

胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF- κ B表达的关系

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩, 贵阳医学院病理学教研室 贵州省贵阳市 550004

裴媛媛, 住院医师, 主要从事肿瘤病理学的研究.

贵州省社会发展攻关项目基金资助项目, No. 黔科合SY[2010]3054号

作者贡献分布: 此课题由杨文秀、裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩共同设计完成; 研究过程由裴媛媛、孟青、陈琴及李品浩操作完成; 研究所用试剂由杨文秀提供; 数据分析由裴媛媛、陈琴及李品浩完成; 本论文写作由杨文秀与裴媛媛共同完成.

通讯作者: 杨文秀, 教授, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路9号, 贵阳医学院病理学教研室. ypq1964@163.com

收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2013-07-20

接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2013-09-18

Correlation between expression of CARMA1 and NF- κ B proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li

Yuan-Yuan Pei, Wen-Xiu Yang, Qing Meng, Qin Chen, Pin-Hao Li, Department of Pathology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: the Foundation of Science and Technology Department of Guizhou Province, No. [2010]3054

Correspondence to: Wen-Xiu Yang, Professor, Department of Pathology, Guiyang Medical College, 9 Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. ypq1964@163.com

Received: 2013-05-06 Revised: 2013-07-20

Accepted: 2013-08-13 Published online: 2013-09-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the expression of CARMA1 and nuclear factor κ B (NF- κ B) proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma.

METHODS: Fifty-four specimens of lymphomas, including 34 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and 20 cases of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma, and 21 specimens of gastrointestinal reactive lymphoid hyperplasia (GRLH) were selected for H&E staining and immunohistochemical staining. The mRNA and protein expression of

CARMA1 was detected by Real-time PCR and immunohistochemistry, respectively. Expression of NF- κ B proteins was assayed by immunohistochemistry.

RESULTS: The positive rates of CARMA1, NF- κ B/p65 and NF- κ B/p50 proteins were significantly higher in lymphomas than in GRLH (75.9% vs 47.6%, 48.2% vs 14.3%, 38.9% vs 9.5%; $P = 0.042, 0.007, 0.013$). The expression levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in DLBCL than in MALT lymphoma ($P = 0.019, 0.020$). There were significant differences in CARMA1 protein expression between lymphomas which were positive and negative for NF- κ B/p65 or NF- κ B/p50 (84.6% vs 67.9%, 71.4% vs 78.8%, $P = 0.030, 0.031$). CARMA1 mRNA expression was significantly higher in advanced cases than in early disease ($P = 0.011$). Expression of CARMA1 protein was significantly higher in cases which infiltrated through the wall than in those which did not (91.7% vs 66.7%, $P = 0.003$). The levels of CARMA1 mRNA and protein were significantly higher in cases with a high proliferation rate ($P = 0.035, 0.006$). Expression of NF- κ B/p65 and NF- κ B/p50 proteins was obviously increased in cases with a later TNM stage or a high proliferation rate ($P = 0.015, 0.05, 0.018, 0.001$). The type of lymphoma, stage, CARMA1 and NF- κ B/p65 protein expression were independent factors affecting the prognosis of lymphomas. Survival was poor in cases with strong expression of CARMA1 protein than in those without ($P = 0.02$).

CONCLUSION: Expression of CARMA1 was correlated with that of NF- κ B in gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL. CARMA1 expression may induce activation of NF- κ B and thereby participate in the pathogenesis and progression of gastrointestinal MALT lymphoma and DLBCL.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Lymphoma; CARMA1; Nuclear factor- κ B

■背景资料

弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)和黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)是常见的B细胞淋巴瘤类型. 惰性发展的MALT淋巴瘤有一部分可以转化为侵袭性的DLBCL. MALT淋巴瘤的发生和向大细胞淋巴瘤转化的过程及其机制目前还不清楚, 有研究表明NF- κ B信号通路的激活和MALT淋巴瘤的发生和发展机制密切相关.

■同行评议者

陈云昭, 副教授, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 新疆石河子大学医学院/一附院病理科

■研究前沿

含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员。研究报道CARMA1蛋白阳性表达率在不伴有低恶性MALT淋巴瘤成分的DLBCL病例中表达较高,推测CARMA1与淋巴瘤的发生和高恶性转化有关。CARMA1表达是否通过激活NF- κ B通路参与MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展,有待进一步研究。

Pei YY, Yang WX, Meng Q, Chen Q, Li PH. Correlation between expression of CARMA1 and NF- κ B proteins in common subtypes of gastrointestinal B cell lymphoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(26): 2641-2648 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641>

摘要

目的: 了解胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)表达与核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)表达的关系及其对淋巴瘤的影响。

方法: 筛选54例胃肠B细胞淋巴瘤,其中弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)34例、黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)20例及21例胃肠淋巴组织反应性增生病例。Real-time PCR检测CARMA1 mRNA,免疫组织化学染色检测肿瘤细胞的CARMA1、NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达。

结果: CARMA1、NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达率在淋巴瘤组较淋巴组织反应性增生组病例明显增高(淋巴瘤:淋巴组织反应性增生CARMA1为75.9% : 47.6%, NF- κ B/p65为48.2% : 14.3%, NF- κ B/p50为38.9% : 9.5%, $P = 0.042, 0.007, 0.013$)。与MALT淋巴瘤比较,DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达(DLBCL : MALT淋巴瘤CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 为3.073 : 1, CARMA1蛋白为88.2% : 55.0%), P 值为0.019和0.020。CARMA1蛋白表达与NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白核表达有正相关关系(NF- κ B/p65阴性组 : 阳性组为67.9% : 84.6%, NF- κ B/p50阴性组 : 阳性组为78.8% : 71.4%), P 值分别为0.030和0.031。CARMA1 mRNA在晚分期(Ⅲ和Ⅳ期)病例中表达水平高于早分期(Ⅰ和Ⅱ期)病例(晚分期 : 早分期CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct} = 4.416 : 1$), $P = 0.011$,在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(管壁内 : 管壁外66.7% : 91.7%), $P = 0.003$ 。肿瘤细胞高增殖活性病例中CARMA1 mRNA和蛋白表达都显著升高(高增殖活性 : 低增殖活性CARMA1 mRNA $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2.885 : 1$ CARMA1蛋白为88.6% : 52.6%), P 值分别为0.035, 0.006。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例(晚分期 : 早分

期NF- κ B/p65为68.2% : 34.4%, NF- κ B/p50为54.5% : 28.1%,高增殖活性 : 低增殖活性NF- κ B/p65为60.0% : 26.3%, NF- κ B/p50为51.4% : 15.8%), P 值分别为0.015和0.05, 0.018和0.001。生存分析:淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因子,4种因素的相对风险度接近。CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P 值为0.020, 0.045)。

结论: 胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL中NF- κ B持续活化可能与CARMA1蛋白高表达相关,推测CARMA1高表达通过活化NF- κ B参与相关淋巴瘤的发生发展过程。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 淋巴瘤; CARMA1; 核因子 κ B

核心提示: 本研究发现胃肠道黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue)淋巴瘤和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma)中核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关,但随着CARMA1蛋白表达增加而增强。且发现CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50的表达对上述淋巴瘤的临床病理特征有一定的影响。

裴媛媛, 杨文秀, 孟青, 陈琴, 李品浩. 胃肠道常见的B细胞淋巴瘤中CARMA1与NF- κ B表达的关系. *世界华人消化杂志* 2013; 21(26): 2641-2648 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/2641.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i26.2641>

0 引言

目前研究认为肿瘤细胞生存的关键取决于核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)的持续活化。研究报道淋巴瘤中也存在NF- κ B的持续活化^[1,2]。黏膜相关淋巴组织结外边缘区B细胞淋巴瘤(extranodal marginal zone B cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue, MALT淋巴瘤)和弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)是常见的胃肠道B细胞淋巴瘤类型。含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1(caspase recruitment domain-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1, CARMA1)是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员。研究报道^[3-10]CARMA1作为衔接蛋白,

与B细胞淋巴瘤10(B cell lymphoma 10, BCL10)及黏膜相关淋巴瘤易位基因1(mucosa-associated lymphoma translocation gene 1, MALT1)形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 可活化NF- κ B. 本研究就CARMA1表达与NF- κ B蛋白的关系进行分析, 进一步研究MALT淋巴瘤和DLBCL的发生发展的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 收集贵阳医学院附属医院病理科1999-01/2011-03诊断的胃肠道B细胞非霍奇金淋巴瘤. 通过HE切片复习及肿瘤细胞免疫表型检查, 按照2008年WHO淋巴造血组织肿瘤分类^[1]筛选出54例具有完整病理和临床资料的病例(包括34例DLBCL和20例MALT淋巴瘤), 其中I期17例, II期15例, III期6例, IV期16例. 同时收集21例胃肠淋巴瘤组织反应性增生病例做对照研究. 淋巴瘤的分期参照修改的Ann arbor分期. 多克隆一抗CARMA1购自美国BETHYL; NF- κ B/p65、NF- κ B/p50购自Santa Cruz; 免疫组织化学检测试剂盒购自中杉金桥公司; 二乙基焦磷酸胺(DEPC)、蛋白酶K购自Sigma公司; TRIzol、dNTP、RNA酶抑制剂购自TIANGEN公司; AMV逆转录酶、SYBR Premix Ex Taq购自Takara; 三羟甲基氨基甲烷(Tris碱)、十二烷基硫酸钠(SDS)及乙二胺四乙酸二钠(EDTA)购自上海申博化工有限公司.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色: 采用SP三步法, 据抗体要求进行枸橼酸盐或高pH的EDTA缓冲液进行抗原热修复. 一抗包括: NF- κ B/p65(1:100)、多克隆抗体CARMA1(1:400)、NF- κ B/p50(1:100). 以pH7.4的PBS代替一抗作空白对照, 并以胃肠淋巴瘤组织反应性增生病例做CARMA1、NF- κ B/p65及NF- κ B/p50标记的实验对照. 结果判断: CARMA1、NF- κ B/p65及NF- κ B/p50阳性信号定位于细胞浆和/或细胞核. CARMA1蛋白每张切片观察10个400倍视野, 计数棕黄色细胞数占细胞总数的均值, 低于20%记为阴性, 20%-49%的肿瘤细胞阳性记为阳性, 50%及以上的肿瘤细胞阳性计为强阳性. NF- κ B蛋白阳性信号定位于细胞核是其活化状态的标志, 因此以出现细胞核内表达统计分析NF- κ B的表达情况.

1.2.2 CARMA1 mRNA的检测: (1)石蜡组织中RNA提取: 据参考文献[12]并改进, 实验用

品均经DEPC水或180℃高温烘烤灭活RNA酶. 切5 μ m厚石蜡切片, 据组织大小选取石蜡组织切片10-15片, 二甲苯脱蜡、无水乙醇清洗并干燥; 加入裂解缓冲液及蛋白酶K(终浓度为400-500 μ g/mL), 震荡并在55℃过夜消化组织; 加入TRIzol, 室温孵育后加入氯仿分离RNA; 吸取水相在-20℃以异丙醇沉淀RNA, 乙醇洗涤后以0.1%DEPC消毒水溶解RNA, 测定浓度后-85℃冻存备用; (2)Real-time PCR检测: RT-PCR: 取总RNA 2 μ g用AMV逆转录酶转录合成cDNA, 逆转录体系及条件按说明书进行. Real-time PCR扩增体系: 照SYBR Premix Ex Taq试剂盒进行. 根据CARMA1 mRNA基因序列设计引物, 引物序列如下: 上游引物为5'-CCATCACCAACTCCTTCAC-3'; 下游引物5'-TCCTCCTTGTAGCGTCTG-3', 产物长短112 bp. 以GAPDH为内对照, 引物序列如下: 上游引物为5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGG-3', 下游引物为5'-CCTGGAAGATGGTGATGGA-3', 产物长短225 bp. 扩增条件: 50℃ 2 min, 95℃ 10 min预变性, 95℃ 15 s变性, 60℃ 1 min, 循环40次. Stepone实时荧光定量PCR仪采集待测CARMA1基因及内参照GAPDH扩增荧光信号. 分析其 Δ Ct、 $\Delta\Delta$ Ct值、相对定量(relative quantity, RQ)值, RQ值 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

1.2.3 随访: 采用电话随访和信访, 以患者初次住院为随访开始时间, 以2011-11为随访结束时间.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件进行分析. 等级资料采用秩和检验, 计量资料采用独立样本t检验, 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), 影响生存的多种因子分析采用Cox回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CARMA1、NF- κ B表达情况及其相互关系 42例胃肠淋巴瘤全部检测出GAPDH mRNA表达, 提示提取的RNA可以满足检测CARMA1 mRNA的需要. CARMA1 mRNA与蛋白表达一致($2^{-\Delta\Delta Ct} = 2.739$, $P = 0.046$), 且在DLBCL中CARMA1 mRNA表达显著高于MALT淋巴瘤($P = 0.019$), CARMA1蛋白表达(图1): 淋巴瘤组75.9%(强阳性12/54, 阳性29/54), 胃肠淋巴瘤组织反应性增生组47.6%(强阳性3/21, 阳性7/21), 两组病例之间CARMA1蛋白表达具有统计学差异($P = 0.042$); NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白胞核

■ 相关报道

NF- κ B异常持续活化是DLBCL, 尤其是ABC型DLBCL的重要特征之一, 这一特点越来越受到广泛的关注. 有研究发现: DLBCL中存在CARMA1基因的突变和表达异常. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜, 并导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10结合, 并自身寡聚化, 形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 信号最终汇集于I κ BK复合物, 降解I κ B从而调节NF- κ B. CARMA1是淋巴细胞特异性的膜相关鸟苷酸激酶家族成员, 抑制CARMA1可能抑制肿瘤中NF- κ B通路的异常活化. 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标.

■创新盘点

本研究发现胃肠道MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1, NF- κ B/p65和NF- κ B/p50蛋白表达率显著高于淋巴组织反应性增生组病例。CARMA1 mRNA和蛋白表达与淋巴瘤类型、临床分期、浸润深度、肿瘤细胞增殖活性相关。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例、肿瘤细胞高增殖活性病例中表达水平明显高于相应的比较组病例。NF- κ B蛋白表达与CARMA1 mRNA表达无明显相关,但随着CARMA1蛋白表达增加而增强。生存分析发现淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是淋巴瘤独立的预后影响因素。CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤和DLBCL病例的生存状况较阴性和一般阳性表达的相应病例差。

表 1 NF- κ B蛋白表达与CARMA1表达的关系

	<i>n</i>	NF- κ B/p65蛋白		<i>P</i> 值	NF- κ B/p50		<i>P</i> 值
		阴性	阳性		阴性	阳性	
CARMA1蛋白	54			0.030			0.031
阴性		9	4		7	6	
阳性		16	13		25	4	
强阳性		3	9		1	11	
CARMA1 mRNA	42			0.694			0.862
Δ Ct mean \pm SD		3.574 \pm 1.850	3.09 \pm 1.724		3.519 \pm 1.956	3.206 \pm 1.620	
$2^{-\Delta\Delta Ct}$		1	1.393		1	1.243	

NF- κ B: 核因子 κ B。

表 2 CARMA1及NF- κ B表达与胃肠道MALT淋巴瘤及DLBCL病理特征关系

参数	CARMA1蛋白			CARMA1 mRNA		NF- κ B/p65		NF- κ B/p50	
	<i>n</i> = 54			<i>n</i> = 42		<i>n</i> = 54		<i>n</i> = 54	
	阴性	阳性	强阳性	Δ Ct(mean \pm SD)	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	核阴	核阳	核阴	核阳
淋巴瘤类型									
MALToma	9	8	3	4.105 \pm 1.745	1	13	7	13	7
DLBCL	4	21	9	2.485 \pm 1.333	3.073	15	19	20	14
临床分期									
I和II	7	21	4	4.400 \pm 1.650	1	21	11	23	9
III和IV	6	8	8	2.291 \pm 1.118	4.416	7	15	10	12
Ki-67									
$\leq 40\%$	9	8	2	4.096 \pm 1.766	1	14	5	16	3
$> 40\%$	4	21	10	2.568 \pm 1.385	2.885	14	21	17	18
淋巴结累及(<i>n</i> = 42)									
无	3	7	4	3.049 \pm 1.763	1	9	5	11	3
有	8	14	6	3.566 \pm 1.715	0.700	11	17	12	16
浸润深度(<i>n</i> = 42)									
管壁内	10	17	3	3.338 \pm 1.703	1	17	13	19	11
管壁外	1	4	7	3.405 \pm 1.906	0.955	3	9	4	8

NF- κ B: 核因子 κ B; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤。

或核浆阳性率依次为: 淋巴瘤组48.2%(26/54)、38.9%(21/54), 胃肠淋巴组织反应性增生组14.3%(3/21)、9.5%(2/21)。两种蛋白表达在两组病例之间均有统计学差异(*P*值分别为0.007, 0.013, 表1)。

2.2 CARMA1和NF- κ B表达对淋巴瘤临床病理特征的影响 CARMA1和NF- κ B表达对淋巴瘤临床病理特征的影响如表2所示。

2.3 随访 54例淋巴瘤病例中29例获得随访(包括11例MALT淋巴瘤和18例DLBCL), 随访率53.7%。治疗方案上6例单纯手术切除, 2例用CHOP方案化疗, 17例手术后辅以其他治疗(12例行CHOP方案, 4例行R-CHOP方案, 1例行其他治疗), 2例用其他治疗方案, 2例放弃治疗。Cox多因素回归分

析结果如表3所示, 根据淋巴瘤中CARMA1表达情况绘制生存率曲线如图2、3所示。

3 讨论

NF- κ B是一类能与多种基因启动子或增强子的 κ B位点发生特异性结合并促进其转录的信号分子。迄今已发现有5种NF- κ B家族成员^[13-15], 他们以同源二聚体或异源二聚体的蛋白质结构存在于大多数细胞中。最常见的NF- κ B二聚体由p65和p50组成。在静息状态下, NF- κ B二聚体与NF- κ B的抑制蛋白(inhibitory κ B, I κ B)结合, 以无活性的三聚体形式存在于细胞浆中。当机体面临生存危机时, 在各种因素的作用下, NF- κ B进入核内开始转录, 从而调控多种细胞因子、黏附

表 3 对淋巴瘤生存的影响多种因素分析

	淋巴瘤类型	分期	CARMA1 mRNA	CARMA1蛋白	NF- κ B/p65	NF- κ B/p50	淋巴结累及	Ki-67
RR	7.801	5.601	0.648	6.135	5.889	0.515	0.127	0.550
P值	0.017	0.043	0.208	0.035	0.034	0.424	2.324	0.358

NF- κ B: 核因子 κ B; CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

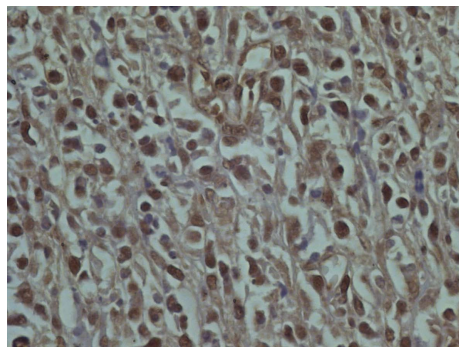


图 1 DLBCL中的CARMA1蛋白表达(SP, $\times 400$). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤.

分子、转录因子等编码基因的转录, 不仅能促进细胞增殖, 他还可以上调抗凋亡基因*BCL2*及凋亡蛋白抑制因子家族成员survivin的表达, 使肿瘤细胞逃避凋亡, 成为肿瘤细胞生存的关键因素^[16-20]. Davis等^[21]发现, 活化的B细胞来源样DLBCL细胞株中存在NF- κ B的异常持续活化, I κ B激酶(I κ B kinase, I κ K)活性增强, I κ B降解加速, 而在GCB样DLBCL中未能见到这种情况. 并有研究报道NF- κ B蛋白在ABC型DLBCL、伴有EBV感染DLBCL病例高表达, 体外抑制NF- κ B, 其靶基因*BCL2*、*survivin*表达下降而使细胞凋亡^[22,23]. 2008年新的WHO分类也提到NF- κ B在ABC样DLBCL中有异常活化, 而GCB亚型中未发现该异常^[11].

CARMA1能有效地整合来自细胞膜的信号系统, 对于多种刺激引起的NF- κ B活化有调节作用^[24-26]. 有研究报道: CARMA1在B细胞受体和T细胞受体刺激下引发I κ K复合物信号, 使NF- κ B信号通路活化, 从而调控淋巴细胞的增生并维持淋巴细胞生存^[27,28]. 当邻近抗原受体信号使CARMA1募集于细胞膜时, 导致其蛋白激酶C调节区域的磷酸化, 使其能够与BCL10和MALT1结合, 并自身寡聚化形成CARMA1/BCL10/MALT1复合物(CBM complex), 降解I κ B从而调节NF- κ B的活化^[29]. 对T细胞分化的研究表明, CARMA1位于BCL10的上游, 在T细胞受体介导

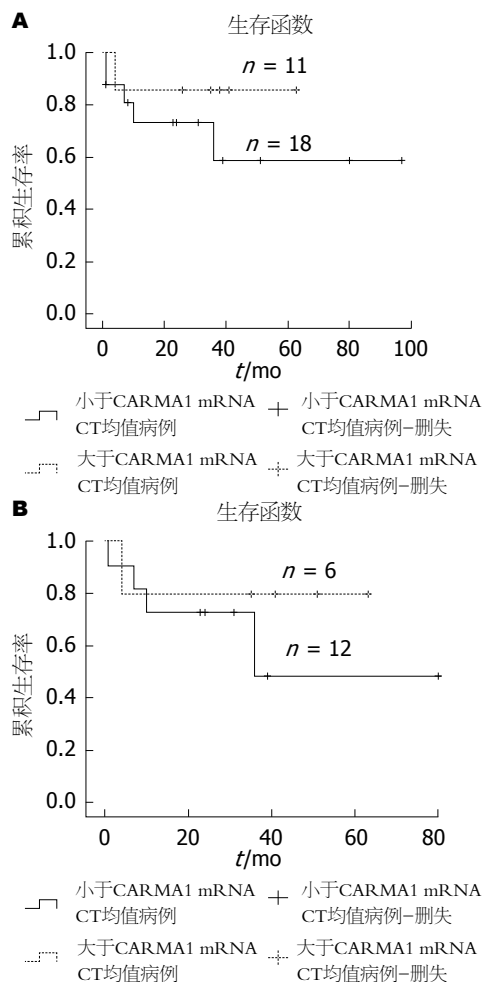


图 2 根据CARMA1 mRNA表达均值分组的生存曲线比较. A: 获访的29例病例生存分析($P = 0.351$); B: 获访的18例DLBCL生存分析($P = 0.482$). CARMA1: 含caspase募集结构域的膜相关鸟苷酸激酶蛋白1.

的NF- κ B活化过程中是必须的. CARMA1仅限于淋巴组织, 抑制CARMA1信号通路, 理论上产生效应仅限于淋巴系统, 因此对于ABC-DLBCL, CARMA1成为有吸引力的治疗靶标^[30-32].

本研究通过Real-time PCR检测淋巴瘤组织中CARMA1 mRNA的表达水平, 用免疫组织化学染色检测CARMA1蛋白和NF- κ B蛋白中的两个主要亚型NF- κ B/p65、NF- κ B/p50. 结果发现在淋巴瘤组和淋巴组织反应性增生组病例之间, CARMA1、NF- κ B/p65、NF- κ B/p50

应用要点

CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程, 使NF- κ B的异常持续活化可能是其作用的重要机制. CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关, 可能是其预后估计的相关因子, 可能成为相关淋巴瘤治疗的新靶点.

■同行评价

本文整体方法得当, 结果可靠, 很好的达到了预期的研究目的。

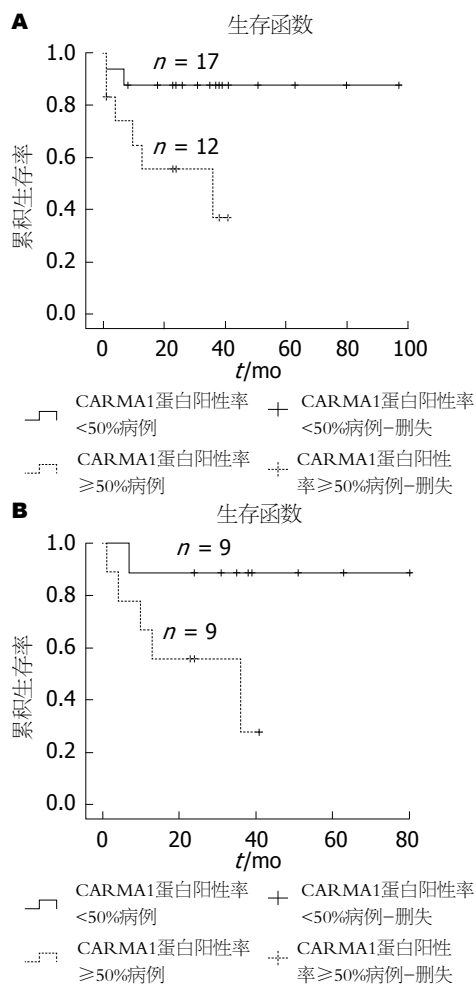


图3 根据CARMA1蛋白表达分组的生存曲线比较。A: 获访的29例病例生存分析($P = 0.020$); B: 获访的18例DLBCL生存分析($P = 0.045$)。

蛋白表达水平有明显的差异, 淋巴瘤组均明显高于淋巴组织反应性增生组病例。NF- κ B分子的定位与NF- κ B在细胞内的状态有关, 即在细胞浆内的无活性状态和细胞核内的活化状态, 故我们将NF- κ B的细胞核表达作为NF- κ B活化状态的标志。我们发现在淋巴瘤病例中虽然CARMA1 mRNA表达水平与NF- κ B/p65、NF- κ B/p50表达无明显相关, 但CARMA1蛋白表达却与这两种NF- κ B亚型均有明显的正相关关系。静息状态下, NF- κ B主要定位于细胞浆, 活化后NF- κ B从细胞浆迅速转运至细胞核, 并在短暂活化后被降解。MALT淋巴瘤和DLBCL中CARMA1的表达致使肿瘤细胞中NF- κ B的异常持续活化, 加上其负调节因子A20的失活等因素, 引起NF- κ B表达水平的增加。这可能是CARMA1参与胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL发生和演进的重要机制。同时肿瘤中CARMA1基因可能存在转录后的表达调控。与MALT淋巴

瘤比较, DLBCL病例中CARMA1 mRNA和蛋白高表达, 差异具有统计学意义。提示上述蛋白分子在淋巴瘤中的表达可能与其发生和发展过程有关。然而, 两种淋巴瘤中NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白表达未见统计学差异, 这提示CARMA1可能还通过其他的机制参与了MALT淋巴瘤向DLBCL转化的过程, 有待于进一步的研究。

本组病例的临床病理资料和随访资料分析发现: CARMA1 mRNA和蛋白表达水平在DLBCL组和高增殖活性组明显升高, 与相应比较组之间有统计学差异。CARMA1 mRNA在晚分期(III和IV期)病例中表达水平高于早分期(I和II期)病例, 在消化管壁内浸润病例中CARMA1蛋白表达低于浸润至管壁外的病例(均 $P < 0.05$)。NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白在晚分期病例, 肿瘤细胞高增殖活性组病例中表达水平明显高于相应的比较组病例, 差异均有统计学意义。Cox回归分析发现: 淋巴瘤类型、临床分期、CARMA1蛋白及NF- κ B/p65蛋白表达都是胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL独立的预后影响因素, 4种因素的相对风险度接近。生存曲线比较, CARMA1蛋白强阳性表达的所有淋巴瘤病例及DLBCL病例的生存状况明显较阴性和一般阳性表达(<50%)的相应病例差(P 值分别为0.020和0.045)。分析结果表明CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白分子表达对胃肠MALT和DLBCL的临床病理特征和预后可能有一定影响。

总之, CARMA1表达可能参与了胃肠MALT淋巴瘤和DLBCL的发生和发展过程, 使NF- κ B的异常持续活化可能是其作用的重要机制。CARMA1和NF- κ B/p65、NF- κ B/p50蛋白的表达与两种淋巴瘤的临床病理特征和预后有关, 可能是其预后估计的相关因子。

4 参考文献

- Mathas S, Jöhrens K, Joos S, Lietz A, Hummel F, Janz M, Jundt F, Anagnostopoulos I, Bommer K, Lichter P, Stein H, Scheidereit C, Dörken B. Elevated NF-kappaB p50 complex formation and Bcl-3 expression in classical Hodgkin, anaplastic large-cell, and other peripheral T-cell lymphomas. *Blood* 2005; 106: 4287-4293 [PMID: 16123212 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3620]
- Lam LT, Davis RE, Pierce J, Hepperle M, Xu Y, Hottelet M, Nong Y, Wen D, Adams J, Dang L, Staudt LM. Small molecule inhibitors of IkappaB kinase are selectively toxic for subgroups of diffuse large B-cell lymphoma defined by gene expression profiling. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 28-40 [PMID: 15671525]

- 3 Gaide O, Martinon F, Micheau O, Bonnet D, Thome M, Tschopp J. Carma1, a CARD-containing binding partner of Bcl10, induces Bcl10 phosphorylation and NF-kappaB activation. *FEBS Lett* 2001; 496: 121-127 [PMID: 11356195 DOI: 10.1016/S0014-5793(01)02414-0]
- 4 Thome M, Charton JE, Pelzer C, Hailfinger S. Antigen receptor signaling to NF-kappaB via CARMA1, BCL10, and MALT1. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2: a003004 [PMID: 20685844 DOI: 10.1101/cshperspect.a003004]
- 5 Blonska M, Lin X. CARMA1-mediated NF-kappaB and JNK activation in lymphocytes. *Immunol Rev* 2009; 228: 199-211 [PMID: 19290929 DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00749.x]
- 6 Egawa T, Albrecht B, Favier B, Sunshine MJ, Mirchandani K, O'Brien W, Thome M, Littman DR. Requirement for CARMA1 in antigen receptor-induced NF-kappa B activation and lymphocyte proliferation. *Curr Biol* 2003; 13: 1252-1258 [PMID: 12867038 DOI: 10.1016/S0960-9822(03)00491-3]
- 7 Lucas PC, McAllister-Lucas LM, Nunez G. NF-kappaB signaling in lymphocytes: a new cast of characters. *J Cell Sci* 2004; 117: 31-39 [PMID: 14657271 DOI: 10.1242/jcs.00904]
- 8 Compagno M, Lim WK, Grunn A, Nandula SV, Brahmachary M, Shen Q, Bertoni F, Ponzoni M, Scandurra M, Califano A, Bhagat G, Chadburn A, Dalla-Favera R, Pasqualucci L. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF-kappaB in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009; 459: 717-721 [PMID: 19412164 DOI: 10.1038/nature07968]
- 9 Lamason RL, McCully RR, Lew SM, Pomerantz JL. Oncogenic CARD11 mutations induce hyperactive signaling by disrupting autoinhibition by the PKC-responsive inhibitory domain. *Biochemistry* 2010; 49: 8240-8250 [PMID: 20799731 DOI: 10.1021/bi101052d]
- 10 Bu R, Bavi P, Abubaker J, Jehan Z, Al-Haqawi W, Ajarim D, Al-Dayel F, Uddin S, Al-Kuraya KS. Role of nuclear factor-kB regulators TNFAIP3 and CARD11 in Middle Eastern diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2012; 53: 1971-1977 [PMID: 22397314 DOI: 10.3109/10428194.2012.668286]
- 11 Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Hea S. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon: IARC Press; 2008: 214-217
- 12 杨文秀, 李甘地, 周桥, 刘卫平, 张杰, 何小金. 肺原发性MALT型淋巴瘤API2-MALT1融合基因的检测及意义. *中华病理学杂志* 2004; 33: 233-237
- 13 Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132: 344-362 [PMID: 18267068 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.020]
- 14 Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 225-260 [PMID: 9597130 DOI: 10.1146/annurev.immunol.16.1.225]
- 15 Ruland J, Mak TW. Transducing signals from antigen receptors to nuclear factor kappaB. *Immunol Rev* 2003; 193: 93-100 [PMID: 12752674 DOI: 10.1034/j.1600-065X.2003.00049.x]
- 16 Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991 DOI: 10.1038/nrc780]
- 17 Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature* 2006; 441: 431-436 [PMID: 16724054 DOI: 10.1038/nature04870]
- 18 Inoue J, Gohda J, Akiyama T, Semba K. NF-kappaB activation in development and progression of cancer. *Cancer Sci* 2007; 98: 268-274 [PMID: 17270016 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00389.x]
- 19 Rayet B, G  linas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6938-6947 [PMID: 10602468]
- 20 Chiao PJ, Na R, Niu J, Sclabas GM, Dong Q, Curley SA. Role of Rel/NF-kappaB transcription factors in apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer* 2002; 95: 1696-1705 [PMID: 12365017 DOI: 10.1002/cncr.10829]
- 21 Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, Staudt LM. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; 194: 1861-1874 [PMID: 11748286 DOI: 10.1084/jem.194.12.1861]
- 22 Bavi P, Uddin S, Bu R, Ahmed M, Abubaker J, Balde V, Qadri Z, Ajarim D, Al-Dayel F, Hussain AR, Al-Kuraya KS. The biological and clinical impact of inhibition of NF-kB-initiated apoptosis in diffuse large B cell lymphoma (DLBCL). *J Pathol* 2011; 224: 355-366 [PMID: 21506127 DOI: 10.1002/path.2864]
- 23 陈玉梅, 杨文秀, 孟青, 钟愉. 弥漫大B细胞淋巴瘤CARMA1基因与MUM1表达的关系及其意义. *中华血液学杂志* 2011; 32: 236-240
- 24 Ruefli-Brasse AA, French DM, Dixit VM. Regulation of NF-kappaB-dependent lymphocyte activation and development by paracaspase. *Science* 2003; 302: 1581-1584 [PMID: 14576442 DOI: 10.1126/science.1090769]
- 25 Wang D, You Y, Case SM, McAllister-Lucas LM, Wang L, DiStefano PS, Nuñez G, Bertin J, Lin X. A requirement for CARMA1 in TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 830-835 [PMID: 12154356 DOI: 10.1038/ni824]
- 26 Gaide O, Favier B, Legler DF, Bonnet D, Brissoni B, Valitutti S, Bron C, Tschopp J, Thome M. CARMA1 is a critical lipid raft-associated regulator of TCR-induced NF-kappa B activation. *Nat Immunol* 2002; 3: 836-843 [PMID: 12154360 DOI: 10.1038/ni830]
- 27 Schmitz ML, Bacher S, Dienz O. NF-kappaB activation pathways induced by T cell costimulation. *FASEB J* 2003; 17: 2187-2193 [PMID: 14656980 DOI: 10.1096/fj.02-1100rev]
- 28 Streubel B, Lamprecht A, Dierlamm J, Cerroni L, Stolte M, Ott G, Raderer M, Chott A. T(14; 18)(q32; q21) involving IGH and MALT1 is a frequent chromosomal aberration in MALT lymphoma. *Blood* 2003; 101: 2335-2339 [PMID: 12406890 DOI: 10.1182/blood-2002-09-2963]
- 29 Du MQ. MALT lymphoma: many roads lead to nuclear factor-kb activation. *Histopathology* 2011; 58: 26-38 [PMID: 21261681 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2010.03699.x]
- 30 Lenz G, Davis RE, Ngo VN, Lam L, George TC, Wright GW, Dave SS, Zhao H, Xu W, Rosenwald A, Ott G, Muller-Hermelink HK, Gascoyne RD, Connors JM, Rimsza LM, Campo E, Jaffe ES, Delabie J, Smeland EB, Fisher RI, Chan WC, Staudt LM. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma. *Science* 2008; 319: 1676-1679

- [PMID: 18323416 DOI: 10.1126/science.1153629]
- 31 McCully RR, Pomerantz JL. The protein kinase C-responsive inhibitory domain of CARD11 functions in NF-kappaB activation to regulate the association of multiple signaling cofactors that differentially depend on Bcl10 and MALT1 for association. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 5668-5686 [PMID: 18625728 DOI: 10.1128/MCB.00418-08]
- 32 Thome M. CARMA1, BCL-10 and MALT1 in lymphocyte development and activation. *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 348-359 [PMID: 15122200 DOI: 10.1038/nri1352]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

• 消息 •

《世界华人消化杂志》出版流程

本刊讯 《世界华人消化杂志》[ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569]是一份同行评议性和开放获取(open access, OA)的旬刊, 每月8、18、28号按时出版. 具体出版流程介绍如下:

第一步 作者提交稿件: 作者在线提交稿件(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 提交稿件中出现问题可以发送E-mail至submission@wjgnet.com咨询, 编务将在1个工作日内回复.

第二步 审稿: 送审编辑对所有来稿进行课题查新, 并进行学术不端检测, 对不能通过预审的稿件直接退稿, 通过预审的稿件送交同行评议专家进行评议. 编辑部主任每周一组织定稿会, 评估审稿人意见, 对评审意见较高, 文章达到本刊发表要求的稿件送交总编辑签发拟接受, 对不能达到本刊发表要求的稿件退稿.

第三步 编辑、修改稿件: 科学编辑严格根据编辑规范要求编辑文章, 包括全文格式、题目、摘要、图表科学性和参考文献; 同时给出退修意见送作者修改. 作者修改稿件中遇到问题可以发送E-mail至责任科学编辑, 责任科学编辑在1个工作日内回复. 为保证文章审稿意见公平公正, 本刊对每一篇文章均增加该篇文章的同行评议者和同行评论, 同时配有背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点和名词解释, 供非专业人士阅读了解该领域的最新科研成果.

第四步 录用稿件: 作者将稿件修回后, 编辑部主任组织第2次定稿会, 评估作者修回稿件质量. 对修改不合格的稿件通知作者重修或退稿, 对修改合格的稿件送总编辑终审, 合格后发正式录用通知. 稿件正式录用后, 编务通知作者缴纳出版费, 出版费缴纳后编辑部安排生产, 并挂号将缴费发票寄出.

第五步 排版制作: 电子编辑对稿件基本情况进行审核, 核对无误后, 进行稿件排版及校对、图片制作及参考文献核对. 彩色图片保证放大400%依然清晰; 中文参考文献查找全文, 核对作者、题目、期刊名、卷期及页码, 英文参考文献根据本杂志社自主研发的“参考文献检测系统”进行检测, 确保作者、题目、期刊名、卷期及页码准确无误. 排版完成后, 电子编辑进行黑马校对, 消灭错别字及语句错误.

第六步 组版: 本期责任电子编辑负责组版, 对每篇稿件图片校对及进行质量控制, 校对封面、目次、正文页码和书眉, 修改作者的意见, 电子编辑进行三校. 责任科学编辑制作整期中英文摘要, 并将英文摘要送交英文编辑进一步润色. 责任电子编辑再将整期进行二次黑马校对. 责任科学编辑审读本期的内容包括封面、目次、正文、表格和图片, 并负责核对作者、语言编辑和语言审校编辑的清样, 负责本期科学新闻稿的编辑.

第七步 印刷、发行: 编辑部主任和主编审核清样, 责任电子编辑通知胶片厂制作胶片, 责任科学编辑、电子编辑核对胶片无误送交印刷厂进行印刷. 责任电子编辑制作ASP、PDF、XML等文件. 编务配合档案管理员邮寄杂志.

第八步 入库: 责任电子编辑入库, 责任科学编辑审核, 包括原始文章、原始清样、制作文件等.

《世界华人消化杂志》从收稿到发行每一步都经过严格审查, 保证每篇文章高质量出版, 是消化病学专业人士发表学术论文首选的学术期刊之一. 为保证作者研究成果及时公布, 《世界华人消化杂志》保证每篇文章四月内完成. (《世界华人消化杂志》编辑部)