

Molekylærbiologisk diagnostik: maligne lymfoide tumorer hos voksne

OVERSIGTSARTIKEL

Christian Bjørn Poulsen, Elisabeth Methner Ralfkiær,
Niels Borregaard & Kirsten Grønnebæk

Resumé

Gennem det seneste årti er vores viden om molekylærbiologiske forandringer ved maligne lymfoproliferative sygdomme øget betydeligt. I lavmaligne lymfomer ses ofte defekt programmeret celledød, mens mere aggressive lymfoide tumorer tillige har andre genetiske forandringer i bl.a. de signalveje, der styrer celledeling og DNA-reparation. Genetisk analyse og analyse af genernes ekspressionsprofil kan anvendes i forbindelse med diagnostik og prognose og kan forhåbentlig i fremtiden også anvendes til at designe nye, biologisk målrettede behandlingsmodaliteter, som kan supplere eller helt erstatte den konventionelt anvendte kemoterapi.

Malignt lymfom og lymfocytær leukæmi er klonale sygdomme, som udgår fra lymfocytter eller lymfoide stamceller af B- eller T-celle-type. Sygdommene er heterogene og opdeles i mere end 40 forskellige undertyper (1). Denne detaljerede opdeling, som har stor betydning for prognose og valg af terapi, beror på en integreret vurdering af de maligne cellers morfologi, immunfænotype og genotype. I det følgende vil vi fokusere på de genetiske aspekter og give eksempler på forandringer, som både kan anvendes i forbindelse med diagnostik og behandling, og som kan belyse væsentlige aspekter vedrørende sygdommens patogenese. Vi har valgt specielt at fokusere på maligne lymfoide tumorer hos voksne, da de molekylærbiologiske forandringer ved akut lymfoblastær leukæmi (ALL) – som er langt den hyppigste lymfoide malignitet hos børn – er velbeskrevet i en nyere statusartikel i Ugeskriftet (2).

Immunglobulin- og T-celle-receptor-generne

Lymfoide celler undergår en kontinuerlig modning fra den multipotente stamcelle til modne lymfocytter. Sideløbende hermed sker der et rearrangement af de gener, der koder for cellernes antigenreceptorer (1). I B-lymfocytter drejer det sig om immunglobulin (Ig)-generne og i T-lymfocytter om T-celle-receptor (TCR)-generne. Disse gener er homologe i opbygning og består af separate gensegmenter, som man kalder variable (V), *diversity* (D), *joining* (J) og konstante (C) gener. I ikkelymfatiske celler bibeholdes Ig- og TCR-generne i kimlinje (*germline*)-konfiguration, hvor de enkelte gener er adskilte af ikkekodende sekvenser. I lymfatiske celler sker der et rearrangement, hvor et V-, et D-, et J- og et C-segment udvælges, og de mellemliggende sekvenser klippes væk. Herefter opstår der somatiske mutationer i V-delen, som sikrer, at Ig eller TCR tilpasses optimalt til anti-

genet. Disse forandringer kan anvendes i diagnostisk sammenhæng, både til at afgøre, om et malignt lymfom er af B- eller T-celle-type og til at vurdere om et lymfoidt infiltrat er polyklonalt (og dermed sandsynligvis benignt) eller monoklonalt (og dermed sandsynligvis malignt) (3). Dette skyldes, at rearrangementet i et benignt (polyklonalt) infiltrat vil være forskelligt fra celle til celle, mens det vil være identisk i alle celler i et monoklonalt infiltrat. Undersøgelser af nukleotidsekvensen i IgV-generne kan belyse forekomsten af somatiske hypermutationer. Dette har klinisk betydning ved visse sygdomme, eksempelvis ved kronisk lymfatisk leukæmi af B-celle-typen (B-CLL), hvor man ved, at tilfælde uden somatiske mutationer i IgV-generne har et mere aggressivt forløb end tilfælde med somatiske IgV-mutationer i de maligne celler (4).

Malign lymfoproliferation, patogenetiske aspekter

Udviklingen af en malign tumor er betinget af en række komplekse, successive genetiske forandringer, som kan resultere i øget vækst og celledeling, nedsat programmeret celledød (apoptose) og defekt DNA-reparation. I normale celler er disse processer styret af en lang række proto-onkogen- og tumorsuppressorgener. Maligne celler er karakteriserede ved aktivering af onkogen- og inaktivering af tumorsuppressorgener. Dette sker f.eks. som følge af kromosomale translokationer, numeriske kromosomaberrationer, deletioner, genamplifikationer, punktmutationer og ved DNA-metylering. DNA-metyleringen ændrer ikke den kodende sekvens, men inaktiverer gentranskriptionen og adskiller sig fra de øvrige genetiske forandringer ved at være potentielt reversibel, idet de nedregulerede gener kan reaktiveres med stoffer, der fjerner metyleringen.

En forenklet fremstilling af nogle af de signalveje, som generne er impliceret i, er vist i **Fig. 1**, mens **Fig. 2** viser et eksempel på, hvorledes successivt erhvervede genetiske forandringer styrer transformationen fra en normal lymfocyt til et aggressivt lymfom. En oversigt over de væsentligste molekylære forandringer ved udvalgte maligne lymfoproliferative sygdomme er vist i **Table 1**. Som det fremgår, er nogle ændringer specifikke for bestemte lymfomsygdomme og kan anvendes i diagnostisk sammenhæng. Dette gælder eksempelvis for mange af translokationerne. Andre forandringer forekommer ved mange forskellige typer af lymfom og er primært af interesse i prognostisk/behandlingsmæssig sammenhæng. Dette gælder for mange af de ændringer (deletioner, punktmutationer, metylering), som inaktiverer tumorsuppressorgenerne.

Opregulering af gener, som fremmer vækst og celledeling

I B-celle-neoplasier opreguleres transkriptionen af mange proto-onkogen- og tumorsuppressorgener ved kromosomal translokation. Årsagen til disse forandringer er ukendt, men det er foreslået, at

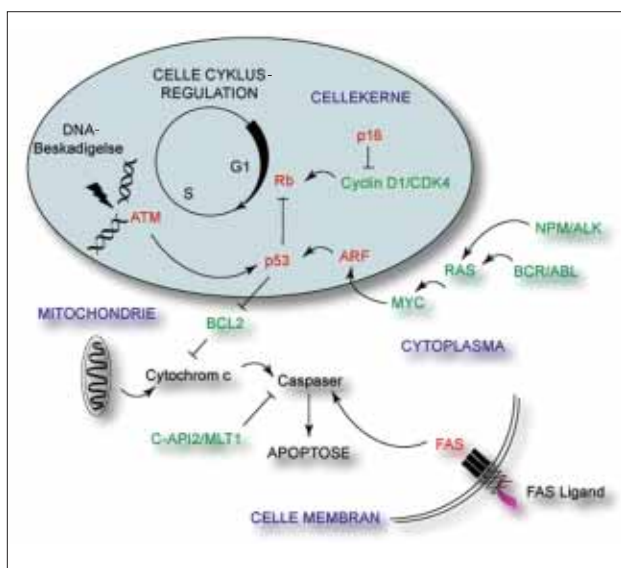


Fig. 1. Signaletter som ofte er ændrede ved malign lymfoproliferation. Forenklet, skematisk oversigt over de signaletter, som ofte er forandrede ved malign lymfoproliferation. »G1-checkpoint« i celleyklus er ofte ødelagt som følge af forandringer i ARF-TP53 og p16-Rb. Den eksterne apoptosesignalvej er bl.a. ødelagt som følge af mutationer i Fas, og den interne kan være blokeret ved overekspression af BCL-2, som er forårsaget af t(14;18). DNA-reparation, celleyklus og apoptose kan formentlig alle afficeres ved mutationer i ATM. Tumorsuppressorer er indikeret med rødt og onkogener med grønt. Kun de hyppigst afficerede molekyler er vist.

translokationerne kan være en følge af hypermutationsaktivitet i proto-onkogener som f.eks. BCL-6 og c-MYC (5). Disse mutationer vil oftest ikke ændre den kodende sekvens, men kan destabilisere genomet og forårsage brud på DNA'et, hvorved translokation muliggøres. Man antager, at sådanne onkogene hypermutationer opstår i forbindelse med en fejl i den fysiologiske hypermutation i IgV-generne (se ovenfor). I B-celle-tumorer flyttes onkogenet ofte til generne for Ig-tunge kæder (IgH) på kromosom 14, eller Ig-lette kæder (IgL) på kromosom 2 og 22. Herved kommer onkogenets ekspresion under kontrol af de konstitutiv udtrykte immunoglobulinens transkriptionsapparat.

Eksempler på vigtige translokationer i B-celle-neoplasierne er t(8;14), t(2;8) og t(8;22) ved Burkitts lymfom (BL), der alle resulterer i opregulering af c-MYC (6), t(11;14) i mantelcellelymfomer (MCL) og myelomatose (MM), der fører til øget ekspresion af cyclin D1, t(4;14) ved MM, der resulterer i opregulering af både FGFR3 og MMSET (7), og t(3;v) som aktiverer BCL-6 i diffust storcellet B-lymfom (DLBCL) og follikulært lymfom (FL). Ved t(3;v) forstås, at BCL-6-genet på kromosom 3 ved translokationen kan fusionere med flere forskellige – variable (v) – partneregener. Ved en translokation kan der desuden kodes for et abnormt fusionsprotein, som typisk vil have øget aktivitet. Eksempel herpå er konstitutiv aktivering af tyrosinkinaserne BCR/ABL ved t(9;22) og NPM/ALK ved t(2;5). BCR/ABL-transkriptet er langt hyppigst ved kronisk myeloid leukæmi men forekommer ligeledes i 25% af ALL hos voksne (v-ALL) og er forbundet med dårlig prognose. NPM/ALK er patognomisk for storcellet anaplastisk T-celle-lymfom, hvor det er en favora-

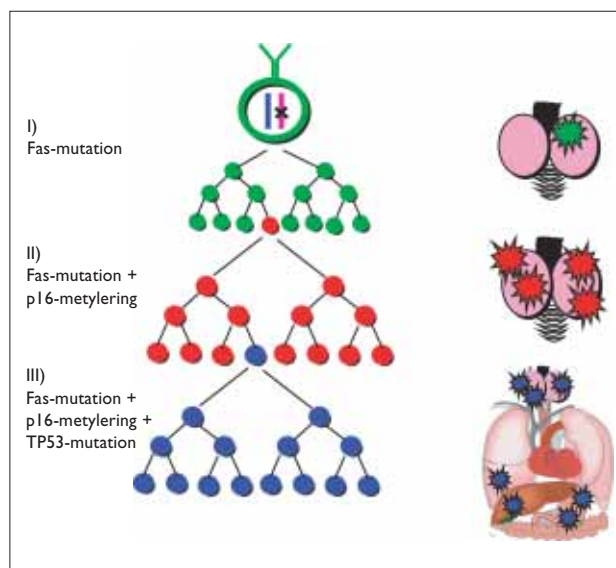


Fig. 2. Sekventiel udvikling af malignt lymfom i gl. thyroidea. Figuren viser, hvorledes successive genetiske forandringer i den maligne klon afspejles i fænotypen. I) En Fas-muteret moden B-lymfocyt prolifererer som led i en autoimmun thyroiditis. Da de klonale celler har defekt apoptose pga. Fas-mutationen akkumuleres de og giver anledning til dannelsen af mucosaassocieret lymfoidt væv (MALT). Fænotypisk viser dette sig som et lavmalignt MALT-type lymfom. II) I en af klonens celler opstår metylering af p16-promotoren, hvilket fører til, at celleyklus har mistet en hæmmende funktion, således at der nu både produceres et stort antal celler ved celledeling, samtidig med at de ikke elimineres ved apoptose. Fænotypisk ændres læsionen til et aggressivt MALT-type lymfom. III) I en af de Fas-muterede, p16-metylerede celler opstår en mutation i TP53-genet. Begge de hæmmende signaletter (p16-Rb og ARF-TP53) på celleyklus' »G1 checkpoint« er nu defekte, således at celledelingen foregår helt ukontrolleret. Samtidig er der defekter i både den Fas-medierede og den p53-inducerede apoptose. Fænotypisk transformerer lymfomet til et aggressivt, behandlingsresistent storcellet diffust B-lymfom med spredning til mange organer.

bel prognostisk indikator (8). Alternative mekanismer til vækststimulering er aktiverende punktmutationer som f.eks. RAS-mutationer, som er forbundet med dårlig prognose i MM (7).

Nedregulering af væksthæmmende gener

Overgangen fra G1 til S-fase (»G1-checkpoint«) i celleyklus styres af to overordnede tumorsuppressor-signalveje, p16-Rb samt ARF-TP53 (Fig. 1). Begge hæmmer cyclin/CDK-komplekser og kan derved blokere progression i celleyklus. Ændringer i disse signaletter forekommer ved mange lymfoide tumorer og er typisk forbundet med et aggressivt forløb. Således er mutationer i TP53 forbundet med histologisk transformation i FL, MALT-type lymfomer og MCL (9), med dårlig prognose ved B-CLL og DLBCL og med relaps af v-ALL. p16-genet er inaktiveret ved metylering i en række tumorer, f.eks. DLBCL, MALT-type lymfomer, MCL, MM og BL. Deletioner af p16 vil i reglen også omfatte ARF, da disse to gener kodes fra samme område på genomet, og ved DLBCL er det vist, at patienter med defekter i både p16-Rb og ARF-TP53 har en langt dårligere prognose end patienter, som kun har defekt i en eller ingen af de to signaletter (10). Nyere studier tyder på, at andre gener, som regulerer celle-

Tabel 1. Oversigt over de hyppigste genetiske forandringer ved lymfoide tumorer.

| | Genetisk læsion | Fre- kvens % | Diagno- stik | Pro- gnose | Klinisk relevans |
|---|--------------------------------|-----------------|-----------------|---------------|--|
| Akut lymfoblastær leukæmi hos voksne | p15 met. | 45 | | ↓ | Specifik beh.: demetylerende stoffer Specifik beh.: STI-571 |
| | t(9;22)(BCR/ABL) | 25 | | ↓ | |
| | p15 del. | 25 | | ↓ | Specifik beh.: demetylerende stoffer |
| | p73 met. | 22 | | ↓ | |
| | t(v;11)(v/MLL) | 10 | | ↓ | |
| Kronisk lymfatisk leukæmi | Del (13q14) | 50 | | ↑ | Intensiv terapi i tilfælde uden IgV mut. Samme gruppe har TP53 og ATM mut. |
| | Ingen IgV mut. | 35-40 | | ↓ | |
| | Del (11p23)/ATM mut. | 20 | | ↓ | |
| | Del (17p13)/TP53 mut. | 7 | | ↓ | |
| Mantelcellelymfom | t(11;14)(cyclin D1/IgH) | 75 | + | | Generel dårlig prognose i gruppen som helhed Generel dårlig prognose i gruppen som helhed hyppigt i blastoide/aggressive hyppigt i blastoide/aggressive Specifik beh.: demetylerende stoffer |
| | ATM mut. | 75 | | ? | |
| | TP53 mut. | få | | ↓ | |
| | ARF/p16 del. | få | | ↓ | |
| | p16, p15 met. | 10 | | | |
| Diffust storcellet B-lymfom | t(3;v)(BCL-6/v) | 35 | + | ↑/↓ | BCL-6/Ig ↑; BCL-6/non-Ig ↓ |
| | t(14;18)(IgH/BCL-2) | 20-30 | | ↑ | |
| | TP53 mut. | 25 | | ↓ | Ekstrem dårlig prognose for pt. med kombineret ødelæggelse af ARF-TP53 og p16-Rb |
| | Del ARF/p16 | 10 | | ↓ | |
| | p16 met. | 15 | | | |
| | ATM mut. | 20 | | ↓? | Associeret med defekter i ARF-TP53 |
| | Fas mut. | 20 | | | Ofte associeret m. autoimmunitet |
| BCL-6 mut.# | 50 | | ↑ | | |
| Follikulært lymfom | t(14;18)(IgH/BCL-2) | 70-95 | + | | Transformerer til DLBCL |
| | BCL-6 mut.# | 40 | | | |
| | t(3;v)(BCL-6/v) | 15 | | | |
| | Del 6q23-36 | 10-40 | | ↓ | |
| MALT-lymfom | Trisomi 3 | 60 | | | Tumormarkør ved eradikation af HP Transformerer IKKE Lever, hud, spytkirtel, orbita Højmalig transformation Associeret med autoimmunitet |
| | p16 met. | 60 | + | ↓ | |
| | t(11;18)(API-2/MLT1) | 25-50 | + | ↑ | |
| | t(14;18)(IgH-MLT1) | 20 | + | | |
| | TP53 mut. | 20 | | | |
| Fas mut. | 20-65 | | ↓ | | |
| Myelomatose | N- og K-RAS mut. | 40 | | ↓(K-ras) | Specifik beh.: demetylerende stoffer Indikerer avanceret sygdom |
| | Del (13q14) | 15-40 | | ↓ | |
| | t(11;14)(cyclin D1/IgH) | 15 | | ↑ | |
| | t(4;14)(FGFR3,MMSET/IgH) | 12 | | ↓ | |
| | Fas mut. | 10 | | | |
| | TP53 mut. | 5-40 | | ↓ | |

Del: deletion; mut.: mutation; met.: promotor hypermetylering; #: mutation i ikke-kodende sekvens, forbundet med øget transkription/translokationer; ↓: dårlig; ↑: god; HP: *Helicobacter pylori*. Forandringer der betragtes som særligt væsentlige i klinisk sammenhæng er anført med fed skrift.

cyklus, også kan agere som tumorsuppressorer i lymfoide tumorer. Således er CDK-inhibitoren p57 inaktiveret ved metylering i mange B-celle-tumorer, ligesom p15 og p73 hyppigt er inaktiveret ved metylering eller deletion ved v-ALL og er forbundet med dårlig prognose (11).

ATM molekylet (Fig. 1) overvåger integriteten af genomet, idet det ved brud på DNA'et inducerer cellecyklusarrest, DNA-reparation og apoptose. Som følge af de mange funktioner kan muterede celler akkumulere en række kromosomfejl, der tilsammen er betydende for, at ATM-muterede tumorer er særligt behandlingsresistente. ATM-genet er muteret i mange lymfoproliferative sygdomme, herunder DLBCL, MCL, B-CLL og T-celle-prolymfocytær leukæmi (12).

Defekter i apoptosegener

Apoptosen induceres via to overordnede signalveje (Fig. 1). Den eksterne aktiveres ved ekstracellulære signaler, mens den interne aktiveres af intracellulære stress-signaler (13). I det følgende gives der eksempler på, hvorledes disse signalveje er ødelagte i lymfoceller.

Den eksterne signalvej aktiveres bl.a. ved binding af Fas-liganden til Fas-receptoren på lymfocytens overflade, og dette aktiverer en kaskadereaktion, der fører til, at cellen går i apoptose. Langt størstedelen af B-celle-tumorer er resistente over for stimulation af Fas. Dette kan skyldes, at Fas-receptoren er defekt (mutation) eller ikke er udtrykt (deletion eller manglende transkription). Endelig kan der være de-

fekter i molekyler længere nede i kaskaden (caspaserne) som gør, at apoptosen ikke effektueres. Fas-muterede lymfomer er ofte ekstranodale og er hyppigt relaterede til forudgående autoimmun sygdom (14).

I langt de fleste FL samt i en relativt stor del af DLBCL hæmmes den interne signalvej ved overekspression af det antiapoptotiske BCL-2-gen ved t(14;18). BCL-2 blokerer apoptose ved at hæmme frigivelsen af cytochrom c fra mitokondrier, og dermed hindres aktivering af caspaser. p53 kan inducere apoptose via denne signalvej og kobler således celcyklusarrest til apoptose. Inaktivering af TP53 kan derfor også hæmme apoptosen.

Begge signalveje kan desuden inhiberes af en gruppe proteiner, som blokerer caspaserne i den terminale del af den apoptotiske kaskade. Det drejer sig bl.a. om survivin og c-IAP2. Survivin er overudtrykt i en række lymfomer, og er en negativ prognostisk faktor ved DLBCL (15). Ved translokation t(11;18), hvor c-API-2 associerer med MLT1-genet, dannes et onkogent fusionsprotein, som er patognomisk for lavmaligne MALT-type lymfomer i ventriklen. Sådanne t(11;18) positive gastriske MALT-type lymfomer adskiller sig fra andre MALT-type lymfomer ved ikke at respondere på antibiotisk erradikation af *Helicobacter pylori* og ikke at transformere til højmalig DLBCL (16). MLT1-genet kan imidlertid også translokere til IgH-generne (t(14;18)). Sådanne translokationer er udelukkende påvist i t(11;18) negative MALT-type lymfomer lokaliseret udenfor ventriklen (i f.eks. spytkirtel, lever og hud) (17).

Genekspressionsprofilering med cDNA-arrays«

De fleste af de gener, der er involverede i maligne lymfoproliferative sygdomme, styrer vigtige signalveje, og når de muterer, sker der formentlig vidtgående forandringer i ekspressionen af mRNA og protein i de maligne celler. Indtil for nylig har det ikke været muligt at foretage en detaljeret bestemmelse af disse globale ændringer i ekspressionen af mRNA. Kortlægningen af det humane genom og udviklingen af metoder til bestemmelse af mRNA ekspressionsprofilen med cDNA-arrays har nu gjort det muligt at bestemme ekspressionen af størstedelen af det humane genom i en enkelt analyse. Inden for de maligne hæmatologiske sygdomme er det vist, at denne teknik både kan anvendes til at skelne mellem akutte leukæmier af lymfoblastær og myeloid subtype (18), mellem forskellige perifere B- og T-celle-neoplasier (19) og mellem kendte prognostiske undergrupper af lymfom og lymfocytær leukæmi. Der er endvidere præliminære resultater, der tyder på, at teknikken også kan anvendes til at identificere nye prognostiske grupper inden for lymfomsygdomme, som er ens efter gængse morfologiske og immunfænotypiske kriterier. Dette gælder eksempelvis DLBCL og MM, som kan opdeles i forskellige prognostiske grupper baseret på ekspressionsprofilen bestemt med cDNA-arrays (19-22). Dette tyder på, at nogle, tilsyneladende ens, lymfoproliferative sygdomme er heterogene i både biologisk og klinisk sammenhæng, formentlig som udtryk for, at de maligne celler enten er histogenetisk forskellige eller har været udsat for forskellige intra- og/eller extracellulære påvirkninger under onkogenesisen. Selv om der

er mange metodologiske faktorer, som gør, at sådanne undersøgelser endnu ikke kan overføres direkte til klinikken, er perspektiverne interessante, og der er formentlig tale om en teknik, som vil få stor betydning for diagnostik og behandling af lymfompatienter i fremtiden.

Metodemæssige overvejelser

Der findes mange forskellige metoder til undersøgelse af ændringer i arvematerialet, herunder bl.a. metafasecytogenetik, interfase-fluorescence in situ-hybridisering (FISH) og forskellige *polymerase chain reaction* (PCR)-baserede metoder, hvor udgangsmaterialet enten kan være DNA eller RNA. Interfase FISH kan appliceres direkte på ufikserede udstryknings- eller imprintpræparater. For de øvrige metoder gælder, at de i de fleste tilfælde kun kan anvendes på frisk, ufikseret materiale. Det må derfor tilrådes, at der nedfryses celler eller væv med henblik på senere genotypisk undersøgelse ved alle diagnostiske indgreb på patienter med – eller med formodet – malign lymfoproliferativ sygdom. Tilsvarende kan undersøgelse af genekspressionsprofilen kun udføres på mRNA, der er ekstraheret fra ufikseret materiale.

Konklusion og fremtidige perspektiver

Genetiske analyser anvendes i dag rutinemæssigt i forbindelse med diagnostik og behandling af patienter med malignt lymfom og lymfocytær leukæmi. Det er endnu relativt få teknikker, der anvendes i den daglige diagnostik. Det drejer især om undersøgelser af Ig- og TCR-generne og påvisning af de hyppigste translokationer. Disse undersøgelser kan anvendes til at skelne mellem benigne og maligne lymfatiske infiltrater og til at opdele de maligne i en lang række forskellige diagnostiske og prognostiske grupper. Ekspressionsprofilering og undersøgelser for punktmutationer, deletioner samt metylering betragtes stadig som mere eksperimentelle. Da disse metoder imidlertid giver vigtig information om forløb og prognose, er der grund til at tro, at de i nær fremtid vil indgå i den almindelige diagnostik som et vigtigt supplement til de mere konventionelle undersøgelser.

Et øget kendskab til de maligne cellers specifikke molekylære defekter vil formentlig ikke kun være en rettesnor for forløb og prognose, men kan forhåbentlig også danne grund for en individualiseret behandling. I analogi med anvendelsen af tyrosinkinasehæmmeren STI-571 ved BCR/ABL-positive tilfælde af kronisk myeloid leukæmi og af demetylerende farmaka som 5-aza-2'-deoxycytidin (decitabin) ved myelodysplastisk syndrom, håber man at kunne udvikle stoffer som specifikt retter sig mod den tilgrundliggende genetiske defekt. Sådanne midler vil formentlig kunne supplere eller helt erstatte den konventionelt anvendte kemoterapi.

Summary

Christian Bjørn Poulsen, Elisabeth Methner Ralfkiaer, Niels Borregaard & Kirsten Grønbaek:
Molecular diagnostics: malignant lymphoid neoplasms in adult patients.

Ugeskr Læger 2003;165: 901-5

The last decade has provided extensive knowledge of the

molecular mechanisms of lymphomagenesis. Disruption of programmed cell death is a key feature of many low-grade lymphomas, while more aggressive lymphoid tumors carry additional genetic alterations, e.g. in the molecular pathways that control the cell division cycle and DNA repair. The application of genetic analysis and gene expression profiling of lymphoid tumors may be used as diagnostic and prognostic tools, and may help identifying new targets for specific, biologically based treatment strategies, which can supplement or replace the conventional chemotherapy.

Reprints: *Kirsten Grønbaek*, Institut for Biologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse, Strandboulevarden 49, DK-2100 København Ø.
E-mail: Kig@cancer.dk

Antaget den 27. januar 2003.

H:S Rigshospitalet, Patologisk Institut og Hæmatologisk Afdeling, og Kræftens Bekæmpelse, København, Institut for Biologisk Kræftforskning.

Litteratur

- Jaffe ES, Harris NL, Stein H et al, eds. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press, 2001.
- Hokland P, Pallisgaard N. Molecular biology in acute lymphoblastic leukemia. *Ugeskr Læger* 2001;163:4721-4.
- Svejgaard A, Madsen HO, Nyvold C et al. Molecular biology diagnosis and monitoring in acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin-lymphoma. *Ugeskr Læger* 1996;158:7101-2.
- Oscier DG, Gardiner AC, Mould SJ et al. Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors. *Blood* 2002;100:1177-84.
- Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature* 2001;412:341-6.
- Lindstrom M, Wiman K. Role of genetic and epigenetic changes in Burkitt lymphoma. *Semin Cancer Biol* 2002;12:381.
- Kuehl WM, Bergsagel PL. Multiple myeloma: evolving genetic events and host interactions. *Nat Rev Cancer* 2002;2:175-87.
- Kutok JL, Aster JC. Molecular biology of anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2002;20:3691-702.
- Grønbaek K, Nedergaard T, Andersen MK et al. Concurrent disruption of cell cycle associated genes in mantle cell lymphoma: a genotypic and phenotypic study of cyclin D1, p16, p15, p53 and pRb. *Leukemia* 1998;12:1266-71.
- Grønbaek K, de Nully Brown P, Møller MB et al. Concurrent disruption of p16INK4a and the ARF-p53 pathway predicts poor prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 2000;14:1727-35.
- Garcia-Manero G, Daniel J, Smith TL et al. DNA Methylation of Multiple Promoter-associated CpG Islands in Adult Acute Lymphocytic Leukemia. *Clin Cancer Res* 2002;8:2217-24.
- Grønbaek K, Worm J, Ralfkiaer E et al. ATM mutations are associated with inactivation of the ARF-TP53 tumor suppressor pathway in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2002;100:1430-7.
- Kitada S, Pedersen IM, Schimmer AD et al. Dysregulation of apoptosis genes in hematopoietic malignancies. *Oncogene* 2002;21:3459-74.
- Grønbaek K, thor Straten P, Ralfkiaer E et al. Somatic Fas mutations in non-Hodgkin's lymphoma: association with extranodal disease and autoimmunity. *Blood* 1998;92:3018-24.
- Adida C, Haioun C, Gaulard P et al. Prognostic significance of survivin expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood* 2000;96:1921-5.
- Starostik P, Patzner J, Greiner A et al. Gastric marginal zone B-cell lymphomas of MALT type develop along 2 distinct pathogenetic pathways. *Blood* 2002;99:3-9.
- Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J et al. T(14;18)(q32;q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood* 2003 (i trykkes).
- Golub TR, Slonim DK, Tamayo P et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531-7.
- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
- Shipp MA, Ross KN, Tamayo P et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002;8:68-74.
- Rosenwald A, Wright G, Chan WC et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:1937-47.
- Zhan F, Hardin J, Kordsmeier B et al. Global gene expression profiling of multiple myeloma, monoclonal gammopathy of undetermined significance, and normal bone marrow plasma cells. *Blood* 2002;99:1745-57.

Solide tumorer

Molekylærbiologisk baseret klassifikation, prognose og terapi

STATUSARTIKEL

Claus Fenger & Stephen Hamilton Dutoit

En tumors biologiske opførsel bestemmes af individets genetiske disposition, de efterfølgende genetiske og epigenetiske forandringer, der giver anledning til den pågældende tumor, og organismens reaktion herpå. Disse forandringer fører også til det lysmikroskopiske billede, som har dannet basis for tumordiagnostikken gennem mere end hundrede år. Den hastigt tiltagende viden om tumorers molekylærbiologi har imidlertid betydet, at den klassiske makroskopiske og mikroskopiske vurdering i dag kan suppleres med en række undersøgelser, som giver mere præcise udsagn om tumorcellernes struktur og funktion. De nye undersøgelser

har blandt andet vist, at tumorer med nogenlunde ens lysmikroskopisk fænotype i virkeligheden kan repræsentere flere molekylærbiologiske varianter med forskellig biologisk opførsel.

Udviklingen er imidlertid gået lidt langsommere for solide tumorer end for de hæmatologiske neoplasier, der som regel er karakteriserede ved få og veldefinerede kromosomale forandringer, og hvoraf flere typer nu simpelthen defineres ved deres molekylære abnormiteter. Dette skyldes forskellige forhold. Tumorceller i solide tumorer er ofte vanskeligere at isolere og dyrke, hvilket besværliggør undersøgelser, som kræver metafasekromosomer. De genetiske forandringer er som regel meget komplekse, og under tumorens udvikling kan der opstå adskillige subkloner med hver deres forandringer.