

·临床研究·

mPGES-1、NF- κ B p65在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达及临床意义

何志媛¹, 谢双锋¹, 聂大年¹, 尹松梅¹, 何璋海², 肖洁¹, 马丽萍¹, 李益清¹
(中山大学孙逸仙纪念医院1.血液内科,2.病理科,广东 广州 510120)

摘要:【目的】检测膜结合型前列腺素E2合酶1(mPGES-1)和核转录因子 κ B p65(NF- κ B p65)在弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)组织中的表达,探究两者与主要临床特征及预后关系,分析它们的潜在的临床价值。【方法】采用免疫组织化学方法,检测83例DLBCL组织中mPGES-1和NF- κ B p65的表达,分析两者与临床特征及预后关系。【结果】DLBCL组织中mPGES-1、NF- κ B p65高表达所占的比例分别为65.1%(54/83)和73.5%(61/83),且两者的表达水平呈正相关($P < 0.05$)。这两个蛋白的高表达与B淋巴瘤白血病蛋白-2(BCL-2)、高Ki-67、高乳酸脱氢酶(LDH)、淋巴结外侵犯、临床晚期和国际预后指数(IPI)评分高有关($P < 0.05$)。此外,NF- κ B p65与多发性骨髓瘤基因1(MUM1)、病理类型也有关($P < 0.05$)。生存分析提示,mPGES-1和NF- κ B p65是总生存期(OS)的不良因素,其中NF- κ B p65是OS的独立预后因素($P < 0.05$)。【结论】mPGES-1和NF- κ B p65在DLBCL高表达,且两者之间呈正相关,这两种蛋白与DLBCL患者的肿瘤进展和不良预后密切相关。

关键词:膜结合型前列腺素E2合酶1;核转录因子 κ B p65;弥漫大B细胞淋巴瘤;临床意义;预后
中图分类号:R733.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2018)01-0073-09

Expression and Clinical Significance of mPGES-1 and NF- κ B p65 in Diffuse Large B Cell Lymphoma

HE Zhi-yuan¹, XIE Shuang-feng¹, NIE Da-nian¹, YIN Song-mei¹, HE Zhang-hai², XIAO Jie¹, MA Li-ping¹, LI Yi-qing¹

(1. Department of Hematology, 2. Department of Pathology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Guangzhou 510120, China)
Corresponding to: LI Yi-qing, E-mail: liyiqing@sysu.mail.edu.cn

Abstract:【Objective】Examine the expression of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1) and nuclear transcription factor kappa B p65 (NF- κ B p65) in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL), assessing their correlation with clinical variables, prognosis and potential clinical valve.【Methods】The immunohistochemistry was used to investigate the expression of mPGES-1 and NF- κ B p65 in 83 DLBCL patients' tissues. The relationship between these two proteins and the clinical variables and prognosis of these patients was evaluated.【Results】The high expression of mPGES-1 and NF- κ B p65 were observed in 65.1% (54/83) and 73.5% (61/83) cases of DLBCL, respectively. The expression level of NF- κ B p65 was positively correlated with mPGES-1 expression ($P < 0.05$). The expression of these two proteins was found to be significantly associated with B cell lymphoma/leukemia-2 protein (BCL-2), higher expression of Ki67, higher lactate dehydrogenase (LDH), more extranodal lesions, advanced Ann Arbor stage and higher international prognostic index (IPI) score ($P < 0.05$). In addition, NF- κ B p65 was related with multiple myeloma oncogene 1 (MUM1), pathological type ($P < 0.05$). Both mPGES-1 and NF- κ B p65 overexpression was correlated with worse overall survival (OS) while NF- κ B p65 was an in-

收稿日期:2017-10-23

基金项目:国家自然科学基金(81200342);广东省公益研究与能力建设专项资金(2014A020212085);广东省自然科学基金基础与应用基础研究专项自由申请项目(2016A030313360)

作者简介:何志媛,硕士研究生,医师,研究方向:血液肿瘤,E-mail:hezhiy2@mail2.sysu.edu.cn;李益清,通信作者,医学博士,副主任医师,研究方向:血液肿瘤,E-mail:liyiqing@sysu.mail.edu.cn

dependent prognostic factor for OS of DLBCL ($P < 0.05$). 【Conclusions】 mPGES-1 and NF- κ B p65 were highly expressed in DLBCL and closely linked with each other. The overexpression of mPGES-1 and NF- κ B p65 was correlated with tumor progression and unfavorable prognosis in patients with DLBCL.

Key words: microsomal prostaglandin E synthase-1; nuclear transcription factor kappa B p65; diffuse large B-cell lymphoma; clinical significance; prognosis

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2018, 39(1): 73-81]

弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)是成人最常见的非霍奇金淋巴瘤亚型,具有高度异质性和侵袭性。尽管利妥昔单抗和蒽环类药物为基础的联合化疗方案有可能治愈DLBCL,但仍有大约30%-40%患者由于难治或复发而导致预后不良^[1-2]。某些标志物和国际预后指数(international prognostic index, IPI)已被用作预测患者生存的预后因素。然而,他们的预后作用仍然存在争议^[3]。因此,有必要寻找更多更可靠的生物标志物来预测DLBCL患者的预后。目前已发现核转录因子(nuclear transcription factor kappa B, NF- κ B)在淋巴瘤、多发性骨髓瘤等肿瘤细胞中异常活化,是肿瘤预后不良的分子指标之一^[4-5]。前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)由磷脂经过一系列的酶促反应合成,与肿瘤的发生发展密切相关^[6]。近几年来,PGE2的终末诱导酶——膜结合型前列腺素E2合酶1(microsomal prostaglandin E synthase-1, mPGES-1)有望成为肿瘤治疗的靶基因^[7]。我们的前期工作也表明,在急性白血病细胞系中,抑制mPGES-1表达能抑制细胞增殖、促进凋亡、增加细胞毒性药物敏感性,提示mPGES-1在急性白血病中起重要作用^[8-9]。尽管有些研究已经显示mPGES-1表达与多种实体瘤中的发生、发展有关,但尚无人报道mPGES-1表达在DLBCL中的意义。目前为止,鲜见DLBCL中mPGES-1和NF- κ B p65表达与预后关系的相关报道。本研究回顾性分析本中心83例接受R-CHOP方案(利妥昔单抗rituximab, R; 环磷酰胺cyclophosphamide, C; 阿霉素doxorubicin, H; 长春新碱vincristine, O; 泼尼松prednison, P)或R-CHOP样方案化疗的DLBCL成人患者的临床资料,检测DLBCL组织中mPGES-1和NF- κ B p65的表达,分析两者相关性,探究两者与主要临床特征及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析2009年1月至2013年12月在中山大学孙逸仙纪念医院收治的DLBCL成人患者(≥ 18 岁)。纳入标准:①初诊,患者在我院治疗前均未接受任何放射治疗或化学治疗;②所有患者均经手术或切除活检获得组织标本,术前患者经过充分知情同意,已签署手术同意书,并了解组织标本将用于实验研究工作。组织行免疫组化染色检测。根据2008年WHO标准^[10],经我院病理科明确诊断为DLBCL;③患者在我院接受化疗,纳入本次研究的所有患者均使用足疗程(6-8个)R-CHOP 21方案化疗,部分老年患者使用减量R-CHOP或R-COP(不使用阿霉素类药物)方案化疗;④病例资料登记详细、完整。最终纳入研究的病例数共83例。

1.2 临床资料

对全部患者进行一般临床特征分析,包括性别、年龄、有无B症状(发热、盗汗、体质量减轻)、血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血 β 2-微球蛋白(serum beta-2 microglobulin, β 2-MG)。所有标本在初诊时由病理科切片,使用全自动免疫组化染色机Leica Bond III对切片组织进行LCA、CD20、CD79a、CD3、CD5、CD10、BCL-6、多发性骨髓瘤癌基因1(multiple myeloma oncogene 1, MUM1)、B淋巴细胞瘤/白血病蛋白-2(B cell lymphoma/leukemia-2 protein, BCL-2)、细胞核增殖抗原Ki-67、CyclinD1、TdT、CD56、UCHL1、CD23、CD21等指标进行免疫组化染色,以明确病理诊断。病理类型参照Hans等标准^[11]分类,根据CD10、BCL-6和MUM1的表达,分为生发中心型(germinal center B cell-like, GCB)和非生发中心

型(non-germinal center B cell-like, non-GCB)。患者行淋巴结超声、头颅MR、胸部CT、腹部CT等常规检查,部分患者行PET-CT检查。分析患者有无巨大肿块(任何部位病灶直径 ≥ 10 cm)、淋巴结外病灶个数。参照Ann Arbor标准进行临床分期,共分I~IV期四期,并进行IPI评分。收集患者术后或者活检的石蜡标本,切片厚度为4 μ m,用于mPGES-1和NF- κ B p65表达的免疫组化检测。

1.3 免疫组化

实验试剂:一抗:多克隆兔抗人mPGES-1抗体和多克隆兔抗人NF- κ B p65抗体均购自英国Abcam公司,稀释浓度分别为1:100和1:1000。生物素-链霉卵白素免疫组化检测试剂盒购自北京中杉金桥生物公司。主要实验步骤:mPGES-1和NF- κ B p65的免疫组织化学分析使用链霉卵白素-过氧化物酶(streptavidin-peroxidase, SP)法染色。切片经二甲苯脱蜡、梯度酒精水化。EDTA溶液(pH=8.0)、加热进行抗原修复。3%过氧化氢溶液阻断内源性过氧化氢酶活性。正常山羊血清工作液封闭。孵一抗,4 $^{\circ}$ C过夜。依次滴加生物素标志的二抗、HRP标记的链霉卵白素工作液,DAB显色。苏木精复染,脱水,封片。用PBS代替一抗做阴性对照。

1.4 结果判定

高倍镜(400 \times)下观察组织切片染色情况。阳性细胞百分比评分:0%~5%为0分,6%~25%为1分,26%~50%为2分,51%~75%为3分,>75%为4分。染色强度评分为:阴性为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分(细胞着色深浅需与同一切片背景着色对照)。两积分乘积:0分为阴性,1~4分为弱阳性,5~8分为中等阳性,9~12分为强阳性。阴性及弱阳性归为低表达,中度和强阳性归为高表达^[12]。

1.5 统计学方法

本研究的随诊时间截止至2017年3月1日。总生存时间(overall survival, OS)指诊断到任何原因的死亡或最后一次随访的时间。采用SPSS 23.0软件进行分析。连续变量采用中位数表示。mPGES-1与NF- κ B p65的相关性分析、以及mPGES-1和NF- κ B p65与临床参数的相关性分析采用卡方检验。应用Kaplan-Meier方法估计OS率。通过Log-rank检验进行生存曲线的单因素比较。多因素分析采用Cox比例风险回归。采用双

侧检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床特征

本次研究纳入46名男性患者(55.4%)和37名女性患者(44.6%),中位发病年龄50岁(19~84岁)。BCL-2的阳性表达率为50.6%。non-GCB型共有53例(63.9%),多于GCB型。51例(61.4%)患者的LDH升高。出现B症状者26例,占31.3%。21例患者有巨块肿瘤,占25.3%。44例(53.0%)Ann Arbor临床分期晚(III+IV期)。根据中国弥漫大B细胞淋巴瘤诊断与治疗指南(2013年版)^[13],IPI评分为0~5分,将IPI评分0~2分归为低危、低中危组,3~5分归为高中危、高危组。3~5分有23例,占27.7%。

2.2 mPGES-1、NF- κ B p65在DLBCL的表达情况

mPGES-1主要表达于细胞质。29例(34.9%)低表达mPGES-1,54例(65.1%)高表达mPGES-1(图1A、1B)。NF- κ B p65主要表达于细胞核。在83名患者中,22例(26.5%)低表达NF- κ B p65,61例(73.5%)高表达NF- κ B p65(图1C、1D)。

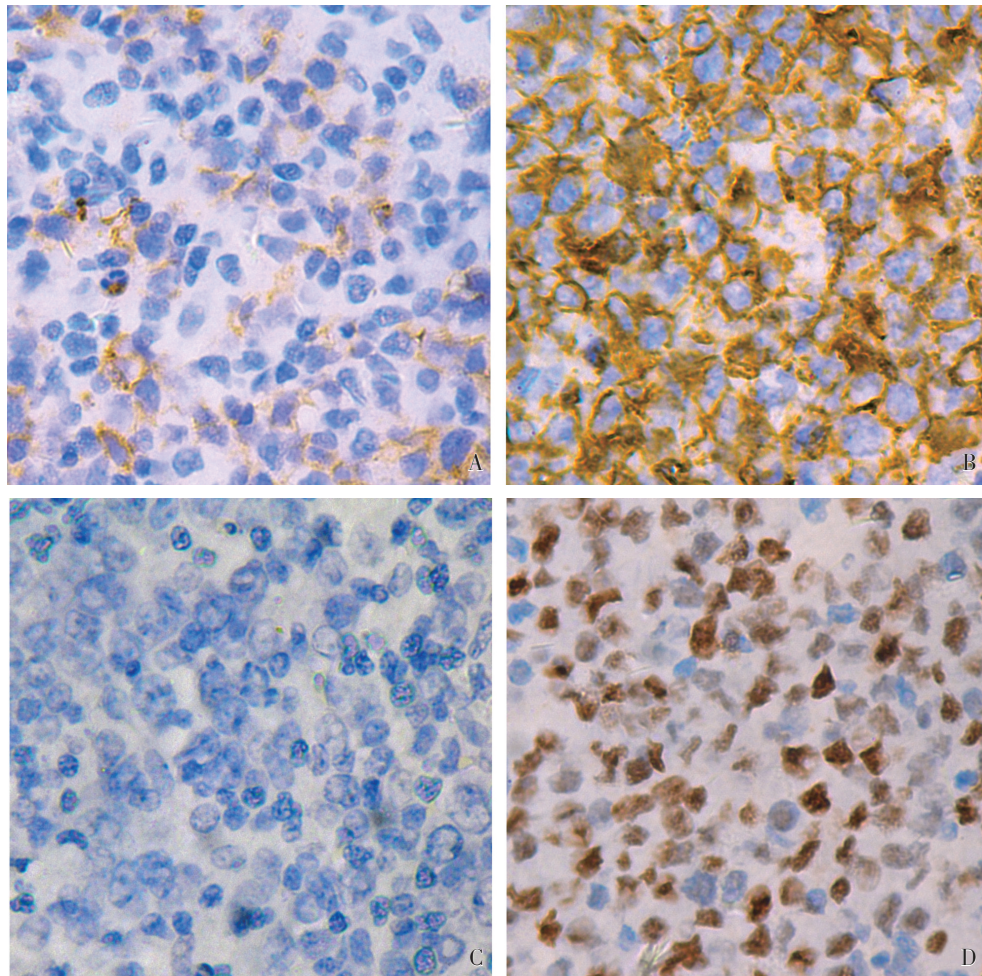
2.3 DLBCL中mPGES-1、NF- κ B p65表达的相关性分析

卡方检验相关性分析提示mPGES-1、NF- κ B p65在DLBCL的表达呈正相关,相关系数 $r=0.59$, $P < 0.01$,有统计学意义(表1)。在NF- κ B p65低表达的患者中,81.8%(18/22)也低表达mPGES-1。与NF- κ B p65低表达组比较,NF- κ B p65高表达组中mPGES-1高表达所占的百分比更高(18.2% vs 82.0%, $P < 0.001$),有统计学意义。

表1 NF- κ B p65和mPGES-1在DLBCL中表达的相关性

Table 1 Correlation of NF- κ B p65 and mPGES-1 expression in DLBCL

NF- κ B p65 expression	mPGES-1 expression		<i>r</i>	<i>P</i>
	Low (<i>n</i> =29)	High (<i>n</i> =54)		
Low (<i>n</i> =22)	18	4	0.59	< 0.01
High (<i>n</i> =61)	11	50		



A: mPGES-1 low expression, $\times 400$; B: mPGES-1 high expression, $\times 400$; C: NF- κ B p65 low expression, $\times 400$; D: NF- κ B p65 high expression, $\times 400$. Fig.1 showed the expression of mPGES-1 and NF- κ B p65 by Immunohistochemistry. Fig.1A showed low mPGES-1 expression. Figure 1B showed that the pattern of mPGES-1 staining in tumor cells was diffuse cytoplasmic immunoreactivity. Fig.1C showed that NF- κ B p65 was rarely expressed and most cells was not stained positively. Fig.1D showed that NF- κ B p65 was highly expressed in nucleus. Most cells was stained to be brown.

图1 mPGES-1、NF- κ B p65在DLBCL组织中的表达

Fig.1 The expression of mPGES-1 and NF- κ B p65 in DLBCL tissue

2.4 mPGES-1、NF- κ B p65与DLBCL临床参数的关系

mPGES-1、NF- κ B p65与患者主要的临床参数的关系见表2。mPGES-1高表达与BCL-2阳性、高Ki-67指数、高LDH、更多的结外病灶数、更晚的临床分期和高IPI评分相关, $P < 0.05$, 组间分布差异具有统计学意义。但GCB亚型与non-GCB亚型间mPGES-1表达的差异无统计学意义($P = 0.092$)。而mPGES-1的表达与患者年龄、性别、血 $\beta 2$ -MG浓度、有无B症状及是否巨块型肿瘤不相关, $P > 0.05$, 组间分布差异无统计学意义。

相类似的, NF- κ B p65的表达与BCL-2、Ki-

67、LDH、结外病灶数、临床分期和IPI评分有关, $P < 0.05$, 组间分布差异有统计学意义。与mPGES-1不同的是, NF- κ B p65与MUM1表达相关($P < 0.05$), 在non-GCB型中NF- κ B p65高表达所占的比例高于GCB亚型, 两者差异具有统计学意义($P = 0.036$)。

2.5 影响DLBCL患者OS的单因素和多因素分析

用单因素和多因素方法分析DLBCL患者的临床特征、mPGES-1和NF- κ B p65表达对OS的影响。这83例患者的OS为5~80个月, 中位生存期36个月。

性别和结外病灶数对OS无统计学意义的差

表2 mPGES-1和NF- κ B p65表达与DLBCL临床参数的关系
Table 2 The relation of mPGES-1 and NF- κ B p65 with clinical variables in DLBCL

Variables	Cases (%)	mPGES-1 expression				NF- κ B p65 expression			
		Low(n=29)	High(n=54)	χ^2	P	Low(n=22)	High(n=61)	χ^2	P
Sex									
Male	46(55.4)	15	31	0.25	0.62	13	33	0.16	0.69
Female	37(44.6)	14	23			9	28		
Age/years									
≤ 60	61(73.5)	24	37	1.96	0.16	16	45	0.009	0.92
>60	22(26.5)	5	17			6	16		
CD10									
Negative	63(75.9)	20	43	1.17	0.28	15	48	0.98	0.32
Positive	20(24.1)	9	11			7	13		
BCL-6									
Negative	42(50.6)	11	31	2.86	0.091	10	32	0.32	0.57
Positive	41(49.4)	18	23			12	29		
MUM1									
Negative	45(54.2)	18	27	1.11	0.29	17	28	6.41	0.011
Positive	38(45.8)	11	27			5	33		
BCL-2									
Negative	41(49.4)	19	22	4.63	0.031	17	24	9.31	0.002
Positive	42(50.6)	10	32			5	37		
Ki-67/%									
<50	28(33.7)	18	10	16.01	<0.001	13	15	8.61	0.003
≥ 50	55(66.3)	11	44			9	46		
Pathological type									
GCB	30(36.1)	14	16	2.84	0.092	12	18	4.39	0.036
non-GCB	53(63.9)	15	38			10	43		
LDH/(U·L ⁻¹)									
≤ 245	32(38.6)	18	14	10.41	0.001	13	19	5.33	0.021
>245	51(61.4)	11	40			9	42		
$\beta 2$ -MG/(mg·L ⁻¹)									
≤ 3.0	44(53.0)	17	27	0.56	0.45	14	30	1.36	0.24
>3.0	39(47.0)	12	27			8	31		
B symptoms									
Absent	57(68.7)	22	35	1.07	0.30	18	39	2.40	0.12
Present	26(31.3)	7	19			4	22		
Bulky disease									
Absent	62(74.7)	22	40	0.03	0.86	17	45	0.11	0.75
Present	21(25.3)	7	14			5	16		
The number of extranodal lesions									
<2	48(57.8)	21	27	3.89	0.049	17	31	4.64	0.031
≥ 2	35(42.2)	8	27			5	30		
Ann Arbor Stage									
I+II	39(47.0)	18	21	4.07	0.044	15	24	5.40	0.020
III+IV	44(53.0)	11	33			7	37		
IPI score									
0-2	60(72.3)	27	33	9.64	0.002	20	40	5.18	0.023
3-5	23(27.7)	2	21			2	21		

异。老年患者(>60岁)、BCL-2阳性表达、Ki-67高表达($\geq 50\%$)、non-GCB亚型、LDH升高(>245 U/L)、高 $\beta 2$ -MG(>3.0 mg/L),晚期(Ann Arbor III或IV期)和IPI高评分(3-5分)均是OS的不利因素, $P < 0.05$ (表3)。OS曲线显示mPGES-1和NF- κ B p65表达水平也影响患者的OS,mPGES-1和NF- κ B p65高表达均是OS的不利因素, $P < 0.05$,组间差异具有统计学意义(图2)。

在单因素分析中证明具有统计学意义的因子被纳入到Cox比例风险回归模型的多因素分析。多因素分析表明BCL-2阳性表达($P < 0.001$)、non-GCB亚型($P = 0.036$)、高 $\beta 2$ -MG($P = 0.001$)、NF- κ B p65($P = 0.026$)高表达是OS率的独立预后危险因素。但是,mPGES-1不是OS率的独立预后影响因素, $P > 0.05$,组间差异无统计学意义(表3,表4)。

3 讨论

3.1 主要发现

DLBCL的发生、发展是多步骤,异质性的过程,涉及多种遗传信息的异常,从而诱发各种信号通路的失活或异常激活,引起细胞周期、增殖、分化及凋亡的紊乱与失常,最终促进DLBCL的发生与发展^[14-15]。mPGES-1、NF- κ B在多种肿瘤中异常表达,促进肿瘤生长。NF- κ B的分子通路为人们所熟知,但鲜有研究mPGES-1、NF- κ B与DLBCL的关系。本研究中,我们希望通过分析临床上使用利妥昔单抗化疗的DLBCL病例mPGES-1和NF- κ B p65表达及临床参数,寻找更多的指标,以评估DLBCL患者的预后。

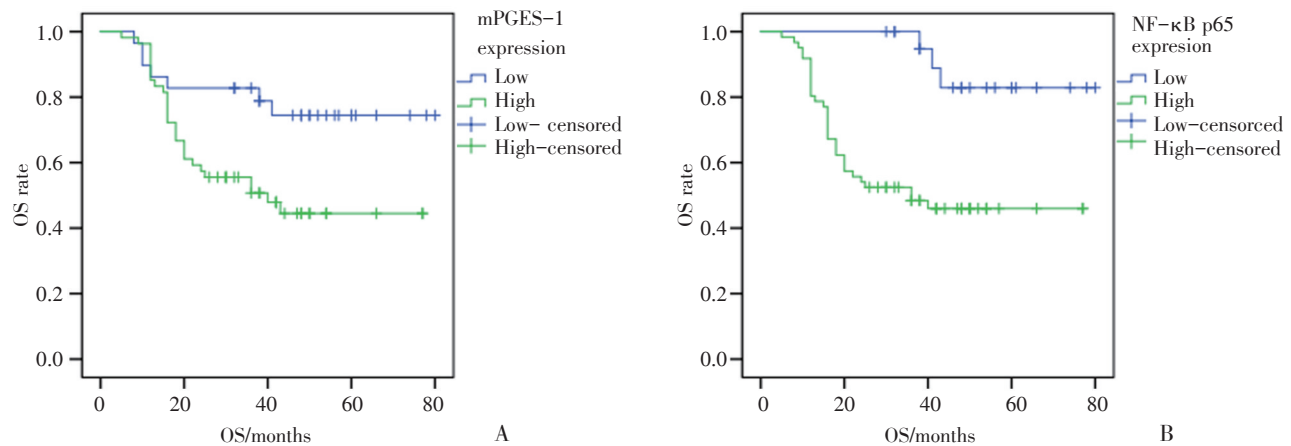
我们的数据表明,mPGES-1高表达和NF- κ B高表达均与BCL-2阳性表达、Ki-67高表达、LDH升高、结外病灶数、临床晚期和较高的IPI评分有关,提示mPGES-1和NF- κ B表达与DLBCL的肿瘤负荷、侵袭性等密切相关。而我们的结果还显示mPGES-1和NF- κ B p65的表达呈正相关,提示在DLBCL中mPGES-1的表达与NF- κ B活化之间可能存在一定的联系,但其具体分子学机制还有待进一步的实验研究来探讨。生存分析发现,mPGES-1和NF- κ B p65高表达均是影响DLBCL的OS的不良因素,NF- κ B p65更是影响DLBCL的OS的独立危险因素,提示NF- κ B激活与mPGES-

表3 影响DLBCL患者OS的单因素
Table 3 Univariate analysis for OS in patients with DLBCL

Variables	Univariate analysis	
	χ^2	<i>P</i>
Sex		
Male vs Female	0.42	0.52
Age/years		
≤ 60 vs > 60	4.97	0.026
BCL-2		
Negative vs Positive	35.31	< 0.001
Ki-67/%		
< 50 vs ≥ 50	10.66	0.001
Pathological type		
GCB vs non-GCB	11.69	0.001
LDH /U · L ⁻¹		
≤ 245 vs > 245	5.91	0.015
$\beta 2$ -MG /mg · L ⁻¹		
≤ 3.0 vs > 3.0	16.07	< 0.001
The number of extranodal lesions		
< 2 vs ≥ 2	3.49	0.062
Ann Arbor Stage		
I + II vs III + IV	10.45	0.001
IPI score		
0-2 vs 3-5	7.83	0.005
mPGES-1 expression		
Low vs High	5.59	0.018
NF- κ B p65 expression		
Low vs High	10.61	0.001

表4 影响DLBCL患者OS的多因素分析
Table 4 Multivariate analysis for OS in patients with DLBCL

	Multivariate analysis		
	HR	95%CI	<i>P</i>
BCL-2			
Negative vs Positive	8.16	3.03-21.94	< 0.001
Pathological type			
GCB vs non-GCB	0.38	0.15-0.94	0.036
$\beta 2$ -MG/(mg · L ⁻¹)			
≤ 3.0 vs > 3.0	3.74	1.73-8.039	0.001
NF- κ B p65			
Low vs High	1.99	1.08-3.65	0.026



OS: overall survival; Censored: The patients who had not died at the last follow-up were removed. A: The effect of mPGES-1 expression on OS; B: The effect of NF- κ B p65 expression on OS. Fig.2 showed the curves of OS by Kaplan-Meier method. Fig.2A showed that different mPGES-1 expression levels affected OS ($P=0.018$). The OS rate of mPGES-1 low expression was higher than that of mPGES-1 high expression. Similarly, Fig.2B showed that NF- κ B p65 high expression was an unfavorable factor to OS ($P=0.001$)

图2 mPGES-1和NF- κ B p65的表达对患者OS的影响

Fig.2 The effects of mPGES-1 and NF- κ B p65 expression on OS in patients

1高表达是DLBCL的预后不良因素。

3.2 可能机制

mPGES-1属于与甘烷类物质及谷胱甘肽代谢有关的膜相关蛋白(membrane-associated proteins involved in eicosanoid and glutathione metabolism, MAPEG)超家族成员,能够特异地将前列腺素H2(prostaglandin H2, PGH2)转变成PGE2,由Jakobsson等在1999年首次发现^[16]。在正常组织中,mPGES-1表达很低或不表达,在胃癌、直肠癌、胰腺癌、膀胱癌等肿瘤组织中和表达明显升高,是肿瘤治疗新的靶基因之一。mPGES-1在DLBCL中的表达和临床意义,尚未见文献报道。我们的这份回顾性分析结果表明,mPGES-1高表达于DLBCL,与BCL-2阳性表达、Ki-67高表达、LDH升高、结外病灶数、临床晚期和较高的IPI评分有关,并且是DLBCL的预后不良因素。mPGES-1作为PGE2生物合成的终端限速酶,其高表达可导致PGE2合成增加。PGE2可通过与细胞表面的EP受体结合,激活一系列信号通路及细胞因子,通过促进细胞增殖、抑制凋亡、促进血管新生等,促进肿瘤的发生和发展^[17-18]。人们在研究PGE2对细胞生长的影响时发现,PGE2与细胞膜上的EP受体结合后,可通过调控PI3K/AKT途径促进细胞存活,而抑制PGE2的合成则可以明显抑制AKT的磷酸化和激酶的水平,进而诱导细胞凋亡。而AKT磷酸化,PI3K/AKT通路激活,又可以

上调抗凋亡蛋白BCL-2的表达,与肿瘤的发生、发展密切相关^[8,19]。因此,我们推测,mPGES-1在DLBCL高表达,可能诱导PGE2合成增加,后者再通过激活PI3K/AKT/BCL-2途径,促进淋巴瘤细胞增殖、抑制凋亡,使DLBCL肿瘤负荷增加、侵袭性增强,导致其预后不良,具体机制还有待细胞生物学和DLBCL动物模型等实验研究来进一步验证。此外,我们的结果显示,mPGES-1的表达在GCB亚型及non-GCB亚型间无统计学差异,提示mPGES-1的表达可能与DLBCL是否生发中心的细胞来源无关,但也不排除我们的病例数较少而产生统计学的偏倚。

NF- κ B在肿瘤发生、发展中的作用已得到广泛的认可。研究已经证实,NF- κ B在肿瘤细胞中持续活化,诱发下游信号通路的异常激活或失活,促进肿瘤细胞过度增殖、肿瘤恶性进展及治疗耐药^[20]。抗凋亡蛋白BCL-2处于NF- κ B通路的下游,NF- κ B的活化可导致BCL-2蛋白表达上调,抑制细胞凋亡,促进肿瘤进展,导致预后不良^[21]。我们的结果显示,NF- κ B p65在DLBCL高表达与BCL-2阳性表达、Ki-67高表达、LDH升高、结外侵犯、疾病晚期和较高的IPI评分有关,并且在non-GCB型中的表达高于GCB型,提示NF- κ B在DLBCL中处于激活状态,尤其是non-GCB DLBCL更依赖于NF- κ B激活,这与Ceribelli等^[14]的研究相似。NF- κ B p65与肿瘤细胞增殖旺盛、肿瘤

负荷重及细胞来源均有关。不论是单因素还是多因素的生存分析,均显示 NF- κ B p65 高表达是 DLBCL 的预后不良因素,表明即使使用利妥昔单抗联合化疗,NF- κ B p65 高表达的 DLBCL 患者仍然预后不良。

我们的相关性分析结果显示,NF- κ B p65 和 mPGES-1 的表达呈正相关。NF- κ B p65 和 mPGES-1 之间的关系,错综复杂。Resnick 等^[22]发现 NF- κ B 可激活 mPGES-1 基因启动子,因此 mPGES-1 的合成在一定程度上依赖于 NF- κ B 的活化。Diaz-Munoz 等^[23]在巨噬细胞中用 NF- κ B 选择性抑制剂或通过 NF- κ B 抑制蛋白 I κ B α 的过表达阻断 NF- κ B 活化,可显著降低 mPGES-1 基因的脂多糖依赖性转录激活;而过表达 NF- κ B p65 则可增加 mPGES-1 启动子活性。此外,染色质免疫共沉淀实验证明了在鼠 mPGES-1 启动子中存在 NF- κ B 识别位点的序列。但也有研究报道,NF- κ B 通路位于 mPGES-1/PGE2 的下游,PGE2 可激活 NF- κ B 通路^[17, 24]。说明 mPGES-1 与 NF- κ B 通路之间可能存在正反馈的环路。我们的结果中 NF- κ B p65 和 mPGES-1 的表达呈正相关也从一定程度上

说明了这一点。而当我们把 mPGES-1 和 NF- κ B p65 同时纳入多因素分析时,只有 NF- κ B p65 是影响 DLBCL 的 OS 的独立因素,mPGES-1 则不是,提示尽管 NF- κ B 通路与 mPGES-1 相关,但与 mPGES-1 相比,NF- κ B 通路与 DLBCL 进展关系更为紧密。同样,也不排除我们的数据分析可能会受到回顾性分析、患者数量较少和随访时间较短等影响。因此,有必要扩大病例数、随访更长的时间,甚至设计前瞻性研究中来进一步检验这些结果。

3.3 结论

综上所述,即使在利妥昔单抗时代,仍有一部分 DLBCL 患者预后不良。其中,NF- κ B 和 mPGES-1 高表达是 DLBCL 的不良预后因素,NF- κ B 高表达更是 DLBCL 的独立危险因素。抑制 NF- κ B p65、mPGES-1 的表达对 DLBCL 患者可能具有潜在的治疗益处。尽管目前尚无可应用于临床的 NF- κ B p65、mPGES-1 抑制剂,但科技的发展日新月异,在不久的将来,随着新药物的开发,或许可以考虑将抗 NF- κ B 或抗 mPGES-1 药物加入到 R-CHOP 方案中,以进一步提高 DLBCL 的疗效,延长患者的生存。

参考文献:

- [1] Mathur R, Sehgal L, Havranek O, et al. Inhibition of demethylase KDM6B sensitizes diffuse large B-cell lymphoma to chemotherapeutic drugs [J]. *Haematologica*, 2017, 102(2): 373-380.
- [2] Jin Z, Qing K, Ouyang Y, et al. Low dose of lenalidomide and PI3K/mTOR inhibitor trigger synergistic cytotoxicity in activated B cell-like subtype of diffuse large B cell lymphoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35(1): 52.
- [3] Montalban C, Diaz-Lopez A, Dlouhy I, et al. Validation of the NCCN-IPI for diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): The addition of beta2-microglobulin yields a more accurate GELTAMO-IPI [J]. *Br J Haematol*, 2017, 176(6): 918-928.
- [4] Zhang M, Xu-Monette ZY, Li L, et al. RelA NF- κ B subunit activation as a therapeutic target in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(12): 3321-3340.
- [5] Mathews GM, de Matos SR, Dhimolea E, et al. NF- κ B dysregulation in multiple myeloma [J]. *Semin Cancer Biol*, 2016, 39: 68-76.
- [6] Zhang M, Zhang H, Cheng S, et al. Prostaglandin E2 accelerates invasion by upregulating Snail in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(7): 7135-7145.
- [7] Sasaki Y, Nakatani Y, Hara S. Role of microsomal prostaglandin E synthase-1 (mPGES-1)-derived prostaglandin E2 in colon carcinogenesis [J]. *Prostag Oth Lipid M*, 2015, 121(Pt A): 42-45.
- [8] Li Y, Yin S, Nie D, et al. MK886 inhibits the proliferation of HL-60 leukemia cells by suppressing the expression of mPGES-1 and reducing prostaglandin E2 synthesis [J]. *Int J Hematol*, 2011, 94(5): 472-478.
- [9] 李益清,尹松梅,聂大年,等. mPGES-1 抑制剂 MK886 对白血病 HL-60/A 细胞凋亡及耐药性的影响 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(04): 829-834.
- Li YQ, Yin SM, Nie DN, et al. Effect of mPGES-1 inhibitor MK886 on apoptosis and drug resistance of HL-60/A cells [J]. *Chin J Exp Hematol*, 2012, 20(4): 829-834.

- [10] Sabbatini 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.
- [11] Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray [J]. *Blood*, 2004, 103(1): 275-282.
- [12] Cui Y, Sun Z, Li X, et al. Expression and clinical significance of cyclooxygenase-2 and interleukin-32 in primary gastric B-cell lymphoma [J]. *Oncol Lett*, 2016, 11(1): 693-698.
- [13] 中华医学会血液学分会, 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会. 中国弥漫大B细胞淋巴瘤诊断与治疗指南(2013年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(9): 816-819.
Hematology Association of Chinese Medical Association, Chinese anti-Cancer Association Lymphoma Professional Committee. Guidelines for the diagnosis and treatment of diffuse large cell B lymphoma in China (2013version) [J]. *Chin J Hematol*, 2013, 34(9): 816-819.
- [14] Ceribelli M, Kelly PN, Shaffer AL, et al. Blockade of oncogenic IB kinase activity in diffuse large B-cell lymphoma by bromodomain and extraterminal domain protein inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(31): 11365-11370.
- [15] Uddin S, Hussain AR, Siraj AK, et al. Role of phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT pathway in diffuse large B-cell lymphoma survival [J]. *Blood*, 2006, 108(13): 4178-4186.
- [16] Jakobsson PJ, Thoren S, Morgenstern R, et al. Identification of human prostaglandin E synthase: A microsomal, glutathione-dependent, inducible enzyme, constituting a potential novel drug target [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(13): 7220-7225.
- [17] Bai X, Wang J, Guo Y, et al. Prostaglandin E2 stimulates beta1-integrin expression in hepatocellular carcinoma through the EP1 receptor/PKC/NF-kappaB pathway [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 6538.
- [18] Wang D, Fu L, Sun H, et al. Prostaglandin E2 promotes colorectal cancer stem cell expansion and metastasis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1884-1895.
- [19] George RJ, Sturmoski MA, Anant S, et al. EP4 mediates PGE2 dependent cell survival through the PI3 kinase/AKT pathway [J]. *Prostag Oth Lipid M*, 2007, 83(1-2): 112-120.
- [20] Turturro F. Constitutive NF-kappa B activation underlines major mechanism of drug resistance in relapsed refractory diffuse large B cell lymphoma [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 484537.
- [21] Jamil MO, Mehta A. Diffuse large B-cell lymphoma: Prognostic markers and their impact on therapy [J]. *Expert Rev Hematol*, 2016, 9(5): 471-477.
- [22] Zhou X, Li D, Resnick MB, et al. NADPH oxidase NOX5-S and nuclear factor kappaB1 mediate acid-induced microsomal prostaglandin E synthase-1 expression in Barrett's esophageal adenocarcinoma cells [J]. *Mol Pharmacol*, 2013, 83(5): 978-990.
- [23] Diaz-Munoz MD, Osma-Garcia IC, Cacheiro-Llaguno C, et al. Coordinated up-regulation of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E synthase 1 transcription by nuclear factor kappa B and early growth response-1 in macrophages [J]. *Cell Signal*, 2010, 22(10): 1427-1436.
- [24] Vosoghi M, Amini M. The discovery and development of cyclooxygenase-2 inhibitors as potential anti-cancer therapies [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(3): 255-267.

(编辑 孙慧兰)