

# Bcl-2 与 Bcl-6 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中的表达及意义\*

雷 秦, 王 娟 (陕西省核工业二一五医院, 陕西咸阳 712000)

**摘要:**目的 探讨 Bcl-2 和 Bcl-6 在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)中的表达及意义。方法 收集 46 例 2004 年 1 月~2014 年 6 月经行淋巴结活检初诊的 DLBCL 病例及病理资料,采用免疫组化方法检测 DLBCL 患者组织中 Bcl-2 及 Bcl-6 的表达情况,分析二者免疫组化指标与 DLBCL 临床特征及预后的关系。结果 ①46 例 DLBCL 中行 Bcl-2 检测,阳性表达率为 63.04%(29/46 例),行 Bcl-6 检测,阳性表达率为 73.91%(34/46 例)。②Bcl-2 和 Bcl-6 表达与患者性别、年龄、有无全身症状、有无结外侵犯及 PS 评分无关( $P>0.05$ ),而与临床分期和 IPI 评分呈正相关( $P<0.05$ )。③Bcl-2 和 Bcl-6 表达阳性患者其近期疗效和预后(总体生存期和无进展生存期)显著低于阴性患者,组间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 Bcl-2 和 Bcl-6 阳性表达提示近期疗效与预后不佳,其水平可被视为独立的 DLBCL 分析因素,对患者治疗过程中病情发展的预测、个体化治疗策略的制定有重要意义。

**关键词:**弥漫性大 B 细胞淋巴瘤; Bcl-2; Bcl-6; 预后

中图分类号: R733.4; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)05-094-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.028

## Expression and Significance of Bcl-2 and Bcl-6 in Diffuse Large B-cell Lymphoma

LEI Qin, WANG Juan

(Nuclear Industry 215 Hospital of Shaanxi Province, Shaanxi Xianyang 712000, China)

**Abstract:** Objective To investigate the expression and significance of Bcl-2 and Bcl-6 in diffuse large B-cell lymphoma (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL). Methods The expressions of Bcl-2 and Bcl-6 of 46 inpatients, who first diagnosed DLBCL based on lymph node biopsy between January 2004 and June 2014, were detected by immunohistochemistry, and the data were analyzed about the relationship of clinical features and prognosis of the patients. Results ①The Bcl-2 expression rate was 63.04% (29/46), the Bcl-6 expression rate was 73.91% (34/46). ②There was no relationship between the expression of Bcl-2 and Bcl-6 and the following factors, including gender, age, systemic symptoms, invasion of extra nodal and PS score ( $P>0.05$ ), but there was positive correlation between the expression of Bcl-2 and Bcl-6 and clinical stage and IPI score ( $P<0.05$ ). ③The recently efficacy and prognosis (overall survival and progression-free survival) of patients, who with the expression of Bcl-2 and Bcl-6, were significantly lower than the patients who without expression of Bcl-2 and Bcl-6 ( $P<0.05$ ). Conclusion The recently efficacy and prognosis of patients are poor, who with the expression of Bcl-2 and Bcl-6, the expression level of Bcl-2 and Bcl-6 can be regarded as an independent prognostic factor of DLBCL. It has significance for prediction of disease development and individualized treatment of patients.

**Keywords:** diffuse large B cell lymphoma (DLBCL); Bcl-2; Bcl-6; prognosis

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)是非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)中最常见的一种类型,约占成人 NHL 的 30%~40%<sup>[1,2]</sup>。DLBCL 是一组在临床表现、组织形态、预后等多方面具有很大异质性及侵袭性的中、高度恶性肿瘤<sup>[3]</sup>。虽目前主要以蒽环类药物为主的联合化疗方案使部分患者病情得以控制<sup>[4]</sup>,但仍有部分患者疗效较差,因此随着肿瘤分子生物学的发展,为更好地预测患者治疗过程中病情的发展及制定个体化治疗策略,我们回顾性分析了 Bcl-2 和 Bcl-6 在 DLBCL 中的表达情况,并结合临床及随访资料探讨二者表达与患者近期疗效和预后的关系。

### 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集 2004 年 1 月~2014 年 6 月经我院诊断、收治入院,按医嘱完成正规治疗且病案资料和随访数据较全面的 DLBCL 病理组织蜡块标本 46 例,其中男性 26 例,女性 20 例。确诊时年龄介于 24~78 岁之间,中位年龄 59 岁。原发灶位于结内的 30 例,以颈部、腋窝、腹股沟和颌下淋巴结为主;原发灶位于结外的 16 例,以胃肠道、纵膈、扁桃体、肝脾等多见。有 B 症状(发热、盗汗、体重减轻)21 例,无 B 症状 25 例。有结外侵犯 17 例,无结外侵犯 29 例。ECOG 评分:0~1 分 29 例,2~4 分 17 例。PS 评分 0~1 分 28 例,≥2 分 18 例。临床分期介于 I~II 期的 16 例,III~IV 期

\* 作者简介:雷 秦(1977-),女,本科,主治医师,主要从事血液肿瘤研究, Tel:13892980177, E-mail:37833373@qq.com。

30例。国际预后指数(IPI)0~1分20例,2分11例,3分8例,4~5分7例。

1.2 试剂和仪器 鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体、鼠抗人 Bcl-6 单克隆抗体和浓缩型 DAB 试剂盒购自北京中杉金桥公司;包埋机、自动脱水机及切片机购自英国赛默飞公司;自动免疫组化仪器 BENCHMARK 购自上海罗氏公司。

1.3 方法 将收集的病理组织标本蜡块切片,切片厚度 4  $\mu\text{m}$ ,参照免疫组化试剂盒操作说明检测 Bcl-2 和 Bcl-6 的表达情况:将切片放入已沸腾的 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液中进行微波抗原修复,3 ml/dl  $\text{H}_2\text{O}_2$ -甲醇液阻断内源性过氧化物酶,洗片后滴加 5 g/L BSA 以封闭非特异性抗原,滴加 Bcl-2/Bcl-6 一抗(稀释比例 1:400)4℃冰箱内孵育过夜并洗涤后依次滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG 二抗、SABC 复合物、DAB 显色液,经苏木素复染、梯度乙醇托水、二甲苯透明后即可封片镜检。显微镜下以组织细胞膜和胞质或细胞核内出现黄色或棕黄色颗粒为阳性反应,阳性细胞数>10%判定为“+”结果。Bcl-2 染色阳性部位为胞质,Bcl-6 染色阳性部位为胞核。对 DLBCL 患者主要采用 CHOP 方案化疗,每3周为一个化疗周期,约4~6疗程,采用 WHO 疗效评定标准进行疗效评定。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。Kaplan-Meier 生存分析绘制相关生存曲线并比较。

## 2 结果

2.1 Bcl-2 及 Bcl-6 的表达情况 Bcl-2 在 DLBCL 病理组织中的阳性表达率为 63.04%(29/46),Bcl-6 在 DLBCL 病理组织中的阳性表达率为 73.91%

(34/46)。

2.2 Bcl-2 及 Bcl-6 表达与临床病理特征的相关性分析 实验结果和统计分析数据显示 Bcl-2 和 Bcl-6 与患者性别、年龄、有无全身症状、有无结外侵犯及 PS 评分无关( $P>0.05$ ),而与临床分期和 IPI 评分呈正相关,即 Ann Arbor 分期越晚、IPI 评分越高者,Bcl-2 和 Bcl-6 阳性表达率越高( $P<0.05$ ),具体数据见表1。

### 2.3 Bcl-2 及 Bcl-6 表达与预后的相关性分析

Bcl-2 阳性表达患者中位 OS 和 PFS 分别为 26.5 个月和 17.4 个月,显著低于 Bcl-2 阴性患者的 34 个月和 25 个月(图1),组间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Bcl-6 阳性表达患者中位 OS 和 PFS 分别为 28.5 个月和 21 个月,显著低于 Bcl-6 阴性患者的 37.7 个月和 29 个月(图2),组间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表1 Bcl-2 及 Bcl-6 表达与临床特征的相关性分析

参数		Bcl-2		P	Bcl-6		P
		+	-		+	-	
性别	男	18	8	0.565	22	4	0.422
	女	11	9		12	8	
年龄	>60岁	9	6	0.722	9	6	0.286
	≤60岁	20	11		20	11	
Ann Arbor 分期	I 期	4	2	0.014	5	1	0.095
	II 期	7	3		8	2	
	III 期	10	7		11	6	
	IV 期	8	5		10	3	
结外侵犯	有	12	5	0.133	11	6	0.088
	无	17	12		23	6	
PS 评分	0~1 分	16	12	0.301	19	9	0.563
	≥2 分	13	5		15	3	
全身症状	A 组	18	7	0.346	17	8	0.236
	B 组	11	10		17	4	
IPI 评分	0~1 分	13	7	0.007	13	7	0.026
	2 分	8	3		8	3	
	3 分	3	5		7	1	
	4~5 分	5	2		6	1	

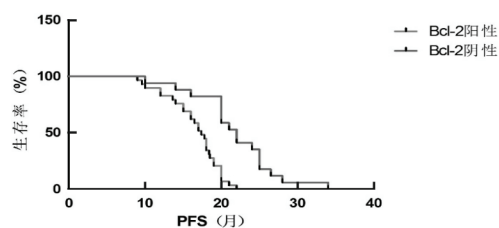
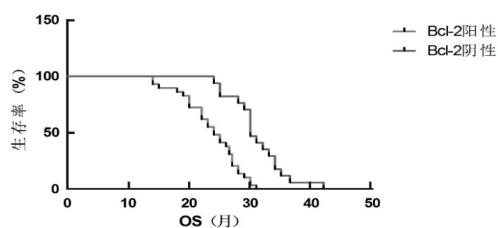


图1 Bcl-2 表达与预后的相关性

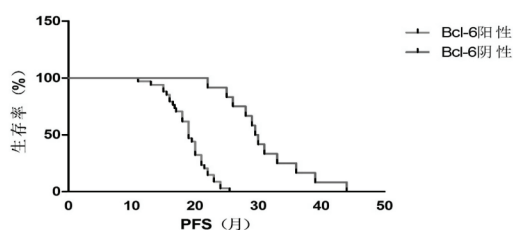
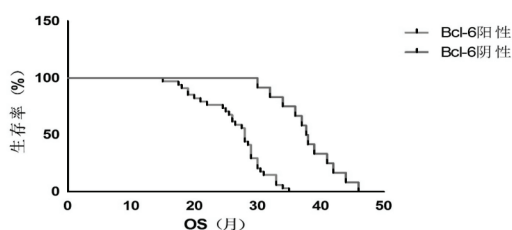


图2 Bcl-6 表达与预后的相关性

3 讨论 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)是恶性淋巴瘤中发病率较高的一个类型,约占非霍奇金淋巴瘤的 30%~40%<sup>[5]</sup>。可见于各个不同年龄阶段,但伴随年龄的增长其发病率逐渐升高,一般男性略高于女性。DLBCL 既可以是原发,也可以是由其他类型的侵袭性淋巴瘤如边缘区淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤(follicular lymphomas, FLs)或白血病(如慢性淋巴细胞性白血病)转化而来<sup>[6]</sup>。DLBCL 起病隐匿,大多以淋巴结(最常见为颈部淋巴结、锁骨上淋巴结和腋窝淋巴结)无痛性进行性肿大为首要临床表现,发生于胸、腹腔脏器(肝脏、脾脏、胃肠道、甲状腺、扁桃体等)的淋巴结也可出现因肿大淋巴结压迫而导致的相应压迫症状,例如声音嘶哑、吞咽困难、呼吸困难等,晚期患者还可出现发热、乏力、盗汗、消瘦等全身症状。该型淋巴瘤临床表现复杂多样,病情进展迅速且缺乏规律,同时容易发生远处转移,故预后较差<sup>[7]</sup>。截至目前,关于 DLBCL 的病因和发病机制仍未完全清楚,遗传因素、病毒感染(HIV, EBV, HHV-8, HTLV-1 等)、DNA 修复异常、细胞凋亡受阻被认为是最受关注的几大因素<sup>[8]</sup>。DLBCL 的治疗经历了从几十年前的单一放疗到目前的放、化疗相结合的转变过程。随着近年来分子生物学的迅速发展,研究者们发现 B 细胞淋巴瘤表面存在一些相对特异性的抗原,这使得淋巴瘤的分子靶向治疗得以实现。

多项研究表明 Bcl-2 表达异常是淋巴瘤常见的分子生物学现象。有学者分别采用流式细胞术(FCM)、荧光原位杂交技术(FISH)和实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测多例淋巴瘤患者组织标本中 Bcl-2 的表达,结果发现,超过 90% 的 FLs 患者体内可检出特异性的染色体异位 t(14;18)(q32;q21),推测 Bcl-2 的异常表达可能与 FLs 发生密切相关。另外,在将近 50% 的外周 T 细胞淋巴瘤病例中可检测出 Bcl-2 表达,推测其可能通过作用于 p53 基因阻碍由后者触发的细胞凋亡,进而诱导肿瘤的进展<sup>[9]</sup>。Bairey 的研究团队通过免疫组化方法回顾性研究了 DLBCL 患者生存期与 Bcl-2 表达之间的关系,结果显示 Bcl-2 表达与化疗的敏感性密切相关,Bcl-2 阳性表达者化疗敏感性较差,病情进展快、生存期短,本研究结果与此相一致。在正常淋巴样组织中,Bcl-6 主要表达于生发中心细胞,在 B 细胞经历生发中心成熟后其表达逐渐下调,因此 Bcl-6 基因不表达于记忆性 B 细胞或浆细胞,也不表达于套区细胞、边缘区细胞以及骨髓前体 B 细胞<sup>[10]</sup>。Bcl-6 蛋白的表达被认为是生发中心 B 细胞的分子标志之一,也可以表达

于生发中心 B 细胞起源的淋巴瘤中。

在本课题中,我们发现 Bcl-2 和 Bcl-6 蛋白在 DLBCL 病理组织中的表达与患者性别、年龄、LDH 水平、有无全身症状、有无结外侵犯及 PS 评分无关,而与临床分期和 IPI 评分呈正相关,Ann Arbor 分期越晚、IPI 评分越高者,阳性表达率越高。表明 Bcl-2 和 Bcl-6 的表达水平与 DLBCL 预后密切相关,常提示预后不佳;Bcl-2 和 Bcl-6 可被视为独立的 DLBCL 分析因素,对患者治疗过程中病情发展的预测、个体化治疗策略的制定有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Zhang J, Grubor V, Love CL, et al. Genetic heterogeneity of diffuse large B-cell lymphoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(4): 1398-1403.
- [2] Chapuy B, McKeown MR, Lin CY, et al. Discovery and characterization of super-enhancer-associated dependencies in diffuse large B cell lymphoma[J]. Cancer Cell, 2013, 24(6): 777-790.
- [3] Uccini S, Al-Jadiry MF, Scarpino S, et al. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma in children: a disease reminiscent of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly[J]. Hum Pathol, 2015, 46(5): 716-724.
- [4] Tien YY, Link BK, Brooks JM, et al. Treatment of diffuse large B-cell lymphoma in the elderly: regimens without anthracyclines are common and not futile[J]. Leuk Lymphoma, 2015, 56(1): 65-71.
- [5] Arora N, Manipadam MT, Pulimood A, et al. Gastrointestinal lymphomas: pattern of distribution and histological subtypes: 10 years experience in a tertiary centre in South India[J]. Indian J Pathol Microbiol, 2011, 54(4): 712-719.
- [6] Lerch K, Meyer AH, Stroux A, et al. Impact of prior treatment on outcome of transformed follicular lymphoma and relapsed de novo diffuse large B cell lymphoma: a retrospective multicentre analysis[J]. Ann Hematol, 2015, 94(6): 981-988.
- [7] Maegawa S, Kuroda J, Kobayashi T, et al. Clinical manifestation and prognostic factors of 32 Japanese patients with autoimmune disease-associated diffuse large B-cell lymphoma[J]. Leuk Lymphoma, 2015, 56(3): 785-788.
- [8] Niitsu N, Hagiwara Y, Tanaka K, et al. Prospective analysis of hepatitis B virus reactivation in patients with diffuse large B-cell lymphoma after rituximab combination chemotherapy[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(34): 5097-5100.
- [9] Ratajczak P, Leboeuf C, Wang L, et al. BCL2 expression in CD105 positive neoangiogenic cells and tumor progression in angioimmunoblastic T-cell lymphoma[J]. Mod Pathol, 2012, 25(6): 805-814.
- [10] 金 华, 刘继斌. 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者血清 IL-6 水平的临床价值[J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(6): 123-125.  
Jin H, Liu JB. Clinical significance of plasma interleukin-6 level in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2012, 27(6): 123-125.

收稿日期: 2015-07-01

修回日期: 2015-07-30