论著

文章编号:1000-5404(2008)15-1466-04

PAX-5、OCT-2 及 BOB.1 在霍奇金淋巴瘤中的表达及其意义

范严严,章 容,郭乔楠 (第三军医大学西南医院病理学研究所,重庆 400038)

摘 要:目的 探讨 PAX-5、OCT-2、BOB.1 在霍奇金淋巴瘤中的表达情况及其意义。方法 对 44 例霍奇金淋巴瘤行 HE 染色和应用免疫组织化学 PV-9000 法标记 CD30、CD15、PAX-5、OCT-2、BOB.1、CD20、CD3,按 WHO 关于淋巴造血组织肿瘤分类(2001 年)进行诊断和组织学分型。结果 44 例霍奇金淋巴瘤中,结节性淋巴细胞为主型(NLPHL)3 例(6.8%),经典型霍奇金淋巴瘤(CHL)41 例(93.2%)。HRS 细胞有 36 例(81.8%)表达 CD30,27 例(61.4%)表达 CD15,14 例(31.8%)表达 CD20,43 例(97.7%)表达 PAX-5,14 例(31.8%)表达 OCT-2,7 例(15.9%)表达 BOB.1,其中 NLPHL OCT-2、BOB.1 均为阳性(100%),CHL 中有 30 例(73.2%)均不表达 OCT-2 和 BOB.1,7 例(17.1%)OCT-2(+)、BOB.1(-),1 例(2.4%)OCT-2(-)、BOB.1(+)。所有病例均不表达 CD3。结论 霍奇金淋巴瘤是一种病因不明,诊断较困难的恶性肿瘤,PAX-5、OCT-2、BOB.1 标记与传统的 CD30、CD15 相结合,有助于霍奇金淋巴瘤的诊断及鉴别诊断。

关键词:霍奇金淋巴瘤;病理;免疫组化
中图法分类号:R446.8;R730.21;R733.1 文献标识码:A

Expression and significance of PAX-5, OCT-2 and BOB.1 in Hodgkin lymphoma

FAN Yan-yan, ZHANG Rong, GUO Qiao-nan (Institute of Pathology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions and significance of PAX-5, OCT-2 and BOB.1 in Hodgkin lymphoma (HL). Methods Immunohistochemical method was used to detect the expressions of CD30, CD15, PAX-5, OCT-2, BOB.1, CD20 and CD3 in 44 samples of formalin-fixed, paraffin-embedded tissues of HL. The histological classification was carried out according to the WHO classification for tumors of hematopoietic and lymphoid tissues (2001). Results In all 44 cases, 3 (6.8%) were nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma (NLPHL) and 41 (93.2%) were classical Hodgkin lymphoma (CHL). In Hodgkin and Reed Sternberg cells, CD30 were expressed in 36 samples (81.8%), CD15 in 27 (61.4%), CD20 in 14 (31.8%), PAX-5 in 43 (97.7%), OCT-2 in 14 (31.8%), and BOB.1 in 7 (15.9%). All samples of NLPHL expressed OCT-2 and BOB.1, while in the samples of CHL, 30 samples (73.2%) expressed both OCT-2 and BOB.1, 7 (17.1%) expressed only OCT-2, 1 (2.4%) expressed only BOB.1 and all were negative for CD30. Conclusion Hodgkin lymphoma is a rare neoplasm with uncertain cause and difficult to diagnose. The detection of PAX-5, OCT-2 , BOB.1 in combination with CD30, CD15 will conduce to the diagnosis and differential diagnosis of Hodgkin lymphoma.

Key words: Hodgkin lymphoma; pathology; immunohistochemistry

霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma, HL)是一种淋巴造血系统恶性肿瘤,在 1832 年由 Thomas Hodgkin 首次描述,约占全世界年发病的 1%,占所有淋巴瘤的 30%[1]。2001 年 WHO 对淋巴造血组织肿瘤进行了重新定义与组织学分型[2]。PAX-5 又称 B 细胞特异性激活蛋白(B cell-specific activator protein, BSAP),是由成对区控制基因家族 PAX-5 编码的一种 B 细胞特异性转录因子,对 B 细胞的发育、增殖和分化起着关键作用[3]。OCT-2 是一种 B 细胞的特异性转录因子,OCT-2 与其协同因子 BOB.1 相互作用,参与 Ig 基因表达的调控,而且参与其他有关 B 细胞增殖及分化基因的调控[4]。目前国内有关 PAX-5、OCT-2、BOB.1 三者同时在 HL 中的作用及意义尚少见报道。本研究对 44

基金项目:第三军医大学西南医院临床创新基金(2006A009)
Supported by the Innovative Fund for Scientific Research of Southwest Hospital of Third Military Medical University (2006A009)
作者简介:范严严,女,四川省威远县人,硕士研究生,技师,主要从事淋巴瘤方面的研究,现在成都军区总医院病理科。电话:(028)86570457,E-mail:nicky0722@126.com
通信作者:郭乔楠,电话:(023)68754433,E-mail:qiaonan85@263.net
收稿日期:2008-04-07;修回日期:2008-05-27

表 1　44 例 HL 患者肿瘤组织中 PAX-5、OCT-2、BOB. 1 表达强度的变化

免疫标记	NLPHL			NSHL			MCHL			LPHL			LDHL			合计	*P* 值
	+++	++	+	+++	++	+	+++	++	+	+++	++	+	+++	++	+		
PAX-5	3	0	0	0	3	12	0	5	7	0	1	7	0	1	4	43	
0CT-2	3	0	0	0	1	3	2	3	1	0	0	0	0	0	1	14	<0.01
BOB. 1	0	3	0	0	0	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	7	

例霍奇金淋巴瘤进行了回顾性研究，并运用免疫组织化学染色对 HL 中的霍奇金细胞和 Read-sternberg 细胞（HRS）的 PAX-5、OCT-2、BOB. 1 进行检测，探讨 PAX-5、OCT-2、BOB. 1 在霍奇金淋巴瘤的表达及其意义。

1　材料与方法

1.1　材料来源

收集本院病理学研究所 1996 – 2007 年存档的霍奇金淋巴瘤蜡块共 44 例，均为临床送检病例，标本经 10% 福尔马林液固定，常规脱水、石蜡包埋。全部病例重新包埋、切片后经苏木精-伊红（HE）染色，根据 WHO 关于淋巴造血组织肿瘤分类（2001 年）中的诊断标准进行确诊及组织学分类[2]。

1.2　试剂

鼠抗人单克隆抗体 CD30、CD15、CD20、CD3、PAX-5、OCT-2、BOB. 1 及 PV-9000 二步法试剂盒均购于北京中杉金桥生物技术有限公司，所用抗体均为即用型。DAB 显色液为 DAKO 公司产品。

1.3　免疫组化检测

全部标本重新经石蜡包埋，3 μm 厚连续切片，采用微波炉抗原修复，免疫组化二步法（PV-9000）进行标记。所有抗体均以扁桃体组织为阳性对照，以 PBS 代替一抗作空白对照。结果判读 CD30、CD15 以 HRS 细胞膜/Golgi 区棕黄色为阳性；CD20、CD3 以 HRS 细胞膜棕黄色为阳性；PAX-5、OCT-2、BOB. 1 以 HRS 细胞核棕黄色为阳性，根据细胞核阳性颗粒的颜色为棕黄、黄色、淡黄，其表达强度分为强（+++）、中等（++）、弱（+）3 个等级。

1.4　统计学分析

计数资料采用 χ^2 检验和 Fisher 精确概率检验及 Kruskal-Wallis 秩和检验，均用 SPSS 13.0 统计软件处理。

2　结果

2.1　临床分析结果

收集整理的霍奇金淋巴瘤共计 44 例，其中女性 11 例，男性 33 例，年龄 5 ~ 71 岁，主要集中在 15 ~ 40 岁。多好发于颈部淋巴结（29 例），其次是腋下淋巴结（5 例），纵隔淋巴结（5 例），小肠、颌下、腹股沟淋巴结（5 例）。临床表现多为淋巴结的无痛性肿大，伴或不伴发热、盗汗、体质量下降。

2.2　组织学分型

按 WHO 关于淋巴造血组织肿瘤分类（2001 年），HE 染色结合免疫组化标记，44 例 HL 中结节性淋巴细胞为主型（nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma，NLPHL）3 例（6.8%）经典型霍奇金淋巴瘤（classical Hodgkin lymphoma，CHL）41 例（93.2%），其中结节硬化型（nodular sclerosis Hodgkin lymphoma，NSHL）15 例（36. 6%），混合细胞型（mixed cellularity Hodgkin 's lymphoma，MCHL）12 例（29.3%），富于淋巴细胞的经典型（lymphocyte-riched classical Hodgkin lymphoma，LPHL）9 例（21. 9%），淋巴细胞消减型（lymphocyte depletion Hodgkin lymphoma，LDHL）5 例（12.2%）。

2.3　免疫表型检测

2.3.1　PAX-5、OCT-2、BOB. 1 在 HL 中的表达　44 例 HL 中 HRS 细胞对 PAX-5、OCT-2、BOB. 1 的表达阳性强度强弱不等，着色后的细胞核和核仁数目、大小清晰可见。对 3 种免疫标记的阳性表达强度进行 Kruskal-Wallis 秩和检验，其差异有统计学意义（$\chi^2 = 56.337$，$P = 0.000$），其表达强度多为弱到中等，明显弱于周围背景 B 淋巴细胞的着色。PAX-5 在 NLPHL 中 3 例均呈强阳性表达，在 CHL 中呈弱到中等强度阳性，阳性率为 97.6%（40 例），两者之间的差异无统计学意义（$\chi^2 = 0.000$，$P = 1.000$）。OCT-2 在 NLPHL 中 3 例均呈强阳性表达，在 CHL 中呈弱到中等强度阳性，阳性率为 26.8%（11 例），两者之间的差异有统计学意义（$\chi^2 = 3.398$，$P = 0.047$）。BOB. 1 在 NLPHL 中 3 例均呈中等强阳性表达，在 CHL 中呈弱到中等强度阳性，阳性率为 9.76%（4 例），两者之间的差异有统计学意义（$\chi^2 = 10.940$，$P = 0.001$）（图 1，表 1）。NLPHL 中，OCT-2、BOB. 1 均为阳性，CHL 中，有 30 例（73.2%）均不表达 OCT-2 和 BOB. 1，7 例（17.1%）OCT-2（+）、BOB. 1（–），1 例（2.4%）OCT-2（–）、BOB. 1（+）。

2.3.2　HL 中 HRS 细胞 CD30、CD15、CD20、CD3 的表达　CD30、CD15 的阳性颗粒主要出现在 HRS 细胞膜上及细胞质内核旁高尔基器区内。CD20 的阳性颗粒除了部分 HRS 细胞中出现外，主要出现在周围背景细胞中，CD3 在 HRS 细胞中呈阴性表达（表 2）。对 PAX-5 与 CD20 的表达率进行 χ^2 检验，其差异有统计学意义（$\chi^2 = 41.883$，$P = 0.000$），PAX-5 的表达高于 CD20，有 CD20 阳性表达的病例均有 PAX-5 表达。对 CD30 和 CD15 的表达率进行 χ^2 检验，其差异无统计学意义（$\chi^2 = 3.576$，$P = 0.059$）。

表 2　44 例 HL 患者肿瘤组织中 CD30、CD15、CD20、CD3 表达[$n = 44$，例数（%）]

免疫标记	CHL	NLPHL	合计
CD30	36（81.8）	0（0）	36（81.8）
CD15	26（59.1）	1（2.3）	27（61.4）
CD20	13（29.5）	1（2.3）	14（31.8）
CD3	0	0	0

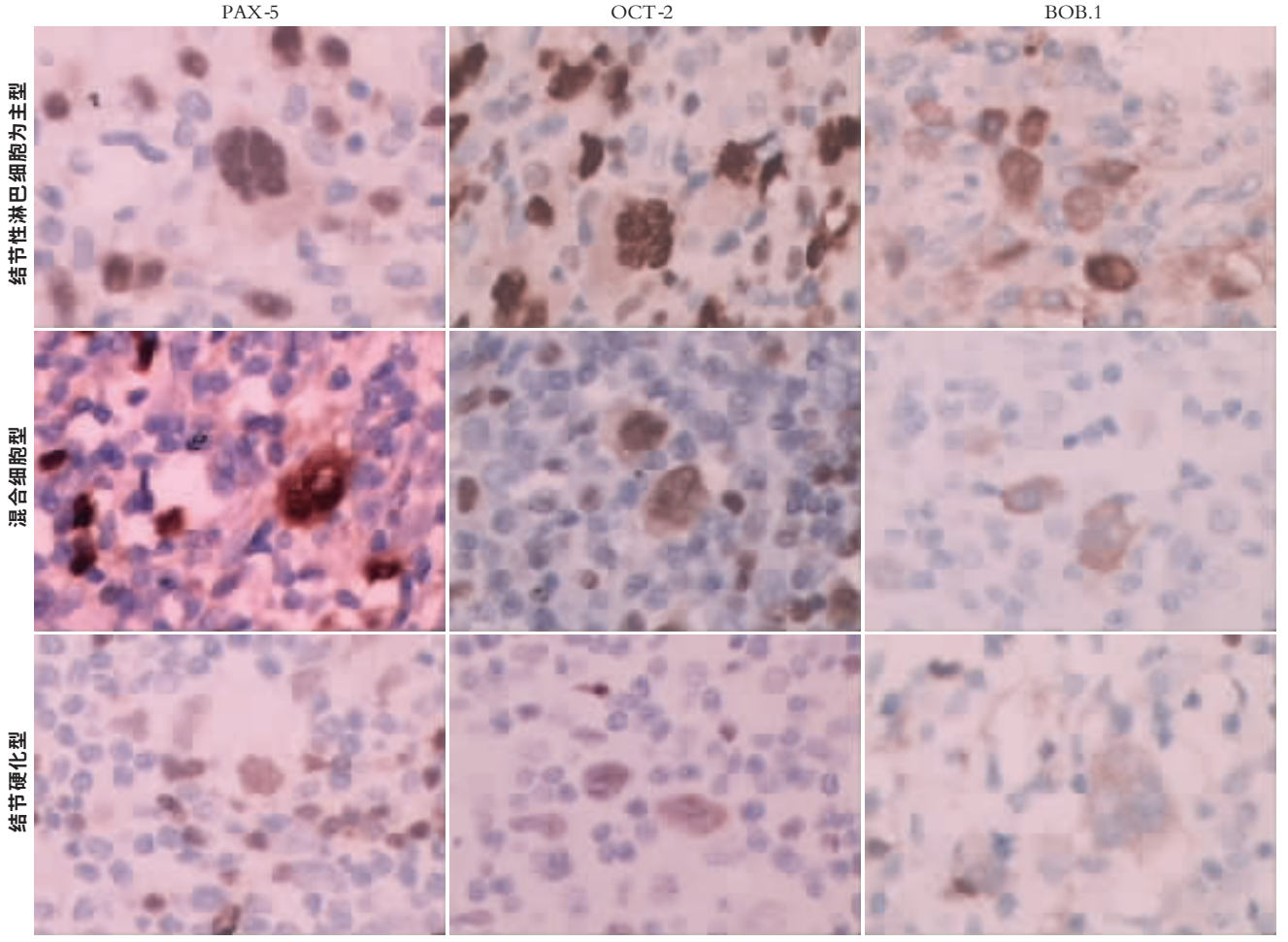


图1 PAX-5、OCT-2 及 BOB.1 在 HL 各亚型中 HRS 细胞的表达 （PV-9000 ×400）

3 讨论

PAX-5 基因属于成对区控制家族，在胚胎发育过程中编码重要的转录因子。在淋巴系统内，由 PAX-5 基因编码的 PAX-5/BSAP（B cell-specific activator protein）仅存在于 B 细胞中，在从原始 B 细胞到成熟 B 细胞均有表达，但在终末分化的浆细胞则检测不到其活性。其功能是在 B 细胞发育早期调节 B 细胞多种特异性基因表达，B 细胞被激活后，促进 B 细胞的增殖及同型转换，并在免疫球蛋白基因转录及终末分化阶段起重要的调节作用，是一个全 B 或全前体 B 细胞标记[3,5]。我们对 44 例 HL 进行了 PAX-5 检测，发现 PAX-5 在周围背景 B 细胞中呈强阳性表达，NLPHL 中的 HRS 细胞均表达 PAX-5，呈强阳性；CHL 中的 HRS 细胞除 1 例外亦均表达 PAX-5，强度由弱阳性到中等强度不等。本实验中 HRS 细胞阳性率高达 97.7%，高于 Mhawech-Fauceglia 等[6] 的报道（85.7%）及国内郗彦凤等[7] 的报道（58.0%），与 Schwering 等[8] 的报道（91.3%）接近。PAX-5 在 HL 中 HRS 细胞的表达情况有较大差异，可能与样本量大小有关，同时统计分析时应注意背景中大量非肿瘤 B 细胞的干扰，避免由此带来的假阴性或假阳性。

关于霍奇金淋巴瘤的细胞起源，目前的普遍观点支持为 B 细胞源性[9]，但 HRS 细胞对 B 细胞标记物 CD20 的表达率却很低，本研究结果仅为 31.8%，远远低于 PAX-5 的阳性率 97.7%。PAX-5/BSAP 能调节诱导提高多种 B 细胞抗原如 CD19、CD20 等的表达[10]，HL 中 HRS 细胞的 PAX-5/BSAP 的低表达水平可能使其不能充分诱导 B 细胞抗原的表达，从而导致 HRS 细胞中的 CD20 不表达或表达很低。故 PAX-5 可作为霍奇金淋巴瘤 HRS 细胞种属研究的一种优先标记物。

OCT-2 是一种八聚体的 B 细胞特异性转录因子，属于 POU 转录因子家族成员之一。它不仅参与 Ig 基因表达的调控，而且参与其他有关 B 细胞增殖及分化基因的调控。OCT-2 与其协同因子 BOB.1 的相互作

用是 B 细胞表达 Ig 基因的必要条件，可激活免疫球蛋白基因的启动子而调节免疫球蛋白的合成。进一步的研究表明，CHL 中由于转录因子 OCT-2 和/或其协同因子 BOB. 1 缺失或下调将导致 Ig 转录消失，不能产生功能性 Ig 分子[11]。在其他 B 细胞淋巴瘤（包括 NLPHL）通常没有 OCT-2 和/或 BOB. 1 缺失。因此，OCT-2 和 BOB. 1 可作为鉴别 NLPHL 与 CHL 有价值的新指标：PAX-5/BSAP（+），而 OCT-2（-）或 BOB. 1（-）提示 CHL，PAX-5/BSAP（+）、OCT-2（+）、BOB. 1（+）则提示为 NLPHL[12,13]。转录因子 OCT-2/BOB. 1 在几乎所有的 B 细胞性非霍奇金淋巴瘤和 NLPHL 中表达，在 CHL 中的阳性率则存在较大差异，OCT-2 与 BOB. 1 的阳性率国外有报道分别为 74% 与 19%[13]，62% 与 37%[14]。还有研究提到 CHL 中可以检测到 OCT-2 低水平的转录，但无 OCT-2 蛋白表达[15]。本实验中 OCT-2 与 BOB. 1 在 NLPHL 中 3 例均为阳性，在 CHL 中的阳性率分别为 14. 6% 与 15. 9%，其中 73. 2% 的 CHL 均不表达 OCT-2 和 BOB. 1，19. 5% 的 CHL 有 OCT-2（-）或 BOB. 1（-）。

本实验中 NLPHL 的肿瘤细胞 OCT-2/BOB. 1 表达相对于 CHL 呈强阳性表达，阳性率为 100%。在 CHL 的各亚型中，HRS 细胞 OCT-2/BOB. 1 的阳性强度由弱到中等不定，在 MSHL 中的表达要强于 NSHL，LPHL 和 LDHL 两种亚型的阳性率及阳性强度均较低，这可能与 HRS 细胞在不同亚型中受微环境的影响及病毒感染，如与 EB 病毒有关，具体机制有待进一步研究。

HRS 细胞的辨认是长期困扰病理医生的难题，除了 HRS 细胞本身有多种变化，如爆米花细胞、陷窝细胞、多型性 RS 细胞等，还有许多与 HRS 形态类似的细胞，如免疫母细胞、组织细胞等。目前认为，CD30、CD15 是 HRS 细胞的特异性检测抗体。本实验中 44 例 CHL 的表达率均很高，分别为 87. 8%，63. 4%。但 CD30 和 CD15 并非 HL 的绝对特异性抗体。其他类型的细胞，如活化的大淋巴细胞和间变性大细胞淋巴瘤 CD30 呈阳性，CD15 在单核细胞-粒细胞中也有表达。因此将 PAX-5、OCT-2、BOB. 1 标记与传统的 CD30、CD15 相结合，更有助于霍奇金淋巴瘤的诊断及鉴别诊断。

参考文献：

[1] 朱梅刚. 恶性淋巴瘤病理诊断学[M]. 广州：广东科技出版社，2003：110－115.

[2] Jaffe E S，Harris N L，Stein H，*et al*. World Health Organisation classification of tumours：Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. Lyon：IARC Press，2001：287.

[3] Hagman J，Wheat W，Fitzsimmons D，*et al*. Pax-5/BSAP：regulator of specific gene expression and differentiation in B lymphocytes[J]. Curr Top Microbiol Immunol，2000，245(1)：169－194.

[4] Latchman D S. The Oct-2 Transcription Factor[J]. Int J Biochem Cell Biol，1996，28(10)：1081－1083.

[5] Torlakovic E，Torlakovic G，Nguyen P L，*et al*. The value of anti-pax-5 immunostaining in routinely fixed and paraffin-embedded sections：a novel pan pre-B and B-cell marker[J]. Am J Surg Pathol，2002，26(10)：1343－1350.

[6] Mhawech-Fauceglia P，Saxena R，Zhang S. *et al*. Pax-5 immunoexpression in various types of benign and malignant tumours：a high-throughput tissue microarray analysis[J]. J Clin Pathol，2007，60(6)：709－714.

[7] 郁彦凤，徐恩伟，白文启，等. BSAP MUM1 在经典型霍奇金淋巴瘤的表达及意义[J]. 中国药物与临床，2007，7(9)：670－671.

[8] Schwering I，Brauninger A，Klein U，*et al*. Loss of the B-lineage-specific gene expression program in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma[J]. Blood，2003，101(4)：1505－1512.

[9] 余英豪. 霍奇金淋巴瘤研究进展[J]. 实用肿瘤杂志，2005，20(1)：1－4.

[10] Smith E，Sigvardsson M. The roles of transcription factors in B lymphocyte commitment，development，and transformation[J]. J Leukoc Biol，2004，75(6)：973－981.

[11] Ushmorov A，Ritz O，Hummel M，*et al*. Epigenetic silencing of the immunoglobulin heavy-chain gene in classical Hodgkin lymphoma-derived cell lines contributes to the loss of immunoglobulin expression[J]. Blood，2004，104(10)：3326－3334.

[12] Loddenkemper C，Anagnostopoulos I，Hummel M，*et al*. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB. 1/OBF. 1，Oct2，PU. 1，and immunoglobulin in reactive B-cell populations，B-cell non-Hodgkin lymphomas，and Hodgkin lymphomas[J]. J Pathol，2004，202(1)：60－69.

[13] McCune R C，Syrbu S I，Vasef M A. Expression profiling of transcription factors Pax-5，Oct-1，Oct-2，BOB. 1，and PU. 1 in Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas：a comparative study using high throughput tissue microarrays[J]. Mod Pathol，2006，19(7)：1010－1018.

[14] Garcia-Cosio M，Santon A，Martin P，*et al*. Analysis of transcription factor OCT. 1，OCT. 2 and BOB. 1 expression using tissue arrays in classical Hodgkin's lymphoma[J]. Mod Pathol，2004，17(12)：1531－1538.

[15] Re D，Muschen M，Ahmadi T，*et al*. Oct-2 and Bob-1 deficiency in Hodgkin and Reed Sternberg cells[J]. Cancer Res，2001，61(5)：2080－2084.

（编辑　王　红）