

# CD137在北方地区经典型霍奇金淋巴瘤中的表达及辅助病理鉴别诊断价值探讨

时云飞 高子芬 刘翠苓 黄欣 宋玉琴 张晨  
林冬梅 周立新 赵敏 赖玉梅 李敏

**【摘要】 目的** 明确CD137在北方地区经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)中的表达,探讨其作为cHL辅助病理鉴别诊断新指标的可能应用价值。**方法** 收集54例cHL患者资料,以55例伴有“HRS样细胞”的非cHL患者为对照。在病理组织标本中选取“HRS细胞”或“HRS样细胞”丰富的区域制作组织芯片;以“HRS细胞”或“HRS样细胞”为观察对象,cHL组应用CD30、CD15、CD20、PAX5、CD3免疫组织化学染色;同时对两组患者标本进行CD137(BBK-2)抗体免疫组织化学染色及采用EBV编码的小RNA(EBER)原位杂交法检测EBV感染状态。**结果** 54例cHL患者均为淋巴结内原发,中位年龄45.5(22.0~68.0)岁;男女比例1.7:1;对照组患者结内54例,结外(皮肤)1例,中位年龄50.0(12.0~81.0)岁;男女比例1.9:1。54例cHL患者均表达CD30,HRS细胞主要诊断相关免疫标志物CD30、CD15、CD20、CD3阳性表达率依次为100.0%、70.4%、18.5%和0,可见PAX5弱至中等强度表达,阳性率70.4%;EBV感染阳性率25.9%(对照组阳性率21.8%)。cHL组CD137阳性率57.4%,对照组阳性率14.5%,差异有统计学意义( $P<0.001$ )。将cHL组及对照组按照患者年龄( $\geq 60$ / $<60$ 岁)、性别、有无EBV感染、组织学亚型以及主要诊断相关标志物的表达与否进行分组,CD137阳性率差异均无统计学意义( $P$ 值均 $>0.05$ )。以2013年为界进行分组,2013年前后两组cHL患者的CD137阳性率差异有统计学意义(39.4%对85.7%, $P=0.001$ ),对照组差异无统计学意义(12.5%对16.1%, $P=0.705$ );2013以后存档的标本中cHL组与对照组患者CD137阳性率差异有统计学意义(85.7%对16.1%, $P<0.001$ )。**结论** 通过研究初步证实北方地区大多数cHL患者的HRS细胞表达CD137,而对照组患者“HRS样细胞”CD137阳性率较低。保存期3年以内较保存期3年以上的cHL患者标本CD137阳性率高,更适于进行CD137免疫组织化学染色检测。CD137有望作为辅助cHL病理鉴别诊断的新指标。

**【关键词】** 抗原,CD137; 霍奇金病; Hodgkin细胞; 里德-斯特恩伯格细胞; 诊断,鉴别

## Expression of CD137 in tumor cells of Hodgkin lymphoma from Northern China and its application in pathological differential diagnosis

Shi Yunfei\*, Gao Zifen, Liu Cuiling, Huang Xin, Song Yuqin, Zhang Chen, Lin Dongmei, Zhou Lixin, Zhao Min, Lai Yumei, Li Min\*. \*Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

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

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of CD137 in HRS cells of classical Hodgkin Lymphoma (cHL), and its application in the pathological differential diagnosis. **Methods** 54 cases of cHL with "HRS" cells, and 55 cases of non-cHL with "HRS-like" cells as control group were collected. "HRS" cells and "HRS-like" cells rich areas in slides were selected from relevant groups to produce two tissue microarrays. This study focused solely on "HRS" cells and "HRS-like" cells, immunohistochemical staining for antibodies including CD30, CD15, CD20, CD3, and PAX5 were performed on CHL cases, CD137 (clone BBK-2) immunostaining and EBER in situ hybridization were detected in both groups. **Results** All cHL cases aged 22.0–68.0 (median 45.5) years with the male to female ratio as about 1.7:1 primarily involved lymph nodes; while in the control group, 54 cases aged 12.0–81.0 (median 50.0) years

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.06.009

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、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(宋玉琴、张晨、林冬梅、周立新、赵敏、赖玉梅)

通信作者:李敏,Email:minli@bjmu.edu.cn

with male: female=1.9: 1 primarily located in nodes with only 1 case in skin. In the cHL group, CD30, CD15, CD20 and CD3 were positive in 100.0%, 70.4%, 18.5% and 0 cases in order, and PAX5 showed weak to moderate positive in 70.4% cases; the positive rate of EBER was 25.9% in cHL group, and 21.8% in the control group; The CD137 positive rates were 57.4% in cHL and 14.5% in the control groups with a significant difference ( $P<0.001$ ). There were no significant differences when CD137 expressions were further compared according to the differences in age [elder group (aged 60) / non elderly group], gender (male/female), EBV infection (yes/no), histological subtype and the expression of those major diagnostic markers (positive/negative) in either cHL or control groups (all  $P$  valued $>0.05$ ). The positive rates of CD137 expression in cHL were significantly different when sub-grouped according to accession year before or after 2013 (39.4% vs 85.7%,  $P=0.001$ ); However, no difference was seen in the control group (12.5% vs 16.1%,  $P=0.705$ ). For those cases after 2013, the CD137 positive ratio of cHL group was more significantly different with the control one (85.7% vs 16.1%,  $P<0.001$ ). **Conclusion** Frequent expression of CD137 in "HRS" cells of cHL cases from Northern China could be detected by IHC method, while the CD137 expression was much lower in "HRS-like" cells of the control group. The positive rate of CD137 expression by immunohistochemical staining significantly increased in this cohort stored less than 3 years, which might be more reliable. CD137 might be potentially applied on pathological differential diagnosis of cHL.

**[Key words]** Antigens, CD137; Hodgkin disease; Hodgkin cell; Reed- Sternberg cell; Diagnosis, differential

经典型霍奇金淋巴瘤 (classical Hodgkin lymphoma, cHL) 的肿瘤细胞是 Hodgkin 和 Reed-Sternberg (简称 HRS) 细胞, 仅占 1%<sup>[1]</sup>。HRS 细胞不同程度表达 CD30、CD15、PAX5 及 CD20, 10%~75% 的患者与 EBV 感染相关, 北方地区约为 35%<sup>[2]</sup>。尽管 cHL 病理特征鲜明, 但临床上仍可见到一些非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 伴有“HRS 样细胞” (HRS-NHL), 不仅形态学相似且表达 CD30, 易于与 cHL 混淆<sup>[3-5]</sup>。此外, 一些良性病变如淋巴结反应性增生 (LRH)、组织细胞坏死性淋巴结炎 (Kikuchi 病) 等也会出现“HRS 样细胞”<sup>[3-4,6]</sup>。上述疾病误诊为 cHL 则可能会导致治疗不当或过度治疗, 故寻找新标志物辅助 cHL 与上述疾病鉴别诊断, 具有重要意义。有研究显示 CD137 可作为一个辅助 cHL 诊断的标志物 (在 HRS 细胞中表达率为 86.0%~90.6%)<sup>[7-8]</sup>。那么, 非 cHL 疾病中的“HRS 样细胞”是否表达 CD137, 与 cHL 的 HRS 细胞表达 CD137 有无差异, 这种差异有无辅助鉴别诊断价值, 目前尚未发现对上述问题的研究有文献报道。我们希望通过对 cHL 及伴有“HRS 样细胞”的非 cHL 患者进行回顾性研究, 探讨 CD137 在北方地区 cHL 患者中的表达及其潜在的病理鉴别诊断价值。

## 病例与方法

1. 病例: 以 2008 年 12 月至 2014 年 12 月期间北京大学基础医学院病理学系会诊及北京肿瘤医院病理科外检诊断的 54 例 cHL 患者为研究对象, 以伴有“HRS 样细胞”的 55 例非 cHL 患者为对照, 包括

49 例 HRS-NHL [血管免疫母细胞 T 细胞淋巴瘤 (AITL) 19 例, 间变性大细胞淋巴瘤 (ALCL) 18 例, CD30<sup>+</sup> 的弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 7 例, 纵隔大 B 细胞淋巴瘤 (PMBL) 4 例, 介于 cHL 及 DLBCL 间无法分类的 B 细胞淋巴瘤 (BCLU/DLBCL/CHL) 1 例] 以及 6 例良性病变 (LRH 和 Kikuchi 病等)。

依据 2008 年 WHO 淋巴造血系统肿瘤分类标准进行诊断<sup>[1]</sup>, 经 2 位以上血液病理学专家复习所有形态学及诊断相关免疫组织化学染色切片核实诊断, 同时患者存档石蜡包埋组织需符合制作组织芯片的条件。

2. HE 染色及组织芯片标本制作: 所有病理组织标本均经 4% 中性甲醛缓冲液固定, 常规脱水、透明, 石蜡包埋, 切片厚 4~5  $\mu\text{m}$ 。分别在 cHL 及对照组患者标本中选取 HRS 细胞或“HRS 样细胞”丰富的区域以备制作组织芯片。使用法国 Alphelys 公司组织芯片仪制作石蜡包埋组织芯片蜡块 2 个 (每例均包含 2 个直径 1 mm 的组织条, 并且使用芯片仪自带程序标记其对应坐标位置), 切片厚 4~5  $\mu\text{m}$ 。

3. 免疫组织化学染色: 鼠源性 CD30 及 CD15 单克隆抗体购自丹麦 DAKO 公司, 鼠源性 CD20、CD3、PAX5 单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 鼠源性 CD137 单克隆抗体购自美国 Thermo Fisher 公司, 免疫组织化学染色应用美国 Roche 公司的 BENCHMARK-XT 免疫组织化学自动染色机完成, DAB 显色。

CD30 及 CD15 阳性对照为已证实的 CD30 阳性 cHL 肿瘤组织, 阳性信号位于肿瘤细胞胞膜及胞质

高尔基区。CD20、PAX5、CD3的阳性对照为LRH, 分别表达在淋巴结的相应区域,CD20及PAX5表达主要在淋巴滤泡(B区),阳性信号分别位于胞膜及胞核;CD3表达在滤泡间(T区),阳性信号分别位于胞膜及胞质。CD137阳性对照为滤泡树突细胞肿瘤,阳性信号位于胞质及胞膜。所有阴性对照均为以抗体稀释液代替一抗进行染色。>10%肿瘤细胞出现定位准确的棕黄色着色者视为阳性。

4. EBV编码的小RNA(EBER)检测:EBER原位杂交试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。严格按照说明书进行操作。阳性对照为已知EBER阳性的cHL肿瘤组织,阳性着色部位为肿瘤细胞核着色。>10%肿瘤细胞出现定位准确的棕黄色着色者视为阳性。

5. 统计学处理:应用SPSS17.0软件进行统计学分析。计量资料(如年龄)两独立样本均数比较采用*t*检验;计数资料多样本率的比较及两影响因素关联性比较应用 $\chi^2$ 检验(Pearson法),当*n*<40时,采用四格表的Fisher确切概率法(Fisher's exact test)。P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. cHL组及对照组患者的临床特征:54例cHL患者中男34例,女20例,男女比例1.7:1,中位年龄45.5(22.0~68.0)岁(平均年龄44.3岁),所有患者均为淋巴结内原发。对照组55例患者中男36例,女19例,男女比例1.9:1,中位年龄50.0(12.0~81.0)岁(平均年龄49.0岁),发病部位结内54例,结外(皮

肤)1例。两组间平均发病年龄及性别比例差异均无统计学意义(P值分别为0.119和0.786)(表1)。

2. cHL分型及诊断相关免疫标志物的表达:54例cHL患者中结节硬化型(NS)32例(59.3%)、混合细胞型(MC)21例(38.9%),淋巴细胞丰富型(LR)1例(1.8%)。HRS细胞主要诊断相关免疫标志物表达:CD30阳性率为100.0%(54/54);CD15阳性率为70.4%(38/54);PAX5可见弱至中等强度表达,阳性率为70.4%(38/54);CD20阳性率为18.5%(10/54);CD3表达均为阴性。

制作完成的组织芯片经HE染色后,所有cHL患者均可见HRS细胞,而所有对照组患者均具有“HRS样细胞”。经重复免疫组织化学染色证实HRS细胞及“HRS样细胞”均表达CD30(图1A)。

3. EBV感染状态分析:cHL组患者EBV感染阳性率为25.9%(14/54)(图1B),不同组织亚型的感染阳性率:NS 9.4%(3/29),MC 52.4%(11/21),LR为0(0/1),组间差异有统计学意义(P=0.002)。对照组患者EBV感染阳性率为21.8%(12/55),不同组织类型的感染阳性率:AITL为21.1%(4/19),ALCL为16.6%(3/18),CD30<sup>+</sup>DLBCL为28.6%(2/7),PMBL为25%(1/4),BCLU/DLBCL/CHL为100.0%(1/1),LRH为50.0%(1/2),Kikuchi病为0(0/4),组间差异无统计学意义(P=0.409)。

4. CD137在cHL及对照组患者中的表达及差异分析:cHL组患者的HRS细胞CD137阳性率为57.4%(31/54,图1C),对照组中“HRS样细胞”CD137阳性率为14.5%(8/55),差异有统计学意义

表1 经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)组及对照组患者临床病理特征

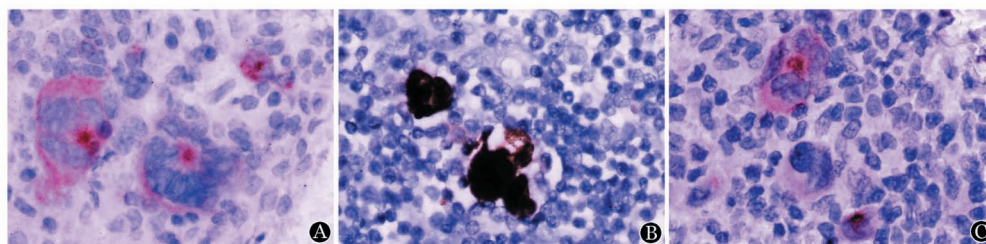
临床特征	全部病例			较新病例(2013年后)		
	cHL组	对照组	P值	cHL组	对照组	P值
年龄(岁)			0.119			0.644
平均数/中位数	44.3/45.5	49.0/50.0		45.0/48.0	47.2/50.0	
范围	22~68	12~81		22~63	12~81	
性别[例(%)]			0.786			0.532
男	34(63.0)	36(65.5)		14(66.7)	18(58.1)	
女	20(37.0)	19(34.5)		7(33.3)	13(41.9)	
EBV感染(HRS/HRS样细胞)[例(%)]			0.615			0.978
阳性	14(25.9)	12(21.8)		4(19.0)	6(19.4)	
阴性	40(74.1)	43(78.2)		17(81.0)	25(80.6)	
CD137(HRS/HRS样细胞)[例(%)]			0.000			0.000
阳性	31(57.4)	8(14.5)		18(85.7)	5(16.1)	
阴性	23(42.6)	47(85.5)		3(14.3)	26(83.9)	

注:HRS细胞:Hodgkin和Reed-Sternberg细胞;对照组:伴有“HRS样细胞”的非cHL患者

( $P < 0.001$ ) (表1)。cHL 组组织学亚型 CD137 阳性率依次为: NS 亚型 56.3% (18/32), MC 亚型 61.9% (13/21), LR 亚型为 0(0/1); 对照组按照病理学分型依次为: ALCL 22.2% (4/18), AITL 15.8% (3/19), CD30<sup>+</sup> DLBCL 14.3% (1/7), PMBL、BCLU/DLBCL/CHL、LRH 及 Kikuchi 病各组中“HRS 样细胞”阳性率均为 0。

5. CD137 的表达与临床特征及标本存档时间相关性分析: 将 cHL 组及对照组患者按照患者年龄 ( $\geq 60 / < 60$  岁)、性别、有无 EBV 感染、组织学亚型及 CD15、PAX5、CD20 是否表达分组, 与 CD137 阳性表达分别进行相关性分析, 差异均无统计学意义

( $P$  值均  $> 0.05$ ) (表 2、3)。由于两组患者发病部位绝大部分为结内, 所有 cHL 病例 CD30 阳性表达、CD3 不表达, 显然发病部位及 CD30、CD3 表达与 CD137 表达均不具相关性, 故未行相关性分析。按照患者标本实际存档年份分别统计, 发现 cHL 组患者标本 CD137 阳性率有逐渐增高趋势, 对照组未见此趋势 (图 2)。以 2013 年为界进行分组, 2013 年前后两组 cHL 患者的 CD137 阳性率差异有统计学意义 (39.4% 对 85.7%,  $P = 0.001$ ), 对照组差异无统计学意义 (12.5% 对 16.1%,  $P = 0.705$ )。2013 以后的 cHL 组和对照组患者 CD137 阳性率差异有统计学意义 (85.7% 对 16.1%,  $P < 0.001$ ) (表 2、3)。



A: 免疫组织化学染色检测示 CD30 在 HRS 细胞的阳性表达; B: 原位杂交染色检测示 HRS 细胞 EBV 编码的小 RNA (EBER1/2) 阳性表达; C: 免疫组织化学染色检测示 CD137 在 HRS 细胞的阳性表达

图 1 经典型霍奇金淋巴瘤典型 Hodgkin 和 Reed-Sternberg 细胞 (HRS 细胞) 免疫组织化学染色及 EB 病毒原位杂交检测结果 ( $\times 400$ )

表 2 经典型霍奇金淋巴瘤组患者 CD137 表达与临床特征的相关性分析 [例 (%) ]

临床特征	全部病例 (54 例)			2013 年后病例 (21 例)		
	例数	阳性表达	$P$ 值	例数	阳性表达	$P$ 值
年龄 (岁)			0.110			0.080
<60	45	28 (62.2)		17	16 (94.1)	
$\geq 60$	9	3 (33.3)		4	2 (50.0)	
性别			0.387			0.521
男	34	18 (52.9)		14	11 (78.6)	
女	20	13 (65.0)		7	7 (100.0)	
EBV 感染			0.515			0.489
阳性	14	7 (50.0)		4	3 (75.0)	
阴性	40	24 (60.0)		17	15 (88.2)	
组织学亚型			0.463			0.531
结节硬化型	32	18 (56.3)		13	12 (92.3)	
混合细胞型	21	13 (61.9)		8	6 (75.0)	
淋巴细胞丰富型	1	0		0	0	
免疫表型						
CD15			0.055			0.080
阳性	38	25 (65.8)		17	16 (94.1)	
阴性	16	6 (37.5)		4	2 (50.0)	
PAX5			0.274			1.000
阳性	38	20 (52.6)		18	14 (77.8)	
阴性	16	11 (68.8)		3	3 (100.0)	
CD20			0.600			0.128
阳性	10	5 (50.0)		18	3 (16.7)	
阴性	44	26 (59.1)		3	2 (66.7)	

表3 伴有“HRS样细胞”的非典型霍奇金淋巴瘤患者CD137表达与临床特征的相关性分析[例(%)]

临床特征	全部病例(55例)			2013年后病例(31例)		
	例数	阳性表达	P值	例数	阳性表达	P值
年龄(岁)			0.614			0.291
<60	37	6(16.2)		23	5(21.7)	
≥60	18	2(11.1)		8	0	
性别			0.320			1.000
男	36	4(11.1)		18	3(16.7)	
女	19	4(21.1)		13	2(15.4)	
EBV感染			0.245			1.000
阳性	12	3(25.0)		6	1(16.7)	
阴性	43	5(11.6)		25	4(16.0)	
病理学分型			0.840			0.701
ALCL	18	4(22.2)		10	3(30.0)	
AITL	19	3(15.8)		9	1(11.1)	
CD30 <sup>+</sup> DLBCL	7	1(14.3)		5	1(20.0)	
PMBL	4	0		1	0	
BCLU/DLBCL/CHL	1	0		0	0	
LRH	2	0		2	0	
Kikuchi病	4	0		4	0	

注:HRS:Hodgkin和Reed-Sternberg;ALCL:间变性大细胞淋巴瘤;AITL:血管免疫母细胞T细胞淋巴瘤;DLBCL:弥漫大B细胞淋巴瘤;PMBL:纵隔大B细胞淋巴瘤;BCLU/DLBCL/CHL:介于霍奇金淋巴瘤及DLBCL间无法分类的B细胞淋巴瘤;LRH:淋巴结反应性增生;Kikuchi病:组织细胞性坏死性淋巴结炎

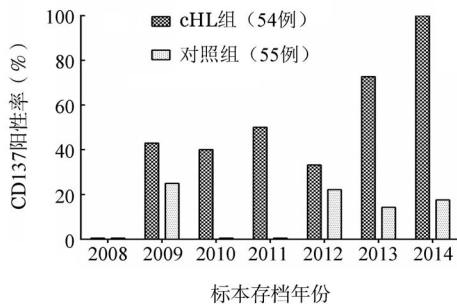


图2 经典型霍奇金淋巴瘤(cHL)组及对照组患者CD137阳性率与肿瘤石蜡标本存档年份对应关系图

### 讨论

CD137又称为4-1BB/TNFRSF9,为一种跨膜糖蛋白,属于肿瘤坏死因子受体超家族成员。生理情况下CD137配体(CD137L)可表达于抗原提呈细胞(APC)。而T细胞表达CD137(又称为CD137受体),CD137L/CD137结合形成复合物有利于机体维持自身免疫活性,是维持机体抗肿瘤免疫活性的机制之一<sup>[8]</sup>。

HRS细胞通常高表达CD137L,本应激活表达CD137的T细胞并产生针对cHL肿瘤的细胞免疫;但实际上HRS细胞“鹤立鸡群”地存在于大量T细胞为主的背景细胞内而“相安无事”,这可能与cHL

的肿瘤细胞处于“免疫抑制”的微环境有关<sup>[9]</sup>。免疫抑制除了和HRS细胞本身高表达PDL-1致PD-1通路异常,抑制了T细胞细胞免疫外,还和cHL肿瘤细胞所处的免疫抑制微环境有关,从而有利于肿瘤得到免疫豁免并持续增殖<sup>[8-10]</sup>。有研究报道cHL患者HRS细胞中CD137阳性率高达86.0%~90.6%,且表达量足以通过免疫组织化学染色法检测出来,并推荐采用CD137抗体(BBK-2)<sup>[7-8]</sup>。在本研究中我们采用同样的抗体和免疫组织化学染色法进行检测,结果显示北方地区中大部分cHL患者表达CD137,尤其是2013年以后的患者标本中CD137阳性率高达85.7%,与文献报道一致。

而所谓的“HRS样细胞”出现于HRS-NHL或淋巴瘤组织良性病变中,其与cHL中HRS细胞形态相似,其本质可能是增生的免疫母细胞(见于AITL、Kikuchi病等),也可以是非cHL的肿瘤细胞(见于ALCL、CD30<sup>+</sup>DLBCL、PMBL及BCLU/CHL/DLBCL等)。同时由于“HRS样细胞”免疫组织化学染色表达CD30并且多为B细胞来源。如“HRS样细胞”周围出现数量多而体积相对小的cHL样“背景”细胞成分,就会出现类似cHL的组织特征。此时,诊断经验不足的病理医师如若“照本宣科”,极有可能诊断错误,进而导致临床采用错误的治疗

方案。推测由于病因及发病机制有别,此类细胞很少或者并未出现在HRS细胞经历的类似分子事件,因而不表达或低表达CD137蛋白。Anderson等<sup>[7]</sup>报道B-NHL患者CD137阳性率较低。本组患者中仅有1例CD30<sup>+</sup>DLBCL表达CD137。Anderson的报道未提及AITL中“HRS样细胞”CD137表达的情况,推测由于AITL中的“HRS样细胞”为转化的免疫母样B细胞而非肿瘤细胞,所以不会有CD137的表达异常增高。我们的研究结果显示“HRS样细胞”低表达CD137,证实了上述推测。此外,Anderson等<sup>[7]</sup>报道T-NHL患者CD137阳性率较高(56%)。由于AITL细胞成分复杂,且需通过荧光双色免疫组织化学法检测证实阳性细胞为肿瘤细胞,由于本研究中AITL病例数较少,且并非本研究主旨,故未进行深入探讨。

尽管本研究中患者CD137总体阳性率(57.4%)低于文献<sup>[7-8]</sup>的报道(86.0%~90.6%),但单就2013年后患者标本分析结果(阳性率85.7%)则与之趋于一致。推测可能和标本存档年份增加致使CD137抗原不断丢失有关;而cHL其他主要诊断标志物(CD30、CD15、PAX5、CD20、CD3以及EBER原位杂交)则与标本存档年份(2013年前后)未见显著相关性,表明仅CD137抗原不易在石蜡标本中稳定长期保存。而如按研究检测时间(2015年11月)计算,则说明3年以内(2013年以后)的存档标本适于进行免疫组织化学染色检测CD137,辅助诊断结果可靠;而超过3年以上(2013年以前)的存档标本CD137抗原丢失显著,可能不适于检测CD137来辅助鉴别诊断。由于本组研究病例数相对较少,希望今后进一步积累病例进行深入研究。

国内外大量研究证实,EBV是HL发病中很重要的致病因素<sup>[1,11]</sup>,并且部分患者中参与了cHL中最重要致瘤信号通路NF- $\kappa$ B通路的异常激活<sup>[11-12]</sup>。但是仅Yoshimori等<sup>[13]</sup>报道在EBV相关的T或NK细胞淋巴组织增殖异常的患者中发现EBV感染的肿瘤细胞出现CD137基因高表达,而cHL患者中未见EBV感染与CD137表达的相关性报道。在本研究中只有不到1/3的cHL患者HRS细胞出现EBV感染,而大部分患者HRS细胞表达CD137,从另一角度说明HRS细胞表达CD137更主要的意义可能不是促进肿瘤本身的发生和演进,而是维持肿瘤免疫抑制微环境的形成<sup>[8]</sup>。

那么抗CD137抗体辅助鉴别诊断的价值如何呢?典型的形态学改变结合cHL相关免疫标志物

可以诊断绝大部分的cHL病例。我们之前对北方地区较大样本HL病例进行了统计分析,结果显示CD30、CD15、PAX5、CD20、CD3以及EBER原位杂交阳性率依次为96.6%、52.2%、75.1%、22.6%、0.4%、39.6%<sup>[2]</sup>;但对于3个及以上的标志物阴性的特殊病例,则可能会出现与其他类型淋巴瘤鉴别困难,此时增加CD137染色可能会提供重要帮助,如本组cHL患者中有4例CD20、PAX5、EBER均阴性及2例CD20、CD15、EBER均阴性的病例,则此时增加CD137免疫组织化学染色,阳性比值分别为4/4及1/2,结合之前的统计分析,则可在一定程度上辅助cHL诊断并与类似病变鉴别。同样由于例数相对较少,并且除对照组有1例为结外病例,选取病例均为结内病例,故仍需要积累病例以及增加结外病例来进一步积累经验和深入探讨。

此外,将CD137抗体作为生物制剂和靶向药物,在实体瘤和淋巴造血肿瘤都已经有了广泛研究,并取得临床前期的进展<sup>[14]</sup>,使用主动阻断(agonistic-blocking)抗CD137抗体显示在鼠类的肉瘤、肥大细胞瘤以及浆细胞瘤中都有显著疗效<sup>[15-16]</sup>。由此推断,由于cHL的HRS细胞高表达CD137,有望成为cHL靶向治疗的新靶点。

综上,在本研究中我们通过免疫组织化学染色初步证实了多数cHL患者的HRS细胞表达CD137,而对照组患者中“HRS样细胞”低表达CD137,差异有统计学意义。经分析发现cHL组的CD137阳性率有随标本实际存档年份而递增的趋势,对3年以内存档标本采用免疫组织化学染色法进行CD137检测,可望有较好的辅助cHL病理鉴别诊断的价值。CD137抗体亦具有用于cHL的靶向治疗的潜在价值。

#### 参考文献

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [M]. In 4th ed. Lyon, France: IARC press, 2008: 321-334.
- [2] 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病毒感染的关系分析[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(2): 84-89. doi:10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2015.02.002.
- [3] Gomez-Gelvez JC, Smith LB. Reed-Sternberg-Like Cells in Non-Hodgkin Lymphomas [J]. Arch Pathol Lab Med, 2015, 139(10):1205-1210. doi: 10.5858/arpa.2015-0197-RAI.
- [4] Moroch J, Copie-Bergman C, de Leval L, et al. Follicular peripheral T-cell lymphoma expands the spectrum of classical Hodgkin lymphoma mimics [J]. Am J Surg Pathol, 2012, 36(11): 1636-1646. doi: 10.1097/PAS.0b013e318268d9ff.

[5] Quintanilla-Martinez L, Fend F, Moguel LR, et al. Peripheral T-cell lymphoma with Reed-Sternberg-like cells of B-cell phenotype and genotype associated with Epstein-Barr virus infection[J]. Am J Surg Pathol, 1999, 23(10):1233-1240.

[6] Dane F, Ozturk MA, Tecimer T, et al. A case of Kikuchi-Fujimoto disease misdiagnosed as Hodgkin's lymphoma: the importance of second opinion[J]. J BUON, 2009, 14(2):309-311.

[7] Anderson MW, Zhao S, Freud AG, et al. CD137 is expressed in follicular dendritic cell tumors and in classical Hodgkin and T-cell lymphomas: diagnostic and therapeutic implications[J]. Am J Pathol, 2012, 181(3): 795-803. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.05.015.

[8] Ho WT, Pang WL, Chong SM, et al. Expression of CD137 on Hodgkin and Reed-Sternberg cells inhibits T-cell activation by eliminating CD137 ligand expression[J]. Cancer Res, 2013, 73(2): 652-661. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3849.

[9] Pang WL, Ho WT, Schwarz H. Ectopic CD137 expression facilitates the escape of Hodgkin and Reed-Sternberg cells from immunosurveillance[J]. Oncoimmunology, 2013, 2(4): e23441. doi: 10.4161/onci.23441.

[10] Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma[J]. N Engl J Med, 2015, 372(4): 311-319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.

[11] Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2009: 491-496. doi: 10.1182/asheducation-2009.1.491.

[12] Bargou RC, Emmerich F, Krappmann D, et al. Constitutive nuclear factor- $\kappa$ B-RelA activation is required for proliferation and survival of Hodgkin's disease tumor cells[J]. J Clin Invest, 1997, 100(12): 2961-2969. doi: 10.1172/JCI119849.

[13] Yoshimori M, Imadome K, Komatsu H, et al. CD137 expression is induced by Epstein-Barr virus infection through LMP1 in T or NK cells and mediates survival promoting signals[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112564. doi: 10.1371/journal.pone.0112564.

[14] Lynch DH. The promise of 4-1BB (CD137)-mediated immunomodulation and the immunotherapy of cancer[J]. Immunol Rev, 2008, 222: 277-286. doi:10.1111/j.1600-065X.2008.00621.x.

[15] Melero I, Murillo O, Dubrot J, et al. Multi-layered action mechanisms of CD137 (4-1BB)-targeted immunotherapies[J]. Trends Pharmacol Sci, 2008, 29(8): 383-390. doi: 10.1016/j.tips.2008.05.005.

[16] Murillo O, Arina A, Hervas-Stubbs S, et al. Therapeutic antitumor efficacy of anti-CD137 agonistic monoclonal antibody in mouse models of myeloma[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(21): 6895-906. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0285.

(收稿日期:2016-01-11)

(本文编辑:刘志红)

·读者·作者·编者·

2016年本刊可直接用英文缩写的常用词汇

磷酸盐缓冲液 PBS

胎牛血清 FBS

血红蛋白 HGB

红细胞计数 RBC

白细胞计数 WBC

血小板计数 PLT

中性粒细胞绝对计数 ANC

核因子- $\kappa$ B NF- $\kappa$ B

聚合酶链反应 PCR

逆转录-聚合酶链反应 RT-PCR

酶联免疫吸附实验 ELISA

辅助性T淋巴细胞 Th

丙氨酸转氨酶 ALT

天冬氨酸转氨酶 AST

谷氨酰转移酶 GGT

碱性磷酸酶 ALP

乳酸脱氢酶 LDH

凝血酶原时间 PT

部分激活的凝血活酶时间 APTT

EB病毒 EBV

巨细胞病毒 CMV

乙型肝炎病毒 HBV

丙型肝炎病毒 HCV

人类免疫缺陷病毒 HIV

自然杀伤细胞 NK细胞

白细胞介素 IL

干扰素 IFN

肿瘤坏死因子 TNF

红细胞生成素 EPO

血小板生成素 TPO

干细胞生长因子 SCF

粒细胞集落刺激因子 G-CSF

粒-巨噬细胞集落刺激因子 GM-CSF

巨噬细胞集落刺激因子 M-CSF

粒-巨噬细胞集落形成单位 CFU-GM

细胞毒性T淋巴细胞 CTL

噻唑蓝实验 MTT实验

弥漫性血管内凝血 DIC

磁共振成像 MRI

正电子发射断层扫描 PET

乙二胺四乙酸 EDTA

十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-PAGE

二甲基亚砜 DMSO

荧光原位杂交 FISH

美国国家综合癌症网络 NCCN

国际预后积分系统 IPSS

常见不良反应事件评价标准 CTCAE