

原文題目(出處)：	Primary diffuse lLarge B-cell lymphoma of the oal cavity: germinal center classification. Head and Neck Pathol 2010;4:181-91
原文作者姓名：	Bhattacharyya I, Chehal HK, Cohen DM, Al-Quran SZ
通訊作者學校：	Department of Oral and Maxillofacial Diagnostic Sciences, University of Florida College of Dentistry, Gainesville, FL 32610, USA
報告者姓名：	R2 謝牧諺
報告日期：	99/12/07

內文：

Introduction

- ✚ Diffuse large B-cell lymphoma(DLBCL)是 non-Hodgkin lymphoma(NHL)中最常見的, 而且是所有 lymphoma 中第五常見的
- ✚ 通常好發於 mediastinum(縱隔膜), gastrointestinal tract, bone marrow, central nervous system, breast and testes
- ✚ 好發年齡為 60-69 歲
- ✚ non-Hodgkin lymphoma(NHL)在口腔中很罕見, 只佔 lymphoma 的 3-5%
- ✚ 有可能是 primary 的也有可能是 secondary 的, 而且可能從 Waldeyer's ring 開始 extend 到 oral cavity
- ✚ Lesions 通常是有症狀的, 而且通常都長的很快很大, 除了 Waldeyer's ring 之外, 口腔中 hard palate 和 maxillary vestibule 也常常被 involve 到
- ✚ DLBCL 是 large neoplastic B cell 漫延性的增生, 細胞核的大小有可能和正常的 macrophage nuclei 一樣大也有可能超過, 甚至是 normal lymphocyte 細胞核的兩倍大
- ✚ DLBCL 是 heterogeneous neoplasm, 有多變的 clinical, morphologic, immunophenotypic, cytogenetic and genetic features
- ✚ 之前 DLBCL 在細胞型態學上被分為 3 類: centroblastic, immunoblastic, and anaplastic
 - ◇ Centroblastic: 1. medium to large in size (中心母細胞型態)2. Oval to round nuclei
 - 3. Fine vesicular(小囊狀) chromatin(核染色質) patterns
 - 4. 2 to 4 nucleoli opposed toward the nuclear membrane
 - 5. Predominate in extranodal disease
 - 6. Monomorphic(>90% centroblasts), or polymorphic with admixed immunoblasts(<90%centroblasts)
 - ◇ Immunoblastic: 1. Uniform cytology (免疫母細胞型態) 2. Prominent central nucleoli
 - 3. Distinct rims of basophilic cytoplasm(和 basophilic 的細胞質有明顯的 rim)
 - ◇ Anaplastic: 1. large cells with bizarre pleomorphic nuclei (侵襲性型態)2. mimic(模仿) Reed Sternberg cells or undifferentiated carcinoma: 在這類型的 case 中, 免疫化學染色是很有幫

助的, intermixed T-cell and/or histiocytes 會增加, 極少數的 case 中, 會有 spindle-shaped or signet(圖章) ring cell forms with myxoid stroma

- ✚ 這三種 lymphoma 的治療和 survival rates 都沒有顯著差異
- ✚ 大部分的 DLBCL 在他們的 immunoglobulin heavy chain genes 上有 somatic mutations
- ✚ 近年來很多技術被用來 sub classify DLBCL, 包括 oligonucleotide array, cDNA microarray, and immunohistochemical expression
- ✚ 用 cDNA microarray 的技術將 DLBCL 分為三類:
 1. germinal center B-cell like(GCB)
 2. non-germinal center(non-GCB)
 3. activated B-cell like(ABC)
- ✚ GCB 的預後會比 non-GCB 及 type 3 來的好
- ✚ 而 immunohistochemistry(IHC)則較被廣為利用, CD10, BCL6(markers of germinal center origin), MUM1(markers of activated B-cell)

Materials and Methods

- ✚ 2003-2009
- ✚ Primary lymphoma, 沒有合併 nodal/extranodal disease, 或者是六個月內沒有診斷出口腔 lesion
- ✚ IHC 則使用 CD3,CD5,CD20,CD10,Bcl-6,MUM1 and Ki-67

Table 1 Antibodies used in the study

Antibody	Manufacturer	Source	Clone	Type	Dilution	Characterization
CD20	DAKO, Carpinteria, CA	Mouse monoclonal	L26	IgG29	1:200	Expressed by B-cell lineage
CD3	Ventana Medical Systems, Tucson, AZ	Rabbit polyclonal	PS1	Polyclonal	Prediluted from manufacturer	Expressed by T-cell lineage
CD5	Ventana Medical Systems, Tucson, AZ	Rabbit monoclonal	SP19	IgG	Prediluted from manufacturer	Expressed by T cell lineage
CD10	Ventana Medical Systems, Tucson, AZ	Mouse monoclonal	56C6	IgG1	Prediluted from manufacturer	Expressed by normal GC B-cells
Bcl-2	Ventana Medical Systems, Tucson, AZ	Mouse monoclonal	124	IgG1/K	Prediluted from manufacturer	Expressed in normal lymphoid tissue but is absent in reactive GC B-cells
bcl-6	Cell Marque, Rocklin, CA	Mouse monoclonal	GH191E/A8	IgG1	Prediluted from manufacturer	Expressed in germinal center B cells and a subset of CD4+ T cells. It is expressed in the majority of DLBCL's ranging from 57 to 100%
Ki 67	DAKO, Carpinteria, CA	Mouse monoclonal	MIB1	IgG kappa	1:30	Cell cycle marker used to assess proliferative potential of tumors
MUM1	ID Labs, Inc. London, ON, Canada	Mouse monoclonal	MUM 2p	IgG1	1:20	Expression denotes the final step of intra-GC B-cell

Visualization for all antibodies done by UltraView DAB kit Ventana Medical Systems, Tucson, AZ

CD20: B-cells
 CD3: T-cells
 CD5: T-cells
 CD10: normal GC B-cells

Bcl-2: normal lymphoid tissue, but absent in reactive GC B-cells
 Bcl-6: germinal center B-cell, and a subset of CD4+T-cells(DLBCL 57 to 100%)
 Ki67: proliferative potential
 MUM1: final step of intra GC B-cell

Table 2 : Summary of results of immunohistochemical staining

Case	CD 10	CD 20	CD 3	CD 5	Ki 67 (%)	Bcl-2	Bcl-6	MUM1	Sub classification	Outcome
1	-	+	-	-	40-50	-	+	+	Non- GCB	DOD
2	-	+	-	-	80-95	+	-	+	Non- GCB	DOD
3	-	+	-	ND	>75	+	+	+	Non- GCB	DOD
4	-	+	+	-	60-70	-	+	+	Non- GCB	NIA
5	+	+	-	-	40-50	-	+	-	GCB	Alive, NOD
6	-	+	-	-	90	+	+	-	GCB	Alive, NOD
7	-	+	-	ND	50-70	-	+	+	Non- GCB	NIA
8	+	+	-	-	>80	+	+	-	GCB	DOD
9	-	+	-	-	>80	-	+	-	GCB	Alive, NOD
10	-	+	-	-	80	-	+	+	Non-GCB	NIA
11	-	+	-	-	40-50	+	+	+	Non-GCB	DOD
12	-	+	-	-	>80	+	+	-	GCB	Alive, NOD
13	-	+	-	-	40-60	+	+	+	Non-GCB	Alive, with disease

ND not done, NIA no information available, DOD died of disease, NOD no evidence of disease

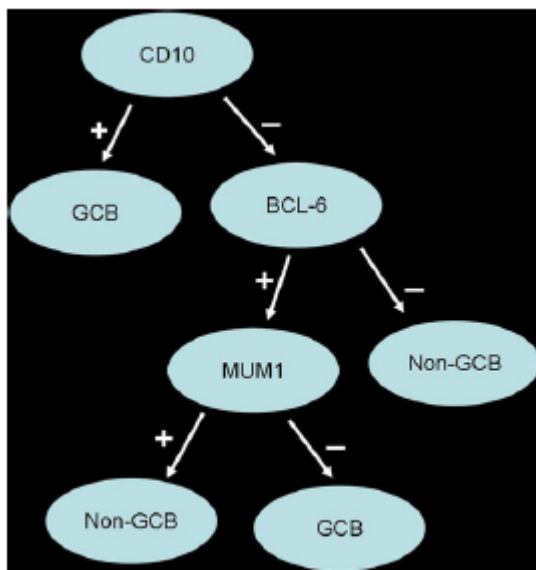


Fig. 1 Flow chart for GCB classification. Adapted from [9]

GCB: CD10(+) or **BCL6(+)**, and **MUM1(-)**

Non-GCB: CD10(-) and **BCL6(-)**, or **BCL6(+)** and **MUM1(+)**

Results

- ✓ 收集了 13 個口腔 primary lymphoma 的病人
- ✓ 6 個女性, 7 個男性
- ✓ 年齡從 38 歲到 91 歲
- ✓ 症狀從沒有到廣泛性疼痛, 甚至 chin and lower lip 的 numbness
- ✓ 所有的病人都沒有 HIV 或者免疫低下的情形
- ✓ Working diagnosis 包括 fibroma. Pyogenic granuloma. Odontogenic cyst. Giant

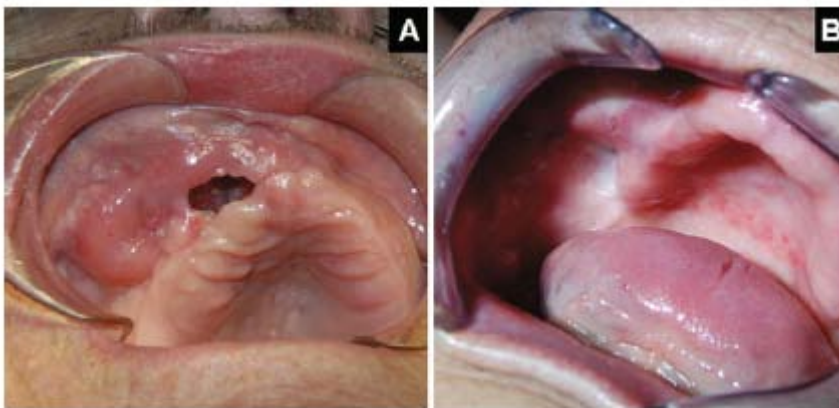
cell lesion. Myxoma. Pleomorphic adenoma. Metastatic carcinoma. Squamous cell carcinoma

- ✓ 這十三個 cases 中有許多有 intrabony lesion, 有五個位於上顎 alveolus or sockets of extracted teeth, 而有一個 case 是在 mandible 的 body 處

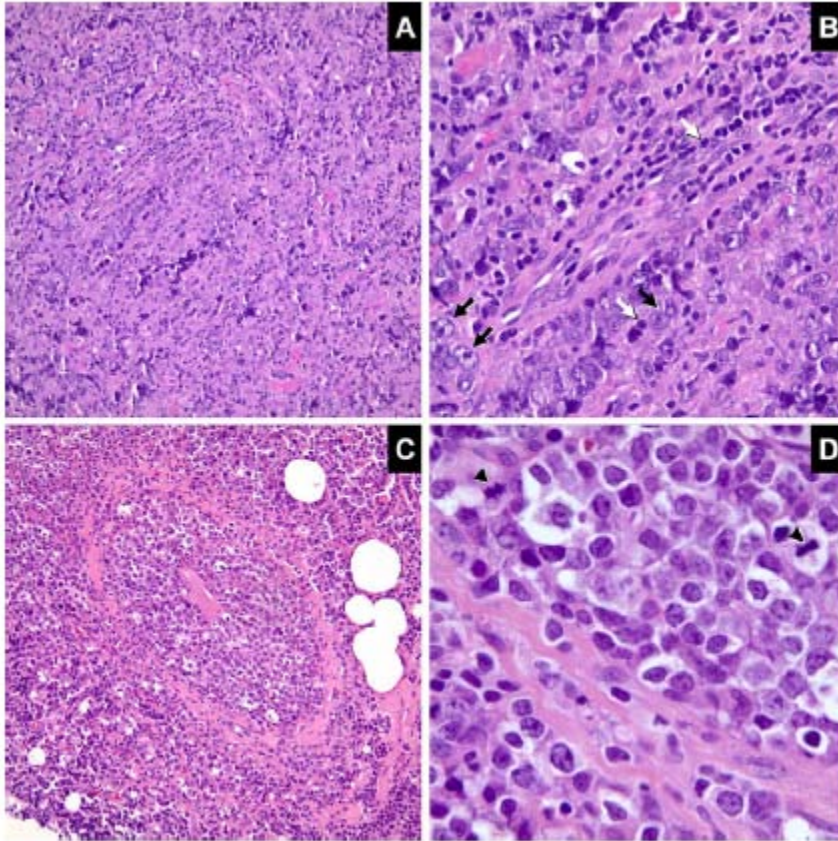


A. B: irregular radiolucencies with indistinct margin
C: pano

- ✚ 而 maxillary vestibule 是 soft tissue tumors 好發的地方, 文章中有 7 個 cases 是位於 vestibule, 其中 6 個在上顎, 而 1 個在下顎



A: bone and soft tissue destruction
B: a small ulceration on the surface



- A: diffuse infiltrate of abnormal lymphoid cells
 B: 細胞核的大小是正常 lymphocyte 的兩倍大, immunoblastic morphology with prominent central nucleoli
 C: both diffuse and angiocentric(血管中心性) abnormal lymphocytic infiltrates of large cells
 D: centroblastic

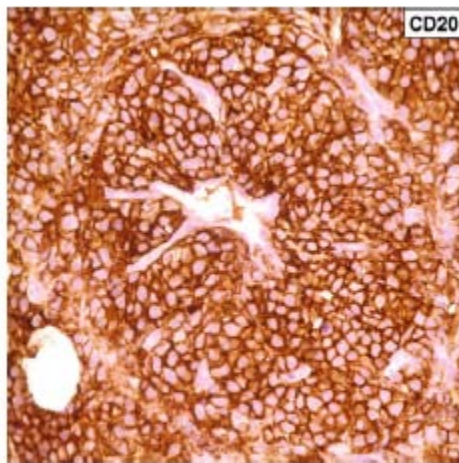


Fig. 5 Immunohistochemical study for CD20. All case demonstrated positive reactivity with this antibody. (Original magnification $\times 400$)

所有的 cases 都對 CD20(+), and CD5(-)

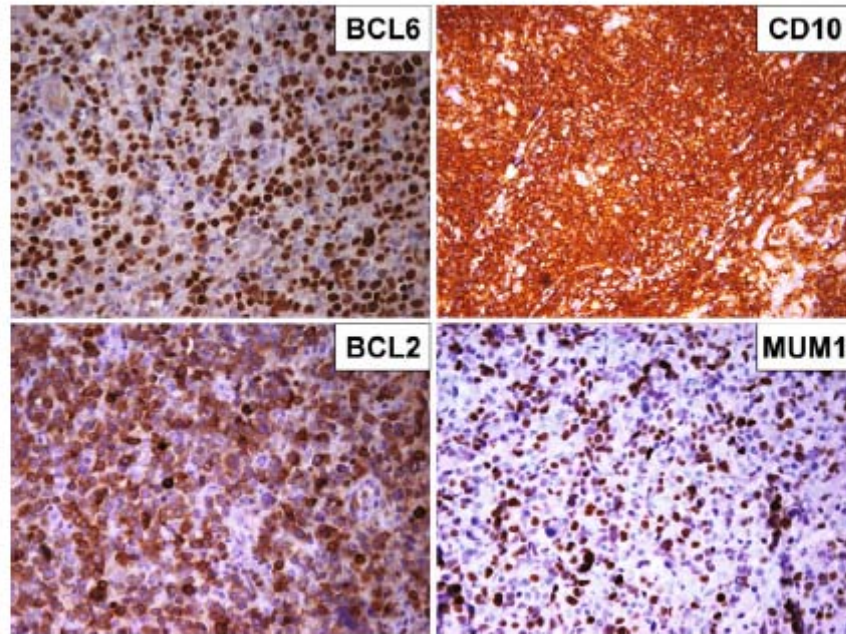


Fig. 6 Immunohistochemical panel (magnification $\times 40$) demonstrating positive reactions

BCL6(+):12/13

CD10(+):2/13

MUM1(+):8/13

BCL2(+):6/13

- ✚ 根據結果其中 8 個 cases(58%)是 non-GCB subgroup, 而 5 個 cases(42%)是 GCB subgroup
- ✚ 所有個 cases 都 show frequent labeling with Ki-67(40-90%)

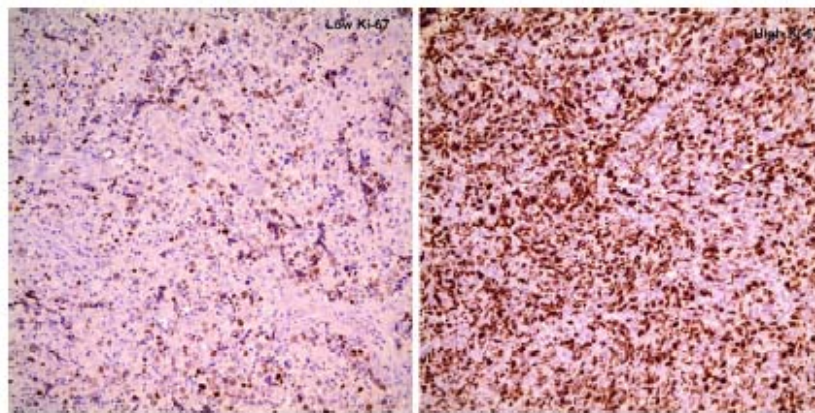


Fig. 7 Immunohistochemical study for Ki-67 (magnification $\times 20$). All tumors showed frequent labeling with Ki-67 (ranging from low 40% to high 95%). a low percentage of positivity; b high percentage of staining

- ✚ 治療:其中 3 個接受 chemotherapy, 5 個接受 chemotherapy 和 RT, 2 個沒有持續接受治療, 3 個治療進度未知
- ✚ 在 non-GCB 的 8 個病人中, 有 4 個屈服於這個疾病, 平均存活了 16 個月, 另外有一個 alive with no evidence of disease, 一個 alive with disease
- ✚ 在 GCB 的 5 個病人中, 有 4 個 alive with no evidence of disease, 另外一個因為

complications 和 recurrent disease, 後來存活 18 個月

Discussion

- ✚ DLBCL 在美國及西方是最常見的 NHL, 約佔 30-40%
- ✚ 有 40% 的 cases 只有 extranodal involvement, 而 bone marrow involvement 非常少
- ✚ 一部份口腔的 DLBCL 和 AIDS 有關, 不過大部分的 cases 病因並不清楚
- ✚ 口腔的病灶在 DLBCL 中只佔 3-5%, 而且發生在 head and neck 的 primary DLBCL 更少於 1%
- ✚ 頭頸部的 DLBCL 可能和未被診斷出來的 HIV 有關, 因為 AIDS 的病人中有 2% 都可以在口腔內發現 oral neoplasm
- ✚ DLBCL 被報告過長在 buccal mucosa. Hard palate and gingival. Intrabony 以及 maxillary vestibule
- ✚ Extranodal DLBCL 在頭頸部的 symptom 是 local swelling. Pain 及 discomfort in the region of involvement
- ✚ Clinical sign 有 unilateral enlargement of face. Local swelling. Destruction of hard and soft tissue. Cavitation(氣穴現象). Ulceration 及 sessile soft tissue mass formation
- ✚ 雖然一般血液學檢查及生化檢查大都是正常的, 不過可以看出 decreased number of peripheral blood lymphocytes, 或者 decreased serum albumin levels 及 elevated LDH. IL-6. IL-10 and IL-2 receptor levels
- ✚ 大部分的 DLBCL 在他們的 immunoglobulin heavy chain genes 上有很多變的 somatic mutations
- ✚ 使用 cDNA microarray techniques, 根據 gene expression profiles 將 DLBCL 分為兩個 molecular forms, 一個是 GC-like(GCB) and activated B-cell like(non-GCB) DLBCL, GCB 是檢查 germinal center B-cell, 而 non-GCB 是檢查 peripheral blood B cells in vitro
- ✚ DLBCL 會表現在 leukocyte common antigen(CD45), and pan-B-cell antigen(CD19. CD20 and CD79)
- ✚ CD20 會表現在 B-cell 上, 從 mature precursor B cell 到 the preplasma cell stage of differentiation, 它是一個對於 B cell 家族高度 specific 的 marker, 不過在 terminally differentiated DLBCLs with immunoblastic or plasmablastic morphology, CD20 有可能呈現 negative
- ✚ CD10 是一個 membrane metalloproteinase, 大部份的 follicular lymphomas, CD10 會 positive, 其他的 small B-cell lymphomas, CD10 會 negative, 在 DLBCL 中有 20-40% 會 positive
- ✚ CD3 是 T cell marker, T lymphoid cell 會 positive
- ✚ Ki67 是 cell cycle marker, 用來當作 cell proliferation marker, DLBCL 大概有 30-100% 會 positive, DLBCL 的 case 中 positive 的比例很高, 通常 tumors 有 80% 以上 positive, 就可以被認為是 proliferative or aggressive tumors
- ✚ Bcl-2 是 anti-apoptotic protein, DLBCL 中大概有 30-60% 會 positive, 而 Bcl-2 和 survival rate 有關聯
- ✚ Bcl-6 是一個 selective marker 對於 germinal center B cell, 而 DLBCL 的比例大概

57-100%

- ✚ MUM1 是 lymphoid-specific member 中 interferon regulatory factor, transcription factor, 主要是和 cytoplasmic positivity 有關, DLBCL 中大概有 50-75% 會 positive, 通常被用來當 non-GCB 的一個 marker
- ✚ B-cell 正常的 differentiation 中, 分為 pre-germinal center, germinal center, post-germinal center
- ✚ Pre-germinal center B-cell 是 virgin B cell, germinal center 的 B cell 包含 small blast cells, centroblasts, centrocytes and occasionally plasma cells, 而進入 post-germinal center, 細胞大都為 memory cells or plasma cells
- ✚ 正常的 germinal center B cell 會對 CD10 和 Bcl6 呈 positive, MUM1 和 CD138 會對 post-germinal center 呈 positive
- ✚ 無論在 apoptotic pathway or cellular proliferation pathways 都有可能發生變異, DLBCL 中最常發生 translocation 的就是 t(14;18) and t(3;14)
 - ◇ t(14;18)+Bcl2 → apoptotic pathway 第 18 號
 - ◇ t(3;14)+Bcl6 → cellular proliferation pathway 第 14 號
- ✚ 另外提到一些 proliferative protein c-myc(抑制原癌基因)及 p53 protein 也都和 DLBCL 有關
- ✚ 1990 年代,由五個臨床參數組成(international prognostic index, IPI), 包括 age, stage of disease, extranodal site, performance status and serum lactate dehydrogenase(LDH) level
- ✚ Low risk IPI 五年存活率約 73%, 而 high risk IPI 五年存活率約 26%
- ✚ 很多年前就都指出 GCB subgroup 的預後比 non-GCB subgroup 好, 因為 non-GCB subgroup 時常侵犯 central nervous system, gastrointestinal tract, breasts, testes 等等, 在本篇文章中就有超過一半的 non-GCB 病人死亡
- ✚ 近年來 DLBCL 的治療使用 multiple agent chemotherapy(CHOP, cyclophosphamide, hydroxyoxorubicin, oncovin and prednisone), early stage 的病人通常接受 chemotherapy 或者 chemotherapy 合併 RT, chemotherapy 通常是 3 個 cycle 的 CHOP
- ✚ 如果治療沒有效果的話會考慮 bone marrow transplant, 手術是很少考慮的, 在比較 advanced stage disease 可以考慮其他的化療藥物, 例如: methotrexate, bleomycin, doxorubicin, vincristin, dexamethasone and leukovorin, etoposide, mechlorethamine, procarbazine, cytarabine
- ✚ 在近年的研究中, Natkunam 等學者研究接受 rituximab(CD20 單株抗體, 維持性治療)治療的病人, 發現 Han's classification 不能預測 outcome

Conclusion

- ✚ 一些相似的研究, breast and testes 的 DLBCL 也指出 non-GCB subgroup 有 high proliferative rate and poor prognosis
- ✚ 病理科醫師和臨床醫師都應該了解 GCB 和 non-GCB 預後的差異, 有助於安排病人之後評估及治療
- ✚ 不過因為目前的 cases 數量不多而且 follow-up 時間也不常(<5 years), 所以更多的研究是必須的

- ✚ 但無論如何，可以利用相對便宜的 immunohistochemistry 來將 DLBCL 分為兩個 subgroup 已經進入成形階段

題號	題目
1	請問下列有關NHL的敘述何者錯誤? (A) 只能在lymph node發現 (B) EBV和Burkitt's lymphoma有關 (C) HHV8和primary body cavity lymphoma有關 (D) HTLV-1和 peripheral T-cell lymphoma有關
答案(A)	出處：Oral and Maxillofacial PATHOLOGY, third edition, P518
題號	題目
2	下列有關NHL的敘述何者錯誤? (A) 在東方人身上，發生在extranodal的機率較高 (B) DLBCL是屬於low grade的NHL (C) 通常都是nontender的mass (D) DLBCL通常都是在幾個月之內就會長到很大
答案(B)	出處：Oral and Maxillofacial PATHOLOGY, third edition, P518