

Mikrośrodowisko komórek Reed-Sternberga w klasycznym chłoniaku Hodgkina — rola patogenetyczna i cel terapeutyczny

Reed-Sternberg cell microenvironment in classical Hodgkin lymphoma — pathogenetic role and therapeutic target

Przemysław Juszczyński

Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Streszczenie

Klasyczny chłoniak Hodgkina (cHL) charakteryzuje się obecnością nowotworowych komórek Reed-Sternberga (R-S), otoczonych przez naciek limfocytów T, B, granulocytów, makrofagów, komórek plazmatycznych, eozynofili, komórek tucznych i fibroblastów. Szczególną cechą tego nacieku jest jego immunosupresyjny charakter oraz złożona sieć wzajemnych powiązań między elementami podścieliska i komórkami R-S. Komórki R-S — poprzez wydzielane chemokiny, cytokiny i białka immunomodulujące — bezpośrednio wpływają na polaryzację nacieku T-komórkowego w kierunku limfocytów Th2 i Treg oraz indukują infiltrację innych komórek nacieku, które zwrótnie wspierają ich proliferację. Aktywacja receptorów rodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF), Notch-1 oraz receptorów cytokinowych, obecnych na powierzchni komórek R-S, przez substancje wydzielane przez komórki mikrośrodowiska prowadzi do pobudzenia układów sygnałowych związanych z tymi receptorami i aktywacji antyapoptotycznego jądrowego czynnika transkrypcyjnego κB ($NF\kappa B$), stłumienia B-komórkowego programu transkrypcyjnego oraz aktywacji osi JAK–STAT. Zrozumienie w ostatnich latach tych powiązań dało koncepcyjne podstawy do opracowania nowych strategii interwencji terapeutycznych, które — poprzez wybiórczą blokadę mechanizmów receptorowych, zniszczenie komórkowych elementów podścieliska lub poprzez strategie immunomodulacyjne — mogą pozbawić komórki R-S ich protekcyjnej niszy i uzupełnić działanie konwencjonalnych lub celowanych leków niszczących komórki nowotworowe. W pracy przedstawiono współczesne poglądy na rolę mikrośrodowiska w patogenezie cHL z uwzględnieniem perspektyw ich terapeutycznego wykorzystania.

Słowa kluczowe: klasyczny chłoniak Hodgkina, mikrośrodowisko, interakcje komórek R-S, ucieczka spod nadzoru immunologicznego, cele terapeutyczne

Hematologia 2011; 2, 1: 1–14

Abstract

Classical Hodgkin lymphoma (cHL) is characterized by pathognomonic Reed-Sternberg (R-S) cells, surrounded by an extensive infiltrate of T- and B-lymphocytes, granulocytes, macrophages, plasma cells, eosinophils, mast cells and fibroblasts. This peculiar infiltrate exhibits profound

local immunosuppressive properties and extensive network of mutual connections with R-S cells. Chemokines, cytokines and immunomodulatory proteins produced and released by R-S cells directly skew T-cell compartment toward Th2 and Treg cells, and induce infiltration of other cellular components that support R-S cell proliferation. Microenvironment-induced activation of R-S cell surface tumor necrosis factor-family receptors, cytokine receptors and Notch-1 signaling trigger activation of transcription nuclear factor κ B (NF κ B), JAK-STAT axis and suppression of B-cell transcriptional program. Understanding of these complex relationships led to conceptual design of targeted therapeutic interventions that by selective inhibition of receptor signaling, depletion of microenvironment cellular components or immunomodulation can deprive R-S cells from their supportive niche and complement conventional chemotherapy or R-S-cell-targeted drugs. The presented manuscript summarizes current views on the role of microenvironment in cHL, emphasizes its potential therapeutic applications.

Key words: classical Hodgkin lymphoma, tumor microenvironment, R-S cell interactions, immune escape, therapeutic targets

Hematologia 2011; 2, 1: 1–14

Biologia i charakterystyka komórek Reed-Sternberga

Klasyczny chłoniak Hodgkina (cHL, *classical Hodgkin lymphoma*) jest nowotworem wywodzącym się z limfocytów B, na który w Europie i Stanach Zjednoczonych corocznie zapada około 20 tys. chorych. W krajach wysoko uprzemysłowionych obserwuje się dwumodalny rozkład zapadalności: pierwszy szczyt występuje u osób w wieku 15–35 lat, a drugi — po 55. roku życia (SEER, *surveillance, epidemiology, and end results*; www.seer.cancer.gov). Obraz morfologiczny i architektonika nacieków komórkowych w cHL są szczególną cechą wyróżniającą ten nowotwór spośród innych chorób limfoproliferacyjnych. Nowotworowe komórki Reed-Sternberga (R-S) stanowią w nim zdecydowaną mniejszość (ok. 1%), a główną masę nacieku tworzą komórki reaktywne i łącznotkankowy zrąb. Komórki R-S nie wykazują ekspresji liniowo-swoistych markerów powierzchniowych (lub wykazują ekspresję markerów różnych linii) ani programu transkrypcyjnego pozwalającego zidentyfikować ich histogenezę, w związku z czym ich pochodzenie i biologiczna charakterystyka przez wiele lat pozostawały niejasne.

Ostatnie lata w znacznym stopniu przyczyniły się do wyjaśnienia mechanizmów transformacji nowotworowej i pochodzenia komórek R-S. Uważa się, że wywodzą się one z limfocytów B, w których — wskutek aktywnej edycji genów immunoglobulinowych (IG) w procesie somatycznej hipermutacji, w przebiegu reakcji germinalnej — doszło do wprowadzenia kodonów nonsensownych terminujących

syntezę funkcjonalnego łańcucha białkowego lub mutacji zmniejszających ich powinowactwo do antygeny [1–4]. Utrata ekspresji receptora B-komórkowego (BCR, *B-cell receptor*) lub zmniejszenie jego powinowactwa do antygeny powoduje utratę jego tonicznej, antyapoptotycznej aktywności [5, 6]. Typową cechą takich preapoptotycznych limfocytów B, ulegających transformacji w kierunku komórek R-S, jest globalna zmiana charakterystyki genetycznej i transkrypcyjnej typowej dla komórek B, określana mianem „utrata tożsamości” [7]. Kluczowy element tego zjawiska to utrata ekspresji lub funkcjonalna inaktywacja czynników transkrypcyjnych, warunkujących różnicowanie w kierunku limfocytów B, w tym EBF1, PAX5, E2A, Pu.1, BOB1 i Oct2 [8–15].

Wskutek utraty tożsamości B-komórkowej komórki R-S, z jednej strony, nabywają zdolność do ucieczki od fizjologicznych mechanizmów homeostatycznych eliminujących limfocyty z obniżonym powinowactwem BCR, a z drugiej — charakteryzują się dużą plastycznością w zakresie aktywacji alternatywnych mechanizmów antyapoptotycznych, do których należy przede wszystkim niepoddająca się fizjologicznej regulacji, konstytutywna aktywność czynników transkrypcyjnych: czynnika jądrowego κ B (NF κ B, *nuclear factor κ B*), STAT3, STAT5a/b, STAT6 i AP1 [7].

Mechanizmem, który może sprzyjać aktywacji wyżej wymienionych czynników transkrypcyjnych, jest infekcja wirusem Epstein-Barr (EBV, *Epstein-Barr virus*) i ekspresja kodowanych przez wirus latentnych białek błonowych LMP1 i LMP2A, które

uaktywniają komórkowe szlaki przekazywania sygnału, prowadzące do ich aktywacji. Mechanizm ten może jednak tłumaczyć tylko 17–40% przypadków cHL, w których stwierdza się obecność genomu EBV [16]. Konstytutywną aktywność czynników transkrypcyjnych trudno również tłumaczyć wyłącznie poprzez zaburzenia strukturalne dotyczące kodujących je genów lub modyfikujących ich aktywność, w tym amplifikacje *c-REL*, *JAK2* i delecje *TNFAIP3*, ponieważ ich aktywność zależy nie tylko od „dawki genu”, ale przede wszystkim od stanu fosforylacji i/lub lokalizacji wewnątrzkomórkowej, zależnych od mechanizmów receptorowych. Mechanizmem, który może dominować w aktywacji tych antyapoptotycznych czynników transkrypcyjnych, są interakcje z komórkami mikrośrodowiska. Za takim scenariuszem przemawiają obserwacje wskazujące, że — mimo genetycznego przeprogramowania i utraty ekspresji wielu markerów B-komórkowych — komórki R-S zachowują funkcje związane z prezentacją antygenów i interakcjami z limfocytami T. Wydaje się, że zachowanie tej funkcji w komórkach R-S wynika z presji selekcyjnej faworyzującej te komórki, w których kontakt z komórkami mikrośrodowiska uaktywnia alternatywne mechanizmy antyapoptotyczne.

Dysproporcja między liczbą komórek nowotworowych i reaktywnych oraz nieefektywna odpowiedź immunologiczna w cHL sugerują również, że komórki R-S indukują skuteczne mechanizmy immunosupresyjne. Na istnienie lokalnych mechanizmów warunkujących ucieczkę komórek R-S spod immunologicznego nadzoru gospodarza wskazuje również niezdolność do eradykacji EBV-pozytywnych komórek R-S, ponieważ infekcja tym wirusem u immunokompetentnych osób zwykle poddaje się skutecznemu ograniczeniu przez cytotoksyczne, EBV-swoiste limfocyty T CD8+. Szczegółowe poznanie mechanizmów regulujących powstawanie nacieku komórkowego w cHL na poziomach immunologicznym i molekularnym może być zatem podstawą do opracowania swoiście je hamujących strategii leczniczych.

Skład i charakterystyka mikrośrodowiska komórek R-S w cHL

Podścielisko cHL zawiera limfocyty T, limfocyty B, granulocyty, makrofagi, komórki plazmatyczne, eozynofile, komórki tuczne i fibroblasty. Najliczniejszą populację w obrębie nacieku stanowią limfocyty T, reprezentowane głównie przez komórki Th2, immunosupresyjne regulatorowe limfocyty Treg (CD4+, CD25+, FOXP3+) oraz Tr1

(CD4+, interleukina [IL]-4-, IL-10+), podczas gdy limfocyty Th1 i cytotoksyczne CD8+ są znacznie rzadsze [17–20]. Regulatorowe limfocyty T z nacieków cHL wykazują typowy fenotyp CD4+, CD25+, FOXP3+ i zdolność do hamowania proliferacji, uwalniania cytokin oraz degranulacji limfocytów T CD4+ i CD8+ [20–22]. Szczególną cechą nacieków T-komórkowych jest również obecność „rozetujących” limfocytów T otaczających komórki R-S, która może sugerować, że interakcje komórek R-S z limfocytami T mogą dostarczać tym pierwszym sygnałów antyapoptotycznych i proliferacyjnych.

W przeciwieństwie do komórek T, których patogenetyczna rola w cHL nie budzi kontrowersji, rola limfocytów B jest gorzej scharakteryzowana. Limfocyty B są źródłem sygnałów proliferacyjnych przekazywanych komórkom R-S poprzez ligandy rodziny czynnika martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*), w tym CD30L, CD40L i OX40L [23–28]. U około 50% chorych na cHL obserwuje się podwyższone osoczowe stężenia poliklonalnych łańcuchów lekkich immunoglobulin (FLC, *free light chain*), odzwierciedlające nacieki B-komórkowy i stanowiące niekorzystny czynnik rokowniczy we wczesnych etapach choroby [29]. Uważa się, że ta nadprodukcja FLC może się przyczyniać do reakcji zapalnej i działać jako czynnik aktywujący neutrofile, komórki tuczne, eozynofile i fibroblasty podścieliska, które z kolei bezpośrednio wspierają komórki R-S [30].

Z tą patogenetyczną rolą limfocytów B we wspieraniu komórek R-S pozostają w opozycji wyniki analiz dotyczących liczby naciekających komórek B i rokowania. Podobnie jak w przypadku limfocytów Treg i Th2, zwiększony odsetek komórek B w obrębie nacieku cHL wiązał się z lepszym rokowaniem [31, 32]. Wydaje się jednak, że pełna interpretacja badań wiążących liczbę komórek naciekających podścielisko z rokowaniem nie jest możliwa, ponieważ izolowana ocena jednego lub kilku rodzajów komórek podścieliska cHL w oderwaniu od ich stanu czynnościowego i sieci wzajemnych powiązań między nimi nie oddaje w pełni realnych mechanizmów patogenetycznych. Ograniczenia te można w znacznym stopniu wyeliminować poprzez całościową analizę transkryptomu w obrębie masy nowotworowej za pomocą mikromacierzy DNA. Na podstawie tego rodzaju analiz wykazano, że u chorych, u których w obrębie nowotworu obserwowano nadekspresję genów typowych dla aktywowanych makrofagów (*LYZ*, *CTSL1*, *ALDH1A1*, *STAT1*, *MMP11*), komórek prezentujących antygen (*CR1*, *HLA-DRB*) lub plazmacytoidalnych komórek dendrytycznych

(ITM2A), częściej występowały nawroty po leczeniu I linii [31].

Szczególnie wyraźną sygnaturę molekularną nacieku makrofagowego w źle rokujących przypadkach cHL zweryfikowano immunohistochemicznie, potwierdzając związek między zwiększoną liczbą makrofagów CD68+ i opornością na leczenie (również II linii) oraz krótszym całkowitym czasem przeżycia chorych [31]. W tych globalnych analizach profilu ekspresji genów w cHL ekspresja genów charakterystycznych dla limfocytów T i ich poszczególnych subpopulacji nie wykazywała tak wyraźnych związków z rokowaniem.

Rola komórek R-S w kształtowaniu mikrośrodowiska cHL

Komórki R-S charakteryzują się wysoką aktywnością biologiczną w zakresie produkcji cytokin, chemokin i białek immunomodulujących, które mogą odpowiadać za skład i stan czynnościowy mikrośrodowiska (tab. 1). Produkcja i uwalnianie tych białek sprzyja rekrutacji limfocytów Th2, hamując jednocześnie różnicowanie limfocytów Th1 (chemokiny: CCL5/RANTES, TARC/CCL17, CCL20 i MDC/CCL22 oraz cytokiny: IL-4, IL-10, IL-13) [7, 32–43]. Produkcja transformującego czynnika wzrostu β (TGF- β , *transforming growth factor* β), IL-7, CCL5/RANTES i TARC/CCL17 sprzyja różnicowaniu *in situ* i rekrutacji limfocytów Treg [44–46].

Wydzielanie IL-5 oraz CCL5 i CCL28 odpowiada za rekrutację eozynofili [32]. Poza bezpośrednim wydzielaniem cytokin przez komórki R-S, swoiście oddziałujących na inne komórki w obrębie podścieliska w cHL, część interakcji międzykomórkowych może mieć bardziej złożony charakter. Na przykład, komórki R-S rekrutują do podścieliska fibroblasty poprzez produkcję TNF α i TGF- β . Fibroblasty z kolei wydzielają CCL5 i eotaksynę, rekrutując eozynofile i limfocyty regulatorowe Treg [47, 48].

Innym mechanizmem odpowiedzialnym za kształtowanie mikroarchitektoniki podścieliska w cHL jest produkcja przez komórki R-S immunomodulacyjnych białek, które modyfikują funkcję limfocytów T. Pierwszym z nich jest ekspresja w komórkach R-S galektyny 1 (Gal-1, LGALS1) [49, 50]. Białko to wiąże glikokonjugaty receptorów powierzchniowych limfocytów T (m.in. CD45, CD43 i CD7) i powoduje ich oligomeryzację [51–54]. Galektyna 1 selektywnie indukuje apoptozę w limfocytach Th1, zachowując populację limfocytów Th2 oraz Treg i sprzyja ich ekspansji, a także indukcji tolerogennych komórek dendrytycznych [55, 56]. Podstawą tej selektywności w proapoptotycznym działaniu Gal-1 w stosunku do limfocytów Th1, a nie Th2, jest charakterystyczny glikofenotyp powierzchniowych receptorów limfocytów Th1, permisyny dla wiązania Gal-1 [56] i brak wiązania tego białka przez receptory limfocytów Th2. Ekspresję Gal-1 obserwowano zarówno w liniach ko-

Tabela 1. Oddziaływanie komórek Reed-Sternberga na mikrośrodowisko

Table 1. Reed-Sternberg cells influence on the microenvironment

Sposób oddziaływania	Komórka docelowa i skutek oddziaływania
CCL5	Chemoatrakcja limfocytów Th2, Treg, komórek tucznych i eozynofili
CCL17	Chemoatrakcja limfocytów Th2 i Treg
CCL20	Chemoatrakcja limfocytów Th2 i Treg
CCL22	Chemoatrakcja limfocytów Th2 i Treg, limfocytów B?
CCL28	Chemoatrakcja eozynofili
IL-4, IL-10, IL-13	Zahamowanie różnicowania Th1, aktywacja Th2
IL-5	Chemoatrakcja eozynofili
IL-7	Proliferacja Treg i indukcja ekspresji FOXP3, aktywacja fibroblastów
IL-8	Chemoatrakcja granulocytów
TNF α	Aktywacja produkcji eotaksyny w makrofagach, indukcja apoptozy w limfocytach T
TGF- β	Indukcja Treg <i>in situ</i> , aktywacja fibroblastów
Gal-1	Indukcja apoptozy w limfocytach Th1, funkcja Treg, indukcja tolerogennych komórek dendrytycznych, angiogeneza
PD-L1	Zmniejszenie proliferacji w odpowiedzi na antygen, zmniejszona produkcja IFN γ , zaburzenia degranulacji i obniżona cytotoksyczność (wyczerpanie limfocyta T)

CCL (*chemokine [C-C motif] ligand*) — chemokina zawierająca motyw C-C; IL — interleukina; Treg — regulatorowy limfocyt T; TNF α (*tumor necrosis factor* α) — czynnik martwicy nowotworów α ; TGF- β (*transforming growth factor* β) — transformujący czynnik wzrostu β ; Gal-1 — galektyna 1; PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) — ligand receptora śmierci programowanej; IFN γ — interferon gamma

mórkowych R-S, jak i biopsjach pierwotnych cHL, ale nie w chłoniakach rozlanych z dużych komórek B (DLBCL, *diffuse large B-cell lymphoma*) [49, 57]. Podstawą tej selektywnej ekspresji Gal-1 w cHL była konstytutywna aktywność czynnika transkrypcyjnego AP-1, nieobecna w innych nowotworach B-komórkowych [49].

Podobnym mechanizmem warunkującym inaktywację limfocytów T w obrębie nacieków jest ekspresja białek PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) i PD-L2 (*programmed death-ligand 2*). Białka te funkcjonują jako ligandy receptora PD-1 (*programmed death 1*) obecnego na powierzchni limfocytów T [58, 59]. Wskutek wiązania ligandu receptor PD-1 rekrutuje fosfatazę SHP2, która defosforyluje białka immunokompleksu receptora T-komórkowego (CD3 δ , ZAP70, PKC θ), a w konsekwencji powoduje wyłączenie sygnału przekazywanego do wnętrza limfocyta przez ten receptor [58]. Hamuje on ponadto kostymulacyjny sygnał z receptora CD28 limfocyta T, poprzez kompetycyjne wiązanie ligandu CD28 — białka CD80 (B7-1) [60]. W konsekwencji zaistnienia tych zjawisk ekspresja PD-L1 prowadzi do zmniejszonej proliferacji w odpowiedzi na antygen, zmniejszonej produkcji interferonu gamma (IFN γ), zaburzeń degranulacji i obniżonej cytotoksyczności, określanych wspólnym mianem zjawiska „wyczerpania” (*T-cell exhaustion*) [58, 59]. Zjawisko to może w znacznym stopniu ograniczać skuteczność odpowiedzi immunologicznej gospodarza na obecność nowotworu.

Nadekspresja PD-L1 w cHL wynika ze strukturalnej amplifikacji *locus* tego genu w obrębie regionu 9p24, obecnej zarówno w liniach komórkowych, jak i pierwotnych komórkach R-S [61]. Wskutek tej strukturalnej aberracji dochodzi również do koamplifikacji sąsiadującego z PD-L1 genu kinazy JAK2. Aktywność tej kinazy dodatkowo wzmacnia ekspresję PD-L1 poprzez fosforylację czynników transkrypcyjnych rodziny STAT, wiążących się bezpośrednio w obrębie regionu promotorowego PD-L1 [61].

Zależność komórek R-S od sygnałów pochodzących od komórek mikrośrodowiska

Zdolność komórek R-S do ukierunkowanej rekrutacji innych komórek w obręb masy nowotworowej cHL oraz zachowanie zdolności do kontaktów z nimi, mimo utraty cech limfocyta B („utrata tożsamości”), wskazuje, że zjawisko to ma głębsze konsekwencje niż tylko zapewnienie immunosupresyjnego wpływu mikrośrodowiska. Zależność komórek R-S od kontaktów z komórkami nacieku sugerują

również liczne pośrednie obserwacje. Komórki R-S wyjątkowo trudno poddają się hodowli *in vitro* i nie tworzą guzów po przeszczepieniu immunoniekompentnym myszom. Komórek tych nie obserwuje się we krwi chorych, a gdy choroba ulega rozsianiu do narządów pozalimfatycznych, komórki R-S są osadzone w swoim typowym mikrośrodowisku [62].

Istotną rolę limfocytów T w patogenezie cHL sugerują również badania epidemiologiczne nosicieli ludzkiego wirusa upośledzenia odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*), u których ryzyko wystąpienia cHL zwiększa się wraz z kontrolą wirerii i wzrostem liczby limfocytów CD4+ [63]. Obserwacje te sugerują, że komórki mikrośrodowiska cHL aktywnie wspierają wzrost i proliferację komórek R-S. Na poziomie molekularnym interakcje te polegają na parakrynnym pobudzeniu receptorów powierzchniowych komórek R-S, aktywacji zależnych od nich szlaków transdukcji sygnału i uruchomienia antyapoptotycznych czynników transkrypcyjnych, w tym NF κ B, STAT3, STAT5a, STAT5b i STAT6 (tab. 2) [7].

Aktywacja NF κ B jest głównym zjawiskiem patogenetycznym w cHL, wynikającym z nałożenia się wielu komplementarnych i redundantnych mechanizmów. Do najważniejszych układów ligando-receptorowych, prowadzących do kanonicznej i alternatywnej aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF κ B, należą interakcje receptorów z rodziny TNF (CD40, CD30, BCMA, TACI, RANK) na powierzchni komórki R-S z ligandami obecnymi na powierzchni „rozetujących” limfocytów T (CD40-L), limfocytów B, eozynofiliów i komórek tucznych (CD30-L) lub wydzielanymi cytokinami, pochodzącymi z makrofagów i granulocytów (BAFF i RANKL) [7, 64]. Aktywację NF κ B, wskutek działania mechanizmów receptorowych zależnych od mikrośrodowiska, wzmagają obecne w komórkach R-S aberracje genetyczne powodujące hiperaktywację tego czynnika transkrypcyjnego. Należą do nich amplifikacje *locus Rel* w obrębie 2p, mutacje *NF κ BIA* i *NF κ BIE* oraz delecje *TNFAIP3* [7, 65–69]. Geny dla TNF, limfotoksyny alpha (LT α) i CD40 pozostają pod kontrolą NF κ B, więc mechanizm ten może prowadzić do zjawiska „błędnego koła”, podtrzymującego aktywność tego czynnika transkrypcyjnego.

Innym, nowo poznany mechanizmem patogenetycznym zależnym od mikrośrodowiska jest aktywacja receptora Notch-1 na powierzchni komórki R-S przez ligand Jagged-1, obecny na „rozetujących” limfocytach T [70, 71]. Notch-1 jest jednym z kluczowych czynników transkrypcyjnych wczesnych etapów limfopoetyzy, na których następuje dychotomizacja losu wspólnego prekursora i różni-

Tabela 2. Zależność komórek Reed-Sternberga (R-S) od interakcji z mikrośrodowiskiem**Table 2.** Reed-Sternberg (R-S) cell dependence on interactions with microenvironment

Sposób oddziaływania na komórki R-S (receptor)	Ligand	Źródło ligandu	Skutki oddziaływania
CD40	CD40L	Limfocyty T	Aktywacja NFκB
CD30	CD30L	Limfocyty T	Aktywacja NFκB
OX40	OX40L	Limfocyty B	Aktywacja NFκB
RANK	RANKL	Komórki R-S	Aktywacja NFκB
BCMA, TACI	APRIL, BAFF	Makrofagi, neutrofile, eozynofile, komórki tłuszczne, plazmocyty i komórki R-S	Aktywacja NFκB i PI3K
Notch-1	Jagged	Limfocyty T, komórki R-S	Zahamowanie ekspresji czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za różnicowanie B-komórkowe, działanie antyapoptotyczne, współdziałanie z NFκB
IL-13-R	IL-13	Limfocyty T, komórki R-S	Aktywacja osi JAK2/TYK2–STAT6, czynnik wzrostowy dla komórek R-S
IL-7-R	IL-7	Fibroblasty	Aktywacja osi JAK1/3–STAT5, indukcja proliferacji, działanie antyapoptotyczne

RANK (receptor activator of nuclear factor κB) — receptor aktywujący czynnik jądrowy κB; APRIL (a proliferation inducing ligand, TNFSF13) — czynnik indukujący proliferację; BAFF (B-cell activating factor, TNFSF13B) — czynnik aktywujący komórki B; BCMA (B-cell maturation antigen, TNFSF17) — czynnik indukujący różnicowanie komórek B; TACI (transmembrane activator and CAML interactor, TNFRSF13B) — transbłonowy aktywator i cząstka oddziałująca z CAML; NFκB (nuclear factor κB) — czynnik jądrowy κB; PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) — kinaza 3-fosfatydyloinozytolu; IL — interleukina; JAK (Janus kinase) — kinaza JAK; TYK2 (tyrosine kinase 2) — kinaza tyrozynowa 2; STAT (signal transducer and activator of transcription) — czynnik transkrypcyjny STAT

cowanie w kierunku linii B lub T. Aktywacja Notch-1 na tym etapie powoduje zahamowanie ekspresji genów B-komórkowych i różnicowanie T-komórkowe [72]. W późniejszych etapach limfopozy Notch-1 sprzyja różnicowaniu limfocytów Th2 [72]. Ekspresja Notch w komórkach R-S powoduje represję kluczowych dla różnicowania B-komórkowego czynników transkrypcyjnych E2A i EBF oraz nadekspresję antagonisty E2A, ABF-1, zatem jego aktywacja przez mechanizm zależny (lub współzależny) od mikrośrodowiska może sprzyjać zjawisku „utruty tożsamości”, będącej bardzo istotnym elementem charakterystyki komórek nowotworowych w cHL, sprzyjającym ich ucieczce od fizjologicznych mechanizmów homeostatycznych eliminujących nieprawidłowe limfocyty B [70].

Dodatkowym mechanizmem patogenetycznym zależnym od Notch-1 jest zwiększenie potencjału proliferacyjnego komórek R-S i działanie antyapoptotyczne. Ponadto, wraz z NFκB, Notch-1 pośredniczy w aktywacji ekspresji czynnika transkrypcyjnego GATA3 [73] — nieobecnego w prawidłowych limfocytach B, ulegającego natomiast ekspresji w limfocytach Th2, w których jest kluczowym mechanizmem wyzwalającym indukcję genów cytokinowych profilu Th2. Podobną rolę pełni w komór-

kach R-S, w których wyzwała ekspresję między innymi IL-5 i IL-13 [73]. Zmniejszenie ekspresji GATA3 drogą interferencji RNA powodowało zmniejszenie ekspresji obu tych cytokin. Obserwacje te charakteryzują zatem zależny od NFκB i Notch-1 szlak patogenetyczny, uruchamiany w komórkach R-S poprzez kontakt z mikrośrodowiskiem, którego konsekwencją jest produkcja IL-13, będącej dla komórek R-S auto- i parakrynnym czynnikiem wzrostowym [41, 73].

Wiązanie IL-13 i innych cytokin wydzielanych przez komórki R-S oraz limfocyty T mikrośrodowiska poprzez receptory powierzchniowe komórek R-S stanowi zatem kolejny mechanizm patogenetyczny dotyczący komórek R-S i zależny od mikrośrodowiska. Wiązanie cytokin przez odpowiadające im receptory prowadzi do aktywacji związanych z receptorami kinaz JAK, fosforylujących czynniki transkrypcyjne rodziny STAT (STAT3, STAT5a/b i STAT6). Wskutek fosforylacji ulegają one dimeryzacji i translokacji do jądra komórkowego. Również w tym przypadku aktywacja receptorowa układu JAK–STAT trafia na genetyczne podłoże amplifikacji *locus* 9p (kinaza JAK), dotyczące około 40% chorych [74–76]. Cytokiny wydzielane przez mikrośrodowisko mogą również działać protekcyjnie

w stosunku do komórek R-S, chroniąc je przed toksycznością niektórych cytostatyków. Mechanizm taki udokumentowano w stosunku do izolowanych z cHL fibroblastów, modulujących oporność komórek R-S na doksorubicynę *in vitro* w mechanizmie zależnym od wydzielania IL-7 [77].

Mikrośrodowisko komórek R-S jako cel terapeutyczny

Podstawą obecnej strategii I linii leczenia cHL jest stosowanie chemio- i radioterapii dostosowanych do stopnia zaawansowania choroby i konwencjonalnych czynników prognostycznych. Poprzez taką indywidualizację leczenia zastosowanie kombinacji klasycznych leków pozwala osiągnąć wyleczenie u 70–90% chorych. Ten niewątpliwý sukces spowodował jednak, że badania nad nowymi lekami w cHL nie były tak intensywne jak w innych chłoniakach, skutkiem czego w czasie ostatnich 30 lat nie zarejestrowano żadnego nowego leku przeznaczonego do terapii tej choroby.

Ponieważ cHL zwykle dotyczy stosunkowo młodych pacjentów, u których zastosowanie chemio- i radioterapii może być przyczyną późnych powikłań, a ponadto — ze względu na znacznie gorsze rokowanie u chorych opornych na leczenie I linii lub z nawrotem choroby — identyfikacja nowych leków, selektywnie hamujących kluczowe mechanizmy patogenetyczne warunkujące wzrost nowotworu, potencjalnie prowadziłaby do leczenia mniej toksycznego i bardziej skutecznego.

Bliższe poznanie roli mikrośrodowiska komórek R-S w patogenezie cHL pozwoliło na zidentyfikowanie wielu potencjalnie poddających się interwencji mechanizmów, których wykorzystanie w terapii może tę lukę wypełnić (tab. 3). Mikrośrodowisko komórek R-S, a właściwie jego metaboliczna aktywność, już dziś jest *de facto* źródłem informacji rokowniczych i podstawą decyzji terapeutycznych, ponieważ komórki R-S, w przeciwieństwie do ich mikrośrodowiska, charakteryzują się niskim

Tabela 3. Mikrośrodowisko komórek Reed-Sternberga jako cel terapeutyczny w klasycznej postaci chłoniaka Hodgkina

Table 3. Reed-Sternberg microenvironment as therapeutic targets in classical Hodgkin lymphoma

Cel terapeutyczny	Inhibitor	Modulowany mechanizm patogenetyczny	Badania kliniczne* i/lub referencja
Gal-1	Przeciwciało monoklonalne	Indukcja apoptozy w Th1, indukcja tolerogennych DC, angiogeneza	Badania przedkliniczne [49, 50]
PD-L/PD-L1	Przeciwciało CT-011	„Wyczerpanie” limfocytów T przez wiązanie PD-1	Badania przedkliniczne i I fazy [61, 93]
Notch-1	GSI	Aktywność NFκB, ekspresja B-komórkowych czynników transkrypcyjnych E2A i EBF i in.	Badania przedkliniczne [96]
JAK2	Inhibitory JAK2	Aktywność osi JAK–STAT	Badania przedkliniczne [61]
Limfocyty B	Rytuksymab	Eliminacja limfocytów B nacieku	NCT00515554; NCT00992030
CD40	Przeciwciało SGN40, HCD122	Aktywność NFκB, indukcja mechanizmów efektorowych ADCC, CDC, ADCP	NCT00670592; [87–89]
IL-13	Przeciwciało monoklonalne	Aktywność osi JAK–STAT, eliminacja auto- i parakrynnego czynnika wzrostowego	NCT00441818
Nieznany	Lenalidomid	Aktywacja komórek NK, inne mechanizmy (?)	NCT01116154; NCT00478959; NCT00540007; NCT01207921; [98–101]
HDACi	Panobinostat, vorinostat	Bezpośrednie działanie cytostatyczne, hamowanie ekspresji STAT6 i biosyntezy chemokin	NCT01034163; NCT00742027; NCT01169636; NCT00132028; NCT01116154; [94, 95]

*ID według www.clinicaltrials.gov; Gal-1 — galektyna 1; DC (*dendritic cells*) — komórki dendrytyczne; PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) — ligand receptora śmierci programowanej; GSI (*gammasecretase inhibitors*) — inhibitory gamma-sekretazy; NFκB (*nuclear factor κB*) — czynnik jądrowy κB; JAK2 (*Janus kinase 2*) — kinaza JAK2; STAT (*signal transducer and activator of transcription*) — czynnik transkrypcyjny STAT; ADCC (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*) — cytotoxyczność komórkowa zależna od przeciwciał; CDC (*complement dependent cytotoxicity*) — cytotoxyczność zależna od dopełniacza; ADCP (*antibody-dependent cellular phagocytosis*) — fagocytoza komórkowa zależna od przeciwciał; NK (*natural killer*) — komórki naturalnej cytotoxyczności; HDACi (*histone deacetylase inhibitor*) — inhibitor deacetylaz histonowych

wychwytem i metabolizmem fluorodeoksyglukozy (^{18}F -FDG) — znacznika stosowanego w pozytonowej tomografii emisyjnej (PET, *positron emission tomography*) [78, 79].

Selektywna deplecja komórkowych składników mikrośrodowiska komórek R-S

Mimo udokumentowanego patogenetycznego znaczenia immunosupresyjnych nacieków T-komórkowych w cHL, dodatkowo bezpośrednio wspierających komórki R-S, dotychczas nie przeprowadzono badań, w których wprost oceniono by skuteczność strategii leczniczych ukierunkowanych na zniszczenie komórek T mikrośrodowiska. Ponieważ komórki R-S nie wykazują ekspresji antygenu CD52, który jest obecny na limfocytach T mikrośrodowiska, badanie z zastosowaniem alemtuzumabu — przeciwciała monoklonalnego skierowanego przeciw antygenowi CD52 — byłoby modelowym „sprawdzeniem” klinicznego znaczenia nacieków T-komórkowych w progresji choroby. Antygen CD52 jest również obecny na fibroblastach, komórkach tucznych i eozynofilach mikrośrodowiska, które także pełnią aktywną rolę w patogenezie cHL, zatem zastosowanie tego leku mogłoby nieść dodatkowe korzyści wynikające z ich eliminacji. Wyniki badań nad zastosowaniem kondycjonowania o zmniejszonej intensywności mieloablacji i alemtuzumabu przed allogenicznym przeszczepieniem krwiotwórczych komórek macierzystych u chorych z chemoopornym nawrotem cHL mogą pośrednio wskazywać, że eliminacja limfocytów T mikrośrodowiska zwiększa kliniczną skuteczność takiego postępowania, prawdopodobnie poprzez modulowanie zdolności limfocytów T dawcy do eliminacji rezydualnych komórek R-S, pozbawionych naturalnego, immunosupresyjnego mikrośrodowiska [80, 81].

W przeciwieństwie do limfocytów T rola komórek B w patogenezie cHL jest znacznie mniej dokładnie scharakteryzowana. Wydaje się, że kontrowersje dotyczące ich roli w patogenezie cHL, zwłaszcza w kontekście doniesień sugerujących pozytywny wpływ zwiększonego odsetka komórek B na rokowanie w tym schorzeniu, mogą zostać wyjaśnione na podstawie badań nad zastosowaniem rytuksymabu — przeciwciała monoklonalnego anty-CD20 [31, 82]. Antygen CD20 zwykle nie występuje na powierzchni komórek R-S w cHL, natomiast limfocyty B nacieku charakteryzują się wysoką ekspresją tego antygenu [83]. W pilotażowym badaniu II fazy przeciwciało to zastosowano u 24 uprzednio

leczonych chorych z nawrotowym/opornym na konwencjonalną terapię cHL. Zastosowanie rytuksymabu w standardowej dawce 375 mg/m^2 tygodniowo przez 6 tygodni pozwoliło osiągnąć 22% odpowiedzi, w tym jedną całkowitą (CR, *complete remission*) i 4 częściowe (PR, *partial remission*), a średni czas utrzymywania się odpowiedzi wynosił 7,8 miesiąca [84]. Odpowiedzi obserwowano zarówno w przypadku obecności, jak i braku ekspresji antygenu CD20 na komórkach R-S. U 6 spośród 7 chorych z objawami ogólnymi zastosowanie rytuksymabu spowodowało ich ustąpienie, również w przypadku braku obiektywnej odpowiedzi klinicznej, co może wskazywać na rolę cytokin wydzielanych przez limfocyty B w patogenezie objawów ogólnych.

Te obiecujące wyniki badań, wskazujące na aktywność monoterapii rytuksymabem u intensywnie przeleczonych chorych z cHL, były przesłanką do kontynuowania badań nad zastosowaniem tego przeciwciała w skojarzeniu z polichemioterapią adriamycyną, bleomycyną, winblastyną i dakarbazyną (ABVD). W tym badaniu II fazy wyniki immunochemioterapii zastosowanej u 104 chorych (średni czas obserwacji 5 lat; zakres 6–94 mies.) porównano z pochodzącą z tej samej instytucji (*M.D. Anderson Cancer Center, Houston*) historyczną grupą kontrolną, leczoną według schematu ABVD. Wyniki leczenia za pomocą immunochemioterapii rytuksymab–ABVD w zakresie 5-letniego przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS, *event-free survival*) były lepsze niż w historycznej grupie kontrolnej, zarówno w grupie niskiego (*International Prognostic Score* [IPS] 0–2: EFS = 89% dla rytuksymab–ABVD *v.* 71% dla ABVD), jak i wysokiego ryzyka (IPS > 2: EFS = 80% dla rytuksymab–ABVD *v.* 55% dla ABVD). Ze względu na zastosowanie w badaniu historycznej grupy kontrolnej w interpretacji jego wyników należy jednak zachować ostrożność [85, 86].

Obecnie trwa rekrutacja do dwóch randomizowanych badań III fazy porównujących chemioterapię według schematu bleomycyna, etopozyd, doksorubicyna, cyklofosamid, winkrystyna, prokarbazyna, prednizon (BEACOPP) w eskalowanych dawkach ze schematem rytuksymab–BEACOPP eskalowany (www.clinicaltrials.gov; ID: NCT00515554) u chorych z dodatnim wynikiem badania PET po 2 cyklach chemioterapii oraz rytuksymab–ABVD z ABVD w połączeniu z uzupełniającą radioterapią u chorych z wczesnym cHL (www.clinicaltrials.gov; ID: NCT00992030), których wyniki powinny ostatecznie rozstrzygnąć wątpliwości interpretacyjne dotyczące wcześniejszych badań.

Zablokowanie mechanizmów sygnałowych łączących komórki R-S z mikrośrodowiskiem

Inną strategią interwencji w mechanizmy komunikacji między komórkami R-S a ich podścieliskiem jest selektywna blokada receptorów i/lub ligandów odpowiedzialnych za te interakcje. Jednym z głównych układów sygnałowych łączących limfocyty T podścieliska i komórki R-S jest wiązanie receptora CD40 komórek R-S przez ligand CD40-L limfocytów T, prowadzący do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF κ B. Przeciwciała neutralizujące przekazywanie w tym układzie mogą zatem prowadzić do zmniejszenia aktywności tego osiowego w patogenezie cHL zjawiska. Na taką możliwość wskazują badania *in vitro* z użyciem neutralizujących przeciwciał anty-CD40 [87–89]. Obok działania blokującego przekazywanie w układzie CD40–CD40L, przeciwciała anty-CD40 charakteryzują się również zdolnością indukcji klasycznych mechanizmów efektorowych, w tym cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC, *antibody-dependent cellular cytotoxicity*), cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC, *complement dependent cytotoxicity*) i fagocytozy komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCP, *antibody-dependent cellular phagocytosis*) [87–89]. Ta podwójna aktywność, dotycząca zdolności do neutralizacji CD40 i indukcji klasycznych mechanizmów efektorowych, może być przyczyną większej aktywności przeciwciał anty-CD40 niż rytuksymabu, obserwowanej w modelach przedklinicznych [87, 89]. Obecnie istnieją dwa klinicznie dostępne przeciwciała wykazujące aktywność neutralizującą CD40, w tym SGN-40 oraz HCD122, przy czym tylko to ostatnie jest w trakcie II fazy badań klinicznych u chorych z cHL (www.clinicaltrials.gov; ID: NCT00670592).

Innym, potencjalnie poddającym się interwencji terapeutycznej układem sygnałowym, łączącym mikrośrodowisko i komórki R-S, jest sekrecja i wiązanie IL-13. Cytokina ta, wydzielana zarówno przez limfocyty Th2 mikrośrodowiska, jak i komórki R-S, to czynnik wzrostowy dla tych ostatnich. Przeciwciało neutralizujące IL-13 wykazuje efekt antyproliferacyjny w stosunku do linii komórkowych *in vitro* [41, 43]. Interleukina 13 i jej receptor IL-13R α -1 są obecne na powierzchni ponad 70% komórek R-S, a wysokie osoczowe stężenia tej cytokiny stwierdza się częściej u pacjentów z nawrotem choroby niż przy rozpoznaniu [90]. Obecnie trwa rekrutacja chorych do badania klinicznego I/II fazy z użyciem przeciwciała anty-IL-13 u osób z opornym na

leczenie cHL (<http://www.clinicaltrials.gov>, ID: NCT00441818).

Zablokowanie zdolności komórek R-S do kształtowania immunosupresyjnego charakteru mikrośrodowiska

Kolejnym mechanizmem, który może być przedmiotem interwencji terapeutycznej, jest zdolność komórek R-S do wpływania na immunosupresyjny charakter mikrośrodowiska poprzez produkcję immunomodulacyjnych białek Gal-1, PD-L1 i PD-2L oraz sekrecję cytokin i chemokin. W badaniach *in vitro*, polegających na koinkubacji aktywowanych limfocytów T z komórkami R-S, zablokowanie ekspresji Gal-1 na drodze interferencji RNA prowadziło do zwiększenia odsetka przeżywających limfocytów Th1 i przywrócenia równowagi cytokinowej między populacjami Th1 i Th2 [49]. W hodowli aktywowanych *in vitro* limfocytów T poddanych działaniu rekombinowanej Gal-1 obserwowano zwiększenie sekrecji cytokin profilu Th2 oraz zwiększenie odsetka limfocytów regulatorowych Treg CD4+, CD25 high , FOXP3+ [49]. Wyniki te wskazują na istotną rolę ekspresji Gal-1 w komórkach R-S w indukcji i utrzymaniu immunosupresyjnego, spolaryzowanego w kierunku Th2 nacieku komórkowego w cHL. Ponieważ, obok wpływu na uprzywilejowanie immunologiczne komórek nowotworowych, Gal-1 aktywuje mechanizmy angiogenne, blokada tego białka przez przeciwciało monoklonalne może wykazywać wielokierunkowe działanie hamujące różne mechanizmy patogenetyczne cHL [91]. Obecnie przeciwciała monoklonalne dla Gal-1, wykazujące wysokie powinowactwo i aktywność neutralizującą, są na etapie badań przedklinicznych, co pozwala oczekiwać, że po otrzymaniu ich humanizowanych postaci trafią do badań klinicznych [92].

Podobną do Gal-1 rolę w kształtowaniu immunologicznego uprzywilejowania komórek R-S pełnią PD-L1 i PD-L2. Limfocyty T nacieku komórkowego cHL wykazywały profil ekspresji genów charakterystyczny dla aktywacji receptora PD-1, a neutralizujące przeciwciała dla PD-L1 przywracały prawidłową produkcję IFN γ w tych komórkach [45]. Badania te wskazują, że blokada interakcji między receptorem PD-1 a ligandami PD-L1 i/lub PD-L2 może stanowić dodatkowy mechanizm wzmacniający T-zależną odpowiedź immunologiczną u pacjentów z cHL. W I fazie badań klinicznych u chorych na nowotwory układu krwiotwórczego i chłonnego stosowanie przeciwciała neutralizującego PD-1 było leczeniem bezpiecznym i dobrze tolerowanym [93].

Dodatkowym mechanizmem wzmagającym ekspresję PD-L1, obok bezpośredniej roli amplifikacji zwiększającej „dawkę genu”, jest koamplifikacja kinazy JAK2, prowadząca do fosforylacji czynników transkrypcyjnych rodziny STAT, wiążących się bezpośrednio w obrębie regionu promotorowego PD-L1 [61]. Ponieważ mechanizmem aktywacji kinazy JAK2 w cHL są w znacznej mierze receptory cytokinowe i cytokiny wydzielane przez komórki podścieliska i R-S, genetyczna amplifikacja regionu 9p24 definiuje dwa komplementarne i funkcjonalnie powiązane cele terapeutyczne — PD-L1 i JAK2. W badaniach *in vitro* inhibicja JAK2 przy użyciu niskocząsteczkowych inhibitorów prowadziła zarówno do zahamowania proliferacji komórek R-S, jak i obniżenia ekspresji PD-L1 [61]. Efekt ten zależał od liczby kopii amplifikowanego regionu 9p24 i był najwyższy w liniach komórkowych, w których liczba kopii była największa [61]. Badania te potwierdzają istnienie funkcjonalnych powiązań między tymi koamplifikowanymi genami i wskazują na potencjalną użyteczność kliniczną zastosowania przeciwciał neutralizujących PD-1/PD-L1 i inhibitorów JAK2.

Innym niskocząsteczkowym związkiem, wykazującym analogiczne do inhibitora JAK2 działanie plejotropowe — dotyczące zarówno bezpośredniego efektu antyproliferacyjnego i cytotoksycznego w stosunku do komórek R-S, jak i ograniczenia ich zdolności do kształtowania immunosupresyjnego charakteru mikrośrodowiska, wykazują inhibitory deacetylaz histonowych (HDACi, *histone deacetylase inhibitors*) [94]. Leki z tej grupy (worinostat, panobinostat) powodują globalną hiperacetylację białek histonowych i rozluźnienie struktury chromatyny. Poprzez te zmiany HDACi prowadzą do reekspresji genów, których aktywność w komórkach nowotworowych jest wyłączona przez mechanizmy epigenetyczne, w tym między innymi nowotworowego genu supresyjnego p21 [94]. Worinostat wywołuje ponadto zmniejszenie ekspresji chemokin i cytokin profilu Th2, w tym TARC (*thymus and activation regulated chemokine*)/CL17 i IL-5, oraz zwiększenie produkcji chemokiny profilu Th1 (IL-10), przez co może wpływać na charakter mikrośrodowiska komórek R-S [94]. Obniżenie stężenia TARC w surowicy obserwowano również *in vivo* u chorych, którzy otrzymywali HDACi w ramach trwających badań klinicznych [95]. Leki te w monoterapii wykazywały jednak umiarkowaną aktywność kliniczną, przy łącznym odsetku CR i PR wynoszącym 4–40% [96].

Złożoność powiązań immunologicznych między komórkami R-S i ich mikrośrodowiskiem jest rów-

nież uzasadnieniem dla prób zastosowania niespecyficznych leków immunomodulujących, na przykład lenalidomidu. Chociaż dokładny mechanizm molekularny działania tego leku nie jest bliżej poznany, lenalidomid wpływa na komórki mikrośrodowiska, powodując zmianę profilu produkowanych cytokin, czynników angiogennych oraz aktywację immunologicznych mechanizmów efektorowych, w tym komórek naturalnej cytotoksyczności (NK, *natural killers*) [97]. Ostatecznie skutkiem działania tego leku jest najprawdopodobniej zmiana charakteru mikrośrodowiska z antyapoptotycznego, permissywnego dla wzrostu nowotworu, na proapoptotyczny. Lenalidomid w monoterapii stosowany u intensywnie przeleczonych chorych z nawrotem cHL wykazywał aktywność kliniczną, z łącznym odsetkiem CR i PR wynoszącym 17–50%, mimo dozwolonych w protokole redukcji dawek w przypadku wystąpienia hematologicznych działań niepożądanych [98–101]. U znacznego odsetka chorych obserwowano ponadto stabilizację choroby i ograniczenie intensywności wychwytu ^{18}F -FDG w badaniu PET oraz zmniejszenie osoczowych stężeń IL-6, IL-7, APRIL i BAFF [99].

Wnioski i perspektywy

Unikatowa charakterystyka histopatologiczna cHL była od wielu lat przyczyną spekulacji na temat roli mikrośrodowiska w patogenezie tego nowotworu. W badaniach z ostatnich lat scharakteryzowano mikrośrodowisko cHL jako biologicznie aktywną oraz integralną część masy nowotworu, co pozwoliło zrozumieć biologiczne podłoże architektury guza, a także poznać wzajemną sieć powiązań między komórkami R-S i elementami ich podścieliska. Mechanizmy warunkujące zdolność wpływania komórek R-S na zmianę charakteru mikrośrodowiska, które zapewnia im immunologiczne uprzywilejowanie i bezpośrednio wspiera ich wzrost, stają się dziś podstawą do opracowywania nowych strategii leczniczych, które, poprzez zachwianie tych interakcji, mają szansę stać się elementem nowoczesnej terapii cHL.

Z uwagi na złożoność, redundancję i komplementarność tych mechanizmów jest to jednak zadanie szczególnie trudne, tłumaczące jednocześnie umiarkowaną aktywność części badanych leków stosowanych w monoterapii. Sytuację tę mogą zmienić racjonalne skojarzenia leków oddziałujących na mikrośrodowisko cHL. Wydaje się również, że naturalnym i najbardziej racjonalnym miejscem dla tych strategii jest skojarzenie klasycznej chemioterapii z nowymi lekami celowanymi skierowanymi przeciwko komórkom R-S. Takie dwukierunko-

we postępowanie, które będzie niszczyć komórki nowotworowe i równocześnie pozbawiać je protekcyjnego wpływu mikrośrodowiska, ma szansę zmniejszyć odsetek późnych powikłań choroby poprzez zmniejszenie intensywności chemioterapii i/lub radioterapii z zachowaniem lub poprawieniem skuteczności leczenia.

Badania dotyczące wielu ważnych i potencjalnie poddających się interwencji terapeutycznej mechanizmów patogenetycznych, w tym Notch-1, Gal-1, operujących między komórką R-S i mikrośrodowiskiem, nie przekroczyły progu badań przedklinicznych, zatem w przyszłości można oczekiwać jeszcze większej liczby prób z zastosowaniem nowych leków modulujących skład i funkcję mikrośrodowiska w cHL. Identyfikacja klinicznie użytecznych biomarkerów predykcyjnych skuteczności leczenia i służących jego monitorowaniu to kolejne kroki do indywidualizacji terapii chorych z cHL.

Piśmiennictwo

- Kuppers R., Rajewsky K., Zhao M. i wsp. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 10962–10966.
- Kanzler H., Kuppers R., Hansmann M.L., Rajewsky K. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. *J. Exp. Med.* 1996; 184: 1495–1505.
- Brauninger A., Wacker H.H., Rajewsky K., Kuppers R., Hansmann M.L. Typing the histogenetic origin of the tumor cells of lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma in relation to tumor cells of classical and lymphocyte-predominance Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res.* 2003; 63: 1644–1651.
- Kuppers R., Rajewsky K. The origin of Hodgkin and Reed/Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Ann. Rev. Immunol.* 1998; 16: 471–493.
- Lam K.P., Kuhn R., Rajewsky K. In vivo ablation of surface immunoglobulin on mature B cells by inducible gene targeting results in rapid cell death. *Cell* 1997; 90: 1073–1083.
- Kraus M., Alimzhanov M.B., Rajewsky N., Rajewsky K. Survival of resting mature B lymphocytes depends on BCR signaling via the Igalpha/beta heterodimer. *Cell* 2004; 117: 787–800.
- Kuppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat. Rev. Cancer* 2009; 9: 15–27.
- Re D., Muschen M., Ahmadi T. i wsp. Oct-2 and Bob-1 deficiency in Hodgkin and Reed Sternberg cells. *Cancer Res.* 2001; 61: 2080–2084.
- Stein H., Marafioti T., Foss H.D. i wsp. Down-regulation of BOB.1/OBF.1 and Oct2 in classical Hodgkin disease but not in lymphocyte predominant Hodgkin disease correlates with immunoglobulin transcription. *Blood* 2001; 97: 496–501.
- Torlakovic E., Tierens A., Dang H.D., Delabie J. The transcription factor PU.1, necessary for B-cell development is expressed in lymphocyte predominance, but not classical Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol.* 2001; 159: 1807–1814.
- Mathas S., Janz M., Hummel F. i wsp. Intrinsic inhibition of transcription factor E2A by HLH proteins ABF-1 and Id2 mediates reprogramming of neoplastic B cells in Hodgkin lymphoma. *Nat. Immunol.* 2006; 7: 207–215.
- Hertel C.B., Zhou X.G., Hamilton-Dutoit S.J., Junker S. Loss of B cell identity correlates with loss of B cell-specific transcription factors in Hodgkin/Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma. *Oncogene* 2002; 21: 4908–4920.
- Pongubala J.M., Northrup D.L., Lancki D.W. i wsp. Transcription factor EBF restricts alternative lineage options and promotes B cell fate commitment independently of Pax5. *Nat. Immunol.* 2008; 9: 203–215.
- Renne C., Martin-Subero J.L., Eickernjager M. i wsp. Aberrant expression of ID2, a suppressor of B-cell-specific gene expression, in Hodgkin's lymphoma. *Am. J. Pathol.* 2006; 169: 655–664.
- Foss H.D., Reusch R., Demel G. i wsp. Frequent expression of the B-cell-specific activator protein in Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease provides further evidence for its B-cell origin. *Blood* 1999; 94: 3108–3113.
- Jarrett R.F., MacKenzie J. Epstein-Barr virus and other candidate viruses in the pathogenesis of Hodgkin's disease. *Semin. Hematol.* 1999; 36: 260–269.
- Re D., Kuppers R., Diehl V. Molecular pathogenesis of Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 6379–6386.
- Gandhi M.K., Lambley E., Duraiswamy J. i wsp. Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent membrane antigen-specific CD8+ T-cell function in Hodgkin lymphoma patients. *Blood* 2006; 108: 2280–2289.
- Ishida T., Ishii T., Inagaki A. i wsp. Specific recruitment of CC chemokine receptor 4-positive regulatory T cells in Hodgkin lymphoma fosters immune privilege. *Cancer Res.* 2006; 66: 5716–5722.
- Marshall N.A., Christie L.E., Munro L.R. i wsp. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004; 103: 1755–1762.
- Hilchey S.P., De A., Rimsza L.M., Bankert R.B., Bernstein S.H. Follicular lymphoma intratumoral CD4+CD25+GITR+ regulatory T cells potently suppress CD3/CD28-costimulated autologous and allogeneic CD8+CD25- and CD4+CD25- T cells. *J. Immunol.* 2007; 178: 4051–4061.
- Yang Z.Z., Novak A.J., Stenson M.J., Witzig T.E., Ansell S.M. Intratumoral CD4+CD25+ regulatory T-cell-mediated suppression of infiltrating CD4+ T cells in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006; 107: 3639–3646.
- Carbone A., Gloghini A., Gruss H.J., Pinto A. CD40 ligand is constitutively expressed in a subset of T cell lymphomas and on the microenvironmental reactive T cells of follicular lymphomas and Hodgkin's disease. *Am. J. Pathol.* 1995; 147: 912–922.
- de Jong D., Enblad G. Inflammatory cells and immune microenvironment in malignant lymphoma. *J. Intern. Med.* 2008; 264: 528–536.
- Gattei V., Degan M., Gloghini A. i wsp. CD30 ligand is frequently expressed in human hematopoietic malignancies of myeloid and lymphoid origin. *Blood* 1997; 89: 2048–2059.
- Gruss H.J., Pinto A., Gloghini A. i wsp. CD30 ligand expression in nonmalignant and Hodgkin's disease-involved lymphoid tissues. *Am. J. Pathol.* 1996; 149: 469–481.
- Younes A., Zhao S., Zhang X. i wsp. CD30-ligand and CD40-ligand expression in lymph nodes involved with Hodgkin's disease. *Ann. Oncol.* 1997; 8 (supl. 2): 97–100.
- Clodi K., Asgari Z., Younes M. i wsp. Expression of CD40 ligand (CD154) in B and T lymphocytes of Hodgkin disease: potential therapeutic significance. *Cancer* 2002; 94: 1–5.

29. De Filippi R., Russo F., Iaccarino G. i wsp. Abnormally elevated levels of serum free-immunoglobulin light chains are frequently found in classic Hodgkin lymphoma (cHL) and predict outcome of patients with early stage disease. *Blood* 2009; 114: abstrakt 267.
30. Enblad G., Molin D., Glimelius I., Fischer M., Nilsson G. The potential role of innate immunity in the pathogenesis of Hodgkin's lymphoma. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.* 2007; 21: 805–823.
31. Steidl C., Lee T., Shah S.P. i wsp. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 875–885.
32. Skinnider B.F., Mak T.W. The role of cytokines in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2002; 99: 4283–4297.
33. Aldinucci D., Lorenzon D., Cattaruzza L. i wsp. Expression of CCR5 receptors on Reed-Sternberg cells and Hodgkin lymphoma cell lines: involvement of CCL5/Rantes in tumor cell growth and microenvironmental interactions. *Int. J. Cancer* 2008; 122: 769–776.
34. Niens M., Visser L., Nolte I.M. i wsp. Serum chemokine levels in Hodgkin lymphoma patients: highly increased levels of CCL17 and CCL22. *Br. J. Haematol.* 2008; 140: 527–536.
35. van den Berg A., Visser L., Poppema S. High expression of the CC chemokine TARC in Reed-Sternberg cells. A possible explanation for the characteristic T-cell infiltrate in Hodgkin's lymphoma. *Am. J. Pathol.* 1999; 154: 1685–1691.
36. Peh S.C., Kim L.H., Poppema S. TARC, a CC chemokine, is frequently expressed in classic Hodgkin's lymphoma but not in NLP Hodgkin's lymphoma, T-cell-rich B-cell lymphoma, and most cases of anaplastic large cell lymphoma. *Am. J. Surg. Pathol.* 2001; 25: 925–929.
37. Fischer M., Juremalm M., Olsson N. i wsp. Expression of CCL5/RANTES by Hodgkin and Reed-Sternberg cells and its possible role in the recruitment of mast cells into lymphomatous tissue. *Int. J. Cancer* 2003; 107: 197–201.
38. Hanamoto H., Nakayama T., Miyazato H. i wsp. Expression of CCL28 by Reed-Sternberg cells defines a major subtype of classical Hodgkin's disease with frequent infiltration of eosinophils and/or plasma cells. *Am. J. Pathol.* 2004; 164: 997–1006.
39. Baumforth K.R., Birgersdotter A., Reynolds G.M. i wsp. Expression of the Epstein-Barr virus-encoded Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 in Hodgkin's lymphoma cells mediates Up-regulation of CCL20 and the migration of regulatory T cells. *Am. J. Pathol.* 2008; 173: 195–204.
40. Skinnider B.F., Elia A.J., Gascoyne R.D. i wsp. Interleukin 13 and interleukin 13 receptor are frequently expressed by Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2001; 97: 250–255.
41. Kapp U., Yeh W.C., Patterson B. i wsp. Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J. Exp. Med.* 1999; 189: 1939–1946.
42. Weihrach M.R., Mancke O., Beyer M. i wsp. Elevated serum levels of CC thymus and activation-related chemokine (TARC) in primary Hodgkin's disease: potential for a prognostic factor. *Cancer Res.* 2005; 65: 5516–5519.
43. Skinnider B.F., Elia A.J., Gascoyne R.D. i wsp. Interleukin 13 and interleukin 13 receptor are frequently expressed by Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2001; 97: 250–255.
44. Poppema S. Immunobiology and pathophysiology of Hodgkin lymphomas. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2005: 231–238.
45. Chemnitz J.M., Eggle D., Driesen J. i wsp. RNA. fingerprints provide direct evidence for the inhibitory role of TGFbeta and PD-1 on CD4+ T cells in Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007; 110: 3226–3233.
46. Newcom S.R., Gu L. Transforming growth factor beta 1 messenger RNA in Reed-Sternberg cells in nodular sclerosing Hodgkin's disease. *J. Clin. Pathol.* 1995; 48: 160–163.
47. Aldinucci D., Lorenzon D., Olivo K., Rapana B., Gattei V. Interactions between tissue fibroblasts in lymph nodes and Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Leuk. Lymphoma* 2004; 45: 1731–1739.
48. Jundt F., Anagnostopoulos I., Bommert K. i wsp. Hodgkin/Reed-Sternberg cells induce fibroblasts to secrete eotaxin, a potent chemoattractant for T cells and eosinophils. *Blood* 1999; 94: 2065–2071.
49. Juszczynski P., Ouyang J., Monti S. i wsp. The AP1-dependent secretion of galectin-1 by Reed Sternberg cells fosters immune privilege in classical Hodgkin lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 104: 13134–13139.
50. Gandhi M.K., Moll G., Smith C. i wsp. Galectin-1 mediated suppression of Epstein-Barr virus specific T-cell immunity in classic Hodgkin lymphoma. *Blood* 2007; 110: 1326–1329.
51. Baum L.G., Pang M., Perillo N.L. i wsp. Human thymic epithelial cells express an endogenous lectin, galectin-1, which binds to core 2 O-glycans on thymocytes and T lymphoblastoid cells. *J. Exp. Med.* 1995; 181: 877–887.
52. Rabinovich G.A. Galectin-1 as a potential cancer target. *Br. J. Cancer* 2005; 92: 1188–1192.
53. Toscano M.A., Commodaro A.G., Ilarregui J.M. i wsp. Galectin-1 suppresses autoimmune retinal disease by promoting concomitant Th2- and T regulatory-mediated anti-inflammatory responses. *J. Immunol.* 2006; 176: 6323–6332.
54. Rabinovich G.A., Toscano M.A. Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 338–352.
55. Ilarregui J.M., Croci D.O., Bianco G.A. i wsp. Tolerogenic signals delivered by dendritic cells to T cells through a galectin-1-driven immunoregulatory circuit involving interleukin 27 and interleukin 10. *Nat. Immunol.* 2009; 10: 981–991.
56. Toscano M.A., Bianco G.A., Ilarregui J.M. i wsp. Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat. Immunol.* 2007; 8: 825–834.
57. Rodig S.J., Ouyang J., Juszczynski P. i wsp. AP1-dependent galectin-1 expression delineates classical hodgkin and anaplastic large cell lymphomas from other lymphoid malignancies with shared molecular features. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 3338–3344.
58. Keir M.E., Butte M.J., Freeman G.J., Sharpe A.H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Ann. Rev. Immunol.* 2008; 26: 677–704.
59. Sharpe A.H., Wherry E.J., Ahmed R., Freeman G.J. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat. Immunol.* 2007; 8: 239–245.
60. Butte M.J., Keir M.E., Phamduy T.B., Sharpe A.H., Freeman G.J. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 2007; 27: 111–122.
61. Green M.R., Monti S., Rodig S.J. i wsp. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2010; 116: 3268–3277.

62. Kapp U., Dux A., Schell-Frederick E. i wsp. Disseminated growth of Hodgkin's-derived cell lines L540 and L540cy in immunodeficient SCID mice. *Ann. Oncol.* 1994; 5 (supl. 1): 121–126.
63. Biggar R.J., Jaffe E.S., Goedert J.J., Chaturvedi A., Pfeiffer R., Engels E.A. Hodgkin lymphoma and immunodeficiency in persons with HIV/AIDS. *Blood* 2006; 108: 3786–3791.
64. Aldinucci D., Gloghini A., Pinto A., De Filippi R., Carbone A. The classical Hodgkin's lymphoma microenvironment and its role in promoting tumour growth and immune escape. *J. Pathol.* 2010; 221: 248–263.
65. Joos S., Menz C.K., Wrobel G. i wsp. Classical Hodgkin lymphoma is characterized by recurrent copy number gains of the short arm of chromosome 2. *Blood* 2002; 99: 1381–1387.
66. Schmitz R., Hansmann M.L., Bohle V. i wsp. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J. Exp. Med.* 2009; 206: 981–989.
67. Cabannes E., Khan G., Aillet F., Jarrett R.F., Hay R.T. Mutations in the Ikb α gene in Hodgkin's disease suggest a tumour suppressor role for IkappaB α . *Oncogene* 1999; 18: 3063–3070.
68. Jungnickel B., Staratschek-Jox A., Brauninger A. i wsp. Clonal deleterious mutations in the IkappaB α gene in the malignant cells in Hodgkin's lymphoma. *J. Exp. Med.* 2000; 191: 395–402.
69. Emmerich F., Theurich S., Hummel M. i wsp. Inactivating I kappa B epsilon mutations in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *J. Pathol.* 2003; 201: 413–420.
70. Jundt F., Acikgoz O., Kwon S.H. i wsp. Aberrant expression of Notch1 interferes with the B-lymphoid phenotype of neoplastic B cells in classical Hodgkin lymphoma. *Leukemia* 2008; 22: 1587–1594.
71. Jundt F., Anagnostopoulou I., Forster R., Mathas S., Stein H., Dorken B. Activated Notch1 signaling promotes tumor cell proliferation and survival in Hodgkin and anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 2002; 99: 3398–3403.
72. Rothenberg E.V., Moore J.E., Yui M.A. Launching the T-cell-lineage developmental programme. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8: 9–21.
73. Stanelle J., Doring C., Hansmann M.L., Kuppers R. Mechanisms of aberrant GATA-3 expression in classical Hodgkin lymphoma and its consequences for the cytokine profile of Hodgkin and Reed/Sternberg cells. *Blood* 2010; 116: 4202–4211.
74. Joos S., Kupper M., Ohl S. i wsp. Genomic imbalances including amplification of the tyrosine kinase gene JAK2 in CD30+ Hodgkin cells. *Cancer Res.* 2000; 60: 549–552.
75. Joos S., Granzow M., Holtgreve-Grez H. i wsp. Hodgkin's lymphoma cell lines are characterized by frequent aberrations on chromosomes 2p and 9p including REL and JAK2. *Int. J. Cancer* 2003; 103: 489–495.
76. Steidl C., Telenius A., Shah S.P. i wsp. Genome-wide copy number analysis of Hodgkin Reed-Sternberg cells identifies recurrent imbalances with correlations to treatment outcome. *Blood* 2010; 116: 418–427.
77. Cattaruzza L., Gloghini A., Olivo K. i wsp. Functional coexpression of interleukin (IL)-7 and its receptor (IL-7R) on Hodgkin and Reed-Sternberg cells: involvement of IL-7 in tumor cell growth and microenvironmental interactions of Hodgkin's lymphoma. *Int. J. Cancer* 2009; 125: 1092–1101.
78. Khandani A.H., Dunphy C.H., Meteesatien P., Dufault D.L., Ivanovic M., Shea T.C. Glut1 and Glut3 expression in lymphoma and their association with tumor intensity on 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Nucl. Med. Commun.* 2009; 30: 594–601.
79. Matsui T., Nakata N., Nagai S. i wsp. Inflammatory cytokines and hypoxia contribute to 18F-FDG uptake by cells involved in pannus formation in rheumatoid arthritis. *J. Nucl. Med.* 2009; 50: 920–926.
80. Peggs K.S., Sureda A., Qian W. i wsp. Reduced-intensity conditioning for allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in relapsed and refractory Hodgkin lymphoma: impact of alemtuzumab and donor lymphocyte infusions on long-term outcomes. *Br. J. Haematol.* 2007; 139: 70–80.
81. Thomson K.J., Peggs K.S., Smith P. i wsp. Superiority of reduced-intensity allogeneic transplantation over conventional treatment for relapse of Hodgkin's lymphoma following autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 41: 765–770.
82. Chetaille B., Bertucci F., Finetti P. i wsp. Molecular profiling of classical Hodgkin lymphoma tissues uncovers variations in the tumor microenvironment and correlations with EBV infection and outcome. *Blood* 2009; 113: 2765–2775.
83. Rassidakis G.Z., Medeiros L.J., Viviani S. i wsp. CD20 expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease: associations with presenting features and clinical outcome. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 1278–1287.
84. Younes A., Romaguera J., Hagemester F. i wsp. A pilot study of rituximab in patients with recurrent, classic Hodgkin disease. *Cancer* 2003; 98: 310–314.
85. Wedgwood A.R., Fanale M.A., Fayad L.E. i wsp. Rituximab + ABVD improves event-free survival (EFS) in patients with classical Hodgkin lymphoma in all International Prognostic Score (IPS) groups and in patients who have PET positive disease after 2–3 cycles of therapy. *Blood* 2007; 110: abstrakt 215.
86. Copeland A.R., Cao Y., Fanale M. i wsp. Final Report of a Phase-II Study of Rituximab Plus ABVD for Patients with Newly Diagnosed Advanced Stage Classical Hodgkin Lymphoma: results of Long Follow up and Comparison to Institutional Historical Data. *Blood* 2009; 114: abstrakt 1680.
87. Law C.L., Gordon K.A., Collier J. i wsp. Preclinical antilymphoma activity of a humanized anti-CD40 monoclonal antibody, SGN-40. *Cancer Res.* 2005; 65: 8331–8338.
88. Law C.-L., McEarchern J.A., Cerveny C.G. i wsp. The humanized anti-CD40 monoclonal antibody SGN-40 targets Hodgkin's disease cells through multiple mechanisms. *Blood* 2005; 106: abstrakt 1476.
89. Long L., Patawaran M., Tong X. i wsp. Efficacy of an antagonistic anti-CD40 monoclonal antibody, HCD122 (CHIR-12.12), in pre-clinical models of human non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *Blood* 2006; 108: abstrakt 230.
90. Fiumara P., Cabanillas F., Younes A. Interleukin-13 levels in serum from patients with Hodgkin disease and healthy volunteers. *Blood* 2001; 98: 2877–2878.
91. Thijssen V.L., Postel R., Brandwijk R.J. i wsp. Galectin-1 is essential in tumor angiogenesis and is a target for antiangiogenesis therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 15975–15980.
92. Ouyang J., Juszczynski P., O'Donnell E. i wsp. Expression and targeted inhibition of the immunoregulatory carbohydrate-binding lectin, galectin 1, in EBV-driven post-transplant lymphoproliferative disorders. *Blood* 2009; 114: abstrakt 96.
93. Berger R., Rotem-Yehudar R., Slama G. i wsp. Phase I safety and pharmacokinetic study of CT-011, a humanized antibody interacting with PD-1, in patients with advanced hematologic malignancies. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 3044–3051.

94. Buglio D., Georgakis G.V., Hanabuchi S. i wsp. Vorinostat inhibits STAT6-mediated TH2 cytokine and TARC production and induces cell death in Hodgkin lymphoma cell lines. *Blood* 2008; 112: 1424–1433.
95. Younes A., Pro B., Fanale M. i wsp. Isotype-selective HDAC inhibitor MGCD0103 decreases serum TARC concentrations and produces clinical responses in heavily pretreated patients with relapsed classical Hodgkin lymphoma (HL). *Blood* 2007; 110: abstrakt 2566.
96. Jona A., Younes A. Novel treatment strategies for patients with relapsed classical Hodgkin lymphoma. *Blood Rev.* 2010; 24: 233–238.
97. Chanan-Khan A.A., Cheson B.D. Lenalidomide for the treatment of B-cell malignancies. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 1544–1552.
98. Boll B., Borchmann P., Topp M.S. i wsp. Lenalidomide in patients with refractory or multiple relapsed Hodgkin lymphoma. *Br. J. Haematol.* 2010; 148: 480–482.
99. Corazzelli G., De Filippi R., Capobianco G. i wsp. Tumor flare reactions and response to lenalidomide in patients with refractory classic Hodgkin lymphoma. *Am. J. Hematol.* 2010; 85: 87–90.
100. Kuruvilla J., Taylor D., Wang L., Blattler C., Keating A., Crump M. Phase II Trial of Lenalidomide in Patients with Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2008; 112: abstrakt 3052.
101. Fehniger T.A., Larson S., Trinkaus K. i wsp. Phase II Multi-center Study of Lenalidomide in Relapsed or Refractory Classical Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2009; 114: abstrakt 3693.