

肿瘤防治研究

Cancer Research on Prevention and Treatment

MYC/BCL2双表达大B细胞淋巴瘤中PD-L1的表达及其临床意义

王平, 杨文秀, 周杰, 冯江龙, 林超群

引用本文:

王平, 杨文秀, 周杰, 等. MYC/BCL2双表达大B细胞淋巴瘤中PD-L1的表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(01): 32–36.
WANG Ping, YANG Wenxiu, ZHOU Jie, et al. Expression of PD-L1 and Its Clinical Significance in MYC/BCL2 Double-expression Large B Cell Lymphoma[J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2020, 47(01): 32–36.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2020.19.0957>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

免疫检查点抑制剂在非小细胞肺癌治疗中面临的问题

Challenges of Immune Checkpoint Inhibitors in Treatment of Non-small Cell Lung Cancer

肿瘤防治研究. 2019, 46(6): 556–560 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.1563>

干扰素对JAK2 V617F阳性骨髓增殖性肿瘤PD-1/PD-L1及Treg表达的影响

Effects of Interferon on PD-1/PD-L1 and Treg Expression in JAK2 V617F-positive Myeloproliferative Neoplasms

肿瘤防治研究. 2019, 46(1): 63–67 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2019.18.0937>

天然免疫检查点CD47-SIRP α 在恶性肿瘤中的研究进展

Research Progress of CD47-SIRP α Signaling Axis as An Innate Immune Checkpoint in Cancer

肿瘤防治研究. 2018, 45(8): 604–608 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2018.18.0217>

抑制乳腺癌患者自体CD3AK细胞PD-1的表达对杀伤MCF-7/adr细胞的影响

Improvement of Cytotoxicity of Autologous CD3AK Cells in Breast Cancer Patients to MCF-7/adr Cells by Suppressing PD-1 Expression

肿瘤防治研究. 2017, 44(9): 580–584 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0154>

PD1/PD-L1激活促进癌症发生、发展和转移的研究进展

Novel Findings on Activation of PD1/PD-L1 that Contributes to Cancer Development and Metastasis

肿瘤防治研究. 2017, 44(6): 423–427 <https://doi.org/10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0087>



杂志官网



微信公众号

MYC/BCL2双表达大B细胞淋巴瘤中PD-L1的表达及其临床意义

王平, 杨文秀, 周杰, 冯江龙, 林超群

Expression of PD-L1 and Its Clinical Significance in MYC/BCL2 Double-expression Large B Cell Lymphoma

WANG Ping, YANG Wenxiu, ZHOU Jie, FENG Jianglong, LIN Chaoqun

Department of Pathology, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

Corresponding Author: YANG Wenxiu, E-mail: ypq1964@163.com

Abstract: Objective To investigate the correlation between MYC/BCL2 double-expression large B cell lymphoma (DEL) and programmed cell death ligand 1 (PD-L1) mRNA or protein expressions and analyze the clinical significance of PD-L1 protein expression in DEL. **Methods** We collected 90 cases of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and detected MYC and BCL2 protein by immunohistochemical staining, and then grouped them into DEL and non-DEL groups. The expressions of PD-L1 in tumor cells or microenvironment were detected by immunohistochemical double labeling staining. qPCR was used to detect the relative expression of PD-L1 mRNA. The clinicopathological data were collected and followed up. **Results** Among 90 cases of DLBCL, there were 28 cases of DEL, 22 cases of PD-L1 expression in tumor cells (PD-L1⁺) and 26 cases in microenvironment (mPD-L1⁺); while, 14 cases of PD-L1 expression in tumor cells and 9 cases in microenvironment in DEL group. PD-L1 protein expression in tumor cells or microenvironment was correlated with DEL ($P < 0.05$). The relative expression of PD-L1 mRNA was significantly different between two groups ($P = 0.012$). PD-L1⁺ was related to IPI score and B symptom in DEL group ($P = 0.007, 0.021$). PD-L1⁺ and mPD-L1⁺ were correlated with the prognosis of patients in DEL group ($P = 0.005, 0.001$). **Conclusion** The mRNA and protein expression of PD-L1 are significantly up-regulated in DEL patients and correlated with the prognosis. PD-L1 could be used as an independent risk factor for the evaluation of poor prognosis of DEL patients.

Key words: MYC; BCL2; Double-expression large B cell lymphoma; PD-L1; Prognosis

摘要: 目的 探讨MYC/BCL2双表达大B细胞淋巴瘤(DEL)与程序性细胞死亡受体-配体1(PD-L1) mRNA、蛋白表达的相关性及其临床意义。**方法** 收集90例弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)病例,采用免疫组织化学染色检测MYC、BCL2蛋白并分组,双标记染色法检测各组病例的肿瘤细胞或微环境细胞中PD-L1表达;实时荧光PCR技术(Real-time PCR, qPCR)检测DEL组与non-DEL组PD-L1 mRNA相对表达量;收集临床病理资料并随访,对实验数据进行统计学分析。**结果** 90例样本中28例为DEL,肿瘤细胞和微环境中PD-L1⁺分别为22例和26例。DEL组肿瘤细胞和微环境中PD-L1⁺分别为14例和9例;肿瘤细胞和微环境细胞PD-L1蛋白表达与DEL存在相关性($P < 0.05$);PD-L1 mRNA相对表达量在DEL与non-DEL组间存在显著差异($P = 0.012$);DEL组中PD-L1⁺与IPI评分和B症状的出现有关($P = 0.007, 0.021$);Kaplan-Meier显示DEL中PD-L1⁺、肿瘤微环境PD-L1阳性(mPD-L1⁺)与患者预后相关($P = 0.005, 0.001$)。**结论** DEL患者PD-L1 mRNA及蛋白表达都明显上调且与患者不良预后相关,PD-L1可作为DEL患者不良预后评估的危险因素。

关键词: MYC; BCL2; 双表达大B细胞淋巴瘤; PD-L1; 预后

中图分类号: R733.4

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

双表达大B细胞淋巴瘤(double-expression large B-cell lymphoma, DEL)临床上以MYC/BCL2双表达最为常见,占弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)的19%~34%^[1-2],已有较多研究证实DEL患者临床预后和疗效相对较差,且易发展为复发/难治性大B细胞淋巴瘤^[3-6]。染

收稿日期: 2019-07-24; 修回日期: 2019-10-16

基金项目: 贵阳市科技局贵州医科大学联合基金(GY2016-4)

作者单位: 550004 贵阳, 贵州医科大学病理学教研室

通信作者: 杨文秀(1964-), 女, 博士, 教授, 主要从事淋巴瘤的基础和临床研究, E-mail: ypq1964@163.com

作者简介: 王平(1987-), 男, 硕士在读, 主要从事淋巴瘤的基础和临床研究

色体9p24.2上CD274基因编码的PD-L1是程序性细胞死亡蛋白-1 (programmed cell death 1, PD-1) 的配体, 其相互结合可以介导肿瘤细胞获得免疫逃逸能力^[7-8]。研究^[9]发现MYC可以结合PD-L1的启动子, 促进其表达, 从而促进肿瘤的发生发展; 具有协同作用的原癌基因MYC、BCL2可能是影响PD-L1蛋白表达的上游基因, 三者在淋巴瘤的发病机制中发挥了重要作用^[9-11]。本研究收集了一组大B细胞淋巴瘤病例, 通过qPCR技术、免疫组织化学双标记和普通免疫组织化学染色法、临床病理资料收集和随访, 分析PD-L1表达与DEL的关系及其与患者预后的关系, 并探讨PD-L1表达在DEL临床预后评估中的价值。

1 资料与方法

1.1 病例收集

收集贵州医科大学附属医院病理科2010年1月1日至2017年12月31日期间确诊的DLBCL病例, 将临床病理资料相对完整、肿瘤组织充足的90例病例纳入实验研究。

1.2 主要试剂

PD-L1单抗购于美国Abcam公司, 单克隆一抗Pax5、MYC、BCL2和二抗试剂盒 (PV-9001、SAP-9102)、EDTA修复液、AP-Red及DAB试剂盒均购自北京中杉公司; RNA提取试剂盒 (FFPE RNA) 购自厦门艾德公司; SYBR Green荧光染料 (TaKaRa RR820A)、反转录试剂盒 (TaKaRa RR47A)、内参均购于美国TaKaRa公司; PD-L1引物购于上海生工公司。

1.3 免疫组织化学染色及分组

采用PV二步法检测MYC、BCL2蛋白表达: MYC、BCL2以扁桃体组织为阳性对照; 以PBS (pH7.35) 代替一抗作阴性对照; 以pH (8.0) 的EDTA溶液修复抗原; MYC、BCL2稀释比均为1:200; 步骤按PV-9001说明进行。

判读标准: MYC阳性信号位于细胞核, BCL2阳性信号位于细胞质。根据文献^[12-14]略作修改, 随机选择10个不重复的400倍视野, 每个视野随机计数400个肿瘤细胞中阳性细胞所占比例, 取10个视野的平均值作为该病例表达率。据文献^[1-4, 12-14]定义MYC $\geq 40\%$ 为高表达, BCL2 $\geq 70\%$ 为高表达。若MYC、BCL2均高表达定义为MYC/BCL2双表达大B细胞淋巴瘤组 (简称DEL组), 余下归为non-DEL组。

1.4 免疫组织化学双标记染色检测PD-L1表达

根据试剂盒说明Pax5、PD-L1设置阳性对照为扁桃体组织, 阴性对照以TBS (pH7.35) 替代一抗, 并以TBS作为缓冲液及冲洗液; 用间接法进行双标

记染色, 染色步骤简述如下: 4 μm 厚石蜡切片, 脱蜡、水洗、EDTA (pH9.0) 进行修复抗原, 消除内源性过氧化物酶后血清封闭, 先进行Pax5鼠抗人单克隆抗体染色 (1:300稀释), 按 (SAP-9102) 试剂盒说明进行Pax5标记 (AP-Red显色), 再次EDTA (pH8.0) 修复后, 按Pax5染色的相同步骤进行PD-L1兔抗人单克隆抗体 (1:250稀释) 标记, DAB显色, 透明封片后进行观察和图像分析。

判读方法: Pax5以细胞核出现红色或浅红色颗粒为阳性表达; PD-L1以细胞质或细胞膜形成黄色或棕黄色颗粒为阳性表达。参照文献^[15-16]分析: 同MYC、BCL2一样统计肿瘤细胞PD-L1表达率 (10个高倍视野平均值), 定义肿瘤细胞双标记阳性细胞 $\geq 30\%$ (细胞质或膜着黄色、核着红色) 为肿瘤细胞PD-L1阳性 (PD-L1⁺); 在PD-L1阴性的病例中, 若肿瘤微环境细胞 (主要为肿瘤组织浸润T细胞tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) PD-L1表达率 $\geq 20\%$, 定义为微环境PD-L1阳性^[15], 即mPD-L1⁺。

1.5 RNA提取、反转录、qPCR方法

RNA的提取、检测及反转录: 取8 μm 组织进行脱蜡、去除二甲苯、蛋白酶消化至清亮后, 按RNA提取试剂盒说明进行RNA提取, 最后以50 μl 的DEPC水溶解RNA, 核酸定量仪检测RNA浓度及纯度, 取OD值 (A260/A280) 在1.8到2.0的RNA样本进行实验, 按TaKaRa RR47A试剂说明于冰上进行去除基因组DNA (42 $^{\circ}\text{C}$ 2 min), 于冰上配置反转录体系后进行反转录 (37 $^{\circ}\text{C}$ 30 min, 再加热至85 $^{\circ}\text{C}$ 5 s), 缓慢冷却后于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

qPCR: 使用两步法检测DEL组与non-DEL组PD-L1的mRNA, 据TaKaRa RR820A试剂盒说明, 取cDNA样本于冰上配置SYBR Green RT-qPCR反应体系, PD-L1引物: 上游: 5'-CTATGGTGGT-GCCGACTACA-3', 下游: 5'-TGCTTGTCAGAT-GACTTCG-3', 每个样本设置3个复孔, 先配置总反应体系, 再分装3个复孔; 用 β -actin (上游: 5'-TAGTTGCGTTACA CCCTTTCTTG-3', 下游: 5'-TCACCCTTCACCGTTCCAAGTTT-3') 作为内参, 于Bio-Rad CFX connect荧光定量PCR仪上进行反应 (反应条件: 预变性95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 变性95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 退火/延伸为60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 50个循环), 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值为mRNA相对表达量, $\Delta\text{Ct}=\text{Ct}_{\text{目的基因}}-\text{Ct}_{\text{内参基因}}$, $\Delta\Delta\text{Ct}=\Delta\text{Ct}_{\text{样本}}-\Delta\text{Ct}_{\text{组内最低值}}$ 。

1.6 随访方法

采取电话或走访方式, 以首次确诊时间为开始时间, 随访患者首次确诊以后的治疗、健康、复发及生存等情况; 每隔3月随访1次 (出现死亡或失访时结束该例

患者随访),长期存活患者随访截至2018年12月31日。

1.7 统计学方法

用SPSS 17.0软件对数据整理分析;mRNA相对表达量在各组间比较采用*t*检验,正态分布用($\bar{x}\pm s$)表示,偏态分布数据经(lg10)转化为正态分布,并用($10^{\lg\bar{x}}\pm 10^{\lg s}$)表示。计数资料统计采用 χ^2 检验或Fisher精确检验;生存分析采用Kaplan-Meier曲线表示。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

DLBCL90例,HE染色见图1。男47例,女43例;年龄17~82岁(中位年龄58.5);根据免疫组织化学染色结果分组,28例为DEL,62例为non-DEL,见图2。据1993年NHL国际预后指数IPI评分:0~2分49例,3~5分41例;临床分期:I+II期54例,III+IV期36例。

2.2 DEL组与non-DEL组PD-L1蛋白表达情况比较

90例DLBCL肿瘤细胞和微环境中PD-L1阳性分别为22例(24.44%)和26例(28.89%),见图3。DEL组肿瘤细胞和微环境中PD-L1阳性表达率分别为50.00%和32.14%,non-DEL组分别为12.90%和27.42%。肿瘤细胞和微环境PD-L1蛋白表达在DEL组与non-DEL组间比较,差异均有统计学意义(均*P*<0.05),见表1。

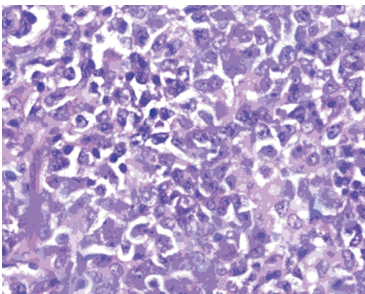


图1 DLBCL的HE染色结果(HE×400)
Figure 1 Hematoxylin-eosin staining results of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients (HE×400)

表1 DEL组与non-DEL组PD-L1蛋白表达的比较
Table 1 Comparison of PD-L1 protein expression between DEL and non-DEL groups

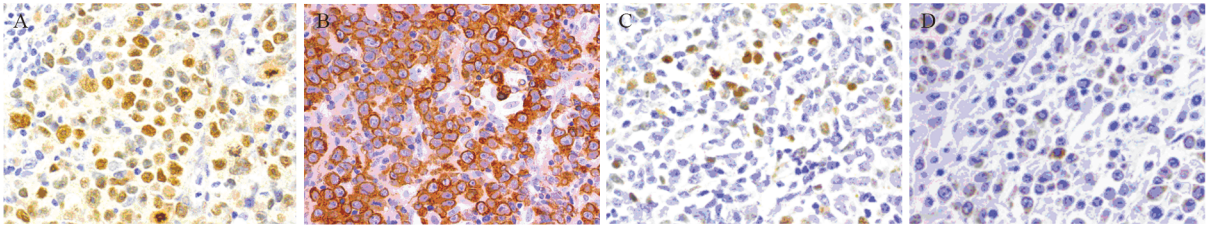
Groups	<i>n</i>	PD-L1 ⁺	PD-L1 ⁺		γ_1	<i>P</i> ₁	γ_2	<i>P</i> ₂
			mPD-L1 ⁺	mPD-L1 ⁺				
DEL	28	14	9	5	0.400	<0.001	0.273	0.033
Non-DEL	62	8	17	37				

Notes: DEL: double-expression large B-cell lymphoma; mPD-L1: PD-L1 expression in microenvironment cells; γ_1 , *P*₁: PD-L1⁺; γ_2 , *P*₂: mPD-L1⁺.

2.3 DEL组与non-DEL组间PD-L1 mRNA相对表达量比较

qPCR检测结果显示DEL组(0.9862±0.49853)与non-DEL组(0.7175±0.29265)PD-L1 mRNA相对表达量比较,差异有统计学意义(95%CI: 0.06325~0.47419, *t*=2.653, *P*=0.012)。

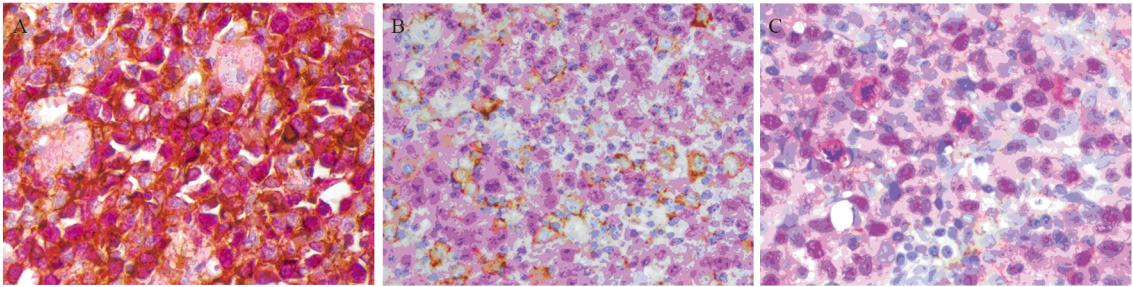
2.4 DEL组中PD-L1表达与临床病理特征的关系



A: high myelocytomatosis oncogene(MYC) expression; B: high B-cell lymphoma-2(BCL2) expression; C: low MYC expression; D: low BCL2 expression.

图2 DLBCL免疫组织化学染色结果(PV×400)

Figure 2 Immunohistochemical results of DLBCL (PV×400)



PD-L1⁺ in tumor cells(A) and in microenvironment cells(B), while PD-L1⁺ in tumor cells and in microenvironment cells(C); PD-L1: programmed cell death ligand 1.

图3 DLBCL中肿瘤细胞和微环境细胞PD-L1的表达(PV×400)

Figure 3 PD-L1 expression in tumor cells and microenvironment cells of DLBCL (PV×400)

DEL组中, 25例检查血清乳酸脱氢酶 (LDH) 其中13例PD-L1⁺, 8例mPD-L1⁺, 4例mPD-L1⁻; 24例检查β₂微球蛋白 (β₂-MG), 其中14例PD-L1⁺, 7例mPD-L1⁺, 3例mPD-L1⁻, IPI评分0~2分组、3~5分组均为14例, I+II期、III+IV期分别为15例、13例; PD-L1⁺与性别、年龄、Ann Arbor分期、LDH、β₂-MG无相关性, 但与IPI评分和B症状的出现显著相关 (*P*值分别为0.007、0.021); mPD-L1⁺与上述临床病理特征均无相关性 (均*P*>0.05), 见表2。

表2 DEL组肿瘤细胞和微环境中PD-L1表达与临床病理特征的关系

Table 2 Relation between PD-L1⁺, mPD-L1⁺ and clinicopathological characteristics of DEL patients

Characteristics	PD-L1 ⁺ (n=14)	PD-L1 ⁻ (n=14)		<i>P</i> ₁	<i>P</i> ₂
		mPD-L1 ⁺	mPD-L1 ⁻		
Gender				1.000	1.000
Male	8	5	2		
Female	6	4	3		
Age(years)				1.000	1.000
<60	6	4	2		
≥60	8	5	3		
Ann Arbor stage				1.000	0.301
I, II	7	4	4		
III, IV	7	5	1		
B symptoms				0.021	1.000
Yes	10	2	1		
No	4	7	4		
IPI score				0.007	0.505
0-2	3	8	3		
3-5	11	1	2		
LDH(u/L)				0.695	0.545
≤245	8	3	3		
>245	5	5	1		
β ₂ -MG(mg/L)				0.678	1.000
1-3	9	4	1		
>3	5	3	2		

Notes: *P*₁: PD-L1⁺ vs. PD-L1⁻; *P*₂: mPD-L1⁺ vs. mPD-L1⁻; LDH: lactate dehydrogenase; β₂-MG: β₂-microglobulin; There were 13 cases of PD-L1⁺, 8 cases of mPD-L1 and 4 cases of mPD-L1⁻ in 25 patients with serum LDH; A total of 24 patients were tested β₂-MG, including 14 cases of PD-L1⁺, 7 cases of mPD-L1⁺, 3 cases of mPD-L1⁻.

2.5 DEL患者预后及PD-L1蛋白表达生存分析

DEL组中, 生存8例, 死亡14例, 失访6例, 其中复发9例; 中位生存时间29月。20例接受R-CHOP治疗, 其余不详; Kaplan-Meier生存分析显示PD-L1⁺组患者总体生存时间 (OS) 明显短于PD-L1⁻组 (*P*=0.005), 见图4; mPD-L1⁺组患者OS明显短于mPD-L1⁻组 (*P*=0.001), 见图5。

3 讨论

尽管淋巴瘤的WHO分类还未将DEL单独列出, 但这类淋巴瘤和“双打击淋巴瘤”相类似, 在临床上具有独特的临床特点。多项研究^[1-4,12-14]表明

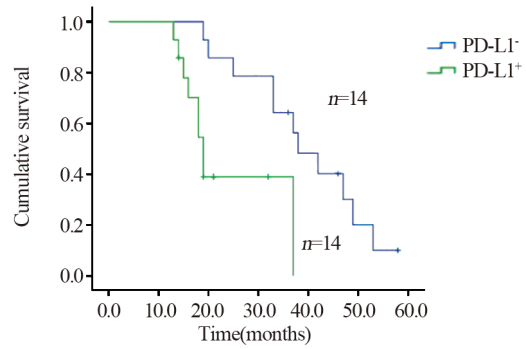


图4 DEL组中PD-L1⁺与PD-L1⁻患者的生存曲线比较 (*P*=0.005)

Figure 4 Survival curves of DEL patients with PD-L1⁺ and PD-L1⁻ (*P*=0.005)

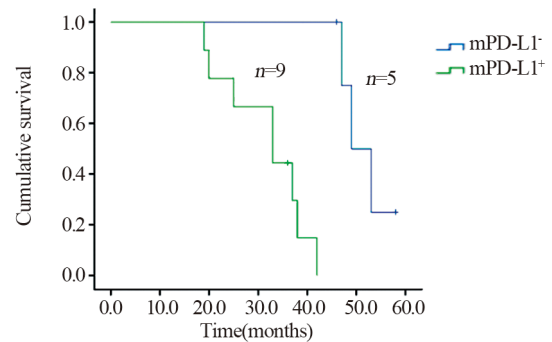


图5 DEL组中mPD-L1⁺与mPD-L1⁻患者的生存曲线比较 (*P*=0.001)

Figure 5 Survival curves of DEL patients with mPD-L1⁺ and mPD-L1⁻ (*P*=0.001)

这类共表达淋巴瘤的IPI评分和肿瘤细胞增殖指数高, 常有多个结外部位累及, 患者在接受标准的R-CHOP免疫化疗方案治疗后复发率高, 且5年生存率也较低。因此, 发现这类DEL的理想预后评估因素和有效的治疗靶点有着重要意义。

PD-L1表达与T淋巴细胞的凋亡及活化有关, 其上调表达通过与浸润T细胞表面受体PD1的结合诱导效应T细胞凋亡、抑制T细胞活化, 从而产生肿瘤生长的微环境, 介导肿瘤细胞的免疫逃逸^[6-7]。PD-L1表达对大B细胞淋巴瘤影响的研究多集中在部位特点和细胞来源特点等方面。Kiyasu研究小组^[15]统计1 235例临床样本, 发现肿瘤细胞表达PD-L1在DL-BCL中阳性率为11%, 微环境细胞PD-L1阳性表达率为15.3%, PD-L1及mPD-L1的表达与GCB样DL-BCL和EB病毒阳性的大B细胞淋巴瘤病例显著相关, 且PD-L1⁺的患者总生存期 (OS) 低于PD-L1⁻的DLBCL患者。Liu等^[16]检测92例原发肠道的弥漫大B细胞淋巴瘤样本中PD-L1的表达, 结果与Kiyasu研究小组的结果相似, 但微环境中PD-L1的阳性率相对较高。本研究发现PD-L1、mPD-L1在90例大B细胞淋巴瘤中的阳性表达率分别为24.44%

和28.89%，与Liu等的研究报道相近。

有研究报道^[17]DLBCL患者如果伴有PD-L1的DNA扩增、mRNA上调及蛋白高表达，其生存预后均不理想，且PD-L1蛋白表达并不完全由基因调控，可能还受肿瘤环境中的其他因素影响。Casey团队^[9]发现MYC可以与PD-L1启动子结合，直接调控PD-L1表达，沉默MYC后PD-L1蛋白表达明显下降；Rossille研究结果^[18]表明，在BCL2阳性侵袭性弥漫性大B细胞淋巴瘤患者中，血清PD-L1高表达水平患者的总体生存期（OS）明显短于血清PD-L1低表达水平患者。本研究发现在MYC/BCL2共表达淋巴瘤中PD-L1、mPD-L1的阳性表达率明显高于非共表达大B细胞淋巴瘤，且在该类淋巴瘤中PD-L1 mRNA相对表达量明显上调。既往报道和我们的结果都提示PD-L1与MYC/BCL2蛋白表达可能存在某种关联，它们之间可能存在一些信号转导通路的“串话”。具体机制有待于进一步深入的分子、基因等方面研究探讨。

本研究统计DEL患者临床相关数据提示在DEL中PD-L1蛋白表达与高IPI评分和B症状的出现有关；此外，通过对28例DEL患者生存随访资料统计分析发现，DEL患者中PD-L1无论在肿瘤细胞表达还是在肿瘤微环境细胞中的表达，患者OS均显著低于阴性组；这些结果都提示，PD-L1蛋白的上调表达与DEL患者不良预后相关。

作为一项回顾性的研究，本实验存在一定的缺陷：首先因受到总样本量收集的限制，纳入研究样本量相对较小，统计结果可能与大样本的研究结果会存在一定误差；其次，本实验部分RNA提取使用的组织为年份较长的石蜡组织，可能提取RNA存在降解，对实验也有一定的影响。因此，还需扩大样本量、使用新鲜离体组织或提高各项检测技术等来验证我们的结果。

综上所述，MYC/BCL2共表达大B细胞淋巴瘤中PD-L1蛋白和mRNA均上调表达，这可能与这类淋巴瘤不良预后有关，它在这类淋巴瘤预后评估中的价值还有待于进一步研究证实。

参考文献：

- [1] Friedberg JW. How I treat double-hit lymphoma[J]. Blood, 2017, 130(5): 590-596.
- [2] Kawashima I, Inamoto Y, Maeshima AM, et al. Double expressor lymphoma is associated with poor outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2018, 24(2): 294-300.
- [3] Reagan PM, Davies A. Current treatment of double hit and double expressor lymphoma[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2017, 2017(1): 295-297.
- [4] Riedell PA, Smith SM. Double hit and double expressors in

lymphoma: Definition and treatment[J]. Cancer, 2018, 124(3): 4622-4632.

- [5] Herrera AF, Mei M, Low L, et al. Relapsed or refractory double-expressor and double-hit lymphomas have inferior progression-free survival after autologous stem-cell transplantation[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(1): 24-31.
- [6] 吴辉著, 于丁, 杨业勤, 等. ABVD成功解救难治性弥漫大B细胞淋巴瘤1例报道[J]. 肿瘤防治研究, 2016, 43(11): 1008-1010. [Wu HJ, Yu D, Yang YQ, et al. Successful salvage therapy with ABVD on refractory diffuse large B-cell lymphoma: A case report[J]. Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu, 2016, 43(11): 1008-1010.]
- [7] Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells[J]. J Exp Med, 2009, 206(13): 3015-3029.
- [8] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer[J]. New Engl J Med, 2012, 366(26): 2443-2454.
- [9] Casey SC, Tong L, Li Y, et al. MYC regulates the anti-tumor immune response through CD47 and PD-L1[J]. Science, 2016, 352(6282): 227-231.
- [10] Schmitt CA, Lowe SW. Bcl-2 mediates chemoresistance in matched pairs of primary E(mu)-myc lymphomas *in vivo*[J]. Blood Cells Mol Dis, 2001, 27(1): 206-216.
- [11] Delbridge AR, 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.
- [12] Green TM, Nielsen O, De Stricker K, et al. High Levels of Nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Am J Surg Pathol, 2012, 36(4): 612-619.
- [13] Bogusz AM, Kovach AE, Le LP, et al. Diffuse large B-cell lymphoma with concurrent high MYC and BCL2 expression shows evidence of active B-cell receptor signaling by quantitative immunofluorescence[J]. PLoS One, 2017, 12(2): 1-14.
- [14] 尹文娟, 朱秀, 杨海燕, 等. 原发中枢神经系统弥漫性大B细胞淋巴瘤中bcl-2、C-MYC基因异常、蛋白表达及治疗方案选择对患者预后的影响[J]. 中华病理学杂志, 2018, 47(1): 32-38. [Yin WJ, Zhu X, Yang HY, et al. Effects of bcl-2 and c-myc gene abnormalities, protein expression and treatment protocol selection on prognosis of patients with primary diffuse large B cell lymphoma of central nervous system[J]. Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi, 2018, 47(1): 32-38.]
- [15] Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma[J]. Blood, 2015, 126(19): 2193-2201.
- [16] Liu Y, Ma J, Yu K, et al. Expression of programmed cell death 1/programmed cell death ligand 1 in the tumor microenvironments of primary gastrointestinal diffuse large B cell lymphomas[J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(4): 507-512.
- [17] Sun C, Jia Y, Wang W, et al. Integrative analysis of PD-L1 DNA status, mRNA status and protein status, and their clinicopathological correlation, in diffuse large B-cell lymphoma[J]. Histopathology, 2019, 74(4): 618-628.
- [18] Rossille D, Gressier M, Damotte D, et al. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial[J]. Leukemia, 2014, 28(12): 2367-2375.

[编辑：周永红；校对：安凤]

作者贡献：

王平：参与实验、统计分析及论文撰写

杨文秀：指导试验设计、审核数据及统计分析结果、论文修改

周杰：病理蜡块收集及部分免疫组织化学实验

冯江龙：技术指导

林超群：患者临床资料随访