

2012, 29(4):404-407.

[3] Herrmann FH, Wulff K, Auerswald G, et al. Factor VII deficiency: clinical manifestation of 717 subjects from Europe and Latin America with mutations in the factor 7 gene [J]. Haemophilia, 2009, 15(1):267-280.

[4] Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma [J]. Pathophysiol Haemost Thromb, 2003, 33(1):4-15.

[5] 金艳慧, 王明山, 牛真珍, 等. 纯合子 His348G1n 导致的遗传性凝血因子 VII 缺乏症家系分析 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2011, 28(1):10-13.

[6] Peyvandi F, Mannucci PM, Jenkins PV, et al. Homozygous 2bp deletion in the human factor VII gene: a non-lethal mutation that is associated with a complete absence of circulating factor VII [J]. Thromb Haemost, 2000, 84(4):635-637.

[7] Shen MC, Lin JS, Lin SW, et al. Novel mutations in the Factor VII gene of Taiwanese Factor VII-deficient patients [J]. Br J Haematol, 2001, 112(3):566-571.

[8] 江明华, 王兆钺, 余自强, 等. 四个遗传性凝血因子 VII 缺陷症家系的基因与表型分析 [J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(3): 147-152.

[9] McVey JH, Boswell E, Mumford AD, et al. Factor VII deficiency and the F VII mutation database [J]. Hum Mutat, 2001, 17(1): 3-17.

[10] Warshel A, Naray-Szabo G, Sussman F, et al. How do serine proteases really work? [J]. Biochemistry, 1989, 28(9):3629-3637.

[11] Bernardi F, Liney DL, Patracchini P, et al. Molecular defects in CRM+ factor VII deficiencies: modelling of missense mutations in the catalytic domain of F VII [J]. Br J Haematol, 1994, 86(3): 610-618.

(收稿日期: 2014-11-24)
(本文编辑: 徐茂强)

原发肠道 CD20 阴性弥漫大 B 细胞淋巴瘤一例及文献复习

卢月 高雪 方美云

CD20- negative primary intestinal diffuse large B- cell lymphoma: a case report and literature review Lu Yue, Gao Xue, Fang Meiyun

Correspondence author: Fang Meiyun, Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China. Email: fangmeiyun@aliyun.com

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 在西方国家占成人非霍奇金淋巴瘤的 25%~30%，在日本占 33%，在中国占 50.18%^[1-2]。DLBCL 肿瘤细胞表面广泛表达 CD20 抗原，极少部分表现为 CD20 阴性^[3]。我院收治 1 例原发肠道 CD20 阴性的 DLBCL 患者，现报道如下并进行相关文献复习。

病例资料

患者，女，44 岁，2013 年 11 月无意中发现左侧腹部包块，约 5 cm×5 cm 大小，质韧，活动性差，伴钝痛，无他处放射，排便后腹痛略有减轻，大便时有干结，无里急后重。1 个月后患者上述症状逐渐加重，排稀水样便伴呕吐胃内容物，就诊于我院胃肠外科，术前检查考虑降结肠癌可能，术中所见肿块位于降结肠，约 10 cm×6 cm 大小，距肛门约 30 cm，已浸润至浆膜层，与后方腰大肌浸润粘连固定，周围可触及肿大淋巴结，于 2013 年 12 月 27 日行降结肠肿物部分切除术及结肠断端吻合术。术后病理学检查结果：肿物大小为 9 cm×4 cm×4 cm，镜下见结肠黏膜固有层至浆膜层大量淋巴样细胞弥漫浸润并见多灶大片坏死，细胞为大细胞，核型不整，核增大，胞质嗜双色或嗜碱，核中央或周围有 1~3 个嗜酸性核仁，核染色质增粗，少许肿瘤细胞核巨大、多核为瘤巨细胞，核分裂多见并见病理性核分裂，间质血管增生明显；免疫组化：Bcl-2(+), Bcl-6(+/-), CD10(-), CD20(-), CD3(-), CD43(+), CD5(-), MUM-1(-), Ki-67(约 80%+), CK(-), CD56(NK-1)(±), CD79a(±), PAX-5(+), CD45(-), CD23(-), CD138(-), ALK(-); 病理诊断：(降)结肠 DLBCL，非生发中

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.05.017

作者单位: 116011 大连医科大学附属第一医院血液科(卢月、方美云), 病理科(高雪)

通信作者: 方美云, Email: fangmeiyun@aliyun.com

心起源。于 2014 年 1 月 18 日首次入住我科,诉左下腹略有疼痛,频繁呕吐,无肛门排气,查体:左下腹部可触及 13 cm×5 cm×4 cm 大小包块,质地硬,活动性差,触痛明显,肝脾未触及肿大;降结肠肿物经北京大学第三医院病理科会诊诊断:(降)结肠 DLBCL,免疫组化:CD79a(-)、CD19(-)、CD20(-)、Pax5(+)、CD10(-)、Mum1(-)、Bcl6(-)、EBER(-)、Ki-67(85%+)。经多次重复多项 B 细胞标志物进行标记,结果显示仅 Pax5 阳性,而肿瘤细胞不表达 CD20。血常规大致正常,骨髓穿刺细胞形态学、骨髓活检病理学检查均未见淋巴瘤浸润,PET-CT 示:第二肝门区(0.8 cm×0.6 cm)、降结肠(6 cm×5.5 cm)、左侧腹直肌(1.5 cm×1.0 cm)、腹盆腔系膜及肠管表面、腹膜后腹主动脉旁、双侧髂血管走行区、双侧盆壁、子宫直肠陷窝(最大者位于子宫直肠陷窝,大小约为 2.7 cm×2.1 cm)均发现淋巴瘤浸润,明确诊断为“降结肠 DLBCL(巨块型)IV 期 B 组 IPI 4 分”。接受 CHOP(环磷酰胺+吡柔比星+长春新碱+泼尼松)方案化疗,化疗后左下腹肿物有所缩小,恢复排气排便。患者出院 1 周左右左下腹肿物再次增大,再次入院后接受 EHSAP(依托泊苷+顺铂+阿糖胞苷+甲泼尼龙)方案化疗,化疗后左下腹包块回缩不明显,再次出现呕吐及停止排气、排便,行腹部 CT 提示左下腹肠管吻合口区团块,考虑为肿瘤进展,累及左侧输尿管致左肾盂积水、肿胀,小肠梗阻征象。考虑患者对 CHOP 及 ESHAP 方案反应均较差,故给予脂质体阿霉素+环磷酰胺+长春新碱+甲泼尼龙方案化疗,化疗后左下腹包块仍回缩不明显,患者于外院接受生物细胞治疗和 4 次局部放疗(放疗剂量不详),左下腹包块仍无明显缩小。2014 年 4 月 8 日患者再次因腹痛、恶心、呕吐入院,查体:极度消瘦,恶液质状态,左下腹可触及 15 cm×6 cm 大小包块,接受静脉营养和甲泼尼龙减轻肠管水肿、胃肠减压等治疗,5 d 后治疗无效死亡。

讨论及文献复习

CD20 是表达于前 B 细胞、未成熟 B 细胞、成熟 B 细胞表面的跨膜蛋白,不表达于浆细胞及早期前 B 细胞表面,体内试验表明,CD20 可影响细胞激活、分化及钙离子内流^[3-4]。不同的 B 细胞淋巴瘤 CD20 表达程度有所不同,有研究指出 DLBCL 患者 CD20 表达程度最高,慢性淋巴细胞白血病患者 CD20 表达程度最低^[5]。CD20 是利妥昔单抗的分子作用靶点,R-CHOP 方案化疗已成为 CD20 阳性 DLBCL 一线治疗方案,利妥昔单抗联合化疗可显著提高 DLBCL 患者的疗效^[6]。利妥昔单抗通过 IgG1 链与 CD20 结合触发补体依赖性细胞毒作用(CDC)及诱导效应细胞产生抗体依赖性细胞毒作用(ADCC)。CD20 表达水平显著影响利妥昔单抗介导的 CDC 及 ADCC 效应^[7]。既往报道,在 DLBCL 患者中 CD20 表达下降或缺失常见于应用利妥昔单抗后耐药复发患者,一些研究表明因为基因突变或缺失、异常剪接、细胞内化所致的 CD20 表达下调导致利妥昔单抗治疗敏感性降低^[8]。国外报道 CD20 阴性 DLBCL 常为特殊类型,如浆细胞分化的 DLBCL、ALK 阳性 DLBCL、脓胸相关 B 细胞淋巴瘤

等^[9-12],而本例患者光镜下形态非上述特殊亚型表现,且免疫组化 ALK 及 CD138 均为阴性,为原发 CD20 阴性 DLBCL(非特指性)。有报道原发 CD20 阴性 DLBCL 患者的 CD20 (MS4A1)mRNA 表达水平明显低于 CD20 阳性细胞,MS4A1 启动子及编码区域未检测到基因突变^[13]。本例患者初诊经多次重复多项 B 细胞标志物标记检查,仅 Pax5 阳性,CD20、CD79a、CD10、CD19、CD23 等 B 细胞标志物均阴性,Chu 等^[14]报道 CD20 阴性 DLBCL 患者常不表达 B 细胞系常见抗原,如 CD79a、PAX-5,其报道的 7 例 CD20 阴性 DLBCL 患者,CD79a 均为阴性,PAX-5 仅 1 例阳性,本例患者与之相符。

Tokunaga 等^[13]报道 37 例新发 DLBCL 中 8 例 CD20 阴性患者,其中 2 例存在结外受累。中山大学肿瘤中心研究 1 456 例新发 DLBCL 患者,其中 28 例患者 CD20 阴性,占 1.9%,21 例患者存在结外受累,其中 7 例胃肠道受累^[15]。本例患者发病部位为降结肠,浅表淋巴结未受累及。从上述报道上分析,CD20 阴性 DLBCL 患者结外受累较为常见,但 CD20 阴性 DLBCL 是否易侵及胃肠道有待进一步研究。

临床上 CD20 表达水平的检测对于评估 DLBCL 患者预后及预测利妥昔单抗疗效十分重要。临床上普遍应用方便易行的免疫组化法检测淋巴瘤细胞表面 CD20 表达水平,部分机构采用流式细胞术检测 CD20 表达水平,该方法较免疫组化法更为敏感。近年来有研究表明,部分免疫组化法 CD20 阳性的 DLBCL 患者经流式细胞术法检测为阴性。Tokunaga 等^[13]研究 37 例新发 DLBCL,应用免疫组化法及流式细胞术检测 CD20 表达水平,分别使用 L26 及 B1 作为 CD20 抗体,其中 8 例(22%)免疫组化法表达 CD79a(+)/CD20(+),而流式细胞术表达 CD19(+)/CD20(-)。利妥昔单抗介导的 CDC 免疫组化法(+)/流式细胞术(-)细胞明显低于免疫组化法(+)/流式细胞术(+)细胞。流式细胞术利用利妥昔单抗作为 CD20 检测抗体效果较 B1 更佳,对于免疫组化法(+)/流式细胞术(-)的病例利用利妥昔单抗检测 CD20 更能有效的预测利妥昔单抗的效用。

原发 CD20 阴性 DLBCL 发生率约为 2%^[15],因本例为 CD20 阴性患者,无利妥昔单抗应用指征,应用大剂量化疗方案病灶仅轻度缩小,且对化、放疗均不敏感,化疗间歇期又迅速进展,从发病到死亡不到 6 个月时间,提示该例患者预后极差。中山大学肿瘤中心研究 1 456 例新发 DLBCL 患者,其中 28 例患者 CD20 阴性(同时 HIV 阴性),22 例(77.3%)CD20 阴性 DLBCL 患者为非生发中心型,21 例接受 CHOP 或类 CHOP 方案化疗后,9 例(42.9%)完全缓解,4 例(19%)部分缓解,1 例(4.8%)稳定,7 例(33.3%)疾病进展;中位生存期为 23 个月,3 年无进展生存率为 30.5%,总生存(OS)率为 35.0%,通过配对病例对照研究,CD20 阳性 DLBCL 患者较 CD20 阴性患者预后好,3 年无进展生存率为 52.0%($P=0.008$),OS 率为 74.1%($P=0.008$)^[15]。Suzuki 等^[16]研究 174 例新发 DLBCL 患者,共 105 例患者接受 R-CHOP 方案化疗,CD20 阴性、CD20 弱阳性、CD20 正常三组患者治疗反应(完全反应+部分反应)率分别为 33.3%、70.0%、82.9%;5 年 OS 率分别为

33.0%、29.4%、64.0%；OS时间分别为8、27、>90个月；5年无进展生存率分别为33.0%、37.0%、48.0%；中位无进展生存期为3、12、54个月；CD20阴性患者OS率(HR 6.97, 95% CI 1.32~34.96, $P=0.040$)及无病生存率(HR 7.30, 95% CI 1.49~35.8, $P=0.040$)较阳性率正常者明显降低,表明初诊时CD20表达水平(流式细胞术检查)是DLBCL患者独立预后因素。Johnson等^[17]检测272例DLBCL患者CD20表达水平,应用CHOP或类CHOP方案化疗,CD20表达低下者中位OS期为1.2年,而CD20高表达者中位OS期为3年。

在治疗及预后方面,以上文献报道表明CD20表达水平与疾病预后相关,应用CHOP或R-CHOP方案化疗,CD20阴性患者疗效均较CD20阳性患者差,CD20阴性患者不能在利妥昔单抗应用中受益。本例患者对CHOP方案治疗反应较差,与文献相符。因此,对于该例患者我们尝试应用ESHAP方案、大剂量脂质体阿霉素+环磷酰胺+长春新碱+甲泼尼龙化疗,但肿瘤仍无法控制,病情快速进展。那么对于CD20阴性DLBCL患者该选择何种治疗,根据NCCN DLBCL治疗指南,可尝试联合放疗及含苯达莫司汀、来那度胺等药物的二线治疗方案,但因CD20阴性DLBCL患者较为少见,治疗方案及疗效反应还需进一步探索。

综上所述,原发CD20阴性DLBCL发生率低,患者对于CHOP、R-CHOP方案治疗反应差,且不能在利妥昔单抗应用中受益,预后不佳,生存时间短,其有效治疗方案还有待进一步探索。免疫组化法检测CD20简单易行,但流式细胞术检测CD20较免疫组化法更为敏感,尤其对于CD20表达较低,甚至不表达的患者临床中应用流式细胞术检测CD20更有必要。

参考文献

- [1] Aoki R, Karube K, Sugita Y, et al. Distribution of malignant lymphoma in Japan: analysis of 2 260 cases, 2001- 2006 [J]. *Pathol Int*, 2008, 58(3): 174-182.
- [2] 李小秋, 李甘地, 高子芬, 等. 中国淋巴瘤亚型分布: 国内多中心性病例10 002例分析[J]. *诊断学理论与实践杂志*, 2012, 11(2): 111-115.
- [3] Maloney GD. Monoclonal antibodies in lymphoid neoplasia: principles for optimal combined therapy [J]. *Semin Hematol*, 2000, 37(4 Suppl 7): 17-26.
- [4] Ernst JA, Li H, Kim HS, et al. Isolation and characterization of the B- cell marker CD20 [J]. *Biochemistry*, 2005, 44 (46): 15150-15158.
- [5] Prevodnik VK, Lavrenčak J, Horvat M, et al. The predictive significance of CD20 expression in B- cell lymphomas [J]. *Diagn Pathol*, 2011, 6: 33.
- [6] NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN Guidelines): non-Hodgkin Lymphoma[S/OL] version 4. 2014.
- [7] van Meerten T, van Rijn RS, Hol S, et al. Complement-induced cell death by rituximab depends on CD20 expression level and acts complementary to antibody-dependent cellular cytotoxicity [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(13): 4027-4035.
- [8] Terui Y, Mishima Y, Sugimura N, et al. Identification of CD20 C-terminal deletion mutations associated with loss of CD20 expression in non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Clin Cacer Res*, 2009, 15(7): 2523-2530.
- [9] Teruya-Feldstein J. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation [J]. *Curr Oncol Rep*, 2005, 7(5): 357-363.
- [10] Teruya-Feldstein J, Chiao E, Filippa DA, et al. CD20-negative large- cell lymphoma with plasmablastic features: a clinically heterogenous spectrum in both HIV- positive and- negative patients[J]. *Ann Oncol*, 2004, 15(11): 1673-1679.
- [11] Reichard KK, McKenna RW, Kroft SH. ALK- positive diffuse large B- cell lymphoma: report of four cases and review of the literature [J]. *Mod Pathol*, 2007, 20(3): 310-319.
- [12] Fukuno K, Tsurumi H, Kanemura N, et al. CD20- negative pyothorax- associated B cell lymphoma [J]. *Acta Haematol*, 2005, 113(2): 144-145.
- [13] Tokunaga T, Tomita A, Sugimoto K, et al. De novo diffuse large B- cell lymphoma with a CD20 immunohistochemistry- positive and flow cytometry- negative phenotype: molecular mechanisms and correlation with rituximab sensitivity [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105(1): 35-43.
- [14] Chu PG, Loera S, Huang Q, et al. Lineage determination of CD20- B- Cell neoplasms: an immunohistochemical study [J]. *Am J Clin Pathol*, 2006, 126(4): 534-544.
- [15] Li YJ, Li ZM, Rao HL, et al. CD20- negative de novo diffuse large B- cell lymphoma in HIV- negative patients: a matched case- control analysis in a single institution [J]. *J Transl Med*, 2012, 10:84.
- [16] Suzuki Y, Yoshida T, Wang G, et al. Association of CD20 levels with clinicopathological parameters and its prognostic significance for patients with DLBCL [J]. *Ann Hematol*, 2012, 91(7): 997-1005.
- [17] Johnson NA, Boyle M, Bashashati A, et al. Diffuse large B- cell lymphoma: reduced CD20 expression is associated with an inferior survival[J]. *Blood*, 2009, 113(16): 3773-3780.

(收稿日期:2014-11-23)

(本文编辑:刘志红)