

# Прогностическое значение иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы

**Е. В. Харченко**, м.н.с., врач-онколог научного отдела инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации<sup>1</sup>

**А. С. Артемьева**, к.м.н., врач-патологоанатом, зав. патологоанатомическим отделением с прозектурой<sup>1</sup>

**И. Л. Поляцкин**, врач-патологоанатом, врач-ординатор патологоанатомического отделения с прозектурой<sup>1</sup>

**Т. Ю. Семиглазова**, д.м.н., зав. научным отделом инновационных методов терапевтической онкологии и реабилитации<sup>1</sup>; проф. кафедры онкологии<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург

## Prognostic Impact of Immunohistochemical and Molecular Features of Diffuse Large B-cell Lymphoma

E. V. Kharchenko, A. S. Artemyeva, I. L. Polyatskin, T. Yu. Semiglazova

National Medical Research Centre of Oncology n.a. N. N. Petrov, North-Western State Medical University n.a. I. I. Mechnikov; Saint Petersburg, Russia

### Резюме

Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома является самым часто встречающимся видом неходжкинских лимфом. Несмотря на успехи последних десятилетий в лечении данного заболевания после внедрения в практику моноклонального анти-CD20 антитела ритуксимаба, по-прежнему 30% пациентов остаются резистентными к проведенному лечению. Прогресс в молекулярной генетике внес значительный вклад в понимание патогенеза заболевания, генетических и эпигенетических нарушений, напрямую влияющих на рост, дифференцировку опухолевого клона, иммунный ответ. Это позволило выделить более агрессивные подтипы в группе диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, нуждающиеся в интенсификации стандартной химиотерапии. В данной статье мы рассмотрим иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы и их влияние на течение, прогноз заболевания, а также ответ на терапию.

**Ключевые слова:** диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома, Double-hit-лимфома, MYC, BCL-2.

### Summary

Diffuse large B-cell lymphoma is the most common type of non-Hodgkin's lymphoma. Despite of dramatic improvement during last decades in rituximab-era, 30% of patients are still resistant to initial therapy. Molecular genetics made significant contribution in our understanding of pathogenesis of disease, genetic and epigenetic disorders which have direct impact on cell's growth, differentiation and immune response. This allowed distinguishing more aggressive subtypes of diffuse large B-cell lymphoma, which can potentially benefit from early-treatment intensification. In this review, we will discuss immunohistochemical and molecular features of diffuse large B-cell lymphoma and its impact on course, prognosis and response to therapy.

**Key words:** diffuse large B-cell lymphoma, Double-hit lymphoma, MYC, BCL-2.

### Введение

Под неходжкинскими лимфомами (НХЛ) понимают разнородную группу злокачественных опухолей лимфатической ткани [4]. В России в 2017 году было зарегистрировано около 10 тыс. новых случаев НХЛ [1]. Несмотря на то что НХЛ составляют примерно 5% всех злокачественных новообразований, по значимости они являются пятым онкологическим заболеванием в развитых странах [3]. Отмечен двукратный рост

заболеваемости в период между 1975 и 2010 годами (от 11,07 на 100 тыс. до 20,98 на 100 тыс. человек) [20]. В 2018 году в США зарегистрировано более 74 тыс. впервые выявленных случаев НХЛ и около 20 тыс. смертей от этого заболевания [21]. В Европе количество новых случаев достигло 115 тыс., зарегистрированных смертей от НХЛ — около 50 тыс. случаев [5].

Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома (ДВККЛ) —

самая распространенная НХЛ, которая составляет 30–58% случаев [24]. ДВККЛ по-прежнему остается неизлечимым заболеванием. При применении стандартных методов терапии длительная ремиссия заболевания может быть достигнута только в 50% случаев [18]. ДВККЛ — крайне гетерогенная группа заболеваний с различными патоморфологическими подтипами, профилем экспрессии генов, ответом на терапию и прогнозом [15, 17].



Е. В. Харченко



А. С. Артемьева



И. Л. Поляцкин



Т. Ю. Семиглазова

## Современные молекулярно-генетические характеристики ДВККЛ (ВОЗ-2016)

Современная классификация лимфопролиферативных заболеваний ВОЗ включает новую категорию лимфом высокой степени злокачественности с транслокациями в генах *MYC*, *BCL-2* и (или) *BCL-6*. Данная лимфома, возникающая менее чем в 10% случаев всех ДВККЛ, получила название Double-hit (DH) лимфомы, а при наличии перестройки всех трех генов — Triple-hit (TH) лимфомы [22]. Молекулярная гетерогенность опухоли также обусловлена различным происхождением опухолевых клеток.

С учетом профиля экспрессии генов, в классификации ВОЗ-2016 неклассифицируемую (not-otherwise specified) ДВККЛ подразделяют на две подгруппы:

- лимфому с фенотипом клеток герминального центра (Germinal B-cell like-GCB);
- лимфому с фенотипом активированных В-клеток (activated B-cell-ABC).

GCB- и ABC-подтипы различаются хромосомными aberrациями, активацией сигнальных путей и клиническим течением заболевания.

Кроме того, полное геномное секвенирование позволило выделить четыре дополнительных группы ДВККЛ:

- MCD (наличие мутаций *MYD88L265P* и *CD79B*);
- BN2 (мутации *BCL6* и *NOTCH2*);
- N1 (мутации *NOTCH1*);
- EZB (мутации *EZH2* и транслокации *BCL2*) [19].

Разделение ДВККЛ на подтипы GCB и ABC показало гетерогенность не только в биологии ДВККЛ, но и в клиническом течении. Пациенты ABC-подтипа обладают худшим прогнозом при применении стандартного режима химиотерапии по схеме R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфан, преднизолон, винкристин, доксорубин) в сравнении с GCB-подтипом [23]. В настоящее время использование профиля экспрессии генов, к сожалению, редко используется в рутинной постановке диагноза.

Иммуногистохимический Hans-алгоритм, включающий *CD10*, *MUM-1*, и *BCL-6*, является суррогатной, но достаточно эффективной методикой определения подтипов ДВККЛ [7]. При использовании Hans-алгоритма 42% случаев ДВККЛ классифицируются как GCB и 58% — как подтип non-GCB. Последний включает в себя неклассифицируемые случаи, в том числе ABC-подтип, определяемый профилем экспрессии генов и не являющийся синонимом non-GCB. Результаты использования профиля экспрессии генов сопоставимы в 71% случаев при GCB-подтипе и в 88% при определении подтипа non-GCB [25].

### Определение DH- и DE- лимфом

Ген *MYC* является протоонкогеном, расположенным на 8q24 локусе хромосомы, кодирующим транскрипционный фактор, отвечающий за метаболизм, синтез белков, дифференцировку клеток при ДВККЛ. Перестройка гена *MYC* встречается в 5–17% случаев. В контексте лимфомы высокая экспрессия белка c-myc, которая может быть обусловлена множеством механизмов, такими как транслокация хромосом, амплификация гена *MYC*, мутацией в гене и повторяющимися перестройками, ведет к нестабильности генома и клеточной пролиферации [12–13].

*BCL-2* — это онкоген, расположенный на 18q21 локусе хромосомы. *BCL-2* кодирует белок, поддерживающий жизнеспособность клеток посредством ингибирования апоптоза. В случае малигнизации клональная экспрессия генов *BCL-2*, *MYC* и других онкогенов является причиной прогрессирования лимфомы и резистентности к химиотерапии [3].

*BCL-6* — онкоген, расположенный на 3q27 хромосоме. Белок bcl-6 функционирует как транскрипционный ингибитор и участвует в нескольких клеточных процессах, таких как активация, дифференцировка, клеточный апоптоз. В нормальных В-клетках bcl-6 является ключевым регулятором реакций в герминальном центре [2].

В общей когорте больных DH лимфомой транслокация генов *MYC*

и *BCL-2* могут быть зарегистрированы в 65% случаев, *MYC* и *BCL-6* — в 14% случаев, в 21% — все три перестройки (TH-лимфомы) [11]. Примечательно, что до 20% пациентов с DH- и TH-лимфомами не демонстрируют гиперэкспрессию белков c-myc и bcl-2, что может говорить о лучшем прогнозе заболевания в сравнении с теми больными, у кого данная экспрессия присутствует [8]. Хотя у большинства DH- и TH-лимфом и наблюдается коэкспрессия соответствующих белков, в случае наличия экспрессии белка не всегда наблюдаются вышеупомянутые перестройки.

Необходимо учитывать, что положительной экспрессией белков считается  $\geq 40\%$  для c-myc и  $> 50\%$  для bcl-2. В этом случае при отсутствии перестроек данный подтип лимфомы будет называться Double-expressor лимфома (DE). Важно заметить, что данная лимфома (DE) не является отдельным подтипом ДВККЛ, но характеризуется неблагоприятным прогнозом [9].

### Клинические особенности DH- и DE- лимфом

DH-лимфома отличается агрессивным течением. В ретроспективном анализе клиники MD Anderson [14] пациенты с DH лимфомой в 84% случаев имели распространенную стадию заболевания (III, IV) и повышение ЛДГ в 69% случаев. В одном из самых крупных ретроспективных анализов, инициированных Petrich и соавт., были включены 311 пациентов. Результаты были схожими с данными MD Anderson: 81% пациентов имели распространенную стадию заболевания, и высокий уровень ЛДГ был отмечен у 76% [16].

DE-лимфомы также являются отдельным клиническим фенотипом. Ретроспективный анализ Green и соавт. продемонстрировал у пациентов с DE-лимфомами плохой общий соматический статус, распространенную стадию заболевания, высокий индекс пролиферативной активности Ki-67%, средний или высокий международный прогностический индекс, множественное экстранодальное поражение и худший ответ на лечение стандартной химиотерапией по схеме R-CHOP [6].

## Оптимальное лечение для DH- и DE- лимфом

Разработка оптимальной терапии первой линии для DH-лимфомы является сложной задачей в связи с отсутствием проспективных исследований. К тому же из-за низкой частоты встречаемости данного подтипа среди ДВККЛ, количество публикаций по данной тематике крайне ограничено, что делает в настоящее время невозможным разработку единых стандартных протоколов лечения.

В анализе Petrich и соавт. 311 пациентов с DH-лимфомами получили лечение как стандартным режимом химиотерапии по схеме R-CHOP, так и более интенсивным R-EPOCH (ритуксимаб, этопозид, преднизон, винкристин, циклофосфамид и доксорубин). Исследователи выявили достоверно худшие показатели безрецидивной выживаемости (БРВ) в группе R-CHOP (7,8 против 21,6 месяца;  $P = 0,001$ ) в сравнении с группой, получившей интенсивный режим. Похожие результаты были получены в ретроспективном анализе клиники MD Anderson с включением 129 пациентов с DH-лимфомами [25]. В данном анализе режим R-EPOCH продемонстрировал значительное улучшение показателей БРВ ( $P = 0,004$ ) и общей выживаемости (ОВ) ( $P = 0,057$ ) в сравнении с R-CHOP. В мета-анализе 11 исследований R-EPOCH также показал достоверное снижение риска прогрессирования в сравнении с R-CHOP (снижение относительного риска на 34%;  $P = 0,032$ ) [10].

На основании полученных данных более интенсивный индукционный подход с R-EPOCH стал терапией выбора, а в некоторых центрах — стандартом терапии у пациентов с высокоагрессивной ДВККЛ, несмотря на отсутствие проспективных исследований. В настоящее время проходят несколько проспективных клинических исследований у пациентов как с DH- и DE- лимфомами с использованием режима «R-EPOCH в сочетании с ингибитором *BCL-2* (венетоклакс)» (NCT03036904), а также режима «R-EPOCH с иммуномодулирующим агентом (леналидомид)» (NCT02213913).

## Заключение

Таким образом, современные подходы в диагностике и лечении больных ДВККЛ должны учитывать молекулярно-генетические и иммуногистохимические особенности опухоли. Принимая во внимание классификацию ВОЗ-2016, необходимо разделение ДВККЛ на GCB- и non-GCB- подтипы. Для этого в рутинной практике рекомендовано применение Hans-алгоритма. Для более детального разделения на GCB- и ABC- подтипы целесообразно генное профилирование. Также иммуногистохимический анализ позволил выделить DE-лимфому, характеризующуюся гиперэкспрессией маркеров *c-myc* и *bcl-2*, а метод FISH, в свою очередь, позволил идентифицировать DH- и TH- лимфомы с перестройками в генах *MYC*, *BCL-2* и (или) *BCL-6*. Это позволяет определить прогноз заболевания и применить персонализированный подход в терапии. Данные подгруппы высокоагрессивных лимфом имеют неблагоприятный прогноз, который может быть нивелирован ранней интенсификации лечения. В мире по-прежнему нет единого стандарта лечения высокоагрессивных лимфом, что диктует необходимость дальнейшей инициации проспективных клинических исследований с использованием новых лекарственных препаратов.

## Список литературы

1. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность) / Под редакцией А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. — 2018. — ил. — 250 с.
2. Basso K, Dalla-Favera R. Roles of *BCL6* in normal and transformed germinal center B cells. // *Immunol Rev.* — 2012—Vol. 247. — P. 172–183.
3. Cabanillas F, Shah B. Advances in Diagnosis and Management of Diffuse Large B-cell Lymphoma. // *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* — 2017. — Vol. 12. — P. 783–796.
4. Cohen JB. Novel therapies for relapsed/refractory aggressive lymphomas / J.B. Cohen // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* — 2018 Nov 30; 2018 (1): 75–82. Изд. American Society of Hematology.
5. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries and 25 major cancers in 2018. // *Eur J Cancer.* — 2018. — Vol. 103. — P. 356–387.
6. Green TM, Young KH, 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. — Vol. 30. — P. 3460–3467.

7. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Chan WC, Aoun P, Cochran GT, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. // *Blood.* — 2004. — Vol. 103 (1). — P. 275–282.
8. Herrera AF, Mei M, Low L, et al. Relapsed or refractory double-expressor and double-hit lymphomas have inferior progression-free survival after autologous stem-cell transplantation. // *J Clin Oncol.* — 2017. — Vol. —35. — P. 24–31.
9. 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. — Vol. 121-P. 2253–2263.
10. Howlett AF, Snedecor SJ, Landsburg DJ, et al. Front-line, dose-escalated immunochemotherapy is associated with a significant progression-free survival advantage in patients with double-hit lymphomas: a systematic review and meta-analysis. // *Br J Haematol.* — 2015. — Vol. —170. — P. 504–514.
11. Landsburg DJ, Petrich AM, Abramson JS, et al. Impact of oncogene rearrangement patterns on outcomes in patients with double-hit non-Hodgkin lymphoma. // *Cancer.* — 2016. — Vol. — 122. — P. 559–564.
12. Meyer N, Penn LZ. Reflecting on 25 years with *MYC*. // *Nat Rev Cancer.* — 2008. — Vol. 8 — P. 976–990.
13. Nguyen L, Papenhausen P, Shao H. The role of *c-MYC* in B-cell lymphomas: diagnostic and molecular aspects. // *Genes (Basel).* — 2017. — Vol. 8 — E116.
14. Oki Y, Noorani M, Lin P, et al. Double hit lymphoma: the MD Anderson Cancer Center clinical experience. // *Br J Haematol.* — 2014. — Vol. 166. — P. 891–901.
15. Pasqualucci L, R. Dalla-Favera. Genetics of Diffuse Large B Cell Lymphoma // *Blood* 2018. — vol. 131 (21). — P. 2307–2319.
16. Petrich AM, Gandhi M, Jovanovic B, et al. Impact of induction regimen and stem cell transplantation on outcomes in double-hit lymphoma: a multicenter retrospective analysis. // *Blood.* — 2014. — Vol. 124. — P. 2354–2361.
17. Riedell PA, Smith SM. Double hit and double expressors in lymphoma: Definition and treatment. // *Cancer.* — 2018. — Vol 9.
18. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. // *Nat Rev Clin Oncol.* — 2014. — Vol. 11 (1). — P. 12–23.
19. Schmitz R, Wright GW, Huang DW и др. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. // *N Engl J Med.* — 2018. Vol. 378 (15). — P. 1396–1407.
20. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. // *Cancer statistics.* — 2014 // *CA Cancer J Clin.* — 2014. — Vol. 64. — P. 9–29.
21. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. // *CA Cancer J Clin.* — 2018. — Vol. 68. — P. 7–30.
22. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2016.
23. Thieblemont C, Bernard S, Meignan M., et al. Optimizing initial therapy in DLBCL/Best Pract Res Clin Haematol. — 2018. — Vol. 31 (3). — P. 199–208.
24. Tilly H., M. Gomes da Silva, U. Vitolo. Diffuse Large B-Cell Lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines // *Ann Oncol.* — 2015. — Vol. 26 (suppl 5). — P. 116–125.
25. Veldman-Jones MH, Lai Z, Wappett M, et al. Reproducible, quantitative, and flexible molecular subtyping of clinical DLBCL samples using the NanoString Counter system. // *Clin Cancer Res.* — 2015. — Vol. 21. (10). — P. 2367–78.

**Для цитирования.** Харченко Е.В., Артемьева А.С., Поляшкин И.А., Семглазова Т.Ю. Прогностическое значение иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомы // Медицинский алфавит. Серия «Диагностика и онкотерапия». — 2019. — Т. 2. — 17 (392). — С. 5–7.

