

• 临床研究 •

B 细胞活化因子在结外 NK/T 细胞淋巴瘤, 鼻型中异常表达*

张丽, 刘玄勇, 陈丽萍, 陈丽娜, 郭智[△]

518116 广东 深圳, 国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医院肿瘤医院深圳医院 肿瘤内科

[摘要] 目的: 探索 B 细胞活化因子(B cell activating factor, BAFF)在结外 NK/T 细胞淋巴瘤, 鼻型(extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type, NKTL)中的表达及意义。方法: 酶联免疫吸附检测 NKTL 患者外周血清 BAFF 浓度, 健康人为对照; 秩和检验及卡方检验法比较结果差异。结果: 共收集患者和健康志愿者各 20 例, 患者外周血清中 BAFF 浓度明显高于健康志愿者, 两组之间的差异有统计学意义[(957.0 ± 569.4) pg/mL vs (373.0 ± 198.3) pg/mL, $P=0.001$]。一线治疗后, 20 例患者中有 8 例完全缓解, 6 例部分缓解, 6 例病情进展, 2 周期治疗后外周血 BAFF 浓度平均值为(725.1 ± 597.1) pg/mL, 与治疗前相比, BAFF 浓度明显降低, 差值有统计学意义($P=0.027$); 对治疗有反应组大部分患者治疗后血清 BAFF 水平明显降低, 而对治疗无反应组大部分患者血清 BAFF 水平治疗后较治疗前升高。结论: 在 NKTL 患者外周血中存在 BAFF 异常高表达的情况, 且有可能是疗效预测因子, 但 BAFF 在 NKTL 中的具体机制尚不清楚, 这也是目前我们正在研究的内容。

[关键词] B 细胞活化因子; NK/T 细胞淋巴瘤; 化疗

[中图分类号] R733.3 **[文献标志码]** A **doi:**10.3969/j.issn.1674-0904.2019.08.001

引文格式: Zhang L, Liu XY, Chen LP, et al. Abnormal expression of B-cell activating factor in extranodal natural killer/T cell lymphoma, nasal type [J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(8): 655–659. [张丽, 刘玄勇, 陈丽萍, 等. B 细胞活化因子在结外 NK/T 细胞淋巴瘤, 鼻型中异常表达[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(8): 655–659.]

Abnormal Expression of B-Cell Activating Factor in Extranodal Natural Killer/T Cell Lymphoma, Nasal Type

Zhang Li, Liu Xuanyong, Chen Liping, Chen Lina, Guo Zhi

Department of Oncology, National Cancer Center/National Clinical Research Cancer for Cancer/Shenzhen Center, Cancer Hospital Chinese Academy of Medical Sciences, Shenzhen 518116, Guangdong, China

Corresponding author: Guo Zhi, E-mail: guozhi02@163.com

This study was supported by Scientific Research Project of Shenzhen Health System (NO. SZLY2018003).

[Abstract] **Objective:** To investigate expression and significance of B cell activating factor (BAFF) for extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type (NKTL). **Methods:** Serum BAFF level of NKTL patients and healthy people (the control group) was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Rank sum test and chi-square test were used to analyze the difference between groups. **Results:** A total of 20 cases were enrolled. The concentration of serum BAFF in NKTL patients was significantly higher than that in healthy donors (957.0 ± 569.4 pg/mL vs 373.0 ± 198.3 pg/mL, $P=0.001$). After four cycles of first-line chemotherapy, 8 patients achieved complete response, 6 reached partial response and 6 had progressive disease. The mean concentration of serum BAFF was 725.1 ± 597.1 pg/mL after 2 cycles of chemotherapy, which was significant

lower than that before treatment ($P=0.027$). The level of serum BAFF declined in patients with response to treatment, and that increased in patients without response. **Conclusion:** The level of serum BAFF of NKTL patients was abnormally high and may be a predictor of curative effect. However, what role

[收稿日期] 2019-03-27 **[修回日期]** 2019-06-27

[基金项目] * 深圳市卫生系统科研项目(编号: SZLY2018003)

[通讯作者] [△]郭智, E-mail: guozhi02@163.com

BAFF plays in the genesis and development of NKTL is not clear. Our research about this is ongoing.

[Key words] B-cell activating factor; Natural killer/T cell lymphoma; Chemotherapy

结外 NK/T 细胞淋巴瘤, 鼻型 (extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type, NKTL) 是一种高度恶性的淋巴瘤, 好发于中青年, 发病中位年龄在 40 岁左右, 男女发病比例约为 2~4:1。该病分布具有明显的地域及种族特性, 亚洲及南美洲的发病率较高, 西欧和北美地区少见。在我国, 该病是一种高发的恶性淋巴瘤, 发病率仅次于弥漫大 B 细胞淋巴瘤, 居于第 2 位, 约占所有淋巴瘤的 11.0%^[1]。根据 Ann Arbor 分期标准, 60%~80% 的患者初诊分期为 I/II 期。目前该病的治疗方案为放化疗相结合, 总体反应率在 81%~100%, 完全缓解 (complete response, CR) 率在 73%~90.3%, 2~3 年总生存率在 78%~87.5%^[2-6]。因此, NKTL 的治疗亟待新药的研发研制。B 细胞活化因子 (B cell activating factor, BAFF) 是一种 II 型膜蛋白, 编码基因位于 13q34, 在细胞浆合成, 表达于细胞膜, 分泌于细胞外。该蛋白由 9 个 β 片层组成, 折叠成“jelly-roll”样结构的三聚体, 裂解后以游离形式存在体液中; 游离的 BAFF 通过与胞膜上的受体结合发挥作用, 与细胞的增殖、存活相关。有研究显示, 在淋巴瘤中, BAFF 的高表达可以促进恶变 B 细胞的增殖生长^[7-8], 且与疗效预后相关^[9-10]。正常 NK 细胞在 IL-2 的刺激下产生 BAFF^[11], 那么恶变后的 NK 细胞是否高表达 BAFF? 异常的 BAFF 是否与 NKTL 有相关性? 对此, 我们进行了相关研究, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 患者信息

收集 2017 年 9 月至 2019 年 3 月在我院病理确诊为 NKTL 的患者病例资料, 入组条件: 既往未行抗肿瘤治疗; 未合并第 2 原发肿瘤; 年龄 18~70 周岁。血标本分为实验组和对照组, 实验组为 20 例确诊 NKTL 患者外周血, 采血时间点为初次治疗前及 2 周期、4 周期治疗后, 20 例健康志愿者为对照组, 年龄 23~65 周岁, 女性 5 例, 男性 15 例。本研究方案得到医院伦理委员会批准以及患者和健康志愿者知情同意。

1.2 治疗与评估方法

NKTL 患者一线治疗方案采用 P-GEMOX 方案 (培门冬酰胺酶 3750IU im D1 + 吉西他滨 1000mg/m² ivgtt D1, D8 + 奥沙利铂 130mg/m² D1), 21 天为一个周期, 每 2 个周期评估病情。2 周期化疗结束, I/II 期患者开始局部放疗, 放疗剂量为 56Gy/

28 次, 放疗结束, 继续完成 2 周期化疗; III 期患者 4 周期化疗结束后根据情况对残留病灶局部放疗, 放疗剂量为 56Gy/28 次。

基线评估包括详细的病史、血常规、肝肾功、电解质、心电图、骨髓穿刺活检、全身浅表淋巴结彩超、鼻咽部颈部平扫 + 增强 MRI 及胸部腹部平扫 + 增强 CT (经济状况良好者用 PET-CT 代替) 等。血标本处理流程: 室温凝固 4 小时, 3 500rpm/min 离心, 每 100 μ L 分装, -80℃ 保存备用。酶联免疫吸附 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 方法检测患者血清及健康人血清中 BAFF 的表达量, 采用 Abcam 试剂盒 (参照试剂盒说明书进行)。疗效评价按照实体瘤的疗效评价标准 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) 1.1 版进行。

1.3 统计分析

患者血清 BAFF 表达水平和健康人血清 BAFF 的浓度通过均数 $\pm$ 标准差进行描述, 差值通过秩和检验法分析; 治疗前后患者血清中 BAFF 的浓度差异用秩和检验法分析; 卡方检验法比较治疗前后患者血清 BAFF 变化的差异; 用软件 SPSS 20.0 做统计分析, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床特征

20 例患者中男性 14 例 (70%); 年龄 <55 岁患者 17 例 (85%); 16 例 (80%) 患者一般体力状况良好 [东部肿瘤放射治疗协作组 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 评分为 0 和 1 的患者]; 11 例 (55%) 患者发病时伴随有 B 症状; Ann Arbor 分期为 I/II 期患者 14 例 (70%); 13 例 (65%) 患者伴随血清乳酸脱氢酶 (lactic acid dehydrogenase, LDH) 升高; 14 例患者 (70%) 一线治疗达部分缓解 (partial response, PR) 或 CR (表 1)。

表 1 患者临床特征

Table 1. Patients' Characteristics

Characteristic	N (%)
Gender	
Male	14 (70)
Female	6 (30)
Age	
<55	17 (85)
≥ 55	3 (15)

(Table 1 continues on next page)

(Continued from previous page)

Characteristic	N(%)
ECOG scores	
0/1	16(80)
2	4(20)
B symptom	
Present	11(55)
Absent	9(45)
Ann Arbor Stage	
I/II	14(70)
III	6(30)
Serum LDH (U/L)	
Increased	13(65)
Normal	7(35)

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; LDH: lactic acid dehydrogenase.

2.2 BAFF 浓度

ELISA 结果显示,患者组血清中 BAFF 的浓度为 (957.0 ± 569.4) pg/mL;健康人血清中 BAFF 的浓度为 (373.0 ± 198.3) pg/mL,患者血清中 BAFF 浓度明显高于健康人,秩和检验法进行统计分析,结果显示两组之间的差异有统计学意义($P=0.001$,表 2)。

2.3 BAFF 表达水平与患者对治疗反应的关系

按照本研究设计,I/II 期患者 2 周期诱导化疗后开始放疗,即便是稳定的患者也进入局部放疗阶段,全身化疗方案不更换;III/IV 期患者 2 周期化疗后评估疾病进展 (progressive disease, PD) 的患者进

入二线化疗,2 周期疾病稳定 (stable disease, SD) 的患者被视为治疗有效,继续原方案化疗 2 周期,如仍为 SD 或 PD 进入二线治疗。

20 例患者中 2 周期化疗后 7 例 CR,6 例 PR,5 例 SD,2 例 PD 进入二线治疗,2 例更换治疗方案 (Case9 和 Case14)。4 周期化疗后 8 例 CR,6 例 PR,6 例 PD 进入二线治疗;血清 BAFF 浓度在治疗前为 (957.0 ± 569.4) pg/mL,2 周期治疗后为 (725.1 ± 597.1) pg/mL,4 周期后为 (625.3 ± 569.5) pg/mL;治疗前和 2 周期治疗后的差值具有统计学意义 ($P=0.027$)。对治疗有反应组 (4 周期化疗后 CR 或 PR),11/14 (78.6%) 患者治疗前后血清 BAFF 水平明显降低;而对治疗无反应组 (2 周期化疗或 4 周期化疗后 PD),4/6 (66.7%) 患者血清 BAFF 水平治疗后较治疗前升高 (表 3 ~ 4,图 1 ~ 2)。

表 2 健康人与 NK/T 淋巴瘤患者血清中 BAFF 浓度

Table 2. Concentration of Serum BAFF from Patients with Extranodal Natural Killer/T Cell Lymphoma and Healthy Donors

Group	BAFF (mean ± SD/pg/mL)	χ^2	P
Patients with extranodal natural killer/T cell lymphoma	957.0 ± 569.4	45.33	0.001
Healthy donors	373.0 ± 198.3		

BAFF: B cell activating factor.

表 3 20 例患者治疗前后血清 BAFF 浓度及治疗反应

Table 3. Concentration of Serum BAFF Corresponding to Effect before and after Treatment in 20 Cases of Patients

Case numbe	BAFF (pg/ml)			Evaluation of therapeutic effect	
	Before initial treatment	After 2 cycles of treatment	After 4 cycles of treatment	After 2 cycles of treatment	After 4 cycles of treatment
1	1178.8	456.8	645.7	CR	CR
2	486.1	179.2	278.9	PR	CR
3	1764.7	1089.8	1397.9	SD	PD
4	208.2	327.7	298.3	PR	PR
5	664.0	230.9	298.7	CR	CR
6	675.1	561.2	289.7	CR	CR
7	889.2	131.0	123.1	CR	CR
8	997.7	1036.5	789.3	SD	PR
9	2109.3	1897.4	NA	PD	NA
10	825.2	1079.4	1789.6	SD	PD
11	1420.0	679.2	323.2	PR	PR
12	591.8	578.7	497.3	PR	PR
13	950.3	121.1	158.2	CR	CR
14	669.6	1786.3	NA	PD	NA
15	741.9	484.0	378.3	PR	PR
16	1208.8	334.2	358.9	PR	CR
17	2256.7	1986.3	2018.4	SD	PD
18	808.6	1027.3	987.4	PR	PD
19	633.5	412.4	543.7	SD	PR
20	60.9	102.9	78.7	CR	CR

BAFF: B cell activating factor; CR: complete response; PR: partial response; SD: stable disease; PD: progressive disease.

表 4 治疗前后 BAFF 浓度变化的差异

Table 4. BAFF Concentration before and after Treatment

Groups	BAFF (mean $\pm$ SD/pg/ml)	χ^2	P
Before treatment *	957.0 $\pm$ 569.4		
After 2 cycles of treatment *	725.1 $\pm$ 597.1	40.01	0.027
After 4 cycles of treatment	625.3 $\pm$ 569.5		

* Difference is significant between the indicated two groups ($P=0.027$). 18 cases were included, 2 patients with progressive disease after 2 cycles of treatment were excluded.

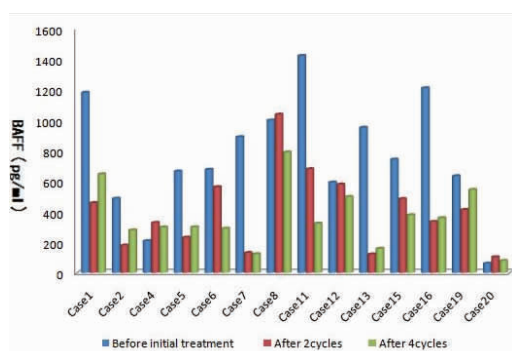


图 1 治疗有反应患者血清 BAFF 浓度变化

Figure 1. Changes in Serum BAFF Concentration in Patients with Response to Treatment

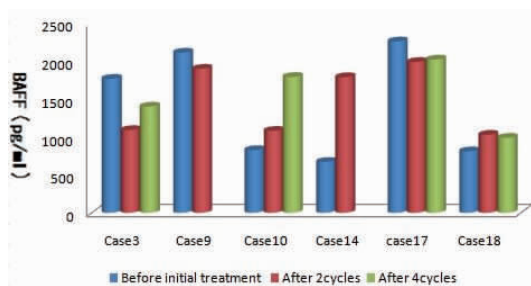


图 2 治疗无反应患者血清 BAFF 浓度变化

Figure 2. Changes in Serum BAFF Concentration in Patients without Response to Treatment

3 讨论

NKTL 是一种具有亚洲特色的恶性淋巴瘤,虽然最近几年关于 NKTL 的研究较多,但大部分集中在治疗和分期上。大部分专家认可放化疗结合的方式,不论是序贯还是同步还是夹心法,各个研究中心报道的研究结果相似;在分期上多数参照 Ann Arbor 分期,但不能体现出 NKTL 的特征,也不能很好地指导临床治疗方案的选择和指导预后。在预后模型的探讨上也有较多报道,但尚无良好的预后模型建立。在发病机制方面,存在研究报道少、机制尚不明确的问题^[12];日本和韩国的研究走在我国前列,但具有样本量小的限制性。因此,在 NKTL 领域,不论是基

础还是临床都有许多值得研究的地方。

BAFF 是肿瘤坏死因子超家族成员,与肿瘤和自身免疫性疾病密切相关。BAFF 主要由单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞、活化的 T 细胞、星状树突细胞、耐辐射脾脏基质细胞、星形胶质细胞、纤维母细胞样滑膜细胞、破骨细胞、上皮细胞、纤维母细胞样网状细胞等产生^[13-14]。游离入血后,可以刺激 B 细胞增殖,调控免疫球蛋白,刺激 Ig 产生,增强 B 细胞趋化反应,并与 T 细胞相关的免疫反应有关。

非霍奇金淋巴瘤中,恶变的 B 细胞无或低水平表达膜结合型的 BAFF,但是与健康人相比,大部分非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)患者血清 BAFF 水平异常升高,恶变的 B 细胞可自身分泌 BAFF 或其支持细胞分泌 BAFF,导致细胞外微环境中 BAFF 水平异常升高,促进恶性 B 细胞的生长、存活^[7-8]。有研究发现淋巴瘤细胞诱导骨髓基质细胞分泌 BAFF,保护瘤细胞在骨髓的存活^[15]。病毒感染可以诱导 BAFF 的产生, RNA 病毒感染细胞后通过 RNA 激酶依赖机制和干扰素依赖机制上调 BAFF 表达^[16]。有研究显示 Epstein-Barr 感染的 B 细胞自身分泌的 BAFF 作用于自身的抗体,导致分类转换, NF- κ B 激活,持续的 BAFF 表达导致淋巴增殖性疾病的发生^[17]。也有研究显示低度恶性的 NHL 在向高度恶性 NHL 转化过程中,出现 BAFF 表达水平增高的现象,高水平的 BAFF 通过肿瘤细胞表面表达的 BAFF 受体(BCMA、TACI 和 BAFF-R)发挥作用^[18]。BAFF 除了与 NHL 的发生发展密切相关外,有研究发现高水平的血清 BAFF 浓度常见于恶性程度高的 NHL,也是治疗反应差、预后差的预测指标^[10-11]。因此 BAFF 有可能是 NHL 的关键调控因子,也是一个良好的预后预测因子。但关于 BAFF 在 NKTL 中的情况尚未见相关报道。

NKTL 组织学来源中,98% 的细胞来源为 NK 细胞恶变。有研究显示,正常人外周血 NK 细胞在 IL-2 的刺激下也产生 BAFF^[18]。恶变后的 NK 细胞是否存在异常的 BAFF 高表达,高表达的 BAFF 是否与 NK/T 细胞淋巴瘤有相关性,目前尚未见有关报告。本研究结果显示, NK/T 细胞淋巴瘤患者中存在 BAFF 异常高表达的现象,且与患者对治疗的反应正相关;治疗有效的患者,外周血 BAFF 水平逐渐降低,治疗无效的患者外周血 BAFF 水平升高,这一结果与研究报道相符合^[8]。因此我们的发现对 NKTL 可能有重要临床意义。

靶向治疗是治疗恶性肿瘤的重要手段,在临床应用已经取得巨大成功,而且一部分患者单靠靶向治疗就可获得治愈的效果,并且这些生物制剂在临床应用上还具有毒副反应轻,患者耐受性良好等优点。靶向治疗是目前研发恶性肿瘤治疗手段的热点,但目前临床上还没有确切有效的治疗 NKTL 的靶向药物,一个重要的原因是没有明确的治疗靶点。本研究的发现有可能为 NKTL 提供了新的靶向治疗研发点。

综上,本研究结果显示在 NKTL 患者外周血 BAFF 异常高表达,并且有可能是疗效预测的因子;据此我们推测,在 NK/T 细胞淋巴瘤的发生发展过程中,BAFF 可能起到了关键作用,有可能是值得探索的 NKTL 治疗靶点;但本研究也存在样本量较小的局限性,也存在未进一步探讨 BAFF 在 NKTL 中具体作用机制的缺陷,下一步我们将继续扩大样本的研究及具体机制的探讨,努力提高中国 NK/T 细胞淋巴瘤的诊治水平。

作者声明:本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

学术不端:本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议:经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权:本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Sun J, Yang Q, Lu Z, et al. Distribution of lymphoid neoplasms in China; analysis of 4,638 cases according to the World Health Organization classification [J]. *Am J Clin Pathol*, 2012, 138(3): 429-434.
- [2] Oh D, Ahn YC, Kim SJ, et al. Concurrent chemoradiation therapy followed by consolidation chemotherapy for localized extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2015, 93(3): 677-683.
- [3] Ke QH, Zhou SQ, Du W, et al. Concurrent IMRT and weekly cisplatin followed by GDP chemotherapy in newly diagnosed, stage IE to IIE, nasal, extranodal NK/T-cell lymphoma [J]. *Blood Cancer J*, 2014, 4: e267.
- [4] Wang L, Wang ZH, Chen XQ, et al. First-line combination of gemcitabine, oxaliplatin, and L-asparaginase (GELOX) followed by involved-field radiation therapy for patients with stage IE/IIE extranodal natural killer/T-cell lymphoma [J]. *Cancer*, 2013, 119(2): 348-355.
- [5] Kim SJ, Kim K, Kim BS, et al. Phase II trial of concurrent radiation and weekly cisplatin followed by VIPD chemotherapy in newly diagnosed, stage IE to IIE, nasal, extranodal NK/T-cell lymphoma: Consortium for Improving Survival of Lymphoma study [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(35): 6027-6032.
- [6] Yamaguchi M, Tobinai K, Oguchi M, et al. Phase I/II study of concurrent chemoradiotherapy for localized nasal natural killer/T-cell lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0211 [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(33): 5594-5600.
- [7] Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, et al. BAFF, APRIL and human B cell disorders [J]. *Semin Immunol*, 2006, 18(5): 305-317.
- [8] Novak AJ, Grote DM, Stenson M, et al. Expression of BLyS and its receptors in B-cell non-Hodgkin lymphoma: correlation with disease activity and patient outcome [J]. *Blood*, 2004, 104(8): 2247-2253.
- [9] Ittah M, Miceli-Richard C, Lebon P, et al. Induction of B cell-activating factor by viral infection is a general phenomenon, but the types of viruses and mechanisms depend on cell type [J]. *J Innate Immun*, 2011, 3(2): 200-207.
- [10] Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells [J]. *Blood*, 2001, 97(1): 198-204.
- [11] Suzuki K, Setoyama Y, Yoshimoto K, et al. Effect of interleukin-2 on synthesis of B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF) in human peripheral blood mononuclear cells [J]. *Cytokine*, 2008, 44(1): 44-48.
- [12] 权小英,雷蕾,汪品嘉,等. 不同治疗模式治疗早期结外 NK/T 细胞淋巴瘤的疗效对比 [J]. *肿瘤预防与治疗*, 2019, 32(01): 43-53.
- [13] Cremasco V, Woodruff MC, Onder L, et al. B cell homeostasis and follicle confines are governed by fibroblastic reticular cells [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(10): 973-981.
- [14] Kalled SL. Impact of the BAFF/BR3 axis on B cell survival, germinal center maintenance and antibody production [J]. *Semin Immunol*, 2006, 18(5): 290-296.
- [15] Lwin T, Crespo LA, Wu A, et al. Lymphoma cell adhesion-induced expression of B cell-activating factor of the TNF family in bone marrow stromal cells protects non-Hodgkin's B lymphoma cells from apoptosis [J]. *Leukemia*, 2009, 23(1): 170-177.
- [16] Ittah M, Miceli-Richard C, Lebon P, et al. Induction of B cell-activating factor by viral infection is a general phenomenon, but the types of viruses and mechanisms depend on cell type [J]. *J Innate Immun*, 2011, 3(2): 200-207.
- [17] Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells [J]. *Blood*, 2001, 97(1): 198-204.
- [18] Vincent FB, Saulep-Easton D, Figgett WA, et al. The BAFF/APRIL system: Emerging functions beyond B cell biology and autoimmunity [J]. *Cytokine Growth F R*, 2013, 24(3): 203-215.