***С.А. Литвин*[1],**
https://orcid.org/0009-0001-1559-4839
***І.Б. Титоренко*[2],**
https://orcid.org/0009-0000-8893-1253
***І.А. Крячок*[2],**
https://orcid.org/0000-0002-8141-0735
***Н.Ю. Лук'янова*[1],**
https://orcid.org/0000-0002-3698-3868
***Л.М. Ковалевська*[1],**
https://orcid.org/0000-0002-7550-9392

[1] *Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України,*
[2] *Державне некомерційне підприємство "Національний інститут раку", Київ, Україна*

DOI: https://doi.org/10.15407/oncology.2026.03.180

ПОРУШЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ТРАНСКРИПЦІЙНИХ ФАКТОРІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ В-КЛІТИН І ФОСФОПРОТЕЇНА CD47 ПРИ ХРОНІЧНІЙ ЛІМФОЦИТАРНІЙ ЛЕЙКЕМІЇ

Хронічний лімфолейкоз (ХЛЛ) є найпоширенішим видом лейкозу у дорослих у західних країнах, що характеризується клональною експансією зрілих, функціонально некомпетентних В-лімфоцитів, які накопичуються в периферичній крові, кістковому мозку та вторинних лімфоїдних органах. Незважаючи на значний прогрес у таргетній терапії, включаючи інгібітори ключових білків сигнальних каскадів, що дозволяють трансформованим клітинам виживати та уникати апоптозу ХЛЛ залишається невиліковним у більшості пацієнтів, а молекулярні механізми, що лежать в основі його патогенезу, уникнення імунної відповіді та клінічної гетерогенності, потребують подальшого активно дослідження. ***Мета:*** *дослідити особливості експресії транскрипційних факторів, які відповідають за диференціювання В-лімфоцитів, а також експресії CD47.* ***Об'єкт і методи:*** *експресію IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB та CD47 досліджували в В-лімфоцитах пацієнтів з хронічною лімфоцитарною лейкемією (ХЛЛ) та здорових донорів за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі.* ***Результати:*** *в клітинах В-ХЛЛ виявлено системне зниження експресії транскрипційних факторів В-клітинної диференціації: найбільш виражене для EBF1 (в 15,5 раза) та PU.1 (в 14 разів), помірне для BLIMP1 (в 4 рази), IRF8 (в 3,5 раза) та IRF4 (в 2 рази).* ***Висновок:*** *зниження експресії IRF4, IRF8, PU.1, EBF1 та BLIMP1 при ХЛЛ свідчить про системне порушення програми В-клітинної диференціації на кількох послідовних етапах, що сприяє формуванню незрілого фенотипу лейкемічних клітин, їх резистентності до апоптозу та клональній експансії. Одночасне підвищення експресії CD47 вказує на активацію імунного вислизання, що додатково забезпечує персистенцію пухлинного клону.*

Ключові слова: *хронічний лімфолейкоз, транскрипційні фактори, IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB, CD47.*

Хронічна лімфоцитарна лейкемія (ХЛЛ) є найпоширенішим злоякісним новоутворенням з В-клітин у дорослих у західному світі та становить приблизно 25–30% усіх діагнозів лейкемії. Вона характеризується прогресуючим клональним накопиченням зрілих, функціонально дефіцитних $CD5^+/CD19^+/CD23$ клітин у периферичній крові, кістковому мозку та вторинних лімфоїдних органах [1]. В той же час, експресія інших В-клітинних маркерів в злоякісних клітинах при В-ХЛЛ — CD20, CD79b, FMC7, поверхневих імуноглобулінів, CD81 та CD45, а також CD20 — знижена в більшій мірі в порівнянні з будь-якими іншими В-клітинними злоякісними новоутвореннями та нормальними В-лімфоцитами. Водночас для цих клітин характерна висока експресія антигенів CD43 і CD200 та негативна реакція з антитілами до CD10, CD103, CD123 [2, 3] Незважаючи на значні

Цитування: Литвин С.А., Титоренко І.Б., Крячок І.А., Лук'янова Н.Ю., Ковалевська Л.М. Порушення регуляції експресії транскрипційних факторів диференціації В-клітин і фосфопротеїна CD47 при хронічній лімфоцитарній лейкемії. Онкологія. 2026. 28, № 3. С. 180–186. https://doi.org/10.15407/oncology.2026.03.180

© PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

терапевтичні досягнення, включаючи появу інгібіторів BTK (таких як ібрутиніб та піртобрутініб) та антагоністів BCL-2 (таких як венетоклакс), ХЛЛ залишається невиліковним у більшості пацієнтів, а молекулярні детермінанти його виникнення, прогресування та уникнення імунної відповіді потребують всебічного вивчення [4–6].

Транскрипційна ідентичність та стан диференціації клітин ХЛЛ формуються мережею транскрипційних факторів, що визначають лінію розвитку. Серед них, регуляторний фактор інтерферону 4 (IRF4) та регуляторний фактор інтерферону 8 (IRF8) відіграють ключову та часто протилежну роль у вирішенні долі В-клітин. IRF8, у співпраці з PU.1 — транскрипційним фактором родини ETS, що кодується SPI1, — є важливим для ранньої диференціації В-клітин та підтримки їх нормальної ідентичності, тоді як IRF4 керує диференціацією плазматичних клітин і бере участь у виживанні та проліферації клонів ХЛЛ. Повідомлялося про порушення регуляції осі IRF4/IRF8 при різних злоякісних новоутвореннях з В-клітин, проте її точна конфігурація при ХЛЛ на рівні мРНК залишається не до кінця охарактеризованою [7–9].

Ранній В-клітинний фактор 1 (EBF1) є ще одним критичним регулятором диференціювання В-лімфоцитів, що керує експресією необхідних для розвитку В-клітин генів, включаючи *mb1*, *VpreB*, *λ5* та *Pax5*. Його надмірна експресія сама по собі може відновлювати диференціювання В-клітин, навіть коли втрачені регулятори, що знаходяться вище в сигнальному шляху, такі як E2A або Ikaros [10]. Зміни в експресії EBF1 можуть відображати епігенетичне перепрограмування в трансформованих клітинах ХЛЛ та можуть сприяти аберантному транскрипційному ландшафту, який відрізняє лейкемічні В-клітин від нормальних [11]. І навпаки, BLIMP1 (кодований *PRDM1*), головний репресор ідентичності В-лімфоцитів, сприяє диференціації термінальних плазматичних клітин та пригнічує програму експресії генів зрілих В-клітин. Його порушення регуляції при ХЛЛ може впливати на прогресування захворювання та баланс між проліферацією та зупинкою диференціації [12].

Близькоспоріднений член родини транскрипційних факторів ETS — SPIB став особливо важливим регулятором у контексті патобіології ХЛЛ. SPIB має структурну та функціональну гомологію з PU.1 і переважно експресується в В-лімфоцитах та плазмоцитоїдних дендритних клітинах, де регулює генні програми, що керують сигналізацією, виживанням та ідентичністю В-клітинного рецептора (B-cell antigen receptor, BCR) [13].

Окремий інтерес становить CD47 — мембранний глікопротеїн, що передає макрофагам інгібіторний сигнал через взаємодію з рецептором SIRPα [14]. IRF8 конститутивно експресується в нормальних В-клітинах, але відсутній у плазмоцитомах — пухлинах зі зрілих плазматичних клітин, що вказує на його роль у підтримці В-клітинної ідентичності та потенційний зв'язок із регуляцією поверхневих маркерів виживання. При різних гематологічних злоякісних пухлинах CD47 надекспресований і забезпечує уникнення фагоцитозу [15], а при ХЛЛ лігування CD47 здатне індукувати апоптоз лейкемічних клітин, що відкриває терапевтичний потенціал цього шляху [16, 17].

Враховуючи взаємопов'язані ролі цих транскрипційних регуляторів та CD47 у нормальній біології В-клітин та патофізіології ХЛЛ, систематичний порівняльний аналіз експресії їх мРНК у периферичній крові пацієнтів з ХЛЛ порівняно зі здоровими донорами може дати уявлення про молекулярні основи лейкемічної трансформації, уникнення імунної відповіді та потенційну корисність біомаркерів.

Метою даної роботи є комплексна оцінка експресії IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB та CD47 на рівні мРНК у периферичній крові пацієнтів з ХЛЛ порівняно зі здоровими донорами.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В роботі було досліджено зразки периферичної крові 25 пацієнтів з ХЛЛ (*табл. 1*), які знаходились на обстеженні та лікуванні в Національному інституті раку (м. Київ) у 2024–2025 роках. Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Використання зразків пацієнтів було схвалено Етичним комітетом Національного інституту раку відповідно до Гельсінської декларації. Морфологічний діагноз ХЛЛ було встановлено на основі мазків периферичної крові та біопсійних зрізів кісткового мозку, забарвлених гематоксиліном та еозином та/або за

Таблиця 1

Клініко-патологічні характеристики пацієнтів із хронічною лімфоцитарною лейкемією (ХЛЛ)

Клініко-патологічна характеристика	Значення (*n* = 25)
Стать, n (%)	
Чоловіки	9 (36)
Жінки	16 (64)
Вік, роки, медіана (діапазон)	
Чоловіки	68 (61–79)
Жінки	56 (42–67)
Клінічні показники	
Кількість лейкоцитів, $\times 10^9$/л, медіана (діапазон)	47,1 (5,7–214,0)
Гемоглобін, г/л, медіана (діапазон)	141,0 (104,0–178,0)
Імунофенотип, n (%)	
CD5$^+$, CD19$^+$, CD22$^+$, CD79$^+$, CD200$^+$, CD23$^+$, CD43$^+$	25 (100%)

методом Мая–Грюнвальда–Гімзи. Діагноз ХЛЛ було підтверджено морфологічним аналізом відповідно до критеріїв ВООЗ (2022) для пухлин гемопоетичної та лімфоїдної тканин досвідченими патологоанатомами [18]. В якості контролю використовували мононуклеарні клітини периферичної крові п'яти здорових донорів.

Мононуклеари периферичної крові виділяли центрифугуванням в градієнті щільності фіколверографіну ($\rho = 1{,}077$ г/см^3) згідно зі стандартними протоколами. Т-лімфоцити видаляли з фракції мононуклеарів крові шляхом розеткоутворення з еритроцитами барана. Еритроцити барана змішували із суспензією мононуклеарів (доведеною до концентрації 1×10^7 клітин/мл) у співвідношенні 0,02 мл еритроцитів на 1 мл клітинної суспензії. Суміш інкубували за стандартних умов для утворення розеток, після чого 25 мкл клітинної суміші обережно нашаровували на 15 мкл градієнтного середовища Lymphoprep (Axis-ShieldPoC AS, Осло, Норвегія) та піддавали послідовному центрифугуванню. Комплекси розеток Т-лімфоцитів-еритроцитів, які мають вищу плавучу щільність, осідали через градієнт, тоді як В-лімфоцити, які не утворювали розеток, концентрувалися на межі розділу Lymphoprep та фізіологічного розчину. Збагачену фракцію В-лімфоцитів обережно аспірували, двічі промивали в середовищі RPMI-1640 (Gibco, Thermo FisherScientific, Волтем, Массачусетс, США) та використовували для виділення РНК.

Загальну РНК з В-клітин периферичної крові було виділено за допомогою набору RNeasyMini Kit (QiagenInc, Німеччина) або з використання реагенту Tri-reagent (ThermoScientific) згідно з інструкціями виробника. мРНК осаджували ізопропанолом (1/3 об'єму водної фази). Зразки обережно перемішували та інкубували протягом 30 хв при –20°С для осадження мРНК. Після центрифугування протягом 20 хв при 12000 об/хв осаджену мРНК двічі промивали 70% етанолом, а потім розчиняли у воді, вільній від РНКази. Концентрацію РНК оцінювали за допомогою приладу ND 1000 (ThermoFisherScientific, Литва).

Отриману мРНК (кінцева концентрація 25 нг/мкл) використовували для синтезу кДНК за допомогою набору для зворотної транскрипції RevertAid RT (ThermoFisherScientific, Литва) згідно з протоколом виробника.

Кількісну полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (RT-qPCR) використовували для оцінки відносної експресії генів IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB та CD47на рівні мРНК. Реакційна суміш для ампліфікації складалася з 2 мкл кДНК, 4 мкл суміші 5х HOT FIREPolEvaGreenq PCR (SolisBioDyne, Естонія), 13 мкл H_2O без РНКази та 1 мкл суміші праймерів (зворотного та прямого праймерів, кінцева концентрація 25 пМ). Праймери представлені в *табл. 2*.

Таблиця 2

Опис праймерів, використаних у дослідженні

Гени	Послідовність праймерів
IRF4	For: 5′-CCACTACCTCCTTTCCTATC-3′ Rev: 5′-CCGTTCCTTTTCAGAGTCCT-3′
IRF8	For: 5′-CCAACAGATCACCGTCTAA-3′ Rev: 5′-AAGTGCAAAGTAAGGCATC-3′
EBF1	For: 5′-GTACCATGCTGGTCTGGAGTG-3′ Rev: 5′-GTGTGACTTCCACAACACCAGG-3′
SPI-B	For: 5′-GCATACCCCACGGAGAACT-3′ Rev: 5′-GGCTGTCCAACGGTAAGTCT-3′
PU.1	For: 5′-CTTCCAGTTCTCGTCCAA-3′ Rev: 5′-GAGCTTCTTCTTCACCTTC-3′
BLIMP 1	For: 5′-GCTTAATACTTGGTGACCTC-3′ Rev: 5′-GTATCTCTTCCTCCCTGGTT-3′
CD47	For: 5′-TATCCTCGCTGTGGTTGGACTG-3′ Rev: 5′-TAGTCCAAGTAATTGTGCTAGAGC-3′
TBP	For: 5′-CCACTCACAGACTCTCACAAC-3′ Rev: 5′-CTGCGGTACAATCCCAGAACT-3′

Для порівняння рівнів експресії генів з внутрішнім контролем TBP, що кодує TATA-зв'язуючий білок, було використано відносну кількісну оцінку. Для кожного гена було проведено дві або три реакції (кожна в трьох повторах), щоб можна було розрахувати стандартне відхилення. Дані було розраховано методом 2-ΔΔCt.

Для статистичного аналізу експресії генів було використано програмне забезпечення GraphPad Prism (версія 9, GraphPadSoftware, Ла-Хойя, США) з використанням тесту Краскела-Уолліса для непараметричних даних у групах для кожного гена.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У пацієнтів з ХЛЛ профіль експресії ключових транскрипційних факторів, що беруть участь в ідентичності В-лімфоцитів, показав помітне зниження регуляції порівняно з умовно нормальними В-клітинами (*рис. 1*). Спостерігали зниження експресії EBF1 на рівні РНК в 15,5 раза, поряд із зниженням IRF8 в 3,5 раза та зниженням IRF4 в 2 рази. Ці результати є особливо значущими, враховуючи, що IRF4 відіграє вирішальну роль у сигналізації В-клітинних рецепторів, диференціації плазматичних клітин та виживанні зрілих В-лімфоцитів [19], тоді як IRF8 є важливим при диференціюванні В-лімфоцитів на ранніх етапах та пригніченні генів мієлоїдного ряду в лімфоїдних клітинах-попередниках [20]. EBF1, як головний регулятор ідентичності В-клітин, регулює експресію специфічних для В-лінії генів та співпрацює з IRF4 і IRF8 для підтримки транскрипційних програм, необхідних для нормальної функції В-лімфоцитів [21]. Ці результати вказують, що патогенез ХЛЛ може включати не лише раніше

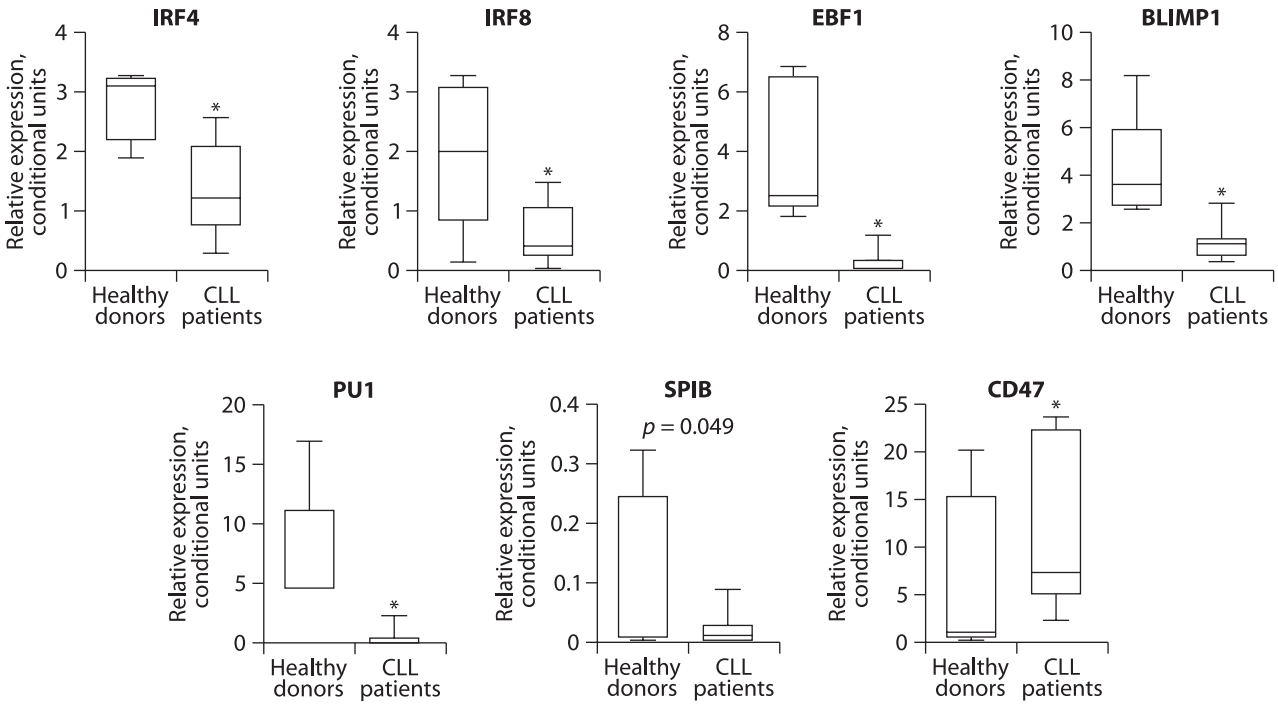


Рис. 1. Відносна експресія мРНК (в умовних одиницях) IRF4, IRF8, EBF1, BLIMP1, PU.1, SPIB та CD47 у периферичній крові здорових донорів порівняно з пацієнтами з ХЛЛ

описану конститутивну активацію онкогенних сигнальних шляхів [22], але й значне пригнічення транскрипційних факторів, критично важливих для нормальної диференціації та підтримки ідентичності В-клітин. Координована знижена регуляція IRF4, IRF8 та EBF1 свідчить про селективне приглушення сигнальних каскадів, що регулюють зв'язок між лініями В-клітин, що може фундаментально поставити під загрозу антигенну реакцію, регуляцію генів імуноглобулінів та точність транскрипції в лейкемічних В-клітинах [23].

Дослідження експресії PU.1 виявило значно значне зниження показників в порівнянні із зразками умовно здорових донорів — від 5 до майже 12 разів ($p < 0,05$). Детектували також зниження експресії BLIMP1 в 4 рази в порівнянні зі зразками здорових донорів ($p < 0,05$). Майже не виявлено зміни експресії SpiB, низький рівень детектувався як в зразках умовно нормальних В-лімфоцитів здорових донорів, так і у зразках хворих на ХЛЛ (див. *рис. 1*).

Координована знижена регуляція як IRF8, так і PU.1, яку ми спостерігали, є біологічно взаємопов'язаною. IRF8 безпосередньо зв'язується з консенсусними послідовностями IRF8/ETS у промоторних ділянках SPI1 (що кодує PU.1) та EBF1, модулюючи їх транскрипцію. Його дефіцит призводить до значного зменшення популяцій В-клітин-попередників та посилення диференціювання у мієлоїдному напрямі. Було продемонстровано, що комплекс IRF8–PU.1 відіграє важливу роль у підтримці ідентичності зрілих В-клітин. IRF8 та PU.1 разом контролюють схильність В-клітин до рекомбінації перемикання класів антитіл та диференціації плазматичних клітин, одночасно сприяючи експресії BCL6 та PAX5 та пригнічуючи AID та BLIMP1. Тому їх одночасна втрата в В-лімфоцитах при ХЛЛ означає колапс транскрипційного апарату, який відповідає за підтримку генних програм зрілих В-клітин та пригнічення шляхів термінальної диференціації. Подвійна делеція IRF8 та PU.1 у В-клітинній лінії призводить до серйозних дефектів у розвитку фолікулярних центрів, порушення рекомбінації перемикання класів та втрати експресії BCL6. Це свідчить, що вісь IRF8/PU.1–BCL6 є критично важливою для розвитку В-лімфоцитів на пізніх стадіях диференціювання. Пригнічення цієї вісі передачі сигналу в периферичних клітинах крові хворих на ХЛЛ, ймовірно, сприяє їхній функціональній анергії та нездатності до ефективної імунної відповіді [24, 25].

Зниження експресії мРНК BLIMP1 (PRDM1) у пацієнтів з ХЛЛ, яке спостерігалося в нашому дослідженні, надає прямі транскрипційні докази добре встановленої нездатності клітин ХЛЛ до термінальної диференціації плазматичних клітин. BLIMP1 регулює диференціювання плазмоцитів шляхом пригнічення експресії генів зрілих В-лімфоцитів і подавлення таких ключових мішеней, як *c-Myc*, *PAX5* та *CIITA*, тоді як його власний синтез у В-клітинах центрів розмноження безпо-

середньо інгібується за допомогою BCL6. При ХЛЛ стійка активність BCL6 та інших програм підтримки ідентичності В-клітин у поєднанні з епігенетичним заглушенням локусу BLIMP1 зберігає лейкемічний клон у транскрипційному стані, що перешкоджає його термінальній диференціації і водночас забезпечує клональне виживання. BCL6 підтримує проліферацію В-клітин і блокує їхнє кінцеве ефекторне диференціювання, безпосередньо інгібуючи PRDM1, тоді як BLIMP1 зворотно пригнічує експресію *c-Myc*, *PAX5* та *BCL6* у процесі диференціювання плазмобластів. Відсутність цього зворотного зв'язку в клітинах ХЛЛ (про що свідчить знижений рівень мРНК BLIMP1) забезпечує механістичну основу для накопичення зрілих, але нефункціональних В-лімфоцитів у периферичній крові [26, 27].

Виявлено низький рівень SPIB у В-лімфоцитах умовно-здорових донорів та майже відсутню його експресію в В-лімфоцитах периферичної крові хворих на ХЛЛ, що вимагає ретельної інтерпретації в контексті існуючих (часом суперечливих) даних наукової літератури. SPIB — це транскрипційний фактор сімейства ETS, що переважає в В-лімфоцитах, є структурним гомологом PU.1 і відіграє перехресну роль у BCR-сигналінгу, підтримці виживаності В-клітин та блокуванні диференціювання плазмоцитів. SPIB необхідний для належної сигналізації BCR та виживання зрілих В-лімфоцитів, підтримує В-клітини зародкового центру та пригнічує диференціацію плазматичних клітин у людини та мишей, підсилюючи експресію Bach2 та пригнічуючи індукцію BLIMP1 [28, 29]. У контексті ХЛЛ у попередньому дослідженні із застосуванням субпопуляцій $CD150^{+}$ та $CD150^{-}$ було продемонстровано підвищену експресію мРНК SPIB, обмежену саме клітинами ХЛЛ порівняно з нормальними В-клітинами, тоді як експресія *PU.1* виявилася стабільно зниженою [30]. Зниження регуляції SPIB у циркулюючій, спокійній популяції ХЛЛ може відображати транскрипційний фенотип непроліферуючих клітин, оскільки було показано, що експресія SPIB реагує на стимуляцію BCR, CD40 та TLR з мікрооточення. Рівні SPIB та Bach2 прогресивно знижуються в процесі диференціації плазматичних клітин із стимульованих В-лімфоцитів, а зменшення експресії *SPIB* у периферичному компартменті може відображати загальне ослаблення BCR-підпорядкованих транскрипційних програм у спочиваючих клітинах ХЛЛ [31]. Широка варіабельність, що спостерігається в групі здорових донорів, може відображати природну гетерогенність складу субпопуляцій В-лімфоцитів у різних осіб, тоді як рівномірно низька експресія у пацієнтів з ХЛЛ може свідчити про конвергентний транскрипційний фенотип, нав'язаний лейкемічною трансформацією, що потенційно має біологічне та діагностичне значення.

Натомість експресія CD47 була підвищена в 14,5 раза, що забезпечує ухилення пухлинних клітин від фагоцитозу. Окрім транскрипційної дедиференціації, клітини ХЛЛ активно використовують сигналізацію вроджених імунних контрольних точок, щоб уникнути фагоцитарної елімінації. CD47, широко експресований трансмембранний білок, функціонує як критичний сигнал "не їж мене", взаємодіючи з сигнальним регуляторним білком альфа (SIRPα) на макрофагах та дендритних клітинах, тим самим пригнічуючи фагоцитоз. CD47 надмірно експресується на різних типах пухлин, дозволяючи злоякісно трансформованим клітинам уникати імунного нагляду, а його підвищена регуляція служить механізмом для клітин-попередників лейкемії запобігати фагоцитозу. При ХЛЛ було показано, що експресія CD47 корелює з прогресуванням захворювання; його таргетування, особливо в поєднанні з антитілами проти CD24, є предметом активних клінічних досліджень [17]. Значна варіабельність експресії CD47 при ХЛЛ вказує на те, що ап-регуляція його транскрипції обумовлена сукупністю сигналів як із боку самого пухлинного клону (наприклад, активацією NF-κB), так і з боку мікрооточення (гіпоксія та цитокіни підтримки виживання, які продукуються nurse-like-клітинами) [31].

ВИСНОВКИ

1. Зниження експресії IRF4, IRF8, PU.1, EBF1 та BLIMP1 при ХЛЛ свідчить про системне порушення програми В-клітинної диференціації на кількох послідовних етапах, що сприяє формуванню незрілого фенотипу лейкемічних клітин, їх резистентності до апоптозу та клональній експансії.

2. Одночасне підвищення CD47 вказує на активацію імунного вислизання, що додатково забезпечує персистенцію пухлинного клону.

Роботу було підтримано грантом № 0124U003787 Національного фонду досліджень України "Активація сигнальних каскадів для елімінації трансформованих В-клітин при хронічному лімфолейкозі".

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Hallek M.** Chronic lymphocytic leukemia: 2025 update on the epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and therapy. Am J Hematol 2025; **100** (3): 450–80. https://doi.org/10.1002/ajh.27546.
2. **Lytvyn SA, Kovalevska LM.** Modern diagnostic methods and characteristics of the course of chronic lymphocytic leukemia. Oncology 2025; **27** (3): 172–81. https://doi.org/10.15407/oncology.2025.03.172. (in Ukrainian)
3. **Philchenkov AA, Zavelevich MP, Abramenko IV, Shlapa0 tska LM.** B-cell lymphoid neoplasms in the 5th edition of the who classification of hematolymphoid tumors (2022). 2. Mature B-cell neoplasms, plasma cell neoplasms and

other diseases with paraproteins. Oncology 2025; **25** (3): 159–74. https://doi.org/10.15407/oncology.2023.03.159. in Ukrainian)
4. **Mato AR, Woyach JA, Brown JR, *et al.*** Pirtobrutinib after a covalent BTK inhibitor in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2023; **389** (1): 33–44. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2300696.
5. **Cool A, Nong T, Montoya S, Taylor J.** BTK inhibitors: past, present, and future. Trends Pharmacol Sci 2024; **45** (8): 691–707. https://doi.org/10.1016/j.tips.2024.06.006.
6. **Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, *et al.*** Targeting BCL2 with venetoclax in relapsed chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2016; **374** (4): 311–22. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1513257.
7. **Pang SH, Minnich M, Gangatirkar P, *et al.*** PU.1 cooperates with IRF4 and IRF8 to suppress pre-B-cell leukemia. Leukemia 2016; **30** (6): 1375–87. https://doi.org/10.1038/leu.2016.27.
8. **Ottens K, Satterthwaite AB.** IRF4 has a unique role in early B cell development and acts prior to CD21 expression to control marginal zone B cell numbers. Front Immunol 2021; **12**: 779085. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.779085.
9. **Garrett-Sinha LA, Su GH, Rao S, *et al.*** PU.1 and Spi-B are required for normal B cell receptor-mediated signal transduction. Immunity 1999; **10**: 399–408. https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80040-0.
10. **Seo W, Ikawa T, Kawamoto H, Taniuchi I.** Runx1-Cbfβ facilitates early B-lymphocyte development by regulating expression of Ebf1. J Exp Med 2012; **209** (7): 1255–62. https://doi.org/10.1084/jem.20112745.
11. **Hagman J, Ramírez J, Lukin K.** B lymphocyte lineage specification, commitment and epigenetic control of transcription by early B cell factor 1. Curr Top Microbiol Immunol 2012; **356**: 17–38. https://doi.org/10.1007/82_2011_139.
12. **Nadeau S, Martins GA.** Conserved and unique functions of Blimp1 in immune cells. Front Immunol 2022; **12**: 805260. https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.805260.
13. **Willis SN, Tellier J, Liao Y, *et al.*** Environmental sensing by mature B cells is controlled by the transcription factors PU.1 and SpiB. Nat Commun 2017; **8** (1): 1426. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01605-1.
14. **Jaiswal S, Jamieson CH, Pang WW, *et al.*** CD47 is upregulated on circulating hematopoietic stem cells and leukemia cells to avoid phagocytosis. Cell 2009; **138** (2): 271–85. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.05.046.
15. **Eladl E, Tremblay-LeMay R, Rastgoo N, *et al.*** Role of CD47 in hematological malignancies. J Hematol Oncol 2020; **13**: 96. https://doi.org/10.1186/s13045-020-00930-1.
16. **Martinez-Torres AC, Quiney C, Attout T, *et al.*** CD47 agonist peptides induce programmed cell death in refractory chronic lymphocytic leukemia B cells via PLCγ1 activation: evidence from mice and humans. PLoS Med 2015; **12** (3): e1001796. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001796.
17. **Aroldi A, Mauri M, Ramazzotti D, *et al.*** Effects of blocking CD24 and CD47 "don't eat me" signals in combination with rituximab in mantle-cell lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. J Cell Mol Med 2023; **27** (20): 3053–64. https://doi.org/10.1111/jcmm.17868.
18. **Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, *et al.*** The 5th edition of the World Health Organization Classification of HaematolymphoidTumours: lymphoid neoplasms. Leukemia 2022; **36** (7): 1720–48. https://doi.org/10.1038/s41375-022-01620-2.
19. **Sciammas R, Shaffer AL, Schatz JH, *et al.*** Graded expression of interferon regulatory factor-4 coordinates isotype switching with plasma cell differentiation. Immunity 2006; **25** (2): 225–36. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.07.009.
20. **Tamura T, Tailor P, Yamaoka K, *et al.*** IFN regulatory factor-4 and -8 govern dendritic cell subset development and their functional diversity. J Immunol 2005; **174** (5): 2573–81. https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.5.2573.
21. **Timblin GA, Schlissel MS.** Ebf1 and c-Myb repress rag transcription downstream of Stat5 during early B cell development. J Immunol 2013; **191** (9): 4676–87. https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301675.
22. **Patton JT, Woyach JA.** Targeting the B cell receptor signaling pathway in chronic lymphocytic leukemia. Semin Hematol 2024; **61** (2): 100–8. https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2024.04.002.
23. **Fedl AS, Tagoh H, Gruenbacher S, *et al.*** Transcriptional function of E2A, Ebf1, Pax5, Ikaros and Aiolos analyzed by in vivo acute protein degradation in early B cell development. Nat Immunol 2024; **25** (9): 1663–77. https://doi.org/10.1038/s41590-024-01933-7.
24. **Carotta S, Willis SN, Hasbold J, *et al.*** The transcription factors IRF8 and PU.1 negatively regulate plasma cell differentiation. J ExpMed 2014; **211** (11): 2169–81. https://doi.org/10.1084/jem.20140425.
25. **Wang H, Jain S, Li P, *et al.*** Transcription factors IRF8 and PU.1 are required for follicular B cell development and BCL6-driven germinal center responses. Proc Natl Acad Sci USA 2019; **116** (19): 9511–20. https://doi.org/10.1073/pnas.1901258116.
26. **Shaffer AL, Lin KI, Kuo TC, *et al.*** Blimp-1 orchestrates plasma cell differentiation by extinguishing the mature B cell gene expression program. Immunity 2002; **17** (1): 51–62. https://doi.org/10.1016/S1074-7613(02)00335-7.
27. **Radtke D, Bannard O.** Expression of the plasma cell transcriptional regulator Blimp-1 by dark zone germinal center B cells during periods of proliferation. Front Immunol 2019; **9**: 3106. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03106.
28. **Laramée AS, Raczkowski H, Shao P, *et al.*** Opposing roles for the related ETS-family transcription factors Spi-B and Spi-C in regulating B cell differentiation and function. Front Immunol 2020; **11**: 841. https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00841.
29. **Willis SN, Tellier J, Liao Y, *et al.*** Environmental sensing by mature B cells is controlled by the transcription factors PU.1 and SpiB. Nat Commun 2017; **8** (1): 1426. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01605-1.
30. **Gordiienko I, Shlapatska L, Kholodniuk VM, *et al.*** CD150 and CD180 are involved in regulation of transcription factors expression in chronic lymphocytic leukemia cells. Exp Oncol 2017; **39** (4): 291–8.
31. **Haselager MV, Kater AP, Eldering E.** Proliferative signals in chronic lymphocytic leukemia: what are we missing? Front Oncol 2020; **10**: 592205. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.592205.
32. **Ghantous L, Volman Y, Hefez R, *et al.*** The DNA damage response pathway regulates the expression of the immune checkpoint CD47. Commun Biol 2023; 6 (1): 245. https://doi.org/10.1038/s42003-023-04615-6.

DYSREGULATION OF EXPRESSION OF B-CELL DIFFERENTIATION TRANSCRIPTION FACTORS AND CD47 PHOSPHOPROTEIN IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

S.A. Lytvyn[1], I.B. Titorenko[2], I.A. Kryachok[2], N.Yu. Lukianova[1], L.M. Kovalevska[1]

[1] RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Sciences of Ukraine,

[2] State non-profit enterprise "National Cancer Institute", Kyiv, Ukraine

Summary. *Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common leukemia in adults in Western countries, characterized by the clonal expansion of mature, functionally incompetent B-lymphocytes that accumulate in the peripheral blood, bone marrow, and secondary lymphoid organs. Despite significant advances in targeted therapy — including inhibitors of key signaling pathway proteins that allow transformed cells to survive and evade apoptosis — CLL remains incurable in the majority of patients, and the molecular mechanisms underlying its pathogenesis, immune evasion, and clinical heterogeneity continue to require active investigation.* ***Aim:*** *to investigate the expression patterns of transcription factors involved in B-lymphocyte differentiation and of CD47.* ***Object and methods:*** *B-lymphocytes isolated from the peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) and from healthy donors were examined for the expression of IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB, and CD47 by quantitative real-time polymerase chain reaction.* ***Results:*** *patients with CLL demonstrated a systemic downregulation of B-cell differentiation transcription factors: most pronounced for EBF1 (15.5-fold) and PU.1 (12-fold), moderate for BLIMP1 (4-fold), IRF8 (3.5-fold), and IRF4 (2-fold).* ***Conclusions:*** *the downregulation of IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, and BLIMP1 in CLL reflects a systemic disruption of the B-cell differentiation program at multiple sequential stages, contributing to the immature phenotype of leukemic cells, their resistance to apoptosis, and clonal expansion. The concurrent upregulation of CD47 indicates activation of immune evasion mechanisms, further sustaining the persistence of the tumor clone.*

Keywords: Chronic lymphocytic leukemia, transcription factors, IRF4, IRF8, PU.1, EBF1, BLIMP1, SPIB, CD47

Адреса для листування:

Л.М. Ковалевська
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: kreyl@yahoo.com

Одержано: 16.04.2026
Рекомендовано до друку: 27.07.26
Підписано до друку: 02.11.2026