

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.19.002

A20 基因缺失对弥漫大 B 细胞淋巴瘤临床病理特征和预后的影响及相关分子机制研究*

冯江龙¹, 杨文秀^{2△}, 王佳蕊¹, 李泊²

(1. 贵州医科大学病理学教研室, 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学附属医院病理科, 贵阳 550004)

[摘要] **目的** 检测弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)中肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 基因(A20 基因)缺失情况,探讨 A20 基因缺失对 DLBCL 临床过程及预后的影响及其与核因子- κ B(NF- κ B)通路活化的关系。**方法** 荧光原位杂交检测其 A20 基因缺失情况;免疫组织化学染色检测肿瘤中 A20、Survivin、P65、Ki-67 蛋白的表达, TUNEL 技术检测肿瘤细胞凋亡水平,收集临床病理资料并随访,进行统计分析。**结果** DLBCL 病例 A20 基因缺失率为 21.7%,活化后 B 细胞样型(ABC)-DLBCL 的 A20 基因缺失率明显高于生发中心 B 细胞样型(GCB)-DLBCL (30.6% vs. 8.3%, $P < 0.05$), A20 蛋白表达与 A20 基因缺失呈负相关($r = -0.259$, $P = 0.023$), P65 蛋白和 Survivin 蛋白表达与 A20 基因缺失呈正相关($r = 0.280$ 、 0.313 , $P = 0.015$ 、 0.007);肿瘤细胞凋亡在 A20 基因缺失的 DLBCL 病例中较低,在 A20 蛋白表达阳性病例中明显高于表达阴性病例,在 Survivin 和 P65 蛋白阳性表达病例中明显低于阴性表达病例($P < 0.05$),而在 ABC-DLBCL 和 GCB-DLBCL 病例间差异无统计学意义($P > 0.05$);COX 回归分析结果显示,年龄、A20 基因的缺失、DLBCL 类型和 Ki67 表达是 DLBCL 独立的生存相关因素;A20 基因缺失者的生存状况明显较未缺失者差($P = 0.015$)。**结论** A20 缺失可能影响 A20 蛋白表达,使其对 NF- κ B 活化的负调节作用减弱,使 Survivin 表达上调而影响肿瘤细胞的增殖和凋亡;A20 基因缺失对 DLBCL 的临床过程和预后有一定影响。

[关键词] 淋巴瘤; A20 基因; NF- κ B; Survivin; 预后; 基因缺失**[中图分类号]** R361+.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)19-2594-05

Impacts of A20 gene deletion on clinicopathological features and prognosis of diffuse large B cell lymphoma and relative molecular mechanism*

Feng Jianglong¹, Yang Wenxiu^{2△}, Wang Jiarui¹, Li Bo²

(1. Department of Pathology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China;

2. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective** To detect the A20 gene deletion, investigate the impacts of A20 gene deletion on clinicopathological features and prognosis of DLBCL, and relationship between activation of NF- κ B pathway and relative molecular pathogenesis. **Methods** A20 gene deletion was detected by fluorescence in situ hybridization (FISH). The expression of A20, Survivin, P65 and Ki-67 were detected by immunohistochemistry stain. Apoptosis was assayed by TUNEL. Follow-up and statistical analysis were done. **Results** The deletion rate of A20 gene was 21.7%. The deletion rate of A20 gene was obviously higher in ABC-like DLBCL than that in GCB-like DLBCL (30.6% vs. 8.3%, $P < 0.05$). It was observed that there was a negative correlation between A20 protein expression and A20 gene deletion ($r = -0.259$, $P = 0.023$). The expression of P65 and Survivin protein was positively correlated with the A20 gene deletion ($r = 0.280$, $P = 0.015$; $r = 0.313$, $P = 0.007$). Apoptosis rate was significantly reduced in DLBCL patients with A20 gene deletion. The apoptosis rate was higher in cases with positive expression of A20 protein, while that was lower in cases with positive expression of p65 and Survivin protein than those with negative expression of corresponding protein. There was no statistically significant difference in apoptosis rate between ABC-like and GCB-like DLBCL patients ($P > 0.05$). COX regression analysis indicated that age, A20 gene deletion, types of DLBCL and Ki67 expression were independent factors associated with survival status. Log-rank test showed that there was a statistical difference in survival status between the cases with and without A20 gene deletion ($P = 0.015$). **Conclusion** A20 gene deletion may associate with the attenuation of A20 protein expression. The latter weakens negative feedback regulation of A20 protein for NF- κ B pathway. An up-regulated expression of Survivin and abnormal proliferation and apoptosis may be result from the abnormal activation of NF- κ B. A20 gene deletion brings certain influence on clinical course and prognosis of DLBCL.

[Key words] lymphoma; A20 gene; NF- κ B; Survivin; prognosis; gene deletion

弥漫大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)是成人淋巴瘤中最常见的一种类型,约占非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)的 30%^[1],在我国已达 45.8%^[2]。它可发生于任何年龄,以中老年人最为常见,中位

发病年龄 60~64 岁。根据肿瘤细胞的基因表达谱,非特指的 DLBCL 可分为生发中心 B 细胞样型(germinal center B-cell-like, GCB)和活化后 B 细胞样型(activated B-cell-like, ABC)及原发性纵隔 B 细胞淋巴瘤型(primary mediastinal B-cell lym-

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO. 81160299)。 作者简介:冯江龙(1991-),在读硕士,主要从事淋巴瘤发病机制方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: ypq1964@163.com。

phoma, PMBL)。不同亚型的 DLBCL 无论在发病机制还是在临床预后方面都显现出差异,其治疗效果也不尽相同。最近研究发现,核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)与 DLBCL 的发生、发展关系密切,NF- κ B 信号传导通路的激活是 DLBCL 的一个重要特性^[3]。在 NF- κ B 通路中,P50/P65 是最常见的 NF- κ B 二聚体,与靶基因的启动子 DNA 结合,激活基因转录。在 DLBCL 中存在多种与 NF- κ B 异常活化相关的基因异常。肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 3 基因(tumor necrosis factor alpha-induced protein 3 gene, TNFAIP3, A20 gene)就是其中之一。凋亡抑制基因 Survivin 是凋亡抑制蛋白(inhibitor apoptosis of protein, IAP)家族成员,它在很多肿瘤的发生、发展中具有作用。Survivin 在间变性大细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤和 DLBCL 中的异常及其对上述淋巴瘤临床过程的影响国内外都有一些报道^[4]。Survivin 是 NF- κ B 的下游调控基因,主要通过直接作用于凋亡蛋白酶级联效应因子半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3、Caspase-7 而发挥抗凋亡作用^[5]。DLBCL 中存在的 A20 基因的缺失是否通过 NF- κ B 信号通路的持续活化而影响 Survivin 的表达,并影响淋巴瘤的发生、发展尚不清楚。据此,本研究收集了一组 DLBCL 病例,应用荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)、TUNEL 技术和免疫组织化学方法检测 DLBCL 中 A20 缺失、凋亡和 Survivin 等相关分子的变化,为完善 DLBCL 的发生、发展机制,以及发现其预后和治疗评估的相关因子提供可靠的试验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集贵州医科大学附属医院病理科 2009 年 6 月至 2015 年 6 月诊断的 DLBCL 手术切除后病例,按照 2008 年版淋巴造血组织 WHO 分类诊断标准,通过复习组织学和免疫组织化学染色方法,筛选出临床病理资料相对完整的 60 例 DLBCL 患者进行研究,其中男 36 例,女 24 例,男女比 1.5:1.0;发病年龄 1~83 岁,中位年龄 57 岁,发病高峰年龄 55~65 岁;ABC-DLBCL 36 例,GCB-DLBCL 24 例;临床分期:Ⅰ期 22 例,Ⅱ期 14 例,Ⅲ期 13 例,Ⅳ期 11 例。另外,以同期的 12 例淋巴结反应性增生病例作为对照。本研究通过贵州医科大学伦理委员会审批。

1.2 方法

1.2.1 FISH 检测

石蜡包埋肿瘤组织切片,FISH 检测 A20 探针购自北京金培佳试剂公司,试验方法如下:石蜡组织切片厚 3 μ m,常规脱蜡至水,胃蛋白酶消化 20 min,每张切片滴加 5 μ L 探针,80 $^{\circ}$ C 水浴箱进行 DNA 变性 20 min,37 $^{\circ}$ C 杂交 24 h,4',6-二脒基-2-苯基喹啉(DAPI)复染。结果判读:荧光显微镜下观察,通过 Image J 合成彩色图像,随机计数 100 个清晰的细胞后,统计 Ratio 值,A20 红色信号数:6 号染色体着丝粒(chromosome 6 centromre probe, CEP6)绿色信号数小于 1.8 者为缺失阳性结果。

1.2.2 免疫组织化学染色

石蜡包埋组织切片厚 3 μ m,脱蜡、水化、消除内源性过氧化物酶,采用乙二胺四乙酸(EDTA) pH 9.0 高压热修复, EV 二步法, 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色, Harris 苏木精复染,脱水,透明,封片。Survivin (福州迈新生物技术开发有限公司, 1:50)和 Ki-67(美国 Abcam 公司, 1:100)为多克隆抗体, A20(美国 Abcam 公司, 1:300)、NF- κ B(P65, 美国 Abcam 公司, 1:100)均为单克隆抗体。阳性对照: A20 蛋白为胎盘组织, P65 蛋白为乳腺癌组织, Survivin 蛋白为正常胃组织, 用 pH 7.0、0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为空白对照。结果判读: 阳性信号 Survivin

蛋白位于细胞核或细胞质, A20 蛋白位于细胞质, P65 和 Ki-67 位于细胞核。每张切片随机观察 10 个高倍视野($\times 400$), 计数阳性细胞百分比, 取 10 个高倍视野的百分比均数为其阳性率。A20、P65、Survivin 蛋白表达阳性率小于 20% 判为阴性, $\geq 20\%$ 判为阳性。Ki-67 蛋白表达分为低表达($< 40\%$)和高表达($\geq 40\%$)两个等级。

1.2.3 凋亡检测

显色法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司, 具体步骤按说明书进行: 石蜡包埋组织切片 3 μ m 厚, 脱蜡水化, 用不含脱氧核糖核酸酶(DNase)的蛋白酶 K 进行消化, 3% 过氧化氢去除内源性过氧化物酶, 依次滴加生物素标记 dUTP、辣根过氧化物酶(HRP)标记链霉亲和素工作液, 37 $^{\circ}$ C 水浴箱孵育, DAB 显色, Harris 苏木精复染。结果判定: 棕色阳性细胞占总细胞数的百分比, 细胞凋亡可以划分为低凋亡率($< 2\%$)和高凋亡率($\geq 2\%$)两个组。

1.3 随访

主要通过信访和电话随访完成, 以首次明确病理诊断为随访开始时间, 2016 年 1 月 31 日为随访结束时间。

1.4 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析, 计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用四格表 χ^2 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, 生存分析采用 Kaplan-Meier 方法绘制生存曲线, 生存曲线的比较采用对数秩检验(Log-rank test), 影响生存的多因素分析采用 COX 回归分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 A20 基因的缺失检测

60 例 DLBCL 中 A20 缺失阳性(图 1)13 例, 阳性率为 21.7%, 12 例淋巴结反应性增生中未检测出 A20 缺失。

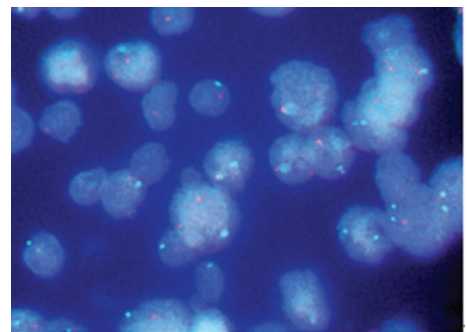


图 1 DLBCL A20 缺失突变(FISH, $\times 1000$)

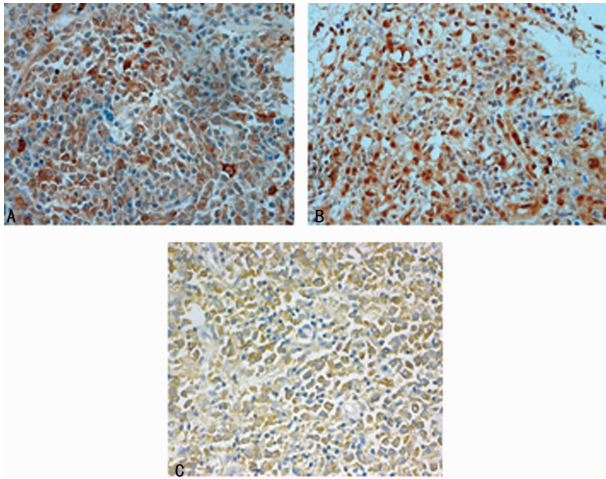
2.2 淋巴瘤中 A20、P65、Survivin 蛋白的表达

DLBCL 和淋巴结反应性增生中均见 A20、P65 和 Survivin 蛋白表达(图 2)。淋巴结反应性增生患者中 A20 蛋白阳性表达率为 83.3% (10/12)、P65 蛋白为 8.3% (1/12), Survivin 蛋白为 16.7% (2/12); DLBCL 组中 A20 蛋白阳性表达率为 28.3% (17/60), P65 蛋白为 58.3% (35/60), Survivin 蛋白为 55.0% (33/60)。两组间 A20、P65、Survivin 蛋白阳性表达率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 A20 基因缺失与 A20、P65、Survivin 蛋白表达及患者临床特征的关系

A20 基因缺失发生率在 ABC-DLBCL 和 GCB-DLBCL 患者间(30.6% vs. 8.3%)、A20 蛋白表达阳性与阴性患者间(5.9% vs. 30.2%)、P65 蛋白表达阳性与阴性患者间(31.4% vs. 8.0%)、Survivin 蛋白表达阳性与阴性患者间(33.3% vs. 7.4%)、Ki-67 蛋白低表达与高表达患者间(5.3% vs. 29.3%)比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 而在不同性别及临床分期患者间、复发与未复发患者间比较, 差异均无

统计学意义($P>0.05$),见表 1。Pearson 相关分析显示:A20 蛋白表达与 A20 基因缺失呈负相关($r=-0.259,P=0.023$), P65 蛋白和 Survivin 蛋白表达与 A20 基因缺失呈正相关($r=0.280,0.313,P=0.015,0.007$),见表 2。



A:A20 蛋白表达;B:P65 蛋白表达;C:Survivin 蛋白表达

图 2 DLBCL 中 A20、p65 和 Survivin 蛋白表达(EV,×400)

表 1 A20 基因缺失与 A20、P65、Survivin 蛋白表达及 DLBCL 临床病理特征的关系($n=60$)

特征	n	A20 基因缺失		χ^2	P
		是	否		
DLBCL 类型				4.190	0.041
ABC-DLBCL	36	11	25		
GBC-DLBCL	24	2	22		
A20 蛋白表达				4.038	0.044
阳性	17	1	16		
阴性	43	13	30		
P65 蛋白表达				4.716	0.030
阳性	35	11	24		
阴性	25	2	23		
Survivin 蛋白表达				5.881	0.015
阳性	33	11	22		
阴性	27	2	25		
性别				0.016	0.898
男	36	8	28		
女	24	5	19		
临床分级				1.326	0.250
I~II	36	6	30		
III~IV	24	7	17		
Ki-67 蛋白表达				4.408	0.036
低表达	19	1	18		
高表达	41	12	29		
复发				0.189	0.664
是	11	3	8		
否	49	10	39		

表 2 A20 基因缺失与 A20、P65、Survivin 蛋白表达的相关关系($n=60$)

特征	n	A20 基因缺失		r	P
		是	否		
A20 蛋白表达				-0.259	0.023
阳性	17	1	16		
阴性	43	13	30		
P65 蛋白表达				0.280	0.015
阳性	35	11	24		
阴性	25	2	23		
Survivin 蛋白表达				0.313	0.007
阳性	33	11	22		
阴性	27	2	25		

2.4 肿瘤细胞凋亡检测 DLBCL 肿瘤细胞核中见棕黄色阳性信号(图 3)。细胞凋亡水平与 A20 基因缺失和 A20 蛋白表达的关系、与 P65 和 Survivin 蛋白表达的关系见表 3。

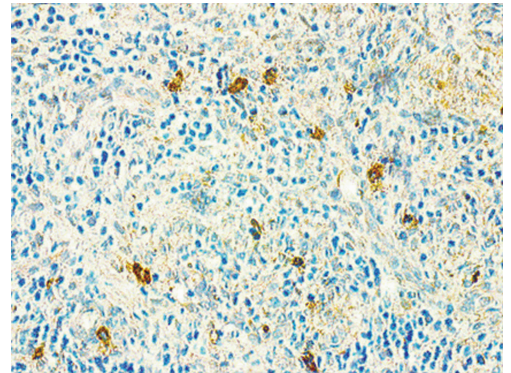


图 3 DLBCL 细胞凋亡水平检测(TUNEL,×400)

表 3 DLBCL 中 A20、P65 和 Survivin 表达与肿瘤细胞凋亡的关系($n=60$)

特征	n	肿瘤细胞凋亡率		χ^2	P
		$\geq 2\%$	$< 2\%$		
DLBCL 类型				0.012	0.913
ABC-DLBCL	36	13	23		
GBC-DLBCL	24	9	15		
A20 基因缺失				4.721	0.030
是	15	2	13		
否	57	25	32		
A20 蛋白表达				14.561	0.000
阳性	21	15	6		
阴性	51	12	39		
P65 蛋白表达				6.000	0.014
阳性	40	10	30		
阴性	32	17	15		
Survivin 蛋白表达				5.638	0.018
阳性	37	9	28		
阴性	35	18	17		

2.5 随访 60 例 DLBCL 中有随访结果者 36 例,获访率为 60.0%,随访时间 4~48 个月,中位随访时间为 33.1 个月。随

访结果显示:存活 26 例,死亡 10 例(7 例死于肿瘤,2 例死于化疗反应,1 例死于其他疾病);共 11 例复发;25 例术后接受化疗治疗,其余病例治疗方案不详。A20 基因缺失病例和未缺失病例生存曲线比较见图 4,A20 基因缺失病例生存状况明显较未缺失病例差,差异有统计学意义($P=0.015$)。COX 回归分析结果显示:年龄、Ki67 的表达、A20 基因的缺失、DLBCL 类型对 DLBCL 患者的生存时间有影响,见表 4。

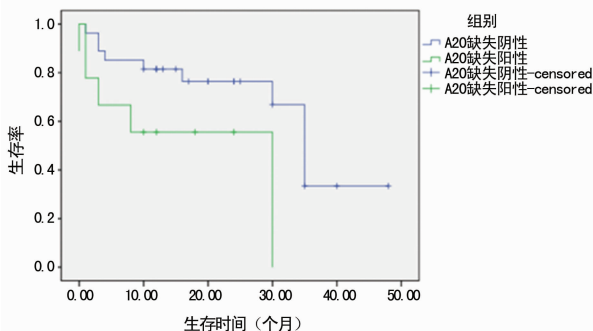


图 4 A20 基因缺失病例与未缺失病例的生存曲线比较

表 4 COX 回归分析参数估计及假设检验结果

变量	β	SE	Wald χ^2	P	RR
年龄	0.057	0.020	8.051	0.005	1.059
Ki67	-1.040	0.492	4.470	0.034	0.354
A20 基因缺失	-1.905	0.659	8.359	0.004	0.140
DLBCL 类型	-2.062	0.660	9.764	0.002	0.127

3 讨 论

A20 基因位于染色体 6q23.3,其编码的 A20 蛋白是一种新型的锌指蛋白,具有去泛素化酶的功能^[6]。目前,A20 蛋白在肿瘤发生、发展中的作用报道较多,A20 可通过抑制 twist1 表达而抑制肝细胞癌的生长和转移^[7],它还是 NF- κ B 的负调节因子,故被视为肿瘤抑制基因。A20 可通过多种途径机制抑制 NF- κ B 的活化:它可抑制卡波西肉瘤相关疱疹病毒 FLICE 抑制蛋白(vFLIP)诱导的 NF- κ B 活化^[8];A20 的锌指 7 与线性的多泛素链结合可以抑制 LUBAC 介导的 NF- κ B 活化^[9];在肿瘤坏死因子(TNF)作用下或者 TNF-R1 应答过表达时,A20 蛋白能够与 NF- κ B 抑制蛋白激酶 γ 亚基(IKK γ)相互作用,阻断 IKK γ 将上游信号传递给 IKK α 和 IKK β 亚基,从而阻止 NF- κ B 的活化^[10]。NF- κ B 信号传导通路的持续活化是 DLBCL 的一个重要特性,它通过控制多种细胞因子和生存基因表达,对淋巴细胞的分化、凋亡、成熟、增生及先天免疫反应发挥重要作用。

A20 基因异常在多种淋巴造血组织肿瘤都被发现^[11-13]。这些异常对相应的淋巴瘤临床过程、治疗和预后产生不同程度的影响:伴有 A20 基因的缺失或突变的眼附属器黏膜相关淋巴组织(MALT)型淋巴瘤放疗需更大的剂量^[14-15]。本课题组前期研究发现,在部分 DLBCL 中存在 A20 基因的甲基化和错义突变,这些 A20 基因的异常在 ABC-DLBCL 中较 GCB-DLBCL 多见,而且伴有 A20 基因突变和甲基化的 DLBCL 患者具有较差的临床过程和预后,A20 甲基化者复发率高,A20 突变者生存状况较差^[16-17]。本研究发现,在 DLBCL 中存在 A20 基因的缺失,缺失率为 21.7%,ABC-DLBCL 中 A20 基因缺失较 GCB-DLBCL 更多见。在复发的 DLBCL 病例中 A20 基因缺

失更多见,生存状况也较差,这与本课题组前期发现的 A20 错义突变和甲基化对 DLBCL 的影响相似。

在淋巴瘤中有关 A20 基因的异常对其编码蛋白表达的影响,以及与 NF- κ B 下游分子表达的关系报道较少。本课题组既往研究发现,A20 基因的小分子干扰 RNA(siRNA)干扰 DLBCL 细胞 OCI-LY1 内的 A20 表达后,NF- κ B 的 P65 和 P50 表达明显降低,细胞的生长和凋亡明显受到抑制,多药耐药基因 1(multi-drug resistance gene 1)及其编码蛋白 P-gp 的表达都明显上调^[18]。Survivin 蛋白是 NF- κ B 的下游靶基因,有研究报道,Survivin 在侵袭性和高侵袭性的非霍奇金淋巴瘤中都有高表达,其表达能预测相应淋巴瘤的临床过程和预后^[19];Survivin 表达产生的凋亡抑制作用还对多种肿瘤的化疗耐药和血管形成有重要影响,它作为生物靶向治疗的靶标在多种恶性肿瘤中有体外实验的研究报道^[20]。经过 Pearson 相关分析发现,A20 蛋白表达与 A20 基因缺失呈负相关($r=-0.259$, $P=0.023$),P65 蛋白和 Survivin 蛋白表达与 A20 基因缺失呈正相关($r=0.280,0.313$, $P=0.015,0.007$),因此有理由推测淋巴瘤中 Survivin 蛋白表达异常可能与 A20 基因异常导致的 NF- κ B 持续活化有关。本研究还发现,A20 基因缺失的 DLBCL 患者 A20 蛋白表达降低,P65 蛋白和 Survivin 蛋白表达都明显增强,且肿瘤凋亡明显抑制。结果表明:DLBCL 中 A20 基因的缺失对 A20 蛋白表达可能有影响,A20 表达的减少可能削弱了对 NF- κ B 信号通路的负调控作用,使 NF- κ B 下游靶基因 Survivin 的表达上调,从而影响肿瘤细胞的凋亡和增殖。

综上所述,A20 基因的缺失对 DLBCL 的临床过程和预后有一定影响,可能是 DLBCL 不良预后的预测相关因子;DLBCL 中 Survivin 表达上调可能是 A20 基因缺失导致 A20 表达下调的结果,Survivin 的表达可能是淋巴瘤肿瘤细胞凋亡抑制和增殖活性增强重要的分子机制之一。

参考文献

- [1] Menon MP, Pittaluga S, Jaffe ES. The histological and biological spectrum of diffuse large B-cell lymphoma in the WHO classification[J]. Cancer J, 2012, 18(5):411-420.
- [2] Morton LM, Cerhan JR, Hartge P, et al. Immunostaining to identify molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma in a population-based epidemiologic study in the pre-rituximab era[J]. Int J Mol Epidemiol Genet, 2011, 2(3):245-252.
- [3] Grégoire M, Guilloton F, Pangault C, et al. Neutrophils trigger a NF- κ B dependent polarization of tumor-supportive stromal cells in germinal center B-cell lymphomas[J]. Oncotarget, 2015, 6(18):16471-16487.
- [4] Kaneko N, Kita A, Yamanaka K, et al. Combination of YM155, a survivin suppressant with a STAT3 inhibitor; a new strategy to treat diffuse large B-cell lymphoma[J]. Leuk Res, 2013, 37(9):1156-1161.
- [5] Leslie LA, Younes A. Targeting oncogenic and epigenetic survival pathways in lymphoma[J]. Leuk Lymphoma, 2013, 54(11):2365-2376.
- [6] Bosanac I, Wertz IE, Pan B, et al. Ubiquitin binding to A20 ZnF4 is required for modulation of NF- κ B signaling[J]. Mol Cell, 2010, 40(4):548-557.
- [7] Chen HY, Hu L, Luo ZL, et al. A20 suppresses hepatocel-

- lular carcinoma proliferation and metastasis through inhibition of Twist1 expression [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 186.
- [8] Sakakibara S, Espigol-Frigole G, Gasperini P, et al. A20/TNFAIP3 inhibits NF- κ B activation induced by the Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus vFLIP oncoprotein [J]. *Oncogene*, 2013, 32(10): 1223-1232.
- [9] Verhelst K, Carpentier I, Kreike M, et al. A20 inhibits LUBAC-mediated NF- κ B activation by binding linear polyubiquitin chains via its Zinc finger 7 [J]. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3845-3855.
- [10] Hymowitz SG, Wertz IE. A20: from ubiquitin editing to tumour suppression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(5): 332-341.
- [11] Ando M, Sato Y, Takata K, et al. A20 (TNFAIP3) deletion in Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders/lymphomas [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56741.
- [12] Dong G, Chanudet E, Zeng N, et al. A20, ABIN-1/2, and CARD11 mutations and their prognostic value in gastrointestinal diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(6): 1440-1451.
- [13] Nomoto J, Hiramoto N, Kato M, et al. Deletion of the TNFAIP3/A20 gene detected by FICTION analysis in classical Hodgkin lymphoma [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 457.
- [14] Bi Y, Zeng N, Chanudet E, et al. A20 inactivation in ocular adnexal MALT lymphoma [J]. *Haematologica*, 2012, 97(6): 926-930.
- [15] Troppan K, Hofer S, Wenzl K, et al. Frequent down regulation of the tumor suppressor gene A20 in multiple myeloma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123922.
- [16] 李逸, 陈琴, 李品浩, 等. A20 基因甲基化对弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的影响 [J]. *诊断病理学杂志*, 2015, 22(12): 772-775.
- [17] 虞樱篮, 陈琴, 杨文秀. A20 突变与弥漫大 B 细胞淋巴瘤临床病理特征及预后的关系 [J]. *中国肿瘤临床*, 2015, 42(20): 1018-1024.
- [18] 王玲玲, 杨文秀, 李逸, 等. TNFAIP3siRNA 对弥漫大 B 细胞淋巴瘤 OCI-LY1 细胞 NF- κ B 活性及增殖的影响 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32(4): 405-408, 412.
- [19] Schlette EJ, Medeiros LJ, Goy A, et al. Survivin expression predicts poorer prognosis in anaplastic large-cell lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(9): 1682-1688.
- [20] Huang J, Lyu H, Wang J, et al. MicroRNA regulation and therapeutic targeting of survivin in cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(1): 20-31.

(收稿日期: 2017-02-18 修回日期: 2017-04-16)

(上接第 2593 页)

灶标本充气后 CT 导向穿刺定位, 能够有效地在快速冰冻切片中作出明确的病理诊断, 从而避免了在 VATS 术后可能面对无法获得明确病理诊断的尴尬局面, 这一创新方法对于肺内微小 GGN 灶及肺内多发病灶手术后定位和定性的病理诊断有很大的实用价值^[5]。

3 处置原则的新理念

3.1 “四抓”、“四增”新理念 对于 0~ I A1 期微小肺癌, 强调诊治端口要前移, 重点必须在 0 期。所以在小于或等于 10 mm 的 GGN 随访期间, 结节内的实变与生长速度的加快提示为恶性征象, 一旦出现病灶增大, 有实性出现增密, 结节有增强, 有移动血管增粗这“四增”时, 应停止随访, 建议做手术 (VATS), 以免延误早期肺癌的诊治。而“四抓”则是: 抓早 (0 期 Tis)、抓小 (亚厘米肺癌)、抓准 (术前正确定位、定性)、抓好 (胸外、放射、病理科协作, 提高 5 mm 微小病灶病理取材的准确性)。所以极需把握好“四增”与“四抓”的原则及 AIS 的影像及病理诊断, 提高 0 期肺腺癌的检出率, 及早启动干预, 保证患者的生活质量和寿命, 将肺癌诊断和治疗的关口前移才是提高肺癌治疗水平与提高肺癌 5 年生存率的关键所在^[6]。

3.2 CT 影像分析新理念 对肺癌病灶的影像分析要点可概括为“五定”, 即定位、定量、定形、定性、定级。其中定位置、定数量、定级别 (TNM 分期) 都必须是在对肺分叶、分段及纵隔淋巴结分组解剖结构熟知的基础上才能判断无误。定形、定性则是依靠肿瘤的形态学、功能学的特征来完成的。在肺腺癌发生、发展过程中的早期阶段, 其发生的部位可以在肺泡、肺泡管, 也可以是在呼吸性细支气管、肺小叶支气管等各种不同的部位, 这就可以造成肿瘤有各不相同的影像形态。又由于肿瘤在不同区域的发展往往是不同步的, 在同一肿瘤的某些区域可以表现出停滞不前的状态, 在另外区域则表现出退缩状态, 还

有些区域又可表现出很活跃的状态, 这同样也可以造成肿瘤有各不相同的影像形态。这两个病理基础形成了微小肺癌在 CT 影像上具有多种形态变化的新理念, 这对微小结节肺癌作出精准的 CT 诊断具有重要的参考意义及实用价值^[6]。

参考文献

- [1] National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Berg CD, et al. The national lung screening trial: overview and study design [J]. *Radiology*, 2011, 258(1): 243-253.
- [2] Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(1): 39-51.
- [3] International Early Lung Cancer Action Program Investigators, Henschke CI, Yankelevitz DF, et al. Survival of patients with stage I lung cancer detected on CT screening [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(17): 1763-1771.
- [4] Gao F, Li M, Ge X, et al. Multi-detector spiral CT study of the relationships between pulmonary ground-glass nodules and blood vessel [J]. *Eur Radiol*, 2013, 23(12): 3271-3277.
- [5] 李铭, 高丰, 吕帆真, 等. 肺微小磨玻璃结节标本充气下 CT 引导下穿刺定位 [J]. *放射学实践*, 2014, 29(4): 444-446.
- [6] 张国楨, 郑向鹏, 李铭. 微小肺癌——影像诊断与应对策略 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2015: 101-110.

(收稿日期: 2017-02-03 修回日期: 2017-04-08)