

GAS1、IL-1RAP、PRF1在ALK阳性间变性大细胞淋巴瘤患者中的表达及其临床意义

蒋昱 曹迪 徐才刚

【摘要】目的 研究生长停滞特异性蛋白(GAS1)、IL-1受体辅助蛋白(IL-1RAP)、穿孔素(PRF1)在间变性淋巴瘤激酶阳性的间变性大细胞淋巴瘤(ALK⁺-ALCL)患者中的表达及其临床意义。**方法** 以2011年1月至2016年9月的26例ALK⁺ ALCL患者为研究对象,以12例ALK⁻ ALCL、13例外周T细胞淋巴瘤非特指型和8例血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤患者为对照。收集所有患者的病理组织标本,采用实时荧光定量PCR和免疫组化法检测标本中GAS1、IL-1RAP、PRF1基因和蛋白表达水平,结合患者的临床资料对数据进行分析。**结果** ①26例ALK⁺ ALCL患者组织中,GAS1、IL-1RAP、PRF1基因和蛋白表达水平均高于3个对照组,差异有统计学意义(P 值均 <0.05),对照组间基因与蛋白表达水平差异无统计学意义($P < 0.05$)。②存在LDH升高(0.77对1.38, $z = -3.292$, $P = 0.001$)、国际预后指数(IPI)评分 ≥ 3 分(0.62对1.29, $z = -2.495$, $P = 0.013$)时,ALK⁺ ALCL患者的GAS1基因表达水平降低;疾病分期为Ⅲ/Ⅳ期(0.89对1.18, $z = -2.212$, $P = 0.027$)、IPI评分 ≥ 3 分(0.48对1.13, $z = -2.008$, $P = 0.045$)时,ALK⁺ ALCL患者的PRF1基因表达水平降低;不同临床特征患者组间IL-1RAP基因表达水平差异均无统计学意义(P 值均 ≥ 0.05)。③化疗后达完全缓解的ALK⁺ ALCL患者GAS1、PRF1基因表达水平差异均无统计学意义(P 值分别为0.016、0.009)。④以ALK⁺ ALCL患者中各基因表达的中位数为分界点,GAS1、PRF1基因高表达组患者较低表达组有更长的总生存和无进展生存期(P 值均 <0.05)。**结论** GAS1、IL-1RAP、PRF1基因可作为ALK⁺ ALCL的分子标志,有潜在的诊断价值,可用于少数诊断困难病例的鉴别。GAS1、PRF1基因高表达的ALK⁺ ALCL患者疗效及预后更好。

【关键词】 淋巴瘤,大细胞,间变性; 基因,GAS1; 基因,IL-1RAP; 基因,PRF1

Expressions and clinical significance of GAS1, IL-1RAP and PRF1 in patients with ALK positive anaplastic large cell lymphoma Jiang Yu, Cao Di, Xu Caigang. Department of Hematology and Research Laboratory of Hematology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China Corresponding author: Xu Caigang, Email: xucg@cd120.com

【Abstract】 Objective To investigate the expressions of growth arrest-specific protein (GAS1), IL-1 receptor accessory protein (IL-1RAP) and perforin (PRF1) in patients with anaplastic lymphoma kinase positive, anaplastic large cell lymphoma (ALK⁺ ALCL) and their relationships with clinical significances and the prognoses of ALK⁺ ALCL. **Methods** Twenty-six formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) samples of ALK⁺ ALCL patients who were diagnosed from January 2011 to September 2016 were collected. Twelve FFPE samples of patients with ALK⁺ ALCL, 13 FFPE samples of patients with peripheral T cell lymphoma (not otherwise specified) (PTCL-NOS) and 8 FFPE samples of patients with angioimmunoblastic T-cell lymphoma (AITL) were used as control groups. RQ-PCR and immunohistochemical staining were used to detect the mRNA and protein expressions of GAS1, IL-1RAP and PRF1. The clinical data were analyzed. **Results** ①The expression levels of GAS1, IL-1RAP and PRF1 gene and protein in ALK⁺ ALCL group were higher than those of the control groups ($P < 0.05$), but the expression levels had no statistically significant differences between the control groups ($P > 0.05$). ②Patients with elevated lactate dehydrogenase (LDH) (0.77 vs 1.38, $z = -3.292$, $P = 0.001$) or International prognostic index (IPI) ≥ 3 (0.62 vs 1.29, $z = -2.495$, $P = 0.013$) had lower expression level of GAS1. Patients with stage Ⅲ/Ⅳ disease (0.89 vs 1.18, $z = -2.212$, $P = 0.027$) or IPI ≥ 3 (0.48 vs 1.13, $z = -2.008$, $P = 0.045$)

had lower expression level of PRF1. IL-1RAP expression level was not associated with clinical features. ③ALK⁺ ALCL patients in complete remission (CR) group had higher expression levels of GAS1 and PRF1 than patients in non-remission (NR) group (*P* values were 0.016 and 0.009). ④Kaplan-Meier survival analysis showed that patients with high expression levels of GAS1 and PRF1 had longer median overall survival and progression-free survival than patients with low expression levels of GAS1 and PRF1. **Conclusion** GAS1, IL-1RAP and PRF1 could be molecular markers for ALK⁺ ALCL patients. They have potential diagnostic value and can be used for differential diagnosis in some difficult cases. ALK⁺ ALCL patients with high expression levels of GAS1 or PRF1 have better curative effects and prognoses.

【Key words】 Lymphoma, large-cell, anaplastic; Gene, GAS1; Gene, IL-1RAP; Gene, PRF1

间变性大细胞淋巴瘤(anaplastic large cell lymphoma, ALCL)属于非霍奇金淋巴瘤中的一种亚型,占非霍奇金淋巴瘤的2%~8%。按免疫表型可分为T细胞型和裸细胞型,按是否表达间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)分为ALK⁺ ALCL和ALK⁻ ALCL,前者的预后优于后者^[1-2]。近来有研究者发现ALK⁺ ALCL患者中,生长停滞特异性蛋白(GAS1)、IL-1受体辅助蛋白(IL-1RAP)、穿孔素1(PRF1)表达水平增高^[3-4],这可能与ALK激活下游信号通路有关。在本研究中,我们采用实时荧光定量PCR(RQ-PCR)和免疫组化法检测ALCL患者肿瘤组织中GAS1、IL-1RAP、PRF1基因和蛋白的表达水平,并结合患者的临床资料进行分析,初步探讨GAS1、IL-1RAP、PRF1基因和蛋白在ALK⁺ ALCL患者中的表达及其临床意义。

病例与方法

1. 研究对象:以2011年1月到2016年9月在四川大学华西医院病理科诊断、并可获得病理组织标本的26例ALK⁺ ALCL患者为研究对象,其中男、女各13例,中位年龄29(1~69)岁。以12例ALK⁻ ALCL、13例外周T细胞淋巴瘤非特指型(peripheral T cell lymphoma, not otherwise specified, PTCL-NOS)和8例血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(angioimmunoblastic T-cell lymphoma, AITL)患者为对照。本研究得到患者知情同意并获得医院医学伦理委员会批准通过[2017年审(287)号]。根据WHO 2008年淋巴造血系统肿瘤分类标准^[5]进行

诊断。

2. 治疗及疗效判定:26例ALK⁺ ALCL患者均接受2~8个疗程的化疗,接受CHOP(环磷酰胺、多柔比星、长春新碱、泼尼松)方案者18例,接受BFM-NHL-90(泼尼松、环磷酰胺、地塞米松、异环磷酰胺、长春新碱、甲氨蝶呤、阿糖胞苷、依托泊苷、多柔比星、长春地辛)方案者5例,接受EPOCH(依托泊苷、泼尼松、长春新碱、环磷酰胺、多柔比星)方案者2例,接受hyper-CVAD(环磷酰胺、长春地辛、多柔比星、地塞米松)方案者1例。

疗效评估按照国际工作组建议的《恶性淋巴瘤疗效评价标准》进行,包括完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD),后两组为未缓解组^[6]。

3. RQ-PCR:取10 μm厚切片4~8张,按照德国Qiagen公司RNA提取试剂盒说明书进行操作,提取并测定RNA的质量及浓度。采用琼脂糖凝胶电泳了解RNA降解程度,-80℃保存备用。引物由成都擎科梓熙生物技术有限公司合成,引物序列见表1。随机引物法将RNA逆转录为cDNA。反应条件为:95℃ 3 min 预变性;95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 49个循环。以GAPDH为内参照,2^{-ΔΔCt}法计算目的基因的相对表达水平。

4. 免疫组化染色及结果判定:取4 μm厚切片,常规脱蜡、抗原修复后进行抗体孵育和染色。GAS1抗体为瑞典ATLAS公司产品,IL-1RAP抗体为美国GeneTex公司产品,PRF1抗体为美国Ventana公司产品,抗小鼠二抗为丹麦Dako公司产

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
GAS1	CAGATTGTGGCCAGTGAGGA	TCTGGGCGCAGATACAAACA
IL-1RAP	GGCCCTAGAAGCCTCACTCT	TGAGGCATCACTTTGCAGGA
PRF1	GGGGCTGATGCCACCACT	GCTGCCATGGAGCTGGAA
GAPDH	CTCCTGTTTCGACAGTCAGCC	GCGCCCAATACGACCAAATC

品。采用人工计数法,由3名研究人员分别独立进行结果判读。按阳性细胞占肿瘤细胞的比例进行计分:≤5%、6%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%分别记为0、1、2、3、4分;按染色强度进行计分:未着色、淡黄色、黄色、褐色分别记为0、1、2、3分。将上述两组分数相加,<2分为阴性,2~5分为阳性,6~7分为强阳性^[7]。

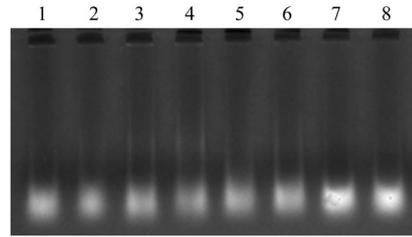
5. 随访:采用电话联系和门诊方式随访。随访截止时间为2017年6月25日,中位随访时间35(9~61)个月。无一例患者失访。无进展生存(PFS)时间定义为从疾病诊断到疾病进展或任何原因死亡或随访截止时的时间;总生存(OS)时间定义为从疾病诊断到各种原因死亡或随访截止时的时间。

6. 统计学处理:非正态分布资料以中位数和四分位间距表示,非正态分布资料多组间比较用Kruskal-Wallis *H* 秩和检验,两组间比较用Mann-Whitney 检验;生存分析采用Kaplan-Meier法;相关性分析采用Spearman秩相关分析。多组资料的两两比较,Bonferroni法调整检验水准 $\alpha' = 0.05/K$ (*K*为比较次数)。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. RNA 的质量与浓度:RNA 的吸光度(A)₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.79~2.01, A₂₆₀/A₂₃₀ 均 > 1.80,浓度为 269~4 595 ng/μl。通过稀释后调整浓度均在 200~

800 ng/μl,琼脂糖凝胶电泳仅可见一较宽弥散条带(图1)。



1~2:保存5年标本;3~4:保存4年标本;5~6:保存3年标本;7:保存2年标本;8:保存1年标本

图1 不同保存年限的间变性大细胞淋巴瘤患者病理组织标本RNA琼脂糖凝胶电泳结果

2. GAS1、IL-1RAP、PRF1 基因表达水平:结果显示,ALK⁺ ALCL 患者 GAS1、IL-1RAP、PRF1 基因表达水平均高于3个对照组,差异有统计学意义(*P*值均 < 0.01),对照组组间基因表达水平差异无统计学意义(*P*值均 > 0.05)(表2)。

3. GAS1、IL-1RAP、PRF1 蛋白表达水平:免疫组化法检测结果显示,GAS1 蛋白在肿瘤细胞中主要定位于细胞质,少量定位于细胞核;IL-1RAP、PRF1 蛋白在肿瘤细胞中定位于细胞质(图2)。ALK⁺ ALCL 患者 GAS1、IL-1RAP、PRF1 蛋白表达水平均高于3个对照组,差异有统计学意义(*P*值均 < 0.01),对照组组间蛋白表达水平差异无统计学意义(*P*值均 > 0.05)(表2)。

表2 不同组患者GAS1、IL-1RAP、PRF1 基因和蛋白表达水平比较

组别	例数	基因表达[M(范围)]			蛋白阳性表达[例(%)]		
		GAS1	IL-1RAP	PRF1	GAS1	IL-1RAP	PRF1
ALK ⁺ ALCL组	26	1.19(0.74~1.46)	0.95(0.68~1.14)	1.03(0.85~1.33)	23(88.46)	21(80.77)	22(84.62)
ALK ⁻ ALCL组	12	0.32(0.15~0.54) ^a	0.12(0.07~0.30) ^a	0.17(0.03~0.74) ^a	4(33.33) ^a	4(33.33) ^a	5(41.67) ^a
PTCL-NOS组	13	0.46(0.35~0.78) ^a	0.15(0.08~0.51) ^a	0.11(0.02~0.28) ^a	8(61.54) ^a	5(38.46) ^a	7(53.85) ^a
AITL组	8	0.38(0.11~0.70) ^a	0.07(0.04~0.26) ^a	0.08(0.02~0.41) ^a	4(50.00) ^a	3(37.50) ^a	3(37.50) ^a
<i>H</i> 值		25.801	23.054	23.826	20.675	16.746	15.122
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.002

注:ALK:间变性淋巴瘤激酶;ALCL:间变性大细胞淋巴瘤;PTCL-NOS:外周T细胞淋巴瘤非特指型;AITL:血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤;^a与ALK⁺ ALCL组比较,*P* < 0.01

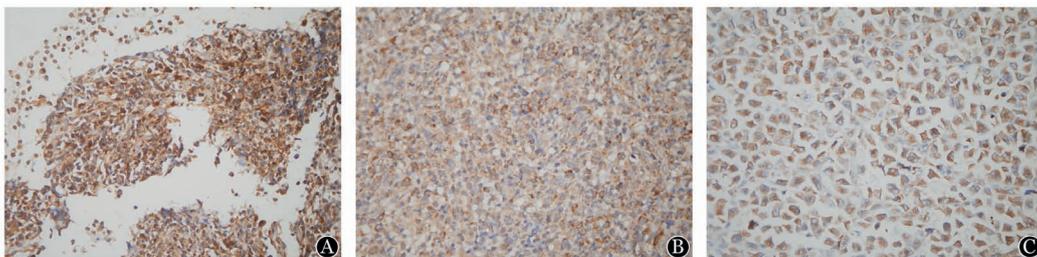


图2 免疫组化法检测 ALK⁺间变性大细胞淋巴瘤患者肿瘤组织中GAS1(A)、IL-1RAP(B)、PRF1(C)的表达

4. GAS1、IL-1RAP、PRF1基因与蛋白表达的相关性分析:3个基因的表达水平和其蛋白的表达水平均呈正相关(P 值均 <0.001),相关系数分别为0.818、0.765、0.828。

5. 基因表达与临床特征和疗效的关系分析:存在LDH升高($z = -3.292, P = 0.001$)、IPI ≥ 3 分($z = -2.495, P = 0.013$)时,ALK⁺ALCL患者的GAS1基因表达水平降低;疾病分期为Ⅲ/Ⅳ期($z = -2.212, P = 0.027$)、IPI评分 ≥ 3 分($z = -2.008, P = 0.045$)时,ALK⁺ALCL患者的PRF1基因表达水平降低(表3);不同临床特征患者组间IL-1RAP基因表达水平差异均无统计学意义(P 值均 <0.05)。

在26例ALK⁺ALCL患者中,CR+PR者为23例(88.46%)。获得CR者的GAS1、PRF1表达水平高于未缓解者(P 值分别为0.016和0.009),CR和PR组间、PR和未缓解组间差异无统计学意义(P 值均 >0.05)(表3)。三组患者间IL-1RAP表达水平差异无统计学意义($P = 0.132$)。

6. 基因表达水平与预后的关系:26例ALK⁺

ALCL患者的中位OS和PFS时间分别为55和49个月,预期3年OS率和PFS率分别为69.5%和53.8%。

以3个基因表达水平的中位数为分界点,将26例ALK⁺ALCL患者分为高表达组和低表达组。结果显示:①GAS1基因高表达组患者较低表达组有更长的OS期($P = 0.046$)和PFS期($P = 0.020$)(图3A、C);②PRF1高表达组患者较低表达组有更长的OS期($P = 0.040$)和PFS期($P = 0.027$)(图3B、D);③IL-1RAP基因高表达组和低表达组患者的OS期(55个月对未达到, $P = 0.981$)和PFS期(未达到对49个月, $P = 0.812$)差异无统计学意义。

讨 论

ALK⁺ALCL主要的遗传学特征为t(2;5)(p23;q35),5号染色体的NPM基因与2号染色体的ALK基因融合,表达融合蛋白,进而通过激活Ras-MAPK、PI3K/AKT-mTOR及JAK-STAT等信号通路对肿瘤细胞增殖、分化进行调节^[8],其中STAT3的活化对ALK的功能尤为重要^[9]。少数ALCL存在

表3 ALK⁺间变性大细胞淋巴瘤患者GAS1和PRF1基因表达水平与临床特征和疗效的关系

临床特征及疗效	例数	GAS1基因表达水平			PRF1基因表达水平		
		中位数(P ₂₅ ~P ₇₅)	统计量	P 值	中位数(P ₂₅ ~P ₇₅)	统计量	P 值
年龄			-0.358	0.720		-0.878	0.380
>60岁	5	1.00(0.61~1.61)			1.00(0.40~1.22)		
≤60岁	21	1.23(0.77~1.53)			1.04(0.88~1.98)		
性别			-1.256	0.209		-1.205	0.228
男	13	1.00(0.62~1.47)			1.00(0.45~1.38)		
女	13	1.29(0.98~1.56)			1.16(0.88~1.86)		
疾病分期			-1.852	0.064		-2.212	0.027
I~II期	12	1.29(1.04~1.64)			1.18(1.01~2.44)		
Ⅲ~Ⅳ期	14	0.87(0.59~1.43)			0.89(0.27~1.20)		
B症状			-1.116	0.264		-1.842	0.065
无	11	1.29(0.82~1.40)			1.16(0.94~2.46)		
有	15	1.00(0.59~1.65)			1.00(0.28~1.23)		
LDH升高			-3.292	0.001		-1.955	0.051
无	14	1.38(1.12~1.85)			1.20(0.97~1.77)		
有	12	0.77(0.58~1.18)			0.92(0.24~1.09)		
β ₂ 微球蛋白升高			-1.718	0.086		-1.462	0.144
无	13	1.34(0.81~1.78)			1.21(0.90~1.98)		
有	13	1.00(0.62~1.27)			1.00(0.48~1.15)		
IPI评分			-2.495	0.013		-2.008	0.045
0~2分	20	1.29(0.86~1.70)			1.13(0.91~1.48)		
≥3分	6	0.62(0.51~1.08)			0.48(0.16~1.39)		
疗效			7.482 ^a	0.024		7.862 ^a	0.020
完全缓解	18	1.29(0.95~1.70)			1.18(0.92~2.42)		
部分缓解	5	1.00(0.52~1.37)			1.02(0.59~1.14)		
未缓解	3	0.59(0.58~0.62)			0.17(0.14~0.43)		

注:B症状:发热、盗汗、体重减轻;LDH正常值范围为110~220 IU/L;β₂微球蛋白正常值范围为0.7~1.8 mg/L;IPI:国际预后指数;统计量中^a为 H 值,余为 z 值

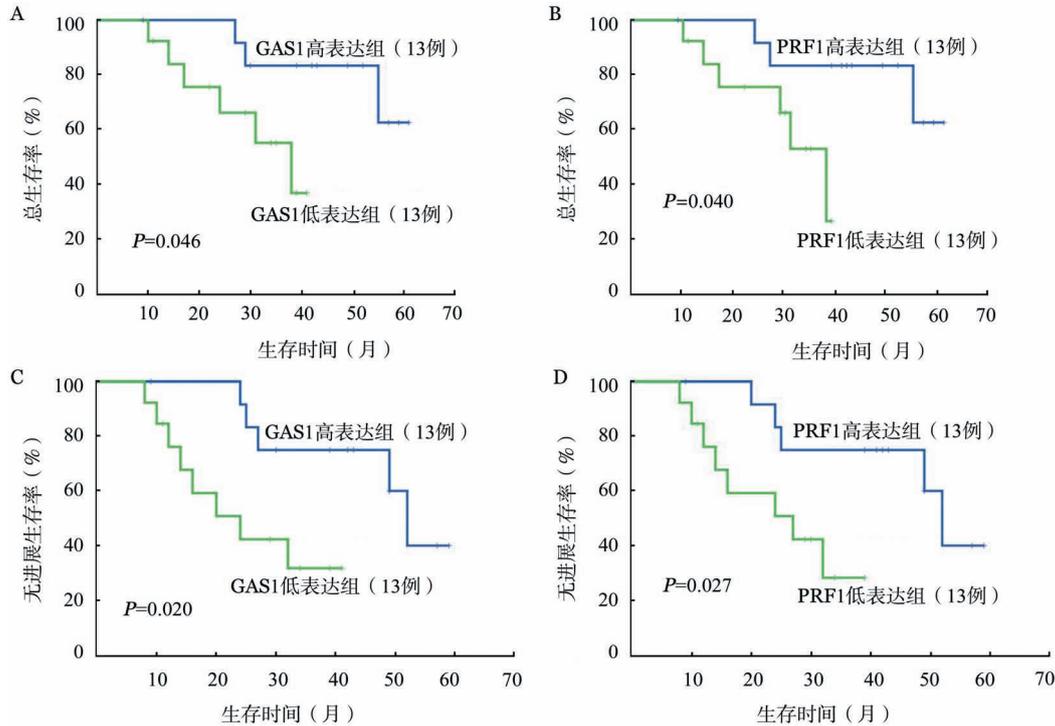


图3 GAS1、PRF1 基因表达对 ALK⁺ 间变性大细胞淋巴瘤患者总生存(A、B)和无进展生存(C、D)的影响

ALK 基因与其他基因通过染色体易位等方式形成融合蛋白^[10]。Agnelli 等^[3]和 Piva 等^[4]研究发现在 ALK⁺ ALCL 患者中 GAS1、IL-1RAP、PRF1 基因表达水平增高,这些基因受到 ALK 的直接调控或通过 ALK 激活 JAK/STAT 等信号通路进行调控,进一步影响肿瘤的生物特征。

GAS1 基因位于 9q21.3,与细胞生长抑制有关,可抑制细胞从 G₀ 期向 G₁ 期转换,并且促进细胞凋亡。而 GAS1 基因失活的细胞,分泌重组人胰岛素样生长因子 1(IGF-1)增多,进而促进肿瘤增殖并抑制其凋亡^[11]。研究表明在结直肠癌、胃癌等恶性肿瘤中,GAS1 可以抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡,进而影响疾病的预后^[12-13]。

IL-1RAP 基因位于 3q28,是 Toll 样受体超家族成员之一、IL-1 受体 I 型的共同受体。IL-1RAP 可分为膜 IL-1RAP 和可溶性 IL-1RAP,二者在结构、功能和分布上都存在显著差异。膜 IL-1RAP 含有完整的细胞外段、跨膜段和细胞内段^[14]。研究表明,IL-1RAP 是一种促炎因子,参与 IL-1 介导的促炎作用,但在血液系统恶性肿瘤(特别是急性髓系白血病和慢性髓性白血病)的发生、发展中也起着重要作用^[15]。

PRF1 基因定位于 10q22.1,编码 PRF1 蛋白前体。PRF1 蛋白前体包含膜攻击复合体/PRF 结构域

(MACPRF)、表皮生长因子结构域(EGF)、蛋白激酶 C 保守区 2(C2)。MACPRF 参与孔隙的形成,C2 与蛋白激酶 C 的 C2 具有同源性,是钙依赖性磷脂结合部位^[16]。正常情况下 PRF1 蛋白存在于 CTL 和 NK 细胞中。有研究者报道,ALK⁺ ALCL 患者肿瘤细胞中 PRF1 蛋白的表达水平受 ALK 基因调控,提示该肿瘤细胞可能起源于 CTL^[17]。

在本研究中,我们的结果显示,ALK⁺ ALCL 患者肿瘤组织中 GAS1、IL-1RAP、PRF1 基因及蛋白表达水平均分别高于 ALK⁻ ALCL、PTCL-NOS 和 AITL 患者,提示 GAS1、IL-1RAP、PRF1 可作为 ALK⁺ ALCL 的分子标志,有潜在的诊断价值,可用于少数诊断困难病例的鉴别。

我们在研究中发现,ALK⁺ ALCL 患者肿瘤组织 GAS1、PRF1 基因表达水平与疾病分期、LDH 水平及 IPI 等临床指标有关。LDH 正常或 IPI 评分为 0~2 分的患者有较高的 GAS1 基因表达水平,疾病早期或 IPI 评分为 0~2 分的患者有较高的 PRF1 基因表达水平;同时还发现,ALK⁺ ALCL 患者 GAS1、PRF1 基因高表达组的 OS 和 PFS 时间较表达组延长。因此,可以推测高表达 GAS1、PRF1 的患者可能有较好的预后。

我们在研究中还发现,ALK⁺ ALCL 患者化疗后 CR 者较未缓解患者有较高的 GAS1 或 PRF1 表达水

平。但在本研究中,ALK⁺ALCL患者的疗效及预后较文献[2]报道的结果差,这可能与病例数较少、患者治疗不规范有关。

有研究者发现ALK⁺ALCL肿瘤细胞表达颗粒酶B(GzB),可增加其对药物诱导的凋亡的敏感性,其机制可能是化疗药物启动肿瘤细胞凋亡后,细胞毒性颗粒被破坏,储存在细胞毒性颗粒中的GzB释放到细胞质中,进一步诱导肿瘤细胞凋亡,而且肿瘤细胞中几乎不表达PI9,故推测患者有更好的疗效及预后^[18-19]。PRF1是与GzB具有协同作用的细胞毒蛋白,因此推测其对ALK⁺ALCL的疗效及预后可能有相似的影响^[20]。我们的结果显示PRF1高表达的ALK⁺ALCL患者疗效及预后均优于低表达者,与上述观点一致。

综上,ALK⁺ALCL患者肿瘤组织中GAS1、IL-1RAP、PRF1基因及蛋白水平均较ALK⁻ALCL、PTCL-NOS和AITL患者高,3个基因可作为ALK⁺ALCL的分子标志,具有潜在的诊断价值,可用于少数诊断困难病例的鉴别。GAS1、PRF1基因表达水平与ALK⁺ALCL患者的疗效及预后有关,或许可以作为判定患者疗效及预后的指标。但鉴于本研究样本数量较少,且病例来源有一定偏倚,有待大样本队列研究进一步证实。

参考文献

- [1] Xing X, Feldman AL. Anaplastic large cell lymphomas: ALK positive, ALK negative, and primary cutaneous [J]. *Adv Anat Pathol*, 2015, 22 (1): 29-49. DOI: 10.1097/PAP.000000000000047.
- [2] Wang YF, Yang YL, Gao ZF, et al. Clinical and laboratory characteristics of systemic anaplastic large cell lymphoma in Chinese patients [J]. *J Hematol Oncol*, 2012, 5: 38. DOI: 10.1186/1756-8722-5-38.
- [3] Agnelli L, Mereu E, Pellegrino E, et al. Identification of a 3-gene model as a powerful diagnostic tool for the recognition of ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2012, 120(6): 1274-1281. DOI: 10.1182/blood-2012-01-405555.
- [4] Piva R, Agnelli L, Pellegrino E, et al. Gene expression profiling uncovers molecular classifiers for the recognition of anaplastic large-cell lymphoma within peripheral T-cell neoplasms [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28 (9): 1583-1590. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.9759.
- [5] Sabatini E, Bacci F, Sagrmoso C, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues in 2008: an overview [J]. *Pathologica*, 2010, 102(3): 83-87.
- [6] Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25 (5): 579-586. DOI: 10.1200/JCO.2006.09.2403.
- [7] 于萍,步宏,王华,等.免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2003, 20(2): 288-290. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5515.2003.02.025.
- [8] Holla VR, Elamin YY, Bailey AM, et al. ALK: a tyrosine kinase target for cancer therapy [J]. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*, 2017, 3(1): a001115. DOI: 10.1101/mcs.a001115.
- [9] Zamo A, Chiarle R, Piva R, et al. Anaplastic lymphoma kinase (ALK) activates Stat3 and protects hematopoietic cells from cell death [J]. *Oncogene*, 2002, 21 (7): 1038-1047. DOI: 10.1038/sj.onc.1205152.
- [10] Abate F, Todaro M, van der Krogt JA, et al. A novel patient-derived tumorgraft model with TRAF1-ALK anaplastic large-cell lymphoma translocation [J]. *Leukemia*, 2015, 29(6): 1390-1401. DOI: 10.1038/leu.2014.347.
- [11] Vai M, Brambilla L, Orlandi I, et al. Improved secretion of native human insulin-like growth factor 1 from gas1 mutant *Saccharomyces cerevisiae* cells [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(12): 5477-5479.
- [12] Jiang Z, Xu Y, Cai S. Down-regulated GAS1 expression correlates with recurrence in stage II and III colorectal cancer [J]. *Hum Pathol*, 2011, 42 (3): 361-368. DOI: 10.1016/j.humpath.2010.03.009.
- [13] Wang H, Zhou X, Zhang Y, et al. Growth arrest-specific gene 1 is downregulated and inhibits tumor growth in gastric cancer [J]. *FEBS J*, 2012, 279(19): 3652-3664. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08726.x.
- [14] Smith DE, Hanna R, Friend D, et al. The soluble form of IL-1 receptor accessory protein enhances the ability of soluble type II IL-1 receptor to inhibit IL-1 action [J]. *Immunity*, 2003, 18(1): 87-96.
- [15] Askmyr M, Ågerstam H, Hansen N, et al. Selective killing of candidate AML stem cells by antibody targeting of IL1RAP [J]. *Blood*, 2013, 121(18): 3709-3713. DOI: 10.1182/blood-2012-09-458935.
- [16] An O, Gursoy A, Gurgey A, et al. Structural and functional analysis of perforin mutations in association with clinical data of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 2 (FHL2) patients [J]. *Protein Sci*, 2013, 22(6): 823-839. DOI: 10.1002/pro.2265.
- [17] Pearson JD, Lee JK, Bacani JT, et al. NPM-ALK and the JunB transcription factor regulate the expression of cytotoxic molecules in ALK-positive, anaplastic large cell lymphoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2011, 4(2): 124-133.
- [18] Pearson JD, Zhang J, Wu Z, et al. Expression of granzyme B sensitizes ALK + ALCL tumour cells to apoptosis-inducing drugs [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 199. DOI: 10.1186/1476-4598-13-199.
- [19] ten BRL, Meijer CJ, Dukers DF, et al. Expression levels of apoptosis-related proteins predict clinical outcome in anaplastic large cell lymphoma [J]. *Blood*, 2002, 99(12): 4540-4546.
- [20] Pinkoski MJ, Hobman M, Heibein JA, et al. Entry and trafficking of granzyme B in target cells during granzyme B-perforin-mediated apoptosis [J]. *Blood*, 1998, 92(3): 1044-1054.

(收稿日期:2017-08-28)

(本文编辑:刘志红)