

· 诊治分析 ·

组蛋白去乙酰化酶在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及其临床意义

朱艳, 施方静, 黄黎, 蒋志国

【关键词】 弥漫大 B 细胞淋巴瘤; 组蛋白去乙酰化酶; 临床特征; 预后

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.09.020

【中图分类号】 R733 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)09-1187-04

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 是非霍奇金淋巴瘤常见的一种病理类型, 约占全部淋巴瘤的 30%^[1]。DLBCL 患者在临床表现、病理特征、免疫表型和细胞遗传学方面存在很大差异^[2-3]。DLBCL 根据细胞来源分为生发中心来源 B 细胞型 (GCB) 和生发中心后激活 B 细胞型 (ABC), 这两种亚型存在不同的基因突变和病理表达标记, 目前主要基于 CD10、BCL6 和 MUM1/IRF4 3 个蛋白的表达水平进行区分。普遍认为, 上述特殊类型 DLBCL 的分子生物学与抑癌基因 p53 失活相关^[4-5]。由于组蛋白修饰、甲基化和小核糖核酸 (RNA) 沉默等导致的表观遗传学改变, 会引发抑癌基因失活, 这在许多肿瘤发生发展中发挥着重要作用。组蛋白修饰在淋巴瘤发生发展中同样扮演重要角色, 而其中组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) I 类分子在 DLBCL 的发生发展中发挥关键性作用^[6]。本研究旨在探讨 DLBCL 患者 HDAC 表达水平及与临床病理和预后的关系, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集金华市人民医院 2016 年 1 月至 2022 年 12 月收治的 97 例 DLBCL 患者的临床资料, 其中男 54 例, 女 43 例; 年龄 43 ~ 81 岁, 平均 (62.1±9.8) 岁; Ann Arbor 分期: I ~ II 期 41 例, III ~ IV 期 56 例; 国际预后指数 (IPI) 评分: 低风险 30 例, 中高风险 67 例。根据免疫组织化学染色技术确定其亚型, 其中 GCB 型 (MUM1 阴性, 同时 CD10 或

BCL-6 阳性) 57 例, ABC 型 (MUM1 阳性、CD10 阴性或 CD10、BCL-6 均阴性) 40 例。本研究获得金华市人民医院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

纳入标准: (1) 符合 DLBCL 的诊断标准^[7], 且为初治; (2) 采用 R-CHOP 方案治疗, 且至少治疗 6 个疗程; (3) 临床资料及随访资料完整。排除标准: (1) 合并其他恶性肿瘤者; (2) 化疗方案禁忌者; (3) 免疫组化、病理和临床资料不完整者; (4) 精神疾病者; (5) 严重脏器疾病者。

1.2 HDAC 蛋白表达检测 采用免疫组织化学染色法检测 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达。取 DLBCL 肿瘤组织及瘤旁组织标本, 经 10% 甲醛固定, 脱水石蜡包埋, 连续切片 4 μm, 脱蜡, 水化, 修复抗原, 用 PBS 溶液清洗 3 次, 每次清洗 3 min; 加入 HDAC1 单克隆抗体、HDAC2 单克隆抗体、HDAC3 单克隆抗体和 HDAC8 单克隆抗体 (均购自北京中杉金桥生物技术有限公司), 置于 4 °C 孵育过夜; 用 PBS 溶液清洗 3 次, 每次清洗 3 min, 再加入 HRP 标记的二抗, 置于 37 °C 孵育 30 min; 用 PBS 溶液清洗 3 次, 每次清洗 3 min, DAB 显色, 苏木素复染, 不同梯度乙醇脱水, 树脂胶封片, 镜下观察。严格依据免疫组织化学染色试剂盒 (基因科技上海有限公司) 说明书操作。

1.3 结果判定 采用双盲法由两位高年资病理医师完成免疫评分。HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白阳性表达定位于细胞核或细胞质中, 呈棕黄色或黄色颗粒状。随机选择每个切片的 10 个视野, 根据细胞染色强度与阳性细胞百分比得出免

基金项目: 金华市科学技术研究计划项目 (2020-4-035)

作者单位: 321000 浙江省金华, 金华市人民医院

通信作者: 朱艳, Email: Wpl20180608@163.com

疫组织化学染色评分。(1)阳性细胞染色强度评分:0分表示无色,1分表示浅黄色,2分表示棕色,3分表示深褐色;(2)阳性细胞占总细胞百分比:0分表示<5%,1分表示5%~25%,2分表示>25%~50%,3分表示>50%~75%,4分表示>75%。免疫评分为染色强度平均分数与阳性细胞百分比分数乘积,得分<3分表示阴性,≥3分表示阳性。

1.4 随访 随访至2023年12月,根据预后情况将患者分为生存组($n=67$)与死亡组($n=30$),分析影响预后的因素。

1.5 统计方法 运用SPSS 26.0统计软件进行处理,计量资料以均数±标准差表示,采用 t 检验;计数资料以构成比表示,采用 χ^2 检验。影响因素分析采用多因素Logistic回归分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同亚型 DLBCL 患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达比较 两组患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白阳性率差

异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表1。

2.2 HDAC1 蛋白表达与患者临床特征的关系 不同性别、年龄和体质量指数患者的 HDAC1 蛋白阳性率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);Ann Arbor III~IV 期患者 HDAC1 蛋白阳性率高于 I~II 期($P < 0.05$),IPI 评分中高风险患者 HDAC1 蛋白阳性率高于低分险($P < 0.05$),见表2。

2.3 HDAC2 蛋白表达与患者临床特征的关系 不同性别、年龄和体质量指数患者的 HDAC2 蛋白阳性率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);Ann Arbor III~IV 期患者 HDAC2 蛋白阳性率高于 I~II 期($P < 0.05$),IPI 评分中高风险患者 HDAC2 蛋白阳性率高于低分险($P < 0.05$),见表3。

2.4 HDAC3 蛋白表达与患者临床特征的关系 不同性别、年龄和体质量指数患者的 HDAC3 蛋白阳性率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);Ann Arbor III~IV 期患者 HDAC3 蛋白阳性率高于 I~II 期($P < 0.05$),IPI 评分中高风险患者 HDAC3 蛋白阳性率高于低分险($P < 0.05$),见表4。

2.5 HDAC8 蛋白表达与患者临床特征的关系 不

表1 不同亚型 DLBCL 患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达比较

组别	例数	HDAC1 蛋白阳性	HDAC2 蛋白阳性	HDAC3 蛋白阳性	HDAC8 蛋白阳性
GCB 型	57	43(75.44)	38(66.67)	32(56.14)	27(47.37)
ABC 型	40	26(65.00)	27(67.50)	25(62.50)	16(40.00)
χ^2 值		1.25	0.04	0.39	0.52
P 值		> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

注:DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤,HDAC 为组蛋白去乙酰化酶

表2 HDAC1 蛋白表达与 DLBCL 患者临床特征的关系

因素	例数	HDAC1 蛋白阳性	χ^2 值	P 值
性别			0.41	> 0.05
男性	54	37(68.52)		
女性	43	32(74.42)		
年龄			1.83	> 0.05
> 60 岁	52	40(76.92)		
≤60 岁	45	29(64.44)		
体质量指数			1.14	> 0.05
> 24 kg/m ²	32	25(78.13)		
≤24 kg/m ²	65	44(67.69)		
Ann Arbor 分期			21.26	< 0.05
I~II 期	41	19(46.34)		
III~IV 期	56	50(89.29)		
IPI 评分			12.38	< 0.05
低风险	30	10(33.33)		
中高风险	67	59(88.06)		

注:DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤,HDAC 为组蛋白去乙酰化酶,IPI 为国际预后指数

表3 HDAC2 蛋白表达与 DLBCL 患者临床特征的关系

因素	例数	HDAC2 蛋白阳性	χ^2 值	P 值
性别			0.62	> 0.05
男性	54	38(70.37)		
女性	43	27(62.79)		
年龄			3.24	> 0.05
> 60 岁	52	39(75.00)		
≤60 岁	45	26(57.78)		
体质量指数			0.42	> 0.05
> 24 kg/m ²	32	21(65.63)		
≤24 kg/m ²	65	44(67.69)		
Ann Arbor 分期			10.68	< 0.05
I~II 期	41	20(48.78)		
III~IV 期	56	45(80.36)		
IPI 评分			18.09	< 0.05
低风险	30	11(36.67)		
中高风险	67	54(80.60)		

注:DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤,HDAC 为组蛋白去乙酰化酶,IPI 为国际预后指数

同性别、年龄和体质量指数患者的 HDAC8 蛋白阳性率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$); Ann Arbor III ~ IV 期患者 HDAC8 蛋白阳性率高于 I ~ II 期($P < 0.05$), IPI 评分中高风险患者 HDAC8 蛋白阳性率高于低分险($P < 0.05$), 见表 5。

2.6 不同预后患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达比较

表 4 HDAC3 蛋白表达与 DLBCL 患者临床特征的关系 例(%)

因素	例数	HDAC3 蛋白阳性	χ^2 值	P 值
性别			0.28	> 0.05
男性	54	33(61.11)		
女性	43	24(55.81)		
年龄			0.36	> 0.05
> 60 岁	52	32(61.54)		
≤ 60 岁	45	25(55.56)		
体质量指数			0.28	> 0.05
$> 24 \text{ kg/m}^2$	32	20(62.50)		
$\leq 24 \text{ kg/m}^2$	65	37(56.29)		
Ann Arbor 分期			8.77	< 0.05
I ~ II 期	41	17(41.46)		
III ~ IV 期	56	40(71.43)		
IPI 评分			11.59	< 0.05
低风险	30	10(33.33)		
中高风险	67	47(70.15)		

注: DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤, HDAC 为组蛋白去乙酰化酶, IPI 为国际预后指数

HDAC3 和 HDAC8 蛋白阳性率均高于生存组(均 $P < 0.05$), 见表 6。

2.7 影响 DLBCL 患者预后的因素 生存组和死亡组 Ann Arbor 分期和 IPI 评分差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$), 见表 7。将差异有统计学意义的影响因素纳入多因素 Logistic 回归分析, 结果显示 Ann Arbor III ~ IV 期、IPI 评分中高风险、HDAC1 蛋白阳

表 5 HDAC8 蛋白表达与 DLBCL 患者临床特征的关系 例(%)

因素	例数	HDAC8 蛋白阳性	χ^2 值	P 值
性别			2.79	> 0.05
男性	54	28(51.85)		
女性	43	15(34.88)		
年龄			0.64	> 0.05
> 60 岁	52	25(48.08)		
≤ 60 岁	45	18(40.00)		
体质量指数			1.50	> 0.05
$> 24 \text{ kg/m}^2$	32	17(53.13)		
$\leq 24 \text{ kg/m}^2$	65	26(40.00)		
Ann Arbor 分期			21.38	< 0.05
I ~ II 期	41	7(17.07)		
III ~ IV 期	56	36(64.29)		
IPI 评分			20.74	< 0.05
低风险	30	3(10.00)		
中高风险	67	40(59.70)		

注: DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤, HDAC 为组蛋白去乙酰化酶, IPI 为国际预后指数

表 6 不同预后 DLBCL 患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达比较

组别	例数	HDAC1 蛋白阳性	HDAC2 蛋白阳性	HDAC3 蛋白阳性	HDAC8 蛋白阳性
生存组	67	42(62.69)	39(58.21)	33(49.25)	22(32.84)
死亡组	30	27(90.00)	26(86.67)	24(80.00)	21(70.00)
χ^2 值		7.53	7.59	8.08	3.99
P 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

注: DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤, HDAC 为组蛋白去乙酰化酶

表 7 不同预后患者临床资料比较 例(%)

项目	例数	生存组(n=67)	死亡组(n=30)	χ^2 值	P 值
性别				0.10	> 0.05
男性	54	38(56.72)	16(53.33)		
女性	43	29(43.28)	14(46.67)		
年龄				0.16	> 0.05
> 60 岁	52	35(52.24)	17(56.67)		
≤ 60 岁	45	32(47.76)	13(43.33)		
体质量指数				0.97	> 0.05
$> 24 \text{ kg/m}^2$	32	20(29.85)	12(40.00)		
$\leq 24 \text{ kg/m}^2$	65	47(70.15)	18(60.00)		
Ann Arbor 分期				11.67	< 0.05
I ~ II 期	41	36(53.73)	5(16.67)		
III ~ IV 期	56	31(46.27)	25(83.33)		
IPI 评分				6.29	< 0.05
低风险	30	26(38.80)	4(13.33)		
中高风险	67	41(61.20)	26(86.67)		

注: IPI 为国际预后指数

性、HDAC2 蛋白阳性、HDAC3 蛋白阳性和 HDAC8 蛋白阳性均为影响 DLBCL 患者预后的危险因素(均 $P < 0.05$), 见表 8。

3 讨论

50%以上 DLBCL 患者采取标准免疫化疗方案治疗, 如美罗华联合 CHOP 方案(由环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和强的松构成)可以获得长期生存, 但仍有 30%~ 40%的患者容易复发或难治^[8-11]。因此, 寻找新的治疗手段对改善 DLBCL 患者预后尤为关键。

细胞内组蛋白乙酰化和去乙酰化之间的平衡受到两类酶的精确调控, 即组蛋白/蛋白赖氨酸乙酰转移酶(HAT)和 HDAC。其中 I 类 HDACs, 包括

表 8 影响 DLBCL 患者预后的多因素 Logistic 回归分析

因素	β 值	<i>S.E</i> 值	Wald χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>
Ann Arbor III ~ IV 期	1.245	0.571	4.75	< 0.05	3.473	1.134 ~ 10.635
IPI 评分中高风险	1.543	0.508	9.23	< 0.05	4.679	1.729 ~ 12.663
HDAC1 蛋白阳性	1.487	0.565	6.93	< 0.05	4.424	1.462 ~ 13.389
HDAC2 蛋白阳性	1.571	0.401	15.35	< 0.05	4.811	2.192 ~ 10.559
HDAC3 蛋白阳性	1.578	0.659	5.73	< 0.05	4.845	1.332 ~ 17.631
HDAC4 蛋白阳性	1.352	0.564	5.75	< 0.05	3.865	1.280 ~ 11.675

注:DLBCL 为弥漫大 B 细胞淋巴瘤,HDAC 为组蛋白去乙酰化酶,IPI 为国际预后指数

HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8,主要在细胞核表达并调控组蛋白去乙酰化;II a 类 HDACs(包括 HDAC4、HDAC5、HDAC7 和 HDAC9) 和 II b 类 HDACs(包括 HDAC6 和 HDAC10),主要在细胞浆内表达,负责非组蛋白蛋白质的去乙酰化。有研究表明,HDACs 过度表达,或在抑癌基因启动子区域异常募集,可导致抑癌基因转录受抑制,这种现象在肿瘤发生发展中较为常见。通过基因敲除和药物干预手段抑制淋巴瘤细胞株 HDAC3 表达,可抑制淋巴瘤细胞株增殖;基因敲除 HDAC1 和 HDAC2 亦可诱导淋巴瘤细胞株凋亡。基于 HDAC 在基因表达调控中的特殊作用,其与血液肿瘤发生、发展密切相关。李英新等^[12]研究发现,HDAC 高水平患者复发率高于 HDAC 低水平患者,且 HDAC 高表达是外周 T 细胞淋巴瘤患者复发的独立危险因素。本研究发现,不同亚型 DLBCL 患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白阳性率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),由此可见 I 类 HDAC 蛋白表达在 GCB 型和 ABC 型无明显差异;Ann Arbor 分期 III ~ IV 期、IPI 评分中高风险、死亡组 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白阳性率均高于相应组(均 $P < 0.05$),且 Ann Arbor III ~ IV 期、IPI 评分中高风险、HDAC1 蛋白阳性、HDAC2 蛋白阳性、HDAC3 蛋白阳性和 HDAC8 蛋白阳性为影响 DLBCL 患者预后危险因素(均 $P < 0.05$),由此可见 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 对 DLBCL 的生物标志和治疗新靶点具有一定的参考价值。

综上所述,DLBCL 患者 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和 HDAC8 蛋白表达与患者 Ann Arbor 分期、IPI 评分和预后密切相关,值得临床借鉴。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] NASTOUIL L J, BARTLETT N L. Navigating the evolving treatment landscape of diffuse large B-cell lymphoma[J]. J Clin Oncol, 2023, 41(4): 903-913.
- [2] LIANG X J, SONG X Y, WU J L, et al. Advances in multi-omics study of prognostic biomarkers of diffuse large B-cell lymphoma[J]. Int J Biol Sci, 2022, 18(4): 1313-1327.
- [3] 刘艳,徐沙沙,王晓宁,等. Notch1、Hes1 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志,2023,31(3):714-721.
- [4] KANAS G, GE W Z, QUEK R G W, et al. Epidemiology of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and follicular lymphoma (FL) in the United States and Western Europe: Population-level projections for 2020-2025[J]. Leuk Lymphoma, 2022, 63(1): 54-63.
- [5] 胡晓婧,姚灼新,姜义荣,等. cyclin D2、Bcl-2 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中的表达意义[J]. 临床和实验医学杂志,2023,22(2):137-140.
- [6] 殷运燕,李慧,李雨晨,等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂在非霍奇金淋巴瘤中的临床应用[J]. 国际肿瘤学杂志,2022,49(8):499-504.
- [7] 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.
- [8] 袁军,韩虎,董巍,等. MiR-424-5p 调控 PD-1/PD-L1 信号通路对弥漫大 B 细胞淋巴瘤细胞耐药性的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2023,31(1):96-103.
- [9] NOWAKOWSKI G, MAURER M J, CERHAN J R, et al. Utilization of real-world data in assessing treatment effectiveness for diffuse large B-cell lymphoma[J]. Am J Hematol, 2023, 98(1): 180-192.
- [10] 石峰,高颖,赵洪禹,等. 原发 CD5 阳性弥漫大 B 细胞淋巴瘤 18 例临床病理特征[J]. 临床与实验病理学杂志,2023,39(2):162-168.
- [11] ICHIKAWA S, FUKUHARA N, SAITO K, et al. Diffuse large B-cell lymphoma presenting as peritoneal lymphomatosis: A case report and literature review[J]. Intern Med, 2022, 61(13): 2057-2060.
- [12] 李英新,李一丹,王佩,等. 不同 HDAC 水平的外周 T 细胞淋巴瘤患者预后复发的影响因素分析[J]. 中国实验血液学杂志,2024,32(3):733-741.

收稿日期:2024-04-24

(本文编辑:孙海儿)