

·临床研究·

R-CHOP 和 CHOP 方案治疗两种亚型弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者的近期疗效

夏 奕^{1,2}, 李志铭^{1,2}, 史艳侠^{1,2}, 夏忠军^{1,2}, 姜文奇^{1,2}, 黄慧强^{1,2}

Short-term efficacy of rituximab-CHOP and CHOP regimens on two subtypes of diffuse large B-cell lymphoma

Yi Xia,^{1,2} Zhi-Ming Li,^{1,2} Yan-Xia Shi,^{1,2} Zhong-Jun Xia,^{1,2} Wen-Qi Jiang^{1,2} and Hui-Qiang Huang^{1,2}

[Abstract] **Background and Objective:** Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) can be divided into two subgroups as germinal center B-cell like (GCB) and non-GCB DLBCL, according to the origin of tumor cells. The prognosis of GCB DLBCL is better than that of non-GCB DLBCL after receiving the CHOP regimen on initial therapy. This study was to compare the short-term efficacy of rituximab (R)-CHOP and CHOP regimens on GCB and non-GCB DLBCL, thus to explore the optimal first-line regimen for the initial treatment of DLBCL patients. **Methods:** In total eighty-three patients of de novo DLBCL initially treated at Sun Yet-sen University Cancer Center from Nov. 2006 to Feb. 2008 were enrolled. Patients were divided into GCB and non-GCB group. The short-term efficacy of the CHOP or R-CHOP regimen as the first-line therapy on the two groups was evaluated according to the revised response criteria for lymphoma. Bcl-2 expression and its correlation to the short-term efficacy of the two groups were assessed. **Results:** There were 35 cases (42.2%) in the GCB group and 48 cases (57.8%) in the non-GCB group. The total remission rate was 74.3% in the GCB group and 60.4% in the non-GCB group ($P=0.006$). There was no significant difference in Bcl-2 expression in the two groups. The remission rate was higher in Bcl-2 positive patients receiving R-CHOP regimen than those receiving CHOP regimen (75.6% vs. 47.8%, $P=0.023$). There was no significant difference in the remission rate of Bcl-2 negative patients regardless of the regimen. **Conclusions:** The short-term efficacy is better in the GCB group than in the non-GCB group. Addition of rituximab to CHOP could improve the short-term efficacy of Bcl-2 positive patients.

Key words: lymphoma, germinal center B-cell like, chemotherapy, immunohistochemistry, efficacy

【摘要】 背景与目的:根据肿瘤细胞起源不同,可将弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma,DLBCL)分为生发中心来源(germinal center B-cell like,GCB)及非生发中心来源(non-GCB)两种亚型。在以 CHOP 方案为标准的化疗基础上,前者预后优于后者。本研究通过比较 R-CHOP(Rituximab 联合 CHOP)和 CHOP 方案治疗不同亚型 DLBCL 患者的近期疗效,寻找初诊 DLBCL 患者最佳一线治疗方案。方法:将 2006 年 11 月至 2008 年 2 月中山大学肿瘤防治中心内科收治的 83 例初治 DLBCL 患者分为 GCB 和 non-GCB 两组。按照修订版淋巴瘤疗效评价标准,比较接受 R-CHOP 或 CHOP 方案治疗患者的近期疗效;观察 Bcl-2 在两种亚型中的表达情况,并分析其与近期疗效的关系。结果:83 例 DLBCL 患者中 GCB 组 35 例 (42.2%),non-GCB 组 48 例 (57.8%)。GCB 组一线化疗近期总缓解率 74.3%,non-GCB 组 60.4%,两组相比差异有显著性($P=0.006$)。Bcl-2 在 GCB 和 non-GCB 两亚组的表达差异没有显著性;Bcl-2 阳性患者采用 R-CHOP 方案治疗的

1. 华南肿瘤学国家重点实验室,
广东 广州 510060

2. 中山大学肿瘤防治中心内科,
广东 广州 510060

1. State Key Laboratory of
Oncology in South China,
Guangzhou, Guangdong, 510060,
P. R. China

2. Department of Medical Oncology,
Cancer Center,
Sun Yat-sen University,
Guangzhou, Guangdong,
510060, P. R. China

通讯作者:姜文奇

Correspondence to: Wen-Qi Jiang

Tel.: 86.20.87343349

Fax: 86.20.87754506

Email: wqjiang@yahoo.com

收稿日期:2008-07-03

修回日期:2008-09-01

近期缓解率(75.6%)明显高于用 CHOP 方案治疗者(47.8%),两组相比差异有显著性 ($P=0.031$);采用不同方案化疗的 Bcl-2 阴性患者的近期缓解率则差异无显著性 ($P>0.05$)。结论:GCB 组患者接受标准 R-CHOP 或 CHOP 方案治疗近期缓解率高于 non-GCB 组,提示预后良好。加用 Rituximab 可提高 Bcl-2 阳性患者的近期缓解率。

关键词:淋巴瘤;生发中心来源;化疗;免疫组化;疗效
中图分类号:R733 文献标识码:A
文章编号:1000-467X(2009)02-0178-05

近年发现根据瘤细胞起源,采用基因芯片及免疫组化技术可将弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)分为生发中心来源(GCB)及非生发中心来源(non-GCB)两种亚型。GCB 组预后明显优于 non-GCB 组^[1-4]。但这些研究均以 CHOP 方案为基础。近期几项大型临床试验显示,CD20 单抗利妥昔单抗(Rituximab, R)联合 CHOP(R-CHOP)治疗 DLBCL 可使整体疗效提高 15%~20%^[5,6]。但目前仍不确定 R-CHOP 方案是否能使 GCB 及 non-GCB 两组亚型 DLBCL 患者的疗效均得到提高。本研究用免疫组化法将 DLBCL 分为上述两组亚型,比较 R-CHOP 及 CHOP 一线治疗获得的近期缓解率,寻找能提高疗效的最佳治疗方案。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2006 年 11 月至 2008 年 2 月,中山大学肿瘤防治中心内科共有 83 例经病理诊断为 DLBCL,所有患者为初诊,均在治疗前行诊断性取材,所取标本以 10%中性甲醛固定,常规脱水,石蜡包埋切片,苏木精-伊红染色。由 2 名专门从事淋巴瘤研究的病理科医生按新的 WHO 分类标准诊断。83 例患者均有治疗前影像学可测量病灶。患者临床特征见表 1。所有患者治疗前及治疗期间常规进行全面临床检查,包括血常规、生化常规、骨髓检查、影像学检查等(颈胸腹盆增强 CT 或全身 PET/CT)。治疗方案:所有患者接受 R-CHOP 或 CHOP 方案化疗,每 3 周重复。CHOP 方案:环磷酰胺 750 mg/m² 静脉注射,第 1 天;阿霉素 50 mg/m² 静脉注射,第 1 天;长春新碱 1.4 mg/m² (最大不超过 2 mg)静脉注射,第 1 天;强的松 60 mg/m² 口服,第 1~5 天。R-CHOP 方案:利妥昔单抗 375 mg/m² 静脉滴注,第 1 天;CHOP 方案剂量及用法同前,第 2~6 天。仅 4 例患者疗程数少于 4 个,其中 2 例因疾病进展终

表 1 83 例弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者临床特征
Table 1 Clinical features of the 83 patients with diffuse large B-cell lymphoma

Item	Cases	GCB group [cases(%)]	non-GCB group [cases(%)]	P value ^a
Sex				0.347
Male	46	22(47.8)	24(52.2)	
Female	37	13(35.1)	24(64.9)	
Age (years)				0.276
18-60	58	26(44.8)	32(55.2)	
61-70	25	8(32.0)	17(68.0)	
Stage				0.153
/	34	18(52.9)	16(47.1)	
/	49	17(34.7)	32(65.3)	
Extranodal sites				0.713
<2	66	29(43.9)	37(56.1)	
≥2	17	6(35.3)	11(64.7)	
Performance status				0.970
0-1	71	30(42.3)	41(57.7)	
≥2	12	5(41.7)	7(58.3)	
LDH				0.099
Normal	47	24(51.1)	23(48.9)	
High	36	11(30.6)	25(69.4)	
IPI score				0.076
0-2	59	29(49.2)	30(50.8)	
3-5	24	6(25.0)	18(75.0)	
Total	83	35(42.2)	48(57.8)	

^aChi-Square test

止原方案化疗,2 例因化疗严重毒副反应终止化疗。

1.2 疗效评价标准

根据国际修订版恶性淋巴瘤疗效评价标准^[7]分为:完全缓解(complete remission, CR),不确定的完全缓解(complete remission uncertain, CRu),部分缓解(partial remission, PR),疾病稳定(stable disease, SD),疾病进展(progressive disease, PD)。近期缓解包括 CR 及 CRu。

1.3 免疫组化染色及分类标准

用 EnVision 二步法进行免疫组化染色,EnVision 试剂盒购自 Dako 公司。所用的抗体有:CD10(Novocastra 公司产品)、Bcl-6(中杉金桥公司产品)、Mum1(Dako 公司产品)、Bcl-2(中杉金桥公司产品)。免疫组化结果判断:CD10 阳性产物定位于细胞膜,Bcl-6、Mum1 阳性产物定位于细胞核,Bcl-2 阳性产物定位于细胞浆,均呈淡黄至棕黄色颗粒状。每张切片随机选取 5 个高倍视野,计算阳

性肿瘤细胞所占百分比的平均值。 $\geq 30\%$ 的肿瘤细胞着色判为阳性(+), $<30\%$ 视为阴性(-)。

根据 CD10、Bcl-6 和 Mum1 三种抗体染色结果及 Hans 分类标准^[8]对 DLBCL 进行亚型分类。其中 CD10、Bcl-6 为生发中心细胞的标志物, Mum1 为后生发中心细胞来源的标志物。分类标准如下:GCB 组 CD10+或 CD10-Bcl-6+Mum1-,non-GCB 组 CD10-Bcl-6+/-、Mum1+或 CD10-Bcl-6-Mum1-。

1.4 统计学处理

两组基线情况的均衡性比较采用 Chi-Square 检验。疗效分析采用 Chi-Square 检验、Fisher 精确概率法和 Cochran-Mantel-Haenszel (CMH) 的 Row Mean Scores Differ 方法进行检验。均采用双侧检验,将 $P < 0.05$ 定义为差异有统计学意义。采用 SPSS13.0 及 SAS8.01 对本研究资料进行分析。

2 结 果

2.1 免疫组化表达及分组情况

83 例初治 DLBCL 患者中 CD10 (+) 18 例 (21.7%), Bcl-6 (+) 35 例 (42.2%), Mum-1 (+) 47 例 (56.6%)。根据免疫组化结果分型为 GCB 组 35 例 (42.2%), non-GCB 组 48 例 (57.8%)。不同亚组患者的临床特征见表 1。

2.2 不同亚型的近期疗效

GCB 组患者 CR/CRu 26 例 (74.3%), PR 8 例 (22.9%), PD 1 例 (2.8%); non-GCB 组患者 CR/CRu 29 例 (60.4%), PR 14 例 (29.2%), PD 5 例 (10.4%)。而在以 CHOP 为初治方案的 28 例患者中, GCB 组 CR/CRu 率为 66.7%, non-GCB 组为 30.8%; 在以 R-CHOP 为初治方案的 55 例患者中, GCB 组 CR/CRu 率为 80.0%, non-GCB 亚组为 71.4%。见表 2。

表 2 不同亚型弥漫大 B 细胞淋巴瘤接受 CHOP/R-CHOP 方案化疗的疗效

Table 2 Efficacy of CHOP/R-CHOP regimen on two subtypes of diffuse large B-cell lymphoma

Group	Regimen	CR/CRu [cases (%)]	PR [cases (%)]	PD [cases (%)]	P
GCB group	CHOP	10 (66.7)	4 (26.7)	1 (6.6)	0.006 ^a
	R-CHOP	16 (80.0)	4 (20.0)	0	
	CHOP plus R-CHOP	26 (74.3)	8 (22.9)	1 (2.8)	
Non-GCB group	CHOP	4 (30.8)	6 (46.2)	3 (23.0)	
	R-CHOP	25 (71.4)	8 (22.9)	2 (5.7)	
	CHOP plus R-CHOP	29 (60.4)	14 (21.2)	5 (10.4)	
Total		55 (66.3)	22 (26.5)	6 (7.8)	

^aP was calculated using Row Mean Scores Differ CMH statistic by comparing GCB group with non-GCB group treated by CHOP or R-CHOP regimen.

CR, complete remission; CRu, complete remission uncertain; PR, partial remission; PD, progressive disease; CHOP, cyclophosphamide + vincristine + doxorubicin + prednisone; R-CHOP, rituximab + CHOP; GCB, germinal center B-cell like.

2.3 Bcl-2 在两种亚型 DLBCL 中表达的情况

Bcl-2 阳性的 68 例患者中, 26 例为 GCB 组, 42 例为 non-GCB 组。non-GCB 组与 GCB 组 Bcl-2 阳性率分别为 87.5% 及 75.6%, 差异无统计学意义 ($P = 0.153$)。

2.4 Bcl-2 表达与疗效的关系

Bcl-2 阳性患者中有 45 例接受 R-CHOP 方案化疗, CR/CRu 率 75.6%, 总有效率 (overall response rate, ORR) 95.6%; 23 例接受 CHOP 方案治疗的患者 CR/CRu 率 47.8%, ORR 82.6%。Bcl-2 阳性患者采用 R-CHOP 方案治疗的近期缓解率明显高于 CHOP 方案, 两组相比差异有显著性 ($P = 0.031$)。而 Bcl-2 阴性的患者无论接受 R-CHOP 还是 CHOP 方

案化疗, 两组患者的 ORR 均为 100%, 无 PD 患者。见表 3。

3 讨 论

DLBCL 是最常见的淋巴瘤, 也是异质性较高的一组疾病。目前国际预后指标 (International Prognostic Index, IPI) 被认为是能够预测 DLBCL 预后的常用临床参考指标^[9]。然而, 相当数量 IPI 评分相同的患者对同一方案的反应及预后却有很大差异, 提示仅参考 IPI 并不能很好地识别高危患者。进一步的研究发现, 生物学上的异质性是造成 IPI 无法准确预测患者近期疗效与预后的主要原因。2000 年以来建立的基因表达谱技术从基因水平揭

表 3 Bcl-2 表达与 CHOP/R-CHOP 方案治疗反应的关系

Table 3 Correlation of Bcl-2 expression to the efficacy of CHOP/R-CHOP regimen

Group	Regimen	CR/CRu [cases (%)]	PR [cases (%)]	PD [cases (%)]	P
Bcl-2(+)	CHOP	11(47.8)	8(34.8)	4(17.4)	0.031 ^a
	R-CHOP	34(75.6)	9(20.0)	2(4.4)	
Bcl-2(-)	CHOP	3(60.0)	2(40.0)	0	0.016 ^b
	R-CHOP	7(70.0)	3(30.0)	0	
Total		55(66.3)	22(26.5)	6(7.2)	

^aP was calculated by comparing Bcl-2 (+) patients receiving CHOP or R-CHOP regimen using Fisher's exact test; ^bP was calculated using Row Mean Scores Differ CMH statistic by comparing Bcl-2(+) group with Bcl-2(-) group treated by CHOP or R-CHOP regimen.

CHOP, cyclophosphamide+vincristine+doxorubicin+prednisone; R-CHOP, rituximab+CHOP; GCB, germinal center B-cell like.

示疾病中功能基因的表达情况,结合临床预测指标,能全面反映 DLBCL 的总体生物学特征^[1-4]。

基因芯片技术能将异质性较高的 DLBCL 分成 GCB、ABC 及分类不明 (Type3) 三种亚型,ABC 及 Type3 型预后均明显差于 GCB 组,因此通常将这两组预后不良的亚型归于 non-GCB 组。由于基因芯片技术复杂、检测时标本须为新鲜组织并且费用昂贵等原因,这一技术尚不能在临床大规模应用。免疫组化技术是一项成熟、简便、应用广泛的临床检测手段。利用免疫组化技术检测 DLBCL 不同分化阶段细胞的特征性蛋白的表达,亦可将 DLBCL 分为 GCB 组和 non-GCB 组。CD10、Bcl-6 是正常淋巴结生发中心 B 细胞的标志,其阳性提示 DLBCL 预后好;而 Mum1 是后生发中心 B 细胞的标志,阳性表达提示预后较差。多数研究已证实其为独立于 IPI 的预后意义:Chang 等^[10]将 DLBCL 分为 GCB 型、晚 GC 或早 GC 后 B 细胞型及 GC 后细胞型,GCB 型预后明显优于后两组;Colomo 等^[11]的研究同样证实了免疫组化分型的临床意义。而在 Hans 等^[8]的研究中,免疫组化分型与基因芯片技术分型结果具有较高的一致性,前者亦能很好地预测 DLBCL 的预后。利用免疫组化法及 Hans 分型标准,本研究 83 例初诊的 DLBCL 患者中 GCB 35 例,non-GCB 48 例,两组所占比例与国内外文献报道^[8,11,12]一致。由于本研究为前瞻性研究,入组病例中位随访年限小于 2 年,目前尚不能分析其生存情况,但可作近期疗效分析。而 DLBCL 能否在接受一线标准化疗方案后获得 CR,与其长期无进展生存 (progression-free survival, PFS) 及预后密切相关。

多年来 CHOP 方案被证实是治疗 DLBCL 的标准方案,但只能获得 50% 的近期缓解率及不到 40% 的长期生存率。已有多个大型临床研究证实利妥昔单抗联合 CHOP 方案治疗 DLBCL 可提高近期

缓解率,改善预后,延长生存期^[5,6]。本研究通过比较 GCB 及 non-GCB 两组患者接受一线标准化疗方案 CHOP 或 R-CHOP 后取得的近期疗效发现,GCB 组无论何种治疗,其 CR/CRu 率均高于 non-GCB 组,这一趋势接受 CHOP 方案治疗时尤为明显 ($P=0.006$);接受 R-CHOP 方案与接受 CHOP 方案化疗的 GCB 组患者近期缓解率相比差异无统计学意义。

接受 R-CHOP 方案治疗的 non-GCB 患者近期缓解率为 71.4%,CHOP 方案治疗的近期缓解率仅为 30.8%,Chi-Square 检验结果表明,两者疗效的差异有统计学意义。这一结果提示利妥昔单抗可增加预后不良的 non-GCB 患者的近期缓解率,但其是否能改善 non-GCB 的 PFS 及预后,尚需长期随访分析。

既往研究发现,Bcl-2 阳性提示 DLBCL 预后不良^[13-15],且 Bcl-2 阳性可能是 CHOP 化疗耐药的原因之一^[16]。加用利妥昔单抗可改善 Bcl-2 对化疗的耐药性^[16]。本研究未发现 Bcl-2 阳性在 GCB 组和 non-GCB 组间差异存在统计学意义。国内外文献报道两组患者中 Bcl-2 表达的分子机制不同,但表达比例无统计学意义^[17,18]。通过免疫组化法对 83 例初治 DLBCL 患者的 Bcl-2 表达进行半定量测定发现,81.9% 的患者表达 Bcl-2,Bcl-2 阳性患者接受 R-CHOP 方案化疗所获得的近期 CR/CRu 率 (75.6%) 显著高于仅接受 CHOP 方案化疗的患者 (47.8%),增加近 30%。提示加用抗 CD20 的单克隆抗体利妥昔单抗后,可提高 Bcl-2 阳性患者的化疗敏感性,增加 CR/CRu 率,与国外报道^[16]相符。但本研究中,Bcl-2 阳性比例高于国外文献报道,可能与标本选择及样本量较小有关。

综上所述,利用 IHC 法对 DLBCL 进行亚组分型能有效预测近期疗效,GCB 组较 non-GCB 组近

期缓解率高。利妥昔单抗能提高 Bcl-2 表达患者的近期缓解率, 并有提高 non-GCB 组患者近期缓解率的趋势, 提示 R-CHOP 方案为 DLBCL 患者最佳一线化疗方案。

[参 考 文 献]

- [1] Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling [J]. *Nature*, 2000, 403(6769):503-511.
- [2] Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(25):1937-1947.
- [3] Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning [J]. *Nat Med*, 2002, 8(1):68-74.
- [4] Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, et al. Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(18):1828-1837.
- [5] Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(4):235-242.
- [6] Pfreundschuh M, Osterborg A, Pettengue R, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group [J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(5):379-391.
- [7] Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(5):579-586.
- [8] 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.
- [9] A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project [J]. *N Engl J Med*, 1993, 329(14):987-994.
- [10] Chang CC, McClintock S, Cleveland RP, et al. Immunohistochemistry expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Am J Surg Pathol*, 2004, 28(4):464-470.
- [11] Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2003, 101(1):78-84.
- [12] 叶子茵, 曹亚兵, 林桐榆, 等. 弥漫大 B 细胞性淋巴瘤免疫表型分型与预后的关系 [J]. *中华病理学杂志*, 2007, 36(10):654-659.
- [13] Hermine O, Haioun C, Lepage E, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Blood*, 1996, 87(1):265-272.
- [14] Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Blood*, 1997, 90(1):244-251.
- [15] Rantanen S, Monni O, Joensuu H, et al. Causes and consequences of BCL-2 overexpression in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Leuk Lymphoma*, 2001, 42(5):1089-1098.
- [16] Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) [J]. *Blood*, 2003, 101(11):4279-4284.
- [17] Kusumoto S, Kobayashi Y, Sekiguchi N, et al. Diffuse large B-cell lymphoma with extra Bcl-2 gene signals detected by FISH analysis is associated with a "non-germinal center phenotype" [J]. *Am J Surg Pathol*, 2005, 29(8):1067-1073.
- [18] 蒋会勇, 李慧灵, 胡海, 等. 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 t(14:18)易位及 bcl-2 基因扩增的检测 [J]. *中华病理学杂志*, 2007, 36(2):84-89.

[编辑及校对:张 菊]