

COX-2、p16^{INK4A}、p53蛋白在经典霍奇金淋巴瘤患者中的表达及其预后相关分析

时云飞 高子芬 刘翠苓 黄欣 宋玉琴 平凌燕
周立新 赵敏 黄晓征 赖玉梅 杜婷婷 李敏

【摘要】 目的 观察环氧化酶2(COX-2)、周期素依赖激酶抑制剂p16(p16^{INK4A})、p53蛋白在经典霍奇金淋巴瘤(cHL)患者中的表达,探讨其与患者预后的相关性。方法 收集52例cHL患者的标本,采用免疫组织化学染色法检测相关蛋白,采用原位杂交技术检测EBV及EBV编码的小mRNA(EBER)。结合患者临床及随访资料分析COX-2、p16^{INK4A}、p53蛋白表达与预后的相关性。结果 52例患者中男女比例1.6:1,患者发病年龄22~68岁,均为淋巴结内原发。52例患者中COX-2阳性者28例(53.8%),p16^{INK4A}阳性者25例(48.1%),p53阳性者42例(80.8%)。按照患者年龄(以中位年龄为界)、性别(男/女)、EBV感染(有/无)、B症状(有/无)及Ann-Arbor分期(I~II/III~IV期)进行分组,分别与COX-2、p16^{INK4A}、p53表达进行相关性分析,结果显示仅p53表达与Ann-Arbor分期有关($P=0.027$)。三者间表达的相关性分析结果显示,COX-2表达与p53相关($P=0.008$),而与p16^{INK4A}无关($P=0.246$),p16^{INK4A}与p53表达无关($P=0.958$)。单因素分析结果显示COX-2表达是影响患者无事件生存(EFS)的不良预后因素($P=0.003$);采用COX比例风险回归模型进行多因素分析结果显示COX-2表达是影响患者EFS的独立不良预后因素($HR=0.091$,95%CI 0.017~0.505, $P=0.006$)。结论 COX-2、p16^{INK4A}、p53在cHL患者中有较高表达率;与患者EBV感染状态均无相关性;COX-2表达是影响患者EFS的独立不良预后因素。

【关键词】 霍奇金病; 环氧化酶2; 周期素依赖激酶抑制剂p16; 基因,p53; 预后

Expression and prognostic value of COX-2, p16^{INK4A} and p53 in patients with classical Hodgkin lymphoma Shi Yunfei, Gao Zifen, Liu Cuiling, Huang Xin, Song Yuqin, Ping Lingyan, Zhou Lixin, Zhao Min, Huang Xiaozheng, Lai Yumei, Du Tingting, Li Min. Department of Pathology, Peking University, HealthScience Center. Beijing 100191, China

Corresponding author: Li Min, Email: minli@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the expression level of COX-2, p16^{INK4A} and p53 in patients with classic Hodgkin's lymphoma (cHL), and to evaluate their correlation with prognosis. **Methods** The clinical data and samples of 52 cHL cases were collected. Immunohistochemical staining was performed to analyze the proteins level mentioned above and in situ hybridization of EBV encoded RNA (EBER) to clarify the tumor EBV infection state. Correlation between the protein expression and prognosis of patients was analyzed. **Results** Of 52 cases, the male and female ratio was 1.6:1, the age was from 22 to 68 years old. All lesions located primarily in lymph nodes. All samples from 52 cases were stained with COX-2, p16^{INK4A} and p53, and the positive expression of COX-2 was found in 28 cases (53.8%), that of p16^{INK4A} in 25 cases (48.1%) and p53 in 42 cases (80.8%). All patients were divided into two groups according to differences in age (<40 years/≥40years), gender (male/female), EBV infection (yes/no), B symptoms (yes/no), and the Ann Arbor staging (I-II/III-IV), the correlation with COX-2, p16^{INK4A} and p53 expression were analyzed, and only p53 expression was correlated with Ann Arbor staging ($P=0.027$). The statistical analysis of correlations between COX-2, p16^{INK4A} and p53 showed that the expression of COX-2 was strongly correlated with p53 ($P=0.008$), and p16^{INK4A} was not related to either COX-2 or p53

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.11.008

作者单位:100191 北京大学基础医学院病理学系血液病理研究室[时云飞(现在北京肿瘤医院病理科)、高子芬、刘翠苓、黄欣、李敏];北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所淋巴瘤科,恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室(宋玉琴、平凌燕、杜婷婷),病理科(周立新、赵敏、黄晓征、赖玉梅)

通信作者:李敏,Email: minli@bjmu.edu.cn

($P=0.246$ and 0.958). Kaplan-Meier univariate OS analysis using SPSS17.0 software showed that only COX-2 expression was an adverse prognostic factor for patients' event free survival (EFS) ($P=0.003$). Meanwhile COX-2 expression was a unique independent prognostic factor analyzed by COX proportional hazards regression model ($HR=0.091$, 95% CI 0.017-0.505, $P=0.006$). **Conclusion** The expression rate of COX-2, p16^{INK4A} and p53 in the cHL were relatively high; and they were not statistically correlated with tumor EBV infection status; the COX-2 positive group had poor prognosis, but only event free survival time becomes statistically significant shorter. COX proportional hazard regression model was used to analyze the COX-2 expression as a independent adverse prognostic factors for EFS.

[Key words] Hodgkin Disease; Cyclooxygenase 2; Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p16; Genes, p53; Prognosis

经典型霍奇金淋巴瘤 (classical Hodgkin lymphoma, cHL) 在所有癌症中所占比例约为 0.6%, 在所有淋巴瘤中约为 28.5%, 好发于青年以及老年人^[1]。流行病学调查显示, 在中国 cHL 占淋巴瘤总体发病率的 8.4%~13%^[2-3]。经过规范化治疗, cHL 患者的预后普遍较好, 5 年生存率可达 70%~80%, 但有 5%~10% 的患者会出现原发耐药, 10%~30% 的患者会出现缓解后复发^[4], 从而表现为复发难治和预后较差。如何预测和筛选这部分病例并提早干预是摆在病理医师和临床医师面前的一个十分棘手的问题。近年来的研究显示, 环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 可催化花生四烯酸形成前列腺素 E2, 发挥调节细胞增殖、黏附, 抑制细胞凋亡, 促进血管生成及辅助免疫监视的作用^[5-6]。周期素依赖激酶抑制剂 p16 (p16^{INK4A}) 是特定的细胞周期 G₁ 期调控基因^[7]。p53 基因与细胞周期调控、凋亡及 DNA 损伤应答有关, 可导致细胞生长调控异常而发生肿瘤^[8]。已有文献报道 COX-2、p16^{INK4A}、p53 蛋白在 cHL 中均具有较高的阳性率^[9-10]。研究显示 COX-2 蛋白表达差异对于评价 cHL 预后具有重要价值^[10-12]。我们通过组织芯片技术研究 COX-2、p16^{INK4A}、p53 在 cHL 中的表达差异, 分析其与 EBV 感染的相关性, 并结合患者临床特征和随访资料进行相关分析, 旨在明确其在 cHL 患者中的表达情况, 探讨其评估 cHL 预后及预测复发难治病例的价值。

病例和方法

1. 病例: 收集 2006 年 11 月至 2014 年 9 月期间北京大学医学部基础医学院病理学系及北京肿瘤医院病理科诊断及会诊的 86 例 cHL 患者资料和标本。依据 2008 版 WHO 淋巴造血系统肿瘤分类标准, 经血液病理学专家复习所有切片及完善诊断相关免疫组织化学标志物核实诊断, 选择存档石蜡包埋组织适于制作组织芯片的 52 例患者标本进行本研究。

2. 组织芯片制作: 所有标本均经 10% 中性甲醛缓冲液固定, 常规脱水、透明, 石蜡包埋, 制作 3~4 μm 切片。切片标本进行常规 HE 染色, 光镜观察形态。选取单核 Hodgkin 和多核 Reed-Sternberg 细胞 (简称 HRS 细胞) 丰富的区域以备制作组织芯片。采用组织芯片仪 (法国 Alphelys 公司产品) 制作石蜡包埋组织芯片蜡块 1 个 (包含全部 52 例患者标本, 每例标本均包含 2 个直径 1 mm 的组织条, 并且使用芯片仪自带计算机程序标记其对应坐标位置)。

3. 免疫组织化学染色: 采用 Roche 公司的 BENCHMARK-XT 免疫组织化学自动染色机完成 (一抗使用情况详见表 1)。实验均设阳性对照及阴性空白对照: 阳性对照为已证实 EBV 阳性 cHL 肿瘤组织以及已知 p16^{INK4A}、COX-2 以及 p53 阳性的相应肿瘤组织 (依次为宫颈鳞状细胞癌, 结肠腺癌以及乳腺浸润性导管癌); 阴性对照为以抗体稀释液代替一抗工作液。DAB 显色, 阳性信号为棕黄色颗粒。阳性判断标准: >10% 肿瘤细胞出现定位准确, 且染色明确者视为阳性。

4. EBV 编码的小 mRNA (EBER) 检测: 严格按照 EBER 原位杂交试剂盒 (购自北京中杉金桥生物技术有限公司) 说明书进行操作。

5. 治疗及随访: 52 例患者均采用以 ABVD [阿霉素、博来霉素、长春花碱、氮烯唑胺] 方案为基础的化疗, 5 例复发难治患者结合放疗, 2 例序贯自体干细胞移植 (ASCT), 1 例序贯细胞免疫治疗。随访资料由医院随访系统及临床医师提供, 随访截止日期为 2015 年 4 月 24 日。总生存 (OS) 期定义为研究病例从确立诊断直至出现死亡或者存活患者最后一次随访之间所经历的时间间隔。无事件生存 (EFS) 期定义为研究病例从确立诊断直至疾病出现进展、复发、死亡或无上述事件患者最后一次随访之间所经历的时间间隔。

6. 统计学处理: 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。计量资料用 t 检验, 计数资料用 χ^2 检验; 两种

表1 免疫组织化学染色中一抗使用情况

抗体名称	种属、克隆性	工作浓度	标记细胞	阳性定位	抗体来源
CD30	鼠源、单克隆	1:50	肿瘤细胞	胞膜、胞质高尔基区	丹麦DAKO公司
CD15	兔源、单克隆	1:50	肿瘤细胞	胞质、胞质高尔基区	丹麦DAKO公司
CD20	鼠源、单克隆	1:50	B细胞	胞膜	丹麦DAKO公司
CD3	兔源、多克隆	1:50	T细胞	胞质	丹麦DAKO公司
PAX5	鼠源、单克隆	1:50	B细胞	胞核	北京中杉金桥生物技术有限公司
EBV/LMP1	鼠源、单克隆	1:50	B细胞	胞质	北京中杉金桥生物技术有限公司
p16 ^{INK4A}	鼠源、单克隆	1:50	肿瘤细胞	胞核或胞质	北京中杉金桥生物技术有限公司
COX-2	鼠源、单克隆	1:50	肿瘤细胞	胞质	丹麦DAKO公司
p53	鼠源、单克隆	1:50	肿瘤细胞	细胞核	丹麦DAKO公司

注:p16^{INK4A}:周期素依赖激酶抑制剂p16; COX-2:环氧化酶-2

影响因素的独立性检验应用四格表独立性检验。生存曲线绘制应用Kaplan-Meier法(单因素生存曲线统计比较采用Log-rank法)。预后因素的多变量分析用COX比例风险回归分析法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. cHL患者一般临床特征:入组患者中位年龄44.5(22.0~68.0)岁,各年龄段均可见发病。发病高峰位于33~37岁(10例)及58~63岁(10例)。52例患者中男32例,女20例,男女比例为1.6:1。所有病例均为淋巴结内原发。依据WHO2008版淋巴瘤分类标准进行分类:结节硬化型(NS)31例(59.6%),混合细胞型(MC)20例(38.5%),淋巴细胞丰富型(LR)1例(1.8%)。52例患者中有完整临床资料者42例。其中17例(40.5%)出现B症状(发热、盗汗及体重减轻等);Ann-Arbor分期I~II期者20例(47.6%),III~IV期者22例(52.4%)。

2. 病理特征:①所有患者标本中均可见诊断性HRS细胞,背景成分为含量各异的非肿瘤性淋巴细胞和炎细胞,可伴有间质纤维胶原增生。组织芯片中所有病例均可见诊断性HRS细胞。②52例患者标本主要诊断性免疫标志物免疫组织化学染色结果:CD30阳性率100%(52/52),CD20阳性率17.3%(9/52),CD15阳性率71.2%(37/52),PAX5阳性率69.2%(36/52),CD3e表达均为阴性。③肿瘤细胞EBV感染检测:全部患者标本均同时进行了LMP1单克隆抗体免疫组织化学染色和EBER原位杂交检测,两种检测方式的检测结果完全一致,EBV阳性率25.0%(13/52)。NS者EBV阳性率为9.7%(3/31),MC者为50.0%(10/20),LR者为0(0/1)。

3. 预后:截止至随访结束,入组患者的平均OS时间为32.9个月,中位OS时间为79.0(5.5~79.8)个月,5年预计OS率81%;平均EFS时间为28.7个月,中位EFS时间为55.4(3.9~71.8)个月,5年预计EFS率45%。

4. COX-2、p16^{INK4A}、p53表达及与常见临床特征的相关性分析:52例患者中COX-2阳性者28例(53.8%)(图1),p16^{INK4A}阳性者24(46.1%)(图2),p53阳性者41例(78.9%)(图3)。

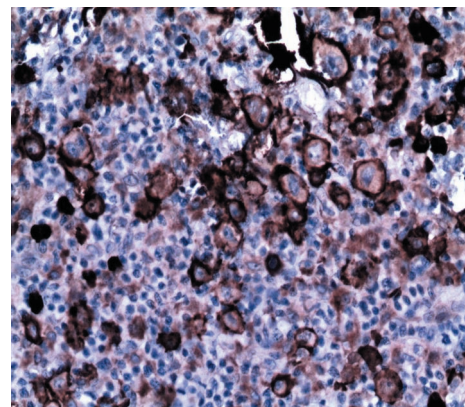


图1 经典型霍奇金淋巴瘤患者表达COX-2蛋白,阳性信号呈棕黄色,定位于肿瘤细胞胞质(DAB显色,×400)

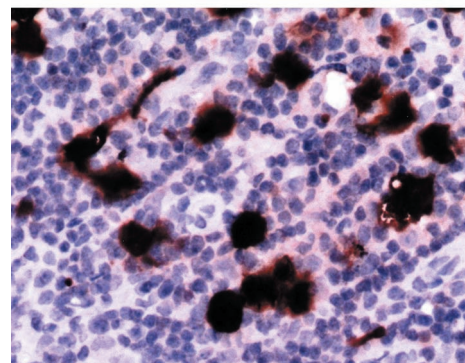


图2 经典型霍奇金淋巴瘤患者表达p16^{INK4A}蛋白,阳性信号呈棕黄色,定位于肿瘤细胞核和/或胞质(DAB显色,×400)

依据患者年龄(以中位年龄为界)、性别、EBV感染(有、无)、B症状(有、无)及Ann-Arbor分期(I~II期、III~IV期)进行分组,采用四格表独立检

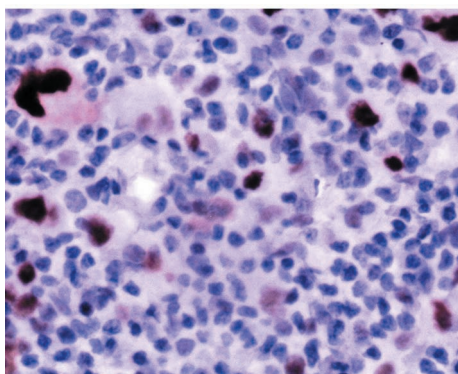


图3 经典型霍奇金淋巴瘤患者表达p53蛋白,阳性信号呈棕黄色,定位于肿瘤细胞核或细胞质(DAB显色,×400)

验法分别与COX-2、p16^{INK4A}、p53表达进行相关性分析,结果显示除p53表达与Ann-Arbor分期有关($P=0.027$)外,其余均无统计学意义(P 值均 >0.05 ,表2)。

5. COX-2、p16^{INK4A}、p53表达三者间相关性分析:COX-2表达与p16表达无相关性($P=0.246$),而与p53强相关($P=0.008$);p16表达与p53表达无相关性($P=0.958$)(表3)。

6. COX-2、p16^{INK4A}、p53表达与预后的相关性分析:单因素分析结果显示COX-2、p16^{INK4A}、p53表达对患者OS的影响差异无统计学意义, P 值分别为0.190,0.390及0.604;COX-2表达是影响患者EFS的不良预后因素,COX-2阳性组与阴性组患者比较,EFS率差异有统计学意义(3年:48.3%对82.9%, $P=0.003$);由于随访时间相对较短,尚无法准确统计

表2 COX-2、p16^{INK4A}、p53表达与临床病理特征的相关性分析

临床病理特征	COX-2			p16 ^{INK4A}			p53		
	阳性组	阴性组	P 值	阳性组	阴性组	P 值	阳性组	阴性组	P 值
年龄[岁, M (范围)]	48.5(22~66)	39.5(22~68)	0.328	45.5(22~68)	41.0(22~66)	0.763	48.0(22~66)	45.0(29~68)	0.982
性别[例数(%)]			0.113			0.660			0.591
男	20(71.4)	12(50.0)		14(58.3)	18(64.3)		26(63.4)	6(54.5)	
女	8(28.6)	12(50.0)		10(41.7)	10(35.7)		15(36.6)	5(45.5)	
Ann-Arbor分期[例数(%)]			0.204			0.768			0.027
I~II期	13(56.5)	7(36.8)		10(50.0)	10(45.5)		19(55.9)	1(12.5)	
III~IV期	10(43.5)	12(63.2)		10(50.0)	12(54.5)		15(44.1)	7(87.5)	
B症状[例数(%)]			0.145			0.051			0.158
有	7(30.4)	10(52.6)		5(25.0)	12(54.5)		12(35.3)	5(62.5)	
无	16(69.6)	9(47.4)		15(75.0)	10(45.5)		22(64.7)	3(37.5)	
EBV感染[例数(%)]			0.521			1.000			0.327
阳性	6(21.4)	7(29.2)		6(25.0)	7(25.0)		9(22.0)	4(36.4)	
阴性	22(78.6)	17(70.8)		18(75.0)	21(75.0)		32(78.0)	7(63.6)	
组织学亚型[例数(%)]			0.464			0.552			0.433
结节硬化型	16(57.1)	15(62.5)		14(58.3)	17(60.7)		26(63.5)	5(45.5)	
混合细胞型	12(42.9)	8(33.3)		9(37.5)	11(39.3)		14(34.1)	6(54.5)	
淋巴细胞丰富型	0	1(4.2)		1(4.2)	0		1(2.4)	0	

注:COX-2:环氧化酶-2;p16^{INK4A}:周期素依赖激酶抑制剂p16

表3 52例经典型霍奇金淋巴瘤COX-2、p16^{INK4A}、p53表达三者间相关性分析[例数(%)]

组别	例数	COX-2			p16 ^{INK4A}		
		阳性组(28例)	阴性组(24例)	P 值	阳性组(24例)	阴性组(28例)	P 值
p16 ^{INK4A}				0.246			
阳性	24	15(62.5)	9(37.5)				
阴性	28	13(46.4)	15(53.6)				
p53				0.008			0.985
阳性	41	26(63.4)	15(36.6)		19(46.3)	22(53.7)	
阴性	11	2(18.2)	9(81.8)		5(45.5)	6(54.5)	

注:COX-2:环氧化酶-2;p16^{INK4A}:周期素依赖激酶抑制剂p16

5年EFS率差异)(图4);p16^{INK4A}、p53表达对患者EFS的影响无统计学意义,P值分别为0.694及0.653。

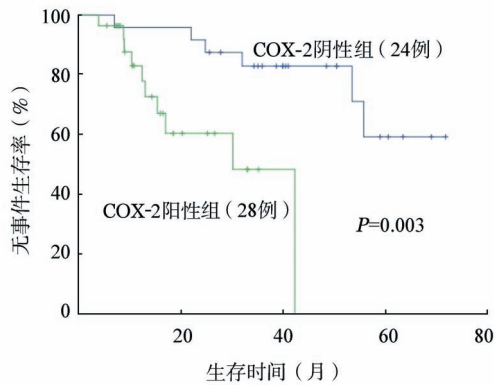


图4 COX-2表达对经典霍奇金淋巴瘤患者无事件生存的影响

将年龄(<40岁/≥40岁)、性别(男/女)、EBV感染(有/无)、B症状(有/无)及Ann-Arbor分期(I~II/III~IV期)以及COX-2、p16^{INK4A}、p53表达与否等因素纳入COX比例风险回归模型进行多因素分析,结果显示仅COX-2表达是影响患者EFS的独立不良预后因素($HR=0.091, 95\%CI\ 0.017\sim0.505, P=0.006$)。

讨 论

本研究中我们发现cHL各年龄段发病均可见,且发病高峰位于青年组及老年组,符合我们之前更大样本统计显示的“双峰”分布趋势^[13];男性略多于女性;组织学上均可见典型的HRS细胞及混杂性背景、肿瘤诊断相关免疫表型也与之前的国内外文献报道基本一致^[1,13]。cHL组织学亚型的发病率从高至低依次为NS、MC、LR,与国内外文献及本课题组之前报道基本一致^[1,14]。EBV阳性率略低于之前我们报道的35%^[13],可能与本组样本量相对较小产生抽样差异有关,本组患者中NS型比例明显较高,而NS型患者的EBV感染比例本来极低,故本组患者的EBV感染率随之下降。有完整临床资料的患者中,III~IV期者比例为52.4%,有B症状者比例为40.5%,治疗方案也是以ABVD方案为基础的化疗配合二线治疗方案及结合放疗、ASCT甚至细胞免疫治疗。提示本组入选病例具有一定代表性。

在研究中我们还发现,本组患者的COX-2、p16^{INK4A}、p53表达率与文献^[9,11,15]中所报道的数据相对一致。目前上述蛋白表达与患者年龄、性别、有无B症状、Ann-Arbor分期、组织学亚型等临床病理特征的相关性研究尚未获得一致性结论。Koh等^[12]

的研究证实COX-2表达与cHL患者的上述临床特征无关,而Barisik等^[11]则认为COX-2表达与组织学类型有关,而与其他临床因素无关。我们的研究结果显示仅p53表达与患者的Ann-Arbor分期有关($P=0.027$)。Wang等^[16]也发现I~II期cHL患者p53表达率较III~IV期者高。上述结果提示p53表达在疾病早期更常见,或者p53阳性者肿瘤细胞的侵袭性相对较低。

COX-2、p16^{INK4A}、p53表达与cHL患者EBV感染是否相关目前也暂无定论。有研究者认为COX-2表达与EBV相关^[6,9,17],但Koh等^[12]对167例cHL患者的研究结果则显示COX-2表达与EBV感染无相关性。Al-Salam等^[9]认为p16表达与EBV感染呈正相关, Kim等^[15]认为两者呈负相关, Guenova等^[18]则认为p16表达与EBV感染无相关性。关于p53与EBV相关性的研究也是充满争议,有研究者认为p53表达与EBV感染呈正相关^[9,19-20],也有研究者认为两者无相关性^[15,21-22]。本研究中我们的结果显示COX-2、p16^{INK4A}、p53表达与EBV感染无相关性,但仍需扩大病例数,以获得更有意义数据。

研究者对cHL患者COX-2、p16^{INK4A}、p53三者之间的相关性也是各执一词。Ohsawa等^[6]及Barisik等^[11]研究发现cHL患者COX-2表达与p53表达无相关性,但卵巢癌患者及头颈部肿瘤患者COX-2表达与p53表达呈正相关。有研究显示突变的p53表达可增加恶性肿瘤细胞COX-2表达,可能由于这些肿瘤的细胞因子、癌基因以及生长因子可以促进COX-2生成^[23-24]。有关cHL患者COX-2表达和p16^{INK4A}表达的相关性研究未见文献报道,仅在乳腺高级别原位癌患者中发现如果COX-2与p16^{INK4A}同时阳性则与基底样亚型及预后更差相关^[25]。有研究者认为cHL患者p16^{INK4A}表达和p53表达相关,并认为这种相关性源于p53蛋白参与了p16^{INK4A}-Rb调控G₁期的调控有关^[15,22,26]。我们的研究结果显示COX-2表达与p53表达强相关而与p16表达无关,且p16表达与p53表达无关。上述报道结论的不一致性可能与患者所处地域、遗传因素及样本差异有关,准确结论有待进一步增加病例数及开展多中心研究予以证实。

Mestre等^[10]和Koh等^[12]认为在HL患者中COX-2表达是一个不良预后指标,但只是影响患者的OS率,对患者的EFS率的影响未见统计学意义。与上述学者结果不同,我们的结果仅显示COX-2阳性组患者的3、5年EFS率较阴性组患者

低,差异均有统计学意义(P 值均 <0.05),而COX-2表达与否对患者OS的影响差异则未见统计学意义。提示COX-2表达与否仅能较准确预测国人cHL的EFS而不能准确预测OS。此外,我们的结果还显示在cHL患者病程的前3年,其COX-2阳性表达强烈提示难治复发,需要及早干预。

国外研究对于COX-2表达与否究竟在局限期还是进展期对患者的OS更有提示意义存在争议^[10,12],由于本研究患者例数过少,分组后难以获得有统计学意义的结果,故而未进一步探讨,希望能通过增加病例数及继续延长随访时间进行更科学的分析。

研究COX-2表达的意义还在于COX-2蛋白可能是很有前途的癌症靶标。腺瘤性息肉小鼠体内实验结果显示,应用非甾体类抗炎药(Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)治疗可以抑制COX-2生成和表达,使模型小鼠发生腺癌的数量减少^[27]。流行病学研究也显示应用NSAIDs与胃肠道癌症发病率降低有关^[28]。由此推测有望将COX-2作为cHL患者新的治疗靶点,应用NSAIDs等药物进行COX-2阳性cHL患者的辅助治疗;由于COX-2阳性者往往属于复发难治患者,故有望提高这部分患者的生存率及改善cHL总体预后。

参考文献

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [M]. IARC Press, Lyon, France, 2008: 321-334.
- [2] Sun J, Yang Q, Lu Z, et al. Distribution of lymphoid neoplasms in China: analysis of 4,638 cases according to the World Health Organization classification [J]. *Am J Clin Pathol*, 2012, 138(3): 429-434.
- [3] Yang QP, Zhang WY, Yu JB, et al. Subtype distribution of lymphomas in Southwest China: analysis of 6,382 cases using WHO classification in a single institution [J]. *Diagn Pathol*, 2011, 6: 77.
- [4] Qudus F, Armitage JO. Salvage therapy for Hodgkin's lymphoma [J]. *Cancer J*, 2009, 15(2): 161-163.
- [5] Jacoby RF, Seibert K, Cole CE, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib is a potent preventive and therapeutic agent in the min mouse model of adenomatous polyposis [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(18): 5040-5044.
- [6] Ohsawa M, Fukushima H, Ikura Y, et al. Expression of cyclooxygenase-2 in Hodgkin's lymphoma: its role in cell proliferation and angiogenesis [J]. *Leuk Lymphoma*, 2006, 47(9): 1863-1871.
- [7] Geradts J, Wilentz RE, Roberts H. Immunohistochemical [corrected] detection of the alternate INK4a-encoded tumor suppressor protein p14 (ARF) in archival human cancers and cell lines using commercial antibodies: correlation with p16 (INK4a) expression [J]. *Mod Pathol*, 2001, 14(11): 1162-1168.
- [8] Hussain PS, Haris CC. p53 mutation spectrum and load: the generation of hypotheses linking the exposure of endogenous or exogenous carcinogens to human cancer [J]. *Mutat Res*, 1999, 428(1-2): 23-32.
- [9] Al-Salam S, Awwad A, Sudhadevi M, et al. Epstein-Barr virus infection correlates with the expression of COX-2, p16 (INK4A) and p53 in classic Hodgkin lymphoma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(12): 2765-2777.
- [10] Mestre F, Gutierrez A, Ramos R, et al. Expression of COX-2 on Reed-Sternberg cells is an independent unfavorable prognostic factor in Hodgkin lymphoma treated with ABVD [J]. *Blood*, 2012, 119(25): 6072-6079.
- [11] Barisik NO, Bozkurt S, Gumus M, et al. Expression and prognostic significance of Cox-2 and p-53 in Hodgkin lymphomas: a retrospective study [J]. *Diagn Pathol*, 2010, 5: 19.
- [12] Koh YW, Park C, Yoon DH, et al. Prognostic significance of COX-2 expression and correlation with Bcl-2 and VEGF expression, microvessel density, and clinical variables in classical Hodgkin lymphoma [J]. *Am J Surg Pathol*, 2013, 37(8): 1242-1251.
- [13] 时云飞, 李向红. 北方地区235例霍奇金淋巴瘤临床病理特征及其EB病毒感染的相关性分析 [J]. *中华病理学杂志* [J], 2015, 44(2): 84-89.
- [14] Nakatsuka S, Aozasa K. Epidemiology and pathologic features of Hodgkin lymphoma [J]. *Int J Hematol*, 2006, 83(5): 391-397.
- [15] Kim LH, Peh SC, Poppema S. Expression of retinoblastoma protein and P16 proteins in classic Hodgkin lymphoma: relationship with expression of p53 and presence of Epstein-Barr virus in the regulation of cell growth and death [J]. *Hum Pathol*, 2006, 37(1): 92-100.
- [16] Wang J, Taylor CR. Apoptosis and cell cycle-related genes and proteins in classical Hodgkin lymphoma: application of tissue microarray technique [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2003, 11(3): 206-213.
- [17] Kaul R, Verma SC, Murakami M, et al. Epstein-Barr virus protein can upregulate cyclo-oxygenase-2 expression through association with the suppressor of metastasis Nm23-H1 [J]. *J Virol*, 2006, 80(3): 1321-1331.
- [18] Guenova M, Rassidakis GZ, Gorgoulis VG, et al. p16INK4A is regularly expressed in Hodgkin's disease: comparison with retinoblastoma, p53 and MDM2 protein status, and the presence of Epstein-Barr virus [J]. *Mod Pathol*, 1999, 12(11): 1062-1071.
- [19] Qi ZL, Zhao T, Zhou XH, et al. Expressions of latent membrane protein 1, p53 and bcl-2 proteins and their significance in Hodgkin's lymphoma [J]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23(3): 225-227.
- [20] Zhao P, Lu Y, Liu L, et al. Aberrant cytoplasmic expression of cyclin B1 protein and its correlation with EBV-LMP1, P53 and P16 (INK4A) in classical Hodgkin lymphoma in China [J].

Pathol Oncol Res, 2011, 17(2): 369-373.

[21] Kanavaros P, Stefanaki K, Vlachonikolis J, et al. Expression of p53, p21/waf1, bcl-2, bax, Rb and Ki67 proteins in Hodgkin's lymphomas[J]. Histol Histopathol, 2000, 15(2): 445-453.

[22] García JF, Camacho FI, Morente M, et al. Hodgkin and Reed-Sternberg cells harbor alterations in the major tumor suppressor pathways and cell-cycle checkpoints: analyses using tissue microarrays[J]. Blood, 2003, 101(2): 681-689.

[23] Subbaramaiah K, Altorki N, Chung WJ, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 gene expression by p53[J]. J Biol Chem, 1999, 274(16): 10911-10915.

[24] Gallo O, Schiavone N, Papucci L, et al. Down-regulation of nitric oxide synthase-2 and cyclooxygenase-2 pathways by p53 in squamous cell carcinoma [J]. Am J Pathol, 2003, 163(2): 723-732.

[25] Perez AA, Balabram D, Rocha RM, et al. Co-Expression of p16, Ki67 and COX-2 Is Associated with Basal Phenotype in High-Grade Ductal Carcinoma In Situ of the Breast[J]. J Histochem Cytochem, 2015, 63(6): 408-416.

[26] Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene[J]. Nature, 1991, 351(6326): 453-456.

[27] Jacoby RF, Seibert K, Cole CE, et al. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib is a potent preventive and therapeutic agent in the min mouse model of adenomatous polyposis [J]. Cancer Res, 2000, 60(18): 5040-5044.

[28] Langman MJ, Cheng KK, Gilman EA, et al. Effect of anti-inflammatory drugs on overall risk of common cancer: case-control study in general practice research database [J]. BMJ, 2000, 320(7250): 1642-1646.

(收稿日期:2015-07-24)

(本文编辑:刘志红)

·读者·作者·编者·

2015年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

磷酸盐缓冲液	PBS	乳酸脱氢酶	LDH	粒-巨噬细胞集落刺激因子	GM-CSF
胎牛血清	FBS	凝血酶原时间	PT	巨噬细胞集落刺激因子	M-CSF
血红蛋白	HGB	部分激活的凝血活酶时间	APTT	链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶	S-P
白细胞计数	WBC	EB病毒	EBV	粒-巨噬细胞集落形成单位	CFU-GM
血小板计数	PLT	巨细胞病毒	CMV	细胞毒性T淋巴细胞	CTL
核因子-κB	NF-κB	乙型肝炎病毒	HBV	佛波醇酯	TPA
聚合酶链反应	PCR	丙型肝炎病毒	HCV	噻唑蓝实验	MTT实验
逆转录-聚合酶链反应	RT-PCR	人类免疫缺陷病毒	HIV	弥漫性血管内凝血	DIC
酶联免疫吸附实验	ELISA	自然杀伤细胞	NK细胞	磁共振成像	MRI
动脉血氧分压	PaO ₂	白细胞介素	IL	正电子发射断层扫描	PET
动脉血二氧化碳分压	PaCO ₂	干扰素	IFN	乙二胺四乙酸	EDTA
辅助性T淋巴细胞	Th	肿瘤坏死因子	TNF	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳	SDS-PAGE
丙氨酸转氨酶	ALT	红细胞生成素	EPO	二甲基亚砜	DMSO
天冬氨酸转氨酶	AST	血小板生成素	TPO	荧光原位杂交	FISH
谷氨酰转氨酶	GGT	干细胞生长因子	SCF	美国国家综合癌症网络	NCCN
碱性磷酸酶	ALP	粒细胞集落刺激因子	G-CSF		

本刊编辑部