

# 胃肠道弥漫大 B 细胞淋巴瘤 CD10、Bcl-6 和 VEGF 与预后的相关性研究

张以若 顾康生

**摘要** 目的 探讨原发于胃肠道的弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (PGI-DLBCL) 的临床特征, CD10、Bcl-6 和 VEGF 表达, 分析其与预后的相关性。方法 收集 66 例病理确诊原发 PGI-DLBCL 患者的临床资料, 采用免疫组化法检测肿瘤组织 CD10、Bcl-6 及 VEGF 表达水平; 应用 Hans 分型法、Kaplan-Meier 法、Log-rank 检验对患者进行分型, 分析临床特征、CD10、Bcl-6 及 VEGF 表达与无进展生存期 (PFS) 相关性。结果 66 例患者, 原发胃部 36 例 (54.5%), 原发肠道 30 例 (45.5%)。生发中心型 (GCB) 39 例 (59.1%), 非生发中心型 (non-GCB 型) 27 例 (40.9%)。肿瘤分期、国际预后指数 (IPI) 评分与 PFS 呈负相关性 ( $P < 0.05$ )。GCB 中位 PFS 为 21.50 个月, non-GCB 中位 PFS 12.00 个月。Bcl-6 阳性表达 29 例 (43.9%), CD10 阳性表达 23 例 (34.8%), VEGF 阳性表达 29 例 (43.9%); 单因素分析结果提示 CD10、Bcl-6 阳性表达与 PFS 呈正相关性 ( $P < 0.05$ ), 而 VEGF 阳性表达与 PFS 呈负相关性 ( $P < 0.05$ ); CD10、Bcl-6、VEGF 表达与临床特征之间无明显相关性。Cox 多因素预后分析提示治疗结果、Bcl-6 及 VEGF 为影响生存时间的独立影响因素。结论 PGI-DLBCL 是一类高侵袭性、高特异性的恶性肿瘤, Hans 分型、肿瘤分期、IPI 评分、VEGF、CD10、Bcl-6 表达均与其预后相关性。

**关键词** PGI-DLBCL; 预后; VEGF; CD10; Bcl-6

**中图分类号** R 733.4

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2015)06-0829-04

胃肠道弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (primary gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma, PGI-DLBCL) 来源于胃肠黏膜下层淋巴组织。多年来一直采用国际预后指数 (international prognosis index, IPI) 对 DLBCL 预后判断, 其对高风险患者的预判及患者生存率和有效缓解率的预测均有指导意义<sup>[1]</sup>。该研究选取 66 例 PGI-DLBCL 患者, 检测其肿瘤组织 Bcl-6、CD10 蛋白及血管内皮生长因子 (vascular endo-

thelial growth factor, VEGF) 的表达, 结合临床资料和随访结果, 分析其临床特征, Bcl-6、CD10、VEGF 表达与预后的相关性。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 收集 2009~2014 年在安徽医科大学第一附属医院确诊的 PGI-DLBCL 患者 66 例, 所有病例符合以下条件: ① 手术或内镜取得病理, 确诊 PGI-DLBCL, 并再次请病理科复诊; ② 完整的临床资料, 包括年龄、性别、有无 B 症状 (发热、大汗、体重减轻)、乳酸脱氢酶水平、结外器官受累数目、骨髓浸润情况、临床分期情况 (Ann Arbor 临床分期)、患者一般情况 (以 ECOG 评分为指标) 及治疗方案; ③ 随访到完整的远期生存数据。本研究共选取 66 例 PGI-DLBCL 患者, 其中男 42 例, 女 24 例, 男女比例为 1.75:1, 年龄 14~80 岁, 中位年龄 57 岁; 原发胃部 36 例 (54.5%), 原发肠道 30 例 (45.5%), 治疗方法上采用外科手术合并化疗 45 例 (68.2%), 单纯化疗 21 例 (31.8%), 并搜集患者临床分期, 分析其 IPI 评分, 进行统计学分析。

**1.2 研究方法** 对 66 例 PGI-DLBCL 患者的大体标本采用免疫组化法检测肿瘤组织 CD10、Bcl-6 (应用免疫组化 SP 法检测 Bcl-6、CD10 表达; 单克隆抗体试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 染色步骤按照产品说明书进行) 及 VEGF 蛋白表达 (对其标本进行免疫组织染色, 按 MaxVision 二步法进行, 具体操作步骤均按试剂盒说明书进行; 所用试剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司), 结果判断: CD10 阳性为细胞膜着色, 阳性表达为定性判断,  $\geq 15\%$  的肿瘤细胞出现棕黄色颗粒视为阳性,  $< 15\%$  为阴性; Bcl-6 阳性为细胞核着色, 判定标准采用半定量方法评价阳性强度, 不着色或淡黄色视为 (-), 棕黄色或棕褐色视为 (+); VEGF 表达为细胞浆染色, 以出现棕黄色颗粒为阳性标准, 阳性肿瘤细胞数占总细胞数 0~25% 为 (-),  $\geq 26\%$  为 (+)。

**1.3 疗效评价** 患者接受手术及一线化疗方案治疗后, 根据 Cheson<sup>[2]</sup> 标准进行近期疗效评价; 将治

2015-05-06 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1408085MH203)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院 肿瘤科, 合肥 230001

作者简介: 张以若, 女, 硕士研究生;

顾康生, 男, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: gks63@

tom.com

疗疗效分为完全缓解 (complete response ,CR)、部分缓解 (partial response ,PR)、稳定 (stable disease ,SD) 和进展 (progressive disease ,PD); CR + PR 视为有效 ,SD + PD 视为无效。生存随访以电话随访为主 ,包括信件、邮件随访和病例追踪。随访截止日期为 2014 年 9 月 1 日。无进展生存期 (progression free survival ,PFS) 定义为从随机化到患者出现疾病进展或患者死亡的时间。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 软件进行分析 ,正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  描述;组间比较采用 *t* 检验 ,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验。非正态资料的相关性采用 Spearman 秩相关分析 ,生存时间资料采用 Kaplan-Meier 分析 ,并用 Log-rank 检验进行组间差异比较 ,PFS 的影响因素分析采用 COX 回归分析。

**2 结果**

**2.1 检测 Bcl-6、CD10、VEGF 表达** 66 例 PGI-DLBCL 患者 ,Bcl-6 表达阳性 29 例 (43.9%) ,阴性 37 例 (56.1%) ;CD-10 表达阳性 23 例 (34.8%) ,阴性 43 例 (65.2%) ;VEGF 表达阳性 29 例 (43.9%) ,阴性 37 例 (56.1%)。本实验选取的 66 例患者中 ,生发中心型 (germinal center B-cell ,GCB) 型 39 例 (59.1%) ,非生发中心型 (non-germinal center B-cell ,non-GCB) 型 27 例 (40.9%) ,non-GCB 组中位 PFS 为 12.00 个月 ,GCB 组中位 PFS 为 21.50 个月 ,两组差异有统计学意义 ( $Z = -2.897 ,P = 0.004$ )。Bcl-6、CD10、VEGF 表达见图 1。

**2.2 临床特征与 PFS 相关性分析** 不同年龄、分期、IPI 评分与 PFS 的相关性分析显示:分期与 PFS 呈负相关性 ( $r_s = -0.349 ,P = 0.004$ ) ,分期越晚 ,PFS 越短;IPI 评分与 PFS 呈负相关性 ( $r_s = -0.329 ,P = 0.007$ ) ,随着 IPI 评分的增加 ,PFS 越短;年龄与 PFS 无相关性 ( $r_s = 0.027 ,P = 0.830$ )。

**2.3 Bcl-6、CD10、VEGF 表达与 PFS 相关性分析**

以 PFS 作为生存指标 ,Bcl-6 表达阳性的中位生存时间为 24.24 个月 (95% CI:19.64 ~ 28.84) ,阴性患者中位生存时间为 14.03 个月 (95% CI:10.81 ~ 17.25) ,Bcl-6 表达阳性的 PFS 长于阴性患者 ( $\chi^2 = 9.343 ,P = 0.002$ ) ;CD10 表达阳性的中位生存时间为 24.45 月 (95% CI:17.67 ~ 31.23) ,阴性患者中位生存时间为 15.94 个月 (95% CI:13.17 ~ 18.70) ,CD10 表达阳性的 PFS 长于阴性患者 ( $\chi^2 = 6.471 ,P = 0.011$ ) ;VEGF 表达阳性的中位生存时间为 13.90 个月 (95% CI:10.92 ~ 16.88) ,阴性患者中位生存时

间为 22.36 个月 (95% CI:17.89 ~ 26.83) ,VEGF 阴性的生存时间长于阳性患者的生存时间 ( $\chi^2 = 10.321 ,P = 0.001$ ) ,见图 2。

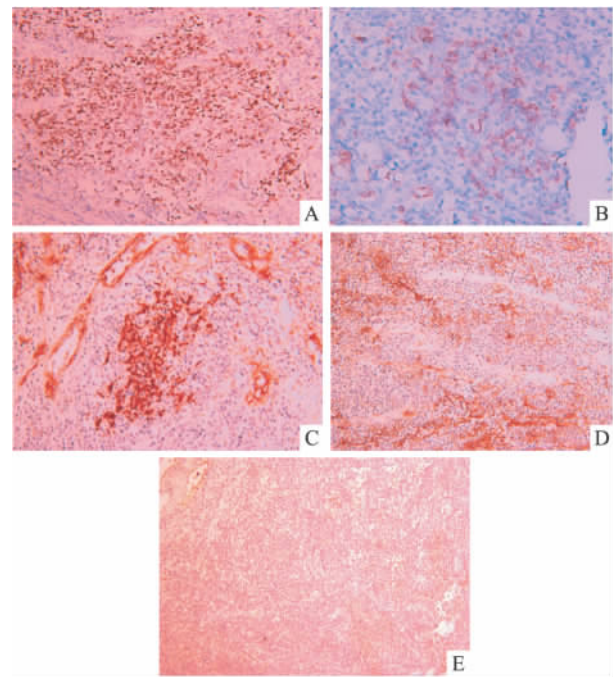


图 1 Bcl-6、CD10、VEGF 表达

A: Bcl-6 染色阳性表达 (×200); B: CD10 染色阳性表达 (×200); C: VEGF 染色灶性表达 (×200); D: VEGF 染色弥漫性表达 (×200); E: 周围淋巴组织阴性对照 (×100)

**2.4 PFS 影响因素的 COX 回归分析** 以年龄、分期、IPI 评分、性别、原发部位、手术与否、治疗结果、Bcl-6、CD10、VEGF 为自变量 ,以 PFS 为因变量 ,做 COX 回归分析 ,赋值见表 1。结果显示 ,治疗结果、Bcl-6 及 VEGF 为影响生存时间的独立影响因素 ,治疗有效的死亡风险为治疗无效的 0.383 倍 ( $P = 0.039$ ) ,Bcl-6 阳性患者的死亡风险为阴性患者的 0.439 倍 ( $P = 0.004$ ) ,VEGF 阳性患者的死亡风险为阴性患者的 2.219 倍 ( $P = 0.008$ ) ,见表 2。

表 1 COX 回归分析赋值表

因素	变量名	赋值
年龄	X <sub>1</sub>	实际值
分期	X <sub>2</sub>	1 = I 期 2 = II 期 3 = III 期 4 = IV 期
IPI 评分	X <sub>3</sub>	实际值
性别	X <sub>4</sub>	1 = 男 2 = 女
原发部位	X <sub>5</sub>	1 = 胃 2 = 肠
手术与否	X <sub>6</sub>	0 = 否 1 = 是
治疗结果	X <sub>7</sub>	0 = 无效 1 = 有效
Bcl-6	X <sub>8</sub>	0 = 阴性 1 = 阳性
CD10	X <sub>9</sub>	0 = 阴性 1 = 阳性
VEGF	X <sub>10</sub>	0 = 阴性 1 = 阳性
PFS	Y	实际值

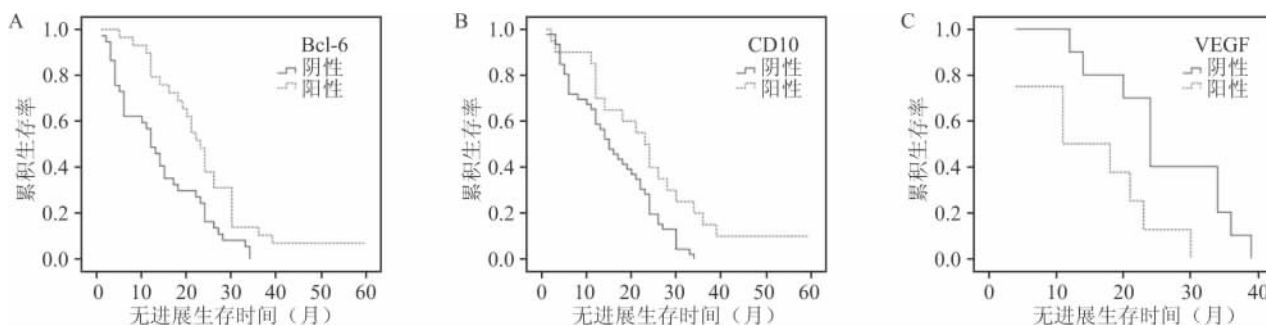


图2 Bcl-6、CD10、VEGF与PFS的Kaplan-Meier分析

A: Bcl-6 ; B: CD10 ; C: VEGF

表2 PFS影响因素的COX回归分析

因素	B	SE	Wald	P 值	OR(95% CI)
年龄	0.000	0.011	0.002	0.967	1.000(0.979 ~ 1.021)
分期	-0.009	0.214	0.002	0.965	0.991(0.652 ~ 1.506)
IPI 评分	0.302	0.228	1.766	0.184	1.353(0.866 ~ 2.114)
性别	0.416	0.298	1.944	0.163	1.516(0.845 ~ 2.721)
原发部位	0.252	0.300	0.705	0.401	1.287(0.714 ~ 2.317)
手术与否	0.230	0.305	0.570	0.450	1.259(0.692 ~ 2.289)
治疗结果	-0.961	0.465	4.265	0.039	0.383(0.154 ~ 0.952)
Bcl-6	-0.823	0.286	8.263	0.004	0.439(0.251 ~ 0.770)
CD10	-0.500	0.341	2.145	0.143	0.607(0.311 ~ 1.184)
VEGF	0.797	0.302	6.980	0.008	2.219(1.228 ~ 4.008)

### 3 讨论

胃肠道是 DLBCL 最常见的结外原发部位,胃部受侵最为常见,其次为小肠、回盲部及结直肠,其分布与过往文献<sup>[3]</sup>吻合。目前国内外对于 NHL 的预后预测主要依赖传统的 IPI 评分,本实验结果提示疾病分期, IPI 评分与患者 PFS 相关,而性别、年龄、原发部位,化疗前是否合并手术则与预后无明显相关。

研究<sup>[4]</sup>显示,利用免疫组化法对患者预后进行分组是可行的, Hans et al 将 DLBCL 患者 CD10(+) 或 CD10(-)、Bcl-6(+)、MUM1(-)者称为 GCB 型,而其余者则为 non-GCB 型,并提出前者的预后明显优于后者。CD10 和 Bcl-6 作为生发中心的标志物 [CD10(+) 或 CD10(-)/Bcl-6(+)] 为 GCB 类; CD10(-) Bcl-6(-) 为 non-GCB, 其对预后的意义也逐渐得到人们的重视<sup>[5]</sup>。按以上标准,本实验选取的 66 例患者中, GCB 型 39 例 (59.1%), non-GCB 型 27 例 (40.9%), non-GCB 组中位 PFS 为 12.00 个月, GCB 组中位 PFS 为 21.50 个月, 两组差异有统计学意义; 本研究结果表明, 针对结外的 DLBCL 患者, GCB 和 non-GCB 分型之间, 预后同样有差异性。CD10 是急性淋巴母细胞性白血病共同抗

原,多在生发中心的 B 细胞和前 B 细胞中表达,基因分析证实,其表达与染色体移位相关。本实验选取的 66 例患者中, CD10(+) 20 例, 其 PFS 相对较长, 与 CD10(-) 患者比较, 差异有统计学意义。Bcl-6 基因结构的改变或能影响一系列癌基因、抑癌基因及免疫系统的发育, 这提示了 Bcl-6 在淋巴细胞生成和淋巴细胞源性肿瘤发生中的重要性。Chung et al<sup>[6]</sup>检测台湾 1994 ~ 2008 年 46 例 I 期或 II 期的 PGI-DLBCL 患者 CD10、Bcl-6 并总结其对预后的影响; 其结果表明, Bcl-6(+) 和 (或) CD10(+) 的患者往往有较长的无瘤生存期和总生存期, 预后较好。而在本实验 66 例患者中, Bcl-6 阴性患者分期相对较晚, PFS 较短, 两组差异有统计学意义, 单因素分析及多因素分析结果均提示 Bcl-6 阳性代表较好的预后。研究<sup>[7]</sup>证实: 高度恶性的肿瘤细胞中多存在 VEGF 高表达和自分泌机制, 即肿瘤组织分泌 VEGF 而 VEGF 又通过促进肿瘤组织新生血管的生成, 加速肿瘤生长。结内恶性淋巴瘤的部分研究<sup>[8]</sup>显示了恶性淋巴瘤细胞中 VEGF 对推测预后有意义。但目前 PGI-DLBCL 与 VEGF 相关性的研究较少。镜下观察结果显示: VEGF 既表达于肿瘤细胞, 也表达于其周围组织, 说明肿瘤及其周围细胞均能分泌 VEGF<sup>[9]</sup>。在本研究选取的 66 例 PGI-DLBCL 患者中, VEGF 表达与年龄、分期、IPI 评分、性别、原发部位、手术与否、短期治疗结果均无明显相关性, 但与患者无进展生存相关, 考虑随着肿瘤生长活跃, 肿瘤内血管显著增生, 则疾病进展快, 预后相对较差, 与继往研究<sup>[10]</sup>结果相仿。谢琳等<sup>[11]</sup>发现 VEGF 高表达的患者预后较差, 生存时间短, 与本实验的结论相符。多因素分析结果亦提示 VEGF 阳性患者的死亡风险为阴性患者的 2.219 倍, 由此推断, PGI-DLBCL 患者 VEGF 的表达情况对预后和疗效的判断有一定的指导价值。

综上所述,CD10、Bcl-6 与 PGI-DLBCL 患者的 PFS 相关,可作为独立的预后因素,而 VEGF 作为新的预后不良指标,则为进一步探讨抗血管生成治疗 PGI-DLBCL 的可能性提供了新思路。

### 参考文献

- [1] 尹文娟,吴梅娟,杨海燕,等. 216 例原发胃肠道非霍奇金淋巴瘤患者病理特征与预后关系分析[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(5):377-82.
- [2] Cheson B D, Homing S J, Coiffier B, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas[J]. *J Clin Oncol*, 1999, 17(4):1244-53.
- [3] Howell J M, Auer-Grzesiak I, Zhang J, et al. Increasing incidence rates, distribution and histological characteristics of primary gastrointestinal non-Hodgkin lymphoma in a North American population[J]. *Can J Gastroenterol*, 2012, 26(7):452-6.
- [4] Hans C P, Weisenburger D D, Greiner T C, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. [J]. *Blood*, 2004, 103(1):275-82.
- [5] 张晨莉,张吉,李军民,等. 原发胃肠道弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的预后分析[J]. 中华消化杂志, 2010, 30(9):614-8.
- [6] Chung K M, Chang S T, Huang W T, et al. Bcl-6 expression and lactate dehydrogenase level predict prognosis of primary gastric diffuse large B-cell lymphoma[J]. *J Formos Med Assoc*, 2013, 112(7):382-9.
- [7] Ganjoo K. Antiangiogenesis: a new approach to the treatment of lymphoma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2007, 48(3):454-5.
- [8] Kitadia Y. Angiogenesis and lymphangiogenesis of gastric cancer[J]. *J Oncol*, 2010, 2010:468725.
- [9] Paydas S, Ergin M, Seydaoglu G, et al. Prognostic significance of angiogenic/lymphangiogenic, anti-apoptotic, inflammatory and viral factors in 88 cases with diffuse large B cell lymphoma and review of the literature[J]. *Leuk Res*, 2012, 33(12):1627-35.
- [10] Lech-Maranda E, Bienvenu J, Broussais-Guillaumot F, et al. Pre-treatment levels of vascular endothelial growth factor in plasma predict a complete remission rate and time to relapse or progression in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2013, 61(2):165-74.
- [11] 谢琳,沈丽达,于璐,等. VEGF 表达对原发胃肠恶性淋巴瘤预后的影响[J]. 陕西医学杂志, 2010, 39(7):785-7.

## The relationship between CD10, Bcl-6, VEGF with the prognosis in the primary gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma

Zhang Yiruo, Gu Kangsheng

(Dept of Oncology, Anhui Medical University, Hefei 230001)

**Abstract Objective** To investigate the correlation between the expression of CD10, Bcl-6, VEGF with clinical characteristics and the prognosis in the primary gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma. **Methods** The clinical characteristics data of 66 patients with PGI-DLBCL were determined the levels of CD10, Bcl-6 and VEGF by immunohistochemical staining. Analyzed their correlation via Kaplan-Meier method and Log-rank test. **Results** Among those 66 patients, there were 36 cases (54.5%) of primary stomach, while other 30 cases (45.5%) were primary intestinal. 39 cases were GCB and 27 cases were non-GCB. The tumor stage and IPI were inverse proportion with the prognosis. The median progression-free-survival of GCB was 21.50 months while non-GCB was 12.00 months. The positive expression rate of Bcl-6 was 43.9% (29/66) while that of CD10 was 34.8% (23/66) and there were 29 cases (43.9%) with positive expression of VEGF. Log-rank test revealed there was a positive correlation between the positive impression of CD10, Bcl-6 and PFS. On the contrary, the relationship between the expressions of VEGF and PFS was negative. The expressions of CD10, Bcl-6 and VEGF were not correlated with clinical features. Cox multivariable analysis showed that the curative effect, the expressions of Bcl-6 and VEGF were independent prognostic factors. **Conclusion** PGI-DLBCL is a highly invasive and heterogeneous malignancy. The stage of disease, the Hans classification, the level of IPI, the expression of CD10, Bcl-6 and VEGF may play important roles in predicting the curative effect and the prognosis of the disease.

**Key words** PGI-DLBCL; prognosis; VEGF; CD10; Bcl-6