

B 细胞非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织 CD22 抗原 表达检测及临床意义

张东生¹, 丁 娅², 李 苏¹, 黄慧强¹, 夏忠军¹, 李志铭¹, 林旭滨¹, 姜文奇^{1*}
(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心 1. 内科, 2. 生物治疗中心, 广东 广州 510060)

摘要:【目的】检测 CD22 抗原在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中的表达,初步探讨 CD22 抗原在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织的表达和临床病理特征的关系。【方法】采用免疫组化方法检测 B 细胞非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织 CD22 抗原的表达,分析肿瘤组织 CD22 抗原表达和临床病理特征等的关系。【结果】CD22 抗原在 B 细胞非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织阳性表达主要见于细胞浆和细胞膜。全组 21 例,阳性率 100.00%(21/21),强阳性(+++)率 14.29%(3/21),中等阳性(++)率 33.33%(7/21),弱阳性率(+)52.38%(11/21)。CD22 表达与病理亚型、性别、年龄以及其它临床病理特征等无明显相关性。【结论】CD22 抗原在 B 细胞非霍奇金淋巴瘤中广泛表达,可以采用免疫组化的方法检测出,该方法简单易行,有一定临床应用前景;B 细胞非霍奇金淋巴瘤组织 CD22 表达和临床病理特征的关系需进一步研究。

关键词: 非霍奇金淋巴瘤; CD22 抗原; 免疫组化

中图分类号: R733.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2010)05-0706-04

CD22 Expression in B Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Tissues and Its Clinical Significance

ZHANG Dong-sheng¹, DING Ya², LI Su¹, HUANG Hui-qiang¹, XIA Zhong-jun¹,
LI Zhi-ming¹, LIN Xu-bin¹, JIANG Wen-qi^{1*}

(1. Department of Medical Oncology, 2. Biotherapy Center, Cancer Center, Sun Yat-sen University//
State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangzhou 510060, China)

Abstract: 【Objective】To examine the CD22 antigen expression in B cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL) tissues and investigate its relationship with clinicopathological characteristics. 【Methods】CD22 antigen expression in B cell NHL tissues was detected with immunohistochemistry staining. The correlation between CD22 expression and clinicopathological characteristics was analyzed. 【Results】CD22 antigen was detected in B cell NHL tissue section by immunohistochemistry staining. The positive staining particles were located in cytoplasm and/or membrane. CD22 expression was showed in the total 21 cases (positive rate 100.00%). Strong expression in 3 cases (14.29%), moderate expression in 7 cases (33.33%), and weak expression was detected in 11 cases (52.38%). CD22 expression in B cell NHL tissue was not correlated with pathologic subtypes, gender, age, or other clinicopathological characteristics. 【Conclusion】CD22 antigen is generally expressed in B cell NHL and easily detected by immunohistochemistry staining, and the detection method can be used in clinical practice. CD22 expression in B cell NHL tissue and its relationship with clinicopathological characteristics needs further study.

Key words: non-Hodgkin's lymphoma; CD22 antigen; immunohistochemistry

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(5):706-709]

CD22 抗原分子是一个相对分子质量为 135 k 的跨膜蛋白,为 B 淋巴细胞限制性抗原。在 B 细胞

收稿日期: 2010-06-17

基金项目: 卫生部重大新药创制科技重大专项(2008ZX09312-002)

作者简介: 张东生, 博士, 主治医师, 研究方向: 肿瘤化疗, E-mail: zhangdsh@sysucc.edu.cn; * 通信作者: 姜文奇, 教授, 博士生导师, 主任医师, 研究方向: 恶性淋巴瘤治疗, 肿瘤生物治疗, E-mail: wqjiang@yahoo.com

和前 B 细胞, CD22 抗原仅存在于胞浆中, 分化至成熟 B 细胞时, 该抗原表达在细胞膜上, 激活时表达量增加。B 细胞分化至终末阶段浆细胞时, CD22 抗原消失。CD22 为粘附分子, 可以放大 B 细胞激活信号。CD22 广泛表达于正常 B 细胞和 B 细胞淋巴瘤细胞^[1-2]。CD22 作为 B 细胞非霍奇金淋巴瘤治疗的新靶点, 是目前研究的热点和焦点, 已取得较大的进展^[1-7]。目前国内外均有针对 CD22 靶点的新药在进行临床试验, 国外的 I / II 期研究结果以及国内本课题组完成的 I 期临床研究结果, 均令人较为鼓舞, 有进一步研究的前景^[1-6]。因此, 找到简单、临床使用方便的检测 CD22 抗原的方法, 不仅具有理论意义, 更具有实际的临床应用前景。目前检测 CD22 表达抗原表达常用流式细胞仪检测的方法^[8-9], 但流式细胞仪只能检测新鲜肿瘤组织或细胞株中 CD22 抗原表达, 临床应用较为不便。我们在国内首次采用免疫组化的方法检测 21 例非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织 CD22 抗原表达, 效果确实, 方法简便可行, 并初步探讨 CD22 表达水平和临床病例特征的关系。

1 材料和方法

1.1 实验标本

21 例 B 细胞非霍奇金淋巴瘤患者肿瘤组织石蜡块中, 12 例取自中山大学肿瘤防治中心病理科, 均为存档石蜡组织块, 9 例取自外院病理科, 由患者借出。将组织蜡块切成 4 μm 厚的切片粘在涂胶玻片上备用。

1.2 患者资料

患者为自 2007 年 4 月至 2008 年 11 月来中山大学肿瘤医院就诊, 共 21 例 B 细胞非霍奇金淋巴瘤患者。21 例患者中, 男 10 例, 女 11 例, 年龄范围 24 ~ 67 岁, 中位年龄 52 岁, 体力情况 0 ~ 2 级。21 例患者的病理亚型, 滤泡性淋巴瘤 8 例, 滤泡转弥漫 2 例, 弥漫大 B 细胞淋巴瘤 8 例, 小淋巴细胞淋巴瘤/慢性淋巴细胞白血病(SLL/CLL) 2 例, 伯基特淋巴瘤 1 例; 19 例为复治患者, 2 例为初治患者, 均为滤泡性淋巴瘤; 复治患者既往使用过 CD20 单抗治疗, 或一种或多种方案化疗, 部分患者接受过放射治疗。8 例患者既往使用过美罗华或国产 CD20 单抗, 1 例移植后复发, 1 例既往使用过 Zevalin。

1.3 实验主要试剂和步骤

抗 CD22 抗体购自武汉博士德生物工程有限公司(进口分装), 为 1 只 0.2 mL 兔抗人 IgG 多抗。S-P 超广谱免疫组化试剂盒(含阻断血清、二抗与三抗)及 DAB 购自迈新公司。免疫组化步骤按照迈新公司推荐的 S-P 法免疫组化实验步骤进行。切片放入二甲苯梯度稀释液中脱蜡, 无水乙醇梯度至水, 新鲜配置 3% 过氧化氢, 室温 10 min 灭活内源性过氧化物酶, PBS 微波修复抗原, 滴加血清封闭以减少非特异性染色, 滴加 1:100 稀释的 CD22 兔抗人多抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 反应过夜, 滴加生物素化二抗 IgG 37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 30 min, DAB 显色, 苏木素轻度复染 30 s 左右, 盐酸分化, 二甲苯透明, 用中性树脂封片。

1.4 免疫组化结果判断

对照 HE 切片, 确定肿瘤细胞区域。以肿瘤细胞胞浆或胞膜见到棕黄色或棕褐色颗粒染色为阳性细胞, 连续数 10 个高倍镜视野中的肿瘤细胞数, 10 个视野中阳性肿瘤细胞数之和除以 10 个视野中肿瘤细胞数之和即为肿瘤细胞染色的百分比, 根据肿瘤细胞染色的百分比划分为不同的等级: (-) 或阴性为阳性细胞 0; (+) 或弱阳性为阳性细胞比例 $\leq 25\%$; (++) 或中等阳性为阳性细胞比例达 $> 25\% \sim < 50\%$; (+++) 或强阳性为阳性细胞比例 $\geq 50\%$ 。(-) 和 (+) 为低表达, (++) 和 (+++) 为高表达。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析, 频数资料采用 Fisher 精确概率法以及非参数的 Kruskal-Wallis H 检验, 以 $P < 0.05$ 定义为有统计学意义。

2 结果

2.1 CD22 抗原在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中的表达

CD22 抗原可以采用免疫组化方法在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中检测出, 阳性表达的棕黄色或棕褐色颗粒主要见于细胞浆和细胞膜。全组 21 例, 阴性 0 例, 弱阳性(+) 11 例, 中等阳性(++) 7 例, 强阳性(+++) 3 例, 高表达 10 例, 低表达 11 例, 阳性率 100.00%(21/21), 中等阳性率 33.33%(7/21), 强阳性率 14.29%(3/21)。CD22 抗原在非

霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中的弱阳性、中等阳性、强阳性以及阴性表达分别见图 1A ~ D。

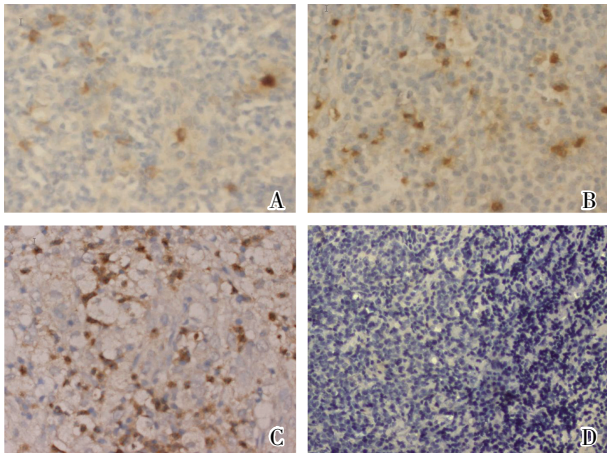


图 1 CD22 抗原在非霍奇金淋巴瘤组织中表达

Fig.1 CD22 antigen on the membrane or in the cytoplasm of NHL cells

A: Weak expression; B: Fairly strong expression; C: Strong expression; D: Negative expression; SP × 400

2.2 CD22 抗原在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中的表达和临床病理特征的关系

全组 8 例弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者, 肿瘤组织中 CD22 抗原呈弱阳性表达 2 例, 中等阳性表达 4 例, 强阳性表达 2 例; 8 例滤泡性淋巴瘤患者, 弱阳性表达 7 例, 中等阳性表达 1 例; 2 例滤泡转弥漫的非霍奇金淋巴瘤患者, 1 例为中等阳性的表达, 1 例为强阳性表达, 2 例慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤患者, 肿瘤组织 CD22 表达均为弱阳性。1 例伯基特淋巴瘤患者, 肿瘤组织 CD22 抗原呈中等阳性表达。非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织 CD22 表达与病理亚型、性别、年龄以及其它临床病理特征无明显相关性(表 1)。

3 讨论

CD22 是 B 细胞非霍奇金淋巴瘤细胞表面重要的标记性抗原之一, 针对 CD22 分子靶点的研究, 越来越深入。目前已有研究出针对 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 CD22 抗原分子靶点药物: 国外的人缘化单抗 Epratuzumab(依帕珠单抗), 国内的人鼠嵌合单克隆抗体 SM03。前者已完成 I/II 期临床研究, 并正在进行 III 期临床研究, 后者在中山大学肿瘤防治中心本课题组已完成 I 期临床研究(论文

表 1 CD22 表达与病理亚型、性别、年龄以及其它临床病理特征的关系

Table 1 CD22 antigen expression in B cell NHL tissues and its relationship with clinicopathological characteristics

Clinical features	Cases	CD22 expression		
		+	++	+++
Total	21	11	7	3
Gender				
Male	10	6	2	2
Female	11	5	5	1
Age				
< 60	18	9	6	3
≥ 60	3	2	1	0
ECOG PS				
0	8	3	3	2
1	11	7	3	1
2	2	1	1	0
Treatment				
Newly diagnosis	2	1	1	0
Relapsed	19	10	6	3
Pathologic subtype				
DLBCL	8	2	4	2
FL	8	7	1	0
Others	5	2	2	1
FLIPI score				
0 ~ 2	4	4	0	0
3 ~ 4	4	3	1	0

All $P > 0.05$

待发表)。可以预见 CD22 抗体在不久的将来, 很有可能广泛用于临床治疗 B 细胞非霍奇金淋巴瘤。因此如何找到临床实用方便检查和筛选 CD22 靶点的方法就摆在我们面前。

CD22 抗原的检测方法常用流式细胞仪检测^[8-9], 但流式细胞只能检测新鲜肿瘤组织或细胞株中的 CD22 抗原表达, 对于在石蜡组织, 流式细胞仪不能检测出。

用免疫组化的方法检测石蜡组织中 CD22 的表达, 检测方法简单、实用, 临床使用方便^[10-11]。我们采用免疫组化的方法, 检测了 21 例非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织患者肿瘤石蜡组织中 CD22 的表达, 结果表明: CD22 抗原可以采用免疫组化方法在非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中检测出, 阳性表达的棕黄色或棕褐色颗粒主要定位于细胞浆和细胞膜。全组 21 例, 阴性 0 例, 弱阳性(+)11 例, 中等阳性(++)7 例, 强阳性(+++)3 例, 高表达 10 例, 低表

达 11 例,阳性率 100.00%(21/21),中等阳性率 33.33%(7/21),强阳性率 14.29%(3/21);8 例弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者,肿瘤组织中 CD22 抗原呈弱阳性表达 2 例,中等阳性表达 4 例,强阳性表达 2 例;8 例滤泡性淋巴瘤患者,弱阳性表达 7 例,中等阳性表达 1 例;2 例滤泡转弥漫的非霍奇金淋巴瘤患者,1 例为中等阳性的表达,1 例为强阳性表达,2 例慢性淋巴细胞白血病/小淋巴细胞淋巴瘤患者,肿瘤组织 CD22 表达均为弱阳性。1 例伯基特淋巴瘤患者,肿瘤组织 CD22 抗原呈中等阳性表达。

文献报道 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 CD22 抗原表达率非常高,约 80%左右,也有 100%表达的报道^[1-2,11]。CD22 肿瘤组织抗原表达可以采用免疫组化方法检测出。采用免疫组化的方法检测 B 细胞非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织中 CD22 抗原的表达,国内未见报道,国外报道较少。我们在国内首次采用免疫组化的方法,检测到 B 细胞非霍奇金淋巴瘤肿瘤组织 CD22 抗原的表达,效果确实,方法简便可行。我们研究表明,CD22 阳性表达率 100%,表达率高,可能是我们采用的判断标准较为较宽。我们的研究判断标准中,定义 10 个视野中未见到 CD22 染色阳性的肿瘤细胞才认为是阴性表达。

CD22 抗原表达和临床和病理特征的关系,国外很少有报道。由于我们研究的病例数较少,没有观察到 CD22 表达和临床病理特征的相关性,但我们也注意到,弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者肿瘤组织 CD22 抗原表达较强,滤泡型淋巴瘤肿瘤组织中 CD22 抗原表达较弱,CD22 抗原表达和临床和病理特征的关系有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Leonard JP, Coleman M, Ketas JC, et al. Epratuzumab, a humanized anti-CD22 antibody, in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: phase I/II clinical trial results [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(16): 5327-5334.
- [2] Leonard JP, Coleman M, Ketas JC, et al. Phase I/II trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) in indolent non-Hodgkin's lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(16): 3051-3059.
- [3] Micallef IN, Maurer MJ, Nikcevic DA, et al. A phase II study of epratuzumab and rituximab in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone chemotherapy (ER-CHOP) in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2008, (May 20 suppl; abstr 8500).
- [4] Strauss SJ, Morschhauser F, Rech J, et al. Multicenter phase II trial of immunotherapy with the humanized anti-CD22 antibody, epratuzumab, in combination with rituximab, in refractory or recurrent non-Hodgkin's lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(24): 3880-3886.
- [5] Leonard JP, Goldenberg DM. Preclinical and clinical evaluation of epratuzumab (anti-CD22 IgG) in B-cell malignancies [J]. *Oncogene*, 2007, 26(25): 3704-3713.
- [6] Carnahan J, Stein R, Qu Z, et al. Epratuzumab, a CD22-targeting recombinant humanized antibody with a different mode of action from rituximab [J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(6): 1331-1341.
- [7] Hansen JK, Weldon JE, Xiang L, et al. A recombinant immunotoxin targeting CD22 with low immunogenicity, low nonspecific toxicity, and high antitumor activity in mice [J]. *J Immunother*, 2010, 33(3): 297-304.
- [8] Huang J, Fan G, Zhong Y, et al. Diagnostic usefulness of aberrant CD22 expression in differentiating neoplastic cells of B-Cell chronic lymphoproliferative disorders from admixed benign B cells in four-color multiparameter flow cytometry [J]. *Am J Clin Pathol*, 2005, 123(6): 826-832.
- [9] Olejniczak SH, Stewart CC, Donohue K, et al. A quantitative exploration of surface antigen expression in common B-cell malignancies using flow cytometry [J]. *Immunol Invest*, 2006, 35(1): 93-114.
- [10] Lindén O, Hindorf C, Cavallin-Ståhl E, et al. Dose-fractionated radioimmunotherapy in non-Hodgkin's lymphoma using DOTA-conjugated, 90Y-radiolabeled, humanized anti-CD22 monoclonal antibody, epratuzumab [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(14): 5215-5222.
- [11] Perkins SL, Lones MA, Davenport V, et al. B-Cell non-Hodgkin's lymphoma in children and adolescents: surface antigen expression and clinical implications for future targeted bioimmunity therapy: a children's cancer group report [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2003, 1(5): 314-317.

(编辑 徐杰)