Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom: význam genetických změn

Helena Urbánková¹, Michaela Vatolíková¹, Vít Procházka¹

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého a Fakultní nemocnice Olomouc

Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom je samostatnou klinicky, histopatologicky a molekulárně geneticky definovanou podskupinou difuzního velkobuněčného B-lymfomu, která vyžaduje specifický léčebný přístup. Jsou popsány rekurentní genetické změny, které jsou pro toto onemocnění charakteristické. Mezi nejčastější získané aberace patří bodové mutace, strukturální přestavby a početní změny genů *PDL1*, *PDL2*, *CIITA*, *JAK2*, *REL*. Dochází tak k deregulaci NF-κB a JAK/STAT signálních drah, které hrají roli v regulaci genové exprese, buněčného cyklu a apoptózy a ke změnám povrchových antigenů, které mají dopad na komunikaci mezi buňkami imunitního systému. Potřeba diagnostických technik použitelných v rutinních laboratořích k odlišení tohoto onemocnění od ostatních velkobuněčných B-lymfomů je zřejmá. Genetické aberace mohou mít kromě prognostického významu i význam prediktivní u nově diagnostikovaného lymfomu tohoto typu, ale i v relapsu/progresi onemocnění, a do budoucna by se mohly stát novými terapeutickými cíli.

Klíčová slova: primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom, molekulárně genetické změny, *CIITA*, *PDL1*, *PDL2*, *JAK2*.

Primary mediastinal large B-cell lymphoma: the importance of genetic changes

Primary mediastinal large B-cell lymphoma is a separate entity defined by clinical, histopathological and molecular biological parameters. It represents a subgroup of diffuse large B-cell lymphomas that requires a specific treatment approach. Recurrent genetic changes characteristic for this disease are described. The most common acquired aberrations include point mutations, structural rearrangements and numerical changes in the *PDL1*, *PDL2*, *CIITA*, *JAK2* and *REL* genes. This results in deregulation of NF-κB and JAK / STAT signaling pathways, which play a role in the regulation of gene expression, cell cycle and apoptosis, and changes in surface antigens that affect a cross-talk between immune cells. The need for diagnostic techniques applicable in routine laboratories to distinguish this disease from other large B-cell lymphomas is obvious. In addition to prognostic significance, genetic aberrations may also have a predictive value in newly diagnosed lymphoma of this type, but also in relapse/progression of the disease and could become new therapeutic targets in the future.

Key words: primary mediastinal large B-cell lymphoma, molecular genetic changes, *CIITA*, *PDL1*, *PDL2*, *JAK2*.

Úvod

Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom (PMBCL) je klinicky, histopatologicky a molekulárně geneticky definovanou podskupinou difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL) již od roku 2003, a byl zahrnut jako samostatná diagnostická entita do klasifikace WHO (World Health Organisation) z roku 2008 (1). Jedná se o skupinu dříve neléčených zralých agresivních CD20 pozitivních lymfomů mož-

ného thymického původu, které se od velkobuněčného B-lymfomu liší svou molekulárně genetickou, imunofenotypickou, histopatologickou a klinickou charakteristikou (2). PMBCL představuje 2–3 % nehodgkinských lymfomů a vzniká netypicky především u mladých lidí (medián věku 35 let) s převažujícím výskytem u žen (2 : 1). Pro většinu pacientů je charakteristická dominantní nádorová masa v předním mediastinu s častou invazí do plic, pleury, pe-

rikardu a hrudní stěny, avšak bez infiltrace do sleziny, CNS a kostní dřeně. Většina pacientů je v době diagnózy onemocnění v klinickém stadiu I-II, výjimečně ve stadiu IV, a to pouze na základě extranodálního postižení hrudníku. Při progresi onemocnění je extranodální postižení (ledviny, nadledvinky, játra a CNS) běžné.

Diagnózu je nutno potvrdit histologicky, doporučuje se, aby imunohistochemický panel obsahoval tyto markery: CD45, CD20,

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

Mgr. Helena Urbánková, Ph.D., Helena.Urbankova@fnol.cz

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc, I. P. Pavlova 6, 779 00 Olomouc

Cit. zkr: Onkologie 2020; 14(3): 117–121

Článek přijat redakcí: 17. 4. 2020

Článek přijat k publikaci: 10. 5. 2020

Obr. 1. Výsledek fluorescenční *in situ* hybridizace se sondou XL JAK2 amp (MetaSystems) provedené na buňkách lymfatické uzliny pacienta s PMBCL v Laboratoři cytogenetiky a molekulární cytogenetiky Hemato-onkologické kliniky Fakultní nemocnice v Olomouci. Červený signál pokrývá oblast genu JAK2 (9p24.1), kontrolní oblast 9q22 je značena zeleně. V interfázních buňkách bylo nalezeno 4–5 kopií oblasti 9p24.1, což odpovídá přítomnosti izochromozomu tvořeného krátkými rameny chromozomu 9 a derivovaného chromozomu 4, na který se translokovala zmnožená oblast 9p. Tyto aberace byly součástí dvou patologických klonů s komplexním karyotypem: 48,XY,+X,der(4)t(4;9)(q35;p23),+i(9)(p10),del(16)(q21)/48,X,-Y,+X,der(7)t(X;7)(q24;p21),+i(9)(p10),+12,del(16)(q21)

CD30, CD15, CD10, BCL6, BCL2, MUM-1. PMBCL exprimují B-buněčné antigeny jako jsou CD19, CD20, CD22 a CD79a, ale většinou neexprimují imunoglobulinové geny navzdory jejich funkční přestavbě. Nádorové buňky jsou často IRF4/MUM1 (interferon regulatory factor 4/multiple myeloma oncogene 1) pozitivní (75 % případů) a mají variabilní expresi BCL2 (B-cell lymphoma 2) (55–80 %) a BCL6 (B-cell lymphoma 6) (45–100 %) antigenů. Méně často exprimují znaky CD10 a CD11c, zatímco až v 70 % případů exprimují CD23, antigen MAL (myelin and lymphocyte protein) a molekuly imunitních kontrolních bodů PDL1 a PDL2 (programmed cell death ligand 1 a 2). V některých případech je přítomná exprese onkogenního transkripčního faktoru MYC (30 % a více), nezávisle na jeho genetických aberacích. Typická je aberantní exprese faktoru nádorové nekrózy TNFAIP2 (tumor necrosis factor α induced protein 2), adhezního proteinu ICAM1 (intercellular adhesion molecule 1; také CD54), antigenu CD95 (FAS; FS-7-associated surface antigen) a transkripčního faktoru REL (avian reticuloendotheliosis) (3).

PMBCL má typický a jedinečný genový expresní profil, který ho odlišuje od ostatních velkobuněčných B-lymfomů, ale zároveň sdílí určité charakteristické rysy s klasickým Hodgkinovým lymfomem (CHL) (4, 5). Předpokládá se, že PMBCL vzniká v germinálních nebo postgerminálních centrech v důsledku hypermutací genů BCL6 a IGH (immunoglobulin heavy chain), které jsou markery průchodu B-buněk germinálními centry. Vzhledem k tomu, že thymické B-buňky mají podobné spektrum mutací, jsou považovány za tzv. „cell of origin“ buňky, ze kterých PMBCL vzniká.

PMBCL je spojený s lepší prognózou než DLBCL a moderní imunochemoterapeutické režimy na bázi antracyklinu v kombinaci s biologickou terapií rituximabem, alternativně v kombinaci s radioterapií vykazují vysokou úspěšnost léčby jak u dětí, tak u dospělých (6, 7). Přesto však existuje asi 20 % nemocných, kteří na současné postupy imunochemoterapie nereagují, a nové prediktivní markery by mohly tyto nemocné v riziku časného selhání terapie

identifikovat. Nemocní s primárně refrakterním/relabujícím onemocněním mají omezené léčebné možnosti. Léčebně se uplatňuje záchranná chemoterapie (platinový režim) s autologní/alogení transplantací periferních kmenových buněk a dále léčba imunitními checkpoint inhibitory (pembrolizumab) (8, 9). Ukazuje se, že například změny genů kódujících dráhu programované buněčné smrti, které vedou k oslabení T-lymfocytární imunity nemocného, mají vztah k prognóze pacientů jak s nově diagnostikovaným, tak relabovaným lymfomem (10, 11). Přesná cytogenetická a molekulárně genetická analýza nádoru je v éře nástupu nových postupů jako například imunitních check-point inhibitorů (nivolumab, pembrolizumab), JAK2 (Janus kinase 2) inhibitorů (ruxolitinib), konjugátů protilátek a toxinu (antibody-drug conjugates) a T-lymfocyty zprostředkované terapie (CAR-T terapie, bispecifické protilátky) zásadní pro správnou identifikaci nemocných (9, 12–14).

Genetické změny u PMBCL

Přestavby genů *BCL2*, *BCL6* a *MYC* jsou málo časté (15–17), u PMBCL byly popsány pouze jejich amplifikace (18). Charakteristickou aberací jsou však u PMBCL přestavby nebo mutace genu *CIITA* (class II transactivator) lokalizovaného na krátkých ramenech chromozomu 16 (16p13.13), které se vyskytují až u 70 % PMBCL pacientů (19). Jedná se o mutace v kódujících sekvencích, delece a chromozomální translokace. *CIITA* je transkripční regulátor hlavního histokompatibilního systému (MHC, main histocompatible complex) II. třídy a jeho aberace vedou k downregulaci exprese molekul MHC II. třídy, čímž vzniká imunitně zvýhodněný fenotyp. Translokace genu *CIITA* často zahrnují jako partnerský lokus *PDL1* (tzv. *PDCD1LG1* nebo také *CD274*) a *PDL2* (*PDCD1LG2*) geny, které ale mohou vytvářet fúze i s jinými partnery (20, 21). Společně se zmnožením genetického materiálu chromozomu 9 (9p24.1) zahrnujícím v 75 % případů geny *JAK2*, *PDL1* a *PDL2* (22, 23), mohou tyto aberace *PDL* lokusu vysvětlovat často zvýšenou expresi *PDL1* a *PDL2* genů u pacientů s PMBCL (24, 25). Fluorescenční *in situ* hybridizací (FISH) bylo prokázáno zmnožení/amplifikace tohoto lokusu ve 29 % a jeho specifické přestavby ve 20 % případů PMBCL (21) (obrázek 1). Obojí, zmnožení i strukturální přestavby, vedou ke zvýšeným hladinám jak transkriptu, tak proteinu PDL1 a PDL2 (24). Tento unikátní

Obr. 2. Přehledné znázornění deregulovaných procesů v PMBCL buňce a jejím nádorovém mikroprostředí; deregulací JAK/STAT signalizace (levá část obrázku) dochází k poruchám imunitní odpovědi, červeně jsou znázorněny aktivující genetické aberace, modře inaktivující změny nejdůležitějších komponent signální dráhy; jejich důsledkem je upregulace PDL1/2 a CCL17 (C–C motif chemokine ligand 17), která vede ke snížení imunogenity nádorových buněk; mikrolece CD58 a mutace/přestavby *CIITA* snižují nádorovou antigenitu; tyto mechanizmy imunitních únikových strategií vedou k vyčerpání T-buněk, aktivaci supresivních regulačních T-lymfocytů a poruše protinádorového imunitního dohledu; dopad genetických aberací jednotlivých komponent kanonické a nekanonické NF-κB signalizace je znázorněn v pravé části obrázku (volně převzato podle Lees C a kol., 2019) (14)

genetický profil s alteracemi genu *CIITA* a ziskem kopií/amplifikacemi lokusu *PDL* (u 29–70 % případů) se objevuje téměř výhradně u PMBCL, je unikátní napříč B-velkobuněčnými lymfomy, ačkoli vykazuje jistou podobnost s nálezem u klasického Hodgkinova lymfomu (cHL) (20, 21, 26).

Přibližně u třetiny pacientů s PMBCL jsou dále popsána zmnóžení genetického materiálu v chromozomových oblastech Xp11.4–21, Xq24–26, 7q22, 12q31 a 9q34 (22). Pacienti s PMBCL mají konstitutivně aktivovanou dráhu NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) (27), což může být způsobeno mimo jiné také delečními mutacemi v genu *TNFAIP3* (tumor necrosis factor α induced protein 3), které se vyskytují až u 60 % pacientů (28, 29).

Deregulace NF-κB signalizace

Dráha NF-κB je zásadní pro vývoj, přežití a aktivaci B-lymfocytů a její deregulace je součástí mnoha B-buněčných malignit, včetně PMBCL. Genové expresní profilování PMBCL prokázalo zvýšenou expresi genů *TNF* (tumor necrosis factor) a genu *TRAF1* (TNF receptor-associated factor 1) (17). Tato zvýšená exprese vede ke zvýšené aktivaci anti-apoptotických

genů (BCL2 rodiny), kaspáz (např. kaspázy-3) a ke zvýšené transkripci regulátorů buněčného cyklu (cyklinů D1 a D2), což vede k maligní proliferaci (30). Více než 75 % případů PMBCL má typicky zmnóžení chromozomové oblasti 2p16.1, které koreluje se zvýšenou jadernou expresí a aktivací NF-κB dráhy (31, 32). V této oblasti jsou lokalizovány kandidátní geny *REL* a *BCL11A* (B-cell CLL/lymphoma 11A). Zvýšený počet kopií těchto genů vede k časté, ačkoli nekonzistentní, akumulaci jejich proteinů v jádře (31, 33). Dále jsou u PMBCL popsány amplifikace NF-κB regulátorů *BCL10* (B-cell lymphoma 10) a *MALT1* (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation gene 1), které vedou k zablokování diferenciace, inhibují apoptózu a podporují proliferaci buněk (18).

Deregulace JAK/STAT dráhy

Deregulace JAK/STAT dráhy (Janus kinase – signal transducer and activator of transcription) obecně vede v postižených buňkách ke konstitutivní expresi klíčových genů maligní transformace. Aberantně exprimované geny vedou k onkogenní aktivaci, umlčení tumor-supresorových genů, abnormální proliferaci,

nádorovému růstu a vzniku metastáz. Nemocní s PMBCL mají stejně jako pacienti s cHL konstitutivně aktivovanou signální dráhu JAK/STAT, což je často spojeno s inaktivními mutacemi genu *SOCS1* (suppressor of cytokine signaling 1) (34–36). Další mutace postihují DNA vazebnou doménu genu *STAT6* (signal transducer and activator of transcription 6), který hraje klíčovou roli v modulaci imunitního systému. Rekurentní bodové mutace v tomto genu byly popsány u 36 % pacientů s PMBCL (37). Také mutace genu *PTPN1* (protein-tyrosine phosphatase, nonreceptor-type 1), negativního regulátoru JAK/STAT signalizace, nacházíme u PMBCL často (25 %), zatímco u DLBCL téměř chybí (28, 38, 39).

Jako mutační mechanismus se u PMBCL jeví nejpravděpodobnější aberantní AID (activation-induced cytidine deaminase) – zprostředkovaná somatická hypermutace (19) s detekovanými mutacemi genu *BCL6* přibližně u poloviny případů (40). Často jsou mutacemi zasaženy potenciální onkogeny *ITPKB* (inositol 1,4,5-trisphosphate 3-kinase) a *MFHAS1* (malignant fibrous histiocytoma-amplified sequence 1) a také protonkogen *XPO1* (exportin 1), jejichž role ve

vývoji a průběhu PMBCL zatím nebyla zcela objasněna (28). Přehledné schéma deregulovaných procesů v PMBCL buňce a jejím nádorovém mikroprostředí je znázorněno na obrázku 2. Detekce deregulace jednotlivých drah je v praxi možná nejčastěji na proteinové úrovni – pomocí imunohistochemického průkazu antigenů, případně pomocí průkazu konkrétních genetických změn (FISH) na parafinových řezech. Situaci komplikuje samotná povaha nádoru, který je často tvořen fibrózní tkání s omezeným množstvím diagnostického materiálu. Proto jsou vkládány naděje do nových metod neinvazivní analýzy volné nádorové DNA v periferní krvi pacientů, která se v případě příbuzného Hodgkinova lymfomu, nodulární sklerózy, ukazuje jako vhodný nástroj pro genotypizaci (41).

Metody detekce genetických změn

Genové expresní profilování by se mělo v budoucnu stát integrovanou součástí diagnostiky PMBCL, ukazuje se, že dokáže spolehlivě zařadit až 80 % případů (42). Zatím je však tato metoda pro většinu rutinních diagnostických laboratoří v České republice příliš náročná, jak finančně, tak i technicky. Velkým problémem v diagnostice PMBCL je nedostupnost nádorové tkáně pro cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření, která vyžadují nativní buňky, popř. RNA vysoké kvality získané z čerstvě zamražené nádorové tkáně. Přitom právě klasická cytogenetika a metody molekula-

ární cytogenetiky jako je FISH a arrayCGH (array komparativní genomová hybridizace) by mohly poskytnout více informací o komplexních a složitých genetických změnách odehrávajících se na úrovni jednotlivých nádorových buněk a mohly by tak přispět k odhalení potenciálních prediktivních markerů onemocnění. Proto se stále hledají alternativy, které by dokázaly vyšetření chromozomových změn a genové exprese provést i na FFPE (formalin fixed paraffin-embedded) bločcích nádorových tkání. Běžně využívané jsou imunohistochemické techniky (43) a RTqPCR (real-time kvantitativní polymerázová řetězová reakce) zaměřená jen na omezený počet kandidátních genů (44). Také PDL2 RNA *in situ* hybridizace je zkoumána jako možná vysoce citlivá a specifická alternativa k imunohistochemickému vyšetření (45). Některé chromozomové změny je možné vyšetřit z FFPE vzorků také metodou FISH, ale jen v omezeném rozsahu a úspěšnost hybridizace velmi záleží na kvalitě preparátu. Proto se dále intenzivně hledají vhodnější metodiky, jako velice slibná se jeví 58-genová expresní technika Lymph3Cx, kterou lze použít i na FFPE vzorky tkání (46). Tato metoda je však stále pro většinu laboratoří finančně nedostupná. Velký potenciál mají také sekvenční techniky, které by s pečlivě definovaným panelem genů podléhajících mutacím byly vhodnými kandidáty na subklasifikaci pacientů s DLBCL (28). Narážejí však stejně jako ostatní metody na problém s dostupností nádorového vzorku.

Závěr

V případech PMBCL jsou popsány rekurentní genetické změny, které jsou pro toto onemocnění charakteristické. Mezi nejčastější získané aberace patří bodové mutace, strukturální přestavby a početní změny genů *PDL1*, *PDL2*, *CIITA*, *JAK2*, *REL*. Dochází tak k deregulaci NF-κB a JAK/STAT signálních drah, které hrají roli v regulaci genové exprese, buněčného cyklu a apoptózy a ke změnám povrchových antigenů, které mají dopad na komunikaci mezi buňkami imunitního systému. Praktické, spolehlivé a finančně nenáročné metody, které by stanovily přítomnost těchto molekulárně genetických markerů, však stále v rutinní diagnostické praxi chybí. Cytogenetická a molekulárně biologická vyšetření, která by byla cenným zdrojem informací o biologii a charakteru tohoto onemocnění, narážejí na obtížnou dostupnost nativní nádorové tkáně. V tuto chvíli nemáme u PMBCL použitelné genetické prediktory léčebné odpovědi pro rutinní praxi. Včasná identifikace rizikových pacientů za pomocí molekulárně genetických metod by přitom umožnila odlišit pacienty, kteří nevyžadují intenzivní chemoterapeutické režimy od pacientů, pro které je naopak třeba hledat nové léčebné alternativy. Pochopení fungování jednotlivých drah v budoucnu umožní přesnější zacílení terapie imunitními checkpoint inhibitory, hledání nových účinných molekul, ale také významně zpřesní diagnostické vyhranění PMBCL.

Práce je podpořena granty IGA_LF_2020_002 a MZ ČR_RVO (FNOL, 00098892).

LITERATURA

- Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011; 117(19): 5019–5032.
- Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Kamburov A, Redd RA, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med* 2018; 24(5): 679–690.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Revised 4th Edition. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC); 2017: 216–221 p.
- Rosenwald A, Staudt LM. Gene expression profiling of diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003; 44(Suppl 3): S41–47.
- Manso BA, Wenzl K, Asmann YW, Maurer MJ, Manske M, Yang ZZ, et al. Whole-exome analysis reveals novel somatic genomic alterations associated with cell of origin in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J* 2017; 7(4): e553.
- Dunleavy K, Pittaluga S, Maeda LS, Advani R, Chen CC, Hessler J, et al. Dose-adjusted EPOCH-rituximab therapy in primary mediastinal B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 368(15): 1408–1416.
- Woessmann W, Lisfeld J, Burkhardt B, Group N-BS. Therapy in primary mediastinal B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 369(3): 282.
- Belada D, Trněný M, et al. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy. X. vydání, Belada D, Trněný M, editors. Hradec Králové: HK CREDIT s.r.o.; srpen 2018: 266 p.
- Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Wienand K, Kamburov A, et al. Genomic analyses of PMBL reveal new drivers and mechanisms of sensitivity to PD-1 blockade. *Blood* 2019; 134(26): 2369–2382.
- Ansell SM, Minnema MC, Johnson P, Timmerman JM, Armand P, Shipp MA, et al. Nivolumab for Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Patients Ineligible for or Having Failed Autologous Transplantation: A Single-Arm, Phase II Study. *J Clin Oncol* 2019; 37(6): 481–489.
- Armand P, Rodig S, Melnichenko V, Thieblemont C, Bouabdallah K, Tumyan G, et al. Pembrolizumab in Relapsed or Refractory Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol* 2019; 37(34): 3291–3299.
- Mottok A, Hung SS, Chavez EA, Woolcock B, Telenius A, Chong LC, et al. Integrative genomic analysis identifies key pathogenic mechanisms in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2019; 134(10): 802–813.
- Kim SJ, Yoon DH, Kang HJ, Hong JY, Lee HS, Oh SY, et al. Ruxolitinib shows activity against Hodgkin lymphoma but not primary mediastinal large B-cell lymphoma. *BMC Cancer* 2019; 19(1): 1080.
- Lees C, Keane C, Gandhi MK, Gunawardana J. Biology and therapy of primary mediastinal B-cell lymphoma: current status and future directions. *Br J Haematol* 2019; 185(1): 25–41.
- Scarpa A, Moore PS, Rigaud G, Inghirami G, Montresor M, Menegazzi M, et al. Molecular features of primary mediastinal B-cell lymphoma: involvement of p16INK4A, p53 and c-myc. *Br J Haematol* 1999; 107(1): 106–113.
- Tsang P, Cesarman E, Chadburn A, Liu YF, Knowles DM. Molecular characterization of primary mediastinal B cell lymphoma. *Am J Pathol* 1996; 148(6): 2017–2025.
- Savage KJ, Monti S, Kutok JL, Cattoretti G, Neuberg D, De Leval L, et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102(12): 3871–3879.
- Wessendorf S, Barth TF, Viardot A, Mueller A, Kestler HA, Kohlhammer H, et al. Further delineation of chromosomal consensus regions in primary mediastinal B-cell lymphomas: an analysis of 37 tumor samples using high-resolution geno-

- mic profiling (array-CGH). *Leukemia* 2007; 21(12): 2463–2469.
19. Mottok A, Woolcock B, Chan FC, Tong KM, Chong L, Farinha P, et al. Genomic Alterations in CLTA Are Frequent in Primary Mediastinal Large B Cell Lymphoma and Are Associated with Diminished MHC Class II Expression. *Cell Rep* 2015; 13(7): 1418–1431.
 20. Steidl C, Shah SP, Woolcock BW, Rui L, Kawahara M, Farinha P, et al. MHC class II transactivator CLTA is a recurrent gene fusion partner in lymphoid cancers. *Nature* 2011; 471(7338): 377–381.
 21. Twa DD, Chan FC, Ben-Neriah S, Woolcock BW, Mottok A, Tan KL, et al. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2014; 123(13): 2062–2065.
 22. Bentz M, Barth TF, Bruderlein S, Bock D, Schwerer MJ, Baudis M, et al. Gain of chromosome arm 9p is characteristic of primary mediastinal B-cell lymphoma (MBL): comprehensive molecular cytogenetic analysis and presentation of a novel MBL cell line. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 30(4): 393–401.
 23. Joos S, Otano-Joos MI, Ziegler S, Bruderlein S, du Manoir S, Bentz M, et al. Primary mediastinal (thymic) B-cell lymphoma is characterized by gains of chromosomal material including 9p and amplification of the REL gene. *Blood* 1996; 87(4): 1571–1578.
 24. Shi M, Roemer MG, Chapuy B, Liao X, Sun H, Pinkus GS, et al. Expression of programmed cell death 1 ligand 2 (PD-L2) is a distinguishing feature of primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma and associated with PDCD1LG2 copy gain. *Am J Surg Pathol* 2014; 38(12): 1715–1723.
 25. Wang Y, Wenzl K, Manske MK, Asmann YW, Sarangi V, Greipp PT, et al. Amplification of 9p24.1 in diffuse large B-cell lymphoma identifies a unique subset of cases that resemble primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood Cancer J* 2019; 9(9): 73.
 26. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2010; 116(17): 3268–3277.
 27. Feuerhake F, Kutok JL, Monti S, Chen W, LaCasce AS, Cattoretti G, et al. NF-kappaB activity, function, and target-gene signatures in primary mediastinal large B-cell lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma subtypes. *Blood* 2005; 106(4): 1392–1399.
 28. Dubois S, Vially PJ, Mareschal S, Bohers E, Bertrand P, Ruminy P, et al. Next-Generation Sequencing in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Highlights Molecular Divergence and Therapeutic Opportunities: a LYSA Study. *Clin Cancer Res* 2016; 22(12): 2919–2928.
 29. Schmitz R, Hansmann ML, Bohle V, Martin-Subero JI, Hartmann S, Mechttersheimer G, et al. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med* 2009; 206(5): 981–989.
 30. Hinz M, Loser P, Mathas S, Krappmann D, Dorken B, Scheidereit C. Constitutive NF-kappaB maintains high expression of a characteristic gene network, including CD40, CD86, and a set of antiapoptotic genes in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Blood* 2001; 97(9): 2798–807.
 31. Weniger MA, Gesk S, Ehrlich S, Martin-Subero JI, Dyer MJ, Siebert R, et al. Gains of REL in primary mediastinal B-cell lymphoma coincide with nuclear accumulation of REL protein. *Genes Chromosomes Cancer* 2007; 46(4): 406–415.
 32. Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V, et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* 2005; 106(9): 3183–3190.
 33. Rodig SJ, Savage KJ, LaCasce AS, Weng AP, Harris NL, Shipp MA, et al. Expression of TRAF1 and nuclear c-Rel distinguishes primary mediastinal large cell lymphoma from other types of diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2007; 31(1): 106–12.
 34. Weniger MA, Melzner I, Menz CK, Wegener S, Bucur AJ, Dorsch K, et al. Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation. *Oncogene* 2006; 25(18): 2679–84.
 35. Melzner I, Bucur AJ, Bruderlein S, Dorsch K, Hasel C, Barth TF, et al. Biallelic mutation of SOCS-1 impairs JAK2 degradation and sustains phospho-JAK2 action in the MedB-1 mediastinal lymphoma line. *Blood* 2005; 105(6): 2535–42.
 36. Steidl C, Gascoyne RD. The molecular pathogenesis of primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2011; 118(10): 2659–69.
 37. Ritz O, Guiter C, Castellano F, Dorsch K, Melzner J, Jais JP, et al. Recurrent mutations of the STAT6 DNA binding domain in primary mediastinal B-cell lymphoma. *Blood* 2009; 114(6): 1236–42.
 38. Gunawardana J, Chan FC, Telenius A, Woolcock B, Kridel R, Tan KL, et al. Recurrent somatic mutations of PTPN1 in primary mediastinal B cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Nat Genet* 2014; 46(4): 329–35.
 39. Leroy K, Pujals A, Pelletier L. Targeting STAT6 in PMBL. *Oncotarget* 2014; 5(17): 7216.
 40. Malpeli G, Barbi S, Moore PS, Scardoni M, Chilosì M, Scarpa A, et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma: hypermutation of the BCL6 gene targets motifs different from those in diffuse large B-cell and follicular lymphomas. *Haematologica* 2004; 89(9): 1091–1099.
 41. Spina V, Brusca A, Cuccaro A, Martini M, Di Trani M, Forestieri G, et al. Circulating tumor DNA reveals genetics, clonal evolution, and residual disease in classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018; 131(22): 2413–2425.
 42. Scott DW, Wright GW, Williams PM, Lih CJ, Walsh W, Jaffe ES, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 2014; 123(8): 1214–7.
 43. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103(1): 275–82.
 44. Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, Wechsler MA, Tibshirani R, Botstein D, et al. Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004; 350(18): 1828–1837.
 45. Wang Z, Cook JR. PDCD1LG2 (PD-L2) RNA in situ hybridization is a sensitive, specific, and practical marker of primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Br J Haematol* 2018; 181(4): 564–566.
 46. Mottok A, Wright G, Rosenwald A, Ott G, Ramsower C, Campo E, et al. Molecular classification of primary mediastinal large B-cell lymphoma using routinely available tissue specimens. *Blood* 2018; 132(22): 2401–2405.