

简介

双重打击淋巴瘤（DHL）代表高度侵袭性B细胞淋巴瘤的一个亚型，其特点是具有经常发生的影响MYC和BCL2和 / 或BCL6的细胞遗传学重排。最近的研究将这个概念扩展到包括MYC/BCL2蛋白双表达的淋巴瘤。大约有5–10%的弥漫大B淋巴瘤是细胞遗传学定义下的双重打击淋巴瘤，同时大约有30–40%的B细胞淋巴瘤是MYC/BCL2蛋白双重表达的。

在这里，我们对这种情况做一个综合性的回顾，以执业临床医师为主要对象，对DHL的定义，分类，何时应该怀疑是DHL和如何确诊，预后因素和最佳治疗方案的最新证据进行详细的探讨。我们重点讨论诱导方案的选择，中枢神经系统预防的作用，干细胞移植和复发耐药疾病的治疗，在现有证据的基础上给出我们的意见。最后，我们展示一些针对这种高度侵袭性疾病正在开发中的最新疗法。

B细胞淋巴瘤中出现染色体易位很常见。这种易位经常将致癌基因与免疫球蛋白基因位点并置，可以被认为是淋巴瘤的发起事件。对这种易位研究的最多的是MYC；MYC驱动的淋巴瘤的原型是伯基特淋巴瘤中的8q24染色体重排。当MYC重排与其它易位比如BCL2或BCL6同时发生时，诱发的淋巴瘤具有独特的生物学特性和高度侵袭性的临床表现，从而被定义为双重打击淋巴瘤（DHL）。鉴于这种淋巴瘤比较少见，而且最近才意识到其存在，开展前瞻性的试验非常困难。因此，大部分现存数据来源于回顾性的研究或弥漫大B淋巴瘤前瞻性研究的亚组分析。本文的目的是将这些数据合成为针对这种非常具有挑战性的淋巴瘤的一个综合性的，聚焦于临床的全面总结，涵盖生物学原理，诊断要点，临床特点，治疗和预后因素等各个方面。

MYC生物学原理和其在淋巴瘤中的作用

MYC是一个制造转录因子MYC（也被成为c-MYC）的原癌基因。MYC调控大约10%的人类基因，其下游靶标影响细胞增殖，DNA和蛋白合成与代谢。肿瘤细胞中MYC的过表达可以来自于染色体易位，基因扩增，复制和变异。MYC直接和非直接的激活CCND2和CDK，并下调细胞循环抑制因子，促进从G0到S阶段的转化。此外，MYC驱动广泛的microRNA转录组的重新排列从而导致肿瘤产生。

MYC在生发中心的形成和维护中起着不可或缺的作用。自相矛盾的是，还可以观察到MYC过表达会导致细胞凋亡。最近的数据提示MYC似乎通过扩增已有的转录活跃基因来对细胞施加影响，因此其作用是前后相关的。这种认识可以帮助解释上述的一些自相矛盾的行为。

表达MYC的淋巴瘤

尽管MYC重排是伯基特淋巴瘤的必要条件，但是这种诊断却不具有特异性。一些研究描述了在其它血液学病变中存在的MYC重排，包括B细胞淋巴瘤，介于弥漫大B和伯基特之间不可分型的淋巴瘤，弥漫大B淋巴瘤，T淋巴母细胞淋巴瘤，套细胞淋巴瘤，浆母细胞淋巴瘤，急性淋巴细胞白血病，滤泡性淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病，在后两种情况下一般都是作为向侵袭性淋巴瘤转化的时候的一种继发的基因变异事件。在生物学上伯基特淋巴瘤和具有MYC重排的非伯基特淋巴瘤有着本质性的区别。在伯基特淋巴瘤中，易位的伙伴在80%的情况下14q21染色体上的免疫球蛋白重链（IGH），少部分情况下涉及分别在2p22染色体和22q11染色体上的免疫球蛋白轻链kappa（IGK）和lambda（IGL）。相比之下，在非伯基特淋巴瘤中，易位的伙伴经常是非免疫球蛋白基因，比如PAX5, BCL6, BCL11A or IKZF1。在伯基特中，MYC重排经常是唯一的异常。而在弥漫大B / 灰区中，则通常是具有三种及以上变异的复杂核型的一部分。此外，MYC重排的弥漫大B淋巴瘤涉及的基因是核因子kappa-B通道和抗凋亡基因，而在伯基特中，靶基因涉及细胞增殖。由于这些差异，MYC驱动的非伯基特淋巴瘤通常是一种侵袭性的疾病，对治疗应答不良并且预后较差。因为伯基特淋巴瘤相对少见，在临床实践中遇到的MYC重排大多发生在弥漫大B（5%-16%）和不可分型的B细胞淋巴瘤中（30%-50%）。

定义单纯，双重和三重打击淋巴瘤

具有MYC重排的非伯基特淋巴瘤病人，如果没有额外的BCL2或BCL6断裂被称之为单纯打击淋巴瘤（SHL）。这种情况比DHL少见，关于其临床意义的证据不确定。有报道说SHL对预后类似DHL的负面影响，然而并不是所有研究都支持这个论断。德国恶性淋巴瘤分子机制小组研究了一系列DHL（47例）和SHL（31例）的病人，发现了相似的分子学，细胞形态学和临床特点，在生存上两组病人没有差异。一个西班牙的小组研究了219例弥漫大B的病人的MYC异常，发现了19%的基因获得，2%的基因扩增，3%的SHL和4%的DHL。基因扩增对SHL

和DHL的预后都有负面影响，但是MYC获得却没有。然而，在其它两个针对弥漫大B淋巴瘤的研究中，MYC断裂并不造成负面预后影响除非同时发生BCL2断裂。需要通过进一步的研究采用同一方案治疗的更多的病例来解决这个问题。

双重打击这个名词最初是用来描述具有MYC和BCL2断裂的淋巴瘤。更广泛的说，DHL指的是具有多重激活的致癌基因的B细胞淋巴瘤，其中的致癌基因之一是MYC。MYC/BCL2的DHL是最常见的DHL，MYC/BCL6的DHL和MYC/BCL2/BCL6的三重打击淋巴瘤（THL）则比较少见。在最大规模的系列报道中，270例（87%）是MYC/BCL2的DHL，16例（5%）是MYC/BCL6的DHL，还有25例（8%）是MYC/BCL2/BCL6的THL。更罕见的是还同时存在CCND1 (BCL1), BCL3和PAX5的基因易位。

早期的文献中用细胞遗传学的易位的证据来定义DHL，通过FISH来确认。DHL的定义是通常化疗耐药，与较短的生存期和独立于国际预后指数之外的较差的预后相关的一种疾病。进一步说，有几个小组在大样本的研究中发现弥漫大B淋巴瘤病人免疫组化中同时高表达MYC和BCL2蛋白的（以下称为MYC / BCL2双重表达）与没有此类异常的相比生存期较差，尽管其结局不像细胞遗传学上的DHL一样差。

什么情况下应该怀疑是DHL，什么时候以及用什么方法进行检查？

鉴于DHL的诊断对预后的判断以及潜在的治疗手段有显著的影响，最好能尽快的确认这样的病人。摆在临床医生面前的一个关键问题是什么时候需要做FISH筛查。这个问题在实践中经常可以遇到，大部分DHL不是弥漫大B就是不可分型的B细胞淋巴瘤，前者在西方国家里是最常见的非霍奇金淋巴瘤类型。接近一半的不可分型的B细胞淋巴瘤的病人有MYC断裂。MYC断裂还被确认为是一种淋巴瘤在向大细胞转化过程中的继发性的基因变异事件。有接近33%的免疫母细胞弥漫大B淋巴瘤有MYC重排。用FISH排查的时候大约有5%—16%的弥漫大B淋巴瘤是MYC/ BCL2的DHL，但是有接近三分之一的是MYC/BCL2双表达。

表一列出了几项研究报告的DHL的临床特点。中位发病年龄是60岁，但是病人最年轻的有17岁，最老的有87岁。男 / 女比例为大约2:1。

病理转化的惰性淋巴瘤占大约20%的比例。中位Ki67指数在80%左右，低于伯基特淋巴瘤（一般在95%—100%之间）。确诊时多为高肿瘤负荷，年纪较大，LDH

升高，有B症状和骨髓侵犯。可惜的是，这些特征单独或者联合在一起都不能可靠的提示是DHL。缺乏稳定可靠的临床特征以提示哪些病人可能是DHL使得一些研究人员确信所有弥漫大B的病人都应该用FISH检查MYC断裂。但是FISH需要专门的设备和技术，耗时间而且成本高昂。通过免疫组化进行MYC蛋白染色相对便宜因而成为广泛使用的常规检查项目；可重复性强，至少在一些有经验的大的医疗中心是这样。在资源紧缺的环境下，鉴于有商用的抗体存在(clone Y69 Epitomics, Burlingame, CA, USA)，是否可以用MYC-免疫组化来替代FISH筛查病人，是一个值得思考的问题。

Horn等人调查了MYC, BCL2和BCL6断裂(通过FISH)和蛋白表达(通过免疫组化)对经R-CHOP治疗的弥漫大B病人的影响。在总共949例病人中，442例(47%)有FISH数据，283例(30%)有可解读的MYC染色。在MYC重排的病例中，18/26(69%)免疫组化染色阳性，如果用 $\geq 40\%$ 作为临界点的话；67/241(28%)是非重排的病例。在这组数据中，如果用免疫组化替代FISH筛查，8例(31%) MYC/BCL2的DHL将会被漏掉。相比之下，Green等通过免疫组化（采用同样抗体）和FISH研究了205个弥漫大B的活检样本，发现 $\geq 70\%$ 的MYC免疫组化阳性是最佳的临界点，得到的结果是MYC断裂的100%的敏感性和93%的特异性。综上所述，这些研究表明MYC免疫组化有较高的敏感性，可以潜在用于筛查MYC断裂，但是最佳的临界点还有待确定。

建议

所有的弥漫大B病人都应该用免疫组化检查MYC和BCL2，因为其蛋白表达可以定义为双重表达淋巴瘤。理想情况下，所有弥漫大B病人要用FISH筛查MYC重排。一个折中办法是用MYC免疫组化来筛查需要进一步做FISH检查的病人。尽管精确的临界点还不确定，我们建议MYC-IHC $\geq 30\%$ 作为需要进行FISH检查的触发点，以降低假阴性率。如果病人发现有MYC重排，要进一步做FISH检查BCL2和BCL6重排。所有不可分型的B细胞淋巴瘤病人，免疫母细胞弥漫大B的病人，和发生转化的惰性淋巴瘤病人都应该用FISH检查MYC重排。

MYC/BCL2双重表达淋巴瘤与FISH确认的MYC/BCL2 DHL一样吗？

MYC/ BCL2双重表达的弥漫大B淋巴瘤比细胞遗传学DHL更常见，一些除易位以外的机制（例如扩增，变异和微RNA依赖的机制）可以造成这些蛋白的过表达。MYC/BCL2双重表达淋巴瘤占弥漫大B淋巴瘤的21–34%。其转归似乎比非表达的

病例要差但是不像细胞遗传学MYC/BCL2 DHL那么差。各个研究所用的确切的临界点略有不同，但是MYC-IHC $\geq 40\%$ 和BCL2-IHC $\geq 70\%$ 比较典型。是否MYC, BCL2或BCL6的单独过表达有负面的预后意义还存在争议，目前的文献中说法不一。在几项研究中，MYC或BCL2过表达没有对生存带来负面影响。但是，在其它几项研究中，MYC, BCL2或BCL6蛋白的过表达对预后是有负面影响的。此外，与细胞遗传学MYC/BCL2 DHL（通常是生发中心B细胞来源）不同，63–76%的MYC/BCL2双重表达淋巴瘤是活化B细胞来源的。

DHL病人的预后因素是什么？

细胞遗传学MYC/BCL2 DHL病人呈侵袭性病程，对标准化疗应答不良，与一般弥漫大B病人相比无进展生存率和总生存率较短，是独立的临床风险因素。在DHL中IPI有一定的预后意义，但是区分的能力有限，因为LDH升高，多个结外侵犯，和较高分期很常见，因此大部分都是高危病人。也探索过其它一些潜在的预后因素，但是由于所有报告的研究都是小样本、单中心和回顾性的，结论意见不大统一。尽管如此，还有一些共同的发现。有两项研究发现DHL病人同时有MYC-IGH易位的，与没有免疫球蛋白易位的相比，预后较差。其中一项研究还确定不能分型的B细胞淋巴瘤形态是一个负面的预后因素，然而这些病人更可能是有非免疫球蛋白易位和骨髓侵犯。Oki等报告在MD安德森癌症中心治疗的129例细胞遗传学DHL的结果，并开发了一个双重打击IPI（DHIPI），采用两个对总生存期有显著影响的独立变量：行为状态 >2 和骨髓侵犯。非MYC易位(BCL2, BCL6或三重打击淋巴瘤)以及形态学（弥漫大B或不可分型）对生存没有影响。有意思的是，有限数量的I期病人（5例）和滤泡3B病人（2例）在报告的时候都还存活并未见疾病进展。II–IV的病人的转归没有显著区别。一个大型的由23家美国研究中心参加的多中心回顾性合作报告了311例细胞遗传学DHL病人，发现白细胞 $>10 \times 10^9/l$, LDH ≥ 39 正常上限，III/IV期疾病和有中枢神经系统侵犯具有预后意义。

DHL病人的最优治疗策略是什么？

在此章节我们回顾一下支持DHL病人治疗决策的现有证据。值得注意的是，大部分数据来自于回顾性的研究，因此，不可避免的会有局限性的选择偏差。然后我们解读如何将浆这些数据用于临床实践。

诱导方案的选择

DHL病人用弥漫大B的标准治疗方案效果不佳。在MD安德森癌症中心，使用R-CHOP的病人只有23/57 (40%)达到了完全缓解。两年的PFS和OS分别为25%和41%。这种令人失望的数据在其它研究中也得到了证实，大部分病人在确诊两年内死亡。MYC驱动的本质和CNS侵犯的倾向促使一些临床医生开始使用在伯基特中比较成功的强化方案，例如R-HCVAD/MA和R-CODOXMIVAC作为诱导方案。没有前瞻性的对照数据可以参考，但是在MD安德森癌症中心的研究系列中，23/34 (68%)的病人用R-HCVAD/MA达到了完全缓解，优于R-CHOP的40% 的完全缓解率。但是，与R-CHOP相比并没有带来显著的疾病控制的提高，这也许是因为治疗的病人数量有限。

在MD安德森癌症中心系列研究中用DA-EPOCH-R方案治疗的病人获得了较好的EFS，并且趋向于OS的改善。美国的大样本多中心研究包含了更多用强化方案治疗的病人，发现用R-CODOXMIVAC (41例), DA-EPOCH-R (n57例)和R-HCVAD/MA (38例)治疗的都有优于R-CHOP的PFS（中位21.6个月对7.8个月）。一项包含了10个预后因素的多变量分析发现用强化方案与R-CHOP相比可以改善OS。

一项401例病人的meta分析也报告说DA-EPOCH-R (91例)相对于R-CHOP (180例)有PFS的优势。在这项分析中，R-HCVAD或R-CODOXMIVAC诱导化疗 (共130例)没有带来PFS的延长，没有哪个诱导方案与OS的改善相关。来自一个前瞻性多中心的II期临床试验的初步结果显示，52例有MYC重排的弥漫大B / 灰区（14例有BCL2重排）淋巴瘤病人在随访14个月后，PFS是令人振奋的87%。

建议

由于DHL病人的预后不佳，所有病人都应该鼓励尽可能的参加临床试验。在临床试验之外，我们建议有合适行为状态和脏器功能的病人接受DA-EPOCH-R方案。不适合接受强化方案和参加临床试验的病人可以用R-CHOP治疗，尽管疾病得到控制和生存期超过两年的概率很低。

DHL病人出现CNS侵犯的概率有多大？

细胞遗传学DHL倾向于侵犯中枢神经系统。早期小规模的研究提示这种分线显著增加。但是，在两项大规模的回顾性研究中，4-7%的病人确诊时有CNS侵犯。在MDACC系列研究中，3年累计的CNS侵犯风险是13%。唯一预测因素是DHIPI

分数。在确诊时CNS阴性的病人中，那些接受鞘注甲氨蝶呤预防的病人有较低的CNS复发率（3年发病率5%对15%）。Petricich等没有具体报告CNS复发率，但是接受鞘注预防的病人有较高的OS。但是，两项分析都受限于期回顾性研究的本质，有存在偏差的可能。Savage等研究了447例弥漫大B病人，131例（29%）是MYC/BCL2双表达，发现这是一个CNS侵犯的明确的独立预测因素。此外，MYC/BCL2双表达的病人IPI评分2-3和4-5的2年CNS进展的风险分别为12.6%和17.2%，显著高于没有双表达的病人。

建议

细胞遗传学DHL病人应该将CNS鞘注预防作为诱导化疗的一部分。我们本器的政策是每个疗程给予甲氨蝶呤鞘注。在弥漫大B淋巴瘤中，在结束免疫化疗后，给予2-4个疗程的系统性的高剂量甲氨蝶呤可以进一步降低CNS进展的风险。可以考虑用在诱导化疗不包含这个的病人身上。MYC/BCL2双表达的淋巴瘤并且IPI ≥ 2 也应当接受鞘注预防。

移植的作用

自体干细胞移植和异体干细胞移植在DHL中的作用尚不明确。应当注意关于这个问题的数据受限于对生存期足够长以至于可以接受干细胞移植的病人的偏向。在MDACC的研究系列中，26例（20%）接收了一线移植，包括3例异体移植。这些病人大部分接受了DA-EPOCH-R方案诱导（14例，54%）。尽管这些病人因为诱导化疗有效而入选，具有合适的脏器功能和行为状态，一线移植并没有带来具有统计学意义的EFS和OS的提高。美国多中心合作组也研究了高剂量化疗加干细胞挽救对CR后的病人的影响。他们报告说接受移植的病人相对于观察组（112例）没有显著的OS的改善（共39例：自体28例，异体11例）。西南肿瘤组SWOG的研究分析了16例双表达淋巴瘤病人（用CHOP-R诱导，然后随机观察或移植）。在中位127个月的随访中，自体移植相对于观察组的PFS是41个月对11个月。这个研究中只有3例是细胞遗传学MYC/BCL2 DHL，这些人的结局都很差。

建议

鉴于数据的限制，对于细胞遗传学DHL和双表达淋巴瘤，可以考虑在CR后进行自体干细胞移植，理想情况下是在前瞻性的临床试验中进行。异体干细胞移植目前在DHL中没有数据支持，因此不推荐。

放疗的作用

鉴于DHL的病人通常是晚期而且治疗失败一般是因为原发耐药或系统性疾病进展，放疗的作用有限。在个别情况下对于晚期病例采用放疗也许合理，例如脊髓压迫，姑息性的缓解症状，化疗后有代谢活跃的残余，以及免疫豁免的部位如睾丸等。在MDACC系列研究中，12例(9%)作为一线治疗的一部分接受了放疗，由于病人数量有限，对转归的影响没有进行分析。

复发耐药病例

在目前可用的治疗手段下，那些对诱导化疗不应答或在初始应答后又进展的病例的前景极为暗淡。在MDACC系列研究的79例此类病人中，12个月进展后生存率是20%，只有两例(3%)在2年后依然生存。Petricich等报告说在接受R-ICE治疗的病人中，中位进展后生存期为17个月。

建议

鉴于进展后灾难性的结果，我们建议希望接受进一步治疗的DHL患者参加前瞻性的，在预临床阶段有坚实药理或者在MYC驱动的淋巴瘤显示有作用的新药的临床试验。对于合适的病人，采用非交叉耐药的方案，例如R-DHAP或R-ICE也许可以让病人达到参加临床试验的条件或者作为积极的姑息性治疗的一部分。

新手段

鉴于大多数DHL病人都会迅速因为疾病死亡，开发新的和有效的药物是一个很大的未满足的医疗需要。MYC驱动的淋巴瘤受到了很多研究关注，有几个候选的疗法正在进行前期的临床试验。Selinexor (KPT-330)是一种前所未有的选择性核输出抑制剂。可以与核输出蛋白XPO1结合，迫使核保留核激活肿瘤抑制蛋白。在一系列血液肿瘤中显示出预临床的活性。针对复发淋巴瘤（包括4例DHL）的初步I期数据显示出单药的效果核可以忽略不计的毒性。这个药被FDA授予孤儿药的地位，期待会有更多关于此药的有效性研究。BET bromodomain抑制剂据报道可以干涉MYC诱发的细胞分化，细胞循环抑制核促凋亡活动。有几个这个方面的化合物显示出预临床效果并且在早期的临床开发过程中。抗凋亡蛋白BCL2导致淋巴瘤细胞化疗耐药，也是DHL治疗的理想靶。ABT-199是一个小细胞，口服的BH3- mimetic，在重度治疗的非霍奇金淋巴瘤中显示出了不错的单药效果。目前ABT-199正在与苯达莫斯汀和美罗华一起针对复发的非霍奇金淋巴瘤，包括

双打淋巴瘤，进行I期临床试验。来那度胺和依鲁替尼对弥漫大B有作用，但是相关研究未确定治疗病人的MYC/BCL2状态。

结论

DHL对于临床医生和病人来说依然是一个挑战性的问题。临床医生应该积极的对弥漫大B淋巴瘤病人，不能分型B细胞淋巴瘤病人和惰性淋巴瘤转化病人要求用FISH进行MYC断裂的排查，以便能够及时的确诊并用DA-R-EPOCH和CNS鞘注预防来治疗。最终，只有病人和医生参加正在进行的临床试验可以带来这种高侵袭性淋巴瘤的预后的改善。