



· 论 著 ·

Calreticulin在弥漫大B细胞淋巴瘤中的表达及临床意义

葛晓雯, 姚家美, 朱 娜, 栾丽娟, 高 峰, 曾海英, 纪 元, 谭云山, 侯英勇
复旦大学附属中山医院病理科, 上海 200032

[摘要] 背景与目的: 淋巴瘤是最常见的淋巴造血系统恶性肿瘤, 其中B细胞型非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)发病占淋巴瘤的90%以上, 而NHL中最常见的亚型为弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)。探讨钙网蛋白(calreticulin)在DLBCL中的表达及其临床意义。**方法:** 应用免疫组织化学染色, 检测复旦大学附属中山医院2015-2018年收治的143例DLBCL患者肿瘤组织中calreticulin等蛋白的表达情况, 并分析calreticulin表达与DLBCL患者临床病理学特征及预后的关系。**结果:** 143例DLBCL患者中, calreticulin阳性表达者92例, 阳性表达率为64.3%。Calreticulin阳性组死亡患者的比例(26.1%)明显高于calreticulin阴性组(9.8%), 差异有统计学意义($\chi^2=5.381$, $P=0.020$)。Kaplan-Meier生存曲线显示, calreticulin阳性表达组较阴性表达组生存期短($\chi^2=5.285$, $P=0.022$)。**结论:** DLBCL患者中, calreticulin表达与DLBCL预后密切相关, 检测calreticulin的表达可以作为判断DLBCL预后的依据之一。

[关键词] 弥漫大B细胞淋巴瘤; 淋巴瘤; 钙网蛋白; 预后

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.05.005

中图分类号: R733.4 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2020)05-0347-08

Expression and clinical implication of calreticulin in diffuse large B-cell lymphoma GE Xiaowen, YAO Jiamei, ZHU Na, LUAN Lijuan, GAO Feng, ZENG Haiying, JI Yuan, TAN Yunshan, HOU Yingyong (Department of Pathology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Correspondence to: HOU Yingyong E-mail: hou.yingyong@zs-hospital.sh.cn

[Abstract] **Background and purpose:** Lymphoma is the most common hematopoietic malignant tumor. B-cell non-Hodgkin's lymphoma (NHL) accounts for more than 90% of lymphomas. The most common subtype in B-cell NHL is diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). This study aimed to investigate the expression of calreticulin in DLBCL and its clinical significance. **Methods:** Immunohistochemical staining was used to detect the expression of calreticulin and other proteins in tumor tissues of 143 DLBCL patients treated in Zhongshan Hospital, Fudan University from 2015 to 2018. Association between the expression of calreticulin and the clinicopathologic characteristics and prognosis of DLBCL patients was analysed. **Results:** Among 143 DLBCL patients, 92 were positive for calreticulin, and the positive expression rate was 64.3%. The proportion of death in the calreticulin positive group (26.1%) was significantly higher than that in the calreticulin negative group (9.8%), and the difference was statistically significant ($\chi^2=5.381$, $P=0.020$). Kaplan-Meier survival curve showed that the calreticulin positive group had a shorter survival time than the negative group ($\chi^2=5.285$, $P=0.022$). **Conclusion:** In DLBCL patients, expression level of calreticulin was closely related to prognosis of DLBCL patients. Calreticulin can be used as one of the indicators of clinical prognosis evaluation.

[Key words] Diffuse large B-cell lymphoma; Lymphoma; Calreticulin; Prognosis

淋巴瘤是最常见的淋巴造血系统恶性肿瘤, 发病率逐年升高, 在中国常见恶性肿瘤死亡原因中居第10位^[1], 其中B细胞型非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin's lymphoma, NHL) 发病占淋巴瘤的90%以上, 而NHL中最常见的亚型为弥漫大B细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)。中国的DLBCL发病率占所有B细胞NHL的40%以上^[2], 是成人最常见的B细胞NHL。DLBCL分为生发中心B细胞样 (germinal center B-cell, GCB) 型和非生发中心B细胞样 (non-GCB) 型。化疗联合利妥昔单抗可以改善临床结局^[3]。然而, 1/3的患者会逐渐耐药, 变为难治性, 对以往治疗药物甚至二线治疗或基于免疫治疗的三线治疗无反应^[4], 这些患者预后往往较差。根据2016年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 修订版淋巴瘤组织肿瘤分类^[5], 将以往的介于Burkitt淋巴瘤与DLBCL形态之间的“灰区”淋巴瘤归为高级别B细胞淋巴瘤, 其中发生MYC、BCL-2和(或)BCL-6基因重排的高级别B细胞淋巴瘤划分为新的独立类型, 称为“双打击”或“三打击”高级别B细胞淋巴瘤 (double/triple hit lymphoma, DHL/THL), 其发生率为6%~13%^[6]。

钙网蛋白 (calreticulin) 相对分子质量为 46×10^3 , 是内质网内主要的钙结合蛋白之一^[7], 其参与多个重要的细胞过程, 主要包括钙离子平衡调节、蛋白质折叠加工、基因表达调控、血管生成、细胞黏附、抗原呈递、自身免疫等^[8-9], 主要分布在细胞质及细胞膜中。研究表明, calreticulin在多种恶性肿瘤中均有表达, 如胃腺癌^[10]、尿路上皮癌^[11]、鳞状细胞癌^[12]、肺腺癌^[13]、前列腺癌^[14]等, 在肿瘤中发挥促进肿瘤生长、转移及侵袭等作用。但其在淋巴瘤中尤其是B细胞NHL中表达的临床意义仍不明确。为了评估calreticulin的表达对DLBCL患者预后的影响, 本研究采用免疫组织化学技术检测DLBCL肿瘤组织中calreticulin的表达情况, 同时应用荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 技术检测肿瘤组织中MYC、BCL-2、BCL-6基因的重排情况, 旨在为临床评估预后提供参考。

1 资料和方法

1.1 病例资料

收集2015—2018年于复旦大学附属中山医院确诊且临床资料完整的143例DLBCL患者作为研究对象。标本经4%的甲醛溶液固定, 之后进行脱水及石蜡包埋, 切片后进行H-E染色。根据H-E切片, 每例选定1个典型且均一的取样位点制作组织芯片。应用免疫组织化学技术检测肿瘤组织中calreticulin的表达情况, 同时应用FISH技术检测肿瘤组织中MYC、BCL-2、BCL-6基因的重排情况, 进一步结合临床资料进行回顾性分析。由2名独立的经验丰富的病理科医师读片证实H-E染色、免疫组织化学染色及FISH结果。所有DLBCL均依据WHO 2008年诊断标准和2016年修订标准^[5]确诊, 并应用Hans法则分为GCB型和non-GCB型。本研究经复旦大学附属中山医院医学伦理委员会批准 (B2018-073R), 所有患者和(或)家属均知情同意并签署知情同意书。

1.2 免疫组织化学

将制作好的组织芯片切片后, 进行H-E染色及免疫组织化学染色。免疫组织化学试剂盒购自罗氏诊断产品(上海)有限公司。Calreticulin抗体购自美国Proteintech Group公司。CD20、CD3、PAX-5、BCL-6、BCL-2、CD10和Ki-67等淋巴瘤常用一抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司。应用罗氏诊断产品(上海)有限公司的BenchMark XT全自动免疫组织化学染色仪进行免疫组织化学染色。结果判定: calreticulin为细胞质和细胞膜着色, >75%的细胞无着色为0分, >75%的细胞浅黄着色为1分, >75%的细胞黄色着色为2分, >75%的细胞棕黄着色为3分。定义0~1分为calreticulin阴性表达, 定义2~3分为calreticulin阳性表达。

1.3 FISH

石蜡切片脱蜡后放入82 °C蒸馏水中预处理25~30 min, 之后于37 °C胃蛋白酶(美国Sigma公司)溶液中消化后梯度乙醇脱水、风干。所用探针均购自美国Abbott公司 (Vysis BCL-2 Break Apart FISH Probe Kit、Vysis BCL-6 Break Apart

FISH Probe Kit、Vysis MYC Break Apart FISH Probe Kit)。应用美国Abbott公司的Thermo Brite杂交仪按探针说明书提供的方法进行操作。在日本Olympus公司BX51型荧光显微镜下观察,根据分离探针属性,红绿信号分离为阳性信号。结果判定:正常细胞显示2个红色、2个绿色信号,当红绿信号之间分离超过2个点宽度时判为异常细胞,异常细胞比例超过阈值,就判断患者为基因重排阳性。每个标本由3名实验员分别计数,取其平均值。本实验室MYC、BCL-2、BCL-6基因重排阳性细胞阈值均为15%。本课题研究对象为非DHL/THL的DLBCL病例。

1.4 随访

对所有患者随访5~57个月,随访以门诊或电话方式进行,随访内容包括患者生活质量、一般情况、近期复查情况等。终点事件为患者因DLBCL死亡。观察记录每例随访患者的生存时间,总生存期(overall survival, OS)指自病理学确诊至因任何原因死亡的时间。

1.5 统计学处理

数据均采用SPSS 19.0软件进行分析,DLBCL中calreticulin的表达与临床病理学参数间的关系行Pearson χ^2 检验,若理论频数 $1 \leq T < 5$,采用 χ^2 检验的连续校正公式,若理论频数 $T < 1$,采用 χ^2 检验的Fisher精确概率法。生存分析采用Kaplan-Meier分析。应用COX比例风险模型分析影响DLBCL患者预后的因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Calreticulin在DLBCL患者肿瘤组织中的表达

Calreticulin的表达部位为细胞质和细胞膜。Calreticulin代表性免疫组织化学检测结果见图1。143例DLBCL患者中,calreticulin不表达的病例为12例(8.4%),1分病例40例(28.0%),2分病例43例(30.1%),3分病例48例(33.6%)。本研究0~1分定义为calreticulin阴性,2~3分定义为calreticulin阳性,143例DLBCL患者中,calreticulin阳性表达者92例,阳性表达率为64.3%。

2.2 Calreticulin表达水平与DLBCL病例临床病理学特征的关系

Calreticulin表达情况与DLBCL患者临床病理学特征的关系见表1。经 χ^2 检验发现,Ann Arbor分期I、II期的病例在calreticulin阳性组所占比例(38.0%)高于calreticulin阴性组(17.6%)($P=0.011$)。国际预后指数(international prognostic index, IPI)评分0~1分的病例在calreticulin阳性组中所占比例(34.8%)高于calreticulin阴性组(11.8%)($P=0.013$)。DLBCL患者calreticulin表达阳性组及calreticulin表达阴性组的年龄、性别、Hans分型、MYC重排、BCL-2重排及BCL-6重排等比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

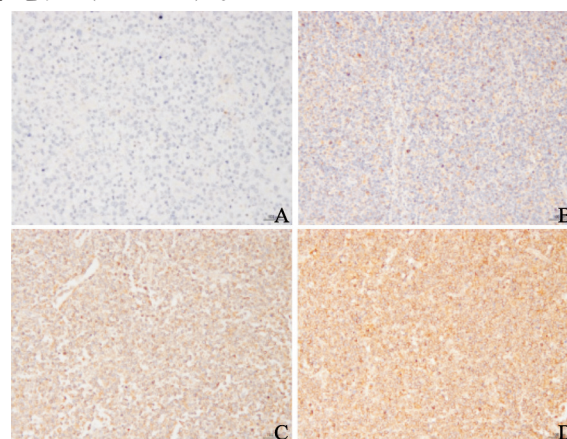


图1 DLBCL患者肿瘤组织中calreticulin的代表性免疫组织化学染色

Fig. 1 Representative immunohistochemical staining of calreticulin in tumor tissues of DLBCL patients

A: Score 0 (SP, $\times 200$); B: Score 1 (SP, $\times 200$); C: Score 2 (SP, $\times 200$); D: Score 3 (SP, $\times 200$)

2.3 DLBCL组织中calreticulin表达与生存期的关系

对本研究143例DLBCL患者随访5~57个月。在随访结束时,calreticulin阳性组92例患者中,24例因疾病死亡,68例至随访结束仍生存;Calreticulin阴性组51例患者中,5例因疾病死亡,46例至随访结束仍生存。Calreticulin阳性组死亡患者的比例(26.1%)明显高于calreticulin阴性组(9.8%),差异有统计学意义($\chi^2=5.381$, $P=0.020$)。Kaplan-Meier生存曲线见图2,calreticulin阳性表达组较阴性表达组生存期短($\chi^2=5.285$, $P=0.022$)。应用Hans法则将所有

表 1 Calreticulin表达与DLBCL患者临床病理特征的关系

Tab. 1 Relationship between calreticulin expression and clinicopathological characteristics of patients with DLBCL

Clinicopathologic characteristic	Calreticulin positive (N=92)	Calreticulin negative (N=51)	χ^2	[n (%)]
				P value
Age/year			0.875	0.350
≤ 60	49 (53.3)	23 (45.1)		
> 60	43 (46.7)	28 (54.9)		
Gender			0.026	0.872
Male	50 (54.3)	27 (52.9)		
Female	42 (45.7)	24 (47.1)		
GCB subtype			0.373	0.541
No	42 (45.7)	26 (51.0)		
Yes	50 (54.3)	25 (49.0)		
Ann Arbor stage			6.408	0.011*
I - II	35 (38.0)	9 (17.6)		
III - IV	57 (62.0)	42 (82.4)		
IPI score			10.712	0.013*
0-1	32 (34.8)	6 (11.8)		
2	19 (20.7)	12 (23.5)		
3	18 (19.6)	19 (37.3)		
4-5	23 (25.0)	14 (27.5)		
MYC rearrangement			3.063 [△]	0.080
Yes	11 (12.0)	1 (2.0)		
No	81 (88.0)	50 (98.0)		
BCL-2 rearrangement			0.206	0.650
Yes	7 (7.6)	5 (9.8)		
No	85 (92.4)	46 (90.2)		
BCL-6 rearrangement			0.001	0.972
Yes	25 (27.2)	14 (27.5)		
No	67 (72.8)	37 (72.5)		

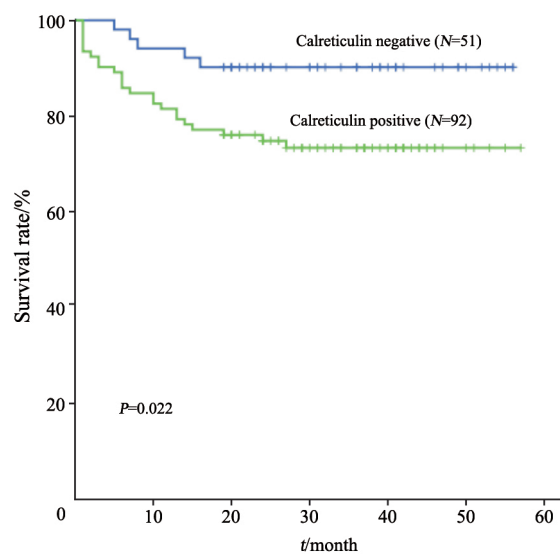
*: $P < 0.05$; [△]: Continuity correction χ^2 test

图 2 Calreticulin蛋白表达对DLBCL患者OS的影响

Fig. 2 The influences of calreticulin protein expression on the OS of DLBCL patients

DLBCL患者分为GCB型和non-GCB型后发现，在GCB亚型中，calreticulin阳性表达患者较阴性表达患者OS显著缩短 ($P=0.023$)，而在non-GCB亚型中，calreticulin阳性表达患者OS与阴性表达患者差异无统计学意义 ($P=0.307$)，图3)。

2.4 影响DLBCL患者预后因素的单因素及多因素分析

单因素及多因素COX回归分析发现，年龄是否大于60岁及calreticulin表达是影响DLBCL患

者预后的独立危险因素 ($P<0.05$)，表2)。

通过对年龄、是否GCB亚型、Ann Arbor临床分期及IPI分数这些影响淋巴瘤患者预后的因素进行分层分析，发现在年龄大于60岁 ($HR=3.163$ ，95% CI: 1.186~8.437)、Ann Arbor分期为Ⅲ~Ⅳ期 ($HR=3.456$ ，95% CI: 1.296~9.215)、IPI分数3~5分 ($HR=4.188$ ，95% CI: 1.407~12.468)的患者中calreticulin阳性表达提示DLBCL患者预后较差 (表3)。

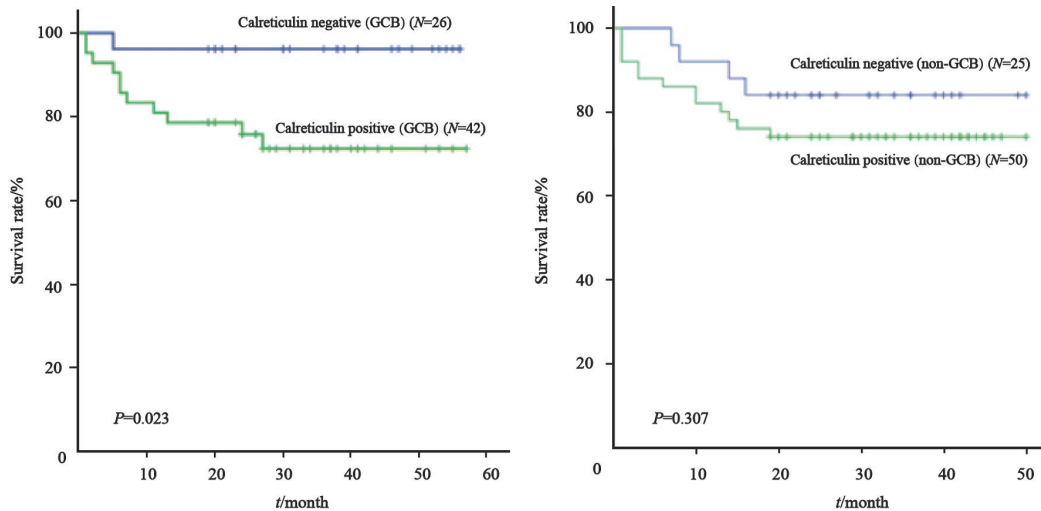


图3 Calreticulin表达对GCB与non-GCB亚型DLBCL患者OS的影响

Fig. 3 The influences of calreticulin expression on the OS in patients with GCB and non-GCB subtype DLBCL

表2 影响DLBCL患者预后的单因素和多因素分析

Tab. 2 Univariate and multivariate analyses of clinicopathologic characteristics affecting the prognosis of DLBCL patients

Clinicopathologic characteristic	Univariate analysis		P value	Multivariate analysis		P value
	HR	95% CI		HR	95% CI	
Age/year (≤ 60 vs >60)	0.364	0.215-0.617	0.000*	0.384	0.222-0.661	0.001*
Gender (male vs female)	0.684	0.323-1.449	0.322	1.256	0.552-2.856	0.587
GCB subtype (yes vs no)	1.306	0.624-2.736	0.478	2.413	0.570-10.211	0.231
Ann Arbor stage (Ⅲ-Ⅳ vs Ⅰ-Ⅱ)	0.317	0.110-0.911	0.033*	1.123	0.355-3.554	0.843
IPI score (3-5 vs 0-2)	0.360	0.159-0.814	0.014*	0.781	0.342-1.782	0.557
MYC rearrangement (yes vs no)	0.533	0.186-1.534	0.244	1.532	0.456-5.150	0.490
BCL-2 rearrangement (yes vs no)	0.395	0.151-1.035	0.059	2.282	0.820-6.348	0.114
BCL-6 rearrangement (yes vs no)	0.499	0.238-1.045	0.065	1.566	0.705-3.482	0.271
Calreticulin (positive vs negative)	0.342	0.131-0.898	0.029*	0.247	0.092-0.664	0.006*

*: $P<0.05$

表3 对calreticulin表达和DLBCL患者的生存进行分层分析

Tab. 3 Stratified analysis for calreticulin expression and DLBCL patients' survival

Variable	HR (95% CI)	P value
Age/year		
≤60	37.736 (0.006-240 514.358)	0.417
>60	3.163 (1.186-8.437)	0.021*
GCB subtype		
Yes	7.460 (0.963-57.809)	0.054
No	1.771 (0.577-5.434)	0.318
Ann Arbor stage		
I - II	28.583 (0.001-1 005 821.243)	0.530
III - IV	3.456 (1.296-9.215)	0.013*
IPI score		
0-2	2.439 (0.300-19.832)	0.404
3-5	4.188 (1.407-12.468)	0.010*

*: $P < 0.05$

3 讨 论

DLBCL患者的预后随着治疗方案的优化已经取得了明显的改善, 但仍有约1/3的患者最终死于耐药或疾病复发^[15], 其耐药的具体分子机制目前尚不明确。在精准医学时代, 研究影响DLBCL预后的因素有助于对不同患者制定更具有针对性的精准治疗方案。目前有研究表明, 发生MYC、BCL-2和(或)BCL-6基因重排的DHL/THL预后较差, 不管临床上给予任何治疗方案, 其中位生存期仅2~18个月^[16-17]。MYC基因定位于染色体8q24上, 长期以来一直被认为是真正的癌基因。正常情况下MYC表达量很低且具有诱导正常细胞凋亡的能力, 但其可能通过基因突变、基因扩增和染色体易位等机制而不受调控地过度表达, 使细胞发生转化^[18], 在肿瘤细胞增殖和癌细胞转移中发挥关键作用^[19]。多项研究证实, 在利妥昔单抗时代, 发生MYC基因重排的DLBCL患者治疗反应差, 容易复发及进展^[20-24]。当然, 也有一些研究指出, 发生MYC、BCL-2重排的双打击淋巴瘤患者预后差主

要是因为BCL-2重排^[25]。BCL-2是抗凋亡的原癌基因, 位于染色体18q21上, 编码抗凋亡蛋白, 可抑制肿瘤细胞凋亡, 发生染色体(14; 18)(q32; q21)易位后, 会导致BCL-2与IGH基因融合, 使BCL-2蛋白异常高表达。已知BCL-2在多种肿瘤中呈高表达, 并且与耐药相关^[26]。有研究^[27]发现, DLBCL患者中, MYC基因易位发生率约为14%, BCL-2基因易位发生率约为21%, 而BCL-6基因易位发生率约为31%。本研究中MYC、BCL-2和BCL-6基因易位发生率分别为8.4%、8.4%和25.2%, 略低于文献报道的水平, 可能与人群的地区差异及样本量有关。

Calreticulin是高度保守、普遍存在于哺乳动物细胞内质网腔中的钙结合蛋白, 随着近年来研究的逐渐深入, 发现calreticulin的生物功能不仅局限在内质网腔, 而是涉及参与调节细胞凋亡、应激、钙离子平衡调节等多种生理和病理生理过程的多功能蛋白^[28]。已发现calreticulin存在于除酵母以外的所有细胞当中, 主要分布在细胞质及细胞膜中。目前已发现calreticulin在多种恶性肿瘤中的表达增加, 且与肿瘤侵袭、淋巴结转移等呈正相关。在胰腺导管腺癌中, calreticulin以依赖MEK/ERK通路的方式上调肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[29]。乳腺浸润性导管癌组织中的calreticulin表达较癌旁组织明显增加^[30]。Calreticulin还可通过激活STAT5A通路促进食管鳞状细胞癌的转移及侵袭^[12]。在膀胱尿路上皮癌中calreticulin的表达量也有所增加, calreticulin表达的下调可抑制肿瘤细胞的生长与迁移能力, 而其过表达可增强细胞的迁移和附着能力^[11]。在结肠癌中calreticulin呈高表达, 这种高表达尤其表现在恶性程度高和分化较低的区域肿瘤细胞中^[31]。在淋巴造血系统中, calreticulin的作用也越来越受到研究者的重视。有研究^[32]显示, 沉默calreticulin的表达后, NK/T细胞淋巴瘤细胞的增殖及侵袭能力受到抑制, 提示calreticulin在肿瘤细胞增殖及侵袭中具有重要作用。另有研究^[33]发现, 70%~84%的骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm, MPN)患者存在calreticulin基因突变, 且calreticulin基因

突变与*JAK2*和*MPL*突变是相互排斥的。而在其他髓系肿瘤中,如急性髓系白血病、慢性髓性白血病、骨髓增生异常综合征中未见*calreticulin*基因突变。但*calreticulin*基因突变与*calreticulin*高表达之间的关系仍有待进一步研究。

本研究的143例DLBCL患者中,*calreticulin*阳性表达者92例,阳性表达率为64.3%。Kaplan-Meier生存曲线显示,*calreticulin*阳性表达组较阴性表达组生存期短($\chi^2=5.285$, $P=0.022$)。应用Hans法则将所有DLBCL患者分为GCB型和non-GCB型后发现,在GCB亚型中,*calreticulin*阳性表达患者较阴性表达患者OS显著缩短($P=0.023$),而在non-GCB亚型中,*calreticulin*阳性表达患者OS与阴性表达患者差异无统计学意义($P=0.307$),在non-GCB亚型中,*calreticulin*阳性与阴性的患者生存差异无统计学意义可能与non-GCB亚型预后较差有关,non-GCB患者中大部分为激活B细胞样(activated B cell-like, ABC)型。多项研究显示,ABC型的DLBCL患者比GCB型患者预后差^[22, 34]。本研究还发现,*MYC*重排阳性在*calreticulin*阳性组中所占比例明显高于阴性组,而ABC及GCB型在*BCL-2*、*BCL-6*、*MYC*等基因的重排率、信号通路的活化、基因突变等方面都不尽相同,可能与*calreticulin*表达在non-GCB亚型中无明显差异有关,需要今后进一步的研究证实。进一步进行单因素及多因素COX回归分析发现,年龄是否大于60岁及*calreticulin*表达是影响DLBCL预后的独立危险因素($P<0.05$),分层分析发现,在年龄大于60岁(HR=3.163, 95% CI: 1.186~8.437)、Ann Arbor分期为Ⅲ~Ⅳ期(HR=3.456, 95% CI: 1.296~9.215)、IPI分数3~5分(HR=4.188, 95% CI: 1.407~12.468)的患者中*calreticulin*阳性表达提示DLBCL患者预后较差,提示*calreticulin*高表达与DLBCL的不良预后有关。综上所述,DLBCL中*calreticulin*阳性表达的患者生存率低,可能与肿瘤细胞增殖及侵袭能力增加有关,*calreticulin*的表达对DLBCL预后评估具有一定参考价值。

[参 考 文 献]

- [1] 孙可欣, 郑荣寿, 张思维, 等. 2015年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 中国肿瘤, 2019, 28(1): 1-11.
SUN K X, ZHENG R S, ZHANG S W, et al. Report of cancer incidence and mortality in different areas of China, 2015 [J]. China Cancer, 2019, 28(1): 1-11.
- [2] CAMPO E, SWERDLOW S H, HARRIS N L, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications [J]. Blood, 2011, 117(19): 5019-5032.
- [3] 康慷意, 周立强. 弥漫型大B细胞淋巴瘤的治疗进展 [J]. 癌症进展, 2013, 11(2): 130-134.
KANG S Y, ZHOU L Q. The treatment progress of diffuse large B-cell lymphoma [J]. Oncol Progress, 2013, 11(2): 130-134.
- [4] VAN DEN NESTE E, SCHMITZ N, MOUNIER N, et al. Outcome of patients with relapsed diffuse large B-cell lymphoma who fail second-line salvage regimens in the International CORAL study [J]. Bone Marrow Transplant, 2016, 51(1): 51-57.
- [5] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia [J]. Blood, 2016, 127(20): 2391-2405.
- [6] 黄 媛. 多重打击B细胞淋巴瘤的研究进展 [J]. 白血病·淋巴瘤, 2014, 23(10): 626-629.
HUANG Y. Research progress of double-hit B cell lymphoma [J]. J leukemia Lymphoma, 2014, 23(10): 626-629.
- [7] MACLENNAN D H, RICE W J, GREEN N M. The mechanism of Ca^{2+} transport by sarco(endo)plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPases [J]. J Biol Chem, 1997, 272(46): 28815-28818.
- [8] GELEBART P, OPAS M, MICHALAK M. Calreticulin, a Ca^{2+} -binding chaperone of the endoplasmic reticulum [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(2): 260-266.
- [9] MICHALAK M, GROENENDYK J, SZABO E, et al. Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum [J]. Biochem J, 2009, 417(3): 651-666.
- [10] CHEN C N, CHANG C C, SU T E, et al. Identification of calreticulin as a prognosis marker and angiogenic regulator in human gastric cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(2): 524-533.
- [11] LU Y C, CHEN C N, WANG B, et al. Changes in tumor growth and metastatic capacities of J82 human bladder cancer cells suppressed by down-regulation of calreticulin expression [J]. Am J Pathol, 2011, 179(3): 1425-1433.
- [12] SHI F, SHANG L, PAN B Q, et al. Calreticulin promotes migration and invasion of esophageal cancer cells by upregulating neuropilin-1 expression via STAT5A [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(23): 6153-6162.
- [13] WU Y, XU X, MA L, et al. Calreticulin regulates TGF-beta1-

- induced epithelial-mesenchymal transition through modulating Smad signaling and calcium signaling [J] . *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 90: 103-113.
- [14] ALAIYA A, ROBLICK U, EGEVAD L, et al. Polypeptide expression in prostate hyperplasia and prostate adenocarcinoma [J] . *Anal Cell Pathol*, 2000, 21(1): 1-9.
- [15] LIU D, WU N, SUN H, et al. ABCG2 and NCF4 polymorphisms are associated with clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP [J] . *Oncotarget*, 2017, 8(35): 58292-58303.
- [16] 罗泉芳, 唐琳洁, 王 薇. COTPE方案联合沙利度胺治疗双打击淋巴瘤疗效观察 [J] . *实用肿瘤杂志*, 2018, 33(4): 340-343.
- LUO Q F, TANG L J, WANG W. Efficacy of COTPE combined with thalidomide in treatment of double-hit B-cell lymphoma [J] . *J Pract Oncol*, 2018, 33(4): 340-343.
- [17] 郭宝平, 岑 洪. 关于双打击淋巴瘤的新认识: 诊断、预后及治疗进展 [J] . *内科急危重症杂志*, 2017, 23(2): 92-94, 104.
- GUO B P, CEN H. New understanding of double strike lymphoma: diagnosis, prognosis and treatment progress [J] . *J Internal Intensive Med*, 2017, 23(2): 92-94, 104.
- [18] NGUYEN L, PAPPENHAUSEN P, SHAO H. The role of c-MYC in B-cell lymphomas: diagnostic and molecular aspects [J] . *Genes (Basel)*, 2017, 8(4): E116.
- [19] FENG X H, LIANG Y Y, LIANG M, et al. Direct interaction of c-Myc with Smad2 and Smad3 to inhibit TGF- β -mediated induction of the CDK inhibitor p15(Ink4B) [J] . *Mol Cell*, 2016, 63(6): 1089.
- [20] AKYUREK N, UNER A, BENEKLI M, et al. Prognostic significance of MYC, BCL-2, and BCL-6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab [J] . *Cancer*, 2012, 118(17): 4173-4183.
- [21] SCOTT D W, KING R L, STAIGER A M, et al. High-grade B-cell lymphoma with MYC and BCL-2 and/or BCL-6 rearrangements with diffuse large B-cell lymphoma morphology [J] . *Blood*, 2018, 131(18): 2060-2064.
- [22] BARRANS S, CROUCH S, SMITH A, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab [J] . *J Clin Oncol*, 2010, 28(20): 3360-3365.
- [23] COPIE-BERGMAN C, CUILIERE-DARTIGUES P, BAIA M, et al. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study [J] . *Blood*, 2015, 126(22): 2466-2474.
- [24] GREEN T M, YOUNG K H, VISCO C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone [J] . *J Clin Oncol*, 2012, 30(28): 3460-3467.
- [25] HORN H, ZIEPERT M, BECHER C, et al. MYC status in concert with BCL-2 and BCL-6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma [J] . *Blood*, 2013, 121(12): 2253-2263.
- [26] DELBRIDGE A R, GRABOW S, STRASSER A, et al. Thirty years of BCL-2: translating cell death discoveries into novel cancer therapies [J] . *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(2): 99-109.
- [27] HORN H, ZIEPERT M, WARTENBERG M, et al. Different biological risk factors in young poor-prognosis and elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma [J] . *Leukemia*, 2015, 29(7): 1564-1570.
- [28] RAGHAVAN M, WIJEYSAKERE S J, PETERS L R, et al. Calreticulin in the immune system: ins and outs [J] . *Trends Immunol*, 2013, 34(1): 13-21.
- [29] SHENG W, CHEN C, DONG M, et al. Overexpression of calreticulin contributes to the development and progression of pancreatic cancer [J] . *J Cell Physiol*, 2014, 229(7): 887-897.
- [30] 陈琪枫, 方晓明, 胡新根, 等. CD47和钙网织蛋白在浸润性乳腺导管癌组织中的表达及意义 [J] . *中国基层医药*, 2015, 22(17): 2574-2576, 2577.
- CHEN Q F, FANG X M, HU X G, et al. The expression and clinical significance of CD47 and calreticulin in infiltrating ductal breast carcinomas [J] . *Chin J Prim Med Pharm*, 2015, 22(17): 2574-2576, 2577.
- [31] VOUGAS K, GAITANAROU E, MARINOS E, et al. Two-dimensional electrophoresis and immunohistochemical study of calreticulin in colorectal adenocarcinoma and mirror biopsies [J] . *J BUON*, 2008, 13(1): 101-107.
- [32] 郑 艳, 朱雄鹏, 李纯团, 等. 稳定沉默钙网蛋白表达通过下调VEGF、MMP2/9的表达抑制SNK6细胞侵袭能力 [J] . *中国实验血液学杂志*, 2019, 27(2): 433-438.
- ZHENG Y, ZHU X P, LI C T, et al. Silencing calreticulin expression inhibits invasion ability of SNK6 cells *in vitro* via down-regulating expression of VEGF and MMP2/9 [J] . *J Exp Hematol*, 2019, 27(2): 433-438.
- [33] NANGALIA J, MASSIE C E, BAXTER E J, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2 [J] . *New Engl J Med*, 2013, 369(25): 2391-2405.
- [34] PASQUALUCCI L, TRIFONOV V, FABBRI G, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma [J] . *Nat Genet*, 2011, 43(9): 830-837.

(收稿日期: 2020-01-17 修回日期: 2020-04-10)