

本文引用:刘思哲,安万花,郭淑利,等. 锌指蛋白382在弥漫大B细胞淋巴瘤组织中的表达及临床意义[J]. 新乡医学院学报,2024,41(1):37-42. DOI:10.7683/xyxyxb.2024.01.007.

【临床研究】

锌指蛋白382在弥漫大B细胞淋巴瘤组织中的表达及临床意义

刘思哲^{1,2}, 安万花², 郭淑利², 王慧睿², 肖蓬莉², 王万里², 王双琳^{1,2}

(1. 新乡医学院,河南 新乡 453003;2. 洛阳市中心医院血液科,河南 洛阳 471009)

摘要: **目的** 探讨锌指蛋白382(ZNF382)在弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)组织中的表达及其与DLBCL患者临床病理特征和预后的关系。**方法** 选择2014年1月至2018年12月洛阳市中心医院血液科收治的57例DLBCL患者为研究对象。收集患者的活检病理标本及临床资料;另取洛阳市中心医院病理科保存的20例反应性增生淋巴组织作为对照组。采用En vision 二步法检测DLBCL组织和反应性增生淋巴组织中ZNF382表达,比较DLBCL组织和反应性增生淋巴组织中ZNF382表达差异。采用单因素分析ZNF382表达与DLBCL患者年龄、性别、肿瘤原发部位、Ann Arbor分期、国际预后指数(IPI)评分、Hans分型、B症状、骨髓浸润、巨大包块、美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)、血清乳酸脱氢酶(LDH)、Ki67、化学治疗方案等临床资料的关系;采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,应用log-rank检验和Cox比例风险回归模型进行单因素和多因素生存分析。**结果** DLBCL组织中ZNF382表达水平显著低于反应性增生淋巴组织($Z = -5.056, P < 0.01$)。ZNF382表达水平与DLBCL患者的IPI评分、Ann Arbor分期、Hans分型、B症状、骨髓浸润、巨大包块相关($P < 0.05$);ZNF382表达水平与DLBCL患者的性别、年龄、原发部位、ECOG评分、 β_2 -MG、血清LDH、Ki67、化学治疗方案是否联合利妥昔单抗无关($P > 0.05$)。57例DLBCL患者中治疗有效者36例(63.20%),无效者21例(36.80%);治疗有效患者肿瘤组织中ZNF382表达水平显著高于治疗无效患者($Z = -2.895, P < 0.05$)。ZNF382高表达组DLBCL患者2a无事件生存率显著高于ZNF382低表达组($\chi^2 = 17.955, P < 0.001$)。单因素生存分析结果显示,女性、淋巴结内原发、有B症状、有骨髓浸润、有巨大包块、IPI评分 ≥ 3 分、 β_2 -MG升高、Ki67 $>70\%$ 、非生发中心B细胞样淋巴瘤、Ann Arbor分期Ⅲ~Ⅳ期、ZNF382低表达是DLBCL患者预后不良的危险因素($P < 0.05$);多因素分析结果表明,淋巴结内原发、Ann Arbor分期Ⅲ~Ⅳ期、ZNF382低表达是DLBCL患者预后不良的独立影响因素($P < 0.05$)。**结论** ZNF382蛋白在DLBCL组织中呈低表达,与DLBCL的发生、发展及预后密切相关,可作为评估DLBCL预后的指标。

关键词: 弥漫大B细胞淋巴瘤;锌指蛋白382;临床病理特征;预后

中图分类号: R733.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2024)01-0037-06

Expression and clinical significance of zinc finger protein 382 in diffuse large B-cell lymphoma

LIU Sizhe^{1,2}, AN Wanhua², GUO Shuli², WANG Huirui², XIAO Pengli², WANG Wanli², WANG Shuanglin^{1,2}

(1. Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Department of Hematology, Luoyang Central Hospital, Luoyang 471009, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of zinc finger protein 382 (ZNF382) in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) tissue and its relationship with clinical pathological characteristics and prognosis of DLBCL patients.

Methods A total of 57 DLBCL patients admitted to the Department of Hematology, Luoyang Central Hospital from January 2014 to December 2018 were selected as the research subjects. The biopsy pathological specimens and clinical data of DLBCL patients were collected; another 20 patients of reactive proliferative lymph node tissue preserved in the Department of Pathology, Luoyang Central Hospital were taken as the control group. The expression of ZNF382 in DLBCL tissue and reactive proliferative lymph node tissue was detected by En vision two-step method. The difference of ZNF382 expression was compared between DLBCL tissue and reactive proliferative lymph node tissue. The correlations of ZNF382 expression with the clinical features such as age, gender, primary tumor site, Ann Arbor stage, international prognostic index (IPI) score, Hans typing, B-symptoms, bone marrow infiltration, giant masses, Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score, β_2 -microglobulin (β_2 -MG), serum lactate dehydrogenase (LDH), Ki67, and chemotherapy regimen of DLBCL patients were analyzed by univariate analysis; the

DOI:10.7683/xyxyxb.2024.01.007

收稿日期:2020-07-15

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(编号:2018020905,SB201903035);河南省中医药文化与管理研究项目(编号:TCM2021004);洛阳市科技计划医疗卫生项目(编号:1910014A)。

作者简介:刘思哲(1994-),女,河南洛阳人,硕士研究生在读,主要从事淋巴瘤的个体化治疗。

通信作者:王慧睿(1978-),女,河南洛阳人,博士,主任医师,研究方向:恶性血液病的诊疗;E-mail:wanghuirui7873@163.com。

survival curve was drawn by Kaplan Meier method, and the univariate and multivariate survival analysis were performed by log-rank tests and Cox proportional risk regression models. **Results** The expression level of ZNF382 in DLBCL tissue was significantly lower than that in reactive proliferative lymph node tissue ($Z = -5.056, P < 0.01$). The expression level of ZNF382 was correlated with IPI score, Ann Arbor stage, Hans typing, B-symptoms, bone marrow infiltration and giant masses of DLBCL patients ($P < 0.05$); the expression level of ZNF382 was not associated to gender, age, primary site, ECOG score, β_2 -MG, serum LDH, Ki67, and whether the chemotherapy regimen combined with rituximab or not of DLBCL patients ($P > 0.05$). Among the 57 DLBCL patients, the treatment was effective in 36 patients (63.20%) and ineffective in 21 patients (36.80%); the expression level of ZNF382 in tumor tissue of DLBCL patients with effective treatment was significantly higher than that of DLBCL patients with ineffective treatment ($Z = -2.895, P < 0.05$). The 2-year event free survival rate of DLBCL patients in the ZNF382 high expression group was significantly higher than that in the ZNF382 low expression group ($\chi^2 = 17.955, P < 0.001$). The results of univariate survival analysis showed that female, primary lymph nodes, B-symptoms, bone marrow infiltration, giant masses, IPI score ≥ 3 , elevated β_2 -MG, Ki67 $> 70\%$, non-germinal center B-cell-like lymphoma, Ann Arbor stage III – IV and low expression of ZNF382 were risk factors for poor prognosis in DLBCL patients ($P < 0.05$). The results of multivariate analysis showed that primary lymph nodes, Ann Arbor stage III – IV and low expression of ZNF382 were independent influencing factors for poor prognosis in DLBCL patients ($P < 0.05$). **Conclusion** ZNF382 protein is low expressed in the tumor tissues of DLBCL patients, which is closely related to the occurrence, development and prognosis of DLBCL; and it can be used as an indicator for evaluating the prognosis of DLBCL.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma; zinc finger protein 382; clinicopathological features; prognosis

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) 作为成人最常见的侵袭性非霍奇金淋巴瘤, 在临床表现、生物学特征及临床预后方面具有高度异质性^[1-2]。近年来, 随着联合化学治疗及生物靶向治疗的应用, 多数患者可获得完全缓解^[3]; 但仍有部分患者出现难治或复发, 而难治或复发是导致患者死亡的主要原因^[4]。目前, 临床常用国际预后指数 (international prognostic index, IPI)、经年龄调整的 IPI 来评估预后和复发风险^[5], 但该指标仅结合了多项临床因素, 而未考虑分子生物学方面的异质性, 因而其评估价值有限^[6]。因此, 深入研究 DLBCL 的发病机制, 探讨新的分子标志物对于 DLBCL 的精准治疗和预后评估具有重要的临床意义。锌指蛋白 382 (zinc finger protein 382, ZNF382) 是 KRAB 型锌指蛋白 (krüppel-associated box domain-zinc finger protein, KRAB-ZNF) 家族的成员之一, 定位于 19p13.12, 编码相对分子质量 64 000 的锌指蛋白。有研究报道, 多种肿瘤的发病过程中均存在 ZNF382 基因表达异常, 该基因可能是一个潜在的新型抑癌基因^[7]; 然而, 国内关于 ZNF382 在 DLBCL 中的表达情况及其与患者预后的关系报道较少。基于此, 本研究旨在观察 ZNF382 在 DLBCL 组织样本中的表达, 分析其与 DLBCL 临床病理特征及预后的关系, 探讨其对 DLBCL 预后评估的潜在价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2014 年 1 月至 2018 年 12 月洛阳市中心医院血液科收治的 57 例 DLBCL 患者为研究对象。

其中男 29 例, 女 28 例; 年龄 30 ~ 88 岁; 原发部位在淋巴结外 23 例 (40.40%), 伴 B 症状 (发热、盗汗、体质量减轻) 23 例 (40.40%), 伴骨髓浸润 (形态学下骨髓中原始 + 幼稚淋巴细胞 $\geq 5\%$ ^[8]) 19 例 (33.30%), 伴巨大包块 (瘤灶直径 ≥ 10 cm) 10 例 (17.50%), 乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 水平升高 (参考值 109 ~ 245 U · L⁻¹) 41 例 (71.90%), β_2 微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 -MG) 水平升高 (参考值 1 ~ 3 mg · L⁻¹) 35 例 (61.40%), 美国东部肿瘤协作组 (Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG) 体能状况评分 ≥ 2 分者 21 例 (36.80%), Ann Arbor 分期为 III ~ IV 期者 34 例 (59.60%), IPI 评分 ≥ 3 分者 32 例 (56.10%), Ki67 指数 $> 70\%$ 者 22 例 (38.60%); Hans 分型: 生发中心 B 细胞样淋巴瘤 (germinal center B-cell-like lymphoma, GCB) 20 例 (35.10%), 非生发中心 B 细胞样淋巴瘤 (non-germinal center B-cell-like lymphoma, non-GCB) 37 例 (64.90%)。本研究获得医院医学伦理委员会审核批准, 患者和 (或) 家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 治疗及预后评估

57 例 DLBCL 患者中 38 例行联合利妥昔单抗化学治疗, 其余 19 例患者化学治疗方案中不含利妥昔单抗, 化学治疗疗程 6 (1 ~ 12) 个; 3 例患者行自体造血干细胞移植, 1 例患者行嵌合抗原受体 T 细胞治疗。完成 2 ~ 4 个疗程诱导化学治疗后, 根据 2013 年版《中国弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊断与治疗指南》评估治疗效果^[9], 分为完全缓解 (complete response, CR)、部分缓解 (partial response, PR)、疾病

稳定 (stable disease, SD) 和疾病进展 (progressive disease, PD), CR 和 PR 为有效, SD 和 PD 为无效。依据患者治疗后的生存时间评估长期疗效。

1.3 En vision 二步法检测 DLBCL 组织和反应性增生淋巴组织中 ZNF382 表达

二步法免疫组织化学检测试剂盒购自武汉 Elabscience 公司。取 57 例 DLBCL 患者的肿瘤组织石蜡标本切片和洛阳市中心医院病理科保存的 20 例反应性增生淋巴组织石蜡标本切片, 将石蜡切片放入 65 ℃ 烤箱内 40 min, 经二甲苯脱蜡、乙醇水化、磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 漂洗后, 置于配制好的抗原修复液 (0.01 mol · L⁻¹ 柠檬酸钠缓冲溶液, pH 6.0) 中, 使用高压锅加热 25 min 后自然冷却, PBS 冲洗 3 次; 应用体积分数 3% 过氧化氢室温孵育 10 min 以阻断内源性过氧化物酶, PBS 充分冲洗 3 次; 滴加体积分数 5% 即用型正常山羊血清, 室温封闭 30 min, PBS 充分冲洗 3 次; 滴加兔抗人 ZNF382 多克隆抗体 (滴度为 1 : 80, 购自美国 Sigma-Aldrich 公司), 4 ℃ 孵育过夜, 次日复温 (37 ℃ 水浴锅复温 5 ~ 10 min) 后, 滴加聚合物辅助剂室温孵育 20 min, PBS 充分冲洗 3 次; 滴加羊抗兔 IgG 二抗, 室温孵育 60 min, PBS 充分冲洗 3 次; 然后用二氨基联苯胺显色液覆盖组织 1 min, 显微镜下观察显色后用蒸馏水清洗终止显色, 苏木精染色法复染细胞核, 盐酸乙醇分化、氨水返蓝, 最后使用中性树胶封片。常规 PBS 代替一抗作为阴性对照, 使用小鼠心脏组织切片作为阳性对照。每张免疫组织化学切片在显微镜下放大 400 倍后随机取 8 个视野, 应用 Image-pro plus 6.0 软件进行图像分析, 计算切片中各视野阳性点总面积及累积吸光度值, 以半定量法计算平均光密度 (optical density, OD) 值, 以 OD 值表示 ZNF382 表达水平, OD 值越大代表 ZNF382 表达水平越高^[10]。

1.4 随访

对 57 例 DLBCL 患者进行生存随访, 随访方式包括门诊随访和电话随访, 截至 2020 年 4 月 30 日。无事件生存 (event-free survival, EFS) 期为主要终点指标。EFS 为确诊到发生事件 (死亡、首次 PD、首次复发、首次更换二线治疗方案) 或末次随访之间的时间。若患者在末次随访时仍然存活且未发生过 PD、复发、更换方案等事件, 则计为删失值。

1.5 统计学处理

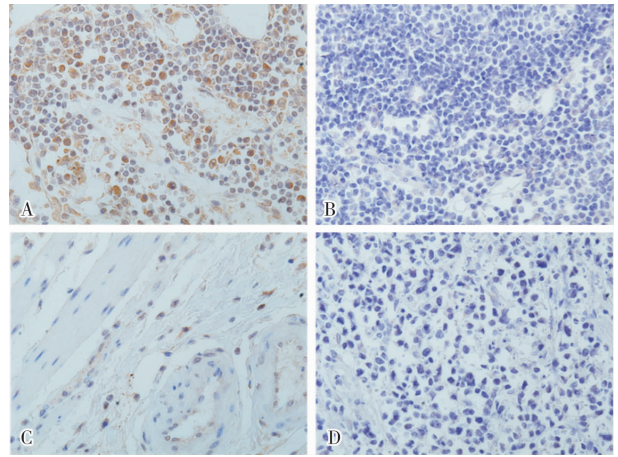
应用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。正态性检验采用 Shapiro-Wilk 方法, 不符合正态分布的连

续变量资料以中位数 (四分位数) 表示, 2 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验; 采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线; 对可能影响 EFS 的预后因素采用 log-rank 法行单因素分析, 并对其中 *P* < 0.05 的因素行 Cox 比例风险模型多因素分析; *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DLBCL 肿瘤组织与反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达水平比较

ZNF382 主要定位于细胞质中, 偶见细胞核中, 肿瘤旁间质无表达, 反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达显著多于 DLBCL 组织 (图 1)。DLBCL 组织中 ZNF382 表达水平为 0.021 1 (0.006 9, 0.060 9), 反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达水平为 0.123 6 (0.084 2, 0.188 9) (OD 值); DLBCL 组织中 ZNF382 表达水平显著低于反应性增生淋巴结组织, 差异有统计学意义 (*Z* = -5.056, *P* < 0.01)。



A: 反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达 (×200); B: DLBCL 组织中 ZNF382 蛋白表达 (×200); C: 反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达 (×400); D: DLBCL 组织中 ZNF382 蛋白表达 (×400)。

图 1 DLBCL 组织及反应性增生淋巴结组织中 ZNF382 表达 (免疫组织化学染色)
Fig. 1 Expression of ZNF382 in DLBCL tissue and reactive proliferative lymph node tissue (immunohistochemistry staining)

2.2 ZNF382 表达水平与 DLBCL 患者临床病理特征的关系

ZNF382 表达水平与 DLBCL 患者的 IPI 评分、Ann Arbor 分期、Hans 分型、B 症状、骨髓浸润、巨大包块相关 (*P* < 0.05); ZNF382 表达水平与 DLBCL 患者的性别、年龄、原发部位、ECOG 评分、β₂-MG、血清 LDH、Ki67、是否联合妥昔单抗化学治疗无关 (*P* > 0.05)。结果见表 1。

表 1 不同临床病理特征 DLBCL 患者肿瘤组织中 ZNF382 表达水平比较

Tab.1 Comparison of ZNF382 expression levels in tumor tissues of DLBCL patients with different clinical and pathological characteristics				
变量	n	ZNF382 水平(OD 值)	Z	P
性别				
男	29	0.020 1(0.006 0,0.055 6)	-1.078	0.281
女	28	0.031 2(0.006 8,0.069 0)		
年龄				
≤60 岁	22	0.028 1(0.020 6,0.065 0)	-1.336	0.182
>60 岁	35	0.017 8(0.004 8,0.058 0)		
原发部位				
淋巴结内	34	0.020 6(0.007 7,0.041 8)	-0.431	0.666
淋巴结外	23	0.028 6(0.004 2,0.072 4)		
B 症状				
有	23	0.008 3(0.004 2,0.037 2)	-2.521	0.012
无	34	0.032 3(0.014 9,0.073 4)		
骨髓浸润				
有	19	0.012 9(0.004 2,0.020 9)	-3.377	0.001
无	38	0.041 1(0.008 2,0.073 4)		
巨大包块				
有	10	0.006 1(0.002 4,0.028 0)	-2.130	0.033
无	47	0.024 9(0.007 9,0.062 8)		
ECOG 评分				
0~1 分	36	0.025 5(0.008 0,0.072 2)	-1.638	0.101
2~4 分	21	0.019 5(0.003 5,0.047 4)		
IPI 评分				
0~2 分	25	0.058 0(0.019 0,0.075 7)	-2.999	0.003
3~5 分	32	0.016 7(0.005 2,0.028 8)		
β ₂ -MG				
正常	22	0.042 1(0.013 6,0.071 8)	-1.582	0.114
升高	35	0.020 1(0.006 3,0.039 0)		
血清 LDH				
正常	16	0.029 4(0.010 7,0.070 0)	-1.03	0.303
升高	41	0.020 9(0.005 6,0.056 2)		
Ki67				
≤70%	35	0.024 9(0.007 1,0.061 0)	-0.844	0.399
>70%	22	0.016 5(0.004 7,0.056 7)		
Hans 分型				
non-GCB	37	0.017 9(0.005 6,0.050 9)	-2.324	0.020
GCB	20	0.034 1(0.021 0,0.074 3)		
Ann Arbor 分期				
I~II	23	0.071 6(0.043 2,0.080 1)	-5.018	0.000
III~IV	34	0.010 6(0.004 1,0.021 7)		
联合妥昔单抗化疗				
是	38	0.024 2(0.007 1,0.063 7)	-0.432	0.666
否	19	0.020 2(0.004 2,0.060 8)		

2.3 治疗有效与治疗无效 DLBCL 患者肿瘤组织中 ZNF382 表达水平比较

57 例患者中治疗有效者 36 例(63.20%),无效者 21 例(36.80%)。治疗有效患者和治疗无效患者肿瘤组织中 ZNF382 表达水平分别为 0.031 2(0.017 8,0.074 3)、0.007 1(0.003 5,0.031 4);治疗有效患者肿瘤组织中 ZNF382 表达水平显著高于治疗无效患者,差异有统计学意义($Z = -2.895, P < 0.01$)。

2.4 ZNF382 表达对 DLBCL 患者预后的影响

57 例患者中有 54 例完成生存随访,3 例失访,失访率为 5.26%,中位随访时间为 26(6~63)个月。在随访时间内,共观察到 31 例事件,包括 15 例 PD、4 例复发、9 例更换二线治疗方案以及 3 例因肿瘤及其治疗相关的死亡。以 OD 值的 P_{50} (第 50 位百分位数)为截断值,将 DLBCL 患者分为 ZNF382 高表达组(OD 值 $> 0.021 1$)和低表达组(OD 值 $\leq 0.021 1$)。生存分析结果显示,ZNF382 高表达组和 ZNF382 低表达组患者的 2 a EFS 率分别为 59.4% [95% 置信区间(confidence interval, CI) 38.0%~80.8%]、18.3% (95% CI: 2.4%~34.2%);ZNF382 高表达组患者 2 a EFS 率显著高于 ZNF382 低表达组,差异有统计学意义($\chi^2 = 17.955, P < 0.001$);结果见图 2。

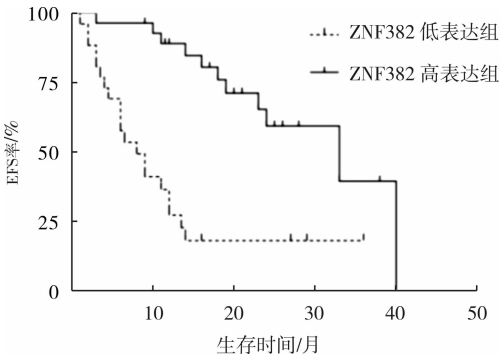


图 2 ZNF382 高表达组和低表达组 DLBCL 患者的无事件生存曲线

Fig.2 Event free survival curves of DLBCL patients in the ZNF382 high expression group and ZNF382 low expression group

2.5 DLBCL 患者预后影响因素的单因素、多因素分析

单因素分析结果显示,女性、淋巴结内原发、有 B 症状、有骨髓浸润、有巨大包块、IPI 评分 ≥ 3 分、 β_2 -MG 升高、Ki67 $> 70\%$ 、non-GCB 型、Ann Arbor 分期 III~IV 期、ZNF382 低表达是影响 DLBCL 患者预后的危险因素[风险比(hazard ratio, HR) = 2.134、2.184、2.664、3.301、4.112、2.425、2.383、2.199、5.231、0.291, $P < 0.05$];多因素分析结果显示,淋巴结内原发、Ann Arbor 分期 III~IV 期、ZNF382 低表达是 DLBCL 患者预后不良(疾病进展、死亡)的独立危险因素($HR = 6.248、7.253、0.208, P < 0.05$)。结果见表 2。

表 2 DLBCL 患者预后影响因素的单因素和多因素分析

Tab.2 Univariate and multivariate analysis on influencing factor of prognosis of DLBCL patients

变量	单因素分析		多因素分析	
	HR(95% CI)	P	HR(95% CI)	P
性别(女)	2.134(1.008~4.519)	0.048	0.488(0.176~1.359)	0.170
原发部位(淋巴结内)	2.184(1.005~4.748)	0.049	6.248(1.929~20.234)	0.002
B 症状(有)	2.664(1.251~5.671)	0.011	2.201(0.781~6.201)	0.136
骨髓浸润(有)	3.301(1.533~7.107)	0.002	0.301(0.082~1.103)	0.070
巨大包块(有)	4.112(1.817~9.305)	0.001	2.426(0.769~7.654)	0.130
IPI 评分(3~5)	2.425(1.121~5.243)	0.024	0.647(0.184~2.270)	0.496
β ₂ -MG(升高)	2.383(1.043~5.443)	0.039	2.664(0.726~9.777)	0.140
Ki67(>70%)	2.199(1.067~4.530)	0.033	1.524(0.475~4.895)	0.479
Hans 分型(non-GcB)	0.398(0.170~0.931)	0.034	0.574(0.215~1.531)	0.268
Ann Arbor 分期(Ⅲ~Ⅳ)	5.231(2.192~12.486)	0.000	7.253(1.091~48.208)	0.040
ZNF382 低表达(OD 值≤0.021 1)	0.291(0.140~0.605)	0.001	0.208(0.079~0.546)	0.049

3 讨论

DLBCL 的发生、发展是一个涉及多基因、多因素、多阶段的病理过程。在标准的 CHOP(环磷酰胺、阿霉素类、长春新碱和泼尼松)方案上加入利妥昔单抗后可使患者的总生存率提高 10%~15%^[11];多数 DLBCL 患者经 CHOP 联合利妥昔单抗治疗后预后良好,但仍有部分患者会出现病情进展或复发^[12-13]。有研究指出,肿瘤细胞高增殖性及侵袭性是影响患者治疗效果及导致复发的主要因素^[14]。因此,深入研究 DLBCL 的发病机制,探讨新的分子标志物对于 DLBCL 的精准治疗和预后评估具有重要的临床意义。KRAB-ZFP 最早于 1983 年在爪蟾卵母细胞的转录因子ⅢA 中被发现,是机体最常见的一类转录因子^[15];KRAB-ZFP 参与转录调控人类约 2% 的基因,有近 800 个成员^[16-18]。ZNF382 是 KRAB-ZFP 家族成员,由典型的 C₂H₂ 锌指结构域和 Krüppel 相关盒结构域组成^[19],通过 C₂H₂ 锌指结构域的定位和 KRAB 结构域的抑制,ZNF382 可作用于核因子 κB(nuclear factor kappa-B,NF-κB)和激活子蛋白-1 信号通路,从而对 NF-κB 信号通路上游因子信号转导和转录活化因子(signal transducer and activator of transcription,STAT)3、STAT5B、分化抑制因子 1 和 NF-κB 抑制蛋白 E 抗体等多种癌基因的表达起到负性调控作用^[20]。既往研究显示,ZNF382 参与细胞增殖、分化、侵袭、凋亡和肿瘤转化等诸多进程^[21-23],在胃癌、食管鳞状细胞癌、肝癌等多种实体瘤中表达下调或沉默^[23-25]。为此,本研究选择临床确诊为 DLBCL 患者的淋巴结病理组织样本,并以反应性增生的淋巴结组织作为对照,观察 ZNF382 在 DLBCL 中的表达及其与预后的关系。

本研究结果显示,DLBCL 组织中 ZNF382 表达水平显著低于反应性增生淋巴结组织,说明 ZNF382 在 DLBCL 患者的肿瘤组织中呈低表达,ZNF382 在 DLBCL 的发生发展中发挥了一定作用,这与该基因在其他肿瘤中的研究结果相一致^[23-26]。本研究结果显示,ZNF382 表达水平与 DLBCL 患者的 IPI 评分、Ann Arbor 分期、Hans 分型、B 症状、骨髓浸润、巨大包块相关,治疗有效患者肿瘤组织中 ZNF382 表达水平显著高于治疗无效患者;这进一步证实,ZNF382 作为一个新的抑癌基因在 DLBCL 的发生发展中发挥作用,ZNF382 表达水平影响 DLBCL 的治疗效果,其可作为预测临床疗效的标志物。同时,本研究结果显示,ZNF382 高表达组患者的 2 a EFS 率显著高于 ZNF382 低表达组,提示 ZNF382 表达水平影响 DLBCL 患者治疗后的生存时间,其可作为预测 DLBCL 患者治疗后生存时间的生物学指标。此外,本研究单因素分析显示,女性、淋巴结内原发、有 B 症状、有骨髓浸润、有巨大包块、IPI 评分≥3 分、β₂-MG 升高、Ki67>70%、non-GCB 型、Ann Arbor 分期Ⅲ~Ⅳ期、ZNF382 低表达为影响 DLBCL 患者预后的危险因素,说明 DLBCL 的发生发展是多种因素参与的复杂病理过程,ZNF382 表达水平影响 DLBCL 患者的预后。本研究多因素分析结果显示,淋巴结内原发、Ann Arbor 分期Ⅲ~Ⅳ期、ZNF382 低表达是影响 DLBCL 患者预后的独立危险因素,提示 ZNF382 可作为 DLBCL 患者预后监测的有效指标。

4 结论

ZNF382 在不同临床分期和预后的 DLBCL 患者肿瘤组织中表达存在差异,其表达量的高低可作为对 DLBCL 预后监测的有效指标。但本研究为单中

心、回顾性分析,临床资料收集过程可能存在信息偏倚;另外,本研究样本量较少,结果可能存在偏差;未来应运用更加先进的技术及方法,进行前瞻性、大样本多中心临床研究、细胞分子研究等,进一步明确 ZNF382 在 DLBCL 中的具体作用机制,以期为 DLBCL 患者的治疗提供新的理论依据和治疗靶点。

参考文献:

- [1] FAROOQ U, MAURER M J, THOMPSON C A, et al. Clinical heterogeneity of diffuse large B cell lymphoma following failure of front-line immunochemotherapy[J]. *Br J Haematol*, 2017, 179(1): 50-60.
- [2] TAKAHARA T, NAKAMURA S, TSUZUKI T, et al. The immunology of DLBCL[J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(3): 835.
- [3] CABANILLAS F, SHAH B. Advances in diagnosis and management of diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2017, 17(12): 783-796.
- [4] HONG J, KIM S J, CHANG M H, et al. Improved prognostic stratification using NCCN- and GELTAMO-international prognostic index in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(54): 92171-92182.
- [5] MARTELLI M, FERRERI A J, AGOSTINELLI C, et al. Diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2013, 87(2): 146-171.
- [6] BIGGAR K K, STOREY K B. Functional impact of microRNA regulation in models of extreme stress adaptation[J]. *J Mol Cell Biol*, 2018, 10(2): 93-101.
- [7] LI S, HE X, WANG Y, et al. Zinc-finger protein 382 antagonises CDC25A and ZEB1 signaling pathway in breast cancer[J]. *Genes Dis*, 2022, 10(2): 568-582.
- [8] GERLACH M M, JUSKEVICIUS D, VELA V, et al. Bone marrow infiltration of angioimmunoblastic T-cell lymphoma; identification and prognostic impact of histologic patterns and diagnostic application of ancillary phenotypic and molecular analyses[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2020, 144(5): 602-611.
- [9] 中华医学会血液学分会, 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会. 中国弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊断与治疗指南(2013 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(9): 816-819.
- CHINESE SOCIETY OF HEMATOLOGY, CHINESE MEDICAL ASSOCIATION/CHINESE SOCIETY OF LYMPHOMA, CHINESE ANTI-CANCER ASSOCIATION. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of diffuse large B cell lymphoma (2013)[J]. *Chin J Hematol*, 2013, 34(9): 816-819.
- [10] WANG X, WANG J, JIA Y, et al. Methylation decreases the Bmi1 tumor suppressor in ESCC and restoration by decitabine inhibits the epithelial mesenchymal transition[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19661-19673.
- [11] 贺白, 朱丹霞, 晁红颖. miR-181b 在弥漫大 B 细胞淋巴瘤中表达及功能研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2018, 26(4): 1111-1115.
- HE B, ZHU D X, CHAO H Y. Expression and function of miR-181b in diffuse large B cell lymphoma[J]. *J Exper Hematol*, 2018, 26(4): 1111-1115.
- [12] TILL B G. Maintenance therapy in diffuse large B cell lymphoma and mantle cell lymphoma[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2018, 19(9): 45.
- [13] 朱逸东, 甘欣锦. 扶正解毒方辨治弥漫大 B 细胞淋巴瘤免疫逃逸的临床研究[J]. 中医学报, 2022, 37(2): 408-412.
- ZHU Y D, GAN X J. Clinical study on Fuzheng Jiedu Recipe in treating diffuse large B-cell lymphoma immune escape[J]. *Acta Chin Med*, 2022, 37(2): 408-412.
- [14] WANG J, ZHANG Y, LIU X, et al. Annexin A5 inhibits diffuse large B-cell lymphoma cell invasion and chemoresistance through phosphatidylinositol 3-kinase signaling[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(6): 2557-2563.
- [15] SOBOCINSKA J, MOLENDAS S, MACHNIK M, et al. KRAB-ZFP transcriptional regulators acting as oncogenes and tumor suppressors; an overview[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 2212.
- [16] WANG W, CAI J, LIN Y, et al. Zinc fingers function cooperatively with KRAB domain for nuclear localization of KRAB-containing zinc finger proteins[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92155.
- [17] STOLL G A, PANDIOSKI N, DOUSE C H, et al. Structure and functional mapping of the KRAB-KAP1 repressor complex[J]. *EMBO J*, 2022, 41(24): e111179.
- [18] JEN J, WANG Y C. Zinc finger proteins in cancer progression[J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23(1): 53.
- [19] CHEN S, XIAO Z, ZHOU J, et al. ZNF382: a transcription inhibitor down-regulated in multiple tumors due to promoter methylation[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 500: 220-225.
- [20] DANG S, ZHOU J, CHEN Y, et al. Dynamic expression of ZNF382 and its tumor-suppressor role in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinogenesis[J]. *Oncogene*, 2019, 38(24): 4804-4819.
- [21] 王进龙, 王建, 田春艳. KRAB 型锌指蛋白的进化及在物种演化中的功能[J]. 遗传, 2016, 38(11): 971-979.
- WANG J L, WANG J, TIAN C Y. Evolution of KRAB-containing zinc finger proteins and their roles in species evolution[J]. *Hereditas (Beijing)*, 2016, 38(11): 971-978.
- [22] ZHANG C, XIANG T, LI S, et al. The novel 19q13 KRAB zinc-finger tumour suppressor ZNF382 is frequently methylated in oesophageal squamous cell carcinoma and antagonises Wnt/ β -catenin signalling[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(5): 573.
- [23] PEI L, HE X, LI S, et al. KRAB zinc-finger protein 382 regulates epithelial-mesenchymal transition and functions as a tumor suppressor, but is silenced by CpG methylation in gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(3): 961-972.
- [24] MA K, CAO B, GUO M. The detective, prognostic, and predictive value of DNA methylation in human esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Clin Epigenet*, 2016, 8(1): 43.
- [25] LIU Z, CHENG X, ZHANG L, et al. A panel of DNA methylated markers predicts metastasis of pN0M0 gastric carcinoma: a prospective cohort study[J]. *Br J Cancer*, 2019, 121(7): 529-536.

(本文编辑:周二强)