %. ДВКЛ single-hit с перестройкой гена *c-MYC* показывала, приблизительно, в половине случаев не только высокий уровень экспрессии белка *MYC*, но и экспрессию белка *BCL2* в отсутствие перестройки соответствующего гена, что также определяло плохой прогноз. ДВКЛ с коэкспрессией *MYC/BCL2* имела, согласно большинству исследований, неблагоприятный прогноз. Однако группа с коэкспрессией *MYC/BCL2* без перестроек соответствующих генов не рассматривалась отдельно. Лимфомы с гиперэкспрессией белков *MYC/BCL2*, так же как и ДН-лимфомы, имеют неблагоприятный прогноз, однако частота их выявления выше (18 vs 5 %).

Таким образом, определение уровня экспрессии белков *MYC*, *BCL2* может служить инструментом для более точной и эффективной идентификации группы риска больных ДВКЛ [72, 74, 98, 99, 114].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем обзоре рассмотрены биологические особенности генов *c-MYC*, *BCL6* и *BCL2* при нормальном развитии В-лимфоцитов, а также при различных молекулярных подтипах ДВКЛ. Освещены последние опубликованные результаты по клиническому значению экспрессии этих генов и объяснены причины, по которым некоторые из сделанных выводов оказались противоречивыми. Мы полагаем, что работа в этом направлении далека от завершения. Необходимы дополнительные исследования с целью обоснования целесообразности введения новых маркеров в алгоритмы выявления прогностических факторов при ДВКЛ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие скрытых конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Swerdlow S.H., Campo E., Harris N.L. et al (eds.). WHO Classification of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC, 2008: 233–4.
2. Frick M., Dorken B., Lenz G. New insights into the biology of molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2012; 25(1): 3–12.

3. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000; 403: 503–11.
4. Rosenwald A., Wright G., Chan W.C. et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346(25): 1937–47.
5. Alizadeh A.A., Eisen M.B., Davis R.E. et al. The lymphochip: a specialized cDNA microarray for the genomic-scale analysis of gene expression in normal and malignant lymphocytes. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1999; 62: 71–8.
6. Lenz G., Wright G., Dave S.S. et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359(22): 2313–23.
7. 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(6): 851–62.
8. Savage K.J., Monti S., Kutok J.L. 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(12): 3871–9.
9. Wright G., Tan B., Rosenwald A. et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100: 9991–6.
10. Muller A.M., Medvinsky A., Strouboulis J., Grosveld F., Dzierzak E. Development of hematopoietic stem cell activity in the mouse embryo. *Immunity.* 1994; 1: 291–301.
11. Melchers F. The pre-B-cell receptor: selector of fitting immunoglobulin heavy chains for the B-cell repertoire. *Nat. Rev. Immunol.* 2005; 5: 578–84.
12. van Zelm M.C., Szczepanski T., van der Burg M., van Dongen J.J. Replication history of B lymphocytes reveals homeostatic proliferation and extensive antigen-induced B cell expansion. *J. Exp. Med.* 2007; 204: 645–55.
13. Martin F., Oliver A.M., Kearney J.F. Marginal zone and B1 B cells unite in the early response against T-independent blood-borne particulate antigens. *Immunity.* 2001; 14: 617–29.
14. Chen J., Trounstein M., Alt F.W. et al. Immunoglobulin gene rearrangement in B cell deficient mice generated by targeted deletion of the JH locus. *Int. Immunol.* 1993; 5: 647–56.
15. Teng G., Papavasiliou F.N. Immunoglobulin somatic hypermutation. *Annu. Rev. Genet.* 2007; 41: 107–20.
16. Liu Y.J., Arpin C. Germinal center development. *Immunol. Rev.* 1997; 156: 111–26.
17. Yuan D. Regulation of IgM and IgD synthesis in B lymphocytes. II. Translational and post-translational events. *J. Immunol.* 1984; 132: 1566–70.
18. Yasodha N. The Biology of the Germinal Center. *ASH Education Book.* 2007; 1: 210–5.
19. Komori T., Okada A., Stewart V., Alt F.W. Lack of N regions in antigen receptor variable region genes of TdT-deficient lymphocytes. *Science.* 1993; 261: 1171–5.
20. Willenbrock K., Jungnickel B., Hansmann M.L., Kuppers R. Human splenic marginal zone B cells lack expression of activation-induced cytidine deaminase. *Eur. J. Immunol.* 2005; 35: 3002–7.
21. Raghavan S.C., Hsieh C.L., Lieber M.R. Both V(D)J coding ends but neither signal end can recombine at the bcl-2 major breakpoint region, and the rejoining is ligase IV dependent. *Mol. Cell. Biol.* 2005; 15: 6475–84.
22. Luscher B. MAD1 and its life as a MYC antagonist: an update. *Eur. J. Cell. Biol.* 2012; 91(6–7): 506–14.
23. McDuff F.O., Naud J.F., Montagne M., Sauve S., Lavigne P. The Max homodimeric b-HLH-LZ significantly interferes with the specific heterodimerization between the c-Myc and Max b-HLH-LZ in absence of DNA: a quantitative analysis. *J. Mol. Recognit.* 2009; 22(4): 261–9.
24. Dang C.V. MYC on the path to cancer. *Cell.* 2012; 149(1): 22–35.
25. Luscher B., Vervoorts J. Regulation of gene transcription by the oncoprotein MYC. *Gene.* 2012; 494(2): 145–60.
26. Meyer N., Penn L.Z. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat. Rev. Cancer.* 2008; 8(12): 976–90.
27. Keller U.B., Old J.B., Dorsey F.C. et al. Myc targets Cks1 to provoke the suppression of p27Kip1, proliferation and lymphoma agenesis. *EMBO. J.* 2007; 26(10): 2562–74.
28. Bueno M.J., Malumbres M. MicroRNAs and the cell cycle. *Biochim. Biophys. Acta.* 2011; 1812(5): 592–601.
29. Nie Z., Hu G., Wei G. et al. c-Myc is a universal amplifier of expressed genes in lymphocytes and embryonic stem cells. *Cell.* 2012; 151(1): 68–79.
30. Lin C.Y., Loven J., Rahl P.B. et al. Transcriptional amplification in tumor cells with elevated c-Myc. *Cell.* 2012; 151(1): 56–67.
31. Lin Y., Wong K., Calame K. Repression of c-myc transcription by Blimp-1, an inducer of terminal B cell differentiation. *Science.* 1997; 276(5312): 596–9.
32. Basso K., Dalla-Favera R. BCL6: master regulator of the germinal center reaction and key oncogene in B cell lymphomagenesis. *Adv. Immunol.* 2010; 105: 193–210.
33. Phan R.T., Saito M., Basso K., Niu H., Dalla-Favera R. BCL6 interacts with the transcription factor Miz-1 to suppress the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and cell cycle arrest in germinal center B cells. *Nat. Immunol.* 2005; 6(10): 1054–60.
34. Niu H., Ye B.H., Dalla-Favera R. Antigen receptor signaling induces MAP kinase-mediated phosphorylation and degradation of the BCL-6 transcription factor. *Genes Dev.* 1998; 12(13): 1953–61.

35. Phan R.T., Saito M., Kitagawa Y., Means A.R., Dalla-Favera R. Genotoxic stress regulates expression of the proto-oncogene Bcl6 in germinal center B cells. *Nat. Immunol.* 2007; 8(10): 1132–9.
36. Phan R.T., Dalla-Favera R. The BCL6 proto-oncogene suppresses p53 expression in germinal-center B cells. *Nature.* 2004; 432(7017): 635–9.
37. Basso K., Saito M., Sumazin P. et al. Integrated biochemical and computational approach identifies BCL6 direct target genes controlling multiple pathways in normal germinal center B cells. *Blood.* 2010; 115(5): 975–84.
38. Wagner S.D., Ahearne M., Ko Ferrigno P. The role of BCL6 in lymphomas and routes to therapy. *Br. J. Haematol.* 2011; 152(1): 3–12.
39. Basso K., Dalla-Favera R. Roles of BCL6 in normal and transformed germinal center B cells. *Immunol. Rev.* 2012; 247(1): 172–83.
40. Merino R., Ding L., Veis D.J. et al. Developmental regulation of the Bcl-2 protein and susceptibility to cell death in B lymphocytes. *EMBO. J.* 1994; 13: 683–91.
41. McDonnell T.J., Nunez G., Platt F.M. et al. Deregulated Bcl-2-immunoglobulin transgene expands a resting but responsive immunoglobulin M and D-expressing B-cell population. *Mol. Cell. Biol.* 1990; 10: 1901–7.
42. McDonnell T.J., Deane N., Platt F.M. et al. Bcl-2-immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell.* 1989; 57: 79–88.
43. Veis D.J., Sorenson C.M., Shutter J.R. et al. Bcl-2-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair. *Cell.* 1993; 75: 229–40.
44. Wilson W.H., Teruya-Feldstein J., Fest T. et al. Relationship of p53, bcl-2, and tumor proliferation to clinical drug resistance in non-Hodgkin's lymphomas. *Blood.* 1997; 89: 601–9.
45. Monti S., Savage K.J., Kutok J.L. et al. Molecular profiling of diffuse large B-cell lymphoma identifies robust subtypes including one characterized by host inflammatory response. *Blood.* 2005; 105(5): 1851–61.
46. Dent A.L., Shaffer A.L., Yu X. et al. Control of inflammation, cytokine expression, and germinal center formation by BCL-6. *Science.* 1997; 276(5312): 589–92.
47. Никитин Е.А. Патогенез зрелоклеточных лимфатических опухолей. Материалы конгрессов и конференций. VIII Российский онкологический конгресс [Электронный документ] (<http://www.rosoncweb.ru/library/congress/ru/08/19.php>).
- [Nikitin E.A. Pathogenesis of mature cell lymphomas. *Materialy kongressov i konferentsii. VIII Rossiiskii onkologicheskii kongress* (Materials of congresses and conferences. VIII Russian oncological congress). Available at: <http://www.rosoncweb.ru/library/congress/ru/08/19.php> (In Russ.)]
48. Davis R.E., Brown K.D., Siebenlist U. et al. 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(12): 1861–74.
49. Jost P.J., Ruland J. Aberrant NF-kappaB signaling in lymphoma: mechanisms, consequences, and therapeutic implications. *Blood.* 2007; 109(7): 2700–7.
50. Ngo V.N., Davis R.E., Lamy L. et al. A loss-of-function RNA interference screen for molecular targets in cancer. *Nature.* 2006; 441(7089): 106–10.
51. Rawlings D.J., Sommer K., Moreno-Garcia M.E. The CARMA1 signalosome links the signalling machinery of adaptive and innate immunity in lymphocytes. *Nat. Rev. Immunol.* 2006; 6(11): 799–812.
52. Lenz G., Davis R.E., Ngo V.N. et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science.* 2008; 319(5870): 1676–9.
53. Davis R.E., Ngo V.N., Lenz G. et al. Chronic active B-cell-receptor signaling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature.* 2010; 463(7277): 88–92.
54. Compagno M., Lim W.K., Grunn A. et al. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kappaB in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature.* 2009; 459(7247): 717–21.
55. Kato M., Sanada M., Kato I. et al. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. *Nature.* 2009; 459(7247): 712–6.
56. Ding B.B., Yu J.J., Yu R.Y. 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(3): 1515–23.
57. Lam L.T., Wright G., Davis R.E. 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(7): 3701–13.
58. Ngo V.N., Young R.M., Schmitz R. et al. Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature.* 2011; 470(7332): 115–9.
59. Bea S., Zettl A., Wright G. et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood.* 2005; 106(9): 3183–90.
60. Boerma E.G., Siebert R., Kluijn P.M., Baudis M. Translocations involving 8q24 in Burkitt lymphoma and other malignant lymphomas: a historical review of cytogenetics in the light of today's knowledge. *Leukemia.* 2009; 23(2): 225–34.
61. Salaverria I., Zettl A., Bea S. et al. Chromosomal alterations detected by comparative genomic hybridization in subgroups of gene expression-defined Burkitt's lymphoma. *Haematologica.* 2008; 93(9): 1327–34.
62. Scholtysik R., Kreuz M., Klapper W. et al. Detection of genomic aberrations in molecularly defined Burkitt's lymphoma by array-based, high resolution, single nucleotide polymorphism analysis. *Haematologica.* 2010; 95(12): 2047–55.
63. Pasqualucci L., Neumeister P., Goossens T. et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature.* 2001; 412(6844): 341–6.
64. Hemann M.T., Bric A., Teruya-Feldstein J. et al. Evasion of the p53 tumour surveillance network by tumour-derived MYC mutants. *Nature.* 2005; 436(7052): 807–11.
65. Giulino-Roth L., Wang K., MacDonald T.Y. et al. Targeted genomic sequencing of pediatric Burkitt lymphoma identifies recurrent alterations in antiapoptotic and chromatin-remodeling genes. *Blood.* 2012; 120(26): 5181–4.
66. Bhatia K., Huppi K., Spangler G. et al. Point mutations in the c-Myc transactivation domain are common in Burkitt's lymphoma and mouse plasmacytomas. *Nat. Genet.* 1993; 5(1): 56–61.
67. Snuderl M., Kolman O.K., Chen Y.B. et al. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010; 34(3): 327–40.
68. Le Gouill S., Talmant P., Touzeau C. et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica.* 2007; 92(10): 1335–42.
69. Li S., Lin P., Fayad L.E. et al. B-cell lymphomas with B-cell lymphomas with MYC/8q24 rearrangements and IGH@BCL2/t(14;18)(q32;q21): an aggressive disease with heterogeneous histology, germinal center B-cell immunophenotype and poor outcome. *Mod. Pathol.* 2012; 25(1): 145–56.
70. Klapper W., Stoecklein H., Zeynalova S. et al. Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia.* 2008; 22(12): 2226–9.
71. Savage K.J., Johnson N.A., 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(17): 3533–7.
72. Horn H., Ziepert M., Becher C. et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2013; 121(12): 2253–63.
73. Barrans S., Crouch S., Smith A. et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(20): 3360–5.
74. Valera A., Lopez-Guillermo A., Cardesa-Salzman T. et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica.* 2013; 98(10): 1554–62.
75. 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(23): 2419–30.
76. Salaverria I., Siebert R. The gray zone between Burkitt's lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma from a genetics perspective. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(14): 1835–43.
77. Bertrand P., Bastard C., Maingonnat C. et al. Mapping of MYC breakpoints in 8q24 rearrangements involving non-immunoglobulin partners in B-cell lymphomas. *Leukemia.* 2007; 21(3): 515–23.
78. Tomita N. BCL2 and MYC Dual-Hit Lymphoma/Leukemia. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* 2011; 51(1): 7–12.
79. Johnson N.A., Savage K.J., Ludkovski O. et al. Lymphomas with concurrent BCL2 and MYC translocations: the critical factors associated with survival. *Blood.* 2009; 114(11): 2273–9.
80. Snuderl M., Kolman O.K., Chen Y.B. et al. B-cell lymphomas with concurrent IGH-BCL2 and MYC rearrangements are aggressive neoplasms with clinical and pathologic features distinct from Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010; 34(3): 327–40.
81. Hoeller S., Copie-Bergman C. Grey Zone Lymphomas: Lymphomas with Intermediate Features. *Advances in Hematology* 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/460801>.
82. Tauro S., Cochrane L., Lauritzen G.F. et al. Dose-intensified treatment of Burkitt lymphoma and B-cell lymphoma unclassifiable, (with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma) in young adults (< 50 years): A comparison of two adapted BFM protocols. *Am. J. Hematol.* 2010; 85(4): 261–3.
83. Kobayashi T., Tsutsumi Y., Sakamoto N. et al. Double-hit Lymphomas Constitute a Highly Aggressive Subgroup in Diffuse Large B-cell Lymphomas in the Era of Rituximab. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2012; 42(11): 1035–42.
84. Fandi A., Harrington E.A., Evan G.I. Cooperative in reactions between c-myc and bcl-2 protooncogenes. *Nature.* 1992; 359: 554–6.
85. Vaux D.L., Cory S., Adams J.M. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature.* 1988; 335(6189): 440–2.
86. Zhaohui J., Stratford M.W., Fengqin G., Tammy F., Xingming D. Bcl2 suppresses DNA repair by enhancing c-myc transcriptional activity. *J. Biol. Chem.* 2005; 281: 14446–56.
87. Masao N., Shinobu T., Keiichi H., Osamu T., Masao S. Synergistic effect of Bcl2, Myc and Ccnd1 transforms mouse primary B cells into malignant cells. *Haematologica.* 2011; 96(9): 1318–26.
88. DeoCampo N.D., Wilson M.R., Trosko J.E. Cooperation of bcl-2 and myc in the neoplastic transformation of normal rat liver epithelial cells is related to the down-regulation of gap junction-mediated intercellular communication. *Carcinogenesis.* 2000; 21(8): 1501–6.
89. Leucci E., Cocco M., Onnis A. et al. MYC translocation-negative classical Burkitt lymphoma cases: an alternative pathogenetic mechanism involving miRNA deregulation. *J. Pathol.* 2008; 216(4): 440–50.

- 90.** Onnis A., De Falco G., Antonicelli G. et al. Alteration of microRNAs regulated by c-MYC in Burkitt lymphoma. *PLoS One*. 2010; 5(9): e12960.
- 91.** Stasik C.J., Nitta H., Zhang W. et al. Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2010; 95(4): 597–603.
- 92.** Schrader A., Bentink S., Spang R. et al. High MYC activity is an independent negative prognostic factor for DLBCL. *Cancer*. 2012; 131(4): 348–61.
- 93.** Yoon S.O., Jeon Y.K., Paik J.H. et al. MYC translocation and an increased copy number predict poor prognosis in adult DLBCL, especially in GCB-type. *Histopathology*. 2008; 53(2): 205–17.
- 94.** Mossafa H., Damotte D., Jenabian A. et al. Non-Hodgkin lymphomas with Burkitt-like cells are associated with c-Myc amplification and poor prognosis. *Leuk. Lymphoma*. 2006; 47(9): 1885–93.
- 95.** Martin-Subero J.I., Otero M.D., Hernandez R. et al. Amplification of IGH/MYC fusion in clinically aggressive IGH/BCL2-positive germinal center B-cell lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005; 43(4): 414–23.
- 96.** Tapia G., Lopez R., Munoz-Marmol A.M. et al. Immunohistochemical detection of MYC protein correlates with MYC gene status in aggressive B-cell lymphoma. *Histopathology*. 2011; 59(4): 672–8.
- 97.** Green T.M., Nielsen O., de SK. et al. High levels of nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2012; 36(4): 612–9.
- 98.** Johnson N.A., Slack G.W., Savage K.J. et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(28): 3452–9.
- 99.** Kluk M.J., Chapuy B., Sinha P. et al. Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One*. 2012; 7(4): e33813.
- 100.** Testoni M., Kwee I., Greiner T.C. et al. Gains of MYC locus and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Br. J. Haematol.* 2011; 155(2): 274–7.
- 101.** Hu S., Xu-Monette Z.Y., Tzankov A. et al. MYC/BCL2 protein co-expression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood*. 2013; 121(20): 4021–31.
- 102.** Piris M.A., Pezzella F., Martinez-Montero J.C. et al. p53 and bcl-2 expression in high-grade B-cell lymphomas: Correlation with survival time. *Br. J. Cancer*. 1994; 69: 337–41.
- 103.** Tang S.C., Visser L., Hepperle B. et al. Clinical significance of bcl-2-MBR gene rearrangement and protein expression in diffuse large-cell non-Hodgkin's lymphoma: An analysis of 83 cases. *J. Clin. Oncol.* 1994; 12: 149–54.
- 104.** Barrans S.L., Carter I., Owen R.G. et al. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2002; 99: 1136–43.
- 105.** Colomo L., Lopez-Guillermo A., Perales M. et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2003; 101: 78–84.
- 106.** Gascoyne R.D., Adomat S.A., Krajewski S. et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997; 90: 244–51.
- 107.** Martinka M., Comeau T., Foyle A. et al. Prognostic significance of t(14;18) and bcl-2 gene expression in follicular small cleaved cell lymphoma and diffuse large cell lymphoma. *Clin. Invest. Med.* 1997; 20: 364–70.
- 108.** Hill M.E., MacLennan K.A., Cunningham D.C. et al. Prognostic significance of BCL-2 expression and bcl-2 major breakpoint region rearrangement in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma: A British National Lymphoma Investigation Study. *Blood*. 1996; 88: 1046–51.
- 109.** Kramer M.H., Hermans J., Wijburg E. et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 1998; 92: 3152–62.
- 110.** Hermine O., Haioun C., Lepage E. et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). *Blood*. 1996; 87: 265–72.
- 111.** Iqbal J., Neppalli V.T., Wright G., Dave B.J. BCL2 Expression Is a Prognostic Marker for the Activated B-Cell-Like Type of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24(6): 961–8.
- 112.** Green T.M., Young K.H., Visco C. et al. Immunohistochemical Double-Hit Score Is a Strong Predictor of Outcome in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(28): 3460–7.
- 113.** Johnson N.A., Slack G.W., Savage K.J. et al. Concurrent Expression of MYC and BCL2 in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Treated With Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(28): 3452–9.
- 114.** Valera A., Lopez-Guillermo A., Cardesa-Salzman T. et al. MYC protein expression and genetic alterations have prognostic impact in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Haematologica*. 2013; 98(10): 1554–62.

