

# Transformace indolentního folikulární lymfomu v difuzní velkobuněčný B-lymfom – molekulární podstata „nádorové agresivity“

Transformation of indolent follicular lymphoma into diffuse large B-cell lymphoma – the molecular basis of “cancer aggressiveness”

Kledus F.<sup>1,2</sup>, Filip D.<sup>1,2</sup>, Mráz M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU Brno

<sup>2</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

## Souhrn

**Východiska:** Folikulární lymfom (FL) je nejčastějším indolentním non-Hodgkinským lymfomem v západním světě. U většiny pacientů se jedná o indolentní onemocnění, ale u cca 20 % případů dochází po úvodní léčbě k časnému relapsu, což je spojeno s kratším celkovým přežitím. Další prognosticky závažnou událostí je histologická transformace FL do agresivního lymfomu, nejčastěji do difuzního velkobuněčného B-lymfomu. Díky genomickým studiím a myším modelům se nám lépe daří chápat molekulární podstatu vzniku FL a evoluci „agresivních“ subklonů buněk. Zároveň se také v posledních letech podařilo popsat deregulace molekulárních drah přispívajících k histologické transformaci FL. **Cíl:** V tomto přehledovém článku shrnujeme komplexní mechanismy, které jsou na molekulární úrovni zodpovědné za vznik, progresi a agresivitu FL a jeho transformaci. Domníváme se, že tato pozorování u FL mají obecnější přesah pro pochopení mechanismů, které vedou k evoluci „agresivity“ nádorového onemocnění jako je divergentní evoluce, intraklonální variabilita a nádorová plasticita.

## Klíčová slova

folikulární lymfom – transformovaný folikulární lymfom – histologická transformace – molekulární mechanismy – difuzní velkobuněčný B-lymfom

## Summary

**Background:** Follicular lymphoma (FL) is the most common indolent non-Hodgkin's lymphoma in the Western world. It is an indolent disease in most patients, but about 20% of patients experience an early relapse after initial treatment, which is associated with shorter overall survival. A histological transformation into an aggressive lymphoma, most frequently diffuse large-cell B-lymphoma, represents another prognostically unfavorable event in the course of the disease. Thanks to recent genomic studies and mouse models, we are able to better understand the molecular nature of the FL onset and evolution of “aggressive” subclones of cells. Recently, deregulation of several molecular pathways associated with the histological transformation has also been described. **Purpose:** This review summarizes the complex molecular mechanisms responsible for FL onset, progression, aggressiveness, and transformation. We believe that the observations in FL have some general implications for understanding the mechanisms leading to the evolution of cancer “aggressiveness,” such as divergent evolution, intraclonal variability and tumor plasticity.

## Key words

follicular lymphoma – transformed follicular lymphoma – histological transformation – molecular mechanisms – diffuse large B-cell lymphoma

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Mgr. Marek Mráz, Ph.D.  
CEITEC – Středoevropský technologický institut  
Masarykova univerzita  
Kamenice 5  
625 00, Brno  
e-mail: marek.mraz@email.cz

Obdrženo/Submitted: 20. 1. 2023

Přijato/Accepted: 26. 3. 2023

doi: 10.48095/ccko2023353

## Úvod

Folikulární lymfom (FL) je onemocnění vycházející z B-lymfocytů germinálních center lymfatických uzlin. S incidencí ~3 případy na 100 000 obyvatel za rok se jedná o druhý nejběžnější non-Hodgkinský lymfom po difuzním velkobuněčném B-lymfomu (diffuse large-cell B-lymphoma – DLBCL). Jednou z největších výzev pro léčbu FL je jeho charakteristický heterogenní klinický průběh. Přestože se jedná o nevyléčitelné onemocnění, u většiny pacientů (~80 %) má převážně indolentní průběh, s mediánem doby přežití ~14 let od diagnózy. Revoluci v léčbě pacientů s FL do jisté míry způsobilo uvedení monoklonální protilátky proti CD20 – rituximabu – která se v dnešní době již standardně podává pacientům, často v kombinaci s chemoterapeutiky (např. R-CHOP) jako iniciační léčba, přičemž po 1. linii imunochemoterapie může dále probíhat udržovací léčba samotným rituximabem [1]. U některých pacientů může během jejich dlouhodobé léčby docházet ke vzniku rezistence na léčbu či k opakovaným relapsům onemocnění. Přibližně u 20 % pacientů dochází k progresi onemocnění již během prvních 2 let od první léčby, což je spojeno se zkrácenou dobou celkového přežití [2]. Doby 5 let od diagnózy se dožívá přibližně jen 30 % pacientů s ranou progresí onemocnění, tedy takovou, která nastává do 2 let od zahájení léčby [2,3]. Další kritickou událostí v klinickém průběhu onemocnění je histologická transformace do agresivní formy lymfomu, nejčastěji do DLBCL. Dochází k ní u přibližně 1–3 % pacientů za rok a medián doby přežití po transformaci nyní představuje přibližně 50 měsíců [2], resp. celkové přežití 5 let od rané transformace je cca 30 % [3]. Použití rituximabu mimo jiné snížilo riziko vzniku histologické transformace u pacientů, jejichž iniciační terapie a/nebo udržovací terapie zahrnuje rituximab [3]. Obecně však histologická transformace i nadále představuje kritickou událost v klinickém průběhu FL, která je jednoznačně spojená s kratší dobou přežití a jejíž úspěšná predikce by mohla hrát významnou roli v terapii. V neposlední řadě se pak na biologické úrovni jedná o stále neúplně pochopený

fenomén. Znalost molekulární podstaty komplexních jevů, k nimž dochází při histologické transformaci, je klíčovým prvním krokem k popisu nových biomarkerů a budoucímu zavedení cílené léčby subtypů FL a/nebo transformovaného FL (tFL).

## Principy patogeneze FL

Prvním krokem k pochopení patogeneze FL byl objev „jednotící“ genomické aberace, kterou je translokace t(14;18)(q32;q21), vyskytující se u ~90 % případů FL [4]. Bylo zjištěno, že chybou při procesu rekombinace subgenů (VDJ) pro těžký řetězec imunoglobulinu v kostní dřeni dochází k translokaci genu *BCL2* z chromozomu 14 na chromozom 18 (obr. 1), kde se tento gen dostává pod transkripční kontrolu zesilovače promotoru imunoglobulinového těžkého řetězce (IgH), což vede ke zvýšení jeho exprese. Protein *BCL2* funguje jako inhibitor apoptózy, tudíž B-lymfocyty s jeho zvýšenou expresí získávají výhodu k přežití oproti ostatním B-lymfocytům v germinálních centrech. Pouze tento samotný mechanismus ovšem není dostačující k rozvoji FL, jelikož bylo prokázáno, že B-lymfocyty s touto translokací se v malých počtech vyskytují i v periferní krvi zdravých jedinců (> 50 % populace) [5]. Je tedy zřejmé, že t(14;18) je ranou událostí v procesu patogeneze FL, ale pro rozvoj onemocnění musí dojít ke vzniku dalších aberací.

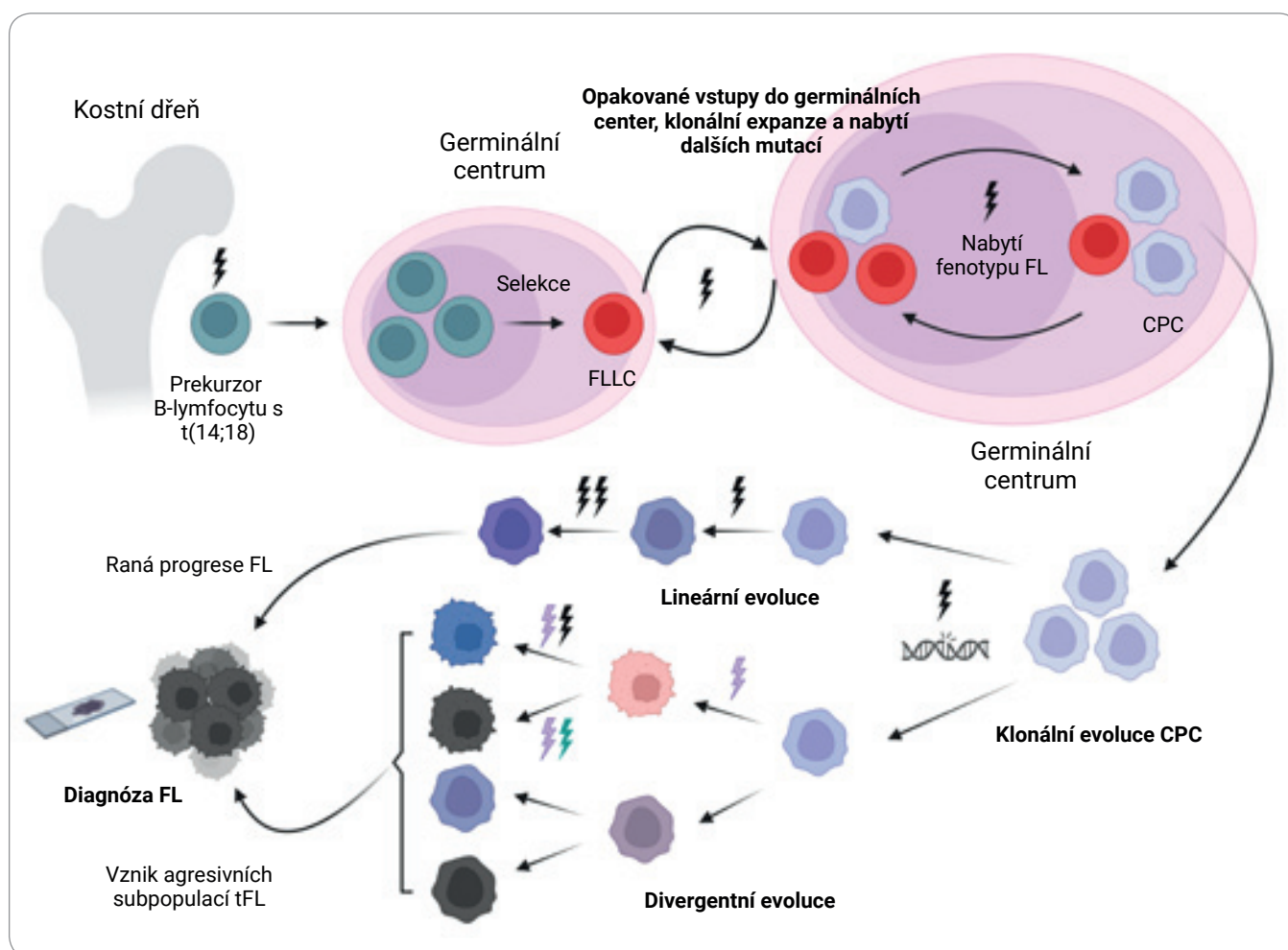
V současné době je tedy představa patogeneze FL taková, že u buněk s translokací *BCL2* nedochází k apoptóze při jejich prvním vstupu do germinálního centra a zároveň zde nepodstupují izotypový přesmyk a tvoří tak populaci buněk označovanou jako buňky podobné buňkám FL (FL-like cells), které exprimují IgM (obr. 1). Díky selekční výhodě způsobené zvýšenou expresí *BCL2* jsou tyto buňky i přes expresi nízké afinitních povrchových imunoglobulinů (BCR) pozitivně selektovány k opakovaným vstupům do germinálních center, kde u nich opakovaně probíhá somatická hypermutace a proliferace [5,6]. Tímto mechanismem tak může u společné progenitorové buňky FL (common progenitor cell – CPC) docházet ke vzniku dalších nových mutací, které mohou vést až

ke vzniku populace plně maligních FL buněk (obr. 1). Tento proces je označován jako klonální evoluce CPC a ve většině případů neprobíhá pouhou lineární akumulací mutací v jednom klonu, ale divergentní evolucí za vzniku různých buněčných subpopulací (obr. 1) [7,8].

Je zřejmé, že kromě již zmíněné jednotlivé aberace t(14;18) se v mutačním spektru FL objevují i další opakovaně se vyskytující mutace. Za druhou nejčastěji se vyskytující deregulací charakteristickou pro FL jsou považovány mutace epigenetických regulátorů, které se vyskytují cca u 96 % případů FL [9]. Nejčastěji popsané mutace jsou pak u genů pro enzymy histonových metyltransferáz *KMT2D* (~75 % případů FL) a *EZH2* (12–30 % FL) a histonové acetyltransferázy *CREBBP* (~65 % FL) [9,10]. Inaktivací, respektive aktivací účinky těchto mutací mohou být značně pleiotropní a ovlivňují expresi velkého množství genů. Výskyt mutací v epigenetických regulátorech u FL před i po transformaci naznačuje jejich roli v rané fázi klonální expanze CPC [11,12].

Dalším zajímavým poznatkem je, že i přes translokaci t(14;18), která způsobuje narušení imunoglobulinového lokusu inaktivací jedné imunoglobulinové alely, dochází u FL díky neporušeným alelám IgH a IgL k formování funkčního BCR a zároveň část pacientů nese aktivující mutace v BCR dráze (cca 20–30 %). Jedním z možných mechanismů aktivace BCR u FL je N-glykosylace variabilních oblastí imunoglobulinových řetězců oligomanóзовými motivy (~80 % případů FL) [13,14]. Dochází při ní k interakci těchto karbohydrátových motivů s povrchovými receptory buněk nádorového mikroprostředí FL, například s C-lektinovým receptorem dendritických buněk (DC-SIGN), což má za důsledek konstantní BCR signalizaci [14,15]. Popsány jsou ale i případy tonické BCR signalizace, či aktivace vlastními antigeny [16,17]. Celkově se tak udržování aktivity BCR signalizační dráhy jeví jako jedna z dalších důležitých strategií k přežití FL.

Normální germinální centra lymfatických uzlin jsou směsí subtypů B-lymfocytů, specializovaných CD4<sup>+</sup> T-folikulárních pomocných buněk (TFH lymfocyty),



Obr. 1. Schéma rané fáze patogeneze FL a klonální evoluce CPC. Buňky s translokací t(14;18) vstupují do germinálního centra, kde probíhá jejich selekce a vzniká populace FLLC buněk. Ty následně mohou opakovaně vstupovat do germinálních center, probíhá jejich klonální expanze a dochází k získání dalších patogenních mutací, což má za následek vznik FL. Nadále pak může probíhat evoluce CPC – lineární, či divergentní. Vytvořeno v aplikaci BioRender.com.

CPC – společná progenitorová buňka, FL – folikulární lymfom, FLLC – buňky podobné buňkám FL (FL-like cells), tFL – transformovaný folikulární lymfom.

folikulárních dendritických buněk (FDC) a dalších buněčných populací, které v mikroprostředí FL mohou mít pro-nebo anti-lymfomové funkce [18]. Han et al. [19] nedávno provedli dosud nejkomplexnější disekci mikroprostředí FL s pomocí „single cell“ sekvenování. Ukázali, že FL obsahují proměnlivé podíly FDC, ale jak přesně tyto buněčné populace ovlivňují patogenezi onemocnění, není zcela jasné. Béguelin et al. [20] ukázali, že mutace *EZH2* narušují interakce mezi B-lymfocyty v germinálních centrech a TFH buňkami, a zároveň posilují interakce s FDC, což je činí vysoce závislými na FDC. Han et al. se zaměřili spíše na podskupiny T-lymfocytů v mikroprostředí FL a identifikovali čtyři třídy dle

T-subpopulací: „imunitně vyčerpané“, „naivní“, „vražné“ a „intermediární“. „Vražné“ FL mikroprostředí zahrnovalo vyčerpané CD8 buňky, TFH, regulační T-lymfocyty (Treg) a nově definovanou populaci cytotoxických CD4 buněk, zatímco na opačném spektru „imunitně vyčerpané“ FL mikroprostředí obsahovalo hojně lymfomové buňky a málo T-lymfocytů, což bylo spojeno s horší prognózou. Ostatní kategorie mikroprostředí dle T-lymfocytů vykazovaly příznivější a vzájemně podobnou prognózu. Zdá se, že u FL je mikroprostředí souhrou mezi somatickými mutacemi buněk FL a populacemi buněk, které jsou geneticky normální, ale funkčně jsou ovlivněny interakcí s nádorovými buňkami.

### Klonální vztah FL a tFL

Jak již bylo výše zmíněno, ke klonální evoluci CPC u většiny případů FL nedochází lineární evolucí jednoho klonu, ale divergentní evolucí, která vede ke vzniku množství různých subpopulací buněk FL [7,8]. Současné poznatky také ukazují, že rozdílné subklonální populace buněk FL se mohou vyskytovat nejen v průběhu času u jednoho pacienta, ale i v různých nádorových uzlinách pacienta ve stejném okamžiku [21]. Tyto poznatky byly potvrzeny i v další studii, kde Haebe et al. [22] prokázali častou genetickou a fenotypovou diverzitu mezi subpopulacemi FL buněk v rámci různých lymfatických uzlin. Autoři navrhli hypotézu o původu této heterogenity,

**Tab. 1. Výběr některých popsaných rizikových faktorů pro transformaci FL s potenciálem pro klinické využití [52].**

Kategorie	Rizikový faktor	Vliv na riziko vzniku transformace
mikroanatomická struktura	narušení sítě CD21+ FDC	zvýšené
	intrafolikulární výskyt CD14+ FDC	zvýšené i snížené
histopatologický stupeň	grade 3A	zvýšené / žádný efekt
	IRF4+ nádorové buňky (IHC barvení)	zvýšené
nádorové mikroprostředí	převážně intrafolikulární lokalizace CD4+ T-lymfocytů	zvýšené
	zvýšený výskyt PD1+ vyčerpaných T-lymfocytů	snížené
	zvýšená exprese FOXP3	zvýšené / žádný efekt
	intra- a perifolikulární distribuce CD8+/FOXP3+ regulačních T-lymfocytů	zvýšené / žádný efekt
vzorce genové exprese	zvýšená mikrovaskulární denzita	zvýšené
	vzorec exprese embryonálních kmenových buněk	zvýšené
polymorfizmy v zárodečné linii	zvýšená aktivita signální dráhy NF-κB	
	SNP rs6457327	zvýšené
rozsáhlé genomické přestavby	delece na chromozomech 1p nebo 6q, zisk na chromozomech 2, 3q nebo 5	zvýšené
	zvýšený výskyt strukturních aberací	zvýšené
alterace jednotlivých genů	mutace, delece <i>TP53</i>	zvýšené
	translokace, mutace <i>MYC</i>	zvýšené
	mutace <i>Fas</i>	zvýšené
	translokace <i>BCL6</i>	zvýšené
	mutace <i>BCL2</i>	zvýšené
aberantní somatická hypermutace	zvýšený výskyt mutací způsobených zvýšenou aktivitou AID	zvýšené
cirkulující nádorová DNA	nízká detekce mutací z plazmy	zvýšené

FDC – folikulární dendritické buňky, IHC – imunohistochemie, SNP – jednonukleotidový polymorfismus

kde původní schopnost buněk migrovat mezi lymfatickými orgány je díky genetickým alteracím ztracena a dojde tak ke vzniku nové divergentní subpopulace FL buněk. Rozdíly pak byly popsány i v mutacích klíčových genů a signálních drah, čímž bylo potvrzeno, že k patogenezi FL patrně může dojít rozdílnými cestami. Kromě rozdílů v rámci subpopulací buněk FL pak byly popsány i rozdíly v rámci populace TFH-lymfocytů (tab. 1). Tyto CD4<sup>+</sup> buňky jsou v současnosti považovány za klíčovou součást nádorového mikroprostředí, které je chápáno jako *de facto* nezbytná komponenta umožňující přežívání FL buněk (tab. 1, obr. 2). Složení mikroprostředí a aktivita jeho jednotlivých složek byla spojena s agresivitou FL a byl popsán jejich vztah

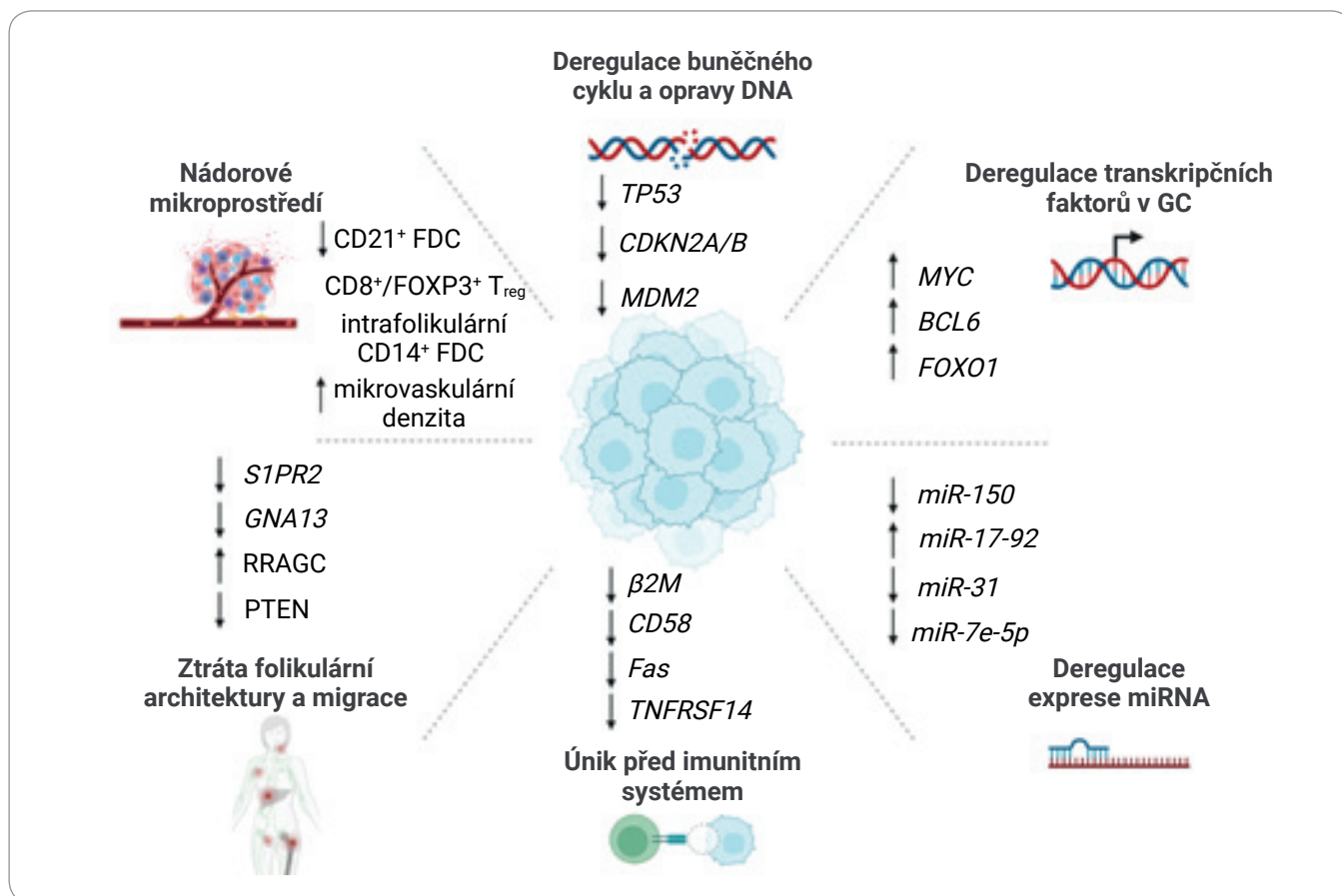
k riziku transformace [23]. Je pravděpodobné, že heterogenita mezi jednotlivými lymfatickými uzlinami může také zvyšovat riziko rané progresse či histologické transformace [22].

Obecně alterace specifické pro tFL vykazují značnou heterogenitu mezi jednotlivými vzorky pacientů a zároveň u většiny FL pacientů byly pozorovány unikátní, klonálně zastoupené aberace, nezávisle získané dominantním klonem FL. Pouze cca 20 % vzorků tak vykazuje vznik transformace lineární kumulací aberací jednoho klonu FL, zatímco většina tFL vzniká tzv. divergentní evolucí [11]. Z uvedeného vyplývá, že za proces histologické transformace FL není pravděpodobně zodpovědná jedna klíčová mutace, ale jedná se o komplexní

proces, ve kterém hraje roli narušení několika molekulárních mechanismů a vliv má také nádorové mikroprostředí (tab. 1, obr. 2).

### Klíčové buněčné procesy narušené při transformaci FL

Na buněčné úrovni dochází při histologické transformaci k zániku typické architektury lymfatické uzliny a germinálních center. Na molekulární úrovni pak současné porozumění biologii histologické transformace předpokládá kombinaci vlivu genetických a epigenetických faktorů s faktory závislými na nádorovém mikroprostředí (obr. 2). Jedním z nejčastěji pozorovaných jevů u tFL (~90 % případů tFL) je výskyt bodových mutací, malých delecí a duplikací postihujících



Obr. 2. Molekulární mechanismy transformace FL. Známé popsané molekulární mechanismy narušené v průběhu histologické transformace FL a konkrétní aberace související s těmito procesy. ↑ označuje zvýšenou aktivitu, expresi, či výskyt, ↓ označuje sníženou aktivitu, expresi, či výskyt. Vytvořeno v aplikaci BioRender.com.

GC – germinální centrum

5' koncové sekvence genů, které vznikly aktivitou enzymu AID (aktivací indukovaná deamináza) [11], který je za normálních okolností zodpovědný za somatické hypermutace imunoglobulinů. Tento jev je proto označován jako aberantní somatická hypermutace (aSHM) a může být jedním z faktorů vedoucích k transformaci FL (tab. 1). Potvrzují to i data, kde byl pozorován vyšší výskyt mutací způsobených aSHM u pacientů s tFL oproti pacientům s netransformovaným FL [11]. O důležitosti mechanismu aSHM vypovídají i výsledky aktuální studie, která se pokusila o vytvoření molekulárních subtypů FL, a právě vzorky s vysokým výskytem aSHM představovaly jeden z klíčových faktorů heterogenity mezi různými subpopulacemi FL [24]. V neposlední řadě pak důležitost tohoto mechanismu ukazuje fakt, že tento typ mutací byl pozorován jak u *BCL2*, tak

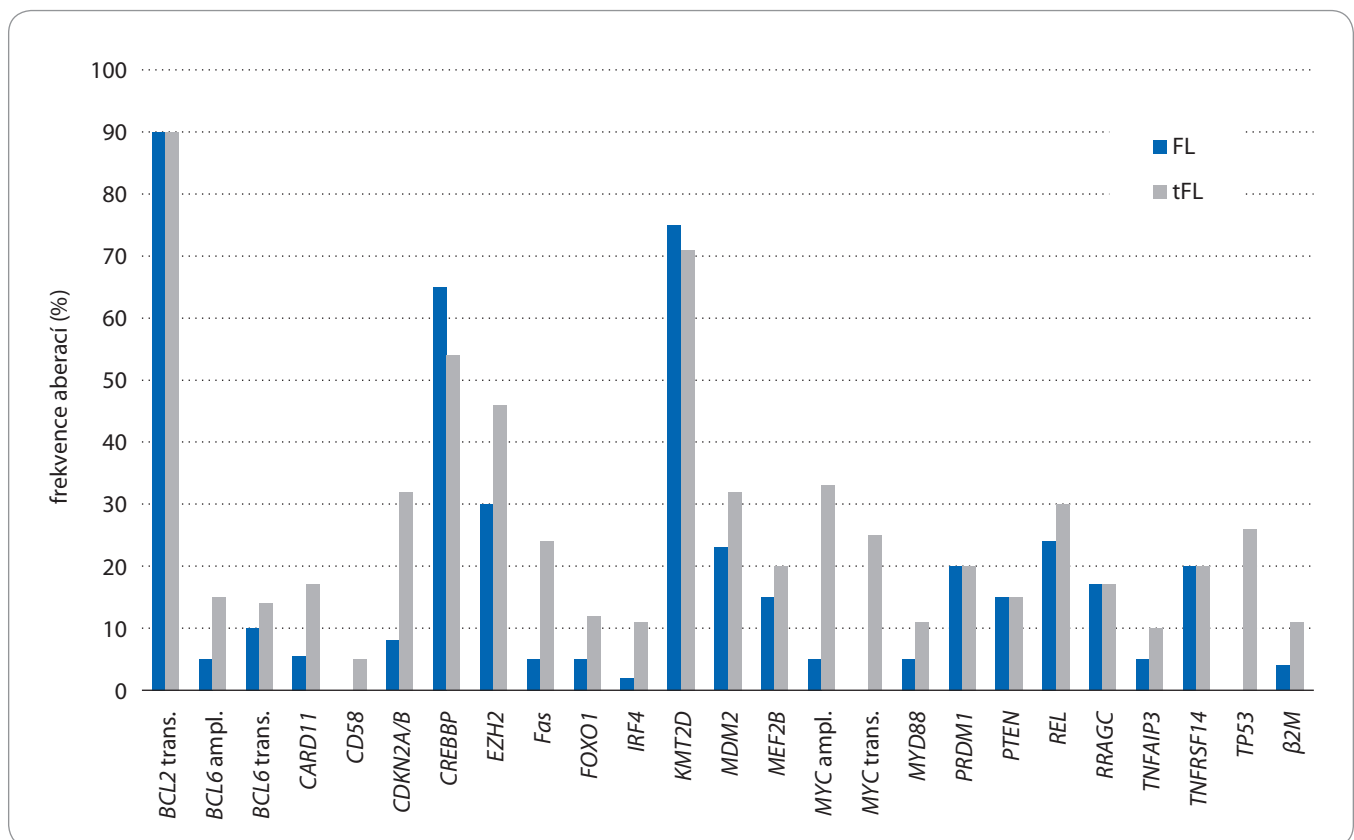
u genů kódujících transkripční faktory (*BCL6* a *MYC*), jejichž deregulace se jeví jako klíčová v procesu transformace FL (tab. 1, obr. 2) [11]. *MYC* a *BCL6* mohou fungovat jako potenciální onkogeny (viz níže) (tab. 1, obr. 2). Mezi hlavní buněčné molekulární mechanismy, za které jsou tyto signální dráhy zodpovědné, patří proliferace, kontrola buněčného cyklu, oprava DNA, dynamika procesů v germinálních centrech, únik imunitnímu systému a v neposlední řadě také deregulace exprese krátkých nekódujících RNA (miRNA) (obr. 2) [10,11,25,26].

Obecně se u agresivních B-lymfomů často vykazují buňky, u nichž došlo například k deregulaci kontroly buněčného cyklu a opravy DNA (obr. 2). Dobrým příkladem je delece genů *CDKN2A/B*, která se vyskytuje až u poloviny případů tFL a zároveň se tyto bialelické alterace téměř nevyskytují u FL (obr. 2, graf 1) [11]. Proteinové

produkty (p14-ARF, p16-INK4A a p15-INK4B) těchto tumor supresorových genů fungují jako negativní regulátory progresu buněčného cyklu z G1 do S fáze a zároveň jako stabilizátory klíčového nádorového supresoru p53. Delece *CDKN2A/B* tak může negativně ovlivňovat nejen regulaci buněčného cyklu, ale také správnou funkci p53 při kontrole poškození DNA. Dalšími popsanými mechanismy jsou přímé vyřazení genu *TP53* z funkce (delece/mutace u ~20 % případů tFL) či amplifikace jeho negativních regulátorů – *MDM2* a *MDM4* (~30 % případů tFL) [7,27] (tab. 1, obr. 2, graf 1). Deregulace signální dráhy p53 hraje konzistentní a důležitou roli v procesu transformace FL (obr. 2).

#### Role transkripčních faktorů u tFL

Tradičně se germinální centra lymfatických uzlin dělí na dvě histologické zóny – tmavou zónu, kde probíhá in-



**Graf 1. Srovnání frekvencí aberací vybraných genů mezi FL a tFL. Procentuální hodnoty jsou orientační a jedná se o průměrné hodnoty z vícero studií [4,7,10,11,27,40].**

ampl. – amplifikace, FL – folikulární lymfom, tFL – transformovaný folikulární lymfom, trans. – translokace.

tenzivní proliferace centroblastů, a světlo, kde naopak centrocyty podstupují selekci na základě afinity k antigenům. Mezi oběma zónami probíhá intenzivní migrace B-lymfocytů a buňky v obou zónách germinálního centra tak považujeme za stejnou populaci v různé fázi aktivity [28]. Výše zmíněné procesy jsou v germinálních centrech řízeny množstvím signálních drah, které jsou definovány klíčovými transkripčními faktory. Za fyziologických podmínek pozorujeme ve světlé zóně zvýšenou aktivitu MYC a NF- $\kappa$ B a sníženou aktivitu BCL6, zatímco ve tmavé zóně zvýšenou aktivitu BCL6, která stimuluje aktivaci AID a souběžně také potlačuje expresi MYC a *CDKN2A/B* (tab. 1, obr. 2) [27].

Jedním z nejcharakterističtějších jevů přítomných u téměř 75 % případů transformace FL je zvýšení aktivity proto-onkogenu MYC (tab. 1, obr. 2). MYC je klíčový transkripční faktor se schopností regulovat stovky cílových genů zapojených do různých buněčných drah a pro-

cesů, jako je proliferace a buněčný cyklus, apoptóza, replikace a opravy DNA, únik imunitního systému, buněčný metabolismus a signalizace BCR. Konkrétně se například zapojuje do inhibice genu *CDKN1B* a jeho produktu p27, který slouží jako negativní regulátor buněčného cyklu, což může v důsledku vést ke zvýšené proliferaci. Regulační účinek MYC je dále umocněn skutečností, že MYC také řídí expresi řady miRNA [25], z nichž mnohé zpětně modulují jeho vlastní expresi a vytvářejí tak komplexní regulační smyčky. Zisk aktivity MYC u tFL byl iniciálně popsán díky detekci jeho chromozomální translokace (25 % případů tFL) a amplifikace (33 % případů tFL) (graf 1) [11], přičemž u vzorků FL se tyto aberace téměř nevyskytují [10,11]. Existují však i jiné mechanismy, které vedou ke zvýšené expresi MYC. Toto zvýšení aktivity MYC podporuje lymfomagenezi a histologickou transformaci „indolentních“ B-buněčných malignit [29]. Význam MYC byl rozpoznán

také v klasifikaci lymfomů [30], kde byly B-lymfomy s translokací BCL2 a MYC vyčleněny jako specifický subtyp, tzv. lymfom se dvěma aberacemi (double-hit lymphoma). U části double-hit DLBCL lze předpokládat původ z FL [31]. Méně častý je pak také současný výskyt aberací MYC, BCL2 a BCL6 [31] a pak se hovoří o lymfomu se třemi aberacemi (triple-hit lymphoma).

Kromě translokací MYC byly popsány další způsoby, kterými dochází u lymfomů k deregulaci exprese MYC. Jedním z mechanismů aktivace MYC, nezávislém na přímém zvýšení počtu jeho kopií či lokalizaci, je již dříve zmíněná chronicky aktivní signalizace BCR. Pro FL jsou typické oligomanózoové motivy na BCR, které reagují s DC-SIGN lektinem na makrofázích v nádorovém mikroprostředí, což mimo jiné přispívá právě k aktivaci MYC, přičemž tento způsob aktivace MYC nebyl pozorován u normálních B-lymfocytů [14]. Aktivita MYC může být také důsledkem interakce buněk

FL s T-lymfocyty poskytujícími CD40 ligand, což je mechanismus dobře známý u chronické lymfatické leukemie [32,33].

Se zvýšenou aktivitou MYC dále také souvisí deregulace miRNA (obr. 2) [25, 26,29]. Nejčastěji zvýšená aktivita MYC vede ke snížení exprese miRNA u B-lymfocytů. U některých z nich se pak podařilo přímo popsat roli jejich deregulace v procesu transformace FL. Studie porovnávající vzorky FL a tFL ukázala, že zvýšená aktivita MYC přispívá ke snížení exprese *miR-150* (obr. 2), což v důsledku vede ke zvýšené aktivitě transkripčního faktoru FOXP1 [25]. Ten funguje jako důležitý regulátor aktivace B-lymfocytů a jeho deregulace byla asociována s kratší dobou přežití u FL a zvýšenou aktivitou BCR dráhy [25,34,35]. Recentní studie pak popsala funkce další miRNA, k jejímuž snížení aktivity také dochází důsledkem aktivity MYC a je asociována se zhoršeným klinickým průběhem FL. Jedná se o *miR-7e-5p* (obr. 2), jejímž cílovým genem je gen kódující ligand Fas (FasL), který přispívá k transformaci FL pomocí imunoprese nádorového mikroprostředí [36]. Aktivita MYC však může mít i opačný efekt na expresi miRNA, jako například u klastru *miR-17-92* (obr. 2), u kterého dochází působením MYC k jeho zvýšené expresi (15 % vzorků tFL oproti 7 % vzorků FL) [27].

Masivní proliferace a genomová nestabilita, ke které by došlo u buněk s amplifikovaným MYC, by byla problematicky udržitelná i pro nádorové buňky. MYC totiž kromě proliferace a buněčného růstu zároveň podporuje senescenci a apoptózu buněk, jako kontrolní samoregulační mechanismus [29,37]. Aktivita MYC tudíž musí být i u nádorových buněk balancována. Jedním z těchto mechanismů je například inhibice translace MYC zprostředkovaná *miR-17/20*, které snižují expresi kinázy kódované *Chek2*, čímž dochází ke zvýšení homeostázy nádorových buněk [37].

Druhým zásadním transkripčním faktorem, jehož deregulace má vliv při patogenezi a transformaci FL, je BCL6 (tab. 1, obr. 2). Na rozdíl od MYC se jedná o klíčový transkripční faktor buněk tmavé zóny. Expresí BCL6 dochází k represí diferenciaci B-lymfocytů na plazmatické buňky, zatímco aktivita transkripčních

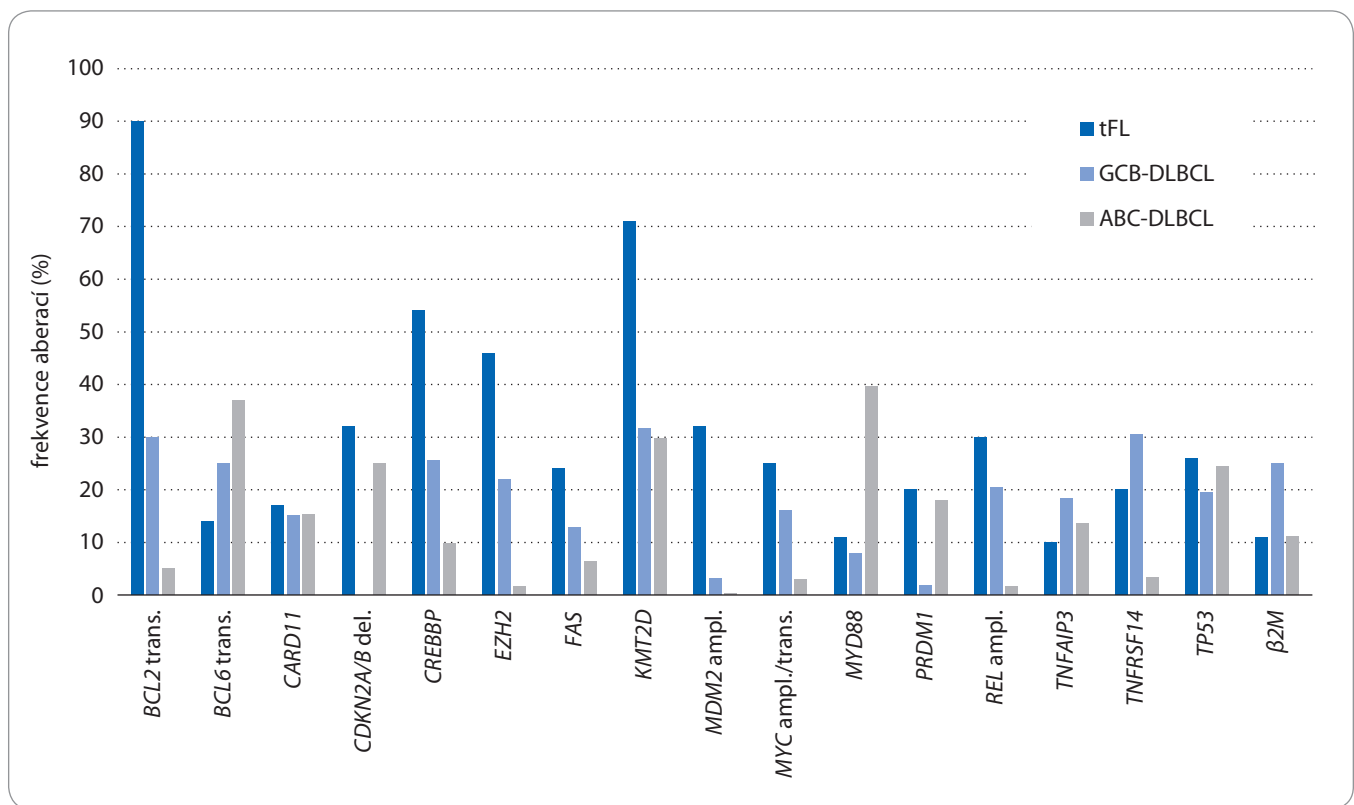
faktorů PRDM1 a IRF4 naopak podporuje diferenciaci těchto buněk [27]. V souladu s těmito poznatky pak delece PRDM1 a IRF4 a/nebo amplifikace BCL6 byly pozorovány u nezanedbatelného množství případů tFL (43 % případů tFL), stejně jako mutace genu *MEF2B* (~20 % případů tFL), který kóduje transkripční aktivátor BCL6 [27] (graf 1). Blokáce diferenciaci B-lymfocytů v germinálních centrech se tak jeví jako důležitý faktor v procesu transformace FL. Zároveň je s aktivitou BCL6 spojen další důležitý transkripční faktor buněk tmavé zóny – FOXP1, jehož mutace byly také popsány u tFL a regulují aktivitu AKT dráhy (~15 % případů tFL) (obr. 2, graf 1) [11,38]. FOXP1 funkce jsou propojeny s funkcemi BCL6, neboť svou aktivitou udržuje „transkripční program tmavé zóny“, vč. aktivace transkripce chemokinového receptoru CXCR4, a ve spolupráci s BCL6 pak také potlačování exprese genů zodpovědných za aktivaci imunitního systému, opravy DNA a diferenciaci plazmatických buněk [39].

V neposlední řadě pak k nesmírné komplexnosti FL transformace přispívá i deregulace NF- $\kappa$ B dráhy, tj. signalizace typické pro buňky světlé zóny germinálního centra (tab. 1). Konstitutivní aktivace této anti-apoptotické dráhy je charakteristická pro tzv. ABC subtyp DLBCL, jeden ze dvou hlavních molekulárních podtypů DLBCL. Deregulace genů zapojených do této signální dráhy byly pozorovány i u tFL a jsou předpokládány podobné efekty těchto mutací [7,10]. Pozorovány byly například amplifikace *REL* (~30 % případů tFL), delece *TNFAIP3* (~10 % případů tFL), mutace *MYD88* (~11 % případů tFL) a mutace *CARD11* (~17 % případů tFL) (graf 1) [10,27]. Mimoto je s NF- $\kappa$ B signalizací spojena také zvýšená exprese *IRF4*, která přispívá k diferenciaci buněk světlé zóny (tab. 1). Jedná se tak do jisté míry o protikladné tvrzení k výše zmíněnému, kde transformace FL byla spojována s aktivací BCL6, a naopak ztrátou IRF4 a PRDM1. Bylo však popsáno, že u některých případů tFL může zvýšená exprese *IRF4* sloužit jako marker rané transformace FL (tab. 1) [40]. Ukazuje se tak, že u FL/tFL jsou signální dráhy a molekulární mechanismy zodpovědné za

buněčné programy v rámci germinálních center navzájem provázané a často i protisměrné. Jedná se tak o další důkaz plasticity a heterogenity nádorových B-lymfocytů, jejichž narušení může podporovat transformaci FL. Různé aktivní buněčné programy v rámci germinálních center pak přispívají k míře podobnosti tFL s různými subtypy *de novo* DLBCL (viz níže) [4,22,40].

### Únik před imunitním systémem u tFL

Jedním z obecných mechanismů při úniku nádorů před imunitním systémem bývá potlačení exprese antigen prezentujících molekul a ligandů receptorů smrti u nádorových buněk. Příkladem může být například mutace či delece člena rodiny faktorů nekrotizujících nádory (TNF) *Fas* (~30 % případů tFL) (tab. 1, obr. 2, graf 1) [11]. Receptor smrti Fas slouží jako důležitý mediátor apoptózy B-lymfocytů germinálních center s nízkoaflinitivními, popřípadě autoreaktivními BCR [41]. Situace je poněkud komplexnější u dalšího člena rodiny TNF – *TNFRSF14* (*HVEM*), u kterého byly také popsány inaktivační mutace či delece, které byly již dříve dány do souvislosti se zhoršeným klinickým průběhem u FL (obr. 2) [42]. Protein kódovaný genem *TNFRSF14* slouží jako buněčný membránový receptor, jehož ligandem je protein BTLA (B a T-lymfocytární atenuátor). Za fyziologických podmínek funguje signalizace HVEM-BTLA jako jistý kontrolní mechanismus mezi buňkami imunitního systému díky negativní regulaci interakcí B-lymfocytů v germinálních centrech s TFH-lymfocyty. V případě vyřazení této signalizace dostávají nádorové buňky klíčové signály k přežití od svého buněčného mikroprostředí a dochází tak k podpoře lymfomageneze v germinálních centrech [43]. Inaktivační mutace či delece genu *TNFRSF14* byly potvrzeny i u pacientů s tFL (~20 % případů tFL) [10] (graf 1). Jako další specifické mutace pro transformaci FL se pak jeví bialelické mutace či delece genů  $\beta$ 2M (~11 % případů tFL) a *CD58* (~4 % případů tFL) (obr. 2, graf 1) [11,27].  $\beta$ 2M kóduje podjednotku molekuly hlavního histokompatibilního systému 1. třídy (HLA-I), která slouží k prezenci antigenů



**Graf 2. Srovnání frekvencí aberací vybraných genů mezi tFL, GCB-DLBCL a ABC-DLBCL. Procentuální hodnoty jsou orientační a jedná se o průměrné hodnoty z vícero studií [4,10,11,27,40,53].**

ABC-DLBCL – ABC subtyp difuzního velkobuněčného B-lymfomu, ampl. – amplifikace, del. – delece, GCB-DLBCL – subtyp difuzního velkobuněčného B-lymfomu odvozeného od buněk germinálního centra, tFL – transformovaný folikulární lymfom, trans. – translokace.

CD8<sup>+</sup> cytotoxickým T-lymfocytům, které v případě rozpoznání cizorodé struktury zahájí destrukci buňky. Podobnou funkci má také CD58, který funguje jako ligand pro receptor CD2, který je přítomný na T-lymfocytech a NK buňkách a umožňuje jejich správnou adhezi a aktivaci [44]. Je tedy zřejmé, že mechanismy úniku před imunitním systémem jsou také součástí patogeneze FL a jeho následné transformace. Interakce nádorových a nenádorových buněk (tj. převážně jiných buněk imunitního systému) v nádorovém mikroprostředí hraje stěžejní roli v procesu patogeneze a transformace FL.

### Zánik architektury uzlin u tFL a migrace z germinálního centra

Jako do jisté míry finální krok při transformaci FL můžeme chápat zánik tzv. folikulární architektury, tedy typického uspořádání buněk v lymfatických uzlinách u FL (obr. 2). Jedním z popsaných mechanismů, díky kterému B-lymfocyty setrvávají v germinálních centrech, je ex-

prese receptorů spřažených s G-proteinem (GCPR) S1PR2 a P2RY8 (obr. 2), které při vazbě s jejich asociovanými G-proteiny Gα12 a Gα13 aktivují GTPázu RhoA. Díky zvýšené aktivitě RhoA dochází k inhibici migrace B-lymfocytů a zároveň také k inhibici signální dráhy AKT [45]. Na myších modelech bylo prokázáno, že v důsledku inaktivačních mutací genů zapojených do inhibice migrace B-lymfocytů dochází k aktivaci AKT a šíření B-lymfocytů z germinálních center do periferní krve, lymfy a kostní dřeně, čímž dochází k zániku architektury germinálních center, typické pro FL [45]. U DLBCL se vyskytují inaktivující mutace genů zapojených do inhibice migrace B-lymfocytů (S1PR2, GN13) u ~30 % případů subtypu GCB-DLBCL [46]. Obdobné inaktivační mutace genů (např. S1PR2, GNA13, ARHGEF1, P2RY8) byly prokázány i u tFL (~22 % případů tFL), stejně jako mutace vedoucí k aktivaci signální dráhy AKT [10]. Zvýšená aktivita AKT pak v tomto případě podporuje přežívání

a proliferaci buněk migrujících z germinálního centra. K zvýšení AKT aktivity mohou přispívat současně se vyskytující mutace signálních drah mTOR – například aktivační mutace RRAGC (17 % případů tFL) a PI3K/AKT/mTOR – například delece/ztráta funkce PTEN (~15 % případů tFL) (obr. 2). Inaktivační mutace genů zprostředkovávajících homeostázu germinálních center společně s aktivací signální dráhy AKT tak mohou představovat jeden ze zlomových momentů histologické transformace FL spojené se zánikem folikulárního uspořádání germinálních center.

### Srovnání tFL s de novo DLBCL

Histologicky a morfologicky jsou tFL a de novo DLBCL téměř nerozlišitelné a otázkou tak zůstává, jaký je mezi těmito dvěma chorobami genetický rozdíl. Některé z nejtypičtějších mutací pro FL a tFL byly popsány i u de novo DLBCL. Jedná se například o translokace genů BCL2, BCL6 a MYC (graf 2) a stejně jako



FL/tFL, tak i *de novo* DLBCL může být klasifikován jako lymfom se dvěma (*double hit*) (*MYC* a *BCL2* nebo *BCL6*) či třemi (*triple hit*) aberacemi (*MYC*, *BCL2* a *BCL6*). U DLBCL s translokací *BCL2* je do jisté míry předpokládán vznik z FL minimálně u části případů [31]. Mezi další společné klíčové dráhy pak může patřit zvýšená exprese *MDM2*, vedoucí k inhibici p53, aktivaci mutace histonmetyltransferázy *EZH2*, aktivace signálních drah NF- $\kappa$ B (amplifikace *REL*) a PI3K/AKT/mTOR (delece *PTEN*), obdobný mechanismus zajišťující migraci z germinálních center (inaktivační mutace genů *S1PR2*, *GNA13* aj.) a také výskyt aSHM [46,47]. Narušení těchto signálních drah se sice vyskytují u obou onemocnění, ovšem s rozdílnou frekvencí. U případů tFL se téměř vždy nachází translokace *BCL2* a mutace epigenetických modifikátorů, a je tudíž alespoň částečně zachován typický expresní profil FL. Jiná situace pak nastává u *de novo* DLBCL, kde podle expresních profilů rozlišujeme dva základní molekulární podtypy – ABC a GCB-DLBCL, které mají svou charakteristickou a vzájemně rozdílnou expresi, přičemž exprese tFL se může přibližovat oběma z těchto podtypů [11].

Analýzy genové exprese obou onemocnění ze vzorků pacientů ukázaly, že některé expresní klastry genů vykazují podobnost mezi tFL a *de novo* DLBCL, zatímco jiné naopak poukazují na jejich rozdílnost [48]. Vzorky pacientů s *de novo* DLBCL vykazovaly vyšší expresi genů spojených s buněčnou proliferací, buněčným cyklem a také genů cílených *MYC* oproti vzorkům pacientů s tFL. Pro vzorky pacientů s tFL pak byla oproti vzorkům pacientů s *de novo* DLBCL identifikována zvýšená exprese genů spojených se signálními drahami B-lymfocytů (např. *SYK*, *LYN*, *BLK*, *CD79A*, *CD79B*), anti-proliferacních genů (*WEE1* a *BTG1*) a genů kódujících povrchové markery B-lymfocytů (*MME/CD10*, *MS4A2/CD20* a *CDw52/CAMPATH1*) [48]. V novější studii pak byla ukázána i rozdílná exprese na úrovni miRNA mezi oběma onemocněními, kde bylo potvrzeno 14 rozdílně exprimovaných miRNA [49]. V čem naopak vzorky tFL a *de novo* DLBCL vykazovaly podobnou

expresi, byly geny hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) (geny *HLA*,  $\beta$ 2M, *PSMB8*, *PSMB9*), s výjimkou genu pro HLA-E, jenž funguje jako hlavní ligand pro inhibiční receptor NK buněk, který vykazoval významně vyšší hodnoty exprese u případů tFL oproti *de novo* DLBCL [48]. Celkové porovnání exprese výše zmíněných genů u vzorků v době diagnózy FL, v době vzniku transformace FL a při diagnóze *de novo* DLBCL ukázaly, že tFL má více podobnou expresi se vzorky FL než se vzorky *de novo* DLBCL [48]. Tyto závěry pak byly potvrzeny i výsledky pozdějších studií, kde bylo prokázáno, že mutace genů typické pro FL (*KMT2D*, *CREBBP*, *BCL2*) jsou výrazněji zastoupeny u tFL [11].

Ještě konkrétnější informace nám pak poskytují studie, které se zabývají podobností tFL se dvěma hlavními molekulárními subtypy *de novo* DLBCL, tedy GCB-DLBCL a ABC-DLBCL. Bylo zjištěno, že tFL na základě své exprese může být podobný oběma z těchto subtypů [10,11], přičemž klíčovou roli zde hraje rozdílná strategie proliferace, kde u tFL byl pozorován jak vzorec typický pro buňky tmavé zóny (na *BCL6* závislý tFL, podobný GCB-DLBCL), tak vzorec buněk světlé zóny (na NF- $\kappa$ B a *MYC* závislý tFL, podobný ABC-DLBCL) [27]. Ze srovnávacích studií pak vyplynulo, že větší procento případů tFL (70–80 %) je geneticky bližší GCB-DLBCL [11,27,40]. Ze srovnání genomických profilů vzorků tFL se vzorky obou subtypů *de novo* DLBCL vyplynulo, že mezi hlavní společné znaky tFL a GCB-DLBCL patří translokace *BCL2*, amplifikace *REL* a mutace *EZH2*, *GNA13* a *TNFRSF14* (graf 2) [11]. Nelze však tvrdit, že by tFL a GCB-DLBCL byly totožné, jelikož byly pozorovány i genetické aberace specifické spíše pro tFL. Specificky se jeví například bialelická delece *CDKN2A/B* (~30 % případů tFL a 0 % případů GCB-DLBCL) (graf 2) [11]. V menším procentu případů (< 30 %) pak tFL vyazuje větší podobnost s expresním vzorcem ABC-DLBCL [27,40]. Mezi typické aberace ABC-DLBCL, které se vyskytují jak u FL, tak u tFL, patří mutace v genech způsobující aktivace signální dráhy NF- $\kappa$ B. Konkrétně se jedná o mutace *CARD11*, *MYD88* a *TNFAIP3* (graf 2), přičemž pouze mutace *MYD88* byly zřetelně více za-

stoupené u případů tFL podobného ABC-DLBCL (20 % případů oproti 5 % případů) oproti tFL podobnému GCB-DLBCL [10]. Zároveň je pro tFL podobný ABC-DLBCL typické, že ve vyšší míře vzniká z FL bez charakteristické translokace *BCL2* a zároveň u něj často dochází ke zvýšené expresi *IRF4* (tab. 1) [40]. Obecným závěrem vyplývajícím z těchto studií je, že tFL vzniká z agresivní subpopulace FL, u které vinou získání dalších mutací (často sdílených právě s *de novo* DLBCL) za vlivu nádorového mikroprostředí dochází k transformaci, přičemž na genetické úrovni tFL zůstává na pomězi mezi FL a některého z molekulárních subtypů *de novo* DLBCL.

### Závěr

Molekulární mechanismy rané progresu a transformace FL nejsou zatím zcela popsány. Předpokládá se, že příčinou heterogenity klinického průběhu u pacientů s FL je právě komplexita tohoto onemocnění na buněčné a molekulární úrovni. Jedním z významných zdrojů této komplexity je vznik maligních subklonálních populací v lymfatických uzlinách pacienta, které vznikají procesem tzv. divergentní evoluce. Subklonální populace mohou nabýt biologicky zřetelně jiných charakteristik, což může vést ke vzniku buněk s vysokou mírou proliferace a následnému zániku folikulární architektury germinálního centra a tím „transformaci“ choroby na agresivní lymfom. Taková histologická transformace (typicky do DLBCL) je spojena se zvýšenou agresivitou onemocnění a patří mezi nejčastější příčinu úmrtí u pacientů s FL [50]. I přesto, že se na histologické úrovni od sebe tFL a DLBCL téměř neodlišují, ze studií vyplývá, že genom a také transkriptom tFL je oproti *de novo* DLBCL unikátní. V průběhu transformace FL dochází k alespoň částečnému zachování expresního profilu typického pro FL a z obou subtypů DLBCL je pak u většiny případů tFL pozorována vyšší podobnost exprese s GCB-DLBCL spíše než ABC-DLBCL. Proto je důležité přistupovat k tFL jako k unikátní biologické entitě. Na základě těchto studií bylo popsáno několik faktorů, u kterých se předpokládá důležitá role v procesu transformace. Klíčové jsou mutace

genů zapojených do oprav DNA (*TP53*, *CDKN2A/B*) a dále pak mutace genů se značně pleiotropním účinkem, jako jsou transkripční faktory. Zatímco u epigenetických regulátorů je jejich role dobře popsána hlavně při vzniku choroby, deregulovaná exprese transkripčních faktorů může být jednou z klíčových událostí v procesu transformace. Transkripční faktory se významně podílejí na kontrole procesů jako je buněčný cyklus, opravy DNA, proliferace, diferenciace, buněčný metabolismus a buněčná smrt, přičemž buňky s aberantní regulací těchto drah mohou být pozitivně selektovány. Jako jeden z velmi důležitých transkripčních faktorů deregulovaných při transformaci FL se jeví např. *MYC*. Kromě regulace exprese množství protein-kódujících genů, s aktivitou *MYC* pak také úzce souvisí deregulovaná exprese miRNA, které slouží jako globální regulátory transkriptomu tím, že každá jednotlivě může mít desítky až stovky cílů. V neposlední řadě hrají zásadní roli ve vzniku a progresi FL i nenádorové buňky a jejich komplexní interakce s maligními B-lymfocyty v mikroprostředí lymfomu. Zatímco se buňky FL snaží uniknout rozpoznání nádorově specifickými T-lymfocyty, jiné nenádorové buňky poskytují signály nutné k přežití a proliferaci buněk FL. Krom již dříve popsaných FL-makrofág interakcí skrze oligomanózoové motivy na BCR se v současnosti stále větší pozornost věnuje interakcím s TFH-lymfocyty.

Závěrem lze konstatovat, že pochopení biologie tFL a agresivních subtypů FL je klíčové pro zlepšení stratifikace pacientů a personalizaci léčby. Pro FL a jeho časnou progresi či transformaci je přetrvávající snaha o nalezení biomarkerů, které by umožnily stratifikaci pacientů a mohly tak přispívat např. k úpravě terapeutické strategie. Jako jeden z možných kandidátů se jeví například exprese vybraných miRNA, které jsou díky své krátké délce velmi stabilní ve fixovaných tkáňových vzorcích, a proto mohou sloužit jako relativně snadno dostupné biomarkery. Z recentních studií však vyplývá, že bude obtížné predikovat riziko transformace z analýzy biopsie jednotlivé uzliny vzhledem k vysoké heterogenitě subklonálních populací mezi jednotlivými lymfomovými uz-

linami. Výše zmíněné rozdíly v mutačním a transkripčním profilu různých FL subpopulací mohou hrát roli v rozdílné odezvě na danou léčbu. V neposlední řadě se v dnešní době do klinických studií dostává stále více cílených léčiv, která specificky ovlivňují klíčové biologické procesy neoplastických buněk (např. *EZH2* inhibitory) nebo aktivují imunitní systém proti nádoru (checkpoint inhibitory, imunomodulační léčiva). Jako experimentální cíle se začínají také testovat inhibitory transkripčních faktorů, například *Omomyc*, který inhibuje funkci transkripčního faktoru *MYC* [51]. Vývoj a správná optimalizace nových léčiv je však závislá na znalostech molekulárních mechanismů, na popsání klíčových signálních drah a interakcí v buněčném mikroprostředí.

#### Poděkování

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-03-00117 a NU23-08-00448; Projektem Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU; podpořeno MZČR-RVO (FNBr, 65269705); a MUNI/A/1224/2022.

#### Literatura

- Salles G, Seymour JF, Offner F et al. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet* 2011; 377(9759): 42–51. doi: 10.1016/S0140-6736(10)62175-7.
- Casulo C, Byrtek M, Dawson KL et al. Early relapse of follicular lymphoma after rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone defines patients at high risk for death: an analysis from the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol* 2015; 33(23): 2516–2522. doi: 10.1200/JCO.2014.59.7534.
- Federico M, Caballero Barrigón MD, Marcheselli L et al. Rituximab and the risk of transformation of follicular lymphoma: a retrospective pooled analysis. *Lancet Haematol* 2018; 5(8): e359–e367. doi: 10.1016/S2352-3026(18)30090-5.
- Devan J, Janikova A, Mraz M. New concepts in follicular lymphoma biology: from BCL2 to epigenetic regulators and non-coding RNAs. *Semin Oncol* 2018; 45(5–6): 291–302. doi: 10.1053/j.seminoncol.2018.07.005.
- Roulland S, Faroudi M, Mamessier E et al. Early steps of follicular lymphoma pathogenesis. *Adv Immunol* 2011; 111: 1–46. doi: 10.1016/B978-0-12-385991-4.00001-5.
- Sungalee S, Mamessier E, Morgado E et al. Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *J Clin Invest* 2014; 124(12): 5337–5351. doi: 10.1172/JCI72415.
- Okosun J, Bödör C, Wang J et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nat Genet* 2014; 46(2): 176–181. doi: 10.1038/ng.2856.
- Kridel R, Chan FC, Mottok A et al. Histological transformation and progression in follicular lymphoma: a clonal

- evolution study. *PLoS Med* 2016; 13(12): e1002197. doi: 10.1371/journal.pmed.1002197.
- Green MR, Kihira S, Liu CL et al. Mutations in early follicular lymphoma progenitors are associated with suppressed antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(10): E1116–E1125. doi: 10.1073/pnas.1501199112.
  - Bouska A, Zhang W, Gong Q et al. Combined copy number and mutation analysis identifies oncogenic pathways associated with transformation of follicular lymphoma. *Leukemia* 2017; 31(1): 83–91. doi: 10.1038/leu.2016.175.
  - Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Rep* 2014; 6(1): 130–140. doi: 10.1016/j.celrep.2013.12.027.
  - Green MR, Gentles AJ, Nair RV et al. Hierarchy in somatic mutations arising during genomic evolution and progression of follicular lymphoma. *Blood* 2013; 121(9): 1604–1611. doi: 10.1182/blood-2012-09-457283.
  - Radcliffe CM, Arnold JN, Suter DM et al. Human follicular lymphoma cells contain oligomannose glycans in the antigen-binding site of the B-cell receptor. *J Biol Chem* 2007; 282(10): 7405–7415. doi: 10.1074/jbc.M602690200.
  - Linley A, Krysov S, Ponzoni M et al. Lectin binding to surface Ig variable regions provides a universal persistent activating signal for follicular lymphoma cells. *Blood* 2015; 126(16): 1902–1910. doi: 10.1182/blood-2015-04-640805.
  - Amin R, Mourcin F, Uhel F et al. DC-SIGN-expressing macrophages trigger activation of mannoseylated IgM B-cell receptor in follicular lymphoma. *Blood* 2015; 126(16): 1911–1920. doi: 10.1182/blood-2015-04-640912.
  - Young RM, Staudt LM. Targeting pathological B cell receptor signalling in lymphoid malignancies. *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12(3): 229–243. doi: 10.1038/nrd3937.
  - Huet S, Sujobert P, Salles G. From genetics to the clinic: a translational perspective on follicular lymphoma. *Nat Rev Cancer* 2018; 18(4): 224–239. doi: 10.1038/nrc.2017.127.
  - Mourcin F, Verdère L, Roulois D et al. Follicular lymphoma triggers phenotypic and functional remodeling of the human lymphoid stromal cell landscape. *Immunity* 2021; 54(8): 1788–1806.e7. doi: 10.1016/j.immuni.2021.05.019.
  - Han G, Deng Q, Marques-Piubelli ML et al. Follicular lymphoma microenvironment characteristics associated with tumor cell mutations and MHC class II expression. *Blood Cancer Discov* 2022; 3(5): 428–443. doi: 10.1158/2643-3230.BCD-21-0075.
  - Béguelin W, Teater M, Meydan C et al. Mutant *EZH2* induces a pre-malignant lymphoma Niche by reprogramming the immune response. *Cancer Cell* 2020; 37(5): 655–673.e11. doi: 10.1016/j.ccell.2020.04.004.
  - Araf S, Wang J, Korfi K et al. Genomic profiling reveals spatial intra-tumor heterogeneity in follicular lymphoma. *Leukemia* 2018; 32(5): 1261–1265. doi: 10.1038/s41375-018-0043-y.
  - Haeb S, Shree T, Sathe A et al. Single-cell analysis can define distinct evolution of tumor sites in follicular lymphoma. *Blood* 2021; 137(21): 2869–2880. doi: 10.1182/blood.202009855.
  - Glas AM, Knoops L, Delahaye L et al. Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25(4): 390–398. doi: 10.1200/JCO.2006.06.1648.
  - Crouch S, Painter D, Barrans SL et al. Molecular sub-clusters of follicular lymphoma: a report from the United Kingdom's Haematological Malignancy Research Network. *Blood Adv* 2022; 6(21): 5716–5731. doi: 10.1182/bloodadvances.2021005284.
  - Musilova K, Devan J, Cerna K et al. miR-150 downregulation contributes to the high-grade transformation of follicular lymphoma by upregulating *FOXP1* levels. *Blood* 2018; 132(22): 2389–2400. doi: 10.1182/blood-2018-06-855502.

26. Musilova K, Mraz M. MicroRNAs in B-cell lymphomas: how a complex biology gets more complex. *Leukemia* 2015; 29(5): 1004–1017. doi: 10.1038/leu.2014.351.
27. Bouska A, McKeithan TW, Deffenbacher KE et al. Genome-wide copy-number analyses reveal genomic abnormalities involved in transformation of follicular lymphoma. *Blood* 2014; 123(11): 1681–1690. doi: 10.1182/blood-2013-05-500595.
28. Victora GD, Dominguez-Sola D, Holmes AB et al. Identification of human germinal center light and dark zone cells and their relationship to human B-cell lymphomas. *Blood* 2012; 120(11): 2240–2248. doi: 10.1182/blood-2012-03-415380.
29. Filip D, Mraz M. The role of MYC in the transformation and aggressiveness of „indolent“ B-cell malignancies. *Leuk Lymphoma* 2020; 61(3): 510–524. doi: 10.1080/10428194.2019.1675877.
30. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: lymphoid neoplasms. *Leukemia* 2022; 36(7): 1720–1748. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2.
31. Cucco F, Barrans S, Sha C et al. Distinct genetic changes reveal evolutionary history and heterogeneous molecular grade of DLBCL with MYC/BCL2 double-hit. *Leukemia* 2020; 34(5): 1329–1341. doi: 10.1038/s41375-019-0691-6.
32. Hoferkova E, Kadakova S, Mraz M. In vitro and in vivo models of CLL-T cell interactions: implications for drug testing. *Cancers* 2022; 14(13): 3087. doi: 10.3390/cancers14133087.
33. Sharma S, Pavlasova GM, Seda V et al. miR-29 modulates CD40 signaling in chronic lymphocytic leukemia by targeting TRAF4: an axis affected by BCR inhibitors. *Blood* 2021; 137(18): 2481–2494. doi: 10.1182/blood.2020005627.
34. Mottok A, Jurinovic V, Farinha P et al. FOXP1 expression is a prognostic biomarker in follicular lymphoma treated with rituximab and chemotherapy. *Blood* 2018; 131(2): 226–235. doi: 10.1182/blood-2017-08-799080.
35. Cerna K, Oppelt J, Chochola V et al. MicroRNA miR-34a downregulates FOXP1 during DNA damage response to limit BCR signalling in chronic lymphocytic leukaemia B cells. *Leukemia* 2019; 33(2): 403–414. doi: 10.1038/s41375-018-0230-x.
36. Lou X, Fu J, Zhao X et al. MiR-7e-5p downregulation promotes transformation of low-grade follicular lymphoma to aggressive lymphoma by modulating an immunosuppressive stroma through the upregulation of FasL in M1 macrophages. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39(1): 237. doi: 10.1186/s13046-020-01747-z.
37. Mihailovich M, Bremang M, Spadotto V et al. miR-17-92 fine-tunes MYC expression and function to ensure optimal B cell lymphoma growth. *Nat Commun* 2015; 6(1): 8725. doi: 10.1038/ncomms9725.
38. Seda V, Vojackova E, Ondrisova L et al. FoxO1-GAB1 axis regulates homing capacity and tonic AKT activity in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2021; 138(9): 758–772. doi: 10.1182/blood.2020008101.
39. Dominguez-Sola D, Kung J, Holmes AB et al. The FOXP01 transcription factor instructs the germinal center dark zone program. *Immunity* 2015; 43(6): 1064–1074. doi: 10.1016/j.immuni.2015.10.015.
40. Kridel R, Mottok A, Farinha P et al. Cell of origin of transformed follicular lymphoma. *Blood* 2015; 126(18): 2118–2127. doi: 10.1182/blood-2015-06-649905.
41. van Eijk M, DeFrance T, Hennino A et al. Death-receptor contribution to the germinal-center reaction. *Trends Immunol* 2001; 22(12): 677–682. doi: 10.1016/s1471-4906(01)02086-5.
42. Cheung KJJ, Johnson NA, Affleck JG et al. Acquired TNFRSF14 mutations in follicular lymphoma are associated with worse prognosis. *Cancer Res* 2010; 70(22): 9166–9174. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2460.
43. Mintz MA, Felce JH, Chou MY et al. The HVEM-BTLA axis restrains T cell help to germinal center B cells and functions as a cell-extrinsic suppressor in lymphomagenesis. *Immunity* 2019; 51(2): 310–323.e7. doi: 10.1016/j.immuni.2019.05.022.
44. Challa-Malladi M, Lieu YK, Califano O et al. Combined genetic inactivation of  $\beta$ 2-microglobulin and CD58 reveals frequent escape from immune recognition in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2011; 20(6): 728–740. doi: 10.1016/j.ccr.2011.11.006.
45. Muppidi JR, Schmitz R, Green JA et al. Loss of signalling via  $\alpha$ 13 in germinal centre B-cell-derived lymphoma. *Nature* 2014; 516(7530): 254–258. doi: 10.1038/nature13765.
46. Morin RD, Mungall K, Pleasance E et al. Mutational and structural analysis of diffuse large B-cell lymphoma using whole-genome sequencing. *Blood* 2013; 122(7): 1256–1265. doi: 10.1182/blood-2013-02-483727.
47. Pfeifer M, Grau M, Lenze D et al. PTEN loss defines a PI3K/AKT pathway-dependent germinal center subtype of diffuse large B-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci* 2013; 110(30): 12420–12425. doi: 10.1073/pnas.1305656110.
48. Lossos IS, Alizadeh AA, Diehn M et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large-cell lymphoma: alternative patterns with increased or decreased expression of c-myc and its regulated genes. *Proc Natl Acad Sci* 2002; 99(13): 8886–8891. doi: 10.1073/pnas.132253599.
49. Lawrie CH, Chi J, Taylor S et al. Expression of microRNAs in diffuse large B cell lymphoma is associated with immunophenotype, survival and transformation from follicular lymphoma. *J Cell Mol Med* 2009; 13(7): 1248–1260. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00628.x.
50. Sarkozy C, Maurer MJ, Link BK et al. Cause of death in follicular lymphoma in the first decade of the rituximab era: a pooled analysis of French and US cohorts. *J Clin Oncol* 2019; 37(2): 144–152. doi: 10.1200/JCO.18.00400.
51. Llombart V, Mansour MR. Therapeutic targeting of „undruggable“ MYC. *EBioMedicine* 2022; 75: 103756. doi: 10.1016/j.ebiom.2021.103756.
52. Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Can histologic transformation of follicular lymphoma be predicted and prevented? *Blood* 2017; 130(3): 258–266. doi: 10.1182/blood-2017-03-691345.
53. Schmitz R, Wright GW, Huang DW et al. Genetics and pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2018; 378(15): 1396–1407. doi: 10.1056/NEJMOA1801445.

## Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 2. 9. 2023 ve FN Motol v Praze naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).