

EKSPRESJA PROTO-ONKOGENU BCL-6 W PRAWIDŁOWYCH I NOWOTWOROWYCH KOMÓRKACH B

THE PROTO-ONCOGENE BCL-6 EXPRESSION IN NORMAL
AND MALIGNANT B CELLS

Halina ANTOSZ

Zakład Genetyki Medycznej, Akademia Medyczna, Lublin

Streszczenie: Ludzki protoonkogen *BCL6* koduje represor transkrypcji niezbędny do tworzenia ośrodków rozmnażania (GC), odpowiedzi T-zależnej, regulacji różnicowania komórek B oraz modulacji sygnałów z receptora limfocytów B. Wysoki poziom ekspresji *BCL6* obserwowany jest w komórkach B w GC, natomiast niski w pre-GC, w bardziej zróżnicowanych komórkach B pamięci i w plazmocytach. *BCL-6* funkcjonuje jako potencjalny represor transkrypcji różnych genów docelowych, ale jego dokładna rola jest niejasna. W chłoniakach B-komórkowych występują często strukturalne nieprawidłowości w regionie promotora *BCL6*, ponadto translokacje chromosomowe i somatyczne hipermutacje. Mutacje te reprezentują większość genetycznych zmian związanych z chłoniakami nie-Hodgkinowskimi, a szczególnie z chłoniakiem olbrzymiokomórkowym. Sugeruje się, że *BCL6* jest ważnym czynnikiem w patogenezie chłoniaków.

Słowa kluczowe: gen *BCL-6*, białko *BCL-6*, chłoniaki nie-Hodgkinowskie.

Summary: The human proto-oncogene *BCL-6*, encodes transcriptional repressor that is necessary for germinal-center formation, T cell dependent antibody responses, regulation of B cell differentiation, and B-cell receptor signaling modulation. High expression of *BCL6* is detected in GC B cells, but not in pre-GC B cells or in more differentiated memory or plasma cells. It performs a function as a potent transcriptional repressor of various target genes, but the precise function of *BCL6* in these processes is unclear. In B cell lymphomas, structural alterations of the *BCL6* promoter region, including chromosome translocation and somatic hypermutation present the most prevalent genetic lesion, especially in diffuse large cell lymphoma. *BCL-6* is suggested as an important factor in lymphomagenesis.

Key words: *BCL-6* gene and protein, non-Hodgkin lymphomas.

Wykaz stosowanych skrótów: **BCL-6** (*B-cell lymphoma*) – chłoniak B-komórkowy 6, **B-CLL** – przewlekła białaczka limfatyczna B-komórkowa, **B-CoR** (*BCL-6 interacting corepressor*) – korepresor oddziałujący z *BCL-6*, **CTLA-4** – hamująca cząsteczka regulacyjna limfocytów T, **der** – chromosom pochodny, **DLCL** – chłoniak rozlany olbrzymiokomórkowy, **FL** – chłoniak grudkowy, **GC** – ośrodki

rozmnażania, **HDAC** – deacetylaza histonów, **Ig** – immunoglobulina, **IL-4** – interleukina 4, **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez miogeny, **N-CoR** (*nuclear receptor corepressor*) – korepresor oddziałujący z BCL-6, **NHL** – chłoniak nie-Hodgkinowski, **PEST** – domena łańcucha polipeptydowego bogata w prolinę, kwas glutaminowy/kwas asparaginowy – serynę – treoninę, **POZ** (*poxvirus and zing finger*) – domena białkowa, **SMRS** (*silecing mediator of retinoid and thyroid receptor*) – korepresor oddziałujący z BCL-6, **STAT** – stymulator transdukcji aktywator transkrypcji, **Th2** – właściwy limfocyt pomocniczy T CD4⁺, **ZF** – palec cynkowy.

WPROWADZENIE

Nowotwory wywodzą się z komórek, w których doszło do mutacji kluczowych genów, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania komórki. Wynikiem zmian mutacyjnych może być: nadmierna ekspresja proto-onkogenów lub defekt genów supresorowych. Zarówno jedne, jak i drugie geny odpowiedzialne są, między innymi, za proliferację, różnicowanie i/lub apoptozę. Mutacje mogą prowadzić do niestabilności genomowej i ostatecznie do nowotworzenia. Analiza punktów złamań chromosomów i translokacji obserwowanych w nowotworach, często przyczynia się do identyfikacji genów zaangażowanych w ten proces.

Proto-onkogen *BCL-6* zidentyfikowano ze względu na jego uczestnictwo w chromosomowych translokacjach obserwowanych w chłoniaku rozlanym olbrzymio-komórkowym (DLCL) – najbardziej pospolitej formie chłoniaka nie-Hodgkinowskiego (NHL) [10]. Następnie wykazano, że rearanżacje genu *BCL-6* mogą występować w 30–40% DLCL, 5–10% chłoniaków grudkowych (FL), 1/3 przypadków białaczki limfocytowej przewlekłej B-komórkowej (B-CLL) [2]. Zmiany genetyczne *BCL-6* mogą obejmować translokacje, w których uczestniczy chromosom 3 region q27 i somatyczne hipermutacje w regulatorowym regionie 5'.

W prawidłowych tkankach limfoidalnych, najwyższy poziom ekspresji białka BCL-6 obserwowany jest w ośrodkach rozmnażania. Sugeruje się, że BCL-6 funkcjonuje jako potencjalny wyciszacz transkrypcji genów, biorących udział w przekazywaniu różnych rodzajów sygnałów docierających z błony komórkowej.

GEN I BIAŁKO BCL-6

Gen *BCL-6* obejmuje region 26 tysięcy par zasad (pz) w długim ramieniu chromosomu 3 (3q27.3) i składa się z 10 eksonów (ryc.1). Niekodujący region 5' genu *BCL-6* zawiera elementy regulatorowe dla ekspresji genu. Region promotora obejmuje 1,5 tysięcy par zasad (kz), zawiera sekwencje TATA, regulatorowe sekwencje CACCC, kasyety E (ang. *E-box*) i GATA-1. Może on być odpowiedzialny za niską ekspresję genu w prawidłowych i w nowotworowych tkankach limfoidalnych, z wyjątkiem nowotworów limfoidalnych wywodzących się z ośrodków rozmnażania [49]. W niekodującym eksonie 1 *BCL6* znajdują się dwa motywy zwane BSE1A (+225 +244) i BSE1B (+249 +268), które są docelowymi, fizjologicznymi miejscami wiązania białka BCL6, odpowiedzialnymi za autoregulację

aktywności genu. W regionach tych dochodzi do częstych mutacji, skutkiem tego wiązanie BCL6 do BSE jest osłabione [18, 43]. Fakt ten łączy się z patogenezą DLBCL [52].

Miejszem szczególnie podatnym na zmiany mutacyjne jest koniec 3' niekodującego eksonu 1. Z tego względu określono ten obszar jako MMC (ang. *major mutation cluster*) [14]. Wykryte mutacje są różnorodne i obecne w komórkach prawidłowych i ich nowotworowych odpowiednikach [41]. Postuluje się, że zmiany mutacyjne w MMC mogą indukować zmiany chromatyny jądrowej tego regionu, w wyniku tego bardziej wzrasta podatność na rearanżacje z innymi genami [1]. Słuszność tego twierdzenia potwierdza częściowe pokrywanie się obszaru MMC z miejscami MTC (ang. *major translocation cluster*) w eksonie 1 BCL-6 [12]. Obszary podatne na translokacje zidentyfikowano zarówno powyżej, jak i poniżej pierwszego eksonu. Region obejmujący 245-285 kbp powyżej pierwszego eksonu genu *BCL-6*, określono jako region ABR (ang. *alternative breakpoint region*) [16]. 126 kbp poniżej 1-go eksonu zidentyfikowano obszar 781 kbp, w którym ze szczególną częstością występują miejsca złamań skutkujące translokacjami międzychromosomowymi, głównie do chromosomu 14, 2, 22. Wynikiem tego są fuzje fragmentów genu *BCL6* i genów immunoglobulin łańcucha ciężkiego i łańcuchów lekkich kappa lub lambda [1,35,53].

Regulacja ekspresji *BCL-6* zachodzi na poziomie regulacji transkrypcji (w tym negatywnej autoregulacji) i w okresie potranskrypcyjnym [38]. Mechanizm tego procesu nie jest dotychczas całkowicie wyjaśniony.

Miejsce startu translacji zlokalizowane jest w eksonie 3 [48]. mRNA o długości 3,8 kb ulega translacji do białka złożonego z 706 aminokwasów o masie cząsteczkowej 78,8 kD. BCL-6 jest jądrową fosfoproteiną, należąca do podklasy białek typu palców cynkowych (ZF). Na końcu karboksylowym występuje sześć palców cynkowych Cys₂-His₂ typu *Krüppel*, które wiążą się w sposób specyficzny do sekwencji DNA. Na końcu aminowym występuje konserwatywna ewolucyjnie, 120-aminokwasowa domena POZ [4, 68], odpowiedzialna za oddziaływania białko-białko i za znaczną część funkcji represyjnej BCL-6 [50]. Za jej pośrednictwem do BCL-6 przyłączane są korepresory wzmacniające efekt represji transkrypcji genów docelowych.

Wewnątrz cząsteczki białka BCL6 zidentyfikowano trzy sekwencje PEST, bogate w prolinę, glutaminę i serynę – docelowe miejsca dla kinazy serynowo/treoninowej (MAPK). Są one wymagane do degradacji białka, indukowanej przez fosforylację, stąd ich nazwa – domena śmierci [47] (ryc. 2).

BCL-6 jest ewolucyjnie konserwatywnym białkiem, z niską ekspresją w różnych tkankach, ale ze szczególnie wysoką aktywnością represyjną w dojrzałych komórkach



RYCINA 1. Schemat przedstawiający locus BCL-6. Pola ciemne przedstawiają eksony kodujące, pola jasne – eksony niekodujące



RYCINA 2 Schemat cząsteczki białka BCL-6

B obecnych w ośrodkach rozmnażania węzłów chłonnych i w ich stransformowanych odpowiednikach. Ekspresji BCL-6 nie wykryto w naiwnych komórkach B w stadium pre-GC, w komórkach B pamięci post-GC ani w plazmocytach. W limfocytach o T-komórkowym rodowodzie, białko BCL-6 jest wykrywane w korowych tymocytach i w komórkach T-CD4⁺ w ośrodkach rozmnażania. BCL-6 jest ważnym regulatorem transkrypcji w systemie immunologicznym i negatywnym regulatorem odpowiedzi Th2 [5,24]. Jego rola polega na [11,31,32]:

- regulacji kooperacji limfocytów B-T,
- tłumieniu transkrypcji genów istotnych dla prawidłowego rozwoju, aktywacji i różnicowania limfocytów,
- tworzeniu ośrodków rozmnażania (GC),
- represji genów aktywujących cykl komórkowy,
- represji genów aktywujących apoptozę w GC,
- tłumieniu genów aktywnych w stanach zapalnych,
- modulacji sygnałów przekazywanych z receptora limfocytów B (BCR).

REGULACJA FUNKCJI BCL-6

Wyciszenie transkrypcji *BCL-6* jest warunkiem koniecznym, aby prawidłowe limfocyty B mogły opuścić ośrodki rozmnażania. Zaburzona regulacja ekspresji *BCL-6* manifestowana stałą, na znacznym poziomie aktywnością genu *BCL-6*, może być przyczyną transformacji nowotworowej, co ma miejsce np. w chłoniakach [5, 51].

W warunkach fizjologicznych kontrolę nad ekspresją *BCL-6* sprawują sygnały docierające od receptorów błonowych, tj. BCR, CD40 i receptorów mitogenów. Kontrola sprawowana jest na poziomie mRNA i białka. Badania *in vitro* wykazały, że po aktywacji angażującej wymienione receptory, dochodzi do obniżenia ekspresji mRNA *BCL-6*, w limfocytach B krwi obwodowej i śledziony [5].

Na poziomie białka stabilność BCL-6 regulują sygnały transmitowane z BCR za pośrednictwem białka RAS. Aktywne białko RAS stymuluje MAP kinazę, która fosforyluje białko BCL-6, doprowadzając do zmniejszenia jego poziomu przez degradację. Degradacja indukowana fosforylacją wymaga domen PEST. Zaangażowanie sekwencji PEST wskazuje na to, że degradacja BCL-6 odbywa się fizjologiczną drogą ubiquityna-proteasomy, czyli głównym, wieloetapowym, pozalizosomalnym szlakiem, odpowiedzialnym za degradację białek wewnątrzkomórkowych w organizmach eukariotycznych.

Kolejnym opisanym mechanizmem hamującym represyjną aktywność białka BCL-6 jest acetylacja za pośrednictwem ko-aktywatora p300. Acetylacja zapobiega przyłączeniu deacetylaz histonów do BCL-6, nie dopuszczając do represji transkrypcji docelowych genów. BCL-6 jest acetylowane zarówno w warunkach fizjologicznych w ośrodkach rozmnażania komórek B, jak również w GC pochodzących z nowotworów B-komórkowych. Acetylacja BCL-6 wspiera transkrypcję genów zwykle hamowanych przez ten represor [13, 51].

DOCELOWE GENY DLA BCL-6

Protoonkogen BCL-6 jest genem wielofunkcyjnym. Funkcjonalne i biochemiczne dowody bezpośredniej represji transkrypcji przez BCL-6 określono tylko dla kilkunastu genów, zaangażowanych w aktywację i różnicowanie limfocytów, w izotypowe przełączenie klasy Ig, w regulację cyklu komórkowego, i w stanach zapalnych (tab.1). Precyzyjny molekularny mechanizm oddziaływania BCL-6 na geny docelowe jest niejasny. Przyjmuje się, że BCL-6 tłumi ekspresję genów przez bezpośrednie wiązanie się do elementów regulatorowych w ich promotorach [31,46,52, 62,65,64].

Unikatowymi cechami wszystkich genów docelowych BCL-6, jak również samego genu *BCL-6*, jest ich indukcja przez sygnały pozakomórkowe. Geny CD69, CD44, cyklina D2 i MIP-1 α , indukowane są podczas aktywacji limfocytów B przez BCR lub przez mitogeny [62], gen *PRDM* jest aktywowany przez IL-2, CD80 przez BCR, CD40 i IL-4 [26, 45]. Chemokina MCP-1 jest aktywowana przez LPS [64].

Poprzez hamowanie transkrypcji genu *CD80*, BCL-6 osłabia efekt współpracy między komórkami B i T. Antygen CD80 jest aktywną cząsteczką limfocyty B, która zwiększa efektywność prezentacji antygeny limfocytowi T. CD80 jest ligandem receptora CD28, obecnego na limfocytach T. Stymulacja CD28 przedłuża i znacznie zwiększa produkcję cytokin w tym IL-2, która jest niezbędna m.in. do prawidłowego rozwoju pomocniczych limfocytów T i zapobiega powstawaniu stanu tolerancji.

Podczas kooperacji B-T limfocyty T przejściowo wykazują na swej powierzchni ligand CD40L, który łączy się z receptorem CD40 na komórce B. Za jego pośrednictwem przekazywany jest najsilniejszy sygnał aktywujący limfocyty B. Współdziałanie CD40-CD40L ułatwia limfocytom B wejście w cykl komórkowy. Sygnalizacja za pośrednictwem CD40 odgrywa istotną rolę w izotypowym przełączeniu klasy Ig, w różnicowaniu limfocytów B do plazmacytów i w tworzeniu komórek pamięci. Sygnał z CD40 jest także konieczny do indukcji cząsteczki CD80, do odpowiedzi humoralnej na antygeny grasiczozależne i do rozwoju ośrodków rozmnażania. BCL-6 hamuje transkrypcję CD80 i wycisza jego ekspresję.

Eksperymenty na myszach z deficytem *BCL-6* wykazały wyraźny wzrost ekspresji genu *CD80* w komórkach prawidłowych [46].

Podczas prawidłowego rozwoju limfocytów, BCL-6 jest negatywnym regulatorem drogi sygnalizacji prowadzącej od BCR [48]. Przy braku sygnalizacji, komórki B

TABELA 1. Docelowe geny BCL6

Gen	Opis/funkcja docelowego genu	Literatura
CD69	marker wczesnej aktywacji limfocytów B	11, 62
CD44	obecny na wszystkich leukocytach, odgrywający rolę w adhezji i aktywacji	11, 62
EB12	obecny na limfocytach B, aktywacja indukowana EBV	11, 62
Id2	ekspresja powszechna, negatywny regulator różnicowania komórkowego	11, 62
STAT1	ekspresja powszechna, przekaźnik sygnału i aktywator transkrypcji	11, 62
CD80	ekspresja na aktywowanych komórkach B i komórkach dendrytycznych, udział w kooperacji limfocytów T-B	46
PRDM	kodujący białko Blimp-1, ekspresja w plazmocytach	11, 62
IgE	subpopulacja aktywowanych limfocytów B, przełączenie klasy, produkcja IgE	62
MIP-1 α	chemokina, działanie pozapalne, regulacja aktywacji proliferacji i różnicowania określonych komórek, regulacja odpowiedzi immunologicznej, udział w przenoszeniu sygnału przy pomocy białek STAT i G	11, 62
IP-10	chemokina, syntetyzowana przez monocyty, makrofagi, fibroblasty, keratynocyty, komórki śródbłonna, działanie pozapalne, regulacja aktywacji proliferacji i różnicowania określonych komórek, regulacja odpowiedzi immunologicznej	11, 62
MCP-1	monocytny czynnik chemotaktyczny i aktywujący	64
MRP-1	monocytny czynnik chemotaktyczny	64
Cyklina D2	ekspresja powszechna, kontrola cyklu komórkowego	11, 62
p27 ^{kip1}	ekspresja powszechna, inhibitor cyklu komórkowego, zatrzymanie cyklu w fazie G1	11, 62
CXCR4	receptor czynnika podścieliskowego SDF-1, ekspresja na prekursorowych komórkach wczesnego etapu różnicowania	11, 62
PDCD2	ludzki gen programowanej śmierci komórki-2	11
p53	anty-onkogen, strażnik genomu	55
IL-5	cytokina zaangażowana w kontrolowanie wzrostu, różnicowania i aktywacji eozynofili	8
IL-18	stymulator odpowiedzi Th1 i Th2	27

ośrodków rozmnażania wykazują wysoką ekspresję *BCL-6* i niską aktywność genów docelowych. Aktywacja BCR prowadzi do obniżenia ekspresji *BCL-6*, co pozwala na wyższy poziom indukcji genów docelowych. Dzięki takiej regulacji, BCL-6 ma wpływ na rozwój limfocytów B również w stadium post-GC.

Istnieją dowody, że znacznie więcej genów podlega kontroli BCL-6, przy czym działanie to jest pośrednie, poprzez pierwotne produkty genów docelowych [62]. Za przykład może posłużyć docelowy dla BCL-6 gen *prdm*, kodujący represor transkrypcji Blimp-1. Blimp-1 kontroluje końcowe różnicowanie limfocytów B do plazmacytów [6], hamując jednocześnie proliferację indukowaną między innymi przez geny *c-Myc* i *PAX-5* [42,56]. *BCL-6* jest negatywnym regulatorem genu *prdm*, a pozytywnym regulatorem genu *c-Myc*, mimo iż w promotorze genu *c-Myc* nie ma miejsca wiązania BCL-6. Hamowanie ekspresji *BCL-6* pociąga za sobą obniżenie ekspresji genu *c-MYC*, wzrost ekspresji inhibitora cyklu komórkowego p27^{kip1} i zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1 [62].

Ostatnio [55], na listę genów podlegających bezpośredniej represji BCL-6 został wciągnięty gen *p53*. W regionie 5' inicjacji transkrypcji genu *p53*, stwierdzono dwa miejsca wiązania dla BCL-6. Obniżenie ekspresji BCL-6 ściśle wiąże się ze wzrostem zarówno podstawowego, jak i indukowanego poziomu p53. Wynik ten przekłada się na ekspresję genów pozostających pod kontrolą p53, tj. genu *p21* i genu *PUMA* – modulatora apoptozy indukowanej przez p53. Spekuluje się, że inhibicja ekspresji p53 przez BCL-6 pozwala komórkom B obecnym w GC na utrzymanie fizjologicznego, genomowego stresu (pęknięć DNA), wymaganego dla rearanżacji genomu, przełączenia klasy immunoglobulin i somatycznych hipermutacji, bez indukowania odpowiedzi apoptotycznej zależnej od p53.

Inhibicja transkrypcji p53 przez BCL-6 obserwowana jest również w nowotworach. Około 45% DLBCL, jednego z najpowszechniejszych chłoniaków, wykazuje stałą ekspresję BCL-6 z powodu translokacji chromosomowych lub mutacji, które zmieniają jego region promotorowy. Ten typ chłoniaka charakteryzowany jest jako funkcjonalnie p53-negatywny [21].

MECHANIZM REPRESJI TRANSKRYPCJI GENÓW DOCELOWYCH PRZEZ BCL-6

Represja transkrypcji odgrywa centralną rolę w wielu biologicznych procesach. Tłumienie transkrypcji koordynowane jest przez represory, korepresory, białka wpływające na utrzymanie struktur nukleosomowych itp. Białko BCL-6 w akcji represyjnej wspierane jest przez korepresory i deacetylazy histonów (HDACs). Rola deacetylaz w tym procesie jest szczególnie podkreślana. Wspieranie funkcji represyjnej BCL-6 przez HDAC1 dowiedziono stosując ich inhibitory, które znacząco redukowały represję transkrypcji badanych genów, powodowaną przez BCL-6 [25].

Na podstawie homologii do sekwencji drożdżowych deacetylaz, HDACs ssaków podzielono na dwie klasy. Do klasy I. włączono HDAC1-HDAC3, do klasy II. –

HDAC4-HDAC7. U ssaków te dwie klasy są funkcjonalnie podobne [36]. HDACs wykorzystywane są przez różne represory i pewne nieligandowe receptory jądrowe (ang. *orphan receptors*). Pewne represory transkrypcji wiążą się bezpośrednio z HDACs, w innych przypadkach deacetylaza histonów są integralną komponentą większego kompleksu zawierającego korepresory.

Spośród znanych korepresorów BCL-6 wymienić należy: N-CoR, SMRT, mSIN3A mSIN3B (dwa ostatnie znane jako mSIN3) i BcoR. Domena POZ BCL6 oddziałuje z korepresorami N-CoR i SMRT, które obok mSIN3 i deacetylazy histonów HDAC1 są składowymi dużego kompleksu regulującego transkrypcję [23, 34]. Kompleks ten łączy się z promotorami docelowych genów, indukując stan represji chromatyny [25].

Z domeną POZ BCL-6 łączy się także korepresor BCoR (ang. *BCL-6 corepresor*). BCoR występuje w dwóch formach – długiej (1721 aminokwasów) i skróconej (1004 aminokwasów). Jedynie forma długa może hamować transkrypcję, jeśli przyłączy się do promotora. Oddziaływanie BCoR z domeną POZ BCL-6 jest selektywne. Potwierdziły to wyniki badań uzyskane z ośmioma innymi białkami zawierającymi domeny POZ. Jednocześnie wykazano, że BCoR może rywalizować o wiązanie domeny POZ BCL-6 z korepresorami N-CoR i SMRT, przy czym oddziaływania pomiędzy domeną POZ BCL-6 a SMRT, N-CoR i BCoR wzajemnie się wykluczają. W mechanizmie represji wspieranym przez BCoR istotną rolę odgrywają również deacetylazy histonów (klasa I i II HDAC), z którymi oddziałują obydwie formy BCoR – długa i skrócona. [34].

MUTACJE I TRANSLOKACJE CHROMOSOMOWE Z UDZIAŁEM BCL-6

Somatyczne hipermutacje, to jeden z mechanizmów, w wyniku którego geny immunoglobulin są modyfikowane w limfocytach B, w celu tworzenia dużego repertuaru komórek, z których każda wykazuje ekspresję unikatowej cząsteczki przeciwciał [58]. U ludzi proces ten zachodzi w ośrodkach rozmnażania komórek B [39]. Powszechnie sądzono, że jest to cecha wyłącznie *loci* Ig, regionu zmiennego łańcucha ciężkiego i łańcuchów lekkich. Jednak badania komórek B, pochodzących z różnych chłoniaków, wykazały obecność somatycznych hipermutacji w niekodującym, regulatorowym regionie 5' genu *BCL-6* [29]. Odkrycia te zrodziły pytanie, czy hipermutacje w genie *BCL-6* związane są z jego nieprawidłową funkcją w nowotworach, czy też są efektem fizjologicznego mechanizmu podobnego do procesu hipermutacji IgV. Badania Pasqualucci i wsp. [53], prowadzone na komórkach izolowanych z migdałków dziecięcych, potwierdziły tę drugą wersję. Wykazano, że w prawidłowych komórkach B obecnych w GC, w regionie niekodującym 5' genu *BCL-6* dochodzi do somatycznych hipermutacji. Jednocześnie analizując stransformowane odpowiedniki komórek B, w różnym stadium różnicowania, udowodniono istnienie ścisłego związku hipermutacji *BCL-6* i hipermutacji IgV, z przejściem komórek B przez ośrodki rozmnażania. Postuluje się zatem, że hipermutacje genu *BCL-6* mogą być rozpatrywane jako molekularny marker przejścia limfocytów B przez GC. Biologiczna rola hipermutacji *BCL-6* w rozwoju

prawidłowych i nowotworowych komórek B pozostaje niejasna. Cytowani autorzy podkreślają jednak, że funkcji limfocytów B i geny chłoniaków, nie należy postrzegać wyłącznie w kategoriach konsekwencji mechanizmu hipermutacji genu *BCL-6*.

Obecność somatycznych mutacji *BCL-6*, z jednoczesnymi hipermutacjami genu *IgV*, wykorzystuje się do określenia komórkowego pochodzenia B-CLL.

B-CLL jest białaczką heterogenną. Występują postaci B-CLL charakteryzujące się genami *IgV* niezmutowanymi [28] lub zmutowanymi [22]. Pierwszy przypadek sugeruje obecność klonu komórek naiwnych, niedoświadczonych antygenowo, natomiast drugi pozwala na konkluzję, że klon nowotworowy wywodzi się z komórek, które przeszły przez GC. Mutacje *BCL-6* i *IgV* w B-CLL potwierdzają pogląd, że jest to białaczka histogenetycznie heterogenna.

Wykorzystując obecność synchronicznych mutacji *IgV* i *BCL-6* w B-CLL, podjęto próbę wyjaśnienia możliwości istnienia wspólnego mechanizmu ich powstawania [17, 54, 60]. Analiza 34 przypadków B-CLL przeprowadzona przez Pasqualucci i wsp. [54] wykazała, że hipermutacje *BCL-6* występują równoległe z hipermutacjami *IgV_H*. Jeśli nie ma hipermutacji w *locus* genu *IgV_H*, hipermutacje w genie *BCL-6* również nie występują. Ta obserwacja pozwoliła na stwierdzenie, że mechanizm powstawania mutacji *BCL-6* jest taki sam jak w przypadku hipermutacji *IgV*. Podobnie Capello i wsp. [17] wykazali zgodną dystrybucję mutacji w genach *BCL-6* i *IgV_H* w B-CLL. W sprzeczności z tą opinią pozostają wyniki Sahoto i wsp. [60].

Rola mutacji somatycznych *BCL-6* w prawidłowych komórkach B w GC, jak również w ich stransformowanych odpowiednikach jest obecnie nieznana. Mutacje w *locus* genu *BCL-6* nie są funkcjonalnie znaczące w B-CLL i powodują jedynie subtelne zakłócenia ekspresji tego genu. Jednocześnie wykazano, że ekspresja białka BCL-6 w podgrupie B-CLL ze zmutowanym i niezmutowanym genem *BCL-6*, jest na znacznie niższym poziomie w porównaniu z prawidłowymi limfocytami B w GC i innymi chłoniakami [54].

Znaczenie mutacji genu *BCL-6* na przebieg B-CLL nie jest wyjaśnione. Do niedawna uważano, że występowanie mutacji *IgV* u chorych jest prognostycznie korzystniejsze, bez względu na obecność lub brak równoległej mutacji genu *BCL-6*. Ostatnie doniesienia Sarsotti i wsp. [61] podważają dotychczasowy pogląd. Cytowani autorzy przeprowadzili badania na limfocytach 95 chorych z B-CLL w stadium A wg Bineta, i niespodziewanie okazało się, że współwystępowanie mutacji *IgV_H* i *BCL-6* jest skorelowane z wysokim ryzykiem progresji choroby.

Oprócz B-CLL hipermutacje w genie *BCL-6* wykazywane są również we wszystkich nowotworach wywodzących się z komórek B o fenotypie GC lub post-GC. Stwierdza się je w szpiczaku mnogim (MM), chłoniaku Burkita (BL), chłoniaku grudkowym (FL) i w chłoniaku rozlanym olbrzymiomórkowym (DLBCL) [18, 52, 54]. Pasqualucci i wsp. [52] badali funkcjonalne konsekwencje hipermutacji genu *BCL-6* poprzez dokonywanie analizy funkcjonalnej prawidłowych limfocytów GC i limfocytów różnych typów chłoniaków. Wyniki wykazały, że wszystkie hiperzmutowane allele obecne w komórkach GC zdrowych dawców, miały porównywalną aktywność transkrypcyjną badanych genów. Podobnie, hiperzmutowane allele wywodzące się z BL, FL, B-CLL były funkcjonalnie nie do odróżnienia w porównaniu z formą bez mutacji somatycznych.

Znaczącą nadekspresję genu *BCL-6* wykazano natomiast u 33% badanych z DLBCL. Przyczyną tej nadekspresji okazały się być swoiste jedynie dla DLBCL, tzw. somatyczne „mutacje aktywujące” [67] występujące w pierwszym niekodującym eksonie *BCL-6*, zakłócające mechanizm prawidłowej, negatywnej autoregulacji, wymaganej w kontroli poziomu ekspresji *BCL-6*. Ze względu na unikatowość zidentyfikowanych zmian w motywie BSE1 (odpowiedzialnym za autoregulację *BCL6*) w DLBCL, sugeruje się, że mogą one być brane pod uwagę w patogenezie tego chłoniaka. Ponadto wykazano, że mutacje somatyczne BSE1 i translokacje regionu 3q27 wzajemnie się wykluczają.

Istnieją dowody sugerujące, że mutacje somatyczne i translokacje podlegają podobnemu mechanizmowi. Region 120 pz zlokalizowany w regionie MMC, wykazujący wysoką (aż do 35%) częstość mutacji somatycznych, obejmuje również największe skupisko punktów złamań genu *BCL-6* w chłoniakach [1]. Konsekwencją złamań są translokacje chromosomowe skutkujące zakłóceniem prawidłowej regulacji transkrypcji genu *BCL-6* [53]. Często są to translokacje wzajemne, w tych przypadkach geny fuzyjne występują w tej samej transkrypcyjnej orientacji. Translokacje z reguły obejmują niekodujący region pierwszego eksonu i pierwszego intronu genu *BCL-6*. W chłoniakach B-komórkowych, wywodzących się z ośrodków rozmnażania, nieprawidłowa ekspresja *BCL-6* jest skutkiem mechanizmu zwanego substytucją promotorową. W jej wyniku promotory genów partnerskich wstawione są powyżej kodującego eksonu *BCL-6* w chromosomie nr 3. Sekwencje kodujące dostają się zatem pod kontrolę sekwencji regulatorowych obcych genów [7,19,44,57]. Funkcjonalną konsekwencją zestawienia obok siebie sekwencji regulatorowych jednego partnera i sekwencji kodujących drugiego jest nieprawidłowa ekspresja obu genów [37].

Głównymi genami partnerskimi, zaangażowanymi w translokację z *BCL-6* w chłoniakach, są geny immunoglobulinowe łańcucha ciężkiego i łańcuchów lekkich. Proces translokacji zachodzi w limfocytach B dojrzałych, które mają zakończony proces rearanżacji regionu zmiennego [1]. Translokacje obejmują rekombinacyjne sekwencje sygnałowe *locus IgH*, rozpoznawane przez rekombinazę w procesie izotypowego przełączenia klasy Ig. Przyczyn translokacji *Ig/BCL-6* upatruje się w błędach procesu rekombinacji, ponieważ translokacje *IgH/BCL-6* zawsze obejmują tzw. region przełączenia *IgH* – rewir działania rekombinaz.

Region MTC *BCL-6*, w miejscach graniczących z delecjami, nie zawiera jednak sekwencji podobnych do rekombinacyjnych sekwencji sygnałowych Ig (heptamerowych, nonamerowych), co wyklucza uczestnictwo rekombinazy Ig w tym procesie [15].

W wyniku translokacji *IgH/BCL6* [t(3;14)(q27;q32)] powstają chromosomy pochodne, tj. der(14) i der(3), z których produkt pochodzący z chromosomu der(14) jest znacznie bardziej aktywny w porównaniu z produktem z chromosomu der(3). Dowodem jest obecność fuzyjnych transkryptów *BCL6-IgH* pozostających pod kontrolą promotora *BCL-6* w chromosomie der (14q32) [66].

Liczne badania cytogenetyczne chłoniaków NHL wykazały, że w translokacjach z *BCL6* mogą uczestniczyć poza genami *Ig* również inne geny partnerskie (tab. 2).

TABELA 2. Geny partnerskie zaangażowane w translokację BCL-6						
	Symbol genu	Synonim genu	Produkt genu	Locus	Choroba	Lit.
1	IgH		łańcuch ciężki Ig	14q32	DLCL, NHL, CLL, MM, chłoniak Burkita	1
2	Igκ		łańcuch lekki Igκ	2p12	NHL, chłoniak Burkita	1
3	Igλ		łańcuch lekki Igλ	22q11	NHL, chłoniak Burkita	1
4	MBNL	MBNL1	białko ZF homolog muscleblind - <i>Drosophila</i>	3q25	FL	2
5	EIF4A2	DDX2B	czynnika inicjacji translokacji	3q27.3	NHL	2
6	TFRC	TFR, CD71	receptor transferyny	3q29	NHL	1
7	TTF	RhoH, ARHH	homolog rodziny genu RAS	4p13	NHL	2
8	HSP90β	HSPCB	białko szoku termicznego	6p12	NHL	1
9	U50HG	snoRNA	RNA niekodujący białka	6q15	FL	2
10	SFRS3	SRp20, SSFRS	czynnika składania 3 bogaty w argininę/serynę	6p21	NHL	20
11	H4		histon H4	6p21.3	NHL	1
12	PIM-1	Onkogen pim-1	kinaza serynowo/treoninowa	6p21.2	DLCL	1
13	ZNFN1A1	Ikaros, IK1	białko ZF (palec cynkowy)	7p12	DLCL, NHL	33
14	GRHPR	GLXR	reduktaza glioksalowa	9p11.2	FL	2
15	OBF1	BOB1, POU2AF1, OCA-B	czynnika wiążący Oct	11q23.1	NHL, białaczki B-komórkowe	59
16	LRMP	JAW 1	limfoidalne białko błonowe	12q12.1	FL	2
17	α-NAC	NACA	alfa polipeptyd kompleksu inicjującego translację	12q23-q24.1	NHL	1
18	LCP1	L-plastin	cytozolowe białko limfocytów 1	13q14	NHL	30
19	HSP89α	HSPCA	białko szoku termicznego 1	14q32	NHL	1
20	CIITA	MHC2TA, C2TA	transaktywator klasy II MHC	16p13	NHL	1
21	IL-21R	NILR	receptor interleukiny 21	16p11	NHL	66

IMPLIKACJE CO DO GENEZY CHŁONIAKÓW

Częstość translokacji chromosomowych i somatycznych hipermutacji w regionie promotora *BCL-6* w chłoniakach B-komórkowych sugeruje, że zaburzenie funkcji *BCL-6* odgrywa znaczną rolę w powstawaniu chłoniaków. Wskutek translokacji, gen *BCL-6* jest regulowany przez obce promotory o stałej aktywności. Utrzymująca się, poprzez to, wysoka ekspresja *BCL-6* zapobiega obniżaniu transkrypcji *BCL-6*, co ma miejsce w czasie różnicowania limfocytów B do plazmocytów oraz powoduje nieustającą represję wszystkich docelowych genów (dla których *BCL-6* jest negatywnym regulatorem) i aktywację genów podlegających pozytywnej regulacji. Na przykład stała represja Blimp-1 jest przyczyną braku różnicowania limfocytów B do plazmocytów, natomiast stała aktywacja genu *c-Myc* może powodować nadmierną proliferację komórek. Zmieniona ekspresja *BCL-6* może sprzyjać represji genów zaangażowanych w apoptozę, np. *DCD2* [11], przyczyniając się do akumulacji komórek nowotworowych.

Udział *BCL6* w transformacji nowotworowej podkreśla się również w kontekście represji genu *p27^{kip1}*. W warunkach prawidłowych rola białka p27 polega na zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie spoczynkowej G1, w odpowiedzi na sygnały zewnątrzkomórkowe. Brak funkcjonalnego białka pozwala na szybkie przejście komórki przez fazy cyklu i niekontrolowane powielanie ilości komórek. Badania wykazały, że nawet niewielkie zwiększenie poziomu *p27^{kip1}* może podtrzymywać proliferację komórek, blokując jednocześnie ich końcowe różnicowanie, co w konsekwencji może być przyczyną transformacji nowotworowej [27].

Znaczenie translokacji 3q27 i ekspresji *BCL-6* w prognozowaniu przebiegu choroby analizowano w różnych przypadkach chłoniaków. Opisane rearanżacje *BCL-6* w DLBCL służą jako markery kliniczne. Z innych doniesień wynika, że o przeżyciu chorego decyduje translokacyjny partner *BCL-6*, ponieważ translokacje z genami innymi niż *Ig* dają gorsze prognozy w DLBCL w porównaniu z translokacjami *Ig/BCL-6* [3,9]. Istnieją jednak pojedyncze doniesienia, że rearanżacje *BCL-6* nie mają istotnego wpływu na wyniki kliniczne [40].

Do sformułowania ostatecznych wniosków dotyczących genezy chłoniaków, konieczne są dalsze badania, uwzględniające również rolę innych genów, których funkcja jest sprzężona z regulacyjną rolą *BCL-6*. Podstawowe pytania, które pozostają jak na razie bez odpowiedzi, dotyczą sposobu, w jaki deregulacja ekspresji genów docelowych przyczynia się do genezy chłoniaków i jaki jest związek między odpowiedzią *BCL-6* na różne sygnały otrzymywane z powierzchni komórek B z GC a hamowaniem transkrypcji genów docelowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AKASAKA H, AKASAKA T, KURATA M, UEDA C, SHIMIZU A, UCHIYAMA T, OHNO H. Molecular anatomy of BCL-6 translocations revealed by long-distance polymerase chain reaction-based assays. *Cancer Res* 2000; **60**: 2335–2341.
- [2] AKASAKA T, LOSSOS IS, LEVY R. BCL6 gene translocation in follicular lymphoma: a harbinger of eventual transformation to diffuse aggressive lymphoma. *Blood* 2003; **102**: 1443–1448.
- [3] AKASAKA T, UEDA C, KURATA M, AKASAKA H, YAMABE H, UCHIYAMA T, OHNO H. Nonimmunoglobulin (non-Ig) BCL6 gene fusion in diffuse large B-cell lymphoma results in worse prognosis than Ig/BCL6. *Blood* 2000; **96**: 2907–2909.
- [4] ALBAGLI O, DHORDAIN P, DEWEINDT C, LECOCQ G, LEPRINCE D. The BTB/POZ domain: A New protein-protein interaction motif common to DNA- and actin-binding proteins. *Cell Growth Differ* 1995; **6**: 1193–1198.
- [5] ALLMAN D, JAIN A, DENT A, MAILE RR, SEVAGGI T, KEHRY MR, STAUDT LM. BCL-6 expression during B-cell activation. *Blood* 1996; **87**: 5257–5268.
- [6] ANGELIN-DUCLOS C, CATTORETTI G, LIN K-I, CALAME K. Commitment of B lymphocytes to a plasma cell fate is associated with Blimp-1 expression *in vivo*. *J Immunol* 2000; **165**: 5462–5471.
- [7] ARIATTI C, VIVENZA D, CAPELLO D, MIGLIAZZA A, PARVIS G, FASSONE L, BUONAIUTO D, SAVINELLI F, ROSSI D, SAGLIO G, GAIDANO G. Common-variable immunodeficiency-related lymphomas associate with mutations and rearrangements of BCL-6: pathogenetic and histogenetic implications. *Hum Pathol* 2000; **31**: 871–873.
- [8] ARIMA M, TOYAMA H, ICHII I, ICHNI, KOJAMI S, OKADA S, HATANO M, CHENG G, KUBO M, FUKUDA T, TOKUHISA T. A putative silencer element in the IL-5 gene recognized by BCL6. *J Immunol* 2002; **169**: 829–836.
- [9] ARTIGA MJ, SAEZ AI, ROMERO C, SANCHEZ-BEATO M, MATEO MS, NAVAS C, MOLLEJO M, PIRIS MA. A short mutational hot spot in the first intron of BCL-6 is associated with increased BCL-6 expression and with longer overall survival in large B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 2002; **160**: 1371–1380.
- [10] BARON BW, NUCIFORA G, McCABE N, ESPINOSA R, LE BM, McKEITHAN TW. Identification of the gene associated with the recurring chromosomal translocations t(3;14)(q27;q32) and t(3;22)(q27;q11) w B-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; **90**: 5262–5266.
- [11] BARON BW, ANASTASI J, THIRMAN MJ, FURUKAWA Y, FEARS S, KIM DC, SIMONE F, BIRKENBACH M, MONTAG A, SADHU A, ZELEZNIK-LE N, McKEITHAN TW. The human programmed cell death-2 (PDCD2) gene is target of BCL-6 repression: implications for a role of BCL-6 in the down-regulation of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 2860–2865.
- [12] BASTARD C, DEWEINDT C, KERCKAERT JP, LENORMAND B, ROSSI A, PEZZELLA F, FRUCHART C, DUVAL C, MONCONDUIT M, TILLY H. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood* 1994; **83**: 2423–2427.
- [13] BERESHCHENKO O, GU W, DALLA-FAVERA R. Acetylation inactivates the BCL-6 transcriptional repressor. *Nat Genet* 2002; **32**: 606–613.
- [14] BERNADIN F, COLLYN-d'HOOGHE M, QUIEF S, BASTARD C, LEPRINCE D, KERCKAERT J-P. Small deletions occur in highly conserved regions of the LAZ3/BCL-6 major translocation cluster in one of non-Hodgkin's lymphoma without 3q27 translocation. *Oncogene* 1997; **14**: 849–855.
- [15] BERNADIN F, COLLYN-D'HOOGHE M, QUIEF S, BASTARD C, LEPRINCE D, KERCKAERT J-P. Small deletions occur in highly conserved regions of LAZ3/BCL-6 major translocation cluster in one case of non-Hodgkin's lymphoma without 3q27 translocation. *Oncogene* 1997; **14**: 849–855.
- [16] BUTLER MP, IIDA S, CAPELLO D, ROSSI D, RAO PH, NALLASIVAM P, LOUIE DC, CHAGANTI S, AU T, GASCOYNE RD, GAIDANO G, CHAGANTI RSK, DALLA-FAVERA R. Alternative translocation breakpoint cluster region 5' to BCL-6 in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2002; **62**: 4089–4094.
- [17] CAPELLO D, FAIS F, VIVENZA D, MIGLIARETTI G, CHIORAZZI N, GAIDANO G, FERRARINI M. Identification of three subgroups of b cell chronic lymphocytic leukemia based upon mutations of BCL-6 and IgV genes. *Leukemia* 2000; **14**: 811–815.

- [18] CAPELLO D, VITOLO U, PSQUALUCCIL, QUATTRONE S, MIGLIARETTI G, FASSONE L, ARIATTI C, VIVENZA C, GLOGHINI A, PASTORE C, LANZA C, NOMDEDEU J, BOTTO B, FREILONE R, CARBONE A, GAIDANO G. Distribution and pattern of BCL-6 mutations throughout the spectrum of B-cell neoplasia. *Blood* 2000; **95**: 651–659.
- [19] CHEN W, IIDA S, LOUIE DC, DALLA-FAVERA R, CHAGANTI RSK. Heterologous promoters fused to BCL-6 by chromosomal translocations affecting band 3q27 cause its deregulated expression during B-cell differentiation. *Blood* 1998; **91**: 603–607.
- [20] CHEN W, ITOYAMA T, CHAGANTI RS. Splicing factor SRP20 is a novel partner of BCL6 in a t(3;6)(q27;p21) translocation in transformed follicular lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; **32**: 281–284.
- [21] COCO FL, YE BH, LISTA F, CORRADINI P, OFFIT K, KNOWLES DM, CHAGANTI RSK, DALLA-FAVERA R. Rearrangement of the BCL-6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1994; **83**: 1757–1759.
- [22] DAMLE RN, WASIL T, FAIS F, GHIOTTO F, VALETTO A, ALLEN SL, BUCHBINDER A, BUDMAN D, DITTMAR K, KOLITZ J, LICHTMAN SM, SCHULMAN P, VINCIGUERRA VP, RAI KR, FERRARINI M, CHIORAZZI N. IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; **94**: 1840–1847.
- [23] DELTOUR S, GUERARDEL C, LEPRINCE D. Recruitment of SMRT/N-CoR-mSin3A-HDAC-repressing complexes is not a general mechanism for BTB/POZ transcriptional repressors: the case of HIC-1 and gamma FBP-B. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 14831–14836.
- [24] DENT AL, SHAFFER AL, YU X, ALLMAN D, STAUDT LM. Control of inflammation, cytokine expression, and germinal center formation by BCL-6. *Science* 1997; **276**: 589–592.
- [25] DHORDAIN P, LIN RJ, QUIEF S, LANTOINE D, KERCKAERT J-P, EVANS R M, ALBAGLI O. The LAZ3(BCL-6) oncoprotein recruits a SMRT/mSIN3A/histone deacetylase containing complex to mediate transcriptional repression. *Nucleic Acids Research* 1998; **26**: 4645–4651.
- [26] EVANS DE, MUNKS MW, PURKERSON JM, PARKER DC. Resting B lymphocytes as APC for naive T lymphocytes: dependence on CD40 ligand/CD40. *J Immunol* 2000; **164**: 688–697.
- [27] FERRO ML, RIVKIN M, TASCH M, PORTER P, CAROW CE, FIRPO E, POLYAK K, TSAI LH, BROUDY V, PERLMUTTER RM, KAUSHANSKY K, ROBERTS JM. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27(Kip1)-deficient mice. *Cell* 1996; **85**: 733–744.
- [28] FISHER M, KLEIN U, KÜPPERS R. Molecular single-cell analysis reveals that CD-5-positive peripheral blood B cells in healthy humans are characterized by rearranged V κ genes lacking somatic mutation. *J Clin Invest* 1997; **100**: 1667–1676.
- [29] GAIDANO G, CARBONE A, PASTORE C, CAPELLO D, MIGLIAZZA A, GLOGHINI A, RONCELLA S, FERRARINI M, SAGIO G, DALLA-FAVERA R. Frequent mutation of the 5' noncoding region of the BCL-6 gene in acquire immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1997; **89**: 3755–3762.
- [30] GALIEGUE-ZOUITINA S, QUIEF S, HILDEBRAND MP, DENIS C, DETOURMIGNIES L, LAIJL, KERCKAERT JP. Nonrandom fusion of L-plastin (LCP1) and LAZ3(BCL6) genes by t(3;13)(q27;q14) chromosome translocation in two cases of B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 1999; **26**: 97–105.
- [31] HARRIS MB, CHANG CC, BERTON MT, DANIAL NN, ZHANG J, KUEHNER D, YE BH, KVATYUK M, PANDOLFI PP, CATTORETTI G, DALLA-FAVERA R, RPTHMAN PB. Transcriptional repression of Stat6-dependent interleukin-4-induced genes by BCL-6: Specific regulation of epsilon transcription and immunoglobulin E switching. *Mol Cell Biol* 1999; **19**: 7264–7275.
- [32] HOSAKAWA Y, MAEDA Y, SETO M. Target genes down-regulated by the BCL-6/LAZ3 oncoprotein in mouse Ba/F3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **283**: 563–568.
- [33] HOSOKAWA Y, MAEDA Y, ICHINOHASAMA R, MIURA I, TANIWAKI M, SETO M. The Ikaros gene, a central regulator of lymphoid differentiation, fuses to the BCL6 gene as a result of t(3;7)(q27;p12) translocation in a patient with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2000; **95**: 2719–2721.
- [34] HUYNH DK, FISCHLE W, VERDIN E, BARDWELL VJ. BCoR, a novel corepressor involved in BCL-6 repression. *Gene & Dev* 2000; **14**: 1810–1823.
- [35] JARDLIN F, BASTARD C, CONTENTIN N, PARMENTIER F, PISQUENOT J-MTILLY H, STEVENSONFK, SAHOTA SS. Intronic BCL-6 mutations are preferentially targeted to the translocated allele in t(3;14)(q27;q32) non-Hodgkin B-cell lymphoma. *Blood* 2003; **102**: 1872–1876.

- [36] KAO HY, DOWNES M, ORTENTLICH P, EVANS RM. Isolation of a novel histone deacetylase reveals that class I and class II deacetylase promote SMRT-mediated repression. *Genes & Dev* 2000; **14**: 2473–2484.
- [37] KENEITA Y, YOSHIDA S, ISHIGURO N, SAWADA U, HORIE T, MORI S, MORIYAMA M. Detection of reciprocal fusion 5'-BCL-6/partner-3' transcripts in lymphomas exhibiting reciprocal bcl-6 translocation. *Br J Haematol* 2001; **113**: 803–806.
- [38] KIKUCHI M, MIKI T, KUMAGAI T, FUKUDA T, KAMIYAMA R, MIYASAKA N, HIROSAWA S. Identification of negative regulatory regions within the first exon and intron of BCL-6 gene. *Oncogene* 2000; **19**: 4941–4945.
- [39] KLEIN U, GOOSSENS T, FISCHER M, KANZLER H, BRAEUNINGER A, RAJEWSKY K, KUPPERS R. Somatic hypermutation in normal and transformed human B cells. *Immunol Rev* 1998; **162**: 261–280.
- [40] KRAMER MHH, HERMANS J, WIJBURG E, PHILIPPO K, GEELEN E, VAN KRIEKEN JHJM, DE JONG D, MAARTENSE E, SCHUURING E, KLUIN PM. Clinical Relevance of BCL2, BCL6, and MYC Rearrangements in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Blood*, 1998; **92**: 3152–3162.
- [41] LEVAL LD, FERRY JA, FALINI B, SHIPP M, HARRIS NL. Expression of bcl-6 and CD10 in primary mediastinal large B-cell lymphoma; evidence for derivation from germinal center B cells? *Am J Surg Pathol* 2001; **25**: 1277–1282.
- [42] LIN K-I, ANGELIN-DUCLOS C, KUO TC, CALAME K. Blimp-1-Dependent repression of *Pax-5* is required for differentiation of B cells to immunoglobulin M-secreting plasma cells. *Mol Cell Biol* 2002; **22**: 4771–4780.
- [43] LOSSOS IS, LEVY R. Mutation analysis of the 5', noncoding regulatory region of the BCL-6 gene in non-Hodgkin lymphoma: evidence for recurrent mutations and intraclonal heterogeneity. *Blood* 2000; **95**: 1400–1405.
- [44] NAKAMURA Y. Internal deletions within the BCL-6 gene in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2000; **38**: 505–512.
- [45] NATARAJAN K, SAHOO NC, RAO KV. Signal thresholds and modular synergy during expression of costimulatory molecules in B lymphocytes. *J Immunol* 2001; **167**: 114–122.
- [46] NIU H, CATORETTI G, DALLA-FAVERA R. BCL-6 controls the expression of the B7-1/CD80 costimulatory receptor in germinal center B cells. *J Exp Med* 2003; **198**: 211–221.
- [47] NIU H, YE BH, DALLA-FAVERA R. Antigen receptor signaling induces MAP kinase-mediated phosphorylation and degradation of the BCL-6 transcription factor. *Genes Dev* 1998; **12**: 1953–1961.
- [48] NIU H. The proto-oncogene BCL-6 in normal and malignant B cell development. *Hematol Oncol* 2002; **20**: 155–166.
- [49] OHASHI K, MIKI T, HIROSAWA S, AOKI N. Characterization of the promoter region of the human BCL-6 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; **214**: 461–467.
- [50] OKABE S, FUKUDA T, ISHIBASHI K, KOJIMA S, OKADA S, HATANO M, EBARA M, SAISHO H, TOKUHISA T. BAZF, a novel Bcl6 homolog, functions as a transcriptional repressor. *Mol Cell Biol* 1998; **18**: 4235–4244.
- [51] PASQUALUCCI L, BERESHENKO O, NIU H, KLEIN U, BASSO K, GUGLIELMINO R, CATTORETTI G, DALLA-FAVERA R. Molecular pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma: the role of Bcl-6. *Leuk Lymphoma* 2003; **44**, Suppl 3: S 5–12.
- [52] PASQUALUCCI L, MIGLIAZZA A, BASSO K, HOULDSWORTH J, CHAGANTI RSK, DALLA-FAVERA R. Mutations of the BCL-6 proto-oncogene disrupt its negative autoregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; **101**: 2914–2923.
- [53] PASQUALUCCI L, MIGLIAZZA A, FRACCHIOLLA N, WILLIAM C, NERI A, BALDINI L, CHAGANTI RSK, KLEIN U, KUPPERS R, RAJEWSKY K, DALLA-FAVERA R. BCL-6 mutation in normal germinal center B cells: evidence of somatic hypermutation acting outside Ig loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 11816–11821.
- [54] PASQUALUCCI L, NERI A, BALDINI L, DALLA-FAVERA R, MIGLIAZZA A. BCL-6 mutations are associated with immunoglobulin variable heavy chain mutations in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Res* 2000; **60**: 5644–5648.
- [55] PHAN RT, DALLA-FAVERA R. The BCL-6 proto-oncogene suppresses p53 expression in germinal-centre B cells. *Nature* 2004; **432**: 635–639.
- [56] PISKURICH JF, LIN KI, LIN Y, WANG Y, TING JP, CALAME K. BLIMP-1 mediates extinction of major histocompatibility class II transactivator expression in plasma cells. *Nat Immunol* 2000; **1**: 526–532.
- [57] QI CF, HORI M, COLEMAN AE, et al. Genomic organization and expression of BCL-6 in murine B-cell lymphomas. *Leuk Res* 2000; **24**: 719–732.

- [57a] RAJEWSKY K. Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* 1996; **381**: 751–758.
- [58] ROUMIER C, GALIEGUE-ZOUITINA S, BASTARD D, SOENEN V, LAI JL, DENIS C, BUCHONNET G, KERCKAERT JP, COSSON A, FENAUX P, PREUDHOMME C. FISH analysis with a YAC probe improves detection of LAZ3/BCL6 rearrangement in non-Hodgkin's lymphoma. *Hematol J* 2000; **1**: 117–125.
- [59] SAHOTA S, DAVIS Z, HAMBLIN TJ, STEVENSEN FK. Somatic mutation of bcl-6 genes can occur in the absence of V_H mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2000; **95**: 3534–3540.
- [60] SARSOTTI E, MARUGAN I, BENET I, TEROL MJ, SANCHEZ-IZQUIERDO D, TORMO M, RUBIO-MOSCARDO F, MARTINEZ-CLIMENT JA, GARCIA-CONDE J. BCL-6 mutation status provides clinically valuable information in early-stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2004; **18**: 743–746.
- [61] SHAFFER AL, YU X, HE Y, BOLDRICK J, CHAN EP, STAUDT LM. BCL-6 represses genes that function in lymphocyte differentiation, inflammation, and cell cycle control. *Immunity* 2000; **13**: 199–212.
- [62] TAKEDA N, ARIMA M, TSURUOKA N, OKADA S, HATANO M, SAKAMOTO A, KOHNO Y, TOKUHISA T. Bcl6 is a transcriptional repressor for the IL-18 gene. *J Immunol* 2003; **171**: 426–431.
- [63] TONEY LM, CATTORETTI G, GRAF JA, MERGHOUB T, PANDOLFI P-P, DALLA-FAVERA R, YE BH, DENT A. BCL-6 regulates chemokine gene transcription in macrophages. *Nat Immunol* 2000; **1**: 214–220.
- [64] TUNYAPLIN C, SHAFFER AL, ANGELIN-DUCLOS CD, YU X, STAUDT LM, CALAME KL. Direct repression of prdm 1 by Bcl-6 inhibits plasmacytic differentiation. *J Immunol* 2004; **173**: 1158–1165.
- [65] UEDA C, AKASAKA T, KURATA T, MAESAKO Y, NISHIKORI M, ICHINOHASAMA R, IMADA K, UCHIYAMA T, OHNO H. The gene for interleukin-21 receptor is the partner of BCL-6 in t(3;16)(q27;p11), which is recurrently observed in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncogene* 2002; **21**: 368–376.
- [66] WANG X, LI A, NAGANUMA A, YE BH. Negative autoregulation of BCL-6 is bypassed by genetic alterations in diffuse large B cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; **99**: 15018–15023.
- [67] YE BH, LISTA F, LoCOCO F, KNOWLES DM, OFFIT K, CHAGANTI RSK, DALLA-FAVERA R. *Science* 1993; **262**: 747–750.

Redaktor prowadzący – Jan Żeromski

Otrzymano: 04.05.2005 r.

Przyjęto: 25.06.2005 r.

ul. Radziwiłłowska 11, 20-950 Lublin