

Gray-zone Lymphoma Between cHL and Large B-Cell Lymphoma

A Histopathologic Series From the LYSA

韩梅

2019. 4.10

-----Am J Surg Pathol 2019;43:341-351

经典型霍奇金淋巴瘤（CHL）

形态学：淋巴结结构破坏。病变中有数量不等的HRS细胞(陷窝细胞)，并混杂大量的炎症反应性背景细胞。小淋巴细胞和其他非肿瘤性炎性细胞数量变化很大。

CHL的HRS：胞质丰富，微嗜碱性的大细胞，至少有两个核或分叶状核，核大，常呈圆形，核膜常不规则，染色质淡，单个嗜酸性核仁，核周有空晕。看起来像是病毒包涵体。

诊断性RS细胞：必须是每个核叶至少有一个核仁，
霍奇金细胞：单核型的大细胞，为肿瘤细胞变异型。
“干尸”细胞：细胞质致密，核固缩、深染。

免疫表型：

HRS细胞：CD30弥漫强（+），CD15（+） / （-），pax5（+）；
其他B细胞抗原罕见阳性，或是弱阳性。

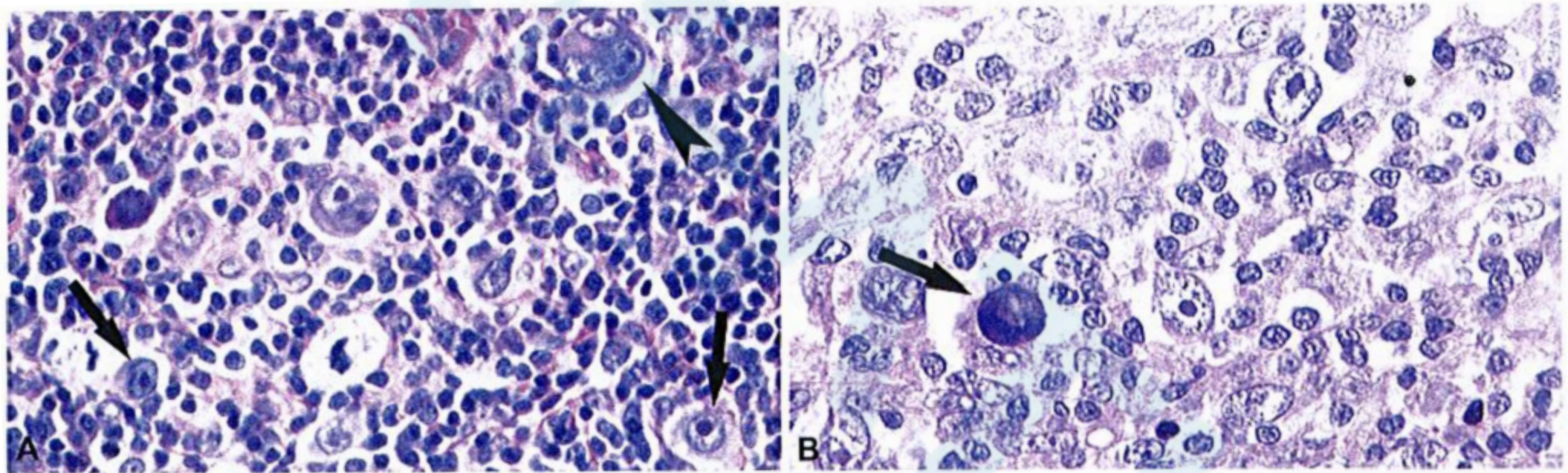


图 12.09 经典霍奇金淋巴瘤。A 单核型霍奇金细胞（箭）和多核型 RS 细胞（箭头），背景中丰富的嗜酸性粒细胞。
B 一个“木乃伊”细胞（箭头）和四个单核型霍奇金细胞。

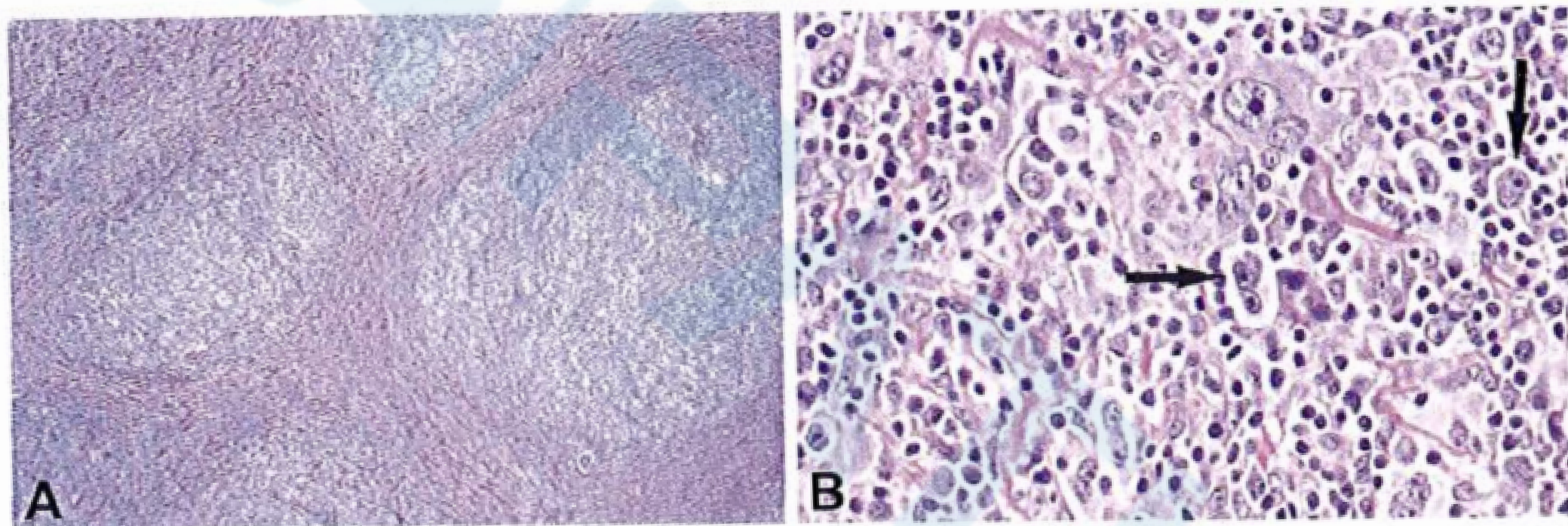


图 12.16 经典霍奇金淋巴瘤结节硬化型。A 纤维条带将淋巴结分隔成多个结节。B 经典霍奇金淋巴瘤结节硬化型。可见几个陷窝细胞。

弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)

- **形态学（淋巴结病变）**：大淋巴细胞弥漫性增生，**淋巴结结构完全(常见)或部分破坏**，部分累及滤泡间区，较少累及淋巴窦。
结外组织经常受累，有时可见到粗大或纤细的硬化纤维。
肿瘤细胞：比正常淋巴细胞大2倍以上。
- **变异型**：中心母细胞变异型；
免疫母细胞变异型
间变型
- **免疫表型**：表达广泛的**B细胞抗原标记物**（CD19,CD20,CD22,CD79a），
可以表达CD30,特别是间变型。
10%的病例表达CD5.其KI-67一般大于40%。
- 其他抗原表达不一：**CD10(30-60%)**,**Bcl-6(60-90%)**,
IRF4/MUM1(35-65%);**P53(20-60%)**.
- 基因：**Bcl-6**基因异位；**Bcl-2,myc**重排等

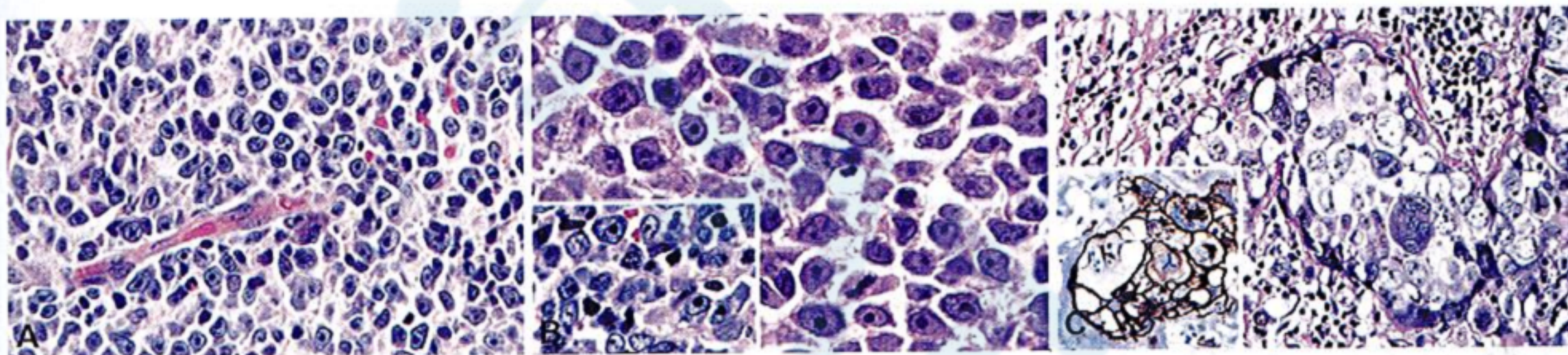


图 10.84 弥漫大 B 细胞淋巴瘤。A 免疫母细胞变异型，肿瘤细胞形态学表现一致。B 免疫母细胞变异型，几乎所有淋巴瘤细胞都有明显的中位核仁。C 间变型，窦内浸润的大淋巴细胞，核异形性明显，插入的图片显示肿瘤细胞 CD20 呈膜和核旁阳性。

原发纵膈大B 细胞淋巴瘤（PMBL）

形态学：

在不同的PMBL中，表现出广泛的形态学/细胞学谱系，常可见**分割性泡状纤维化**。**肿瘤细胞**中等偏大，胞浆丰富、淡染，核圆形/椭圆形。部分病例中，**淋巴细胞**可表现为多形性和/或多个分叶核，**类似于R-S细胞**，此时应注意与霍奇金淋巴瘤鉴别。

免疫表型：

B细胞抗原，CD19,CD20,CD22,CD79a,

80%的病例表达CD30,与霍奇金淋巴瘤相比，CD30表达弱阳性，强弱不等，CD15偶尔阳性。

肿瘤细胞常表达IRF4/MUM1(75%),CD23(70%),不同程度地表达Bcl-2和Bcl-6。

肿瘤细胞MAL抗原，CD54和CD95常阳性。

大多数HLA-I级和/或HLA-II级分子表达常不同程度地丢失。

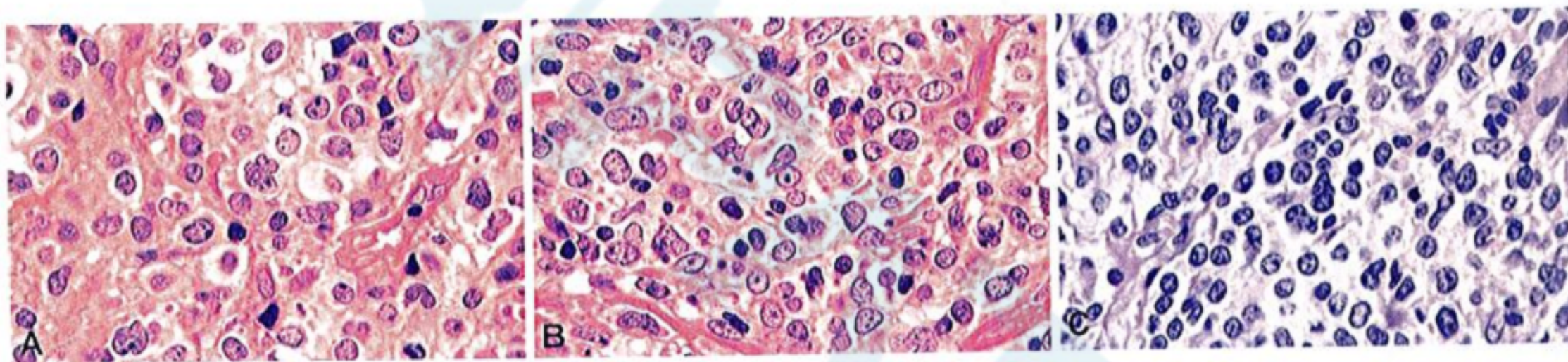


图 10.102 原发纵膈大 B 细胞淋巴瘤 A 核圆形（中心母细胞样），有时呈分叶状核。B 大细胞成片分布，胞浆丰富、淡染，淋巴瘤细胞被胶原纤维分隔。C 胞浆丰富、透明的中等大小细胞。

WHO

B细胞淋巴瘤，特征介于弥漫大**B**细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间不能分类型

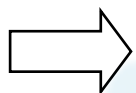
临床特征、形态和/或免疫表型上的重叠，其特征介于**CHL&DLBCL**(特别**PMBL**)

通常与纵膈疾病相关，也可原发于外周淋巴结

ICD-O:9680/3

GZL

流行病学



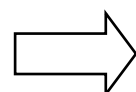
年轻男性，**20-40**岁多见，
西方多见

病因学



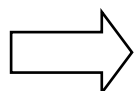
不清，**<20%**病例可检测**EB**病毒
序列片段

部位



最常见前纵膈大肿块，伴/不伴
锁骨上淋巴结受累

临床特点



- **1.**上腔静脉综合征/呼吸抑制症
(与前纵膈大肿块相关)
- **2.****CHL**和**PMBL**以组合形式或异时
形式出现 (先**CHL**,以**PMBL**复发

形态学

弥漫的纤维性间质中，见融合的、成片分布的多形性肿瘤细胞，部分病例中可见局灶的纤维条带。

有时会出现一些中心母细胞样肿瘤细胞，与典型的PMBL相比，肿瘤细胞显得更大、多形性更明显。

浸润性肿瘤大部分为类似于陷窝细胞和霍奇金细胞的多形瘤细胞。

细胞形态变化较广，肿瘤的不同区域表现出不一样的细胞形态（特征性表现：部分区域似CHL，部分似DLBCL）；少量炎细胞浸润（嗜酸粒、淋巴和组织）
坏死易见

免疫表型

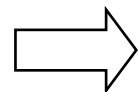
CHL和PMBL之间过渡特征

- 1.CD45: 强+
- 2.B细胞抗原: CD20、CD79a常+
- 3.CHL:CD30和CD15均+ (大部分)
- 4.表面或胞浆型免疫球蛋白: Ig-。
- 5.PAX-5、OCT-2、BOB.1:常+
- 6.BCL-6: 不同程度+
- 7.CD10: 一般-; ALK:总是-。

- 1.与CHL相似: 背景淋巴细胞大部分CD3、CD4+。
- 2.形态似(NSHL)的病例, CD20和其他B细胞标记物(一致强+), CD15(-);
- 3.似PMBL: CD20(-);CD15,EBV(+).

MAL, C-REL/P65蛋白
P53基因表达(大多数)

遗传学



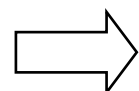
两种成分之间存在**克隆性关系**
两者基因表型相关，但是具体不清楚。

细胞起源



发生**纵膈**的病例，最可能起源于胸腺**B**细胞；
发生外周淋巴结者：另一种细胞来源。

预后和预测因素



较强的临床侵袭过程，预后比**CHL**或**PMBL**差。

CHL和过渡性淋巴瘤患者中：
CD20 (+)：**CHL**的治疗方案不好

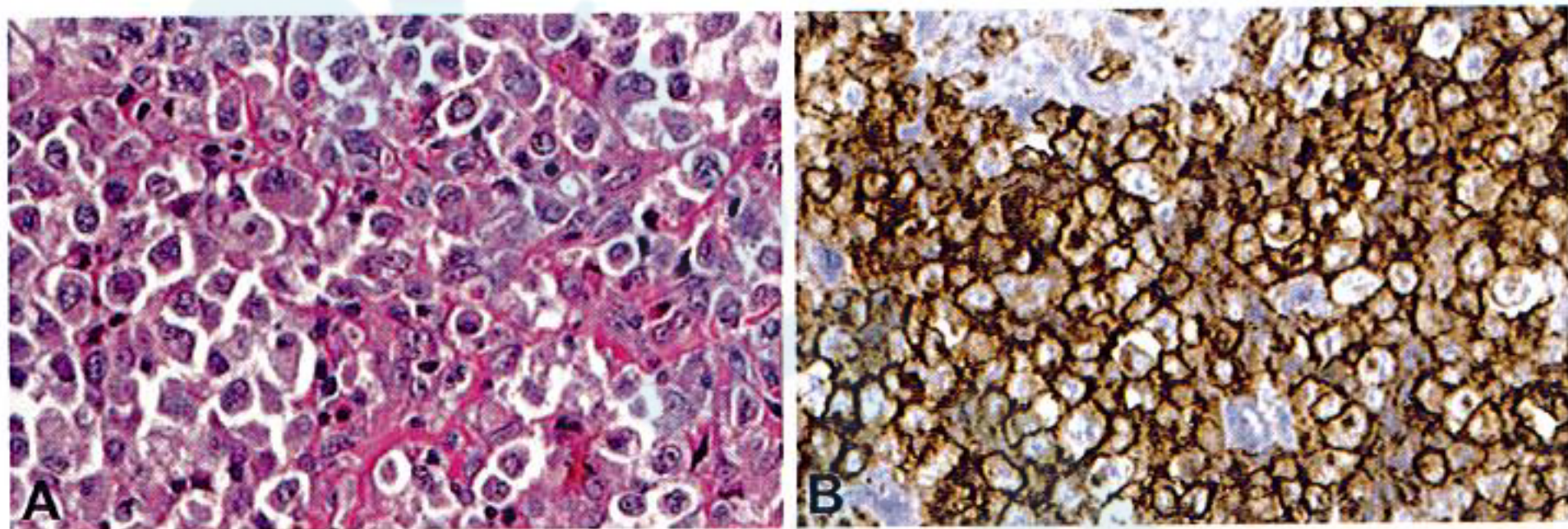


图 10.129 B 细胞淋巴瘤，特征介于弥漫大 B 细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间不能分类型，纵膈肿块。A 淋巴瘤由成片、胞浆透明的细胞和细的硬化纤维组成。形态学类似于原发纵膈大 B 细胞淋巴瘤（PMBL）。B 肿瘤细胞 CD15 强阳性，CD30 也阳性（未显示）。

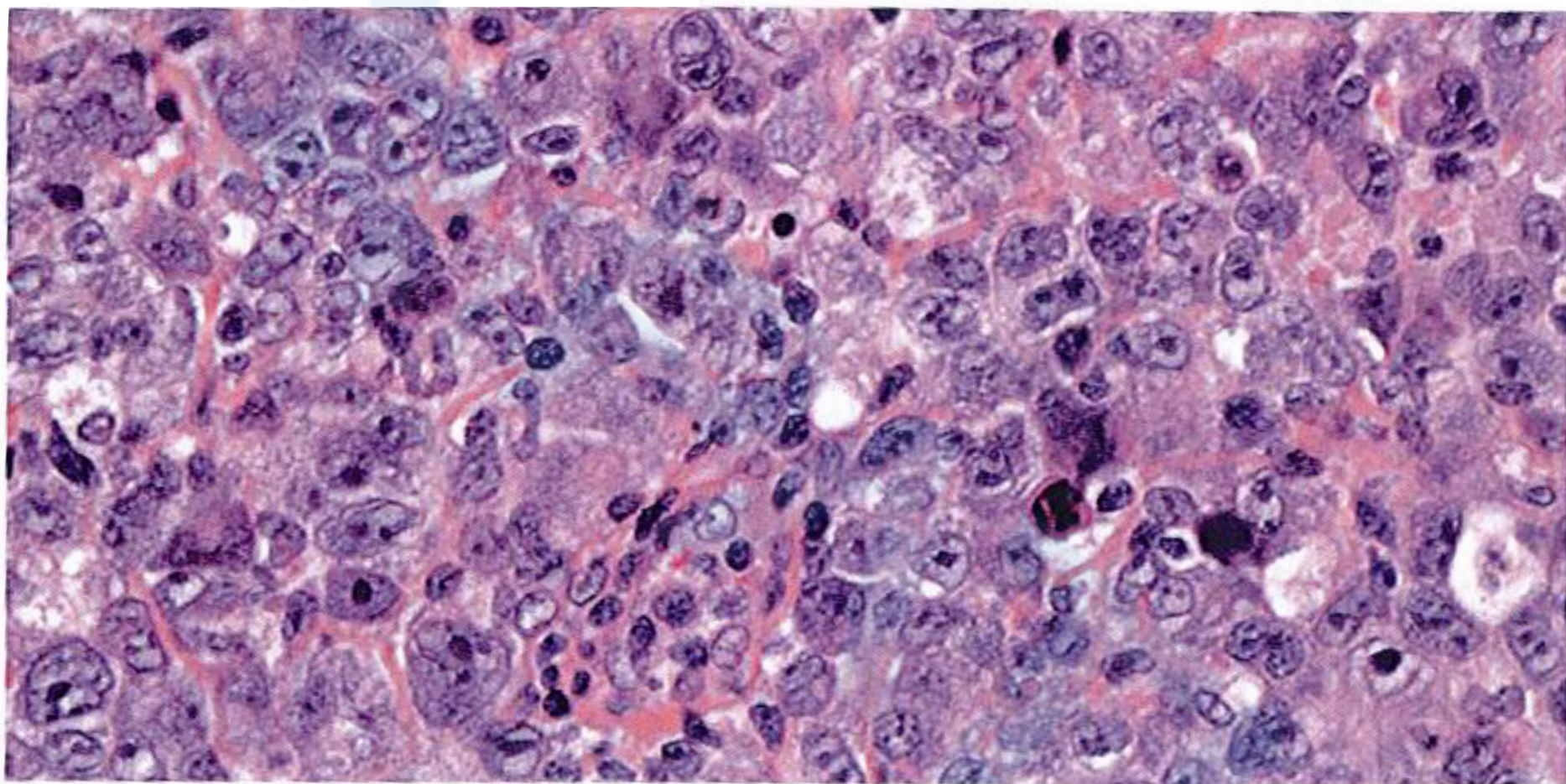


图 10.130 B 细胞淋巴瘤，特征介于弥漫大 B 细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间不能分类型，纵膈肿块。淋巴瘤由成片、双嗜性胞浆的细胞构成，炎症背景少见，免疫表型与 CHL 相似，表达 CD30 和 CD15，但 OCT-2 和 BOB.1 转录因子也阳性。

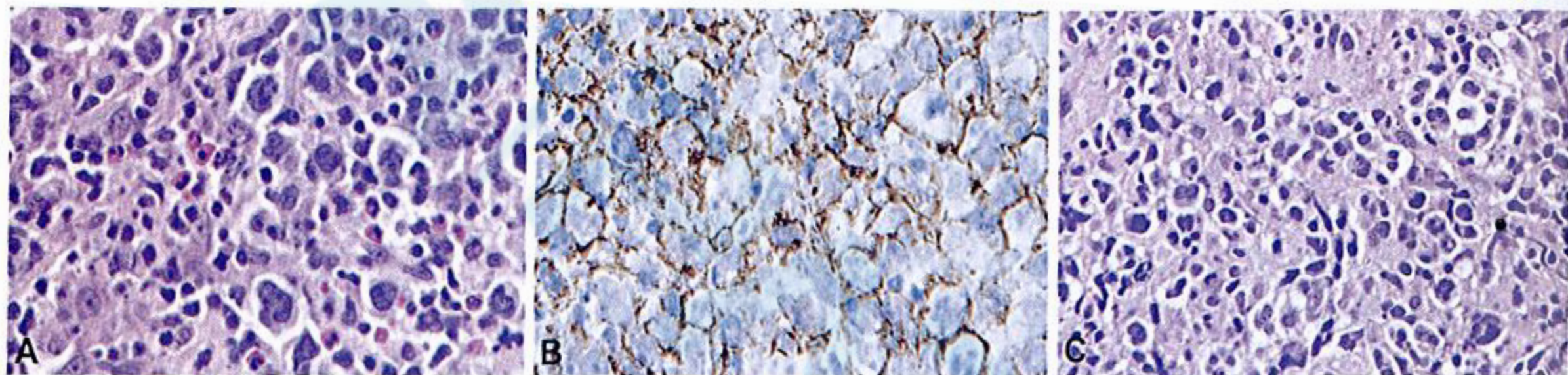
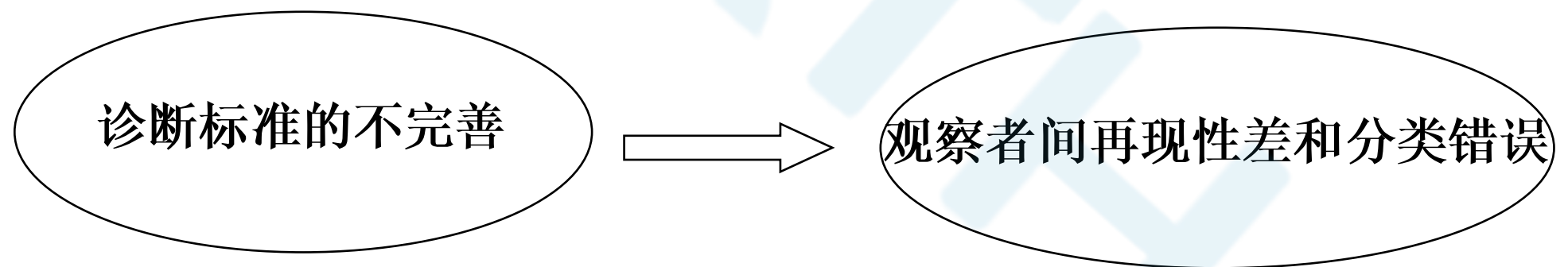


图 10.131 B 细胞淋巴瘤，特征介于弥漫大 B 细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤之间不能分类型，纵膈肿块活检。A 这例类似于 CHL。B 肿瘤细胞 CD20 一致强阳性，CHL 中很少出现这种特征。C 同一病例活检标本的不同部位，此时更像 PMBL。

- 根据当前的形态学标准和常规免疫组织学和分子分型，许多淋巴瘤病例不能准确地归类到任何一个已建立的类型中。
- GZL:



研究背景

纵隔灰区淋巴瘤（ mGZL ）：
1998年：

具有cHL和dLBCL或pMBCL的特征。

两种相关淋巴瘤亚型之间真正的生物学过渡状态

之前的文献报道了不同系列的GZL，但很少同时包括病理和临床数据。

•The LYMPHOPATH French registry&The Lymphoma Study Association (LYSA)

139, GZL , 回顾性队列研究:

所有病例均由**Lysa**血液病理学家和血液学家组成的联合小组审查。

这一系列的临床数据一部分以前已经报道为纵隔累及或**MGZL**。

在本研究中, 报道了**mGZL**和非纵隔**GZL** (**nmGZL**) 的组织病理学、分子细胞遗传学特征以及与临床特征的相关性。

材料与amp;方法

1. 病例选择

MGZL:

- 1. **来源**: Lysa中心的病理科

法国、比利时和葡萄牙的当地病理记录、

Lysa中心的记录

淋巴病理网络（经认证的INCA: 法国国家癌症研究所）

- 旨在审查法国所有新诊断的淋巴瘤病例。

- 2. 一名独立的血液病理学家进行:

1) ICDO编码 ↔ 资料库所有病例

2) **ICDO 9596/3; 诊断GZL** → 提交给专家组

- 3. **首次诊断**的福尔马林固定的**石蜡块**和免疫组织化学（IHC）**切片**由血液病理专家小组进行集中审查。

2.组织学病例回顾

- 由Lysa的专家小组和BCCA的一名专家对所有具有可用数据的病例进行了连续的组织病理学审查（包括3个阶段和几次会议），直到专家们对这些具有挑战性的病例进行分类达成协议。

2.组织学病例回顾

12名血液病理学家：纳入标准共识

TABLE 1. Inclusion Criteria

Subgroups	Morphology More Closely Related to:	Phenotype
cHL-like GZL	cHL (lacunar cells, inflammatory background, nodular sclerosis)	CD20 high and diffuse on all tumor cells, CD30 +++, CD15+/-
LBCL-like GZL	DLBCL/PMBCL (reticular fibrosis, clear cells, sheets of large cells)	CD20 +++, CD30+ high and diffuse, CD15 +/- CD20+++, CD30+/-, CD15+ high and diffuse CD20-, CD79a+, CD30+, CD15+
Composite	As expected in each component	As expected in each component
Sequential	Diagnosis of cHL or PMBCL and relapse as PMBCL or cHL	Diagnosis of cHL or PMBCL and relapse as PMBCL or cHL

综合肿瘤细胞形态、结构和生长模式、微环境组成和免疫表型，分4个不同亚组。

2.组织学病例回顾

所有病例均由小组成员在三次会议期间在多头显微镜上进行
审查。

第二阶段

当至少**6名**专家同意**GZL**的诊断时，**病例入组**。

2.组织学病例回顾

1.诊断分类

1.即2017年，**4名**专家对这些案例进行了审查并**更准确**地将其分为**4个**子

类别

第三阶段

2.对于所讨论的最具**挑战性的**案例，**至少3名**专家同意时，**选择子类别**

2.鉴别诊断

本次会议还讨论了鉴别诊断（特别是与**EBV相关的DLBCL**）。

为了区分**EBV+ GZL**与**EBV相关的DLBCL**，我们采用了以下标准：

- 1.霍奇金样多种炎细胞背景（含嗜酸性粒细胞）
- 2.PMBCL样形态学的存在
- 3.缺乏围绕血管生长（angiocentrism）和/或血管侵犯

2.组织学病例回顾

在形态学检查期间，评估

第三阶段

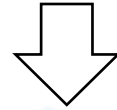
- 1.肿瘤细胞的百分比
- 2.炎症背景
- 3.纤维化程度（高、中、低）
- 4.坏死（有或无）

组织微阵列（TMA）采用标准技术构建.

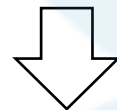
3. 免疫组化研究

分析了病理学家用于建立初步诊断的IHC染色。

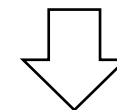
CD20、CD3、CD30和CD15



自动免疫染色仪（Ventana Benchmark Ultra, Tucson, AZ）
上使用标准方法重复以下染色：
CD20、CD3、CD30和CD15



材料足够，进行额外的染色：
1. **B**细胞转录因子（**Pax5**、**OCT-2**、**BOB1**均来自Ventana）、
2. **CD79a**和**CD23**

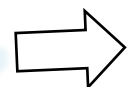


其他染色在**TMA**切片上进行：
MAL（6D9单克隆抗体）、
PD-L1（**SP142**, Spring Bioscience）、
PD-L2（**D7U8C**, 细胞信号传导）和
主要组织相容性复合物（**MHC**）**II类**（**HLA-DR/DP/DQ**, **CR3/43**）。

所有IHC染色均采用适当的阳性和阴性对照。

评分如下：

CD20、CD30和CD15的评分



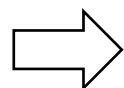
强度（**0-1-2-3**，0=阴性，3=强阳性）

阳性肿瘤细胞百分比



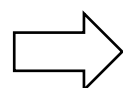
（0-1[<10%]；**2[10%至90%]**；3[100%]）

对于其他的IHC染色



至少**10%**的肿瘤细胞表达标记物，则认为病例是**阳性的**

pd-L1表达



通过将**阳性肿瘤细胞的百分比乘以染色强度**（得分1弱），2[中等]，3[强]来计算组织分数（H；范围：0到300）

4.EBV 评估

- **ISH:**
 - **133**例恶性肿瘤细胞检测：潜伏性**EBV**感染
(6例因材料耗尽而未进行调查)

5.CIITA 和 PD-L1/PD-L2 FISH检测

- TMA切片
- 重排和拷贝数改变 (**CIITA和PD-L1/PD-L2**)
- CIITA (16p13.13)
- CD274(PD-L1)/PDCD1LG2 (PD-L2) (9p24.1)

统计

- **EFS**：无事件存活率
- 从诊断之日到进展之日，是指最初未计划的治疗改变（放疗、自体干细胞移植的高剂量治疗和其他非计划治疗），或任何原因导致的死亡。
- **OS**：总生存率
- 从诊断日期到任何原因死亡日期。
- **Statistical analysis: Statistical software version 7.1.**
- 分类的变量使用频率和百分比进行总结，并使用 χ^2 检验进行比较
采用对数秩检验进行单变量预后分析。

结果

病例选择与组织学分析

233

28
诊断为异时性或组合性淋巴瘤

139
符合GZL入选标准

66
排除

34
cHL,结节硬化型,
其中20例被归类为CHL NS-2

20
PMBCL,

5
结节性淋巴细胞
为主型霍奇金淋巴瘤

4
富含T细胞/
组织细胞的LBCL

3
EBV相关的 DLBCL.

病例选择与组织学回顾

一开始报道
147 例
2016:
103 cHL-like
44 LBCL-like

19
最终诊断为如下:
(排除)

7
重新分类为组合性/异时性
淋巴瘤 (基于附加信息)

又**增加**了**18**例新的病例
(本次研究)

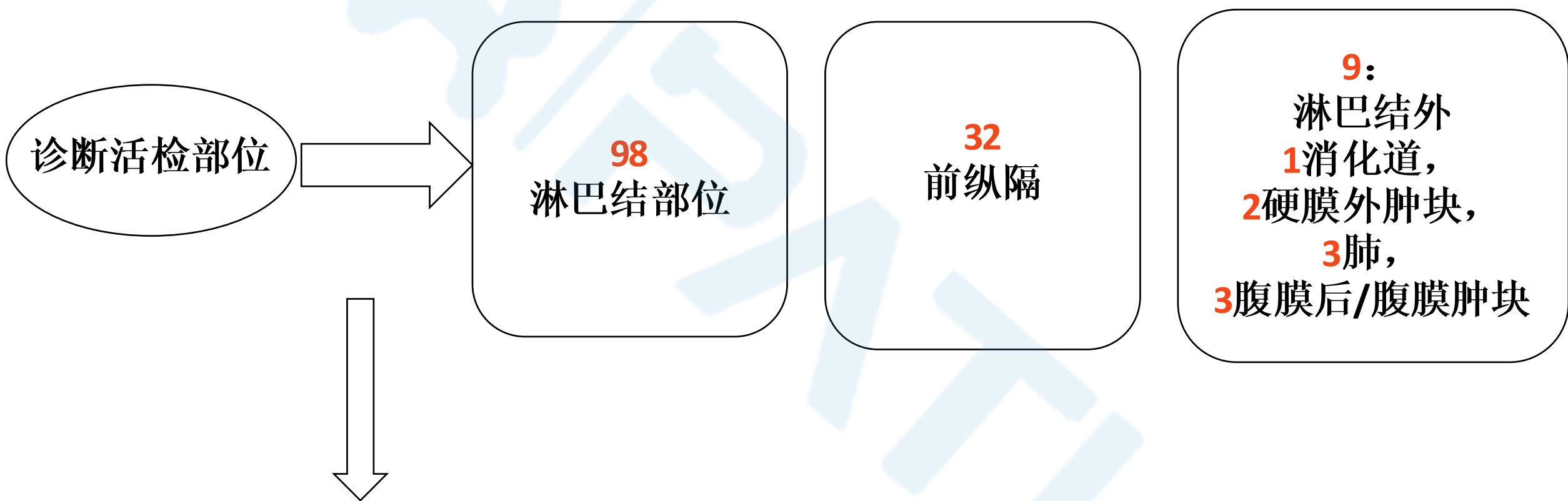
3
EBV相关的 DLBCL
(大多数表达CD30
但不是所有的肿瘤细胞)

15
cHL (cHL NS2)
(大多数CD20 (+)
但不是所有的肿瘤细胞)

1 PMBCL
(表达CD30 的强度不足以以GZL入组).

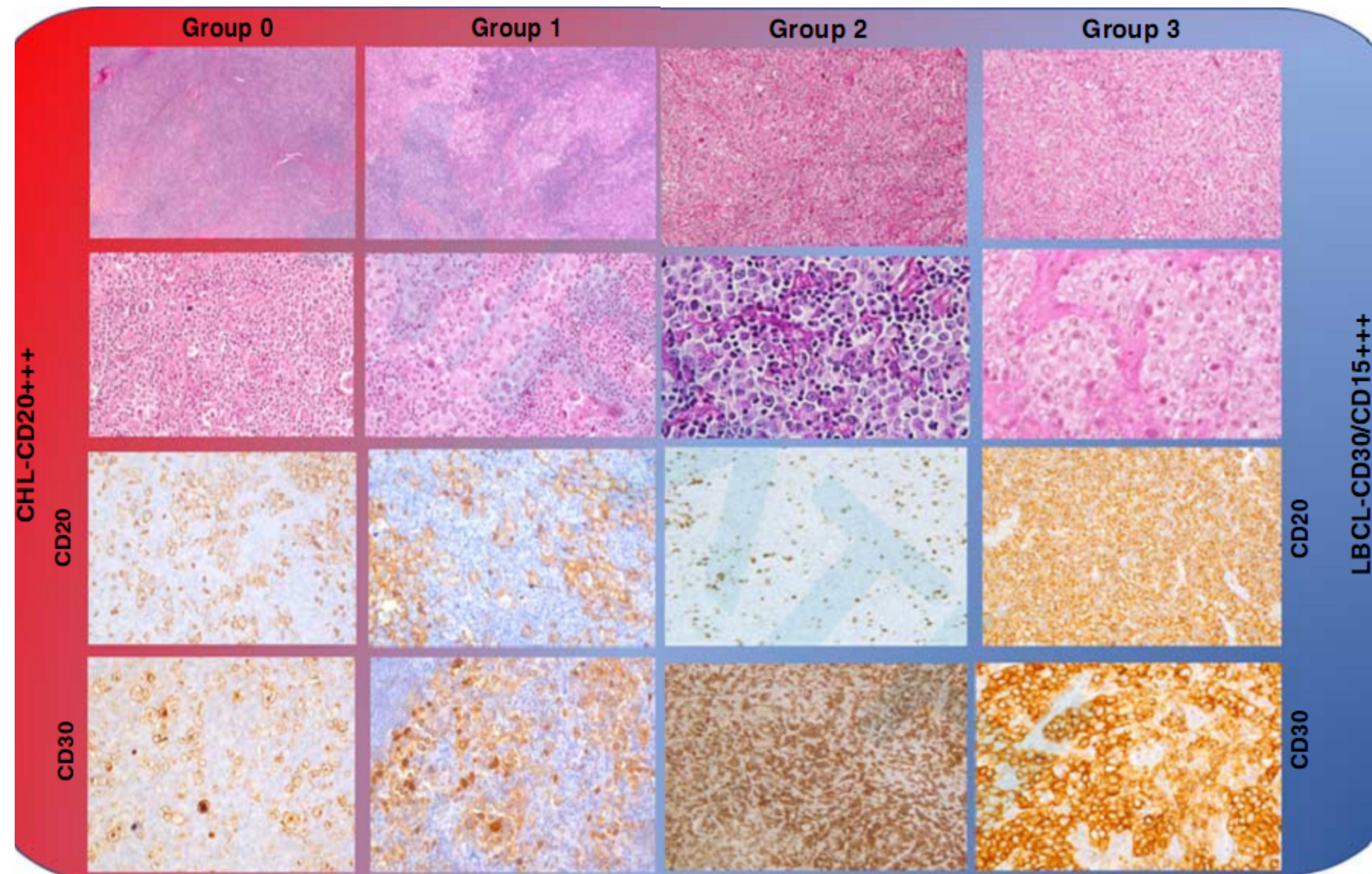
不能入组

形态学和免疫表型



CHL样GZL (86) : 0组和1组

LBCL样GZL (53) : 2组和3组



根据形态学和免疫表型特征的不同（如图1所示），将每组分为
2个亚组：（即ChI样病例为0和1组，LBcl样病例为2和3组）。

cHL-like Cases

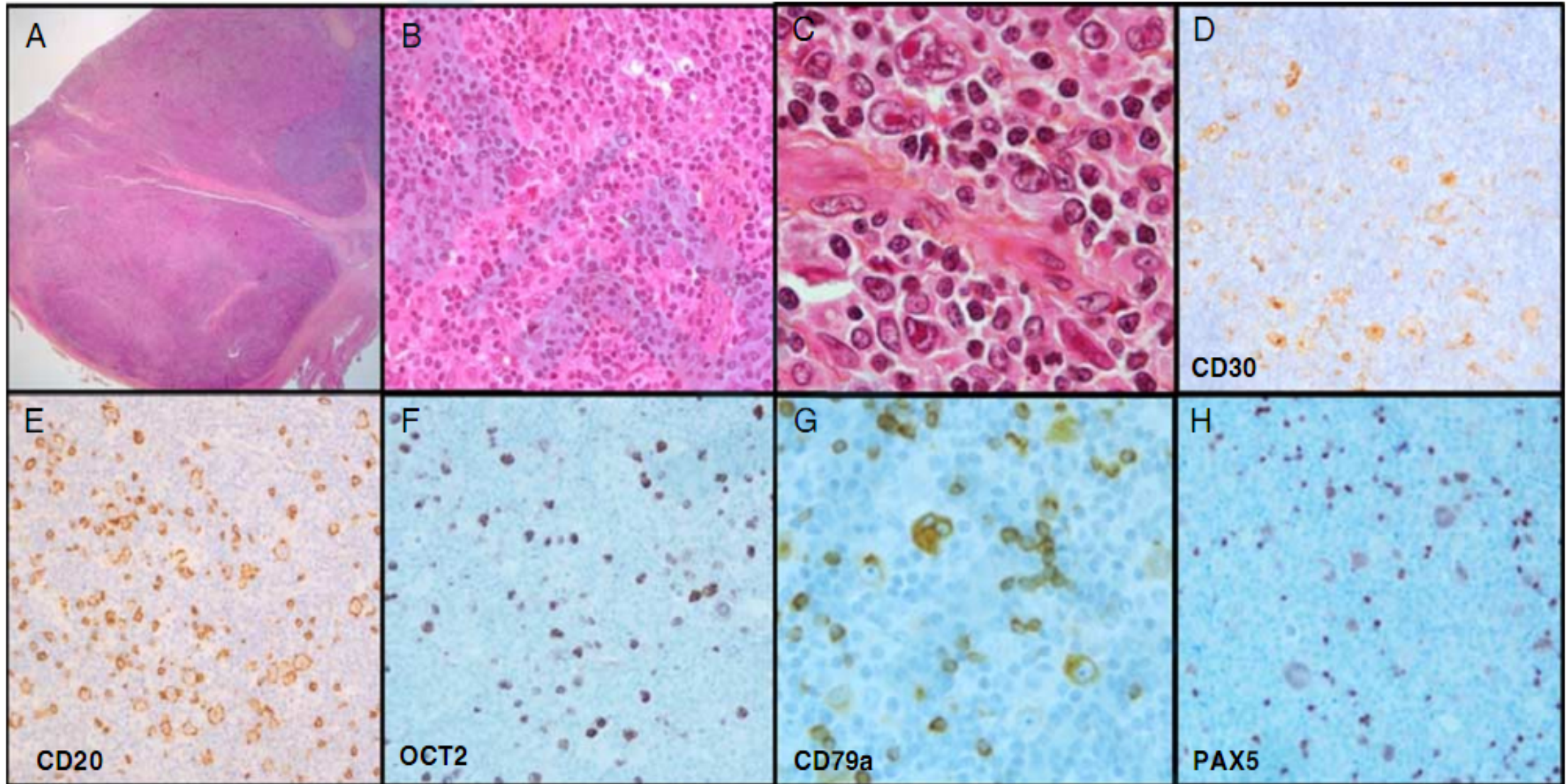


FIGURE 2. GZL group 0. H&E staining shows a classic Hodgkin-like morphology with a scleronodular architecture (A) and RS cells in an inflammatory background (B, C). The tumoral cells express CD30 (D), strong and diffuse CD20 (E) on 100% of cells, and other B-cell markers, such as OCT-2 (F), CD79a (G), and PAX5 (H).

cHL-like Cases

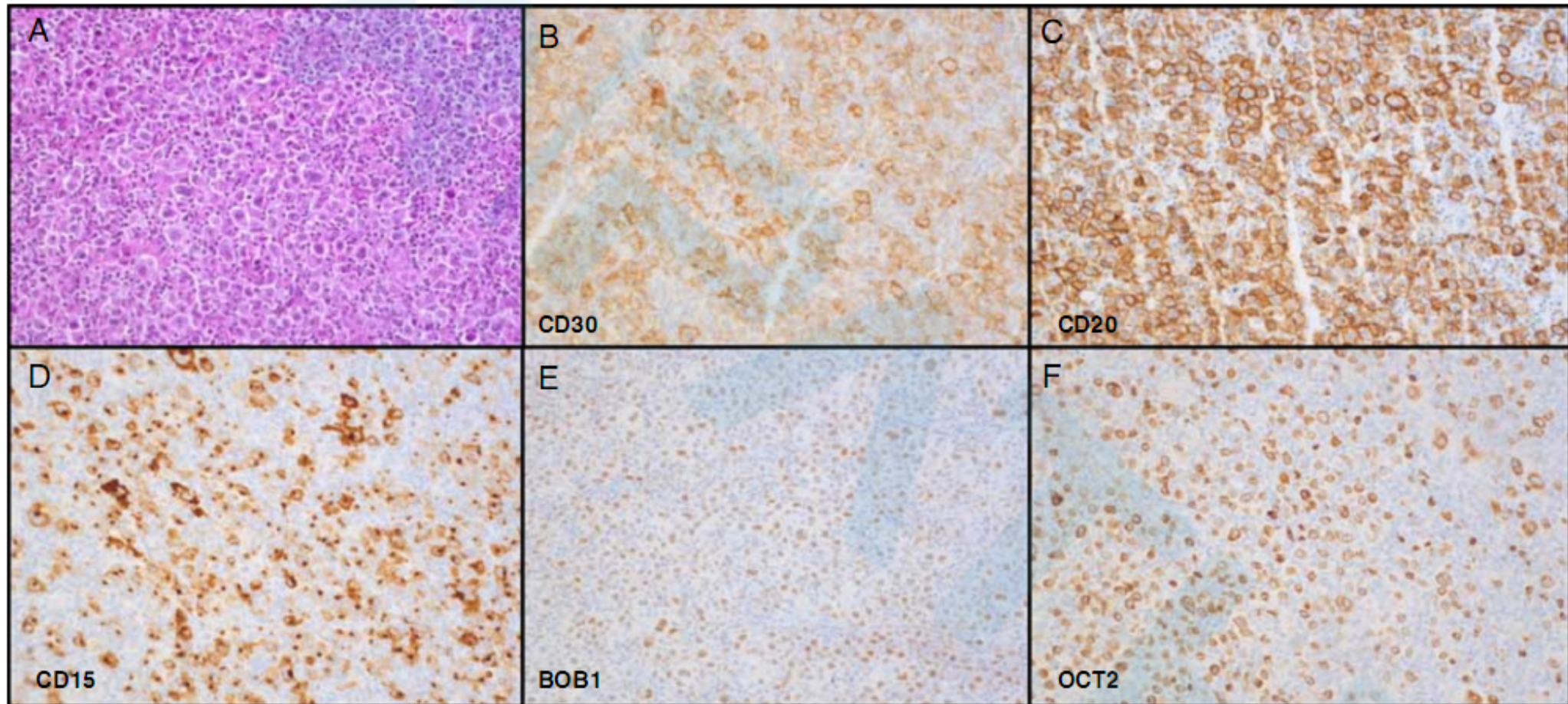


FIGURE 3. GZL group 1. H&E staining shows a classic Hodgkin-like morphology with a more intermediate architecture, less fibrosis, and more sheets of large cells in an inflammatory background compared with group 0 (A). CD30 staining and CD20 staining show a higher tumor infiltrate compared with group 0 (B, C), with partial CD15 positivity (D), and expression of B-cell markers such as BOB-1 (E) and OCT-2 (F).

86
CHL样病例

- 43例（**0组**），50%的形态与CHL更为相关，但IHC为LBCL
- 所有肿瘤细胞：CD20强弥漫（+），
- B细胞标记物如OCT2、BOB1、PAX5和/或CD79a（+）。

- 43例（**1组**）典型的CHL形态学和一些中间细胞和/或大片透明细胞
- 以及更多的浸润区域，但嗜酸性粒细胞和浆细胞比CHL要少。
- 富含大细胞的区域，仅据形态学，PMBCL的鉴别诊断更困难。

- 肿瘤细胞的中位百分比均为10%（0+1）
- （平均值：14%，范围<1%至60%），
- 多数病例均出现大细胞区域。

- 25%的病例中，可见明显的**结节性纤维化**，
- 27%为中度，22%为罕见，26%为缺失。
- 大多数病例没有坏死或很少坏死。

TABLE 2. Immunophenotype in cHL-like and LBCL-like GZL

139 Cases	cHL-like, 86 Cases (62%)	LBCL-like, 53 Cases (38%)
CD20 (cases available)	86	53
0	0	8
1	1	4
2	1	2
3	84 (98%)	39 (72%)
CD30 (cases available)	86	53
0	0	0
1	4	2
2	9	1
3	73 (85%)	50 (94%)
CD15 (cases available)	85	53
0	38	21
1	19	12
2	11	4
3	17 (20%)	16 (31%)
PAX5 (cases available)	64	40
0	1	1
1	63 (98%)	39 (98%)
OCT2 (cases available)	50	33
0	14	11
1	36 (71%)	22 (67%)
BOB1 (cases available)	57	34
0	26	14
1	31 (54%)	20 (59%)
CD79a (cases available)	58	37
0	23	12
1	35 (61%)	26 (68%)
MAL (cases available)	39	18
0	20	7
1	19 (48%)	11 (61%)
CD23 (cases available)	66	43
0	46	22
1	20 (30%)	21 (50%)
EBV (cases available)	81	52
EBV related	21 (26%)	11 (21%)
Non-EBV-related	60	41

CD79a (弥漫强+)

pax5、oct2、bob1和cd79a

TABLE 3. B Cell Markers Among Classic Hodgkin Lymphoma-like Gray Zone (cHL-like) With at Least 3 B-Cell Markers Available (N = 67/86) (CD20, PAX5, CD79, OCT2, BOB1)

Positive B-Cell Markers (67 Patients)	5 Markers Available (34 Patients)	4 Markers Available (20 Patients)	3 Markers Available (7 Patients)
1 marker+ (2)	0	1	1
2 markers+ (15)	6	5	4
3 markers+ (19)	6	5	8
4 markers+ (18)	9	9	—
5 markers+ (13)	13	—	—

50例 (75%) :>=3个B细胞标记

31 (46%) :4或5个标记

38:MAL、CD23 均可供审查

10 (26%) 表达MAL和CD23

9 (24%) MAL (+) , CD23 (-)

3 (8%) CD23 (+) , MAL (-)

16 (42%) CD23 (-) , MAL (-)

Large B-Cell Lymphoma Like

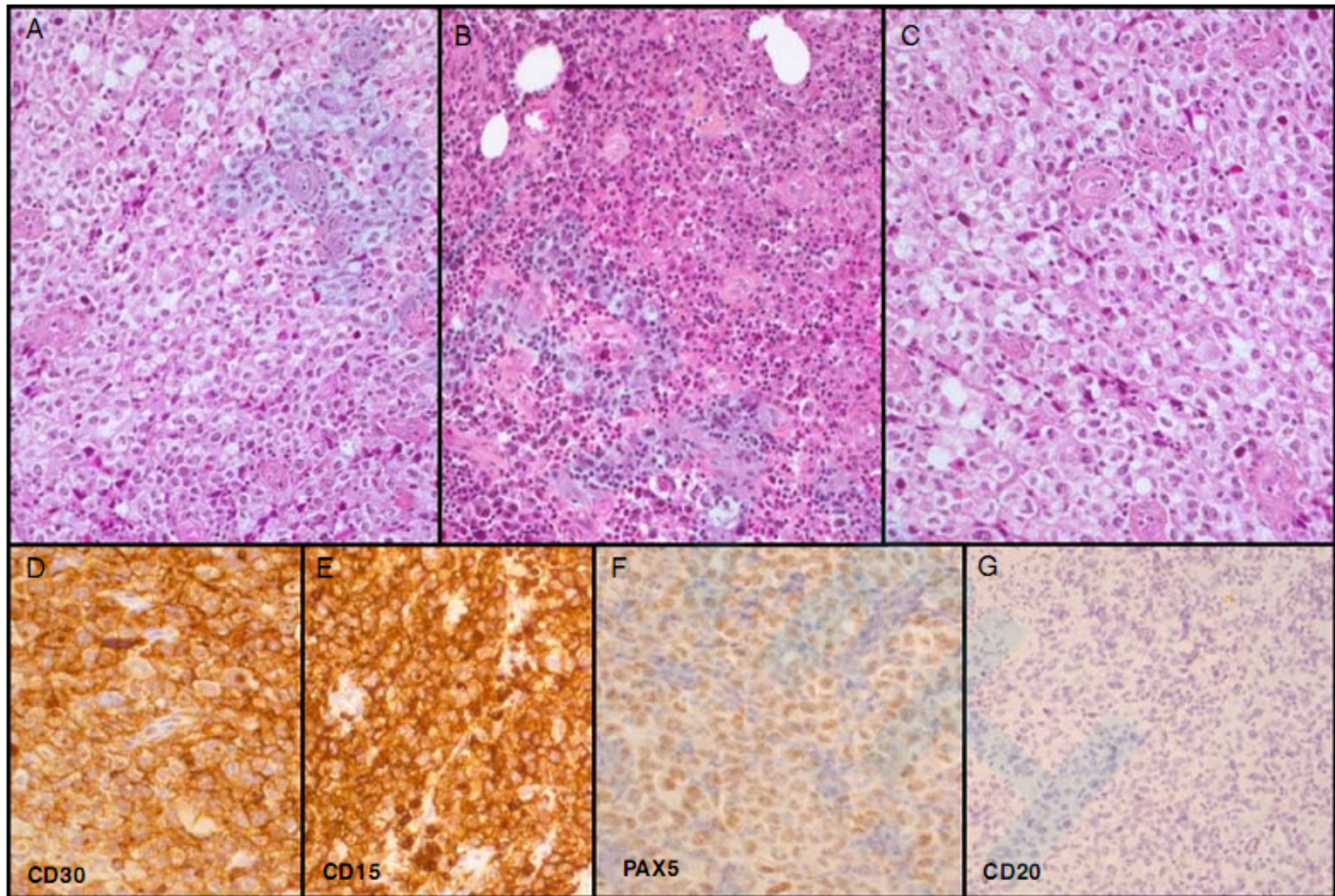


FIGURE 4. GZL group 2. H&E staining (A–C) shows a large B-cell-like morphology (A) with RS-like cells in an inflammatory background (B). Tumoral cells present diffuse and strong expression of CD30 (D), CD15 (E), and PAX5 (F). CD20 is negative (G), as observed in 8 cases of this series (B-cell origin confirmed by clonality and/or other B-cell marker expression, not shown).

Large B-Cell Lymphoma Like

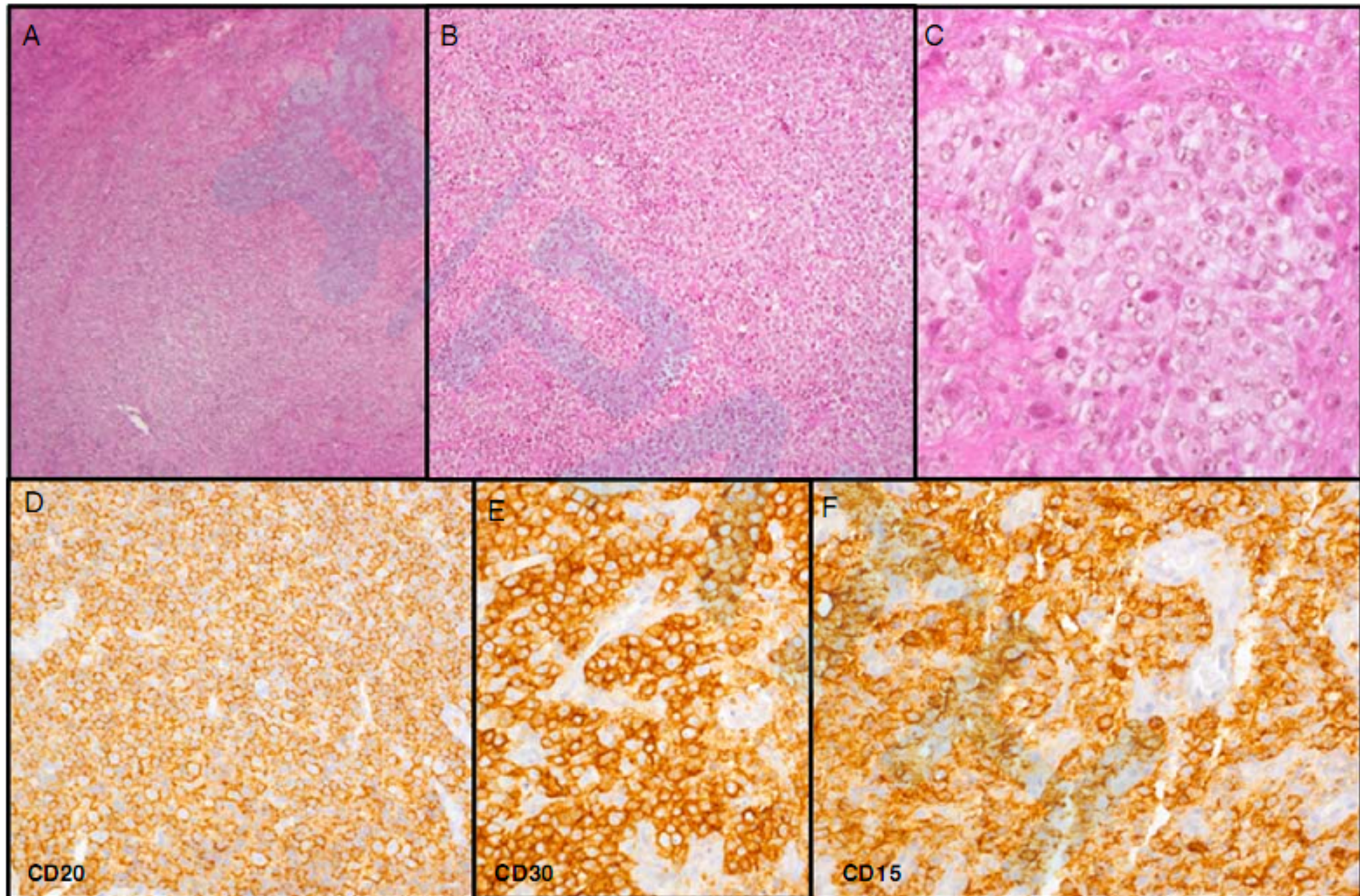


FIGURE 5. GZL group 3. H&E staining shows a large B-cell-like morphology with a complete destruction of the architecture and a diffuse infiltrate of tumor cells (A). Fibrosis can be observed around small sheets of large cells (B, C). Tumoral cells are strongly positive for CD20 (D), for CD30 (E), and CD15 (F).

53例（38%）
LBCL样GZL

44（83%，2组）具有**中间形态**

- 以大中型不典型和**多形肿瘤细胞**和多形肿瘤细胞簇为主
- 有时还有透明细胞、**霍奇金样细胞**
- 甚至典型的Reed-Sternberg（RS）细胞

- 炎症背景**：小淋巴细胞，组织细胞，有时嗜酸性粒细胞
- 与典型的PMBCL相比，**网状纤维化不明显**。

9例（53例，17%，3组）形态与LBCL更为密切相关

- 6例**与PMBCL形态极为相似，
- 3例**与多形性肿瘤细胞更为相似，**CD30弥漫强（+）**
- 1例**，**CD30表达较低（强度评分1）**，**CD15：100%强+**

- 肿瘤细胞浸润的中位数为**60%**（平均55%，范围：10%-80%）。
- 肿瘤含量低**（n=9，小于20%）的病例出现部分**浸润和/或大细胞簇和广泛坏死**。
- 大多数病例无坏死和纤维化**，或纤维化程度较低（66%无坏死，76%无或很少）

TABLE 2. Immunophenotype in cHL-like and LBCL-like GZL

139 Cases	cHL-like, 86 Cases (62%)	LBCL-like, 53 Cases (38%)
CD20 (cases available)	86	53
0	0	8
1	1	4
2	1	2
3	84 (98%)	39 (72%)
CD30 (cases available)	86	53
0	0	0
1	4	2
2	9	1
3	73 (85%)	50 (94%)
CD15 (cases available)	85	53
0	38	21
1	19	12
2	11	4
3	17 (20%)	16 (31%)
PAX5 (cases available)	64	40
0	1	1
1	63 (98%)	39 (98%)
OCT2 (cases available)	50	33
0	14	11
1	36 (71%)	22 (67%)
BOB1 (cases available)	57	34
0	26	14
1	31 (54%)	20 (59%)
CD79a (cases available)	58	37
0	23	12
1	35 (61%)	26 (68%)
MAL (cases available)	39	18
0	20	7
1	19 (48%)	11 (61%)
CD23 (cases available)	66	43
0	46	22
1	20 (30%)	21 (50%)
EBV (cases available)	81	52
EBV related	21 (26%)	11 (21%)
Non-EBV-related	60	41

12: CD20(-)或部分 (-), 均为CD30(+)
 ≥1个B细胞标记物 (+)

41例:
 CD20强(+)
 部分病例B细胞标记物 (-)
 8/27例CD79a (-),
 1/29例PAX5 (-)
 9/26例BOB1 (-),
 6/25例OCT2 (-),

2/53 (4%) CD30表达低,
 •CD15弥漫强 (+)

11/18 (61%) MAL (+)
 21/43 (49%) CD23(+)

- 有趣的是，一些具有更中间形态的病例在活检的不同区域呈现了形态谱，这提供了额外的证据，证明本研究中定义的4个不同的亚组确实代表了**GZL的整个谱系**（图1）
- 具有更典型的**CHL**形态但有**LBCL**表型的病例（**0组**，图2）和那些具有更典型的**LBCL**形态但有**CHL**表型的病例（**3组**，图5）可以被认为是这一谱系的“极端”，其中也包括具有中间形态和免疫表型的**GZL**（**1组和2组**，图3.4）

值得注意的是，在EBV+或EBV-病例中，CHL样和LBCL样GZL的比例相似。

32 EBV+MGZL

21 (66%) 为CHL样 (n=16组0和n=5组1)

11例 (34%) 为LBCL样 (n=11组2) ,

101 EBV- MGZL

59% (60/101) : CHL样

41% (41/101) : LBCL样。

22例无纵隔受累

13例 (59%) 表现为CHL样形态
(n=5: 0组和n=8: 1组)

9例 (41%) 表现为LBCL样形态
(均为2组) 。

TABLE 4. CD274(PD-L1)/PDCD1LG2(PD-L2) and CIITA FISH Analysis

N (%)				P, Fisher (cHL vs. LBCL Like)
ALL	cHL-like	LBCL-like		
<i>PDL1/PDL2</i>				
BA	12/72 (17)	4/47 (9)	8/25 (32)	0.02
GAIN	22/72 (31)	14/47 (30)	8/25 (32)	0
AMP	18/72 (25)	10/47 (21)	8/25 (32)	0
<i>CIITA/16p</i>				
BA	25/68 (37)	12/43 (28)	13/25 (52)	0.07
GAIN	14/68 (20)	7/43 (16)	7/25 (28)	0.4
AMP	6/68 (9)	3/43 (7)	3/25 (12)	0.7
DEL	1/68 (1)	0	1/25 (4)	—

AMP indicates amplification; BA, break apart; *CIITA*, class II major histocompatibility complex transactivator; DEL, deletion; PDL1, program death ligand.

拷贝数变异

分离阳性

CIITA重排
(染色体断裂)

补充资料

1. **CIITA**是MHC II表达的主要转录调节因子，**16p**扩增/扩增的病例更容易出现MHC II表达

2.与无拷贝数变异（扩增）者相比，显示**CIITA**断裂的病例以及**16P** 扩增的病例细胞膜 MHC II表达率更高

3.在49/70例（70%）中观察到肿瘤细胞上**PD-L1**的表达（>10%，强度为1-3；[补充表2](#)），其中26例PD-L1/PD-L2重排，18例未重排（5例无数据）。在未检测到PD-L1/PD-L2重排的18例表达PD-L1的病例中，6例为EBV+和12例EBV-，提示其他机制可能导致过度表达。

4.**EBV+**病例的中位H评分往往高于EBV-病例（140比20，P=0.2，Mann-Whitney检验）。

5.与LBCL样形态的病例相比，CHL样GZL的病例更常表达**PD-L1**（35/44，80%，中位H评分150比14/26，54%，中位H评分20）[（补充表2）](#)。

临床数据和预后

113例患者的临床和随访数据可用(补充表3，补充数字内容1)。

	nmgzl	mgzl
绝大多数（n=91/113，81%）表现为纵隔受累 除年龄外，两组其他临床和生物学特征无统计学差异		
chi样和lbcl样分布	两者比例相似	
中位年龄	54（年龄大）	39
16P位点扩增	7/11，64%	7/43，16%，
CIITA断裂阳性率	相似，5/11，45%	16/43，37%，
pd-l1/pd-l2断裂率和cnv	相似	相似
EBV相关性	稍高，但不显著29%	16%
pd-l1表达率（CHL样）	相似，6/7[86%]	24/28[86%]
pd-l1表达率（LBCL样）	较低，1/5[20%]	12/16[75%]

临床数据和预后

1.值得注意的是，0组 GZL:

年龄较轻（**32<44岁**），

17/33为女性（与其他病例相比，性别比相似）。

大多数（**29/33, 89%**）纵隔受累（与别病例一样（**63/80, 79%**）

2.NMGZL患者均出现淋巴结受累，其中半数出现III/IV期疾病，8例有淋巴结外受累（骨、肝、脾、肌肉或肺）。

临床数据和预后

	EBV+	EBV-
平均年龄	47岁	41岁
CHL(%)	相似， 13/19=68.4%	34/53=64.2%

	EBV+ (n/N [%])			EBV- (n/N [%])		
FISH	ALL	cHL-like	LBCL-like	ALL	cHL-like	LBCL-like
<i>PDL1/PDL2</i>						
BA	4/19 (21)	2/13 (15)	2/6 (33)	8/53 (15)	2/34 (6)	6/19 (32)
GAIN	8/19 (42)	4/13 (31)	4/6 (67)	14/53 (26)	10/34 (30)	4/19 (16)
AMP	2/19 (10)	1/13 (8)	1/6 (17)	16/53 (30)	9/34 (27)	7/19 (37)
<i>CIITA/16p</i>						
BA	3/18 (21)	2/12 (17)	1/6 (17)	22/50 (44)	10/31 (32)	12/19 (63)
GAIN	4/18 (22)	3/12 (25)	1/6 (17)	10/50 (20)	4/31 (13)	6/19 (32)
AMP	0	0	0	6/50 (12)	3/31 (10)	3/19 (16)
DEL	0/18 (0)	0/12 (0)	0/6 (0)	1/50 (2)	0/31 (0)	1/19 (5)

11个LBCL样的EBV+GZL都出现了中间形态（2组） ;21例EBV+病例表现为CHL样形态

临床数据和预后

- **OS和EFS:**
- **1.无显著影响;**
 - 1.EBV相关性和GZL亚型** (“CHL”对“LBCL-like”，或“0”组对“1、2和 - 3”，
 $p=0.84$) ;
 - 2.CD15阳性或CD30表达强度。**
 - 3.PD-L1表达和PD-L1/PD-L2异常均与结果无关**
- **2.NMGZL优于MGZL,但无统计学意义** (**3y EFS:** 64%&75%; **3y OS:88%&76%**)
- **3.无MHC II膜表达** (n=19) 比有**MHC II**级膜者短 (n=41) , 无统计学意义
(**3y EFS:62vs.77%** 和**3年; OS:72%vs.85%**)

讨论一

讨论

- 1.GZL的诊断仍然具有**挑战性**，需要更适用的诊断标准。
- 2.在以上这一大系列经过精心挑选和审查的具有挑战性的病例的基础上，我们提出了一个分为4个子类的分类方法，这种新方法被证实在诊断上能够达成共识。
- 3.此外，这种分类描述了GZL在2个明确描述的极值（0和3组）范围内的所有特点。

讨论一

- 然而，GZL的诊断可能仍然是常规临床实践中的一个挑战，在某些情况下，不同形态区域的存在可能会使它们难以纳入第1组或第2组的子类别。
- 第0组表现出典型CHL形态，但所有肿瘤细胞均有CD20弥漫强（+）和其他B细胞标记物的表达；而第3组为典型的LBCL形态但CD30和/或CD15弥漫强（+）。
- 在表达谱的两个极端之间，我们鉴定了具有更中间形态（第1组和第2组）和不同免疫表型的病例：B细胞标记物的获得或丢失与形态呈负相关。可以看到两个中间类别之间的转换。
- 此项研究中，24%的GZL与EBV相关，17%的GZL没有纵隔累及（NMGZL）。这些NMGZL病例往往具有与MGZL相似的形态学和临床特征，尽管与EBV相关的病例年龄稍大且发生率更高（但不显著）。

讨论二

- 根据多个标准讨论并排除了几种鉴别诊断。
- **1) 富于肿瘤细胞的cHL-NS (NS2) :**
- **Pilichowska : 27/ 68 GZL, 被重新分类为cHL-NS (10cHL NS2)。**但是在Pilichowska等人的系列中, cHL NS2与cHL和DLBCL相比**PFS较差**, 并且结果与确认的GZL更相似。
- 在其他报道中, 描述了**CD20**在cHL中的表达, 但强度弱到中等, 而且不是在所有肿瘤细胞中, 并且其预后影响仍不清楚。
- 本篇报道中, **CD20 : 100%肿瘤细胞上, 弥漫强 (+)**, 与其他B细胞标记物的表达相关, 以及大片肿瘤细胞的存在, **更支持GZL。**
- 在本篇队列研究中, **0组**, 尽管与其他组具有相似的纵隔受累率和性别比率, 其**形态类**
似于cHL但具有强烈的CD20表达, 同时比其他病例更年轻, 鉴于这些数据, 应该承认这些所谓的“0组”GZL病例可能被某些病理学家归类为具有CD20表达的cHL。

讨论二

- **2) CD30+ DLBCL:**
- Slack et al: **95/385**例DLBCL病例至少一个肿瘤细胞CD30表达（其中**25%**的患者显示广泛的CD30阳性，**>80%**细胞CD30+），与PFS延长相关。
- Hao et al 报道了**15.7%**的DLBCL中**CD30 (+)**（**>20%**的肿瘤细胞），随访显示预后不好。
- 我们分析了**9例CD30+LBCL**的诊断，在所有肿瘤细胞表达弥漫强CD30+（其中5例CD15共表达）的DLBCL（n=3）或CD30+PMBCL（n=6）时，**GZL诊断优于CD30+ DLBCL**（n=3）或CD30+ PMBCL（n=6）。然而，这些病例中没有CD15表达并不排除GZL的诊断。

讨论二

- 3) 5例被诊断为**结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤**被排除。
- 在这些病例中，很少有肿瘤细胞**CD30**阳性。此外，这些病例还显示典型的**CD23+**滤泡树突状细胞网和**PD1+**T细胞在肿瘤细胞（混合了小的**CD20+**B细胞）周围形成玫瑰花结，使**GZL**的诊断可能性降低。
- 4) 最困难的鉴别诊断是**EBV相关的DLBCL**，特别是Nicolae等人报道的46例年轻患者的**EBV+DLBCL**中7例具有**GZ**样形态的病例。
在我们的研究中，24%的病例与**EBV**相关。**GZL**和**EBV**之间的关联也被其他人描述过。
- **GZL**和**EBV+DLBCL**拥有共同的形态学和表型特征，因此很难做出最终诊断，这一点总体上仍存在争议。

讨论三

- 免疫逃逸特征：
- 这些数据支持GZL属于病理连续体中PMBCL和cHL之间缺失的过渡，而不是已证明的具有较低频率CIITA重排的DLBCL（4 / 131,3%，20）。
- 1) 此外，在这一系列中，EBV +病例还表现出免疫逃逸特征，PD-L1 / PDL2 FISH异常率与EBV-病例相似，但CIITA断裂较少。具有LBCL样形态的病例与cHL样病例相比，有更多的PD-L1 / PD-L2或CIITA重排/扩增。
- 2) Eberle等人在研究GZL（PDL基因座的探针组：JAK2 / PDL2,9p24.1和CIITA 16p13.13）时分析了这些异常，而本研究描述了更多的CIITA断裂（37%对27%），CIITA CNV（31%对10%），PD-L1 / PD-L2断裂（17%对比JAK2 / PDL2（PDL2）断裂1/31 [3%]）和相似的PD-L1 / PD-L2 CNV（56%对55%）。

讨论三

3) **NMGZL**和**MGZL**之间观察到相似的**CIITA**分离阳性率和**PD-L1 / PD-L2** **FISH**异常。表明, **NMGZL**可能是同一疾病谱的一部分。

- 然而, 在**NMGZL**患者 (**MGZL**患者为64%对16%) 中观察到更多的**16p**扩增, 这可能意味着**16p**的更大规模的扩增, 其他驱动基因涉及**PMBCL**淋巴瘤形成, 如**IL4R**。
- 与**MGZL**相比, Eberle等人描述了**NMGZL**中更多的**CIITA**异常 (44%对33%), 以及更少的**PD-L1 CNVs** (38%对61%) 。
- 我们报告中的**CIITA CNV**率需要进一步调查, 以了解这种异常背后的功能后果, 尤其是在**NMGZL**中。

讨论三

- 我们还观察到74%的EBV+GZL中PD-L1的过度表达，这种过度表达的机制是多重的，来自细胞遗传学异常、EBV阳性等。
- 在我们的系列中，EBV阳性与较高的H评分相关，但少数无FISH异常或EBV阳性也表达pd-l1，提示其他机制可能导致GZL失调。
- 最后，LBCL样的NMGZL表达PD-L1的频率低于其他类别。

讨论四

- **临床相关性：**
- **1.CD15**表达与结果之间**无**任何关联，与Wilson等人在GZL前瞻性序列中所报道的一致。
- **2.DC-SIGN**阳性（其他文献： ）的肿瘤浸润树突状细胞/激活巨噬细胞的患者表现出更差的EFS和OS。
- **3.MHC II**表达提示**更好的预后**，强调免疫逃逸在这一实体中的重要作用。
- 有报道表明：DLBCL肿瘤细胞上**MHC II**表达水平与患者生存率相关。
- 也有大型基因表达的DLBCL研究表明MHC II标记与生存率无关。

总结

- 1.审查一系列GZL并描述其形态学和表型谱。
- 2.四个亚组的分类
- 3.重要诊断特征
- 4.免疫逃逸特征，以最终使治疗管理得以改善。

- 这里描述的生物学特征为临床试验中抗CD30治疗（NCT01994850）和PD1阻断的临床评估提供了强有力的理论基础。
- 疾病谱边界的清晰定义，GZL和EBV之间的关系，或NMGZL中特定的免疫逃逸机制，仍然是一个悬而未决的问题。
- 分子研究是必要的，可能帮助更好地理解该疾病谱以更好地定义此类肿瘤。

谢谢！