

Chłoniaki nieziarnicze wywodzące się z limfocytów B charakteryzują się ekspansją komórek będących w różnym stopniu różnicowania w zależności od tego, z jakich obszarów węzła chłonnego pochodzą. Komórki w procesie dojrzewania i różnicowania nabywają określone antygeny, które są ich markerem. Komórki nowotworowe układu krwiotwórczego odpowiadają zwykle swoimi cechami fenotypowymi komórkom, z których się wywodzą. Cecha ta jest podstawą immunofenotypowania białaczek i chłoniaków. Chłoniaki nieziarnicze B często pochodzą z komórek mających epitop CD20 i marker ten nadal pozostaje na komórkach nowotworowych. Obecność antygeny CD20 na komórkach nowotworowych chłoniaków B sprawia, że komórka z tym antygenem może być celem dla przeciwciała anti-CD20. Połączenie się przeciwciała z komórką nowotworową może zapoczątkować kaskadę zdarzeń prowadzącą do zniszczenia nowotworu.

Słowa kluczowe: chłoniaki B, immunopatologia, CD20, Ki67.

# Zastosowanie barwienia przeciwciałem przeciwko CD20 w wyborze immunoterapii uzupełniającej podstawowe leczenie chłoniaków B

*CD20 staining assists decision on adjuvant immunotherapy in B cell lymphoma*

Aleksandra Klimczak, Andrzej Lange

Institut Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu

## WSTĘP

Chłoniaki wywodzące się z linii komórek B stanowią ok. 80 proc. chłoniaków nieziarniczych (*Non Hodgkin Lymphoma*, NHL). Transformacja nowotworowa obejmuje komórki limfoidalne, będące w różnym stopniu dojrzewania i różnicowania. Związana może być z translokacją chromosomalną z następną rearanżacją niektórych genów, np. *bcl-1*, *bcl-2*, rzadziej *c-myc* [1]. Rearanżacje lub mutacje genetyczne mogą powodować przewagę proliferacyjną komórek (dzielą się szybciej i w sposób niekontrolowany) lub wiążą się z opornością na apoptozę. Przewaga proliferacyjna wiąże się często z aktywacją protoonkogenów z grupy kinaz tyrozynowych, a oporność na apoptozę może być wyrazem rearanżacji genu *bcl-2* [2]. Odzwierciedleniem zmian zachodzących w komórce jest obecność lub brak markerów powierzchniowych, charakteryzujących poszczególne typy zmutowanych komórek. Właściwość ta została wykorzystana w badaniach immunopatologicznych. W przypadkach chłoniaków wywodzących się z linii B należy do nich epitop powierzchniowy, opisany jako CD20 [3]. Określenie morfologii, immunofenotypu i zmian genetycznych komórek nowotworowych pozwoliło na opracowanie klasyfikacji chłoniaków nazwanej REAL (*Revised European-American Lymphoma Classification*) [4], która stanowi uzupełnienie poprzednio stosowanych klasyfikacji (wg Rappaporta, Lukes-Colinsa oraz klasyfikacji kilońskiej).

Do chłoniaków, które charakteryzują się obecnością CD20 na powierzchni należą:

- ▀ chłoniak grudkowy,
- ▀ chłoniak z komórek płaszczka,

- ▀ chłoniaki B strefy brzeżnej,
- ▀ rozlany chłoniak olbrzymiokomórkowy.

## Chłoniak grudkowy

Jest to chłoniak wywodzący się z komórek pochodzących z centrów rozrodczych grudek chłonnych. Zazwyczaj składa się z dwóch rodzajów komórek centrocytów i centroblastów. Morfologicznie przynajmniej częściowo umiejscowiony jest w guzkach chłonnych, ale może też mieć charakter rozlany. W barwieniu immunopatologicznym stwierdza się obecność antygenów właściwych dla limfocytów B CD19, CD20, CD22, CD79a, ale brak CD5, co pozwala na odróżnienie chłoniaka grudkowego od chłoniaków wywodzących się z komórek płaszczka [4, 5], natomiast obecność CD10 różnicuje chłoniaka grudkowego od chłoniaków umiejscowionych w strefie brzeżnej [3]. Istotnym czynnikiem różnicującym jest ekspresja białka BCL-2, którego obecność pozwala na identyfikację grudek nowotworowych, a tym samym odróżnienie ich od grudek zapalnych (odczynowych). Translokacja *t(14;18) (q32; q21)* jest cechą charakterystyczną dla chłoniaka grudkowego i powoduje konstytutywną ekspresję genu *bcl-2* [6, 7] co prowadzi do akumulacji białka BCL-2 w centrocytach. Białko to powoduje oporność na apoptozę [7].

## Chłoniak z komórek płaszczka

Zmienione nowotworowo komórki linii B morfologicznie są małe lub średniej wielkości, nie stwierdza się udziału komórek pochodzących z grudki chłonnej, takich jak centrocyty czy centroblasty. Komórki nowo-

*B cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) originates from cells at different levels of differentiation residing in some areas of the lymphoid organs. Consequently lymphoma cells harbour appropriate cluster of differentiation antigens. B-cell lymphoma may be positive for CD20 antigens. Morphological description of lymphoma in addition to standard pathological picture (follicular or diffuse) may involve more detailed phenotyping characteristics. A panel of monoclonal antibodies was used including CD20 antigen. Also to describe biological property of lymphoma staining for the presence of Ki67 and DR antigens was done and presented. Having all these information a pattern of immunopathomorphological features was described in lymphomas characterised by routine pathomorphology as: diffuse large B-cell lymphoma, follicular centre lymphoma, extranodal marginal zone B-cell lymphoma, nodal marginal zone B-cell lymphoma, primary mediastinal large B-cell lymphoma. In general follicular lymphomas had lower and diffuse lymphomas higher proportion of Ki67 cells. However in these two morphological variants of lymphoma were cases with higher percentage of Ki67+ cells than expected by their follicular morphology and in diffuse lymphomas they were cases with lower proportion of Ki67+ cells than in a majority of situations. In diffuse B-cell lymphomas these composed of large cells had a higher proportion of Ki67+ than those with small cells. MALT lymphomas could be also differentiated on the basis of Ki67+. In one out of 5 cases the proportion of Ki67+ cells was lower than in other cases. All follicular and MALT lymphomas were CD20+.*

*Ki67 and CD20 staining results help in tailoring adequate therapy. Lymphomas with a high proportion of Ki67+ cells are candidates for more aggressive treatment and those with CD20 independent on their follicular or diffuse morphology may benefit from treatment including anti-CD20 antibody. Recently a monoclonal antibody specific for CD20 was clinically introduced.*

**Key words:** B-cell lymphoma, immunopathomorphology, CD20, Ki67.

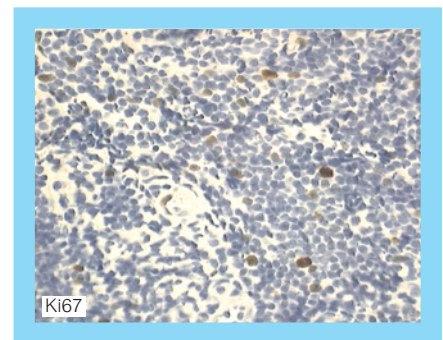
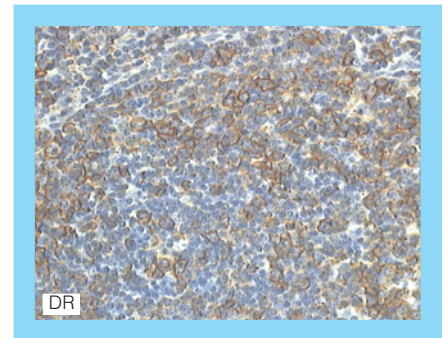
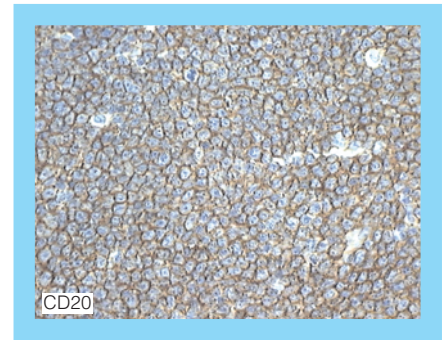
tworowe charakteryzuje obecność powierzchniowych IgM, przewaga łańcuchów  $\lambda$ . Nie mają antygenu CD23, co wyróżnia je od komórek przewlekłej białaczki limfocytowej typu B, mają natomiast antygen CD5, co jest czynnikiem różnicującym chłoniaka z komórek płaszczka od chłoniaka grudkowego i umiejscowionego poza węzłami chłonnymi chłoniaka typu MALT (*mucous associated lymphoma tissue*) [5, 8]. Istotna jest obecność antygenów CD20, CD22 na komórce nowotworowej [8, 9]. Translokacja chromosomalna t(11;4) (q13;32) powoduje konstytutywną ekspresję genu bcl-1/PRAD, co sprzyja syntezie cykliny D1 i tym sposobem sprzyja wzmożonej proliferacji komórek nowotworowych. Obecność cykliny D1 jest cechą wyróżniającą chłoniaki z komórek płaszczka od innych typów chłoniaków wywodzących się z linii B [6, 10, 11].

### Chłoniaki B strefy brzeżnej

Mogą być umiejscowione poza węzłami chłonnymi, stanowią wtedy typ MALT lub mogą lokalizować się w węzłach chłonnych. Komórki nowotworowe chłoniaków strefy brzeżnej wykazują dużą heterogenność, mogą składać się z komórek przypominających centrocyty, komórek monocytoidalnych B, małych limfocytów, a także plazmacytów. W większości przypadków niewielki udział stanowią duże komórki przypominające centroblasty i immunoblasty. Charakterystyczną cechą komórek nowotworowych jest obecność immunoglobulin powierzchniowych i cytoplazmatycznych. Ponadto obecne są antygeny identyfikujące limfocyty B (CD19, CD20, CD22, CD79a), ale nie ma antygenów CD5 i CD10. Ta cecha różnicuje chłoniaki strefy brzeżnej od przewlekłej białaczki limfocytowej typu B (obecne CD5+), chłoniaka z komórek płaszczka (obecne CD5+) i chłoniaka grudkowego (obecne CD10+). Nie stwierdzono powszechnej mutacji, ale w chłoniakach nisko zróżnicowanych opisywana jest trisomia 3 chromosomu [12] i/lub translokacje chromosomalne t(11;18) i t(1;14) [13]. Ponadto stwierdzono, że w wysoko zróżnicowanych chłoniakach typu MALT obecna jest rearanżacja genu bcl-6 i mutacja p53 [14].

Pozawęzłowe umiejscowienie chłoniaka typu MALT ma miejsce w tkankach o charakterze nabłonkowym, takich jak błona śluzowa żołądka, śluzówka jelita grubego, skóra, gruczoł sutka, płuco, tarczyca, nerka, wątroba czy prostata [15]. Ten typ chłoniaka częściej występuje u kobiet.

Chłoniak typu MALT może być poprzedzony jedną z chorób autoimmunologicznych, np. zespołem Sjögrena, zapaleniem tarczycy typu Hashimoto, czy zapaleniem błony śluzowej żołądka wywołanym przez *Helicobacter pylori* [16]. Z zespołem Sjögrena związany jest też chłoniak umiejscowio-



**Fot. 1. Chłoniak grudkowy CD20+, DR+, niski odsetek komórek Ki67+ (stopień II, wg REAL), (barwienie immunoperoksydazowe, pow. oryg. 400x)**

ny w węzłach chłonnych [17]. Wykazano, że rozszany typ chłoniaka związany z przewodem pokarmowym niezależnie od umiejscowienia, czy to w błonie śluzowej żołądka, czy w śluzówce jelita grubego, wywodzi się z tej samej komórki nowotworowej [18].

### Rozlany chłoniak olbrzymiokomórkowy

Morfologicznie zbudowany jest z dużych komórek, odpowiadających centroblastom i/lub immunoblastom. Niektóre przypadki rozlanego chłoniaka olbrzymiokomórkowego mają dużą komponentę limfocytów T i wtedy są określane jako chłoniaki B bogate w limfocyty T (*T-cell rich B-cell Lymphoma*). Barwienie immunopatologiczne ujawnia obecność antygenów identyfikujących limfocyty B (CD19, CD20, CD22, CD79a). Ponadto mogą być obecne immunoglobuliny powierzchniowe, CD45, rzadziej stwierdza się obecność CD5 lub CD10. Rozwojowi chłoniaka sprzyja rearanżacja genu bcl-2, której wykazanie pozwala na ustalenie pochodzenia komórek nowotworowych, w tej sytuacji można stwierdzić, że

pochodzą one z centrów rozrodczych grudek chłonnych. Opisano również przypadki z rearanżacją c-myc. Nieprawidłowości genetyczne mogą dotyczyć także genu bcl-6 [1]. Przypadki z rearanżacją bcl-6 odpowiadają lepiej na leczenie, niż chorzy z obecnym bcl-2 [19].

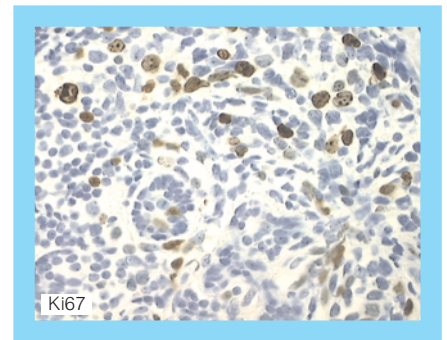
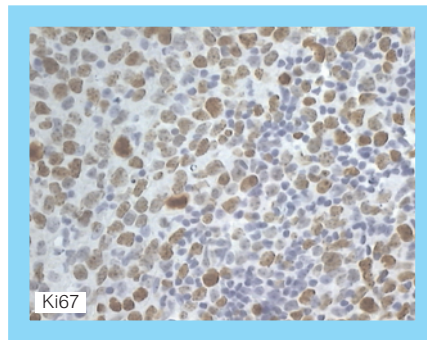
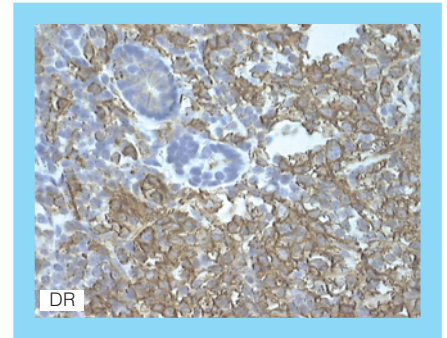
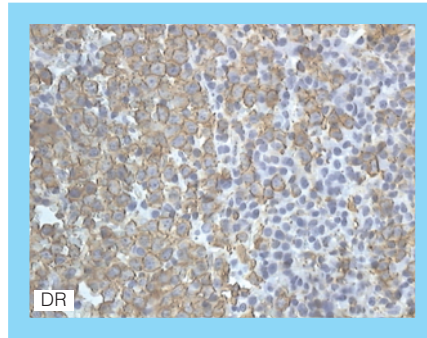
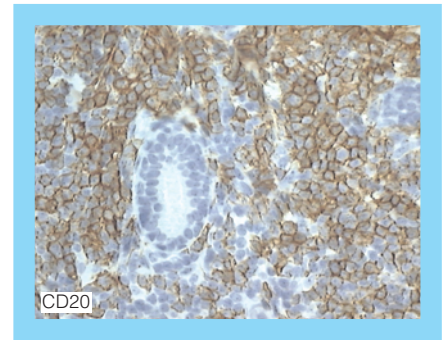
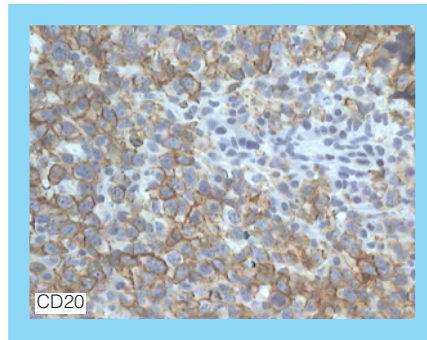
Podtypem chłoniaka olbrzymiokomórkowego są guzy nowotworowe śródpiersia. Są to chłoniaki zbudowane z dużych komórek przypominających immunoblasty. Na powierzchni posiadają antygeny właściwe dla limfocytów B, ale nie mają immunoglobulin powierzchniowych. Mogą być CD45+, rzadziej CD30+. Nie stwierdzono specyficznych mutacji genowych [20].

### IMMUNOPATOMORFOLOGICZNA OCENA OBECNOŚCI ANTYGENU CD20

Badanie histopatologiczne pozwala na ocenę obecności nowotworu i określenie jego typu, ale nie jest możliwa ocena obecności antygenów powierzchniowych komórki nowotworowej. Rozwój technik immunopatologicznych i produkcja przeciwciał monoklonalnych reagujących nie tylko z tkankami mrożonymi, ale również z preparatami utrwalonymi w formalinie pozwalają na dobrą ocenę obecności antygenów powierzchniowych na komórkach nowotworowych.

Doświadczenie wielu ośrodków, które podzielają również autorzy wskazuje, że ocena indeksu proliferacyjnego barwieniem na obecność antygeny Ki67 pomocna jest w określeniu stopnia złośliwości guza, a co za tym idzie, w doborze terapii. Barwienie na antygen CD20 pozwala na zdefiniowanie komórki, z której wywodzi się chłoniak i pozwala również na stwierdzenie, czy adjuwantowe leczenie przeciwciałami skierowanymi przeciwko tej cząsteczce może być brane pod uwagę u danego pacjenta. W przypadkach chłoniaków pomocna jest ocena obecności białka BCL-2, co pozwala na określenie cechy chłoniaka, to znaczy oporności komórek nowotworowych na apoptozę.

Materiałem odpowiednim do badania fenotypu komórki są zmienione nowotworowo węzły chłonne lub guzy usytuowane poza węzłowo (guzy śródpiersia, guzy podskórne, guzy umiejscowione w śluzówce przewodu pokarmowego). Możliwe jest badanie zarówno świeżo pobranego i zamrożonego w ciekłym azocie wycinka, jak i tkanki utrwalonej w 4-procentowej buforowanej formalinie. Przed nałożeniem przeciwciał monoklonalnych preparaty mrożone utrwalają się w acetonie, natomiast preparaty zatopione w parafinie poddaje się deparafinizacji i procesowi odślaniania antygenów techniką mikrofalową, umieszczając je w buforze cytrynianowym o pH=6,0. Na tak przygotowane preparaty nakłada się odpowiednio rozcieńczone przeciwciała monoklonalne i po związaniu antygeny z przeciwciałem identyfikuje się je barwieniem za pomocą jednej ze stosowanych technik immunocy-



**Fot. 2. Chłoniak rozlany CD20+, DR+ i wysoki wskaźnik proliferacji Ki67+ (barwienie immunoperoxydazowe, pow. org. 400x)**

**Fot. 3. Pozawęzłowy chłoniak CD20+, DR+, zlokalizowany w gruczole piersiowym (chłoniak MALT wg REAL). Ma charakter rozlany o pośrednim odsetku komórek Ki67 (barwienie immunoperoxydazowe, pow. org. 400x)**

tochemicznych (metoda immunoperoxydazowa, metoda EnVision). Ocena preparatów w mikroskopie świetlnym pozwala na klasyfikację chłoniaka odnośnie jego cech fenotypowych (CD20), wskaźnika proliferacji (Ki67) i obecności białka BCL-2.

### STRUKTURA I FUNKCJA ANTYGENU CD20

CD20 jest antygenem powierzchniowym limfocytów B, który jest wykrywany na powierzchni komórek tuż po pojawieniu się immunoglobulin powierzchniowych. Obecność CD20 jest ograniczona do powierzchni prekursorów limfocytów B oraz dojrzałych limfocytów B, natomiast w momencie różnicowania się limfocytów B w kierunku komórek plazmatycznych następuje utrata tego antygeny [21]. Ostatnie badania wskazują na to, że CD20 wchodzi w skład kompleksu mającego wpływ na transdukcję sygnału związanego z regulacją wzrostu limfocytów B, będącego następstwem ich aktywacji.

CD20 jest nieglikozylowanym białkiem błonowym, występującym w trzech izoformach

33, 35 i 37 kD, o długości wystarczającej do 4-krotnego przejścia przez błonę komórkową. Dłuższa część N- i C-końcowa cząsteczki jest umieszczona w cytoplazmie komórki, natomiast mniejsza część białka CD20 jest prezentowana na powierzchni komórki. Domeny cytoplazmatyczne są bogate w serynę i treoninę ze zwielokrotnionymi miejscami fosforylacji, ale nie mają reszt tyrozynowych. Taka struktura CD20 powoduje, że spełnia ona rolę transportera błonowego dla jonów Ca<sup>++</sup>, co umożliwia napływ tych jonów przez błonę komórkową [21].

### ANTYGEN CD20 JAKO CEL DLA IMMUNOTERAPII

Obecność antygeny CD20 na komórkach nowotworowych chłoniaków B sprawia, że komórka z tym antygenem może być dobrym celem dla przeciwciał monoklonalnych anty-CD20, które można wykorzystać w terapii tego typu nowotworu. Rozwój biologii molekularnej w ostatnich la-

tach sprawił, że otrzymano humanizowane przeciwciała monoklonalne, które spełniają cechy ułatwiające stosowanie ich w leczeniu człowieka. Wykazano *in vitro*, że przeciwciała monoklonalne anty-CD20 hamują proliferację nowotworowo zmienionych limfocytów B i indukują ich apoptozę [22]. Stosowany w klinice człowieka Rituximab jest mysio/ludzką hybrydą CD20, składającą się z ludzkich IgG1 i regionu stałego  $\kappa$  ze specyficznym mysim regionem zmiennym. Mechanizm działania związany jest przynajmniej z dopełniaczo-zależną cytotoxycywnością [23]. Możliwy jest również inny scenariusz. Napiętnowane przeciwciałem komórki nowotworowe stają się obiektem ataku komórek cytotoxycywnych – cytotoxycywność zależna od przeciwciał (ADCC) lub makrofagów [23].

Przeciwciała anty-CD20 stosowane początkowo w przypadku chłoniaków grudkowych okazały się aktywne klinicznie i dobrze tolerowane. Alternatywnie przeciwciałem anty-CD20 może być znakowane pierwiastkiem promieniotwórczym z następnym uszkodzeniem komórki nowotworowej promieniowaniem [24]. Przeciwciała przeciw CD20 mają miejsce w leczeniu chłoniaków z tym antygenem i raczej z niskim wskaźnikiem proliferacji, histologicznie w chłoniakach grudkowych. W przypadkach chłoniaków wywodzących się z komórek płaszczą i w chłoniakach strefy brzeżnej, złożonych z małych komórek (*immunocytoma*) odpowiedź na leczenie jest nieco mniejsza. Natomiast w chłoniakach limfocytowych pochodzących z małych komórek o dużym wskaźniku proliferacji odpowiedź na leczenie jest wyraźnie mniejsza [25]. Leczenie przeciwciałem anty-CD20 zastosowano również w przypadkach chłoniaków rozlanych zbudowanych z dużych komórek blastycznych, posiadających na powierzchni komórek nowotworowych antygen CD20 [26].

Przeciwciałem anty-CD20 znalazło szczególne zastosowanie w leczeniu chłoniaków grudkowych o niskim stopniu proliferacji i chłoniaków opornych na chemioterapię.

Doświadczenia własne wskazują, że metody immunopatologiczne stosowane w ocenie chłoniaków ułatwiają wybór odpowiedniej terapii. W badanej grupie 18 pacjentów ocenie poddano zarówno preparaty mrożone, jak i zatapiane w parafinie. Przewaga barwienia preparatów mrożonych polega na tym, że wynik otrzymuje się w ciągu 24 godz., natomiast w przypadku preparatów parafinowych, na skutek procedury związanej z utrwalaniem i przygotowywaniem bloczka parafinowego, wyniki barwienia immunocytochemicznego można otrzymać po kilku dniach. Jednakże barwienie preparatów parafinowych ma swoje zalety, ponieważ ocenie immunopatologicznej poddawany jest ten sam skrawek,

który był użyty do oceny histopatologicznej, a dopiero porównanie obu wyników daje odpowiedni obraz w ocenie nowotworu. Warunkiem jest jednak dotrzymanie reżimu utrwalania bloków tkankowych, tak aby proces ten nie uszkodził struktur antygenowych białek komórek nowotworowych. Stosowana powszechnie zasada utrwalania wycinków tkankowych w buforowanej fosforanami formalinie, w czasie od 18 do 24 godz. z następnym odparafinowaniem i uwodnieniem tkanek odpowiednio w ksylenie i w szeregu acetonowym (aceton absolutny, 70 proc. i 40 proc.) spełnia kryteria bezpieczeństwa zachowania struktur antygenowych na powierzchni komórki.

W badanej grupie 18 chorych z chłoniakami w 5 przypadkach stwierdzono utkanie odpowiadające chłoniakowi grudkowemu. We wszystkich tkankach obecny był antygen CD20 na komórkach nowotworowych, które również były DR dodatnie. Spełniały więc kryteria limfocytów B. Odsetek komórek Ki67+ był częściej niski (fot. 1.), aczkolwiek w 2 tkankach większość komórek była Ki67+. U 13 chorych zmiany węzłowe miały charakter rozlany, przy czym w 5 przypadkach chłoniaki wywodziły się z małych komórek, a w 7 z dużych. Immunopatologicznie u 12 chorych komórki nowotworowe były CD20+/DR+. Chłoniaki zbudowane z małych komórek miały niski odsetek komórek Ki67+. Natomiast chłoniaki z dużymi komórkami (7 chorych) charakteryzowały się wysokim odsetkiem komórek Ki67+ (fot. 2.), należały raczej do typu MALT (5 przypadków), a u 2 chorych stwierdzono guz śródpiersia. W jednym przypadku chłoniaka typu MALT umiejscowionego w gruczole piersiowym odsetek komórek Ki67+ był nieco niższy (fot. 3.).

Tak więc wstępna ocena immunopatologiczna określająca odsetek Ki67+, obecność BCL-2 i CD20 odgrywa istotną rolę w opisie zmiany nowotworowej i może stanowić przesłankę do uzupełnienia chemioterapii immunoterapią z wykorzystaniem przeciwciał przeciw CD20.

## PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują pani dr Beacie Muszczyńskiej-Bernhard z Zakładu Patomorfologii Szpitala im. K. Dłuskiego we Wrocławiu za ocenę histopatologiczną preparatów.

## PIŚMIENNICTWO

1. Garcia-Sanz R, Vargas-Montero M, Gonzalez-Diaz M, et al. *Haematologica* 1998; 83: 209-16.
2. Wheaton S, Netser J, Guinee D, Rahn M, Perkins S. *Hum Path* 1998; 29: 820-5.
3. Kurtin PJ, Hobday KS, Ziesmer S, Caron BL. *Am J Clin Path* 1999; 112: 319-29.
4. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. *Blood* 1994; 84: 1361-92.
5. Kaufmann O, Flath B, Spath-Schwalbe E, Possinger K, Dietel M. *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 669-73.

6. Lange A. *Współczesna Onkologia* 1997; 1: 32-5.
7. Luthra R, McBride JA, Cabanillas F, Sarris A. *Am J Pathol* 1998; 153: 63-8.
8. Diaz de Leon E, Alkan S, Huang JC, Hsi ED. *Mod Pathol* 1998; 11: 1046-51.
9. Dorfman DM, Pinkus GS. *Mod Path* 1994; 7: 326-31.
10. Garcia-Conde J, Cabanillas F. *Leukemia* 1996; 10, Suppl 2: 78-83.
11. Vasef MA, Medeiros LJ, Koo Ch, Mccourty A, Brynes RK. *Am J Clin Path* 1997; 108: 302-7.
12. Gaidano G, Pastore C, Capello D, Cilli V, Saggio G. *Leuk. Lymphoma* 1997; 26 Suppl 1: 107-13.
13. Thieblemont C, Berger F, Dumonet Ch, et al. *Blood* 2000; 95: 802-6.
14. Gaidano G, Volpe G, Pastore C. *Am J Hematol* 1997; 56: 206-13.
15. Thieblemont C, Bastion Y, Berger F, et al. *J Clin Oncol* 1997; 15: 1624-30.
16. Zucca E, Bertoni F, Rogerro E, Cavalli F. *Blood* 2000; 96: 410-9.
17. Royer B, Cazalas-Hatem D, Sibilla J, et al. *Blood* 1997; 90: 766-75.
18. Du M-Q, Xu Ch-F, Diss TC, et al. *Blood* 1996; 88: 4445-51.
19. Pescarmona E, De-Sanctis V, Pistilli A, et al. *J Pathol* 1997; 183: 281-6.
20. Falini B, Venturi S, Martelli M, et al. *Br J Hematol* 1995; 89: 780-9.
21. Tedder TF, Engel P. *Immunol Today* 1994; 15: 450-4.
22. Shan D, Ledbetter JA, Press OW. *Blood* 1998; 91: 1644-52.
23. Reff ME, Carner K, Chambers KS, et al. *Blood* 1994; 83: 435-45.
24. Press OW, Eary JF, Golley T, et al. *Blood* 2000; 96: 2934-42.
25. Foran JM, Rohatiner AZS, Cunningham D, et al. *J Clin Oncol* 2000; 18: 317-24.
26. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, et al. *Blood* 1998; 92: 1932-77.

## ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. med. **Andrzej Lange**  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej  
Polskiej Akademii Nauk  
ul. R. Weigla 12  
53-114 Wrocław  
tel. (071) 373 22 74 w. 224  
fax (071) 373 25 87  
e-mail: lange@immuno.iitd.pan.wroc.pl