

老年EB病毒阳性弥漫大B细胞淋巴瘤七例报告及文献复习

王聪 李薇 刘春水 白鸥

Clinicopathological features and prognostic analysis of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma in elderly: 7 cases report and literatures review Wang Cong, Li Wei, Liu Chunshui, Bai Ou

Corresponding author: Bai Ou, Department of Cancer Center, the First Affiliated Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China. Email: oubai16@163.com

研究证实,EB病毒(EBV)感染与传染性单核细胞增多症、X染色体相关的淋巴增生综合征、移植后淋巴细胞增殖性疾病、Burkitts淋巴瘤、霍奇金病、结外NK/T细胞淋巴瘤鼻型、鼻咽癌等疾病的发生、发展密切相关^[1-2]。2003年Oyama等^[3]报道了22例60岁以上不存在免疫缺陷的EBV阳性B细胞淋巴系统增殖性疾病患者,提示这类疾病与年龄所致的免疫系统功能退化相关。随后2007年Oyama等^[4]发现,EBV阳性弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)患者的发病年龄高于EBV阴性者,临床表现更具侵袭性且预后较差。在韩国的一项研究中,380例DLBCL患者中EBV阳性者占9.0%(34例)^[5]。在2008年版WHO淋巴肿瘤分类中,老年EBV阳性DLBCL作为新的亚型被单独列出并定义为:年龄大于50岁、既往没有免疫缺陷且EBV阳性的B细胞单克隆增殖性疾病^[6]。本研究中我们对147例DLBCL患者的临床资料进行回顾性分析,旨在探讨老年EBV阳性DLBCL患者的临床特征及预后。

病例和方法

1. 病例:2010年01月01日至2013年12月31日吉林大学第一医院肿瘤中心收治的147例DLBCL患者纳入本研究,入组患者均采用原位杂交法检测EBV编码的小RNA(EBER)进行EBV的诊断。排除既往存在淋巴瘤、移植病史及免疫功能缺陷的患者。由2位病理专家对其组织形态学和免疫表型进行复诊,描述其形态特征。所有患者均接受CHOP方案(环磷酰胺+多柔比星+长春新碱+泼尼松)或CHOP联合利妥昔单抗化疗±局部放疗±手术治疗。收集的临床资料包括性别、年龄、临床表现、病理形态特征、免疫表

型、Ann Arbor分期、国际预后指数(IPI)评分、美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分等。

2. 免疫组织化学检测:用免疫组织化学方法检测肿瘤细胞CD3、MUM-1、CD30、EMA、ALK、CD56、CD19、CD20、CD79a、PAX-5、CD68、Ki-67、LMP-1等表达。

3. EBER原位杂交检测EBV:采用EBV寡核苷酸探针(EBER 1/2)原位杂交技术检测病变组织中EBV mRNA表达。探针为丹麦Dako公司产品(Y5200)。EBER阳性细胞>20%判定为EBV阳性。

4. 随访:通过查阅病历记录及电话随访获得患者生存状态信息。总体生存时间是从首次确诊开始至随访截止(2014年10月31日)或死亡的时间。

5. 统计学处理:采用SPSS 17.0软件进行数据分析,计数资料的比较用 χ^2 检验;生存率比较应用Kaplan-Meier方法,Log-rank检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 临床特征:147例DLBCL患者中,8例判定为EBV阳性(44岁患者1例、>50岁患者7例)。符合老年EBV阳性DLBCL诊断标准^[6]的7例患者中,男5例,女2例;中位年龄为62(53~83)岁;2例起源于淋巴结,5例起源于淋巴结外器官(甲状腺、胃肠道、肝脏、肾上腺及骨髓);3例存在B症状(发热、盗汗、体重减轻等非特异性全身症状),4例ECOG评分>2分,5例Ann Arbor临床分期为Ⅲ/Ⅳ期,4例IPI评分 ≥ 3 分(中高危/高危)。详见表1。

7例老年EBV阳性DLBCL患者与85例>50岁EBV阴性DLBCL患者在性别比例、B症状、大肿块、骨髓浸润、病理亚型、结外受累、临床分期及IPI评分等方面差异均无统计学意义,但老年EBV阳性DLBCL患者ECOG评分较EBV阴性组差($P=0.004$)。详见表2。

2. 病理特征:7例老年EBV阳性DLBCL患者中单一大细胞亚型4例,多形性亚型3例,肿瘤细胞异型明显,可见R-S细胞样及间变性大细胞淋巴瘤特征性细胞样巨细胞,伴多量反应性炎性细胞,其中5例存在大片地图样坏死。7例老年EBV阳性DLBCL患者均表达B细胞标志CD20,Ki-67阳性率为70%~90%。7例患者中6例为非生发中心起源B细胞(non-GCB)型,1例为生发中心起源B细胞(GCB)型。详见表3。

3. 治疗反应及生存情况:7例老年EBV阳性DLBCL患者中,1例因高龄、一般状态差而放弃治疗,确诊5个月死亡;2例原发于胃肠道的患者经过手术切除后联合

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.08.016

基金项目:吉林省科技发展计划(20130206024SF)

作者单位:130021 长春,吉林大学白求恩第一医院肿瘤中心淋巴瘤协作组

通信作者:白鸥,Email:oubai16@163.com

表1 7例老年EBV阳性弥漫大B细胞淋巴瘤患者临床资料及转归

例号	性别	年龄(岁)	原发部位	B症状	ECOG评分	Ann Arbor分期	IPI评分	骨髓浸润	治疗	转归	生存期(月)
1	男	83	淋巴结	+	2	I	3	-	未治疗	死亡	5
2	男	75	胃肠道	-	1	II	1	-	手术切除+RCOHP×4	CR	15
3	男	63	淋巴结	+	2	III	4	-	RCOHP×1	死亡	3.5
4	女	62	胃肠道、骨髓	-	1	IV	2	+	手术切除+COHP×6	CR	18
5	女	55	甲状腺、脾	+	2	IV	3	-	COHP×2	失访	/
6	男	54	甲状腺	-	0	III	1	-	手术切除+COHP×3	死亡	3
7	男	53	肝、甲状腺	-	3	IV	3	-	RCOHP×3	死亡	2.5

注: ECOG: 美国东部肿瘤协作组; IPI: 国际预后指数; B症状: 发热、盗汗、体重减轻等非特异性全身症状; CR: 完全缓解; /: 无资料; CHOP方案: 环磷酰胺+多柔比星+长春新碱+泼尼松; RCHOP方案: CHOP方案+利妥昔单抗

表2 50岁以上EBV阳性与EBV阴性弥漫大B细胞淋巴瘤患者临床特征比较

临床特点	EBV阳性(7例)	EBV阴性(85例)	P值
中位年龄(岁)	62(53~83)	59(51~84)	0.284
性别[例]			0.376
男	5	46	
女	2	39	
B症状[例]			0.972
有	3	37	
无	4	48	
大肿块[例]			0.189
有	3	18	
无	4	67	
原发部位[例]			0.080
淋巴结外	5	32	
淋巴结	2	53	
骨髓浸润[例]			0.387
有	1	5	
无	6	80	
Ann Arbor分期[例]			0.193
I/II	2	46	
III/IV	5	39	
ECOG评分[例]			0.004
<2	3	73	
≥2	4	12	
IPI评分[例]			0.196
<3	3	57	
≥3	4	28	

注: ECOG: 美国东部肿瘤协作组; IPI: 国际预后指数; B症状: 发热、盗汗、体重减轻等非特异性全身症状

COHP±R 方案化疗达完全缓解; 3例原发于甲状腺的患者经过手术±COHP/RCHOP 方案治疗后, 其中2例疾病快速进展而死亡, 1例失访; 1例原发于淋巴结的患者经RCHOP 方案治疗后死亡。本研究中7例老年EBV阳性DLBCL患者中2例完全缓解, 中位生存期为5(2.5~18)个月。同期收治的85例EBV阴性>50岁DLBCL患者的中位生存期为16(0.5~48)

个月, 优于7例老年EBV阳性DLBCL患者($P=0.014$)(图1)。

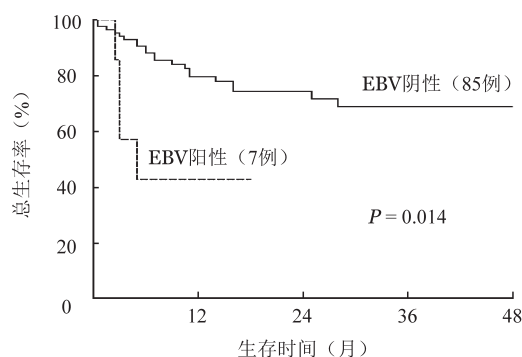


图1 EBV阳性与EBV阴性老年(>50岁)弥漫大B细胞淋巴瘤患者的生存比较

讨论

老年EBV阳性DLBCL是WHO(2008)造血与淋巴组织肿瘤分类中一个新的DLBCL亚型。从免疫学角度考虑, 衰老可导致体内炎症及抗炎过程的失衡, 炎症产生的氧化活性分子可引起p53、Rb、NF-κB及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等致癌信号通路的激活, 从而促进淋巴瘤的产生^[7]。但是越来越多的研究认为EBV阳性DLBCL在年轻人中也有一定的发病率^[4,6,8]。我们在研究中也发现1例44岁EBER阳性的DLBCL患者, 在Oyama等^[4]的一项大型临床研究中甚至将老年EBV阳性DLBCL的年龄界定在40岁。

老年EBV阳性DLBCL的确诊需要明确的EBV感染证据, 但是WHO分类中并未明确定义EBV阳性的判定方法。许多临床研究将大部分肿瘤细胞存在EBER阳性定义为EBV阳性, 判定界值从10%至50%不等。

老年EBV阳性DLBCL的发生率为2.4%~14.1%^[9-10], 东亚地区8.7%~9.7%^[6-7,11], 西方国家低于5%^[9], 墨西哥为7%^[9], 秘鲁高达14.1%^[10]。老年EBV阳性DLBCL的发病率可能与地域和(或)人种有一定的相关性, 但各个研究中心对该疾病的诊断标准, 如年龄及判定EBV感染的EBER阳性的界值可能是影响其发病率数据的最大的因素。我们将年龄界定为50岁, EBER阳性细胞大于20%定义为EBV感染, 全部147

表3 7例老年EBV阳性弥漫大B细胞淋巴瘤病理形态及免疫表型特点

例号	病理形态	地图样坏死	CD20	CD10	Bcl-6	Mum-1	Bcl-2	CD30	Ki-67(%)	GCB/non-GCB
1	单一	+	+	-	-	+	+	+	90	non-GCB
2	多形	+	+	-	+	+	-	+	90	non-GCB
3	单一	+	+	-	-	+	+	-	70	non-GCB
4	单一	-	+	+	-	-	-	+	90	GCB
5	多形	+	+	-	+	+	+	-	70	non-GCB
6	单一	+	+	-	-	+	+	+	70	non-GCB
7	多形	-	+	-	-	+	+	+	90	non-GCB

注:non-GCB;非生发中心起源B细胞亚型;GCB;生发中心起源B细胞亚型

例DLBCL患者中老年EBV阳性患者占4.76%。

许多研究均表明EBV阳性DLBCL患者的发病年龄高、临床表现更具侵袭性且预后较差。在以往的研究结果中,老年EBV阳性DLBCL的中位发病年龄为65~77岁,以男性多见,近半数以上的患者Ann Arbor临床分期为晚期,IPI评分较高,常存在B症状,结外受累多见^[4,5,8-11],预后较差。本研究7例老年EBV阳性DLBCL患者的中位发病年龄为62(53~83)岁,以男性多见,半数以上的患者均有红细胞沉降率、乳酸脱氢酶及β₂微球蛋白的升高,5例患者Ann Arbor临床分期为晚期,4例患者ECOG评分大于2分,4例患者IPI评分大于3分。这些临床指标均提示老年EBV阳性DLBCL患者的肿瘤负荷重、侵袭性强。将7例老年EBV阳性DLBCL患者的临床特点与同期收治的85例EBV阴性且年龄>50岁的DLBCL患者相比较,发现EBV阳性患者仅在ECOG评分方面劣于EBV阴性患者。

几乎所有的研究均认为老年EBV阳性DLBCL对治疗反应差,预后不佳,这也是该亚型被单独列出的原因之一。因治疗方案选择的差异、患者依从性的不同,各研究报告的中位生存期从5个月到35.8个月不等,但明显劣于EBV阴性的DLBCL^[5,10-12]。本研究中7例老年EBV阳性DLBCL患者中位生存时间为5(2.5~18)个月,与同期收治的EBV阴性DLBCL患者相比,其生存期显著缩短。

老年EBV阳性DLBCL组织病理上常常可见到地图样坏死,从细胞形态上常可分为两个亚型:单一大细胞亚型多为转化的大细胞;多形性细胞亚型,细胞常常大小不一,形态多样,可见组织细胞、浆细胞、小淋巴细胞、免疫母细胞及R-S样巨细胞等^[13-14]。本研究老年人EBV阳性DLBCL中以单一大细胞亚型略多见,其中5例可见大片地图样坏死。按照Hans标准根据CD10、Bcl-6及Mum-1免疫组化结果将7例患者分为GCB、non-GCB亚型,其中6例为non-GCB型。许多研究也发现老年EBV阳性DLBCL患者以non-GCB亚型为主^[5,15],可能与NF-κB信号通路的激活相关^[16]。

虽然老年EBV阳性DLBCL在病理形态及免疫组化上有独特的表现,但ERBR检测仍然是诊断的金标准。Gibson及His^[15]认为在以下情况下应行ERBR检测:存在多形性细胞、浆细胞及R-S样细胞浸润,血管受侵,大片坏死及non-GCB亚型。

目前,老年EBV阳性DLBCL的治疗尚无统一的方案。单一化疗效果并不理想,一般可选择利妥昔单抗联合CHOP方案化疗^[17]。但患者的治疗反应差。目前研究的治疗手段包括:①EBV-特异性获得免疫疗法:可在体外活化培养及扩增EBV特异细胞毒性T细胞,然后回输至患者体内,EBV特异细胞毒性T细胞可通过嵌合受体靶向识别并溶解EBV感染的肿瘤细胞^[18]。最近的研究表明老年EBV阳性DLBCL属于表达EBNA3A显性蛋白的Ⅲ型EBV潜伏感染^[19],提示特异性细胞毒性T细胞可以很好地杀伤这部分肿瘤细胞。②mi-RNA靶向治疗:目前已经发现44种EBV-miRNA,可以在感染潜伏期靶向宿主细胞的转录过程^[20]。EBV-miR-BART5可以靶向并降解p53正调节的凋亡蛋白,EBV-miR-BHRF1可以促进B细胞的转化及增殖并抑制细胞凋亡^[21],因此靶向mi-RNA的治疗前景值得期待。现今已有的设想包括^[22]:应用反mi-RNA的寡核苷酸直接靶向EBV-miRNA,从而阻断miRNA与mRNA之间的作用;设计小分子的抑制剂可以靶向抑制特异性miRNA的合成;设计与miRNA相似的序列,与mRNA高效结合从而阻止miRNA与mRNA之间的作用。③联合抗疱疹病毒治疗:在诱导EBV感染的肿瘤细胞溶解后联合应用抗疱疹病毒药物也是一个潜在的治疗手段。常见的诱导细胞溶解的药物有DNA甲基化转移酶抑制剂、组蛋白去乙酰转移酶抑制剂、B细胞受体的封闭性抗体及化疗药物等^[23]。最近的一项研究表明组蛋白去乙酰转移酶抑制剂帕比司他(Panobinostat)可以有效治疗EBV相关淋巴瘤^[24]。④信号传导通路的靶向治疗:老年EBV阳性DLBCL主要由NF-κB信号传导通路激活,从而导致活化B细胞来源的肿瘤形成,故靶向NF-κB传导通路的治疗手段可能有效^[16]。研究发现蛋白酶体抑制剂硼替佐米可以诱导EBV原始淋巴细胞系凋亡,并降低NF-κB信号传导通路的活性^[25]。

最新的研究表明PI3K-PDK1在活化B细胞来源的DLBCL中可以上调NF-κB信号传导通路^[26],因此PI3K抑制剂可以降低NF-κB信号通路的活动,用于治疗活化B细胞来源的DLBCL。此外,EBNA1在感染EBV的细胞中持续表达,并保存了EBV的基因组,Sun等^[27]的研究表明Hsp90抑制剂可以通过降低EBNA1的活性而阻止EBV阳性恶性细胞的生长,而且Hsp90还被证实可以抑制NF-κB的活性^[28]。

由于 EBV 阳性 DLBCL 患者高度表达 CD30, 因此 CD30 单克隆抗体可能成为治疗的又一选择^[29]。

参考文献

- [1] Cohen JJ, Bollard CM, Khanna R, et al. Current understanding of the role of Epstein-Barr virus in lymphomagenesis and therapeutic approaches to EBV-associated lymphomas[J]. *Leuk Lymphoma*, 2008, 49 Suppl 1:27-34.
- [2] Dolcetti R. B lymphocytes and Epstein-Barr virus: the lesson of post-transplant lymphoproliferative disorders[J]. *Autoimmun Rev*, 2007, 7(2):96-101.
- [3] Oyama T, Ichimura K, Suzuki R, et al. Senile EBV + B-cell lymphoproliferative disorders: a clinicopathologic study of 22 patients[J]. *Am J Surg Pathol*, 2003, 27(1):16-26.
- [4] Oyama T, Yamamoto K, Asano N, et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17):5124-5132.
- [5] Park S, Lee J, Ko YH, et al. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2007, 110(3):972-978.
- [6] Delsol G. The 2008 WHO lymphoma classification[J]. *Ann Pathol*, 2008, 1(1):S20-24.
- [7] Franceschi C, Capri M, Monti D, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans[J]. *Mech Ageing Dev*, 2007, 128(1):92-105.
- [8] Uner A, Akyurek N, Saglam A, et al. The presence of Epstein-Barr virus (EBV) in diffuse large B-cell lymphomas (DLBCLs) in Turkey: special emphasis on 'EBV-positive DLBCL of the elderly'[J]. *APMIS*, 2011, 119(4/5):309-316.
- [9] Hofscheier A, Ponciano A, Bonzheim I, et al. Geographic variation in the prevalence of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly: a comparative analysis of a Mexican and a German population[J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(8):1046-1054.
- [10] Beltran BE, Castillo JJ, Morales D, et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly: a case series from Peru[J]. *Am J Hematol*, 2011, 86(8):663-667.
- [11] 徐方平, 刘艳辉, 庄恒国. 老年人 EB 病毒阳性弥漫大 B 细胞淋巴瘤的临床病理特征[J]. *中华病理学杂志*, 2011, 40(9): 616-621.
- [12] Chang ST, Lu YH, Lu CL, et al. Epstein-Barr virus is rarely associated with diffuse large B cell lymphoma in Taiwan and carries a trend for a shorter median survival time[J]. *J Clin Pathol*, 2014, 67(4):326-332.
- [13] Asano N, Yamamoto K, Tamaru J, et al. Age-related Epstein-Barr virus (EBV) - associated B-cell lymphoproliferative disorders: comparison with EBV-positive classic Hodgkin lymphoma in elderly patients[J]. *Blood*, 2009, 113(12): 2629-2636.
- [14] Shimoyama Y, Yamamoto K, Asano N, et al. Age-related Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders: special references to lymphomas surrounding this newly recognized clinicopathologic disease[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(6):1085-1091.
- [15] Gibson SE, Hsi ED. Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphoma of the elderly at a United States tertiary medical center: an uncommon aggressive lymphoma with a nongermlinal center B-cell phenotype[J]. *Hum Pathol*, 2009, 40(5):653-661.
- [16] Montes-Moreno S, Odqvist L, Diaz-Perez JA, et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly is an aggressive post-germlinal center B-cell neoplasm characterized by prominent nuclear factor-kB activation[J]. *Mod Pathol*, 2012, 25(7):968-982.
- [17] Habermann TM, Weller EA, Morrison VA, et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(19):3121-3127.
- [18] Martorelli D, Muraro E, Merlo A, et al. Exploiting the interplay between innate and adaptive immunity to improve immunotherapeutic strategies for Epstein-Barr-virus-driven disorders[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:931952.
- [19] Nguyen-Van D, Keane C, Han E, et al. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly expresses EBNA3A with conserved CD8 T-cell epitopes[J]. *Am J Blood Res*, 2011, 1(2):146-159.
- [20] Barth S, Meister G, Grässer FA. EBV-encoded miRNAs[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1809(11-12):631-640.
- [21] Martín-Pérez D, Vargiu P, Montes-Moreno S, et al. Epstein-Barr virus microRNAs repress BCL6 expression in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Leukemia*, 2012, 26(1): 180-183.
- [22] Kunej T, Godnic I, Horvat S, et al. Cross talk between microRNA and coding cancer genes[J]. *Cancer J*, 2012, 18(3):223-231.
- [23] Ghosh SK, Perrine SP, Faller DV. Advances in Virus-Directed Therapeutics against Epstein-Barr Virus-Associated Malignancies[J]. *Adv Virol*, 2012, 2012:509296.
- [24] Ghosh SK, Perrine SP, Williams RM, et al. Histone deacetylase inhibitors are potent inducers of gene expression in latent EBV and sensitize lymphoma cells to nucleoside antiviral agents[J]. *Blood*, 2012, 119(4):1008-1017.
- [25] Zou P, Kawada J, Pesnicak L, et al. Bortezomib induces apoptosis of Epstein-Barr virus (EBV)-transformed B cells and prolongs survival of mice inoculated with EBV-transformed B cells[J]. *J Virol*, 2007, 81(18): 10029-10036.
- [26] Kloos B, Nagel D, Pfeifer M, et al. Critical role of PI3K signaling for NF- κ B-dependent survival in a subset of activated B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(1):272-277.
- [27] Sun X, Barlow EA, Ma S, et al. Hsp90 inhibitors block outgrowth of EBV-infected malignant cells in vitro and in vivo through an EBNA1-dependent mechanism[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(7):3146-3151.
- [28] Böll B, Eltaib F, Reiners KS, et al. Heat shock protein 90 inhibitor BIIB021 (CNF2024) depletes NF- κ B and sensitizes Hodgkin's lymphoma cells for natural killer cell-mediated cytotoxicity[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(16):5108-5116.
- [29] Perini GF, Pro B. Brentuximab Vedotin in CD30+ Lymphomas[J]. *Biol Ther*, 2013, 3:15-23.

(收稿日期:2015-01-24)

(本文编辑:徐茂强)