

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İstanbul Tıp Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı



CD30 Pozitif Lenfoproliferatif Hastalıklarda

İmmünohistokimyanın Rolü

UZMANLIK TEZİ

Dr. İsmail Bilgin GÜLEÇ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülçin YEGEN

İSTANBUL

2025



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İstanbul Tıp Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı

CD30 Pozitif Lenfoproliferatif Hastalıklarda

İmmünohistokimyanın Rolü

UZMANLIK TEZİ

Dr. İsmail Bilgin GÜLEÇ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülçin YEGEN

İSTANBUL

2025

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP)  
koordinasyon birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 41372).

## TEŞEKKÜR

Asistanlığım süresince emeği geçen, tüm bilgi ve tecrübelerini paylaşan hem akademik hem sosyal anlamda değerli bilgiler veren, patolojiyi sevdiren, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Yasemin Özlük başta olmak üzere tüm hocalarım ve uzmanlarıma,

Tez sürecimde bana destek olan her aşamada fikir ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam, tez danışmanım ve aynı zamanda danışman hocam olan Prof. Dr. Gülçin YEGEN'e

Tez sürecimde tez danışmanımla birlikte beni her zaman takip eden Dr.Öğr. Üyesi. Ali Yılmaz Altay'a

Asistanlığımda tanıdığım için çok mutlu olduğum kıdemlilerim Uzm. Dr. Mehmet Gündüz, Uzm. Dr. Begüm Yeni Erdem, Uzm. Dr. Ahmet Yasir Yıldırım, sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Gözde Güngör Şahin, Dr. Serra İpek Yücel, Dr. Naciye Betül Barut, Dr. Zeynep Cantürk, Dr. Asiye Üzümcü, Dr. Deniz Ocak, Dr. Rabia Reyhan Aşkın, Dr. Beyzanur Baysal, Dr. Melis Artukoğlu, Dr. Melih Keleş, Dr. Alper Çağatay Güner, Dr. Onur Yılmaz, Dr. Dila Döne Doğan'a

Teknik çalışmalarındaki yardımlarından ötürü Sn. Cuma Erkmen ve Sn. Jülide Hocaoğlu'na,

Arşiv çalışmalarındaki katkılarından ötürü Sn. Balabey Kalaçay ve Sn. Cihan Demir'e,  
Eğitim ve meslek hayatımda örnek aldığım, her zaman yanımda olan, anneme, babama ve her şeyden çok sevdiğim canım eşime sonsuz teşekkürlerimle...

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vii
RESİM LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
BÖLÜM I.....	1
A. ÖZET.....	1
B. ABSTRACT.....	3
BÖLÜM II.....	4
A. GİRİŞ.....	4
B. GENEL BİLGİLER.....	4
1. KLASİK HODGKİN LENFOMA.....	4
2. ALK+ ANAPLASTİK BÜYÜK HÜCRELİ LENFOMA.....	12
3. ALK- ANAPLASTİK BÜYÜK HÜCRELİ LENFOMA.....	15
4. İMMÜN YETMEZLİK VE DİSREGÜLASYON İLİŞKİLİ CD30 POZİTİF LENFOİD PROLİFERASYONLAR.....	17
a. POLİMORFİK EBV POZİTİF LENFOPROLİFERATİF HASTALIK.....	17
b. ENFEKSİYÖZ MONONÜKLEOZ BENZERİ HİPERPLAZİ.....	21
6. EBV POZİTİF DİFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	22
7. PRİMER MEDİASTİNAL BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	25
8. MEDİASTİNAL GRİ ZON LENFOMA.....	27
9. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLERLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER.....	30
a. IRF-8.....	30
b. STAT6.....	34
BÖLÜM III.....	39
A. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
1. Çalışma Grubunun Oluşturulması.....	39
2. İmmünhistokimyasal Yöntem.....	39
a. IRF-8.....	39
b. pSTAT6.....	40
3. İmmünhistokimyasal değerlendirme.....	41
4. İstatistiksel Analiz.....	41
BÖLÜM IV.....	42
BULGULAR.....	42
1. Demografik, klinik, histopatolojik bulgular.....	42
2. İmmünhistokimyasal Bulgular.....	44
a. IRF-8.....	46
b. pSTAT6.....	51
BÖLÜM V.....	56
TARTIŞMA.....	56
BÖLÜM VI.....	60
SONUÇLAR.....	60
BÖLÜM VII.....	61
KAYNAKLAR.....	61

## KISALTMALAR

**5-FU:** 5-Florourasil

**AID:** Activation-Induced Cytidine Deaminase

**ALK:** Anaplastik lenfoma kinaz

**ALK+ABHL:** ALK (+) anaplastik büyük hücreli lenfoma

**ALK-ABHL:** ALK (-) anaplastik büyük hücreli lenfoma

**AP-1:** Activator Protein-1

**ART:** Antiretroviral tedavi

**ATRA:** All-trans retinoik asit,

**BHPTLPH:** B hücreli post transplant lenfoproliferatif hastalık

**CDP :** Ortak DH öncüsü

**CREBBP:** CREB Binding Protein

**CIITA:** Class II Transactivator

**DBHL:** Difüz büyük B hücreli lenfoma

**DNA:** Deoksiribonükleik Asit

**DH:** Dendritik hücre

**DSÖ:** Dünya Sağlık Örgütü

**DBD:** DNA bağlama domain

**EAA:** Eğri altındaki alan

**EBV:** Epstein-Barr Virüs

**EBER:** Epstein-Barr virus-encoded small RNA

**EBV-LMP:** Epstein-Barr Virüsü Latent Membran Proteini

**EMT:** Epithelial-Mesenchymal Transition

**FL:** Foliküler lenfoma

**FLIP:** FLICE-benzeri protein

**FLICE:** FADD-Like IL-1 $\beta$ -Converting Enzyme

**FLIP:** FLICE-benzeri protein

**FDG-PET:** Florodeoksiglukoz Pozitron Emisyon Tomografisi

**HE:** Hematoksilen Eozin

**HIV:** Human Immunodeficiency Virus

**IFN:** İnterferon

**ICSBP:** İnterferon konsensüs dizi bağlayıcı protein  
**IRF8:** İnterferon düzenleyici faktör 8  
**İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik/ disregülasyon ilişkili EBV (+) lenfoproliferatif hastalıklar (LPH)  
**IAD:** IRF ilişkili domain  
**JAK:** Janus kinaz  
**KHL:** Klasik Hodgkin Lenfoma  
**LMPP:** Lenfoid-öncülü multipotent progenitör  
**LFKHL:** Lenfositten fakir KHL  
**LZKHL:** Lenfositten zengin KHL  
**LPS:** Lipopolisakkarit  
**MCMV:** Fare sitomegalovirus  
**MDP:** Makrofaj ve DH öncüsü  
**MGZL:** Mediastinel gri zon lenfoma  
**MSKHL:** Mikst sellüler KHL  
**NPD:** Negatif Prediktif Değer  
**NSKHL:** Nodüler sklerozan KHL  
**PCR:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu  
**pDH:** Plasmasitoid dentritik hücre  
**PD-L1:** Programmed death ligand 1  
**PDGF:** Trombosit kaynaklı büyüme faktörü  
**PMBHL:** Primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma  
**PHM:** Plazma hücreli myelom  
**PPV:** Pozitif Prediktif Değer  
**ROC:** Receiver Operating Characteristic  
**RT:** Radyoterapi  
**SH2:** Src homolog-2  
**SHP-1:** SH içeren fosfataz-1  
**SS:** Standart Sapma  
**SSS:** Santral sinir sistemi  
**STAT6:** Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 6  
**TCR:** T Hücre Reseptörü  
**T h:** T helper

**TCPTP:** T hücre protein tirozin fosfataz

**TCR:** T Hücre Reseptörü

**THZBBHL:** T hücresi/histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma



## TABLO LİSTESİ

**Tablo 1:** Tanısal alt gruplara ait klinik ve demografik veriler

**Tablo 2:** IRF8 ve pSTAT6'nın tanısal alt gruplarda boyanma oranları

**Tablo 3:** IRF8'in alt gruplarda ekspresyon durumu karşılaştırması

**Tablo 4:** pSTAT6'nın alt gruplarda ekspresyon durumu karşılaştırması



## RESİM LİSTESİ

**Resim 1:** İRF-8 antikoruna ile nükleer pozitif KHL vakaları

**Resim 2:** İRF-8 antikoruna ile nükleer pozitif KHL-dışı vakalar

**Resim 3:** pSTAT6 antikoruna ile nükleer pozitif KHL vakaları

**Resim 4:** pSTAT6 antikoruna ile nükleer pozitif KHL-dışı vakalar



## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1:** IRF8 için ROC Curve analizi

**Şekil 2:** pSTAT6 için ROC Curve analizi



## BÖLÜM I

### A. ÖZET

**Amaç:** CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıklar gerek morfolojik, gerek klinik gerek immunfenotipik özellikleriyle birbiriyle kesişen lenfoid neoplaziler olmakla birlikte, tedavi ve prognostik özellikleri birbirinden tamamen ayrıdır. Bu başlık altında yer alan klasik tip Hodgkin lenfoma (KHL), anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL), Epstein Barr virus (EBV) pozitif büyük B hücreli lenfoma (EBV (+) DBBHL) ve immün yetmezlik /disregülasyon ilişkili (İYİ) gelişen EBV (+) lenfoproliferatif hastalıklar (LPH) tanı sürecinde taşıdıkları benzerlikler özellikle kalın iğne biyopsisi gibi giderek yaygın kullanılan örneklemelerde sınırlı dokunun değerlendirilmesi nedeni ile tanısız güçlük yaratmaktadır.

Klinik yönetimi birbirinden farklı olan ancak gerek immunfenotipik, gerek morfolojik özelliklerindeki örtüşmeler nedeniyle CD30 (+) lenfoproliferatif hastalıkların ayırıcı tanısına yardımcı olacak yeni belirleyicileri tanımlamak önemlidir. Çalışmamızda immunhistokimyasal olarak IRF-8 ve pSTAT6'nın CD30 pozitif LPH'ların ayırıcı tanısında katkısının değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

**Gereç ve Yöntem:** İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji arşivinden CD30 +LPH spektrumunda yer alan 140 KHL vakası 65 ABHL ve 30 EBV pozitif LPH, 29 EDBBHL, 5 MGZL, 5 PMHL vakası çalışmaya dahil edilmiştir. Vakalara anti-IRF-8 (EPR20441) (ab207418) ve Abcam Anti-STAT6 (phospho Y641) (EPR22599-78) antikorları uygulanmış, vakalarda nükleer ekspresyon durumu değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** IRF8 ile 274 vakanın 100 (%36,5)'ünde pozitiftir. KHL'da KHL-dışındaki vakalara göre anlamlı düzeyde ekspresyon daha sıktır ( $p < 0,0001$ ). Alt grup analizlerinde PMBHL ve MGZL dışındaki alt gruplarda ekspresyon anlamlı düzeyde KHL lehine saptandı. pSTAT6 tüm vakaların 151(%55)'inde pozitif olup, gruplar arasında boyanmada anlamlı fark bulunmadı.

**Sonuç:** IRF-8 CD30 pozitif LPH spektrumunda KHL lehine kullanılabilecek bir belirteç olup, pSTAT6'nın tanısız katkısı olmadığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıklar, klasik tip Hodgkin lenfoma (KHL), Anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL), Epstein Barr virus (EBV) pozitif difüz büyük B hücreli lenfoma (EBV (+) DBBHL), EBV (+) lenfoproliferatif hastalıklar (LPH) , Mediastinal Gri zon lenfoma(MGZL) Primer mediastinal B hücreli lenfoma (PMBHL), immün yetmezlik zemininde gelişen EBV (+) lenfoproliferatif hastalıklar (LPH) IRF-8, STAT-6.



## B. ABSTRACT

**Objective:** CD30-positive lymphoproliferative disorders are lymphoid neoplasms that overlap with each other in terms of morphological, clinical, and immunophenotypic characteristics; however, their treatment and prognostic features are completely different. Due to the similarities in terms of morphology and immunophenotype, the classic type Hodgkin lymphoma (CHL), anaplastic large cell lymphoma (ALCL), EBV-positive large B cell lymphoma (EBV (+) DLBCL), immunodeficiency/immunodysregulation associated EBV (+) lymphoproliferative disorders (LPD) present diagnostic challenges, particularly in limited tissue samples obtained through increasingly common procedures such as core needle biopsy, As the clinical management differs, it is important to identify new markers that can aid in the differential diagnosis of CD30 (+) lymphoproliferative diseases. In our study, we aim to evaluate the contribution of IRF-8 and pSTAT6 immunohistochemistry in the differential diagnosis of CD30 (+) LPDs.

**Materials and Methods:** A total of 140 KHL cases, 65 ABHL cases, 30 EBV-positive LPD cases, 29 EBV-positive DLBCL cases, 5 MGZL cases, and 5 PMHL cases were included in the study from the archives of Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine. Anti-IRF-8 (EPR20441) (ab207418) and Abcam Anti-STAT6 (phospho Y641) (EPR22599-78) antibodies were applied to the cases and nuclear reactivity is assessed in each group.

**Findings:** IRF8 was found to be positive in 100 (36.5%) of 275 cases. Expression was significantly more frequent in CHL compared to non-CHL cases ( $p < 0.0001$ ). In subgroup analyses, expression was significantly higher in favor of CHL in all subgroups except PMBCL and GZL. pSTAT6 was positive in 151 (55%) of all cases, and no significant difference in staining was found between groups.

**Conclusion:** IRF-8 is a marker that can be used in favor of KHL in the CD30 positive LPH spectrum, but pSTAT6 did not have a diagnostic contribution

**Keywords:** CD30 positive lymphoproliferative disorders, classical Hodgkin lymphoma (cHL), anaplastic large cell lymphoma (ALCL), Epstein-Barr virus (EBV) positive diffuse large B-cell lymphoma (EBV (+) DLBCL), EBV (+) lymphoproliferative disorders (LPD), Mediastinal gray zone lymphoma(MGZL), Primary Mediastinal Large B-cell Lymphoma (PMLBCL) EBV (+)LPD developing in the context of immunodeficiency, IRF-8, STAT-6.

## BÖLÜM II

### A. GİRİŞ

CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıklar benzer klinik, morfolojik ve immunfenotipik özellikleri nedeniyle zaman zaman tanısız güçlüğüne yol açmaktadır. Özellikle giderek yaygınlaşan kalın iğne biyopsisi gibi daha az invaziv ancak sınırlı dokunun değerlendirilebildiği biyopsilerde bu sorun daha da artmaktadır. CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalık spektrumunda yer alan Hodgkin lenfoma klasik tip (KHL), ALK (+) anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALK+ABHL), ALK (-) anaplastik büyük hücreli lenfoma (ALK-ABHL), EBV-pozitif difüz büyük B hücreli lenfoma (EDBBHL), primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma (PMBHL), mediastinel gri zon lenfoma (MGZL) ve immun yetmezlik/disregülasyon zemininde gelişen EBV (+) lenfoproliferatif hastalıklar (LPH) morfolojik ve immunfenotipik benzerlikler taşımalarına karşın tedavi ve prognostik özellikleri birbirinden oldukça farklıdır. Bu nedenle doğru tanı ve alt tiplendirme kritik önem taşımaktadır. Hastalıkların moleküler temellerine ilişkin ciddi bilgi birikimine karşın moleküler incelemelerin kullanım imkanının yaygın olmaması nedeni ile bu hastalıkların tanısı halen büyük ölçüde morfolojik ve immunfenotipik özelliklere dayanmaktadır. Ayırıcı tanıda zorluk yaşanan, morfolojik ve immunfenotipik özelliklerin arada olduğu vakalarda daha güvenilir ve destekleyici yeni belirteçlere ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıkların ayırıcı tanısında immunhistokimyasal olarak IRF-8 ve pSTAT6'nın katkısının değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

### B. GENEL BİLGİLER

#### B.1 Hodgkin Lenfoma-Klasik tip (KHL)

##### a. Tanım

Germinal merkez B hücrelerinden gelişen, immün hücrelerden zengin mikroçevre içerisinde dağınık, az sayıda tümör hücresi ile karakterli neoplazidir. Neoplastik hücreler (Hodgkin hücreleri/ Reed-Stenberg hücreleri (HRS)) defektif B-hücre ekspresyon programına sahiptir (1). Nodüler sklerozan KHL (NSKHL), mikst sellüler KHL (MSKHL), lenfositten

zengin KHL (LZKHL) ve lenfositten fakir KHL (LFKHL) olmak üzere 4 histolojik alt tipi vardır.

## **b. Klinik**

Genellikle ağrısız, sert, periferik lenfadenopati ile prezente olur. Nodal tutulum klasik olarak devamlılık gösterir. Lokalize hastalıkta %20, ileri evre sistemik hastalıkta %70 düzeyinde B semptomu bulunur. B semptomu MSKHL ve LFKHL alt tiplerinde daha sık görülür (2). En sık tutulan lenf nodu bölgeleri servikal, mediastinal, supraklaviküler ve aksiller bölgelerdir. Farklı alt tipler arasında tutulum bölgelerinde bazı farklılıklar görülebilir (3). Klasik çalışmalar, hastalığın yayılımının lenfatik akışın fizyolojik yönünü takip ettiğini göstermiştir (4). Bu nedenle mezenterik veya epitroklear lenf nodları gibi aksiyal olmayan periferik lenf nodu grupları nadiren etkilenir. Ekstranodal tutulum genellikle hematojen yayılım sonucu meydana gelirken, primer ekstranodal hastalık nadirdir. En sık tutulan ekstranodal bölgeler akciğer, karaciğer ve kemiktir (5).

Özellikle eski literatürdeki bazı çalışmalar KHL'nin deri tutulumu yapabileceğini bildirmiştir (6) ancak bu vakaların büyük olasılıkla KHL'yi taklit edebilen diğer hastalıkları temsil ettiği düşünülmektedir. Bu hastalıklar arasında EBV (Epstein-Barr Virüsü) pozitif mukokutanöz ülser ve CD30 pozitif primer kutanöz T hücreli lenfoid proliferasyon (lenfomatoid papüloz) yer almaktadır (7,8). KHL'nin deri tutulumu genellikle doğrudan yayılım yoluyla olur.

Bazı alt tiplere özgü klinik özellikler de bulunmaktadır. NSKHL vakalarının %80'i mediastinal kitle ve buna bağlı öksürük, nefes darlığı ile ortaya çıkar. MSKHL genellikle periferik lenfadenopati ile başlar, mediastinal tutulum nadirdir. LFKHL tanı anında kemik iliği tutulumu da dahil olmak üzere yaygın hastalıkla seyreden agresif bir klinik tabloya ve daha sık B semptomlarına (ateş, gece terlemesi, kilo kaybı) sahiptir (9). Buna karşılık, LZKHL genellikle erken evrede saptanır, B semptomları nadirdir ve klinik özellikleri nodüler lenfosit predominant Hodgkin lenfoma (NLPHL) ile benzerdir, ancak geç relapslar nadiren görülür (10).

### c. Epidemiyoloji:

Birleşik devletlerdeki 2023 kanser istatistiklerine göre KHL, tüm malignitelerin %0,4'ünü, lenfomaların %9'unu, lenfomadan ölümlerin ise %4'ünü oluşturmaktadır. Erkeklerde daha sık olup hastalığa bağlı ölümdede hafif erkek üstünlüğü görülmektedir (11). Türkiye'de HL insidansı 3,5/100000 olarak hesaplanmıştır ve erkeklerde daha fazla görülmektedir (12). HL dünyanın batısında doğusuna göre daha yüksek insidansa ve ölüm oranına sahiptir (13). İnsidansı yaşla değişmekte olup çocukluk çağında nadirdir. Bimodal yaş dağılımı mevcuttur. İlk pik genç erişkin dönem (25-35 yaş), ikinci pik 60'lı yaşlardadır (14). Türkiye'de en sık, 20-40 yaşları arasında genç erişkinlerde görülürken, görülme sıklığı 55 yaşından sonra ikinci bir artış göstermiştir (15). 2024 yılında Brittain D ve ark. yaptığı Ortadoğu merkezli bir çalışmada Türkiye'de KHL yaşının ortalama 36 olduğu ve bunların %62'sinin erkek olduğu bildirilmiştir (16).

### d. Etiyoloji ve Patogenez:

Birinci dereceden aile hikayesi olan kişilerde KHL görülme ihtimali 3 kat daha fazladır (17) ve bu risk ikiz bireylerde daha da artmıştır (18). KHL'nin etiyojisi hala belirsizliğini korumaktadır. Ancak, latent EBV enfeksiyonunun EBV pozitif KHL'de malign transformasyonu yönlendirdiğine dair güçlü kanıtlar vardır. Genç bireylerde birincil EBV enfeksiyonunun, genellikle 5-10 yıl sonra daha yüksek bir EBV pozitif KHL insidansı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (17). Düşük ve orta gelirli ülkelerde, EBV genellikle genç yaşta edinilir ve buna bağlı olarak çocuklukta görülen KHL sıklıkla EBV pozitifdir. Daha yüksek sosyoekonomik statüye sahip ülkelerde birincil EBV enfeksiyonundaki gecikme, erken yetişkinlikte küçük bir insidans zirvesine neden olur. Genç insanlardaki zirve dışında, EBV pozitif KHL insidansı yaşla birlikte istikrarlı bir şekilde artar. Çoğu yetişkin EBV taşıdığından, giderek azalan bağışıklık sistemi (immün yaşlanma) bu durumu açıklamaktadır. Buna ek olarak EBV pozitif KHL, EBV antijenik peptitlerini sunamayan bir alel olan HLA-A\*01 ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu görülmüştür (18,19,20). EBV pozitifliği en sık MSKHL ve LFKHL alt tiplerinde görülmekle birlikte alt tiplerden herhangi biri EBV pozitif olabilir.

EBV-negatif KHL'nin etiyojisi hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Bu grup, EBV-pozitif KHL'den farklı bir yaş dağılımını takip eder, orta yaşta zirveye ulaşana kadar sabit bir artış ve ileri yaşlarda kademeli bir düşüş gösterir. EBV-negatif KHL en sık nodüler skleroz

alt tipindedir. Genomik analizler, EBV-pozitif ve EBV-negatif vakalar arasında farklılık gösteren HLA'daki duyarlılık lokuslarını ve bağışıklık sistemiyle ilişkili çeşitli gen lokuslarındaki duyarlılık varyantlarını belirlemiştir (21,22,23,24). Bu genetik duyarlılık KHL'nin gözlemlenen ailevi kümelenmesini ve monozigotik ikizlerdeki yüksek uyumu açıklamaktadır (25,26).

KHL'nin patogenezi karmaşıktır ve tam olarak anlaşılammıştır. HRS hücrelerinin germinal merkez B hücresi kökeni, mikrodiseksiyonla neoplastik hücrelerde monoklonal IG gen yeniden düzenlemelerinin gösterilmesi ve yeniden düzenlenmiş IGHV genlerindeki yüksek somatik mutasyon yükü ile aydınlatılmıştır (27). Vakaların %25'inde yıkıcı somatik IGHV mutasyonlarının saptanması, HRS hücrelerinin genel olarak germinal merkezde normalde apoptoza yol açacak zararlı mutasyonlar edinmiş, ancak EBV enfeksiyonu gibi patojenik hayatta kalma sinyalleriyle kurtarılmış germinal merkez B hücrelerinden geliştiği kavramına yol açmıştır (27). HRS hücreleri genetik, metabolik ve morfolojik düzeylerde anormaldir ve B hücresi fenotiplerinin çoğunu kaybetmişlerdir (28). Tekrarlayan kromozomal kazanımlar/kayıplar ve onkojenik sinyal yollarının (özellikle NF- $\kappa$ B ve JAK/STAT) yapısal aktivasyonuna ve bağışıklık kaçınmasına yol açan somatik mutasyonlar, KHL biyolojisinin karakteristiği olarak kabul edilir ve HRS hücrelerinin hayatta kalması ve çoğalması için esastır. Sitogenetik olarak, aneuploidi ve hipertetraploidinin yanı sıra (29), HRS hücreleri, 2p13 (REL), 9p24.1 (CD274 [PDL1], PDCD1LG2 [PDL2], JAK2) ve 17q21 (MAP3K14) kazanımları ve 6q23-q24 (TNFAIP3) kaybı dahil olmak üzere tekrarlayan kromozomal dengesizlikler göstermektedir (30-34). Ayrıca, genetik çalışmalar NF- $\kappa$ B yolağının (TNFAIP3, NFKBIA, REL), JAK/STAT yolağının (SOCS1, PTPN1, STAT6, STAT3, CSF2RB) (30, 35-39) bileşenlerinde ve bağışıklık kaçış düzenleyicilerinde (örneğin, MHC sınıf I bileşeni B2M ve MHC sınıf II transaktivatör geni CIITA'yı [C2TA] kodlayan gendeki inaktive edici mutasyonlar) tekrarlayan somatik mutasyonları ortaya koymuştur (40). KHL patogenezinde önemli olan diğer sinyal yolları arasında MAPK/ERK, AP-1, PI3K/AKT ve NOTCH1 bulunmaktadır (41-43).

HRS hücreleri, CD4+ regülâtör ve T helper, myeloid hücreleri (eozinofiller, makrofajlar, mast hücreleri) ve stromal hücreleri (fibroblastlar, mezenkimal stromal hücreler) çekmek ve düzenlemek için çok sayıda kemokin (örn. CCL17 [TARC], CCL5), sitokin (örn. IL-5, IL-7, IL-13) ve büyüme faktörü (Makrofaj koloni uyarıcı faktör, FGF2) üretir (44, 45). Bu ortam neoplastik hücrelere karşı reaktif değildir, bunun yerine simbiyotiktir ve sitokinler ve hücre yüzeyi ligandları aracılığıyla HRS hücrelerinin hayatta kalmasını, anjiyogenezisi ve

konak bağımsızlık sisteminden kaçmasını sağlar. HRS hücrelerinin bağımsızlık kaçışı, HRS hücrelerini çevreleyen CD4+ T hücre rozetleri tarafından sağlanan koruyucu kalkan, CD4+ T hücrelerinin T düzenleyici (Treg) hücrelere doğru polarizasyonu, monositlerin anti-inflamatuar M2 makrofajlara farklılaşması ve immünoşüpresif sitokinlerin (IL-10, TGF- $\beta$ ) salgılanmasıyla kolaylaştırılır (44, 45). En önemli nokta, HRS hücreleri tarafından bağımsızlık kontrol noktası ligandları olan PDL1 ve PDL2'nin ekspresyonudur (34, 46). PD1 ve PDL1/PDL2 arasındaki etkileşimin engellenmesi şu anda terapötik olarak kullanılmaktadır.

EBV ile enfekte olmuş HRS hücreleri, EBV'ye özgü küçük RNA'ların (EBER'ler), EBNA1, LMP1 ve LMP2A'nın eksprese edildiği tip II latent programı sergiler (47). LMP1 bir onkogendir ve aktif bir CD40 reseptörünü taklit eder. LMP2A ise B hücre reseptör sinyalizasyonunu taklit eder. Böylelikle bu iki viral protein, germinal merkez B hücreleri için gerekli olan iki temel hayatta kalma sinyalinin yerini alabilir (48, 49).

#### **e. Makroskopik özellikler:**

Lenf nodları büyük ve sert kıvamlıdır. Makroskopik görünüm histolojik alt tipe göre değişir. Nodüler sklerozan alt tipi aşık veya belli belirsiz nodüler olabilir ve tutulu lenf düğümleri genellikle birbirine yapışmış haldedir. Mikst hücreli ve lenfositten zengin alt tipler, homojen ve etsi görünümde olduklarından spesifik bir değişiklik göstermeyebilir. Nekroz alanları mevcut olabilir. Dalak tutulumu genellikle dağınık nodüller halindedir, ancak bazen büyük kitleler görülür. Nadiren timusta sınırlı olabilir ve kistik değişiklik gösterebilir. Tedaviden sonra, tüberküloz gibi kronik bir enfeksiyon için tedavi edilen bir lenf düğümünün görünümüne benzer şekilde regrese olmayan fibrotik kitle bulmak nadir değildir (50).

#### **f. Mikroskopik özellikler:**

Lenf nodu yapısını kısmen ya da tamamen silen küçük lenfositler, histiyositler, plazma hücreleri ve eozinofillerden oluşan polimorfik zeminde dağınık halde bulunan HRS hücreleri ile karakterlidir (51). HRS hücrelerini saran mikroçevre neoplastik değildir. HRS hücreleri çeşitli formlar gösterir. Arka plan lenfositlerinin en az dört ila beş katı büyüklüğündedirler. Belirgin eozinofilik nükleollere sahip büyük çekirdeklere sahiptirler. Bilobe çekirdekli ve perinükleer bir hale ile çevrili olan baykuş gözü görünümlü prototipik Reed-Sternberg hücresi, neoplastik popülasyonun azınlığını temsil edebilir. Belirgin nükleollü mononükleer formlar sıktır. Laküner hücreler fiksasyon sırasında retraksiyonuna bağlı lakünlerde bulunan neoplastik hücre

görünümünde ki HRS hücre tipi olup NSKHL'nin karakteristiğidir. Yoğun sitoplazma ve piknotik çekirdeklere sahip mumyalanmış Hodgkin hücreleri sık olup, bunlar apoptotik formları temsil etmektedir. Histolojik alt tiplere özgü morfolojik özelliklerden aşağıda bahsedilmektedir.

### ***(1) Nodüler skleroz***

Kollajen bantlarla çevrili, mikst inflamatuvar hücrelerle karışık halde HRS hücreleri içeren nodüllerle karakterlidir. Lenf gangliyonu kapsülü kalın, fibrotiktir. Laküner tip HRS hücreleri tipiktir (52). Kalıntı reaktif folliküller ve fokal nekroz görülebilir. Neoplastik hücrelerin miktarına, nekroz ve atipiye göre gradlandırma önerileri bulunmakla birlikte (53), son DSÖ sınıflamasında gradlandırma önerilmemektedir. Neoplastik hücrelerin kohesiv tabakalar veya kümeler oluşturduğu neoplastik hücrelerin yoğun olduğu formu sinsityal varyant olarak tanımlanmaktadır (53). Sinsityal varyantta neoplastik hücelere komşu nekroz alanları görülebilir.

### ***(2) Mikst hücreli***

Lenf nodu çatısı diffüz olarak silinmiştir. Diğer KHL alt tipleriyle karşılaştırıldığında, binükleer veya multinükleer Reed-Sternberg hücreleri nispeten sık görülür. HRS hücreleri, küçük lenfositler, histiyosit, eozinofil ve plazma hücrelerinden oluşan mikst inflamatuvar zeminde dağınık olarak bulunur. Özellikle EBV pozitif vakalarda epitelooid histiyositler veya granülomlar görülür. Fibrozis yoktur ya da ince retiküler yapıda ve belirsizdir. Kalın septa ve kapsüler fibrozis yoktur (52).

### ***(3) Lenfositten zengin***

Bol miktarda küçük lenfosit içeren nodüller veya daha nadiren diffüz bir infiltrat ile karakterlidir. Eşlikçi polimorfik hücre popülasyonu yoktur. Nodüler vakalarda nodüller küçük B lenfositlerden oluşur ve nispeten küçük veya gerilemiş ve genellikle eksantrik olarak yerleşmiş germinal merkezler barındırabilir. HRS hücreleri baskın olarak nodüllerin içinde bulunur ancak germinal merkezlerin dışındadır. Eozinofiller ve/veya nötrofiller nodüllerde yoktur; varsa, interfoliküler bölgelerde az sayıda bulunurlar. Difüz vakalarda, hücresel arka plandaki küçük lenfositler epitelooid özelliklere sahip veya sahip olmayan histiyositlerle

karişmiş olabilir. Bu alt tip, nodüler lenfosit-baskın Hodgkin lenfoma ile karıştırılabilir. Bu ayrımı yapmak için klasik HRS hücreleri için tipik olan bir immünofenotipin gösterilmesi esastır (52).

#### **(4) Lenfositten fakir**

Son derece nadirdir ( $\leq$  %2) ve EBV ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Diffüz büyüme paterni, pleomorfik HRS hücreleri vardır. Tanımlayıcı özellikleri, HRS hücrelerinin baskınlığı ve arka plan lenfositlerinin azlığıdır. Eozinofiller ve plazma hücreleri seyrek olarak bulunabilir ve fibrotik bantlar yoktur. İki morfolojik patern görülebilir. Birinde tabakalar halinde HRS hücreleri gözlenirken, diğesinde yaygın fibrozis ve bol histiyosit ön plandadır.

#### **g. İmmunfenotipik özellikler:**

KHL'de HRS hücreleri, hemen hemen tüm vakalarda CD30 (54,-56) ve çoğu vakada CD15 (57,58) eksprese olur. Hem CD30, hem de CD15 tipik olarak golgi zonda yoğunlaşma gösteren membranöz boyanma gösterir. Ancak CD15 sitoplazmik granüler boyanma da gösterebilir. CD30 ekspresyonu tüm HRS hücrelerinde homojendir, buna karşın CD15 ekspresyonu fokal olabilir. HRS hücreleri genellikle CD45 negatiftir ve immünglobulin J zinciri, immünglobulin ağır ve hafif zincirleri ile CD68R negatiftir (59, 60).

HRS hücrelerinin B-hücre kökeni, hemen hemen tüm vakalarda (%95) eksprese edilen PAX5 ile gösterilir. PAX5 ekspresyonu, karakteristik olarak reaktif B hücrelerindeki göre daha zayıftır. KHL'de B-hücre programının büyük bir kısmı baskılanmıştır. Vakaların %30-40'ında CD20 pozitif olabilir, ancak genellikle neoplastik hücrelerin küçük bir kısmında bulunur (61,62). CD19 ve CD79a gibi diğere B-hücre ilişkili antijenler daha az sıklıkta eksprese edilir. B-hücre transkripsiyon faktörleri olan OCT2, BOB1, PU.1 ve BCL6'nın ekspresyonu çoğu vakada baskılanmıştır (63). OCT2 ve BOB1 vakaların yaklaşık %90'ında negatif olmakla birlikte PU.1 neredeyse tüm vakalarda negatif saptanmıştır (64,65). Nadir vakalarda HRS hücrelerinde OCT2 veya BOB1 ekspresyonu görülebilir, ancak genellikle her ikisi birden eksprese edilmez (66). LZKHL'de bu B-hücre transkripsiyon faktörleri diğere KHL alt tiplerine kıyasla daha sık eksprese edilir (63). HRS hücrelerinde immünglobulinler negatiftir. Bazen aynı hücrede hem ağır hem hafif zincirlerin boyandığı görülebilir, ancak bu durum dokudaki serbest proteinin absorbe edilmesiyle ilişkilidir. Bu gibi vakalarda, HRS hücrelerinde kappa veya

lambda mRNA gösterilemez. Transkripsiyon faktörü IRF4 (MUM1), HRS hücrelerinde tutarlı ve güçlü bir şekilde eksprese edilir, ancak plazma hücreleriyle ilişkili adezyon molekülü CD138 ise negatiftir (68). BCL6'nın zayıf pozitif olabileceği dışında, diğer germinal merkez hücre belirteçleri KHL'de nadiren eksprese edilir (69). EBV ile ilişkinin EBER in situ hibridizasyon ile gösterilmesi değişkendir. EBV ile enfekte HRS hücreleri, tip II EBV latensine özgü olarak EBNA2 ekspresyonu olmaksızın EBVLMP1 ve EBNA1 eksprese eder (70,71). Vakaların küçük bir kısmında (~%5) HRS hücrelerinde bir veya daha fazla T-hücre antijeninin anormal membranöz ve/veya sitoplazmik ekspresyonu gözlenebilir (72). Bu vakalarda en sık CD4 ve CD2 eksprese edilirken CD3 daha nadirdir (72). T hücre antijenlerini eksprese eden vakalarda prognoz daha kötüdür (73). GATA3, KHL vakalarının yaklaşık %80'inde nükleer boyanma gösterir (74). Çoğu KHL vakasında HRS hücreleri Fascin eksprese eder (75). HRS hücrelerinin büyük bir kısmında vakaların %40'dan fazlasında güçlü PD-L1 boyanması gözlemlenir (76). Ayrıca, KHL vakalarının çoğu CD23 negatiftir (72). HRS hücrelerinde sitoplazmik veya nükleer STAT6'nın ekspresyonu, vakaların yaklaşık %80'inde pozitif olarak değerlendirilmiştir (77).

Zemindeki lenfoid hücreleri mikst olmakla beraber genellikle CD4 (+) T hücreleri baskındır. LZKHL'de ise B hücreleri baskındır. LZKHL'deki küçük B hücreleri, genişlemiş mantle zonu temsil etmektedir (IgM ve IgD pozitif). LZKHL'deki B-hücre nodüllerinin foliküler mimarisi, yoğun bir CD21+ foliküler dendritik hücre ağı ile belirginleşir. HRS hücrelerinin etrafında rozetler oluşturan hücreler, tüm KHL alt tiplerinde genellikle CD4+ T hücreleridir. LZKHL vakalarının yaklaşık yarısında, neoplastik hücreleri çevreleyen PD1+ T hücreleri (T foliküler yardımcı [TFH] hücreleri) bulunur (63). Arka plandaki diğer hücreler arasında CD15 eksprese eden eozinofiller ve nötrofiller ile CD163/CD68 pozitif makrofajlar yer alır (79).

#### **h. Prognoz:**

KHL'li hastaların %80'inden fazlası, radyoterapi ve seçici olarak kombine edilen polikemoterapi ile kür edilebilir. Uzun vadeli organ işlev bozukluğunu azaltmak ve etkinliği artırmak için; bireysel tedavi, Ann Arbor evresi (FDG-PET ile veya FDG-PET olmadan), mediastinal hastalık, ektranodal lokalizasyon, B semptomları ve IPS'ye dayalı olarak tanımlanmış risk gruplarına göre düzenlenmektedir (80). Ek olarak, tedaviye yanıtı belirleme, tedavinin yoğunlaştırılmasına veya azaltılmasına karar vermek için ara FDG-PET görüntüleme

ile değerlendirilmektedir. Yüksek doz kemoterapi ve olog kök hücre nakli, immun check point inhibitörleri ve CD30 antikor-ilaç konjugatı brentuksimab vedotin, relaps veya refrakter KHL'de kabul edilebilir seçeneklerdir.(81)

## **B.2. Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma-ALK Pozitif**

### **a. Tanım:**

ALK-pozitif anaplastik büyük hücreli lenfoma (ABHL), ALK genindeki yeniden düzenlenmelere bağlı olarak anormal ALK ekspresyonu gösteren, CD30-pozitif matür T-hücreli lenfomadır.

### **b. Epidemiyoloji:**

ALK+ ABHL nadir olup pediatrik ve adolesan non-Hodgkin lenfoma vakalarının %10-15'ini, yetişkin non-Hodgkin lenfoma vakalarının yaklaşık %3'ünü oluşturur. Erkeklerde kadınlara göre daha sıktır (E:K oranı: 3:1) ve ortalama yaş 30'dur (82).

### **c. Klinik:**

ALK+ ABHL genelde ileri evre ve sistemik semptomlarla başvurur. İlk bulgusu B semptomları ile birlikte periferik lenfadenopati'dir. Lenf nodu dışında en sık deri, yumuşak doku, karaciğer, akciğer ve kemikte görülür (83). %20 oranında kemik iliği tutulumu yapabilir (84).

### **d. Etiyoloji ve patogenezi:**

ALK'nin anormal ekspresyonu, kimerik onkoproteinin sürekli ekspresyonuna ve kinaz fonksiyonunun sürekli aktivasyonuna yol açan kromozom 2p23'teki ALK'nin 3' kısmı ile partner genin 5' kısmını birleştiren kromozomal yeniden düzenlemenin bir sonucudur. ALK yeniden düzenlemelerinde 20'den fazla ortak gen yer alır (85). En sık görülen füzyon partneri, t(2;5)(p23;q35) translokasyonunda yer alan ve NPM::ALK füzyon proteininin anormal ekspresyonuna yol açan NPM1'dir. NPM::ALK onkojenik tirozin kinaz sürekli olarak aktiftir

ve aşağıdaki sinyal yollarını (PLC $\gamma$ ), PI3K/AKT CDC42/RAC1 JNK/JUN (c-Jun), RAS/ERK/MAPK, TOR JAK/STAT3 ve STAT5B) tetikler (86-91). Bu yolların aktivasyonu, hücre sağ kalımını artırmak, apoptozu engellemek, tümör yayılmasını teşvik etmek ve bağışıklık gözetim mekanizmalarından kaçınmak için çeşitli onkojenik süreçleri teşvik eder. STAT3, BCL2A1 ve DDX21 hedef genlerinin transkripsiyonel aktivasyonu yoluyla tümör hücrelerinin hayatta kalması için kritik olan C/EBP $\beta$  transkripsiyon faktörü ALK+ ABHL'de aşırı eksprese edilir. (92)

#### **e. Makroskopik özellikler:**

Belirgin bir özellik yoktur.

#### **f. Mikroskopik özellikler:**

ABHL hücreleri, “Hallmark” olarak adlandırılan hücreler içerirler. Histolojik olarak, bu hücreler bol sitoplazmaya sahip, büyük, pleomorfik hücrelerdir. Çekirdekler ekzantrik yerleşimli olup “at nalı” veya “böbrek” şeklindedir ve genellikle birden fazla küçük bazofilik nükleol içerir (93). Çekirdek yakınında sıklıkla eozinofilik bir bölge görülebilir, bu bölge muhtemelen belirgin bir golgi cisimciğini temsil eder (94). Histolojik kesitlerde bazı hücreler, psödoinklüzyon içeriyormuş gibi görünebilir. “Halka (doughnut) hücreleri” olarak adlandırılan bu hücreler, gerçek nükleer membran invajinasyonlarından ziyade kesit düzlemine bağlı olarak bu şekilde görünür (1). Bir diğer varyant, sıklıkla “embriyo” hücreleri olarak adlandırılan lobüle çekirdekli hücrelerdir (95). Reed–Sternberg hücrelerine benzer multinükleer hücreler görülebilir, ancak HRS hücrelerinde görülen belirgin nükleollere kıyasla, hallmark hücrelerin nükleolleri genellikle daha az belirgindir. Neoplastik hücreler tabakalar halinde veya izole kümeler halinde dağılır.

Lenf düğümünde parakortikal, sinüzoidal, perifoliküler, intravasküler ve diffüz tutulum dahil olmak üzere oldukça değişken tutulum paterni gözlenebilir. Ekstranodal bölgelerde tümör hücreleri tümör nekrozu ile ilişkili olabilen infiltratif, diffüz proliferasyon gösterir (96).

Morfolojik spektrum geniştir ve sitolojik özellikler, mimari ve reaktif hücrelerin varlığına göre aşağıda belirtilen histolojik paternler görülebilir (1).

- *Diffüz patern* (%60): Lenf düğümü mimarisini bozan, bazen folikülleri koruyan, hallmark hücrelerinin tabakalar veya kümeler halinde yer aldığı bir patern ile karakterizedir. Tümör

hücreleri genellikle sinüzoidal büyüme paterni gösterir, bu durumda neoplastik hücreler sinüzoidleri genişletir ve metastatik tümörleri taklit edebilir. Hallmark hücreleri sayıca fazladır ve genellikle büyüktür (89). Çok çekirdekli ve çelenk benzeri dizilim gösteren hücreler görülebilir.

-*Lenfohistiyositik patern* (%10): Bol histiyosit içerir ve bu histiyositler rutin kesitlerde tümör hücrelerini maskeleyebilir.

-*Küçük hücreli patern* (%10): Genellikle küçük ve orta büyüklükte hücrelerden oluşan bir karışımdan ibarettir. Hücreler bazen sahanda yumurta görünümünde berrak bir sitoplazmaya sahip olabilir (94,97). Küçük hücreli ve lenfohistiyositik paternler tanınması zor olabilir çünkü hallmark hücreleri bu paternlerde daha az sayıdadır ve genellikle sadece kan damarlarının çevresinde belirgin hale gelir.

-*Hodgkin benzeri patern* (%5'ten az): Genel olarak NSKHL'ya benzer. Polimorfik inflamatuvar hücreler içeren nodüller ve çevresinde fibrotik bantlar ve seyrek HRS benzeri hücre içerir (97). Bazen aynı lenf düğümünde birden fazla patern görülebilir, bu durum "kompozit patern" olarak adlandırılır veya farklı zamanlarda farklı paternler ortaya çıkabilir (1,98).

#### **g. İmmunfenotipik özellikler:**

Neoplastik hücrelerde golgi bölgesinde güçlü CD30 ekspresyonu izlenir. NPM::ALK translokasyonu nedeniyle ALK nükleer ve sitoplazmik olarak boyanabilir (99). Alternatif translokasyon partnerleri ile oluşan ALK translokasyonları, ALK'nin sitoplazmik veya membranöz ekspresyonuna yol açar ve ALK+ ABHL vakalarının yaklaşık %15'inde görülür. Genelde T hücre antijen ekspresyonu kaybolur. En sık CD2 ve CD4 eksprese edilir (%40–70), ancak CD3 vakaların %75'inden fazlasında negatiftir. CD43 ve CD45RO yaygın pozitifdir (100,101). Tümör hücreleri, CD8 dahil olmak üzere T hücre antijenlerini kaybetse bile, sitotoksik belirteçler (TIA1, granzim B ve perforin) ile boyanır. CD25, clusterin ve BCL6 tipik olarak boyanır (102). CD15 ve PAX5 hemen her zaman negatif olup nadir vakada pozitif olabilir. Tümör hücreleri genellikle CD45 ve T hücre reseptör molekülleri ( $\beta$ F1 ve TCR $\delta$ ) içermez. EMA, vakaların büyük çoğunluğunda pozitifdir, ancak bazı vakalar sitokeratinler gibi epitelyal belirteçler ile anormal şekilde boyanabilir. Bazen myeloid antijenler (CD13 ve CD33), NK hücre belirteçleri (CD56) ve kök hücre belirteçlerinin (SOX2 dahil) ekspresyonu görülebilir (103).

## **h. Prognoz:**

Uzun vadeli sağkalım oranları yaklaşık %80'dir (101) ve bu nedenle ALK–ABHL(104)'nin büyük çoğunluğundan önemli ölçüde daha iyi seyirlidir. ALK+ ABHL hastalarında tedavi başarısızlık oranı, birinci basamak tedavi stratejisinden bağımsız olarak yaklaşık %30'dur. Kemoterapi sırasında ilerleme, kötü bir prognoza işaret eder. Hastalık ilerlemesi yaşayan hastalarda allojenik transplantasyon dahil agresif kurtarma tedavisine rağmen yalnızca %25'inde sağkalım gözlenir. Başlangıçta SSS tutulumu ve lösemi gelişiminin olması olumsuz prognostik faktörlerdir (105,106,107). Küçük hücreli ve/veya lenfositik varyantın da çocuklarda tedavi başarısızlığı riski yüksektir (108).

## **B.3 Anaplastik Büyük Hücreli Lenfoma-ALK negatif**

### **a. Tanım:**

ALK ekspresyonu ve ALK gen yeniden düzenlenmesi göstermeyen ALK+ ABHL ile benzer immünofenotipik ve morfolojik özelliklere sahip CD30+ T hücreli lenfomadır.,

### **b. Klinik:**

Hastalar genellikle B semptomlarıyla ilişkili evre III veya IV hastalıkla gelirler (109). Nodal ya da ektranodal tutulum görülebilir.

### **c. Epidemiyoloji:**

ALK– ABHL, matür T hücreli neoplazilerin %5,5-15'ini oluşturur. Vakaların çoğu yetişkinlerde görülür (ortanca yaş: 54 yıl, aralık: 18-89 yıl). Erkek:Kadın oranı ise 1,6:1'dir (109).

### **d. Etyoloji ve patogenezi:**

JAK1 ve STAT3'ün aktive edici mutasyonları JAK/STAT3 yolunun aktivasyonuna yol açar (110). 6p25.3'teki DUSP22 lokusunun yeniden düzenlenmesi vakaların yaklaşık %20-30'unda meydana gelir (111). Bu vakalar, STAT3 aktivasyonundan yoksun olmaları ve PDL1

ekspresyonunun azalması, CD58 ve HLA sınıf II'nin aşırı ekspresyonu yoluyla artan immünojeniteye yol açan bir DNA hipometilasyon durumuyla sonuçlanmaları bakımından diğer ALK- ABHL vakalarından farklı görünmektedir (112). Vakaların yaklaşık %5'inde, TBL1XR1 partner genini içeren 3q28'in inversiyonu ile gelişen TP63 yeniden düzenlenmesi görülür (113). IRF4 ve MYC gibi transkripsiyon faktörleri neoplastik hücrelerin hayatta kalması için gereklidir (114).

**e. Makroskopik özellikler:**

Belirleyici bir özellik yoktur.

**f. Mikroskopik özellikler:**

Morfolojik olarak ALK+ ABHL ile benzerdir (96). Tutulu lenf gangliyonu çatısında ALK+ ABHL'de gözlenenlere benzer şekilde, belirgin nükleollü, loblu veziküler çekirdekli, pleomorfik tümör hücrelerinin diffüz ve kohezif infiltratları ile tam veya kısmi silinme gözlenir. Bazen yıldızlı gökyüzü deseni bulunur ve mitotik figürler kolayca tanımlanır. Kısmi lenf nodu tutulumu olan vakalarda sinüzoidal veya perifoliküler desen mevcut olabilir (115).

DUSP22 gen düzenlenmesine sahip ABHL'ler, doughnut hücre görünümüne sahip hücrelerle ve pleomorfik hücrelerin sayısının azaldığı tabaka benzeri bir büyüme paterni ile karakterizedir (116). Hodgkin benzeri morfolojiye sahip vakaların bir alt kümesi ERBB4'ün anormal ekspresyonunu gösterebilir (117). JAK2 gen yeniden düzenlenmesine sahip vakalar daha fazla anaplastik hücreye sahiptir (118).

**g. İmmunfenotipik özellikler:**

Neoplastik hücreler, membranöz ve golgi zonda CD30'u uniform ve güçlü bir şekilde eksprese eder. Ancak anti-CD30 brentuximab vedotin ile tedavi edilen bazı vakalar CD30 ekspresyonunu kaybedebilir (119).

Tanımlı gereği ALK immünohistokimyası negatiftir. CD2, CD3, CD5 ve CD7 vakaların <%50'sinde ifade edilirken, T hücresine özgü olmayan CD43 tek pozitif immünohistokimyal belirteç olabilir. CD4 daha az oranda ifade edilir (%70) ve CD8 ekspresyonu nadirdir (120). 2022 yılında yapılan çalışmada CD4 ve CD8'in birlikte pozitif olduğu bir vaka bulunmuştur

(121). Vakaların %20'sinden azı T hücre reseptörlerinden TCR $\alpha\beta$ 'yi ifade eder. Nadir vakada T hücresi soyundan hiçbir belirteç eksprese edilmez (Null patern) (122). Clusterin ve IRF4 (MUM1) vakaların çoğunda ifade edilir (123,124,125). EMA vakaların <%50'sinde pozitifdir. EMA, ALK pozitif vakalara göre daha az eksprese olur. TIA1, granzim B veya perforin dahil olmak üzere bir veya birkaç sitotoksik belirteç, DUSP22 yeniden düzenlenmesi olan vakalar haricinde eksprese edilir. LEF1 ekspresyonu DUSP22 yeniden düzenlenimi gösteren vakalar için spesifiktir (126). Nükleer fosforile STAT3 vakaların yaklaşık %50'sinde eksprese edilir. İmmün kontrol belirteçleri, PDL1, TGF- $\beta$  ve IL-10'da sıklıkla eksprese edilir (127).

#### **h. Prognoz:**

Sistemik ALK-ABHL'nin prognozu ALK+ ABHL'den daha kötüdür, ancak periferik T hücreli lenfoma NOS'tan daha iyidir (105). 5 yıllık genel sağkalım oranı yaklaşık %50'dir (109). TP63 yeniden düzenlenmeleri taşıyan tümörlü hastalarda prognoz daha kötüdür (111).

### **B4. İmmün Yetmezlik ve Disregülasyon İlişkili CD30 Pozitif Lenfoid Proliferasyonlar**

İmmün yetmezlik ve disregülasyon zemininde gelişen lenfoid proliferasyonlar heterojen bir grup olup hiperplaziden lenfomaya uzanan geniş bir spektrumda yer alan hastalık tablolarını içermektedir. Çalışmamızda CD30 (+) LPH tablolarının ayırıcı tanısına giren antiteler değerlendirildiğinden bu ayırıcı tanıya giren enfeksiyöz mononükleoz benzeri hiperplazi ve polimorfik lenfoproliferatif bozukluklar ele alınmıştır.

#### **a. EBV Pozitif Polimorfik Lenfoproliferatif Bozukluk**

##### *(1) Tanım:*

Polimorfik lenfoproliferatif bozukluklar (LPH'ler), bağışıklık yetmezliği veya bozukluğu olan hastalarda ortaya çıkan, tutulan dokuların mimarisini bozan, farklı sayılarda B hücresi içeren heterojen lenfoid hücre infiltrasyonu ile karakterlidir. Bu B hücreleri, B hücre farklılaşmasının tüm spektrumunu sergilemekte olup büyük B hücreleri, HRS-benzeri hücreler de içerebilir. Polimorfik LPH'ler monoklonal veya oligoklonaldır. Hiç genetik değişiklik

göstermeyen veya seyrek genetik değişiklik gösteren EBV'nin indüklediği B hücre proliferasyonlarıdır.

*(2) Klinik:*

Polimorfik B hücreli lenfoproliferatif hastalıklar (LPH) tüm yaş gruplarını etkiler. Klinik tablo, izole lenfadenopatiden generalize lenfadenopatiye kadar değişebilir ve ayrıca akciğer, santral sinir sistemi (SSS), gastrointestinal sistem (GİS) ve deri gibi ektranodal tutulumlar da görülebilir. Belirti ve bulgular, hastalığın tuttuğu organa bağlıdır, ancak bazı hastalarda yaygın sistemik semptomlar da görülebilir (128).

*(3) Epidemiyoloji:*

Polimorfik lenfoproliferatif hastalıklar, herhangi bir bağışıklık yetmezliği/bozukluğu durumunda ortaya çıkabilir (129) ancak en iyi transplantasyon sonrası tanımlanmıştır(130). Polimorfik LPH'lar, hematopoietik kök hücre ve solid organ nakli yapılan alıcılarda görülen posttransplant LPH'ların %20–80'ini oluşturur (131-132) ve çocuklarda en sık görülen posttransplant LPH tipidir (133). Metotreksat ile ilişkili, otoimmün hastalıklar/tedaviye bağlı bağışıklık yetmezliği durumlarında polimorfik LPH görülme sıklığı %5–30 arasındadır (134). HIV enfeksiyonu zemininde ise bu oran %5'in altındadır (135). Transplantasyon dışındaki bağışıklık yetmezliği durumlarında polimorfik LPH'lerin genel olarak yeterince tanınmaması nedeniyle, bu gruplarda gerçek görülme sıklığının yukarıda belirtilenden daha yüksek olabileceği düşünölmektedir (1).

*(4) Etiyoloji ve patogenezi:*

*(a) T hücre immün gözetimi*

Polimorfik lenfoproliferatif hastalıklar (LPH), hastanın immün yetmezlik sorunu ile bozulan T hücre immün gözetimi ortaya çıkmasında rol oynar. Bu lezyonlar ya az sayıda genetik değişiklik içerir ya da hiç değişiklik içermediğinden bağışıklık yanıtının yeniden sağlanmasıyla gerileyebilir (136-137). İmmün yetmezliğin türüne göre patogeneze katkıda

bulunan ek mekanizmalar değişebilir (örneğin, otoimmün hastalığın şiddeti ve süresi, immunsupresif ilaçlara ek olarak polimorfik LPH gelişimine yatkınlık oluşturabilir) (138)

(b) EBV latensi

Epstein-Barr virüsü (EBV), bağışıklık disregülasyonu (IDD) ile ilişkili LPH'lerde çok faktörlü bir rol oynar. Enfekte B hücrelerinde, EBV'nin latent membran proteinleri olan LMP2A ve LMP1 sırasıyla B hücre reseptörü ve CD40 sinyallerini taklit eden ve hücre proliferasyonunu indükleyen NF-κB aktivasyonunu sağlayan hayatta kalma sinyalleri sunar. EBV nükleer antijeni EBNA1, viral DNA replikasyonu, transkripsiyonu ve sitotoksik T hücrelerinden bağışıklık kaçışını düzenlerken, EBNA2 çeşitli viral ve hücrel genleri düzenler (137). EBV, çeşitli transkripsiyonel programlar sergiler ve immün yetmezlik hastalığı ile ilişkili LPH'lerde en yaygın latensi paternleri tip II (LMP1+/EBNA2-) ve tip III (LMP1+/EBNA2+)’tür. Transplant sonrası gelişen polimorfik LPH'ler tipik olarak tip III EBV latensi veya tip II ve III’ün bir karışımını gösterir. Metotreksatla ilişkili polimorfik LPH'lerin çoğunluğu ise tip II EBV latensisi gösterir (134).

(c) Klonalite ve genetik değişiklikler

Polimorfik LPH'ler monoklonal veya oligoklonal immünoglobulin (IG) gen yeniden düzenlemeleri gösterir (139). Bazı vakalarda birden fazla eş zamanlı mutasyon görülür ve her hastalık bölgesi farklı bir klon içerebilir (140). Transplant sonrası gelişen polimorfik LPH'lerde tüm vakalarda monoklonal IG yeniden düzenlemeleri gözlenir (132). Metotreksatla ilişkili polimorfik LPH'lerin %50'si monoklonal IG gen yeniden düzenlenmesi gösterir (141). TR gen yeniden düzenlemesi ile ortaya konan küçük monoklonal T hücre popülasyonları da tespit edilebilir. Bunlar reaktif T hücre popülasyonları olarak değerlendirilir (129). Vakalar da çeşitli sitogenetik anormallikler bulunur ve bu bulgular polimorfik LPH tanısını dışlamaz (139).

(5) *Makroskobik özellikler:*

Ülserasyon ve nekroz olmaksızın kitle oluşturur.

*(6) Mikroskopik özellikler:*

Polimorfik LPH'lerin morfolojik spektrumu geniştir. Tipik olarak heterojen hücre infiltratı ile doku mimarisi bozulmuştur. Farklı oranlarda B hücreleri bulunur ve bu hücreler; küçük lenfoid hücreler, plazmasitoid hücreler, plazma hücreleri, plazmablastlar ve immünoblastlar dahil olmak üzere B hücre farklılaşmasının tüm spektrumunu gösterebilir. Ayrıca T hücreleri ve histiyositler de mevcuttur. İmmünoblastların sayısı ve sitomorfolojisi değişkendir, pleomorfik ve/veya HRS-benzeri hücreleri içerebilir. Geniş alanları kaplayan büyük B hücre tabakaları yoktur. Morfolojik özellikler, aynı hastada tutulan bir alan içinde ve farklı alanlar arasında değişkenlik gösterebilir. (129).

*(7) İmmunofenotipik özellikler:*

Küçük B hücre bileşeni, plazmasitoid farklılaşma gösteren hücrelerin oranına bağlı olarak CD20, CD19, CD22 ve CD79a ile birlikte PAX5, OCT2 ve BOB1 gibi B hücre transkripsiyon faktörlerinin çeşitli düzeylerde eksprese eder. Büyük B hücreleri ve HRS-benzeri hücreler değişken şekilde CD45, CD30 ve B hücre soyuna özgü belirteçleri ifade eder, IRF4 (MUM1) sıklıkla pozitifdir ve nadir vakalarda CD15 pozitifliği görülebilir. Bazı polimorfik LPH alt tipleri yüzey immünooglobulin ekspresyonu olmayabilir. EBV hem küçük hem de büyük hücrelerde değişken oranlarda tespit edilir. İmmünooglobulin hafif zincir sınırlanması nedeni ile alınan örnekler arasında ve örnek içinde farklılık gösterebilir ve klonalite çalışmalarıyla uyumlu olmayabilir. Bazı vakalarda, T hücreleri ve histiyositler baskın olabilir ve bu durum lezyona T hücresi/histiyosit zengin veya Hodgkin lenfoma benzeri bir görünüm kazandırabilir (129).

*(8) Prognoz:*

Polimorfik LPH'ler oldukça değişken bir klinik seyir izler. Polimorfik LPH grubunda, iyi tanımlanmış histopatolojik, immünofenotipik veya moleküler prognostik/öngörücü faktörler bulunmamaktadır. Klinik yönetim, altta yatan immün yetmezlik durumuna göre değişiklik gösterir

## **b. Enfeksiyöz Mononükleoz Benzeri Hiperplazi**

### *(1) Tanım:*

EBV pozitif enfeksiyöz mononükleoz benzeri hiperplazi (EBV+ EMBH), genellikle immün sistemin zayıfladığı durumlarda ortaya çıkan morfolojik olarak enfeksiyöz mononükleozu andıran poliklonal veya oligoklonal karakterde reaktif bir lenfoid proliferasyondur (142).

### *(2) Klinik:*

Hastalar çoğunlukla uzun süren ateş, lenfadenopati, hepatosplenomegali, yorgunluk ve kilo kaybı gibi non-spesifik semptomlarla başvururlar. Bazı vakalarda anemi, trombositopeni ve lökositoz gibi hematolojik anormallikler görülür. Cilt döküntüleri, ağız ülserleri ve mukokutanöz lezyonlar da bildirilebilir. EBV-DNA düzeyleri serumda yüksektir (143).

### *(3) Epidemiyoloji:*

EBV enfeksiyonu dünya genelinde yaygındır ve genellikle çocukluk çağında geçirilir. EBV ile ilişkili lenfoproliferatif hastalıklar daha çok immün yetmezliği olan bireylerde (örneğin; organ nakli, HIV/AIDS, doğuştan immün yetmezlikler) görülmektedir (143).

### *(4) Etiyoloji ve Patogenez:*

Hastalığın temel nedeni, EBV'nin B, T veya NK hücrelerini enfekte ederek bu hücrelerde latent enfeksiyon oluşturmasıdır. EBV'nin latent proteinleri (örneğin LMP1, EBNA1) hücre proliferasyonunu ve anti-apoptotik yolları aktive eder. İmmün sistem baskılandığında bu enfekte hücrelerin kontrolsüz çoğalması sonucu lenfoproliferatif tablolar gelişebilir. EBV'nin Tip I, II ve III latent enfeksiyon modelleri hastalıkların şiddetini ve şeklini belirlemede önemli rol oynar (144)

*(5) Makroskopik Özellikler:*

Belirgin bir özellik yoktur.

*(6) Mikroskopik Özellikler:*

Histopatolojik olarak belirgin parakortikal genişleme vardır. Küçük lenfositler, plazma hücreleri ve histiyositlerin bulunduğu zeminde immunoblastik hücreler bulunmaktadır. Bazı vakalarda DBBHL veya KHL'yi taklit eden büyük hücre ya da HRS benzeri hücrelerde artış olabilir (1).

*(7) İmmünofenotipik Özellikler*

EMH'de, B hücreleri CD20 ve diğer B hücre belirteçleri ile transkripsiyon faktörlerinin değişken ekspresyonunu gösterir ve CD4+ hücrelere göre CD8+ hücrelerin baskın olduğu T hücreleri ile karışık olarak bulunur. EBV, değişken boyutlardaki B hücrelerinde mevcuttur. İmmünoblastlar ve HRS benzeri hücreler CD30, CD45 ve IRF4 (MUM1) eksprese eder, ancak tipik olarak CD15 eksprese etmez. IMH'deki immünoblastlar hem B hücresi hem de T hücresi soyundan olabilir. İmmüoglobulin hafif zincir proteini ekspresyonu, küçük ve büyük B hücrelerinde ve plazma hücrelerinde politipiktir. (1).

*(8) Prognoz:*

Prognoz değişkendir. İmmün kompetan bireylerde genellikle iyi seyirlidir, ancak immün yetmezlik olan hastalarda malign transformasyon veya fulminan seyir görülebilir. (145).

**B.6. EBV Pozitif Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma****a. Tanım:**

Epstein Barr virüsü (EBV) pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), neoplastik hücrelerin çoğunun EBV taşıdığı bir büyük B hücreli lenfomadır. Etkilenen hastaların lenfoma öyküsü ya da immün yetmezliği/bozukluğu (immunosenesans hariç) bulunmaz.

### **b. Klinik:**

Yaklaşık %80 hasta ileri evre (III-IV) hastalıkla presente olur. B semptomları %77 oranında görülür ve %48 oranında ektranodal hastalık olabilir (146).

### **c. Epidemiyoloji:**

2021 yılında yapılan bir çalışmada ortalama yaş 68 ve erkek/kadın oranı 2:1'dir (147).

### **d. Etyoloji ve patogenezi:**

İmmünoşenesansın (bağışıklık sisteminin yaşla birlikte zayıflaması) yaşlı hastalarda EBV pozitif DBBHL gelişiminde rol oynadığı öne sürülmüştür. EBV pozitif DBBHL, EBV negatif DBBHL'ye kıyasla daha düşük bir mutasyon yükü gösterir; bu durum, EBV'ye bağlı hastalık oluşumunun daha az sayıda sürücü mutasyon veya onkojenik olaya ihtiyaç duyduğu hipoteziyle uyumludur (147). EBV varlığının, MYD88 ve/veya CD79A mutasyonları olan hastalarda EBV olmadığı bildirilmiştir (148). Mutasyon profili, ağırlıklı olarak NF- $\kappa$ B, WNT ve IL-6/JAK/STAT yollarındaki tekrarlayan değişikliklerle karakterizedir (147,149) ve EBV negatif DBBHL-NOS'tan farklılık gösterir. Bu hastalığa özgü olabileceği düşünülen bazı mutasyona uğramış genler arasında CCR6, CCR7, DAPK1, TNFRSF21, CSNK2B ve YY1 yer almaktadır (147). 6q delesyonları sık görülür ve PRDM1 ile TNFAIP3 kaybına yol açar (147). PDL1 aşırı ekspresyonu, transkripsiyon faktörü AP-1'i ve JAK/STAT ile NF- $\kappa$ B yollarını aktive eden LMP1 aracılığıyla (150,151) veya CD274 (PDL1) / PDCD1LG2 (PDL2) gibi genlerdeki yapısal varyasyonlar yoluyla gerçekleşir (152). PDL1 ekspresyonunun vakaların %95'inde bildirildiği görülmüştür (153). Ancak yaşlı hastalarda daha düşük sıklıkta görülmekteyken (%11), genç hastalarda daha yüksek sıklıkta görülmesi zıt bir durum oluşturmaktadır (154,155). Bu da bağışıklıktan kaçışın genç hastalarda, yaşlılara kıyasla daha önemli olabileceğini düşündürmektedir.

### **e. Makroskopik özellikler:**

Lenfadenopati yapan tümöral kitle.

#### **f. Mikroskopik özellikler:**

Histolojik özellikler, tümör hücrelerinin yoğunluğu ve bağışıklık mikroçevresinin niteliğine göre geniş bir spektrumda değişir ve bu durum polimorfik ve monomorfik tipler olarak alt sınıflara ayrılmıştır (156). Polimorfik alt tipte, büyük hücreler/immunoblastlar, Hodgkin Reed-Sternberg (HRS) benzeri hücreler, küçük lenfositler, plazma hücreleri ve histiyositler (epiteloid histiyositler dahil) içeren reaktif bir arka planda dağınık halde bulunur. Bu yapı, T hücresi/histiyosit zengin büyük B hücreli lenfomayı (THZBBHL) ve KHL'yı andırabilir. Daha nadir görülen monomorfik alt tip ise, atipik büyük lenfoid hücrelerden oluşan tabakalar içerir ve yardımcı testler olmadan EBV negatif DBBHL'den ayırt edilemez. Bazı vakalarda polimorfik ve DBBHL-benzeri alanların bir karışımı görülebilir. Anjiosentrik/anjiyodestruktif lezyonlar ve yaygın koagülasyon ve coğrafi nekroz da karakteristik bulgular arasındadır ancak her vakada görülmeyebilir.

#### **g. İmmunfenotipik özellikler:**

Neoplastik hücreler, pan-B hücre antijenleri olan CD19, CD20, CD22, CD79a ve PAX5 için pozitifdir ve genellikle aktive B hücre tipi immünofenotip gösterir; IRF4 (MUM1) pozitifliği vardır ve CD10 ifadesi genellikle yoktur. BCL6 ifadesi değişkenlik gösterir (pozitiflik derecesi farklı olabilir). Vakaların çoğu CD30 pozitifdir; boyanma kısmi ve zayıftan, yaygın ve güçlüye kadar değişiklik gösterebilir. Neoplastik hücreler bazı vakalarda CD15 de eksprese eder, ancak klasik Hodgkin lenfomaya özgü diğer immünofenotipik özellikler genellikle yoktur (157).

LMP1 çoğu vakada (%90'dan fazla) eksprese edilirken EBNA2 yalnızca bir alt grupta pozitifdir; bu nedenle EBV tip II latent enfeksiyonu, tip III'e kıyasla daha sık görülür. Tümör hücreleri özellikle genç hastalarda genellikle PDL1 ve PDL2 eksprese eder (158). Neoplastik hücrelerin %80'ninden fazlası EBER ile pozitif olmalıdır (159).

#### **h. Prognoz:**

EBV enfeksiyonunun DBBHL'daki prognostik etkisi, Asya, Avrupa ve ABD çalışmalarına göre değişkenlik göstermektedir. Geriye dönük çalışmalara göre, yaşlı hastaların klinik sonuçları kötüdür ve ortalama genel sağ kalım süresi 24 ila 36 aydır (160) Bildirilen bazı

kötü prognostik faktörler arasında tip III EBV latentliği (EBNA2 ekspresyonu) (161) ve tanı sırasında veya tedavi sürecinde ortaya çıkan sekonder hemofagositik lenfositosis mevcutluğuyunu yer almaktadır (146).

### **B.7. Primer Mediastinal Büyük B Hücreli Lenfoma**

Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma (PMBHL), timik kökenli olabileceği düşünülen agresif bir B hücreli lenfomadır. Ön mediastende gelişir ve kendine özgü klinik, immünofenotipik ve moleküler özellikler gösterir.

#### **a. Klinik:**

Ön mediastende hızla büyüyen bir kitle ile prezente olur. Kitle, bası semptomlarına neden olabilir. Yaygın görülen semptomlar arasında öksürük, nefes darlığı, ses kısıklığı, yutma güçlüğü, hava yolu veya damar hasarı ve B semptomları (ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı) bulunur. Ayrıca, laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyleri genellikle yükselmiştir. Uzak lenf nodu yayılımı ve kemik iliği tutulumu nadirdir. Vakaların %80'i tanı anında evre I–II olarak saptanır (162).

#### **b. Epidemiyoloji:**

Genç yaş grubunda (ortalama 37 yaş) ve kadınlarda daha sıktır (Kadın/erkek oranı 3:1) (163)

#### **c. Etyoloji ve patogenezi:**

PMBHL'nin moleküler belirteçleri arasında NF-κB (164) ve JAK/STAT (165) sinyal yolu düzensizlikleri ve çeşitli immün kaçış mekanizmaları (166) yer alır. Bu özellikler, çok sayıda gen mutasyonu ile desteklenir; bu mutasyonlar, bu yolların sürekli aktif hale gelmesine ve somatik olarak edinilmiş immün ayrıcalığa neden olur (167).

En sık görülen gen değişiklikleri arasında şu mutasyonlar yer alır; nokta mutasyonları: *SOCS1*, *GNAI3*, *STAT6*, *CD58*, *B2M*, *ITPKB*, *TNFAIP3* ve *IL4R*; kopya sayı artışları: *2p16 (REL geni içerir)* (168), *9p24 (CD274 [PDL1] ve PDCD1LG2 [PDL2] içerir)* (34); delesyonlar: *6q23 (TNFAIP3 içerir)*, *9p21 (CDKN2A içerir)*, *17p13 (TP53 içerir)* (169); kromozomal yeniden düzenlenmeler: *MHC sınıf II'nin ana düzenleyici geni olan CIITA (C2TA) ile programlanmış hücre ölümü ligand genleri CD274 (PDL1) ve PDCD1LG2 (PDL2)* (40,170)

Bazı PMBHL vakalarında bu mutasyonlar, aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (AID) tarafından yönlendirildiği düşünülen anormal somatik hipermutasyon süreci içinde ortaya çıkar (171,172). BCL2, BCL6 ve MYC yeniden düzenlenimleri nadir görülür ya da hiç yoktur. Olgun B hücre fenotipi genellikle tam değildir; örneğin, immüoglobulin ekspresyonu çoğu zaman yoktur (173). PMBHL'de gözlenen değişken ve bazen belirgin T hücreli mikroçevre, MGZL ve KHL ile paylaşılan bir özelliktir ve tümör gelişimi için uygun bir mikro ortamın patogenezdaki önemini vurgular (166). MHC moleküllerinin kaybı PMBHL'nin sık görülen bir özelliğidir (174, 175).

#### **d. Makroskobik özellikler:**

PMBHL, solid bir kitle olarak ortaya çıkar; rengi açık kahverengiden ten rengine kadar değişebilir ve bazen nekroz odakları da görülebilir.

#### **e. Mikroskopik özellikler:**

PMBHL, genellikle fibrotik bir zemin içerisinde kümeler veya tabakalar halinde dağılmış neoplastik lenfoid hücrelerin diffüz infiltrasyonu şeklinde görülür. Fibrozisin miktarı, neoplastik hücrelerin alveolar şekilde bölündüğü ince retiküler yapıdan, kaba kollajenöz fibrozise kadar değişkenlik gösterebilir. Neoplastik hücreler sitolojik olarak geniş bir çeşitlilik sergilese de genellikle orta ila büyük boyuttadır; bol, soluk sitoplazmalı ve küçük çekirdekçikleri bulunan yuvarlak ya da oval çekirdeklere sahiptirler (176-178). İmmünoblastların tabakalar halinde çoğalması, veziküler çekirdekli, boyut açısından değişken pleomorfik hücreler, dağınık halde HRS hücrelerine benzeyen hücreler ya da yoğun sklerotik stroma içinde hücreden fakir infiltrasyon görülebilir (178). Değişken sayıda reaktif lenfosit, histiyosit ve daha nadir olarak granülosit eşlik edebilir. Timik epitel kalıntıları ve nekroz odakları bulunabilir. PMBHL, genellikle lenf nodunu karsinom benzeri bir paternde tutar: önce marjinal sinüslerin kolonizasyonu, ardından perifoliküler tutulum ve nihayetinde stromal komponent olmadan lenf nodu yapısının tamamen silinmesi gözlenir (178).

### **f. İmmunfenotipik özellikler:**

Neoplastik hücreler, CD45 ve CD19, CD22, CD20 ve CD79a gibi B hücre soyuna ait antijenleri eksprese eder. IG (immünoglobulin) genlerinin fonksiyonel yeniden düzenlenmelerine ve B hücre soyuna özgü transkripsiyon düzenleyicileri olan BOB1, PU.1, OCT2 ve PAX5'in ekspresyonuna rağmen, bu hücrelerde yüzey ve sitoplazmik immünoglobulin ekspresyonu genellikle bulunmaz (64,179,180). PMBHL vakalarının çoğu (%80'den fazlası) CD30 pozitifdir, ancak klasik Hodgkin lenfomadan (KHL) farklı olarak boyanma genellikle heterojen ve zayıf şiddettedir (180,181). Neoplastik hücreler sıklıkla (%75–95) IRF4 (MUM1) eksprese eder ve değişken düzeylerde BCL6 ve BCL2 ekspresyonu gösterir; CD10 ekspresyonu ise nadirdir (olguların <%30'u) (180,182-184). PMBHL için özgüllüğü ve duyarlılığı %70'in üzerinde olan biyobelirteçler arasında CD23, MAL, CD200, PDL1 ve PDL2 bulunur (180,183,185-188).

NF-κB, TNF ve JAK/STAT sinyal yollarının aktivasyonu sonucunda c-REL (%65–77), TRAF1 (%62–86), TNFAIP2 (%87) ve fosforile STAT6 (%73) ekspresyonu sıklıkla gözlenir (165,189,190,186). PMBHL genellikle HLA sınıf I ve/veya sınıf II moleküllerinin ekspresyonundan yoksundur (191,177). Nadir olgularda CD15 pozitifliği gözlenebilir bu durumda genellikle küçük noktasal, paranükleer bir boyanma paterni izlenir (192).

### **g. Prognoz:**

Kemoterapi ile birlikte mediastinel ışın tedavisini içeren agresif tedaviyle PMBHL sağkalım oranları, diffüz büyük B hücreli lenfomaya (DBBHL) benzerdir (193-195).

## **B.8 Mediastinal Gri Zon Lenfoma**

Mediastinal gri zon lenfoma (MGZL), PMBHL ve KHL arasında klinik, morfolojik, immünfenotipik ve moleküler açıdan benzer özellikler gösteren bir B hücreli lenfomadır (196).

### **a. Klinik:**

Hastalar büyük oranda lokalize ön mediasten kitlesi ile başvurur. Kemik iliği tutulumu ve yaygın hastalık nadirdir. Anemi, hipoalbuminemi ve artmış LDH ile prezente olurlar.

Hastaların 2/3'ü erken evrededir ve hastaların 1/3'ünde bulky kitle (>10 cm) olması dikkat çekicidir (197).

### **b. Epidemiyoloji:**

Genç yaşta, ortalama 37 yaşında görülür ve erkeklerde daha sıktır (erkek/kadın oranı 1,9/1) (197). Mediasten dışı yerleşim nadiren bildirilmiş olup cinsiyet ayrımı gözetmeksizin daha yaşlı hastalarda (65 yaş) görülmektedir. Ancak primer ekstramediastinel gri zon lenfoma (PEMGZL) varlığı hala tartışmalı bir konudur (1).

### **c. Etyoloji ve patogenezi:**

MGZL, NSKHL ve PMBHL hastalıklarıyla genetik, epigenetik ve fenotipik olarak ortak özellikler paylaşır. Bu durum timik B hücrelerinden ve/veya (post-) germinal merkez B hücrelerinden kaynaklandığını düşündürmektedir (198). 9p24.1 (JAK2/CD274/PDCD1LG2) ve 16p13.13 (CIITA [C2TA]) bölgelerini içeren yapısal kromozomal anormallikler ile sık görülen zararlı B2M mutasyonları ve MHC sınıf I ve MHC sınıf II ekspresyonunun kaybı, somatik olarak kazanılmış immün kaçışının, patogenezi önemli rol oynadığını göstermektedir (199). MGZL, KHL ve PMBHL ile JAK/STAT, NF-κB ve nükleer taşıma yollarında görülen değişiklikler gibi genomik anormallikleri paylaşmaktadır. En sık mutasyona uğrayan genler arasında SOCS1, TNFAIP3, NFKBIE, GNA13 ve XPO1 bulunmaktadır (199). MGZL'ye özgü mutasyon özellikleri tanımlanmamıştır (199).

PEMGZL'nin patobiyolojisi MGZL'den temel olarak farklıdır. Gen ekspresyonu çalışmaları, MGZL'nin PMBHL ile yakından ilişkili olduğunu desteklerken, PEMGZL'nin daha çok DBBHL-NOS ile ilişkili özellikler gösterdiğini ortaya koymaktadır (200). DBBHL-NOS'ta olduğu gibi, PEMGZL'de de sık olarak TP53, BCL2, BIRC6 ve CREBBP genlerinde değişiklikler görülmektedir (199). Ayrıca BCL2 ve BCL6 yeniden düzenlenmeleri sırasıyla %41 ve %18 oranında görülür. JAK2/CD274/PDCD1LG2 amplifikasyonu da PEMGZL'de rapor edilmiştir (199). Bu nedenle, PEMGZL tanısının oldukça sınırlayıcı bir şekilde uygulanması gerekir. Mediasten dışındaki MGZL ile morfolojik ve/veya immünofenotipik özellikleri paylaşan olgular genellikle DBBHL-NOS olarak sınıflandırılmalıdır.

#### **d. Makroskobik özellikler:**

Tümör kesiti bronz, balık eti görünümündedir. Nodülariteye yol açan nekroz ve fibrozis görülebilir.

#### **e. Mikroskopik özellikler:**

MGZL'nin morfolojik spektrumu geniştir ve aynı tümör örneği içinde farklı veya geçiş gösteren morfolojik alanlar görülebilir. MGZL vakalarının çoğunluğu (%70) NSKHL'ye benzer ve "KHL-benzeri" olarak adlandırılır; kalan vakalar (%30) PMBHL'yi taklit eder ve "PMBHL-benzeri" olarak tanımlanır.

KHL-benzeri MGZL vakaları, değişken yoğunluklu bir mikroçevre ve yoğun fibrotik stroma içinde pleomorfik neoplastik hücrelerin birleşerek büyümesi ile karakterlidir. Sadece dağınık HRS-benzeri hücreler içeren ve birleşme eğilimi gösteren neoplastik hücrelerin olmadığı vakalar daha nadirdir. Neoplastik hücreler, tipik HRS hücrelerine, laküner hücrelere, sentroblastlara veya immünoblastlara benzeyen geniş morfolojik ve sitolojik çeşitlilik vardır. Arka planda bulunan inflamatuvar infiltratta eozinofiller, lenfositler, plazma hücreleri ve histiyositler yer alabilir; bu da NSKHL'ye benzer. Nodüleri ayırma eğilimi gösteren fibröz bantlar ve nötrofilik infiltrat içermeyen seyrek nekroz alanları görülebilir (201).

PMBHL-benzeri MGZL vakaları ise daha monomorfik bir görünüm sergiler; bu vakalarda, değişken yoğunlukta fibrotik stroma içinde orta-büyük boyutlu neoplastik hücrelerden oluşan tabakalar halinde büyüme ve genellikle hücre sayısı az olan inflamatuvar infiltrat görülür. Belirgin pleomorfizm ve seyrek HRS-benzeri hücreler de gözlenebilir.

İğne biyopsisi örnekleri genellikle kesin tanı için yetersiz olabileceğinden tercihen insizyonel biyopsiyle alınan büyük doku örneklerinin uygun bir immunhistokimya paneli ile birlikte değerlendirilmesi gereklidir (197).

#### **f. İmmunfenotipik özellikler:**

KHL-benzeri MGZL'da korunmuş bir B hücre programı bulunur. Korunmuş B hücre programı CD20, CD19 ve CD79a'nın güçlü ve uniform ekspresyonu, B hücre transkripsiyon faktörlerine (PAX5, BOB1, OCT2) göre daha güvenilir kabul edilir. PAX5 ve CD20'nin güçlü ve uniform ekspresyonuna ek olarak neoplastik hücrelerin çoğunda en az bir ek B hücre

belirtecinin daha güçlü pozitif olması tanıyı destekler. Eğer ek B hücre belirteçleri negatifse (yalnızca CD20 ve PAX5 çoğu neoplastik hücrede pozitifse), KHL tanısı daha olası kabul edilir. CD30 genellikle pozitifdir, CD15 ise vakaların az bir kısmında pozitif bulunur. Buna ek olarak, IRF4 (MUM1), BCL6 ve fascin sıklıkla eksprese edilirken; CD10 ve ALK negatiftir. CD45 değişken oranda eksprese edilir. EBV, EBER in situ hibridizasyon negatiftir.

PMBHL-benzeri MGZL, değişken düzeyde B hücre programı kaybı gösterir ve CD30 ve/veya CD15 için sıklıkla güçlü ve uniform pozitiflik saptanır (197,201). Bu nedenle, PMBHL-benzeri morfoloji ile birlikte CD30'un uniform pozitifliği görüldüğünde MGZL tanısı düşünülmeli ve bu tanı, B hücre belirteçlerinin kısmen veya tamamen kaybı ya da CD15'in güçlü ekspresyonu ile desteklenmelidir. Buna karşılık, B hücre belirteçlerinin korunduğu tipik bir PMBHL morfolojisinde CD15 ekspresyonu olmaksızın CD30'un yoğun ve yaygın ekspresyonu MGZL ile uyumlu değildir ve bu durumda PMBHL tanısı tercih edilmelidir. EBER in situ hibridizasyon ile değerlendirildiğinde EBV vakaların büyük çoğunluğunda negatiftir.

#### **g. Prognoz:**

2014 yılında yapılmış prospektif çalışmada, MGZL'nin tedavi sonuçları PMBHL'ye kıyasla daha kötü bulunmuştur (202). 2017 yılında 99 hasta ile yapılan bir çalışmada 3 yıllık hastaliksız sağ kalım %63 ve 3 yıllık yaşam süresi %83 olarak belirtilmiştir (203).

## **II-B9. Çalışmada Kullanılan İmmunhistokimyasal Belirteçlerle İlgili Genel Bilgiler**

### **a. IRF8 (İnterferon düzenleyici faktör 8)**

İnterferon düzenleyici faktör 8 (IRF8), başlangıçta interferon konsensüs dizi bağlayıcı protein (ICSBP) olarak adlandırılan IRF transkripsiyon faktörünün bir üyesidir (204). IRF'ler ilk olarak virüslere ve diğer patojenlere karşı bağışıklık yanıtı için gerekli olan IFN'e duyarlı genlerin aktivasyonu için tip I interferon (IFN-I) yanıtının bir düzenleyicisi olarak tanımlanmıştır (205). Yeni çalışmalarda patojenle ilişkili moleküler desenleri kromatin değişikliklerine ve sonunda bağışıklık hücresi aktivasyonuna dönüştürmede önemli oldukları

bilinmektedir (206). IRF8 ilk olarak majör histokompatibilite kompleksi sınıf I (MHC I) genlerindeki spesifik IFN- $\gamma$ -tepkili DNA motifine bağlanan bir IFN $\gamma$ -indüklenebilir nükleer protein kodlayan gen olarak klonlanmıştır (207). İnsan IRF8 geni, 9 ekzon ve 8 intron kodlayan 23.228 bp ile 16. kromozomda bulunur (208). IRF8 proteini, DNA bağlama domain (DBD) ve IRF ilişki domain (IAD) ile birlikte 426 amino asit uzunluğundadır (208).

IRF8, yalnızca doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin soy farklılaşmasında önemli bir rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda adaptif bağışıklık hücrelerinin gelişiminde de önemli bir rol oynar. Dendritik hücre (DH) farklılaşmasının erken evrelerinde, IRF8 makrofaj ve DH öncüsünden (MDP) ortak DH öncüsüne (ODP) geçiş için gereklidir (209,210). IRF8 homozigot delesyona uğratılmış farelerde uyarana karşı Tip I IFN üretimi daha düşüktür, bu da IRF8'in pDH'lerin (Plazmasitoid dendritik hücreler) gelişiminden çok işlevinde daha önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir (209). MDP'lerde IRF8 olmadığında farklılaşmanın makrofaj fenotipi yönünde kaydığı gözlemlenmiştir (210). Lenfoid-öncülü multipotent progenitör (LMPP) seviyesinde IRF8 ekspresyonunun farklılaşmayı DH yönünde etkilediği ortaya koyulmuştur (211).

IRF8, makrofaj farklılaşmasında rol oynar. IRF8 eksikliği olan farelerden elde edilen miyeloid progenitör hücreler, IRF8'in retroviral aktarımıyla fonksiyonel makrofajlara farklılaşabilmiş ve makrofaja özgü genleri ifade etmiştir (212). Buna karşılık, IRF8 aktarımı granülositik diferasyona ait genlerin baskılanmasına yol açmıştır. Bu durum, IRF8'in miyeloid progenitör hücrelerden makrofaj farklılaşmasını teşvik ettiğini, granülosit farklılaşmasını ise baskıladığını göstermektedir. (213). IRF8 dokulardaki makrofajların (osteoklastlar dahil) homeostazı ve farklılaşmasında da görev almaktadır (214). Makrofajların doğal bağışıklık sistemindeki işlevlerini de düzenlenmesinde rol oynar. IL-12 gibi proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu destekler, LPS (lipopolisakkarit) uyarısına makrofaj yanıtlarını etkiler ve hücre içi ya da fagosite edilen patojenlere karşı makrofaj aktivitesini belirler. IRF8 eksikliği olan farelerde, IL-12 sentezinin bozulması nedeniyle hücre içi enfeksiyonlara duyarlılık artmıştır (215). IRF8, otofagozom oluşumu ve lizozomla birleşme süreçlerinde rol oynayan genleri aktive eder (216).

Soy hattına özgü hücrelerde IRF8 ifadesi, ortak öncüllere göre daha yüksek bulunmuştur. IRF8 geninin devre dışı bırakıldığı *in vitro* deneylerde, granülosit ve monosit öncüllerinin ortak öncüden farklılaşmasının etkilenmediği görülmüştür. Bu da IRF8'in granülosit/monosit ortak öncü düzeyinde değil, daha çok belirli hücre soylarına özgü farklılaşma sürecinde rol oynadığını göstermektedir. (217). Başka bir çalışmada, IRF8 eksikliği

olan farelerde mononükleer fagosit öncüllerinin monositlere değil nötrofillere farklılaştığı bulunmuştur (218).

IRF8 ifadesi ve monosit farklılaşmasındaki rolü, STAT protein ailesi tarafından düzenlenmektedir; özellikle STAT1 (219) ve STAT5 (220) bu süreçte etkilidir. All-trans retinoik asit (ATRA), miyelomonositik farklılaşmayı teşvik eden bir bileşik olarak insan monoblastik hücrelerine verildiğinde, mutant STAT1 taşıyan hücrelerde IRF8 düzenlenmesinin bozulduğu ve monositik farklılaşmanın engellendiği görülmüştür (219). mTOR'un monosit farklılaşması üzerindeki etkilerini inceleyen başka bir çalışmada, STAT5 aktivitesinin engellenmesi, IRF8 ifadesini artırmış ve mTOR eksikliği olan granülosit/monosit öncüllerinde farklılaşmayı teşvik etmiştir (220)

Son zamanlarda IRF8 ile dendritik hücre eksiklikleri arasındaki ilişkiye dair artan kanıtlar vardır. Bu eksikliklerin kronik miyeloid lösemi (221), ateroskleroz (222) ve kanser (223) gibi hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir. Otozomal resesif bir IRF8 eksikliği olan K108E mutasyonu, tamamen dendritik hücre eksikliğiyle ilişkili bulunmuş ve ciddi bir immün yetmezliğe yol açmıştır (224).

Normal (patolojik olmayan) koşullarda immatür miyeloid hücreler, granülositlere, makrofajlara ve dendritik hücrelere farklılaşır. Ancak kanser gibi patolojik durumlar, bu farklılaşmayı engelleyebilir ve bağışıklık baskılayıcı faktörlerin üretimini artırabilir. Bu durumda oluşan hücreler, MDSH olarak tanımlanır (225). Tümör taşıyan farelerde, hem PMN-MDSH'lerde hem de M-MDSH'lerde IRF8 ekspresyonu azalmıştır (226). Benzer şekilde, kanser hastalarında da MDSH'lerde IRF8 düzeyleri düşüktür (227). IRF8 eksikliği olan farelerde, tümör kaynaklı MDSH'lerle yüksek oranda benzerlik gösteren MDSH-benzeri popülasyonlar üremiştir. Öte yandan IRF8'deki ekspresyon artışı, MDSH birikimini azaltmıştır (227). Ülseratif kolit gibi kronik inflamasyon durumlarında MDSH popülasyonu artar. Bu hücreler yüksek miktarda IL-10 salgılar, bu da STAT3 transkripsiyon faktörünü aktive eder. STAT3, DNA metil transferazlarını uyararak IRF8'in işlevsel olarak susturulmasına yol açar (228). Bu veriler birlikte değerlendirildiğinde MDSH artışının IRF8 ekspresyonunu susturabileceği ve böylece MDSH'lerin daha da fazla genişlemesine neden olabileceği anlaşılmaktadır. IRF8 seviyesindeki düşüş, MDSH'lerin sitotoksik T lenfositler tarafından yok edilmekten kaçınmasını kolaylaştırır. MDSH'ler, IRF8'i baskılayarak Bax ve Bcl-xl gibi apoptozla ilişkili proteinlerin ifadesini değiştirebilir ve Fas-yolaklı apoptoz mekanizmasını bozarak bağışıklık sisteminden kaçabilir (229).

Başlangıçta IRF8'in, olgun fare B hücrelerinde ve B hücre öncüllerinde (pro ve pre-B hücreleri) ifade edildiği ancak olgun plazma hücrelerinden oluşan tümörlerde ifade edilmediği bulunmuştur (230). IRF8, B hücre programını sürdüren genleri aktive ederek ve plazma hücre programını sürdüren genleri baskılayarak germinal merkez B hücre yanıtını desteklerken plazma hücre farklılaşmasını engeller (231)

IRF8'in Th17 hücrelerinin genişlemesini baskıladığı bildirilmiştir (232); ancak literatür bu konuda hemfikir değildir (233). IRF8'in, Th17 hücre farklılaşması için kritik bir transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$ t'nin ifadesini baskıladığı bulunmuştur (234). Ayrıca, IRF8'in aşırı ifadesi, IL-17 ifadesi için gerekli olan ROR $\gamma$ t-bağımlı bir enhancer bölgesinin aktivitesini baskılamıştır (234). IRF8, T Helper 1 (Th1) hücrelerinin, T Helper 2 (Th2) hücrelerine kıyasla daha fazla farklılaşmasını kolaylaştırdığı öngörülmektedir. Th1 hücrelerine yönelmiş hücrelerde IRF-8 ve IRF-1 ifadeleri, Th2 hücrelerine yönelmiş hücrelere göre daha yüksek bulunmuştur (235). IL-9 üreten yardımcı T hücreleri (Th9), IL-9 ve IL-21 salgılayarak anti-tümör etki gösterirler (236,237). IRF8'in Th9 hücre farklılaşması için gerekli olduğu ve IL-4 salgısını baskıladığı gösterilmiştir (238). IRF8'in CD8+ T hücreleri üzerindeki rolü ise daha belirsizdir. Göz herpes simpleks virüsü tip 1 (HSV-1) enfeksiyonunun fare modelinde, IRF8 geni silinmiş farelerde, HSV-1 spesifik CD8+ T hücrelerinde belirgin bir artış, buna bağlı olarak artmış dokuya geçiş, inflamasyon ve viral temizlenme gözlemlenmiştir (239). Graft Versus Host Hastalığı fare modelinde IRF8 eksikliğinin, CD8+ T hücrelerinin efektör hücrelere farklılaşmasını azalttığı gösterilmiştir (240). IRF8, inflamasyonu baskılar ve tümör oluşumunda rol oynar. IRF8 eksikliği, farelerde kolit modelinde Th17 hücrelerinin artışına bağlı olarak inflamasyonu arttırmıştır (241). IRF8'in kaybı, otoimmün üveit (belirgin Th17 artışıyla ilişkili) ve göz HSV-1 enfeksiyonu (muhtemelen CD8+ hücre genişlemesindeki azalmış sınırlama nedeniyle) durumlarında da artmış inflamasyonla sonuçlanmıştır (242).

IRF8, Doğal Öldürücü (NK) hücrelerin gelişimi ve işlevinde rol oynar (243). IRF8 genindeki biallelik mutasyonlar, NK hücrelerinin işlevinde, sayısında ve olgunlaşmasında bozulmalara yol açar (244). IRF8'in doğrudan TLR9 ekspresyonunu düzenlediği ve eksikliği durumunda CpG stimülasyonu ile beklenen IFN- $\gamma$  üretiminde artış olmadığı ortaya konmuştur (243). IRF8 eksikliği olan farelerde, kemik iliğinde olgun NK hücrelerinin oranında ve toplam sayısında azalma gözlemlenmiştir. Bu durum, IRF8 geninin homozigot eksikliğinde kemik iliğindeki nötrofil bolluğundan kaynaklanmaktadır (243). Ayrıca, NK hücreleri viral patojenlere karşı etkin bağışıklık yanıtında rol aldığından, bu hücrelerdeki eksiklikler ciddi viral hastalıklarla sonuçlanmıştır. Benzer şekilde, NK hücrelerinde IRF8 eksikliği olan fareler (NK

IRF8 geninin homozigot eksik) MCMV (Fare sitomegalovirus) ile enfekte edildiklerinde viral replikasyonu kontrol etmede yetersiz kalmış ve hayatta kalma oranları azalmıştır (245). IRF8 geninin homozigot eksikliğinde bulunan NK hücrelerinde, virüs kaynaklı hücre çoğalmasında azalma ve proliferasyon bozuklukları gözlenmiştir; bu da fare modellerinde gözlenen yetersiz viral kontrolün nedeni olabilir (245).

Hematopoetik olmayan kanser hücrelerinde, IRF8 metastatik fenotipin oluşumuna karşı koruyucu bir rol oynar. İnsan kolon kanseri hücrelerinde, IRF8 protein düzeyleri ile metastatik fenotip arasında ters bir ilişki bulunmuştur (246). İnsan osteosarkom hücre hattında IRF8'in EMT-benzeri olayları (epitelyal-mezenkimal geçiş), hücre hareketliliğini ve invazyonu teşvik ettiğini göstermiştir. Bu da IRF8'in, bazı durumlarda metastatik fenotipin kazanılmasında rol oynayabileceğine dair kanıt oluşturmaktadır (247). IRF8 ile transfekte edilen hücrelerde, bu tümör baskılayıcı genlerin ekspresyonu lensin epitelyal karsinomunun büyümesini engellemiştir (248). Benzer şekilde, IRF8'in p27 ekspresyonunu artırması, akciğer kanseri hücrelerinde yaşlanmayı (senescence) indüklemiştir (249). Yumuşak doku sarkomu hücrelerinde IRF8'in, FLICE-benzeri protein (FLIP) adlı bir inhibitör proteinin baskılayıcısı olduğu bulunmuştur (250). IRF8'in Fas aracılı apoptozu teşvik etmesinin bir diğer yolu da asit seramidaz (A-CDase) adlı enzimin baskılanmasıdır. A-CDase artışı, prostat ve meme kanseri gibi bazı kanser türlerinde rol oynamaktadır (251). Melanom taşıyan IRF8 geni silinmiş farelerde, dendritik hücrelerin (DH) ve T hücrelerinin tümöre göçünde zayıflık gözlemlenmiştir (252).

2022 yılında McQuaid ve ark. 74 KHL, 7 NLPHL yanı sıra 15 ALK- ABHL ve 4 ALK+ABHL'nin dahil edildiği çalışmalarında IRF8'in 61 KHL (%85,1), 7 NLPHL vakasında pozitif olduğu ABHL'lerin ise tümünde negatif olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu nedenle IRF8'in CD30 pozitif büyük hücreli lenfomaların ayırıcı tanısında kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Pax-5 ile boyanmayan 6 KHL vakasında IRF8 pozitifliğinin tanıyı koymada yararlı bulunduğu belirtilmiştir (253).

### **b. STAT6 (Sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon aktivatörü 6)**

STAT-6 sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatör protein ailesine ait bir proteindir. Bu proteinler nükleusa geçer ve orada reseptör kompleksi oluşturarak gen ekspresyonunu aktive ederler. STAT-6 ise birincil olarak IL-4 ve IL-13 tarafından aktive edilir. T helper 2 hücresi gibi davranır (254,255).

STAT6, 12q13.3-q14.1 bölgesinde olup, NAB2 geniyle çok yakındır (256). Fosforile durumda aktiftir. STAT6 daha çok IL-4 ve IL-13 tarafından uyarılır, ancak IL-3, IL-15, interferon (IFN)  $\alpha$  gibi diğer sitokinler veya trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi büyüme faktörleri de onu aktive edebilir (254). Sitokinlerin STAT6 reseptörlerine bağlanmasıyla sinyal yolundaki kaskat başlar (256). Bu sitokinler reseptörlerine bağlandığında, reseptörlerin sitoplazmik kuyruklarına bağlı olan Janus kinazlar (Jak) aktive olur ve reseptör üzerinde korunmuş tirozin kalıntılarını fosforile eder (256). Bu fosforilasyon, STAT6 monomerleri için bağlanma bölgeleri oluşturur ve sitoplazmadaki STAT6, Src homolog-2 (SH2) domaini aracılığıyla bağlanırsa STAT6'nın korunmuş tirozin (Y)-641 bölgesi fosforile olur (255). Fosforile olduktan sonra STAT6, SH2 domainleri aracılığıyla homodimerler oluşturur ve çekirdekte DNA bağlanma motifine bağlanır ve hedef genlerin ifadesini aktive eder (255,256). STAT6'nın sitoplazmaya geri dönebilmesi ve döngünün tekrar edebilmesi için çekirdekte defosforile edilmesi gerekir. STAT6'nın çekirdekte defosforile edilmesi şarttır; defosforilasyonda rol oynadığı öne sürülen moleküller arasında çekirdekte bulunan SH içeren fosfataz-1 (SHP-1) ve sitoplazma ile çekirdek arasında hareket eden yaygın olarak eksprese edilen bir tirozin fosfataz olan TCPTP (T hücre protein tirozin fosfataz) bulunmaktadır (254).

STAT6'nın inflamasyondaki rollerinden biri de T hücreleri üzerindeki etkileridir. STAT6, CDKN1B ekspresyonunu azaltarak T hücre proliferasyonunu düzenler ve GATA3 geninin ekspresyonunu kontrol ederek Th2 farklılaşmasını sağlar (255,257). STAT6, IL-9 salgılayan T hücrelerinin gelişimi için de gereklidir (255).

B hücrelerinde ise STAT6, immunoglobulin sınıf değişimini IgE ve IgG1 yönünde teşvik eder (255,257). Aktive B hücrelerinin CD23+ post-aktive B hücrelerine mi yoksa CD23- plazmablasta mı dönüşeceği, STAT6 ve IRF4 (Interferon Düzenleyici Faktör 4) arasındaki ters etkileşimlere bağlı olarak gelişmektedir. CD23+ hücre gelişimi STAT6 yolunun aktif olmasını ve düşük IRF4 ekspresyonunu gerektirirken CD23- plazmablast gelişimi için STAT6 yolunun inhibisyona uğraması ve IRF4 ekspresyonunun artması gerekir (258). Ayrıca BCL-6, B ve T hücrelerinde özellikle germinal merkezlerde bir transkripsiyonel baskılayıcı olarak rol oynar ve STAT6 aracılı promotör aktivasyonunu negatif yönde düzenler (256).

Makrofajlarda STAT6, IL-4 ile indüklenen M2 makrofaj farklılaşmasını (255) erken büyüme yanıtı 2 (EGR2) faktörünü kontrol ederek destekler (259) ve IL-13 aracılığıyla majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II ekspresyonunu düzenler (255). Benzer şekilde, TRAF6 (TNF reseptör ilişkili faktör 6), makrofajlarda STAT6 üzerinden etki eder. TRAF6,

STAT6'ya bağlanarak onun ubiquitinasyonunu ve dolayısıyla yıkımını azaltır, bu da STAT6'nın stabilitesini artırır (260).

STAT6'nın dendritik hücrelerde aktivasyonu, lenf düğümlerinde Th2 hücre farklılaşmasını teşvik ederek ve alerjenlere maruz kalındığında hava yolları gibi yakındaki dokulara Th2 hücreleri ve eozinofillerin toplanmasını sağlar (261).

STAT6, alerjik hastalıkların gelişiminde (290) ve parazitlere karşı bağışıklıkta rol oynamaktadır (288). Bağırsaklarda helmintlerle ilişkili bağışıklık yanıtının oluşabilmesi için T hücrelerinde STAT6 aktivasyonu gereklidir. (262)

STAT6, tümör mikroçevresinde, pro-tümöral makrofajların üretimini sağlaması nedeniyle önemli bir rol üstlenmektedir. Tümörle ilişkili makrofajlar, IL4 ve IL6 tarafından STAT6 ve STAT3 üzerinden indüklenerek pro-tümöral özellikler kazanmalarına ve çevresindeki T hücrelerinde PD-L1 bağımlı olarak immünoşüpresif özellikler geliştirmelerine neden olmaktadır (263). Bu bulgularla tutarlı olarak metastatik bölgelerde M2 tümörle ilişkili makrofajların baskın olduğu görülmekte ve bu makrofajlar, epitel-mezenkimal geçişi tersine çevirdiği düşünülen JAK2-STAT6-GATA3 sinyal yolunu aktive ederek metastatik süreci kolaylaştırmaktadır (264). STAT6'nın fosforilasyonu sonrası bu M2 makrofajları, ayrıca çevredeki kanser hücrelerinde radyoterapi direncine neden olmaktadır (265). Benzer şekilde STAT3 ve STAT6, makrofajlarda tümör progresyonunu katapsin aracılığıyla arttıran bir sekresyon fenotipi teşvik etmektedir (266). Over kanseri metastazı ile ilişkili bir salgı proteini olan kollajen üçlü sarmal tekrar içeren 1 (CTHRC1), STAT6 fosforilasyonuna neden olarak M2 tipi makrofaj üretimine yol açmaktadır (267).

IL4-STAT6 ekseninin önemli etkilerinden biri foliküler lenfoma mikroçevresinde, tümörü infiltre eden foliküler yardımcı T hücrelerinin IL4 eksprese ettiği ve bunun da IL-4'e bağımlı T helper-pSTAT6 eksprese eden B hücre grubu oluşturduğu görülmektedir (268). STAT6 fosforilasyonu ile M2 makrofaj polarizasyonu, Burkitt lenfomasında da önemli bir rol oynamaktadır (269).

Düşük STAT6 ekspresyonunun tiroid kanserinde daha kötü bir sağ kalım ile ilişkili olduğu ve B hücreleri, CD4+ T hücreleri, nötrofiller, makrofajlar, dendritik hücreler ve PD-L1, PD-L2 ve CTLA4 (Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein 4) ekspresyonunda artış ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (270). Ayrıca Hashimoto tiroiditi ile ilişkili kanserlerde, Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olmayan kanserlere kıyasla daha fazla STAT6 pozitif tümör hücresine rastlanmaktadır (271). Kolit ile ilişkili kolorektal kanser modelinde, STAT6 inhibitörü ile STAT6 fosforilasyonunun azaltılması, 5-FU(5-Florourasil) birlikte tümör progresyonunu

azaltmıştır (272). Ayrıca, tümörojenik aktiviteye sahip bir protein olan malign fibröz histiyositom amplifiye sekans 1 (MFHAS1), STAT6 aktivasyonuna neden olarak kolorektal kanserde M2 makrofaj polarizasyonunu sağlamaktadır (273).

Pankreatik duktal adenokarsinomda KRAS mutasyonu bulunan hücrelerde sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu tetiklemekte ve böylece Th2 hücreleri tarafından üretilen IL-4 veya IL-13 sinyallerinin alınmasını sağlamaktadır (274). Bu sinyaller JAK1-STAT6 yolu ile MYC'yi indükleyerek, STAT6'nın hedefini aktive etmekte ve sonuç olarak glikolizi artırarak tümör metabolizmasını desteklemektedir (274).

STAT6'nın yüksek seviyelerde ekspresyonu, akciğer kanserinin immün mikroçevresinde de gözlemlenmiştir ve bu durum ağırlıklı olarak CD11b+ hücrelerini ilgilendirmekte, IL-4 pozitif geri besleme döngüsü aracılığıyla tümör progresyonunu artırmakta ve M2 miyeloid hücrelerini artırmaktadır (275). Tümörle ilişkili makrofajlarda STAT6 yolunun inhibe edilmesi, meme kanserinde tümör büyümesini ve metastazı azaltmaktadır (276). Ayrıca, meme kanserinde daha yüksek STAT6 ekspresyonu, daha yüksek tümör derecesi ile ilişkilidir (277). Glioblastomda ise, STAT6'nın epigenetik olarak susturulması, kanser hücrelerinin hipoksik mikroçevrede hayatta kalmasını kolaylaştırmaktadır (278). Bu down regülasyon, STAT6 promotöründeki CpG adalarının DNA metiltransferazlar tarafından hipermetilasyonu sonucu meydana gelmektedir (278).

Klasik Hodgkin lenfomadaki Hodgkin/Reed-Sternberg hücreleri ile nodüler lenfosit baskın Hodgkin lenfomasındaki (NLPHL) lenfositik ve histiyositik hücreler, mikroçevrelerindeki reaktif hücreleri kendilerine çeker ve çoğunluğu JAK-STAT yolu aracılığıyla etkili olan sitokinleri eksprese ederek kendi otokrin uyarımlarını indüklemektedir (279). STAT6, Hodgkin ve Reed-Sternberg hücrelerinde bir IL13-IL13 reseptör otokrin geri bildirim döngüsü tarafından aktive edilmektedir (279). Ayrıca, klasik Hodgkin lenfomadaki Hodgkin/Reed-Sternberg hücrelerinde NF- $\kappa$ B (nükleer faktör-kappa B) aktivasyonu ile karakterize olup, NF- $\kappa$ B'nin ve JAK2/STAT6 sinyal yolunun lenfotoksin- $\alpha$  tarafından aktive edildiği unutulmamalıdır. Aynı zamanda, lenfotoksin- $\alpha$  ve reseptörü (TNFRSF14: TNF Reseptör Süper Ailesi Üyesi 14), NF- $\kappa$ B tarafından transkripsiyonel olarak aktive edilerek sürekli bir geri bildirim döngüsü oluşturmaktadır (280).

KHL ve NLPHL da STAT6 ve pSTAT6'nın farklı klon ve markaları ile birkaç çalışma yapılmış ve her biriyle farklı boyanma paternleri izlense de Hodgkin lenfoma da ekspresyonu dikkat çekmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda STAT6 ve pSTAT6 immünohistokimyası PTHL, ABHL ve diğer ayrıcı tanılara yönelik çalışmalar yapılmış ve Hodgkin lenfomada

ekspresyonu daha fazla ve anlamlı bulunmuştur (78,282,283). Yang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada STAT6 ekspresyonunun ve prognozunu birbiri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (284).

Diffüz büyüme paterni gösteren, t(14;18) translokasyonunun bulunmayan, CD23 "ekspresyonu ve sık olarak inguinal lokalizasyonda görülen nodal foliküler lenfomanın bir varyantı, genellikle 1p36 delesyonu ve TNFRSF14 ve STAT6 mutasyonları göstermektedir (285). Aslında konvansiyonel foliküler lenfomaların küçük bir yüzdesi de STAT6 mutasyonları göstermektedir (286). Foliküler lenfomaların %11'i STAT6'da tekrarlayan mutasyonları göstermekte ve bu mutasyonlar STAT6 amino asit kalıntısı 419'da bir mutasyon hotspotu ile ilişkili olduğu saptanmıştır (286). Bu mutasyonlar Y641 fosforilasyonundan bağımsız olarak STAT6'nın nükleer ekspresyonunu sağlamak ve bu mutasyonlar STAT6 ile DNA arasındaki etkileşimi güçlendirdiği düşünülmektedir (286).

Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma fosforile STAT6 ekspresyonu da dahil olmak üzere klasik Hodgkin lenfoma ile bazı ortak özellikleri paylaşmaktadır (287,288). Bu lenfoma türünde STAT6 aktivasyonunun JAK2 aktivasyonu ile ilişkili olduğu görülmektedir (287). Primer mediastinal B hücreli lenfomada SOCS-1 defektlerinin STAT6 aktivasyonuna yol açtığı bulunmuştur (287).

Yüksek seviyelerde pSTAT6, kutanöz T hücreli lenfomalar ve CD4+ Sezary sendromu T hücrelerinde de bulunur ve burada aktivasyonu IL-13 sinyalleşmesi ile ilişkilidir (289). STAT6'nın bu malign T hücrelerinde hücre döngüsünü ve genomik stabilite yollarını düzenlediği ve ayrıca Th2 sitokinlerinin üretimini indükleyerek tümör mikroçevresinde protümöral M2 makrofajlarını teşvik ettiği bulunmuştur (290).

Primer santral sinir sistemi lenfoması, NF-κB aktivasyonunu tetikleyen MYD88 ve CD79B genlerinde sık mutasyonlar barındırır ve aynı zamanda JAK/STAT yolunun aktivasyonu ile de ilişkilendirilmektedir (291). Ayrıca bazı vakalarda STAT6 gen amplifikasyonu (291) ve STAT6 ekspresyonu gözlenmiştir (291,292).

Nüks veya tedaviye dirençli diffüz büyük B hücreli lenfomada, STAT6, terapötik dirence katkıda bulunduğu öne sürülen genler arasındadır (292). Bu vakaların yaklaşık üçte birinde, genellikle D419 hotspotunda STAT6 mutasyonları bulunur; araştırmacılar, bu mutasyonların JAK/STAT sinyalleşmesini aktive ettiğini, pSTAT6 ekspresyonunu ve STAT6 hedef genlerinin ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir (292).

## BÖLÜM III

### GEREÇ VE YÖNTEM

#### 1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı'nda 2006-2023 yılları arası bilgisayar ortamındaki arşiv kayıtları eksizyonel, insizyonel ya da kalın iğne biyopsisi ile tanı almış CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıklar açısından incelendi. Klasik Hodgkin Lenfoma tanısı almış 350 hasta (120 nodüler sklerozan, mikst selüler 100, lenfositten zengin 80, lenfositten fakir 50), anaplastik büyük hücreli lenfoma tanısı almış 90 hasta, EBV pozitif lenfoproliferatif hastalık tanısı almış 40 hasta, EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı almış 40 hasta, gri zon lenfoma tanısı almış 10 hasta, primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma tanısı almış 25 hastanın kayıtlarına ulaşıldı. Kutanöz ABHL vakaları çalışmaya dahil edilmedi. Vakalar patoloji raporları üzerinden 2022 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) hematolenfoid tümör sınıflaması kriterlerine göre değerlendirildi ve arşivde lam ve parafin bloklarının olup olmadığı kontrol edildi. Arşivimizde konsültasyon vakası olmaları nedeni ile hastaya iade sonucu parafin bloğu bulunmayan veya mevcut parafin blokta immunhistokimyasal çalışma için yeterli doku içermeyen hastalar elenerek toplam 274 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hasta yaşı, cinsiyeti, tümör yerleşimi bilgileri ile morfolojik ve immünfenotipik özelliklere ait bilgiler otomasyon sistemindeki patoloji raporundan elde edildi.

#### 2. İmmünohistokimyasal Yöntem

##### a. IRF-8

Primer antikor olarak ABCAM anti-IRF-8 (EPR20441) (ab207418) tavşan monoklonal antikorunu kullanıldı. İmmünohistokimyasal değerlendirmenin sağlıklı yapılabilmesi için pozitif kontrol amacıyla tonsil dokusu belirlendi ve optimizasyon sağlandı. Tümörü temsil eden formalin fikse, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 3-5µm kalınlığında kesitler, ticari olarak temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bir gece boyunca 56°C'de etüvde bekletilen lamlar

Ventana Medical System-Benchmark XT/ISH Staining modüle yerleştirildi ve aşağıdaki prosedürler uygulandı:

1. On beş dakika deparafinizasyon
2. EDTA ile pH 8'de antijen geri kazanım yöntemi
3. Yüz yirmi dakika boyunca 37 derecede primer antikor (1/1000 dilüsyon) inkübasyonu
4. Dört dakika boyunca asetat buffer içinde bakır sülfat çözeltisi
5. Hematoksilen ile zıt boyama

Makineden çıkarılan preparatlar deterjanlı suyla çalkalanıp saf alkolde üç kez üçer dakika boyunca bekletildi. Ardından ksilen içerisinde de üç kez üçer dakika bekletildikten sonra 'Safe Mount' kapatma maddesi ile kapatıldı.

#### **b. p-STAT6**

Primer antikor olarak Abcam Anti-STAT6 (phospho Y641) (EPR22599-78) tavşan monoklonal antikorunu kullanıldı. İmmunhistokimyasal değerlendirmenin sağlıklı yapılabilmesi için pozitif kontrol amacıyla böbrek ve tonsil dokusu belirlendi ve optimizasyon sağlanmaya çalışıldı. Tümörü temsil eden formalin fikse, parafine gömülü dokulardan hazırlanan 3-5µm kalınlığında kesitler, ticari olarak temin edilen pozitif şarjlı lamlara alındı. Bir gece boyunca 56°C'de etüvde bekletilen lamalar Leica Bond III XT/ISH Staining modüle yerleştirildi ve aşağıdaki prosedürler uygulandı:

1. 60 dk 70 c deparafinizasyon
2. Sirtrat tampon ile pH 6'da 30 dakika antijen geri kazanım yöntemi
3. 8 dakika boyunca DAB kromojende 1/2500 dilüsyon oranında 37 derecede primer antikor inkübasyonu
4. Dört dakika boyunca asetat buffer içinde bakır sülfat çözeltisi
5. 12 dakika hematoksilen ile zıt boyama

Makineden çıkarılan preparatlar deterjanlı suyla çalkalanıp saf alkolde üç kez üçer dakika boyunca bekletildi. Ardından ksilen içerisinde de üç kez üçer dakika bekletildikten sonra 'Safe Mount' kapatma maddesi ile kapatıldı.

### 3. İmmünohistokimyasal değerlendirme

Her iki belirteç için tümör hücrelerinde nükleer boyanma ekspresyon şiddetinden bağımsız olarak pozitif kabul edildi. Boyanan hücrelerin yüzdesi belirlendi ve pozitif olarak kabul edilecek boyanma yaygınlığı için eşik değer ROC eğrisi ile belirlendi.

### 4. İstatistiksel analiz

Çalışmanın biyoistatistiksel çözümlerinde Statistical Package for Social Sciences (SPSS Sürüm: 27.0) paket programı kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin kıyaslanmasında Ki-kare testi kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık sınırı  $p < 0,05$  olarak alınmıştır. İmmünohistokimyasal incelemenin boyanma yaygınlığı için eşik değerler ROC eğrisi ile belirlenmiştir. Eşik değere göre vakalar pozitif ve negatif olarak sınıflandırılmış ve Ki-kare testi ile gruplar arasında bu açıdan ayırmada anlamlı olup olmadığı araştırıldı.

Sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değerleri vassarstats.com ile hesaplanarak not edildi.

## BÖLÜM IV

### BULGULAR

#### 1. Demografik, klinik, histopatolojik bulgular

Çalışmaya dahil edilen 274 hastanın 140'ı KHL, 65'i ABHL, 29'u EDBBHL, 5'i PMBHL, 5'i MGZL, 30'u immun yetmezlik/disregülasyon zemininde EBV pozitif LPH tanısı almıştır. KHL vakalarının 60 tanesi (%42) nodüler sklerozan, 40 tanesi (%28) mikst selüler, 20 tanesi (%15) lenfositten zengin, 20 tanesi (%15) lenfositten fakir KHL alt tipindedir. Anaplastik büyük hücreli tanısı alan vakaların 16 tanesi (%25) ALK+ ABHL, 49 tanesi ise (%25) ALK-ABHL'dir. EBV pozitif DBBHL'lerin de 24'ü (%82,3) polimorfik, 5'i (%17,7) monomorfik tiptir. KHL vakalarının 50'sinde (%38,7) EBV-LMP pozitif, 79'unda (%61,3) EBV-LMP negatiftir. Tüm tanısal alt tiplere ait demografik ve klinik özellikler Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo1:** Tanısal alt gruplara ait klinik ve demografik veriler

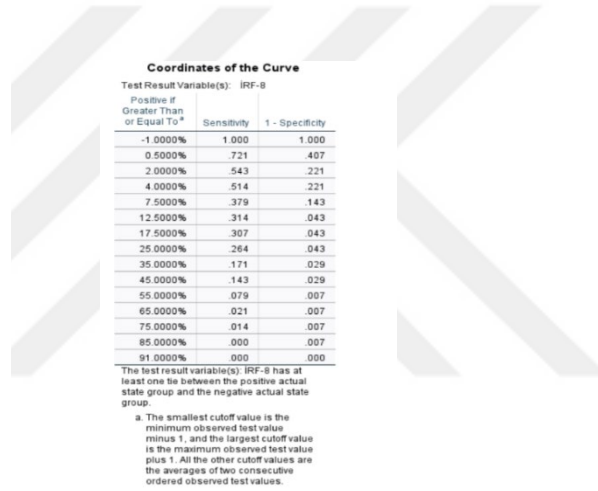
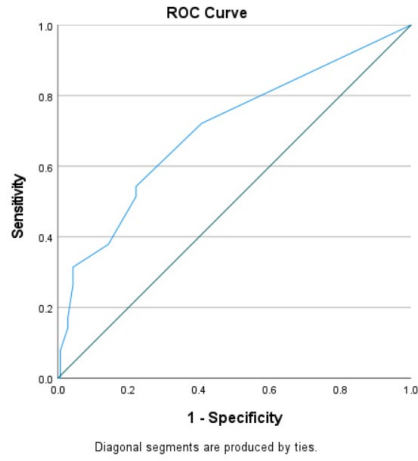
		KHL (n=140)	ALK+ABHL (n=16)	ALK- ABHL (n=49)	EDBBHL (n=29)	PMBHL (n=5)	MGZL (n=5)	İYİ EBV LPH (n=30)
Yaş (Medyan)		33	20,5	49	23	40.2	36.8	26.7
Cinsiyet	Erkek	85	11	42	20	0	2	18
	Kadın	55	5	7	9	5	3	12
Yerleşim	Nodal	139	12	30	18	1 (Mediasten)	2(mediasten)	25
	Non-nodal	1	4	19	11	4 (Mediasten)	3 (mediasten)	5
Biyopsi türü	Eksizyonel biyopsi	128	6	28	11	2	0	15
	İnsizyonel / Kalın iğne biyopsisi	12	6	21	19	3	5	15

**KHL:** Klasik Hodgkin lenfoma, **ALK+ABHL:** ALK pozitif Anaplastik büyük hücreli lenfoma, **ALK-ABHL:** ALK negatif Anaplastik büyük hücreli lenfoma, **ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma, **EBV:** Ebstein Barr virüs, **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBV pozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, **PMBHL:** Primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma, **MGZL:** Mediastinal Gri zon I

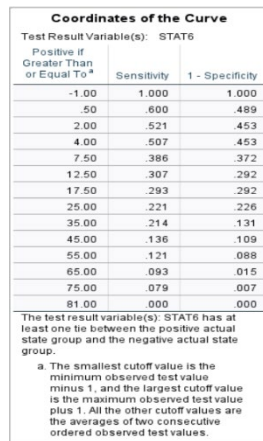
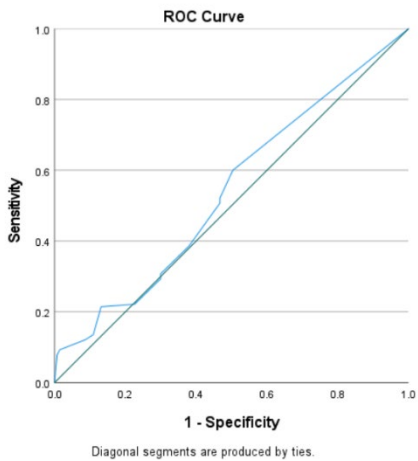
## 2. İmmünohistokimyasal inceleme bulguları

IRF8 ve pSTAT6 ile nükleer boyanma izlendi. Boyanma şiddeti genellikle zayıf-orta şiddette olup, reaksiyonun fiksasyonun daha optimal olduğu periferik zonda daha istikrarlı olduğu görüldü. Tüm vakalarda hedef atipik hücre popülasyonunda boyanma yaygınlığı yüzde olarak belirtildi. Sonrasında ROC curve analizi ile pozitif kabul etmek için eşik değeri tespit edildi. Buna göre eşik değeri IRF8 için %4 (Şekil 1). Eşik değere eşit ve üzeri değerler pozitif, eşik değeri altı değerler negatif olarak kabul edildi. pSTAT6 için ROC curve analizine göre eşik değeri %0,5 olup, tüm reaksiyon oranları pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 2). Tüm tanısal alt gruplarda IRF8 ve pSTAT6 ekspresyon durumu tablo 2’de özetlenmiştir.

Şekil 1: IRF8 için ROC Curve analizi



Şekil 2: pSTAT6 için ROC Curve analizi



**Tablo2:** IRF8 ve pSTAT6'nın tanısal alt gruplarda boyanma oranları.

	IRF-8		pSTAT6	
	Pozitif	Negatif	Pozitif	Negatif
<b>Toplam</b>	<b>100(%36,5)</b>	<b>174(%63,5)</b>	<b>151(%55)</b>	<b>121(%44)</b>
<b>KHL</b>	72(%51,4)	68(48,6)	84(%60)	56(%40)
<b>KHL-dışı</b>	28(%20,9)	106(%79,1)	67(%51,5)	65(%48,5)
<b>ABHL</b>	14(%21,5)	51(%78,5)	40(%61,5)	24(%36,9)
<b>ALK-ABHL</b>	12(%24,5)	37(%75,5)	31(%64,6)	17(%35,4)
<b>ALK+ABHL</b>	2(%12,5)	14(%87,5)	9(%56,3)	7(%43,8)
<b>İYİ EBV+LPH</b>	2(%6,7)	28(%93,3)	13(%43,3)	17(%56,7)
<b>EDBBHL</b>	9(%31)	20(%69)	12(%41,4)	16(%55,2)
<b>MGZL</b>	2(%40)	3(%60)	1(%20)	4(%80)
<b>PMBHL</b>	1(%20)	4(%80)	1(%20)	4(%80)
<b>NSKHL</b>	25(58,3)	35(%58,3)	45(%75)	15(%25)
<b>MSKHL</b>	29(%72,5)	11(%27,5)	16(%40)	5(%25)
<b>LFKHL</b>	3(%15)	17(%85)	15(%75)	5(%25)
<b>LZKHL</b>	15(%75)	5(%25)	8(%40)	12(%60)
<b>KHL-EBV (+)</b>	34(%68)	16(%32)	18(%36)	32(%64)
<b>KHL-EBV (-)</b>	36(%45,6)	43(%54,4)	56(%70,9)	23(%29,1)
<b>İNSİZYON</b>	17(%20)	68(%80)	43(%51,8)	42(%48,2)
<b>EKSİZYON</b>	83(%43,9)	106(%56)	108(%57,1)	81(%42,9)

**KHL:** Klasik Hodgkin lenfoma, **NSKHL:** Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma, **MSKHL:** Mikst selüler klasik Hodgkin lenfoma, **LFKHL:** Lenfositten fakir klasik Hodgkin lenfoma, **LZKHL:** lenfositten zengin klasik Hodgkin lenfoma, **ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma **EBV:** Epstein Barr virüs, **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBVpozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, **PMBHL:** Primer mediastinal büyük B hücreli lenfoma, **MGZL:** Mediastinal Gri zon lenfoma

### a. IRF-8 antikoru

274 vakanın 100'ünde (%36,5) pozitif saptandı (Resim1-2). Pozitif vakaların %41,4'ü KHL vakaları olup, IRF8'in KHL'da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla eksprese edildiği görüldü ( $p<0,001$ ) (Tablo2 ve3).

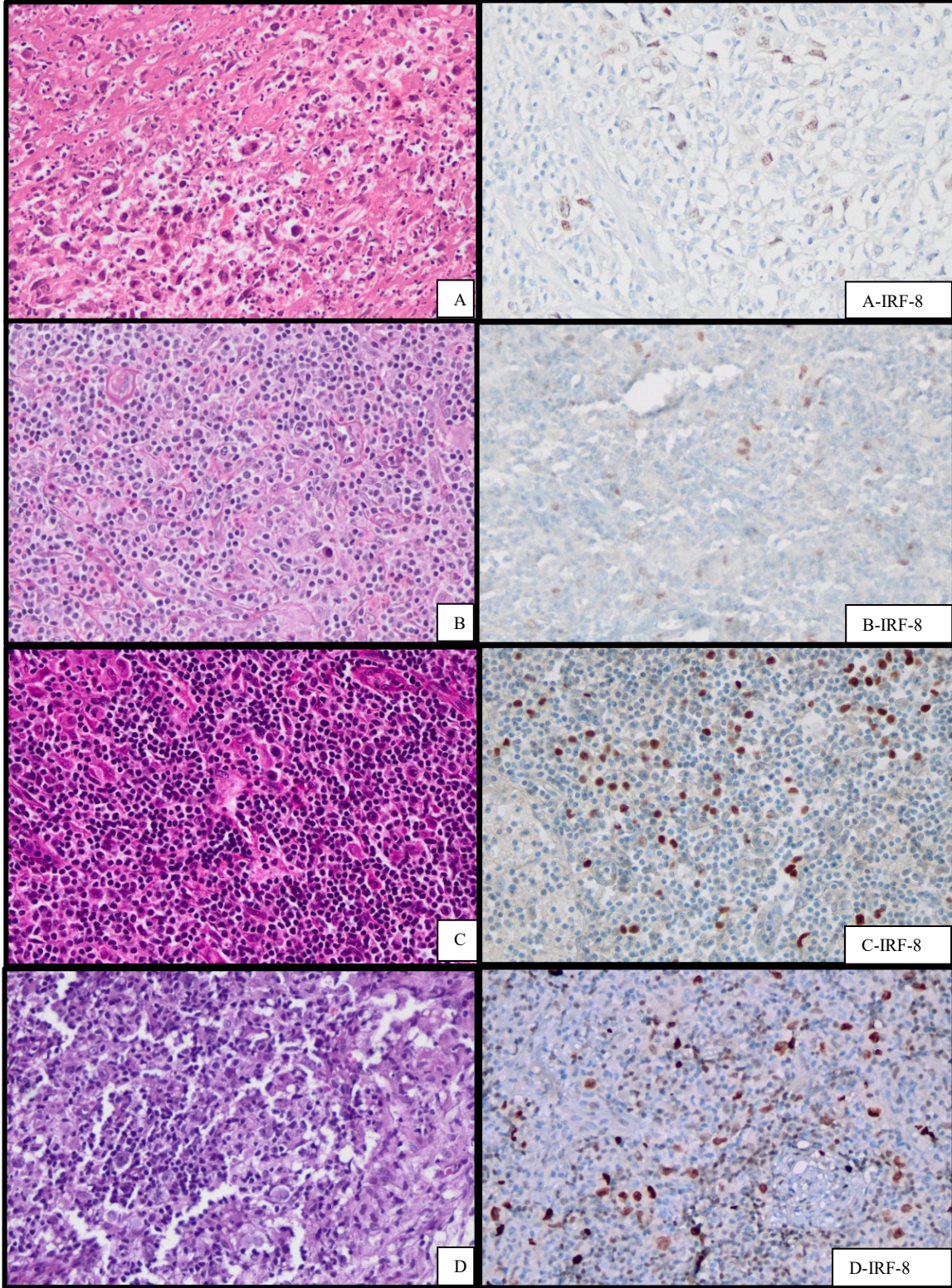
*Klasik Hodgkin Lenfoma* vakalarında hedef hücrelerde IRF8 reaksiyonu %0 ile %70 arasında olup, ortalama %15 oranında pozitiflik saptanmıştır. KHL histolojik alt tipleri arasında değerlendirme yapıldığında IRF8, LZKHL ve MSKHL alt tiplerinde daha sık pozitif iken (sırasıyla %75 ve %72,5), LFKHL'da en az (%15) pozitif olduğu görüldü. Fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 2).

Klasik Hodgkin lenfoma dışı grupta pozitif vaka oranı ile hedef hücre boyanma yaygınlığı daha düşüktür. Anaplastik büyük hücreli lenfoma grubunda %0 ile %10 aralığında, ortalama %2; İYİEBV+LPH'da %0 ile %30 aralığında, ortalama %1, EDBBHL'da %0 ile %60 aralığında, ortalama %8; PMBHL'da %0 ile %5 aralığında, ortalama %1; MGZL'da %0 ile %10 aralığında, ortalama %3 oranında pozitiflik saptandı. KHL'da IRF8 ekspresyonu ABHL, EDBBHL ve İYİEBV+LPH'a göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0.001$ ) (Tablo3). Ancak KHL ile PMBHL ve GZL arasında anlamlı fark saptanmadı.

KHL vakalarının 128'inde EBV-LMP çalışılmış olup 49'unda pozitif, 79'unda negatif saptamıştır. EBV-LMP pozitif vakaların %68'inde, EBV-LMP negatif vakaların %45,6'sında IRF8 pozitif saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,009$ ).

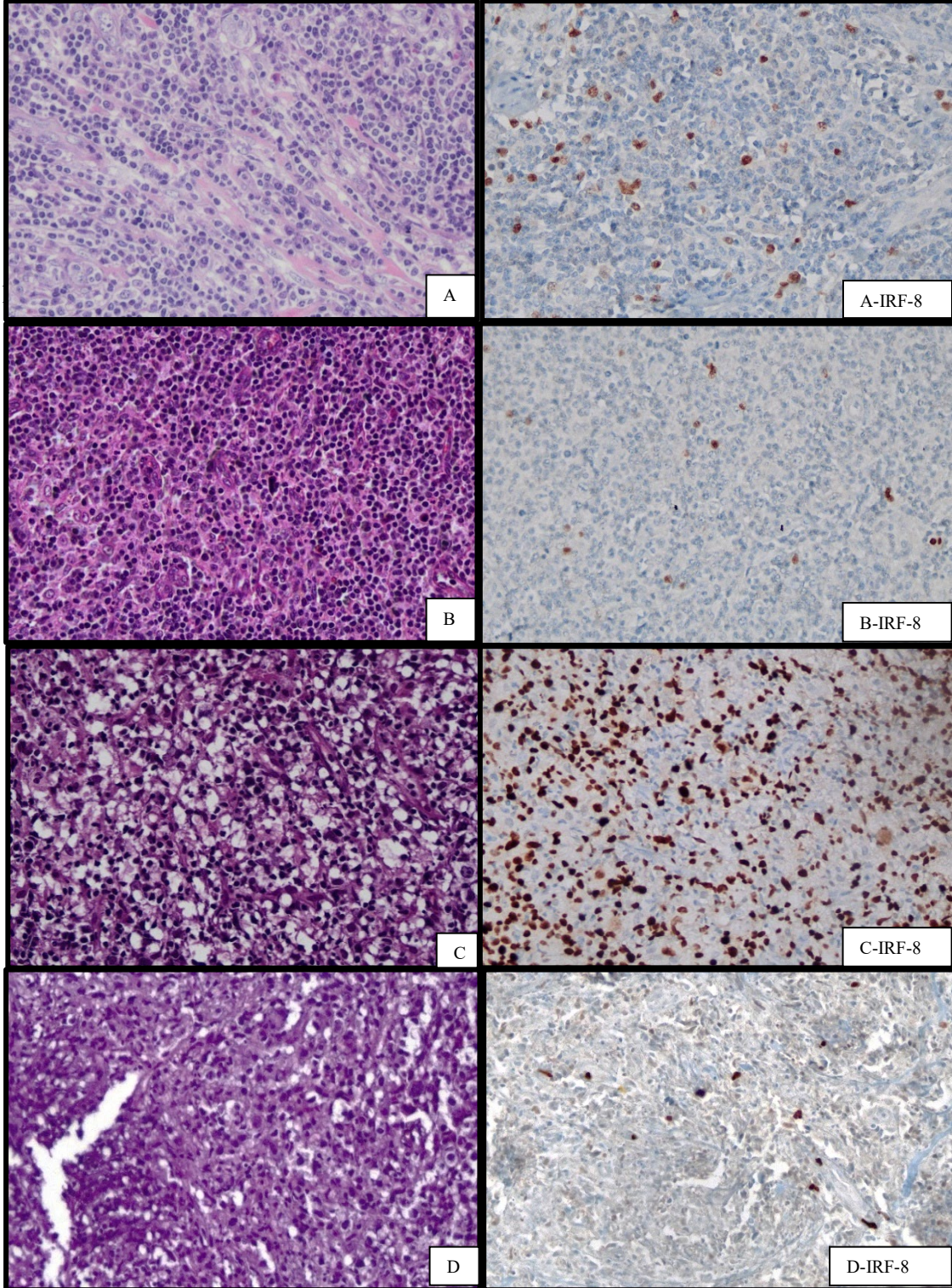
KHL ve KHL-dışı grup IRF8 ekspresyonu insizyonel ve eksizyonel biyopsi olmasına göre karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık korunmaktaydı (Tablo3).

**Resim 1:** İRF-8 antikoru ile nükleer pozitif KHL vakaları A) NSKHL(HE X40, İRF-8 X40) B) MSKHL(HE X40, İRF-8 X40) C) LFKHL(HE X40, İRF-8 X40) D) LZKHL(HE X40, İRF-8 X40)



**NSKHL:** Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma, **MSKHL:** Mikst selüler klasik Hodgkin lenfoma, **LFKHL:** Lenfositten fakir klasik Hodgkin lenfoma, **LZKHL:** Lenfositten zengin klasik Hodgkin lenfoma

**Resim 2:** İRF-8 antikoru ile nükleer pozitif KHL-dışı vakalar A) ABHL (HE X40, İRF-8 X40) B) İYİ EBV+ LPH (HE X40, İRF-8 X40) C) EDBBHL D) MGZL (HE X40, İRF-8 X40)



**ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma, **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBVpozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, **MGZL:** Mediastinal Gri zon lenfoma

**Tablo3:** IRF8'in alt gruplarda ekspresyon durumu karşılaştırması.

IRF 8'in Alt gruplarda ekspresyonu (%)		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPD (%)	NPD (%)
KHL(51,4) vs KHL dışı (20,9)	p<0,001	48,57	79,10	70,83	59,55
KHL(51,4) vs ABHL(21,5)	p<0,001	51,42	78,46	83,72	42,85
KHL(51,4) vs ALK+ABHL(24,5)	p=0,003	51,42	87,5	97,29	17,07
KHL(51,4) vs ALK-ABHL(12,5)	p=0,001	51,42	75,51	85,71	35,23
KHL(51,4) vs EDBBHL	p<0,001	51,42	68,96	88,88	22,72
KHL(51,4) vs İYİEBV+ LPH(31)	p<0,001	51,42	93,33	97,29	29,16
KHL(51,4) vs PMBHL(20)	p=0,209	51,42	80	98,63	5,55
KHL(51,4) vs MGZL(40)	p=0,209	51,42	60	97,29	4,22
<b>IRF-8'in KHL grupları arasında ekspresyonu</b>					
Nodüler Sklerozan(58,3) vs mikst sellüler (72,5)	p<0,002				
Nodüler Sklerozan (58,3) vs lenfositten zengin (75)	p<0,010				
Nodüler Sklerozan (58,3) vs lenfositten fakir (15)	p<0,030				
Mikst sellüler (72,5) vs lenfositten zengin (75)	p<0,836				
Mikst sellüler(72,5) vs lenfositten fakir(20)	p<0,001				
Lenfistten zengin(75) vs lenfositten fakir (15)	p<0,001				

<b>KHL hastalarında EBV+ vs EBV- hastalar arasındaki ekspresyon (%)</b>					
<b>EBV+(68) vs EBV-(45,6)</b>	<b>p=0,009</b>				
<b>İnsizyonel ve eksizyonel biyopsilere göre IRF-8 ekspresyonu (%)</b>					
<b>KHL insizyonel biyopsi vs KHL-dışı insizyonel biyopsi</b>	<b>p=0,005</b>	0.5	0.849315	0.3529 41	0.9117 65
<b>KHL eksizyonel biyopsi vs KHL-dışı eksizyonel biyopsi</b>	<b>p=0,003</b>	0.515625	0.721311	0.7951 81	0.4150 94

**KHL:** Klasik Hodgkin lenfoma, **NSKHL:** Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma, **MSKHL:** Mikst selüler klasik Hodgkin lenfoma, **LFKHL:** Lenfositten fakir klasik Hodgkin lenfoma, **LZKHL:** lenfositten zengin klasik Hodgkin lenfoma, **ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma **EBV:** Ebstein Barr virüs, **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBVpozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, **PMBHL:** Primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma, **MGZL:** Mediastinal Gri zon lenfoma **PPD:** Pozitif prediktif değer **NPP:** Negatif prediktif değer

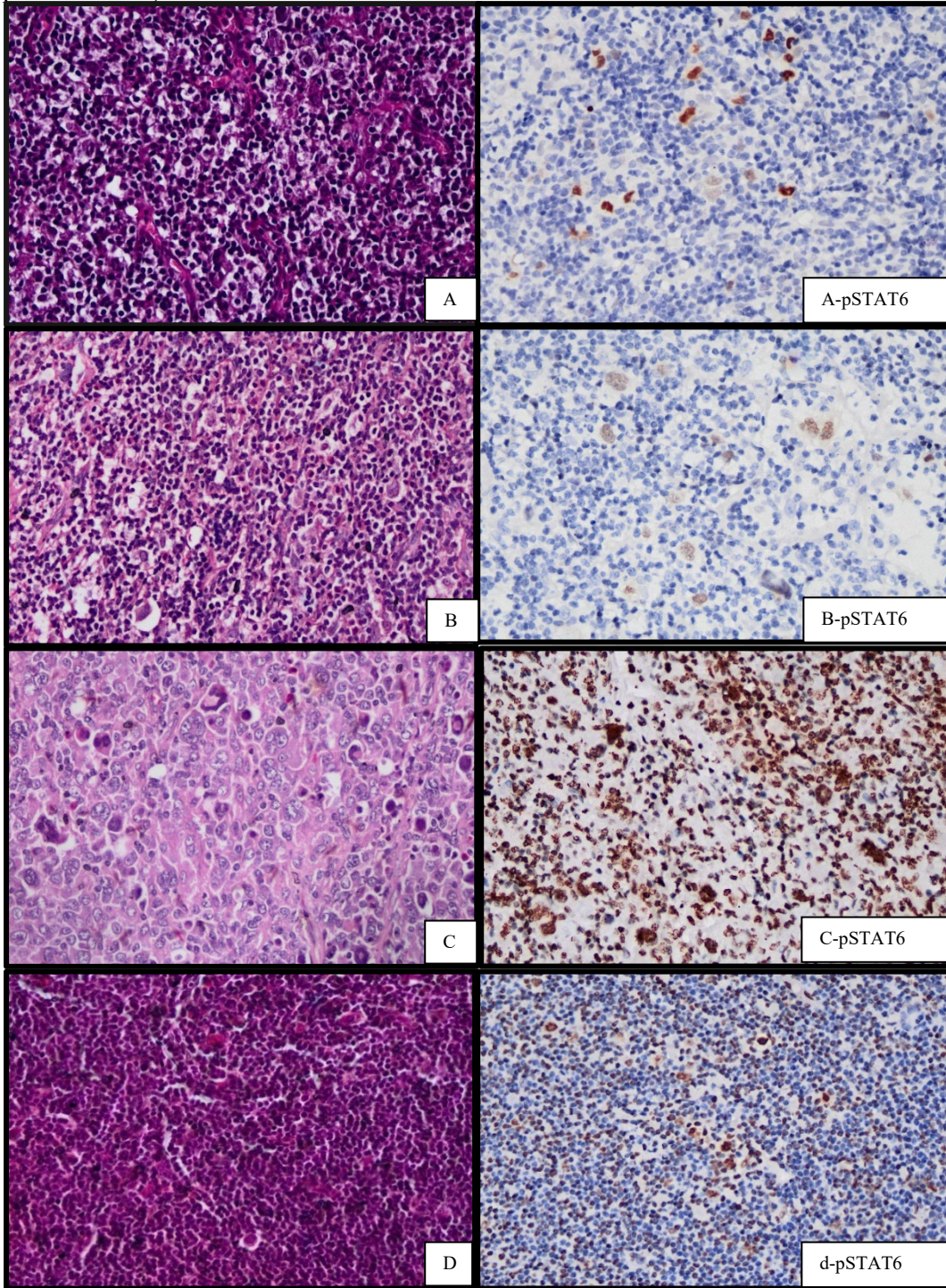
## b. pSTAT6

pSTAT6 274 vakanın 151'inde (%55) pozitif, KHL-dışı vaka grubunda ise 132 vakanın 67'sinde (%51,5) pozitif bulundu (Resim3-4) (Tablo 2). pSTAT6 çalışmasında 1 ALK-ABHL vakası ile 1 EDBBHL vakasında teknik olarak optimal değerlendirme yapılamamıştır. 140 KHL vakasında iri atipik hücrelerde %0 ile %80 arasında olmak üzere ortalama %16 oranında pozitiflik saptanmıştır. KHL-dışı grupta ise %0 ile %80 aralığında ortalama %13 pozitif saptanmıştır. ABHL grubunda %0 ile %70 aralığında, ortalama %17; İYİ EBV+LPH'de %0 ile %50 aralığında, ortalama %9,6; EBBHL'da %0 ile %60 aralığında, ortalama %10,7; PMBHL'da %0 ile %5 aralığında, ortalama %1; MGZL'de %0 ile %80 aralığında, ortalama %16 oranında pozitiflik saptanmıştır. Gerek KHL ile KHL-dışı grup arasında gerek subgruplar arasında pSTAT6 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. Bulgular Tablo 2 ve Tablo3'de özetlenmiştir.

KHL histolojik alt tiplerinde NSKHL'de %0 ile % 80 arasında, ortalama %21 oranında; MSKHL'da %0 ile %60 arasında, ortalama %8 oranında; LZKHL'da %0 ile %50 arasında, ortalama %8 boyanma; LFKHL %0 ile %80 arasında, ortalama %25 oranında pozitiflik saptanmıştır. pSTA6 ile İRF8'in aksine LFKHL ve NSKHL alt tiplerinde daha sık pozitif reaksiyon saptanmış olup, fark istatistiksel olarak anlamlıdır (sırasıyla  $p=0,014$  ve  $p<0,001$ ).

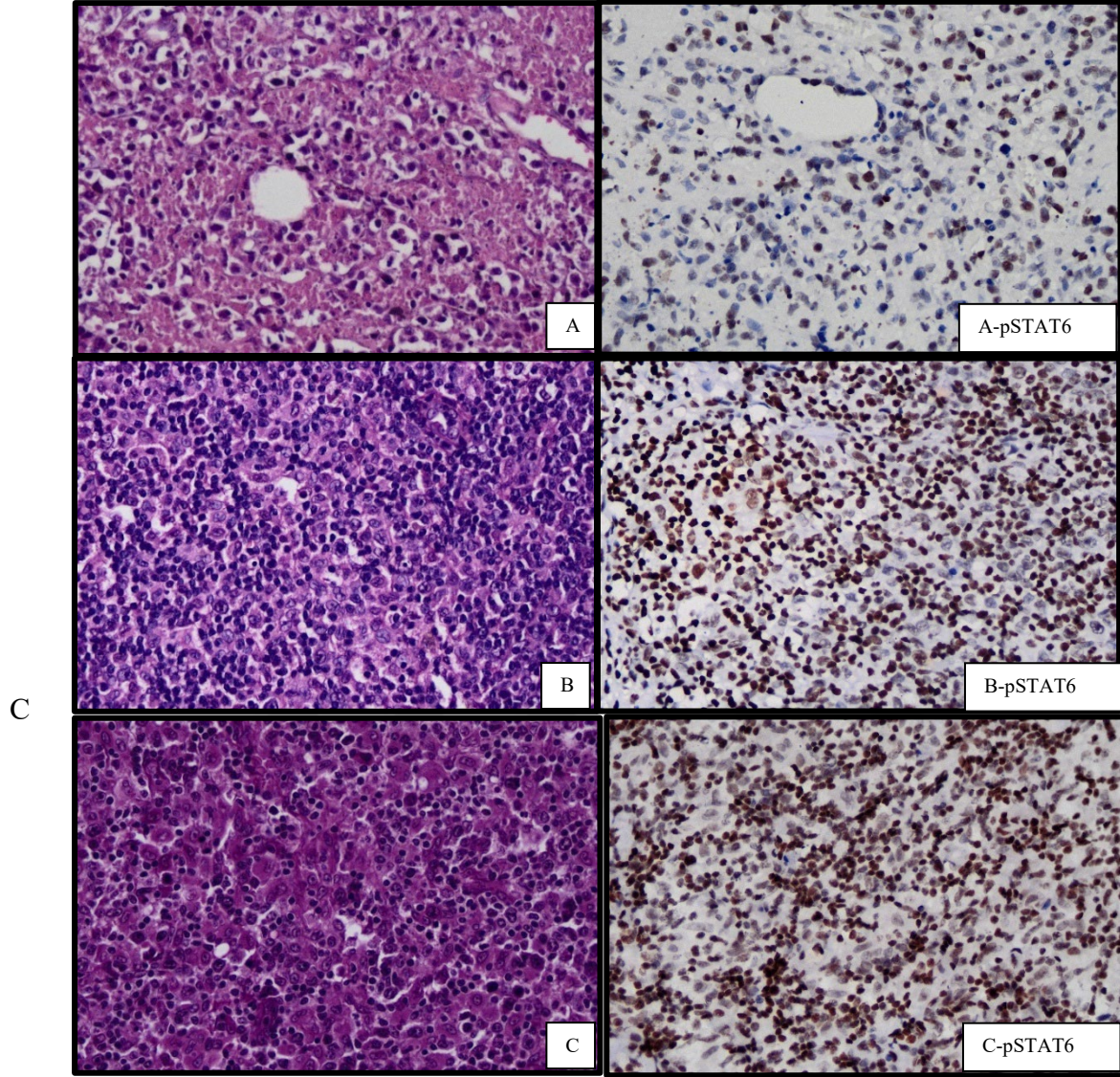
KHL grubunda EBV-LMP pozitif ve negatif grup arasında da İRF8'in tersine EBV-LMP negatif grupta daha sık pozitif bulundu ( $p<0,001$ ).

**Resim 3:** pSTAT6antikoruna ile nükleer pozitif KHL vakaları A) NSKHL (HE x40, pSTAT6 x40) B) MSKHL (HE x40, pSTAT6 x40) C) LFKHL (HE x40, pSTAT6 x40) D) LZKHL (HE x40, pSTAT6 x40)



**NSKHL:** Nodüler sklerozan Hodgkin lenfoma, **MSKHL:** Mikst selüler klasik Hodgkin lenfoma, **LFKHL:** Lenfositlen fakir klasik Hodgkin lenfoma, **LZKHL:** Lenfositlen zengin klasik Hodgkin lenfoma

**Resim 4:** pSTAT6 antikoru ile nükleer pozitif KHL-dışı vakalar A) ABHL (HE x40, pSTAT6 x40) B) İYİ EBV LPH (HE x40, pSTAT6 x40) C)EDBBHL (HE x40, pSTAT6 x40)



**ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBVpozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma

**Tablo4:** pSTAT6'nın alt gruplarda ekspresyon durumu karşılaştırması.

pSTAT6'nın alt gruplar arasında ekspresyonu (%)		Sensitivite %	Spesifite %	PPD %	NPD %
KHL(60) vs KHL dışı (51,5)	p=0,143	60	49,24	55,62	53,71
KHL(60) vs ABHL(61,5)	p=0,760	51,42	37,5	64,28	26,08
KHL(60) vs ALK+ABHL(56,3)	p=0,793	60	43,75	90,32	11,11
KHL(60) vs ALK-ABHL(64,6)	p=0,611	60	35,41	73,04	23,28
KHL(60) vs EDBBHL(41,4)	p=0,1	51,42	57,14	85,71	19,04
KHL(60) vs İYİEBV+ LPH(43,3)	p=0,107	51,42	56,66	84,70	20
KHL(60) vs PMBHL(20)	p=0,074	51,42	80	98,63	5,55
KHL(60) vs MGZL (20)	p=0,074	51,42	80	98,63	5,55
<b>pSTAT6'nın KHL alt grupları arasında ekspresyonu</b>					
NSKHL (75) vs MSKHL (40)	<b>p&lt;0,001</b>				
NSKHL (75) vs LZKHL (40)	p=0,082				
Nodüler Skleroz KHL (60) vs LFKHL (20)	p=1,000				
MSKHL (40) vs LZKHL (40)	p=1,000				
MSKHL (40) vs LFKHL (75)	p=0,014				
LZKHL (40) vs LFKHL (75)	p=0,054				
<b>KHL hastalarında EBV+ vs EBV- hastalar arasındaki ekspresyon</b>					
EBV+(36) vs EBV-(70,9)	<b>p&lt;0,001</b>	70,88	64	75,67	58,18
<b>İnsizyonel ve eksizyonel biyopsilere göre pSTAT6 ekspresyonu</b>		<b>Sensitivite</b>	<b>Spesifite</b>	<b>PPD</b>	<b>NPD</b>
KHL insizyonel biyopsi vs KHL dışı insizyonel biyopsi	p=0,757	58,33	50,68	16,27	88,09
KHL eksizyonel biyopsi vs KHL dışı eksizyonel biyopsi	p=0,271	60,15	49,18	71,29	37,03

**KHL:** Klasik Hodgkin lenfoma, **NSKHL:** Nodüler sklerozan klasik Hodgkin lenfoma, **MSKHL:** Mikst selüler klasik Hodgkin lenfoma, **LFKHL:** Lenfositten fakir klasik Hodgkin lenfoma, **LZKHL:** lenfositten zengin klasik Hodgkin lenfoma, **ABHL:** Anaplastik büyük hücreli lenfoma **EBV:** Ebstein Barr virüs, **İYİ EBV+ LPH:** İmmun yetmezlik ilişkili EBVpozitif lenfoproliferatif hastalık, **EDBBHL:** EBV pozitif diffüz büyük B hücreli lenfoma, **PMBHL:** Primer mediastinel büyük B hücreli lenfoma, **MGZL:** Mediastinal Gri zon lenfoma **PPD:** Pozitif prediktif değer **NPD:** Negatif prediktif değer



## BÖLÜM V

### TARTIŞMA

CD30 pozitif lenfoproliferatif hastalıklar neoplastik ve neoplastik olmayan geniş bir yelpazede yer alan antiteleri içermekte olup, tedavi ve klinik yönetimi farklı olmakla beraber morfolojik ve immünofenotipik özellikleri birbirleriyle örtüşmektedir. Bu nedenle zaman zaman tanısal güçlük yaratmaktadırlar. Özellikle kalın iğne biyopsisi gibi giderek daha da yaygın kullanılan örneklemelerde, sınırlı dokunun değerlendirilebilmesi nedeni ile tanısal güçlük daha da belirginleşmektedir. Tanı halen ağırlıklı olarak morfolojik ve immünofenotipik özelliklere dayanmaktadır. Klinik yönetimi birbirinden farklı ancak gerek immünofenotipik, gerek morfolojik özelliklerinde benzerlikler taşımaları nedeniyle CD30 (+) lenfoproliferatif hastalıkların ayırıcı tanısına yardımcı olacak yeni işaretleyicileri tanımlamak önemlidir.

Bu hastalıkların ayırıcı tanısında kullanılan antikolar işimizi kolaylaştırır da bu antikolarla ilgili literatürde farklı bulgular ortaya konulmuş, sıradışı immünofenotip nedeniyle tanısal güçlük yaşanan vakalar bildirilmiştir. Sıradışı immünofenotip örneklerinden biri Hodgkin lenfomada güvenle kullanıp değerlendirdiğimiz PAX-5'in kaybıdır. 2017 yılında Betts ve ark.nın yayınladığı vaka sunumu ve literatür taramasında 2017'ye kadar PAX-5 negatif toplam 15 vaka olduğu bildirilmiştir (293).

Tam tersi olan bulguları olan çalışmalarda ise ayırıcı tanıya giren hastalıklarda aberran PAX5 ekspresyonudur. Arun ve ark. yayınladığı bir vaka sunumunda klinik, morfolojik ve diğer immünohistokimyasal özellikleri ile ABHL olan vakada PAX5 ve CD15'in pozitif boyandığını bildirmişlerdir (294).

Literatürde Tzanko ve ark.'larının 2005 yılında yaptığı 330 olgu olan bir çalışmada Hodgkin lenfomanın CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8 ile sırasıyla 11(%4), 2(%1), 5(%2), 1(%0,4), 0, ve 1(%0,4) olguda pozitif olduğu bildirilmiştir (72).

2019 yılında Liang ve ark. aberran T hücre antijeni eksprese eden KHL vakaları ile aberran B hücre antijeni eksprese eden ABHL vakalarını karşılaştırmış 68 klasik Hodgkin lenfoma vakasından dört tanesinde LCA, 5 tanesinde TIA, 3 tanesinde CD3, 8 tanesinde CD4'ün pozitif olduğunu saptamışlardır. Otuz ABHL vakasının ise 1 tanesinde PAX5, 3 tanesinde ise MUM1 pozitifliği gösterilmiştir (295).

Bu çalışmalar kullanılan antikoların tanıda tuzak oluşturabileceğini göstermektedir. Bu yüzden daha güvenilir yeni belirteçlerden destek almak gerekliliği doğmuştur.

Interferon düzenleyici faktör 8 (IRF8), monositik lösemilerde ve B hücrelerinde pozitif olduğu gösterilen yeni bir biyobelirteçtir. Bir transkripsiyon faktörü olarak, IRF8, pre-B hücre diferansiyasyonunda ve B hücre tolerans yollarının indüksiyonunda önemli bir rol oynar (296).

2022 yılında McQuaid ve ark.nın yaptığı diğer bir çalışmada 74 KHL, 7 NLPHL yanı sıra 15 ALK- ABHL ve 4 ALK+ABHL'nin dahil edildiği çalışmalarında IRF8'in KHL'lerin %85,1'inde (n=61), NLPHL'lerin tümünde pozitif, ABHL'lerin ise tümünde negatif olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle IRF8'in CD30 pozitif büyük hücreli lenfomaların ayırıcı tanısında kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. PAX5 ile boyanmayan 6 KHL vakasında IRF8 pozitifliğinin tanıyı koymada yararlı olduğunu bildirmişlerdir (253). Bizim çalışmamızda da IRF8'in KHL'de, ABHL, EDBBHL, İYİEBV+LPH ile kıyaslandığında anlamlı düzeyde daha sık pozitif olduğu görüldü. Ancak McQuaid ve ark'nın çalışmasına göre KHL'da IRF8 %51,4 gibi daha düşük bir oranda pozitif saptandı. Çalışmamızda MSKHL ve LZKHL alt gruplarında anlamlı düzeyde daha fazla IRF8 ekspresyonu olduğunu belirledik. İki çalışma arasındaki fark çalışmaya dahil edilen histolojik alt tiplerle ilişkili olabilir.

Çalışmamızda KHL ile MGZL ve PMBHL ayırımında IRF8 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Ancak bu antitelerde sınırlı sayıda vaka yer aldığından kesin yorum için yeterli olmadığını düşündük.

Lv ve ark. 2018 de yaptığı bir çalışmada IRF-8'in kaspaz-1 ekspresyonu ile litik reaktivasyonunda önemli rol oynadığını saptamışlardır (297). 2021 yılında ise Zhang ve ark IRF-8'in EBV genomunda birçok ve PU.1 ile içinde LMP-1 gen promoter bölgesi de içeren BGLF2 isimli bölgeye bağlandığını bulmuşlardır (298). Çalışmamızda immünohistokimyasal olarak EBV pozitif vaka grubunda IRF8 pozitif vaka sayısı 34 (%68)'tür. Ayrıca EBV+ ve EBV- vakalar arasında IRF-8 pozitifliği istatistiksel olarak anlamlı (0,009) bulunmuş olup, bu durum literatürü destekler niteliktedir.

KHL gelişiminde, JAK/STAT yolunu aktive eden tekrarlayan genetik mutasyonlar tanımlanmıştır. JAK2 kazanımı/amplifikasyonu, KHL'lerin üçte birinde bulunmuş ve tekrarlayan STAT6 mutasyonları bunların %32 ila %40'ında saptanmıştır. Tüm ekzom dizileme kullanılarak yapılan son bir çalışma, KHL vakalarının %87'sinde JAK/STAT yolunun genetik olarak bozuk olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgulardan yola çıkılarak yıllar içinde hem STAT6(y361) hem pSTAT6(y641) ile hem KHL hemde ayırıcı tanısı giren lenfoproliferatif hastalıklar ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

2022 yılında Yang ve arkadaşlarının 187 HL vakasında STAT6(Y361), EBER ekspresyonu ve bu iki immünohistokimyasal incelemenin klinik korelasyonu araştırılmış.

59/187 vakada STAT6 ve EBER birlikte pozitif, 27/187 vakada sadece STAT6 pozitif, 46/187 vakada sadece EBER pozitif, 50/187 vakada ikisi de negatif izlenmiştir. STAT6'nın EBER ile korele olduğu izlenmiştir. STAT6 ekspresyonunun ortalama sağkalım ile ilişkili olduğu bulunmuştur (284). Hücre kültürü ve cell line immüblot çalışmasında EBV ve STAT6 ile pozitif bir korelasyon olduğu bulunmuştur (299,300). Çalışmamızda kullandığımız STAT6 klonu (y641) farklı olup, KHL olgularının %60'ında pozitif saptanmıştır. Farklı olarak pSTAT6 boyanması EBV ile korele olmayıp EBV negatif grupta daha yüksek oranda pozitif bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Farklılık kullanılan klona bağlı olabilir ancak bu durumun iki klonu karşılaştıran çalışmalar ile incelenmesi gerekmektedir.

Van Slambrouck ve ark. 57 KHL, 34 NLPHL, 8 GZL, 5 NLPHL zemininden gelişen DBBHL, 4 THZBBHL, 4 EDBBHL, 4 PMBHL, 2 PTHL, 2 BHPTLPH (B hücreli post transplant lenfoproliferatif hastalık), 1 ALK- ABHL, 1KLL, 1 FL, 1 PHM (Plazma hücreli myelom), ve 7 adet lenfoproliferatif hastalık dahil ettikleri çalışmalarında STAT 6 y361(Abcam) antikoru kullanılmıştır. Aynı çalışmada ayrıca 11 NLPHL, 1 TZHBHL, 1 NLPHL zemininden gelişen TZHBHL, 1 KHL vakasında p-STAT6y(641) klonu kullanılmıştır. STAT6y361 klonunun daha zor değerlendirildiğini bildirmişlerdir. STAT6 antikoru ile KHL vakalarında sadece nükleer olarak vakaların %26'sı, sadece sitoplazmik olarak %9, nükleer veya sitoplazmik olarak %74'ünde pozitiflik kaydedilmiştir. STAT6 ekspresyonu ile EBV durumu ve ve KHL'nın alt tipiyle korelasyon görülmemiştir. NLPHL vakalarının hiçbirinde nükleer ekspresyon gözlenmemiş sadece zayıf sitoplazmik reaksiyon izlenmiştir. Ayrıca STAT6y361 ve p-STAT6y641 klonu seçilmiş olan NLPHL ve TZHBHL vakalarında nükleer boyanma izlenmemiş. NHL vakalarından sadece 1 tane GZL, 1 tane de PMBHL vakasında güçlü boyanma izlenmiştir (78). Çalışmamızda pSTAT6 ile sadece 1(%0,7) vakada sitoplazmik boyanma izlenmiştir. Farklılığın fiksasyon tipi ve süresi ile ilişkili olabileceği düşünüldü.

Güter ve ark 2004 yılındaki 5 KHL, 10 DBBHL ve 11 PMBHL dahil ettikleri çalışmalarında immünhistokimyasal olarak p-STAT6y641 (Cell Signaling) antikoru kullanmışlar, KHL'ların %80(4/5)'inde, PMBHL'lerin %73(8/11)'ünde, DBBHL'ların %10(1/10)'unda pozitif saptamışlardır (288). Bizim çalışmamızda PMBHL vakalarının 1(%20)'inde, KHL'ların ise 84 (%60)'ünde pSTAT6 pozitif saptandı. Fark istatistiksel olarak sınırda anlamlılıktaydı ( $p=0,074$ ). Ancak kesin bir yorum için her iki çalışmada da PMBHL vaka sayısı yeterli değildir.

Skinninger ve ark. 2002'de 32 KHL, 4 NLPHL ve ayırıcı tanıya giren 24 NHL vakasında STAT6 (y361SantaCruz) ve p-STAT6(Cell Signaling Tyr641) antikoru yaptıkları

çalışmalarında, p-STAT6 antikoruna ile KHL'da %78 oranında pozitivite saptamışlardır. NLPHL vakalarında %0, DBBHL vakalarında %0 (8/0), THZBHL vakalarında %40 (5/2), ABHL vakalarında %33 (6/2), PTHL vakalarında %0 (5/0) oranında ekspresyon bildirmişlerdir. KHL'da STAT6 boyanması histolojik alt tipe göre farklılık göstermekte olup, NSKHL diğer subtiplere göre daha fazla boyanma olduğunu bildirmişlerdir (281). Bizim çalışmamızda da NSKHL'da (%75'i) daha sık pozitifdir. Ek olarak LFKHL'da da sık pozitif (%75) olduğu görülmüştür.



## BÖLÜM VI

### SONUÇLAR

- Çalışmamızda 274 olgu yer almaktadır.
- Olgular 140 KHL (60 NSKHL, 40 MSKHL, 20 LFKHL, 20 LZKHL), 49 ALK-ABHL, 16 ALK+ABHL, 30 İYİEBV+LPH, 29 EDBBHL, 5 MGZL ve 5 PMBHL'den oluşmaktadır.
- KHL ile ABHL, EDBBHL ve İYİ EBV+LPH arasında IRF-8 pozitifliği KHL lehine bulundu ( $p<0,001$ ).
- KHL ile MGZL ve PMBHL arasında IRF-8 pozitifliği iki grubu birbirinden ayırmada istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ( $p=0,209$ ). Ancak vaka sayısı kesin yorum için yeterli bulunmadı.
- IRF8 ile KHL ve KHL-dışı vakaları ayırmada insizyonel/kalın iğne biyopsi ile eksizyonel biyopsilerin ikisinde de KHL lehine anlamlı fark saptanmıştır. Sınırlı doku örneklerinde IRF8 pozitifliğinin KHL lehine kullanılabileceği düşünülmüştür.
- KHL ve KHL-dışı vakalar (65 ABHL,30 İYİEBV+ LPH, EBV+DBBHL, 5 MGZL, 5 PMBHL) arasında pSTAT6 pozitifliği açısından anlamlı fark ( $p=0,143$ ) saptanmamıştır.
- pSTAT6 EBV- KHL'da daha sık pozitif olup, EBV+ KHL vakaları ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ( $p<0,001$ ).

## BÖLÜM VII

### KAYNAKLAR

1. Li W. The 5th Edition of the World Health Organization Classification of Hematolymphoid Tumors. In: Li W, editor. Leukemia [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications; 2022 Oct
2. Hatem Kaseb; Hani M. Babiker. Hodgkin Lymphoma StatPearls \*
3. Laurent C, Do C, Gourraud PA, de Paiva GR, Valmary S, Brousset P. Prevalence of Common Non-Hodgkin Lymphomas and Subtypes of Hodgkin Lymphoma by Nodal Site of Involvement: A Systematic Retrospective Review of 938 Cases. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Jun;94(25):e987.
4. Smithers DW. Hodgkin's disease: one entity or two? *Lancet*. 1970 Dec 19;2(7686):1285-
5. Musshoff K. Prognostic and therapeutic implications of staging in extranodal Hodgkin's disease. *Cancer Res*. 1971 Nov;31(11):1814-27.
6. Introcaso CE, Kantor J, Porter DL, Junkins-Hopkins JM. Cutaneous Hodgkin's disease. *J Am Acad Dermatol*. 2008 Feb;58(2):295-8
7. Dojcinov SD, Venkataraman G, Raffeld M, Pittaluga S, Jaffe ES. EBV positive mucocutaneous ulcer--a study of 26 cases associated with various sources of immunosuppression. *Am J Surg Pathol*. 2010 Mar;34(3):405-17.
8. Eberle FC, Song JY, Xi L, Raffeld M, Harris NL, Wilson WH, Pittaluga S, Jaffe ES. Nodal involvement by cutaneous CD30-positive T-cell lymphoma mimicking classical Hodgkin lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2012 May;36(5):716-25.
9. Klimm B, Franklin J, Stein H, Eichenauer DA, Haverkamp H, Diehl V, Fuchs M, Borchmann P, Engert A. Lymphocyte-depleted classical Hodgkin's lymphoma: a comprehensive analysis from the German Hodgkin study group. *J Clin Oncol*. 2011 Oct 10;29(29):3914-20.
10. Diehl V, Sextro M, Franklin J, Hansmann ML, Harris N, Jaffe E, Poppema S, Harris M, Franssila K, van Krieken J, Marafioti T, Anagnostopoulos I, Stein H. Clinical presentation, course, and prognostic factors in lymphocyte-predominant Hodgkin's disease and lymphocyte-rich classical Hodgkin's disease: report from the European Task Force on Lymphoma Project on Lymphocyte-Predominant Hodgkin's Disease. *J Clin Oncol*. 1999 Mar;17(3):776-83.
11. Siegel, R. L., Miller, K. D., Wagle, N. S., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17-48.
12. 2018 TÜRKİYE KANSER İSTATİSTİKLERİ
13. Ferlay J, Ervik M, Lam F, Colombet M, Mery L, Piñeros M, Znaor A, Soerjomataram I, Bray F (2018). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
14. Correa P, O'Connor GT (1971) Epidemiologic patterns of Hodgkin's disease. *Int J Cancer* 8(2):192-201
15. LENFOMA ULUSAL TANI VE TEDAVİ KILAVUZU 2020 sf.16-31
16. Brittain D, Akhtar S, Rodrigues S, Patel M, Moodley D, Singh JP, Dreosti LM, Mohamed Z, Al-Mansour M, Alzahrani M, Rauf MS, Maghfoor I, Kalayoğlu Beşışık S, Boğa C, Saydam G, Huang Z, Pinchevsky Y, Ferhanoğlu B. Treatment Patterns and Clinical Outcomes in Patients with Hodgkin Lymphoma from Saudi Arabia, Türkiye, and South Africa:

Subgroup Analysis from the International Multicenter Retrospective B-HOLISTIC Study. *Turk J Haematol.* 2024 Dec 2;41(4):211-224.

17. Hjalgrim H, Askling J, Rostgaard K, Hamilton-Dutoit S, Frisch M, Zhang JS, Madsen M, Rosdahl N, Konradsen HB, Storm HH, Melbye M. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. *N Engl J Med.* 2003 Oct 2;349(14):1324-32.

18. Diepstra A, Niens M, Vellenga E, van Imhoff GW, Nolte IM, Schaapveld M, van der Steege G, van den Berg A, Kibbelaar RE, te Meerman GJ, Poppema S. Association with HLA class I in Epstein-Barr-virus-positive and with HLA class III in Epstein-Barr-virus-negative Hodgkin's lymphoma. *Lancet.* 2005 Jun 25-Jul 1;365(9478):2216-24.

19. Niens M, Jarrett RF, Hepkema B, Nolte IM, Diepstra A, Platteel M, Kouprie N, Delury CP, Gallagher A, Visser L, Poppema S, te Meerman GJ, van den Berg A. HLA-A\*02 is associated with a reduced risk and HLA-A\*01 with an increased risk of developing EBV+ Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2007 Nov 1;110(9):3310-5.

20. Hjalgrim H, Rostgaard K, Johnson PC, Lake A, Shield L, Little AM, Ekstrom-Smedby K, Adami HO, Glimelius B, Hamilton-Dutoit S, Kane E, Taylor GM, McConnachie A, Ryder LP, Sundstrom C, Andersen PS, Chang ET, Alexander FE, Melbye M, Jarrett RF. HLA-A alleles and infectious mononucleosis suggest a critical role for cytotoxic T-cell response in EBV-related Hodgkin lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Apr 6;107(14):6400-5.

21. Enciso-Mora V, Broderick P, Ma Y, Jarrett RF, Hjalgrim H, Hemminki K, van den Berg A, Olver B, Lloyd A, Dobbins SE, Lightfoot T, van Leeuwen FE, Försti A, Diepstra A, Broeks A, Vijayakrishnan J, Shield L, Lake A, Montgomery D, Roman E, Engert A, von Strandmann EP, Reiners KS, Nolte IM, Smedby KE, Adami HO, Russell NS, Glimelius B, Hamilton-Dutoit S, de Bruin M, Ryder LP, Molin D, Sorensen KM, Chang ET, Taylor M, Cooke R, Hofstra R, Westers H, van Wezel T, van Eijk R, Ashworth A, Rostgaard K, Melbye M, Swerdlow AJ, Houlston RS. A genome-wide association study of Hodgkin's lymphoma identifies new susceptibility loci at 2p16.1 (REL), 8q24.21 and 10p14 (GATA3). *Nat Genet.* 2010 Dec;42(12):1126-1130.

22. Urayama KY, Jarrett RF, Hjalgrim H, Diepstra A, Kamatani Y, Chabrier A, Gaborieau V, Boland A, Nieters A, Becker N, Foretova L, Benavente Y, Maynadié M, Staines A, Shield L, Lake A, Montgomery D, Taylor M, Smedby KE, Amini RM, Adami HO, Glimelius B, Feenstra B, Nolte IM, Visser L, van Imhoff GW, Lightfoot T, Cocco P, Kiemeny L, Vermeulen SH, Holcatova I, Vatten L, Macfarlane GJ, Thomson P, Conway DI, Benhamou S, Agudo A, Healy CM, Overvad K, Tjønneland A, Melin B, Canzian F, Khaw KT, Travis RC, Peeters PH, González CA, Quirós JR, Sánchez MJ, Huerta JM, Ardanaz E, Dorronsoro M, Clavel-Chapelon F, Bueno-de-Mesquita HB, Riboli E, Roman E, Boffetta P, de Sanjosé S, Zelenika D, Melbye M, van den Berg A, Lathrop M, Brennan P, McKay JD. Genome-wide association study of classical Hodgkin lymphoma and Epstein-Barr virus status-defined subgroups. *J Natl Cancer Inst.* 2012 Feb 8;104(3):240-53.

23. Frampton M, da Silva Filho MI, Broderick P, Thomsen H, Försti A, Vijayakrishnan J, Cooke R, Enciso-Mora V, Hoffmann P, Nöthen MM, Lloyd A, Holroyd A, Eisele L, Jöckel KH, Ponader S, von Strandmann EP, Lightfoot T, Roman E, Lake A, Montgomery D, Jarrett RF, Swerdlow AJ, Engert A, Hemminki K, Houlston RS. Variation at 3p24.1 and 6q23.3 influences the risk of Hodgkin's lymphoma. *Nat Commun.* 2013;4:2549.

24. Sud A, Thomsen H, Orlando G, Försti A, Law PJ, Broderick P, Cooke R, Hariri F, Pastinen T, Easton DF, Pharoah PDP, Dunning AM, Peto J, Canzian F, Eeles R, Kote-Jarai Z, Muir K, Pashayan N, Campa D; PRACTICAL Consortium; Hoffmann P, Nöthen MM, Jöckel KH, von Strandmann EP, Swerdlow AJ, Engert A, Orr N, Hemminki K, Houlston RS. Genome-wide association study implicates immune dysfunction in the development of Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2018 Nov 8;132(19):2040-2052.

25. Kharazmi E, Fallah M, Pukkala E, Olsen JH, Tryggvadottir L, Sundquist K, Tretli S, Hemminki K. Risk of familial classical Hodgkin lymphoma by relationship, histology, age, and sex: a joint study from five Nordic countries. *Blood*. 2015 Oct 22;126(17):1990-5.
26. Clemmensen SB, Harris JR, Mengel-From J, Bonat WH, Frederiksen H, Kaprio J, Hjelmberg JVB. Familial Risk and Heritability of Hematologic Malignancies in the Nordic Twin Study of Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021 Jun 16;13(12):3023.
27. Kanzler H, Küppers R, Hansmann ML, Rajewsky K. Hodgkin and Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease represent the outgrowth of a dominant tumor clone derived from (crippled) germinal center B cells. *J Exp Med*. 1996 Oct 1;184(4):1495-505.
28. Schwering I, Bräuning A, Klein U, Jungnickel B, Tinguely M, Diehl V, Hansmann ML, Dalla-Favera R, Rajewsky K, Küppers R. Loss of the B-lineage-specific gene expression program in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1505-12.
29. Weber-Matthiesen K, Deerberg J, Poetsch M, Grote W, Schlegelberger B. Numerical chromosome aberrations are present within the CD30+ Hodgkin and Reed-Sternberg cells in 100% of analyzed cases of Hodgkin's disease. *Blood*. 1995 Aug 15;86(4):1464-8.
30. Schmitz R, Hansmann ML, Bohle V, Martin-Subero JI, Hartmann S, Mechtersheimer G, Klapper W, Vater I, Giefing M, Gesk S, Stanelle J, Siebert R, Küppers R. TNFAIP3 (A20) is a tumor suppressor gene in Hodgkin lymphoma and primary mediastinal B cell lymphoma. *J Exp Med*. 2009 May 11;206(5):981-9.
31. Joos S, Menz CK, Wrobel G, Siebert R, Gesk S, Ohl S, Mechtersheimer G, Trümper L, Möller P, Lichter P, Barth TF. Classical Hodgkin lymphoma is characterized by recurrent copy number gains of the short arm of chromosome 2. *Blood*. 2002 Feb 15;99(4):1381-7.
32. Martín-Subero JI, Gesk S, Harder L, Sonoki T, Tucker PW, Schlegelberger B, Grote W, Novo FJ, Calasanz MJ, Hansmann ML, Dyer MJ, Siebert R. Recurrent involvement of the REL and BCL11A loci in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2002 Feb 15;99(4):1474-7.
33. Steidl C, Telenius A, Shah SP, Farinha P, Barclay L, Boyle M, Connors JM, Horsman DE, Gascoyne RD. Genome-wide copy number analysis of Hodgkin Reed-Sternberg cells identifies recurrent imbalances with correlations to treatment outcome. *Blood*. 2010 Jul 22;116(3):418-27.
34. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, Chapuy B, Takeyama K, Neuberg D, Golub TR, Kutok JL, Shipp MA. 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 Oct 28;116(17):3268-77.
35. Weniger MA, Melzner I, Menz CK, Wegener S, Bucur AJ, Dorsch K, Mattfeldt T, Barth TF, Möller P. Mutations of the tumor suppressor gene SOCS-1 in classical Hodgkin lymphoma are frequent and associated with nuclear phospho-STAT5 accumulation. *Oncogene*. 2006 Apr 27;25(18):2679-84.
36. Gunawardana J, Chan FC, Telenius A, Woolcock B, Kridel R, Tan KL, Ben-Neriah S, Mottok A, Lim RS, Boyle M, Rogic S, Rimsza LM, Guiter C, Leroy K, Gaulard P, Haioun C, Marra MA, Savage KJ, Connors JM, Shah SP, Gascoyne RD, Steidl C. Recurrent somatic mutations of PTPN1 in primary mediastinal B cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. *Nat Genet*. 2014 Apr;46(4):329-35.
37. Reichel J, Chadburn A, Rubinstein PG, Giulino-Roth L, Tam W, Liu Y, Gaiolla R, Eng K, Brody J, Inghirami G, Carlo-Stella C, Santoro A, Rahal D, Totonchy J, Elemento O, Cesarman E, Roshal M. Flow sorting and exome sequencing reveal the oncogenome of primary Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Blood*. 2015 Feb 12;125(7):1061-72.

38. Tiacci E, Ladewig E, Schiavoni G, Penson A, Fortini E, Pettirossi V, Wang Y, Rosseto A, Venanzi A, Vlasevska S, Pacini R, Piattoni S, Tabarrini A, Pucciarini A, Bigerna B, Santi A, Gianni AM, Viviani S, Cabras A, Ascani S, Crescenzi B, Mecucci C, Pasqualucci L, Rabadan R, Falini B. Pervasive mutations of JAK-STAT pathway genes in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2018 May 31;131(22):2454-2465.
39. Mata E, Fernández S, Astudillo A, Fernández R, García-Cosío M, Sánchez-Beato M, Provencio M, Estévez M, Montalbán C, Piris MA, García JF. Genomic analyses of microdissected Hodgkin and Reed-Sternberg cells: mutations in epigenetic regulators and p53 are frequent in refractory classic Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J*. 2019 Mar 11;9(3):34.
40. Steidl C, Shah SP, Woolcock BW, Rui L, Kawahara M, Farinha P, Johnson NA, Zhao Y, Telenius A, Neriah SB, McPherson A, Meissner B, Okoye UC, Diepstra A, van den Berg A, Sun M, Leung G, Jones SJ, Connors JM, Huntsman DG, Savage KJ, Rimsza LM, Horsman DE, Staudt LM, Steidl U, Marra MA, Gascoyne RD. MHC class II transactivator CIITA is a recurrent gene fusion partner in lymphoid cancers. *Nature*. 2011 Mar 17;471(7338):377-81
41. Zheng B, Fiumara P, Li YV, Georgakis G, Snell V, Younes M, Vauthey JN, Carbone A, Younes A. MEK/ERK pathway is aberrantly active in Hodgkin disease: a signaling pathway shared by CD30, CD40, and RANK that regulates cell proliferation and survival. *Blood*. 2003 Aug 1;102(3):1019-27.
42. Dutton A, Reynolds GM, Dawson CW, Young LS, Murray PG. Constitutive activation of phosphatidylinositol 3 kinase contributes to the survival of Hodgkin's lymphoma cells through a mechanism involving Akt kinase and mTOR. *J Pathol*. 2005 Mar;205(4):498-506.
43. Jundt F, Anagnostopoulos I, Förster R, Mathas S, Stein H, Dörken B. Activated Notch1 signaling promotes tumor cell proliferation and survival in Hodgkin and anaplastic large cell lymphoma. *Blood*. 2002 May 1;99(9):3398-403.
44. Weniger MA, Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma. *Leukemia*. 2021 Apr;35(4):968-981.
45. Liu Y, Sattarzadeh A, Diepstra A, Visser L, van den Berg A. The microenvironment in classical Hodgkin lymphoma: an actively shaped and essential tumor component. *Semin Cancer Biol*. 2014 Feb;24:15-22
46. Roemer MG, Advani RH, Ligon AH, Natkunam Y, Redd RA, Homer H, Connelly CF, Sun HH, Daadi SE, Freeman GJ, Armand P, Chapuy B, de Jong D, Hoppe RT, Neuberg DS, Rodig SJ, Shipp MA. PD-L1 and PD-L2 Genetic Alterations Define Classical Hodgkin Lymphoma and Predict Outcome. *J Clin Oncol*. 2016 Aug 10;34(23):2690-7.
47. Kapatai G, Murray P. Contribution of the Epstein Barr virus to the molecular pathogenesis of Hodgkin lymphoma. *J Clin Pathol*. 2007 Dec;60(12):1342-9.
48. Kilger E, Kieser A, Baumann M, Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus-mediated B-cell proliferation is dependent upon latent membrane protein 1, which simulates an activated CD40 receptor. *EMBO J*. 1998 Mar 16;17(6):1700-9.
49. Mancao C, Hammerschmidt W. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A is a B-cell receptor mimic and essential for B-cell survival. *Blood*. 2007 Nov 15;110(10):3715-21.
50. Lukes, R. J., & Butler, J. J. (1966). The Pathology and Nomenclature of Hodgkin's Disease. *Cancer Research*, 26(6 Part 1), 1063-1081.
51. Wang HW, Balakrishna JP, Pittaluga S, Jaffe ES. Diagnosis of Hodgkin lymphoma in the modern era. *Br J Haematol*. 2019 Jan;184(1):45-59.
52. Piris MA, Medeiros LJ, Chang KC. Hodgkin lymphoma: a review of pathological features and recent advances in pathogenesis. *Pathology*. 2020 Jan;52(1):154-165.
53. Strickler JG, Michie SA, Warnke RA, Dorfman RF. The "syncytial variant" of nodular sclerosing Hodgkin's disease. *Am J Surg Pathol*. 1986 Jul;10(7):470-7.

54. Schwarting R, Gerdes J, Dürkop H, Falini B, Pileri S, Stein H. BER-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. *Blood*. 1989 Oct;74(5):1678-89.
55. Stein H, Mason DY, Gerdes J, O'Connor N, Wainscoat J, Pallesen G, Gatter K, Falini B, Delsol G, Lemke H, et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that
56. Stein H, Gerdes J, Kirchner H, Schaadt M, Diehl V. Hodgkin and sternberg-reed cell antigen(s) detected by an antiserum to a cell line (L428) derived from Hodgkin's disease. *Int J Cancer*. 1981 Oct 15;28(4):425-9. doi: 10.1002/ijc.2910280406. PMID: 6946981.
57. Stein H, Uchanska-Ziegler B, Gerdes J, Ziegler A, Wernet P. Hodgkin and Sternberg-Reed cells contain antigens specific to late cells of granulopoiesis. *Int J Cancer*. 1982 Mar 15;29(3):283-90.
58. Hsu SM, Jaffe ES. Leu M1 and peanut agglutinin stain the neoplastic cells of Hodgkin's disease. *Am J Clin Pathol*. 1984 Jul;82(1):29-32.
59. Chittal SM, Caverivière P, Schwarting R, Gerdes J, Al Saati T, Rigal-Huguet F, Stein H, Delsol G. Monoclonal antibodies in the diagnosis of Hodgkin's disease. The search for a rational panel. *Am J Surg Pathol*. 1988 Jan;12(1):9-21.
60. Falini B, Flenghi L, Pileri S, Gambacorta M, Bigerna B, Durkop H, Eitelbach F, Thiele J, Pacini R, Cavaliere A, et al. PG-M1: a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. *Am J Pathol*. 1993 May;142(5):1359-72.
61. Schmid C, Pan L, Diss T, Isaacson PG. Expression of B-cell antigens by Hodgkin's and Reed-Sternberg cells. *Am J Pathol*. 1991 Oct;139(4):701-7.
62. Zukerberg LR, Collins AB, Ferry JA, Harris NL. Coexpression of CD15 and CD20 by Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *Am J Pathol*. 1991 Sep;139(3):475-83.
63. Nam-Cha SH, Montes-Moreno S, Salcedo MT, Sanjuan J, Garcia JF, Piris MA. Lymphocyte-rich classical Hodgkin's lymphoma: distinctive tumor and microenvironment markers. *Mod Pathol*. 2009 Aug;22(8):1006-15.
64. Loddenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, Jöhrens-Leder K, Foss HD, Jundt F, Wirth T, Dörken B, Stein H. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas. *J Pathol*. 2004 Jan;202(1):60-9
65. Torlakovic E, Tierens A, Dang HD, Delabie J. The transcription factor PU.1, necessary for B-cell development is expressed in lymphocyte predominance, but not classical Hodgkin's disease. *Am J Pathol*. 2001 Nov;159(5):1807-14.
66. Slack GW, Ferry JA, Hasserjian RP, Sohani AR, Longtine JA, Harris NL, Zukerberg LR. Lymphocyte depleted Hodgkin lymphoma: an evaluation with immunophenotyping and genetic analysis. *Leuk Lymphoma*. 2009 Jun;50(6):937-43.
67. Slack GW, Ferry JA, Hasserjian RP, Sohani AR, Longtine JA, Harris NL, Zukerberg LR. Lymphocyte depleted Hodgkin lymphoma: an evaluation with immunophenotyping and genetic analysis.
68. Buettner M, Greiner A, Avramidou A, Jäck HM, Niedobitek G. Evidence of abortive plasma cell differentiation in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin lymphoma. *Hematol Oncol*. 2005 Sep-Dec;23(3-4):127-32.
69. Bai M, Panoulas V, Papoudou-Bai A, Horianopoulos N, Kitsoulis P, Stefanaki K, Rontogianni D, Agnantis NJ, Kanavaros P. B-cell differentiation immunophenotypes in classical Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 2006 Mar;47(3):495-501.

70. Herbst H, Dallenbach F, Hummel M, Niedobitek G, Pileri S, Müller-Lantzsch N, Stein H. Epstein-Barr virus latent membrane protein expression in Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Jun 1;88(11):4766-70.
71. Weiss LM, Movahed LA, Warnke RA, Sklar J. Detection of Epstein-Barr viral genomes in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease. *N Engl J Med*. 1989 Feb 23;320(8):502-6
72. Tzankov A, Bourgau C, Kaiser A, Zimpfer A, Maurer R, Pileri SA, Went P, Dirnhofer S. Rare expression of T-cell markers in classical Hodgkin's lymphoma. *Mod Pathol*. 2005 Dec;18(12):1542-9.
73. Venkataraman G, Song JY, Tzankov A, Dirnhofer S, Heinze G, Kohl M, Traverse-Glehen A, Eberle FC, Hanson JC, Raffeld MA, Pittaluga S, Jaffe ES. Aberrant T-cell antigen expression in classical Hodgkin lymphoma is associated with decreased event-free survival and overall survival. *Blood*. 2013 Mar 7;121(10):1795-804. .
74. Kezlarian B, Alhyari M, Venkataraman G, Karner K, Inamdar KV, Menon MP. GATA3 Immunohistochemical Staining in Hodgkin Lymphoma: Diagnostic Utility in Differentiating Classic Hodgkin Lymphoma From Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma and Other Mimicking Entities. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019 Mar;27(3):180-184.
75. Salama ME, Rajan Mariappan M, Inamdar K, Tripp SR, Perkins SL. The value of CD23 expression as an additional marker in distinguishing mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma from Hodgkin lymphoma. *Int J Surg Pathol*. 2010 Apr;18(2):121-8.
76. Volaric A, Bacchi CE, Gru AA. PD-1 and PD-L1 Immunohistochemistry as a Diagnostic Tool for Classic Hodgkin Lymphoma in Small-volume Biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2020 Oct;44(10):1353-1366.
77. Aladily TN, Mansour A, Alsughayer A, Sughayer M, Medeiros LJ. The utility of CD83, fascin and CD23 in the differential diagnosis of primary mediastinal large B-cell lymphoma versus classic Hodgkin lymphoma. *Ann Diagn Pathol*. 2019 Jun;40:72-76.
78. Van Slambrouck C, Huh J, Suh C, Song JY, Menon MP, Sohani AR, Duffield AS, Goldberg RC, Dama P, Kiyotani K, Godfrey J, Fitzpatrick C, Kline J, Smith SM, Jaffe ES, Hartmann S, Venkataraman G. Diagnostic utility of STAT6<sup>YE361</sup> expression in classical Hodgkin lymphoma and related entities. *Mod Pathol*. 2020 May;33(5):834-845.
79. Klein JL, Nguyen TT, Bien-Willner GA, Chen L, Foyil KV, Bartlett NL, Duncavage EJ, Hassan A, Frater JL, Kreisel F. CD163 immunohistochemistry is superior to CD68 in predicting outcome in classical Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2014 Mar;141(3):381-7.
80. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med*. 1998 Nov 19;339(21):1506-14.
81. Momotow J, Borchmann S, Eichenauer DA, Engert A, Sasse S. Hodgkin Lymphoma-Review on Pathogenesis, Diagnosis, Current and Future Treatment Approaches for Adult Patients. *J Clin Med*. 2021 Mar 8;10(5):1125.
82. Guru Murthy, G. S., Hamadani, M., Bhatt, V. R., Dhakal, I., & Mehta, P. (2017). Systemic Anaplastic Lymphoma Kinase-positive Anaplastic Large Cell Lymphoma: A Population-based Analysis of Incidence and Survival. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 17(4), 201-206.
83. Falini B, Pileri S, Zinzani PL, et al.. ALK+ lymphoma: clinico-pathological findings and outcome. *Blood*. 1999;93:2697–2706.
84. Fraga M, Brousset P, Schlaifer D, et al.. Bone marrow involvement in anaplastic large cell lymphoma. Immunohistochemical detection of minimal disease and its prognostic significance. *Am J Clin Pathol*. 1995;103:82–89.

85. Leventaki V, Bhattacharyya S, Lim MS. Pathology and genetics of anaplastic large cell lymphoma. *Semin Diagn Pathol.* 2020 Jan;37(1):57-71.
86. Bai, R.-Y., Dieter, P., Peschel, C., Morris, S. W., & Duyster, J. (1998). Nucleophosmin-Anaplastic Lymphoma Kinase of Large-Cell Anaplastic Lymphoma Is a Constitutively Active Tyrosine Kinase That Utilizes Phospholipase C- $\beta$  To Mediate Its Mitogenicity. *MOL. CELL. BIOL.*, 18.
87. Bai, R.-Y., Ouyang, T., Miething, C., Morris, S. W., Peschel, C., & Duyster, J. (2000). Nucleophosmin–anaplastic lymphoma kinase associated with anaplastic large-cell lymphoma activates the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt antiapoptotic signaling pathway. *Blood*, 96(13), 4319-4327.
88. Choudhari, R., Minero, V. G., Menotti, M., Pulito, R., Brakebusch, C., Compagno, M., Voena, C., Ambrogio, C., & Chiarle, R. (2016). Redundant and nonredundant roles for Cdc42 and Rac1 in lymphomas developed in NPM-ALK transgenic mice. *Blood*, 127(10), 1297-1306.
89. Leventaki, V., Drakos, E., Medeiros, L. J., Lim, M. S., Elenitoba-Johnson, K. S., Claret, F. X., & Rassidakis, G. Z. (2007). NPM-ALK oncogenic kinase promotes cell-cycle progression through activation of JNK/cJun signaling in anaplastic large-cell lymphoma. *Blood*, 110(5), 1621-1630.
90. Lim, M. S., Carlson, M. L., Crockett, D. K., Fillmore, G. C., Abbott, D. R., Elenitoba-Johnson, O. F., Tripp, S. R., Rassidakis, G. Z., Medeiros, L. J., Szankasi, P., & Elenitoba-Johnson, K. S. J. (2009). The proteomic signature of NPM/ALK reveals deregulation of multiple cellular pathways. *Blood*, 114(8), 1585-1595.
91. Nieborowska-Skorska, M., Slupianek, A., Xue, L., Zhang, Q., Raghunath, P. N., Hoser, G., Wasik, M. A., Morris, S. W., & Skorski, T. (t.y.). Role of Signal Transducer and Activator of Transcription 5 in Nucleophosmin/ Anaplastic Lymphoma Kinase-mediated Malignant Transformation of Lymphoid Cells.
92. Bonzheim I, Irmeler M, Klier-Richter M, Steinhilber J, Anastasov N, Schäfer S, et al. . Identification of C/EBP $\beta$  target genes in ALK+ anaplastic large cell lymphoma (ALCL) by gene expression profiling and chromatin immunoprecipitation. *PloS One* (2013) 8(5):e64544
93. Falini B. Anaplastic large cell lymphoma: Pathological, molecular and clinical features *Br J Haematol.* 2001;114:741–60
94. Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L, Amin C, Brugières L, Terrier-Lacombe MJ, et al ALK-positive lymphoma: A single disease with a broad spectrum of morphology *Blood.* 1998;91:2076–84
95. Jairajpuri ZS, Rana S, Khetrupal S, Talikoti MA, Jetley S. Extranodal anaplastic large cell lymphoma mimicking sarcoma: A report of an interesting case *Int J Appl Basic Med Res.* 2014;4:S50–2
96. Xing, X. (2015). Anaplastic Large Cell Lymphomas: ALK Positive, ALK Negative, and Primary Cutaneous. *Adv Anat Pathol*, 22(1).
97. Kinney MC, Collins RD , Greer JP et al. A small-cell-predominant variant of primary Ki-1 (CD30)+ T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol.* 1993;17:859-868
98. Satou A, Asano N, Tatekawa S, Fukuyama R, Nakamura S. Lymphohistiocytic and small cell pattern of anaplastic large cell lymphoma, ALK positive, arising in an 86-year-old woman. *Pathol Int.* 2013 Apr;63(4):230-2.
99. Pittaluga, S., Wlodarskat, I., Pulford, K., Morris, S. W., & Wolf-Peeters, C. D. (1997). The Monoclonal Antibody ALK1 Identifies a Distinct Morphological Subtype of Anaplastic Large Cell Lymphoma Associated with 2p23IALK Rearrangements. 151(2).
100. Foss, H., Anagnostopoulos, I., Araujo, I., Assaf, C., Demel, G., Kummer, J., Hummel, M., & Stein, H. (1996). Anaplastic large-cell lymphomas of T-cell and null-cell phenotype express cytotoxic molecules. *Blood*, 88(10), 4005-4011.

101. D'Amore, E. S. G., Menin, A., Bonoldi, E., Bevilacqua, P., Cazzavillan, S., Donofrio, V., Gambini, C., Forni, M., Gentile, A., Magro, G., Boldrini, R., Pillon, M., Rosolen, A., & Alaggio, R. (t.y.). *Anaplastic Large Cell Lymphomas: A Study of 75 Pediatric Patients*.
102. Wellmann, A., Thieblemont, C., Pittaluga, S., Sakai, A., Jaffe, E. S., Siebert, P., & Raffeld, M. (2000). Detection of differentially expressed genes in lymphomas using cDNA arrays: Identification of clusterin as a new diagnostic marker for anaplastic large-cell lymphomas. *Blood*, 96(2), 398-404
103. Gelebart, P., Hegazy, S. A., Wang, P., Bone, K. M., Anand, M., Sharon, D., Hitt, M., Pearson, J. D., Ingham, R. J., Ma, Y., & Lai, R. (2012). Aberrant expression and biological significance of Sox2, an embryonic stem cell transcriptional factor, in ALK-positive anaplastic large cell lymphoma. *Blood Cancer Journal*, 2(8), e82-e82.
104. Sibon D, Nguyen DP, Schmitz N, Suzuki R, Feldman AL, Gressin R, Lamant L, Weisenburger DD, Rosenwald A, Nakamura S, Ziepert M, Maurer MJ, Bast M, Armitage JO, Vose JM, Tilly H, Jais JP, Savage KJ. ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma in adults: an individual patient data pooled analysis of 263 patients. *Haematologica*. 2019 Dec;104(12):e562-e565.
105. Savage KJ, Harris NL, Vose JM, Ullrich F, Jaffe ES, Connors JM, Rimsza L, Pileri SA, Chhanabhai M, Gascoyne RD, Armitage JO, Weisenburger DD; International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. ALK- anaplastic large-cell lymphoma is clinically and immunophenotypically different from both ALK+ ALCL and peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified: report from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Blood*. 2008 Jun 15;111(12):5496-504
106. Grewal JS, Smith LB, Winegarden JD 3rd, Krauss JC, Tworek JA, Schnitzer B. Highly aggressive ALK-positive anaplastic large cell lymphoma with a leukemic phase and multi-organ involvement: a report of three cases and a review of the literature. *Ann Hematol*. 2007 Jul;86(7):499-508.
107. Lamant L, McCarthy K, d'Amore E, Klapper W, Nakagawa A, Fraga M, Maldyk J, Simonitsch-Klupp I, Oschlies I, Delsol G, Mauguén A, Brugières L, Le Deley MC. Prognostic impact of morphologic and phenotypic features of childhood ALK-positive anaplastic large-cell lymphoma: results of the ALCL99 study. *J Clin Oncol*. 2011 Dec 10;29(35):4669-76.
108. Williams D, Mori T, Reiter A, Woessman W, Rosolen A, Wrobel G, Zsiros J, Uyttebroeck A, Marky I, Le Deley MC, Brugières L; European Intergroup for Childhood Non-Hodgkin Lymphoma, the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. Central nervous system involvement in anaplastic large cell lymphoma in childhood: results from a multicentre European and Japanese study. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Oct;60(10):E118-21.
109. Shustov, A., Cabrera, M. E., Civallero, M., Bellei, M., Ko, Y. H., Manni, M., Skrypets, T., Horwitz, S. M., De Souza, C. A., Radford, J. A., Bobillo, S., Prates, M. V., Ferreri, A. J. M., Chiattoni, C., Spina, M., Vose, J. M., Chiappella, A., Laszlo, D., Marino, D., ... Federico, M. (2021). ALK-negative anaplastic large cell lymphoma: Features and outcomes of 235 patients from the International T-Cell Project. *Blood Advances*, 5(3), 640-648
110. Crescenzo, R., Abate, F., Lasorsa, E., Tabbo', F., Gaudio, M., Chiesa, N., Di Giacomo, F., Spaccarotella, E., Barbarossa, L., Ercole, E., Todaro, M., Boi, M., Acquaviva, A., Ficarra, E., Novero, D., Rinaldi, A., Tousseyn, T., Rosenwald, A., Kenner, L., ... Inghirami, G. (2015). Convergent Mutations and Kinase Fusions Lead to Oncogenic STAT3 Activation in Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Cancer Cell*, 27(4), 516-532.
111. Parrilla Castellar, E. R., Jaffe, E. S., Said, J. W., Swerdlow, S. H., Ketterling, R. P., Knudson, R. A., Sidhu, J. S., Hsi, E. D., Karikehalli, S., Jiang, L., Vasmatazis, G., Gibson, S. E., Ondrejka, S., Nicolae, A., Grogg, K. L., Allmer, C., Ristow, K. M., Wilson, W. H., Macon, W.

- R., ... Feldman, A. L. (2014). ALK-negative anaplastic large cell lymphoma is a genetically heterogeneous disease with widely disparate clinical outcomes. *Blood*, *124*(9), 1473-1480.
112. ..., R. A., Dasari, S., Oishi, N., Pedersen, M. B., Hu, G., Rech, K. L., Ketterling, R. P., Sidhu, J., Wang, X., Katoh, R., Dogan, A., Kip, N. S., Cunningham, J. M., Sun, Z., Baheti, S., Porcher, J. C., Said, J. W., Jiang, L., Hamilton-Dutoit, S. J., ... Feldman, A. L. (2018). Molecular profiling reveals immunogenic cues in anaplastic large cell lymphomas with DUSP22 rearrangements. *Blood*, *132*(13), 1386-1398.
113. Vasmatazis, G., Johnson, S. H., Knudson, R. A., Ketterling, R. P., Braggio, E., Fonseca, R., Viswanatha, D. S., Law, M. E., Kip, N. S., Özsan, N., Grebe, S. K., Frederick, L. A., Eckloff, B. W., Thompson, E. A., Kadin, M. E., Milosevic, D., Porcher, J. C., Asmann, Y. W., Smith, D. I., ... Feldman, A. L. (2012). Genome-wide analysis reveals recurrent structural abnormalities of TP63 and other p53-related genes in peripheral T-cell lymphomas. *Blood*, *120*(11), 2280-2289
114. Weilemann, A., Grau, M., Erdmann, T., Merkel, O., Sobhifshar, U., Anagnostopoulos, I., Hummel, M., Siegert, A., Hayford, C., Madle, H., Wollert-Wulf, B., Fichtner, I., Dörken, B., Dirnhofer, S., Mathas, S., Janz, M., Emre, N. C. T., Rosenwald, A., Ott, G., ... Lenz, G. (2015). Essential role of IRF4 and MYC signaling for survival of anaplastic large cell lymphoma. *Blood*, *125*(1), 124-132.
115. Attygalle, A. D., Cabeçadas, J., Gaulard, P., Jaffe, E. S., De Jong, D., Ko, Y. H., Said, J., & Klapper, W. (2014). Peripheral T-cell and NK -cell lymphomas and their mimics; taking a step forward – report on the lymphoma workshop of the XVI th meeting of the European Association for Haematopathology and the Society for Hematopathology. *Histopathology*, *64*(2)
116. King, R. L., Dao, L. N., McPhail, E. D., Jaffe, E. S., Said, J., Swerdlow, S. H., Sattler, C. A., Ketterling, R. P., Sidhu, J. S., Hsi, E. D., Karikehalli, S., Jiang, L., Gibson, S. E., Ondrejka, S. L., Nicolae, A., Macon, W. R., Dasari, S., Parrilla Castellar, E., & Feldman, A. L. (2016). Morphologic Features of ALK-negative Anaplastic Large Cell Lymphomas With DUSP22 Rearrangements. *American Journal of Surgical Pathology*, *40*(1), 36-43.
117. Scarfò, I., Pellegrino, E., Mereu, E., Kwee, I., Agnelli, L., Bergaggio, E., Garaffo, G., Vitale, N., Caputo, M., Machiorlatti, R., Circosta, P., Abate, F., Barreca, A., Novero, D., Mathew, S., Rinaldi, A., Tiacci, E., Serra, S., Deaglio, S., ... the European T-Cell Lymphoma Study Group. (2016). Identification of a new subclass of ALK-negative ALCL expressing aberrant levels of ERBB4 transcripts. *Blood*, *127*(2), 221-232.
118. Fitzpatrick, M. J., Massoth, L. R., Marcus, C., Vergilio, J.-A., Severson, E., Duncan, D., Ramkissoon, S. H., Hasserjian, R. P., Kim, A. S., Sohani, A. R., Williams, E. A., & Nardi, V. (2021). JAK2 Rearrangements Are a Recurrent Alteration in CD30+ Systemic T-Cell Lymphomas With Anaplastic Morphology. *American Journal of Surgical Pathology*, *45*(7), 895-904.
119. Al-Rohil, R. N., Torres-Cabala, C. A., Patel, A., Tetzlaff, M. T., Ivan, D., Nagarajan, P., Curry, J. L., Miranda, R. N., Duvic, M., Prieto, V. G., & Aung, P. P. (2016). Loss of CD30 expression after treatment with brentuximab vedotin in a patient with anaplastic large cell lymphoma: A novel finding. *Journal of Cutaneous Pathology*, *43*(12),
120. Shen, J., Medeiros, L. J., Li, S., Wang, S. A., Lin, P., Khanlari, M., Iyer, S. P., Yin, C. C., Tang, G., Jorgensen, J. L., Hu, S., Miranda, R. N., & Xu, J. (2020). CD8 expression in anaplastic large cell lymphoma correlates with noncommon morphologic variants and T-cell antigen expression suggesting biological differences with CD8-negative anaplastic large cell lymphoma. *Human Pathology*, *98*, 1-9.

121. Prabhakaran, N., & Ward, N. (2022). Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative exhibiting rare CD4 [ +] CD8 [ +] double-positive immunophenotype. *Journal of Hematopathology*, 15(4), 249-253.
122. Foss HD, Anagnostopoulos I, Araujo I, et al. Anaplastic large-cell lymphomas of T-cell and null-cell phenotype Express cytotoxic molecules. *Blood*. 1996;88:4005-4011
123. Saffer, H., Wahed, A., Rassidakis, G. Z., & Medeiros, L. J. (2002). Clusterin Expression in Malignant Lymphomas: A Survey of 266 Cases. *Modern Pathology*, 15(11), 1221-1226.
124. Lae, M. E., Ahmed, I., & Macon, W. R. (2002). Clusterin Is Widely Expressed in Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma but Fails to Differentiate Primary From Secondary Cutaneous Anaplastic Large Cell Lymphoma. *American Journal of Clinical Pathology*, 118(5), 773-779.
125. Nascimento, A. F., Pinkus, J. L., & Pinkus, G. S. (2004). Clusterin, a Marker for Anaplastic Large Cell Lymphoma: Immunohistochemical Profile in Hematopoietic and Nonhematopoietic Malignant Neoplasms. *American Journal of Clinical Pathology*, 121(5), 709-717.
126. Ravindran, A., Feldman, A. L., Ketterling, R. P., Dasari, S., Rech, K. L., McPhail, E. D., Kurtin, P. J., & Shi, M. (2020). Striking Association of Lymphoid Enhancing Factor (LEF1) Overexpression and DUSP22 Rearrangements in Anaplastic Large Cell Lymphoma. *Am J Surg Pathol*, 45(4).
127. Atsaves, V., Tsesmetzis, N., Chioureas, D., Kis, L., Leventaki, V., Drakos, E., Panaretakis, T., Grander, D., Medeiros, L. J., Young, K. H., & Rassidakis, G. Z. (2017). PD-L1 is commonly expressed and transcriptionally regulated by STAT3 and MYC in ALK-negative anaplastic large-cell lymphoma. *Leukemia*, 31(7), 1633-1637.
128. Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Tousseyn T, Barrionuevo C, Nakamura S, Jaffe ES. New concepts in EBV-associated B, T, and NK cell lymphoproliferative disorders. *Virchows Arch*. 2023 Jan;482(1):227-244.
129. Natkunam Y, Goodlad JR, Chadburn A, de Jong D, Gratzinger D, Chan JK, Said J, Jaffe ES. EBV-Positive B-Cell Proliferations of Varied Malignant Potential: 2015 SH/EAHP Workshop Report-Part 1. *Am J Clin Pathol*. 2017 Feb 1;147(2):129-152.
130. Chadburn A, Chen JM, Hsu DT, Frizzera G, Cesarman E, Garrett TJ, Mears JG, Zangwill SD, Addonizio LJ, Michler RE, Knowles DM. The morphologic and molecular genetic categories of posttransplantation lymphoproliferative disorders are clinically relevant. *Cancer*. 1998 May 15;82(10):1978-87.
131. Pina-Oviedo S, Miranda RN, Medeiros LJ. Cancer Therapy-associated Lymphoproliferative Disorders: An Under-recognized Type of Immunodeficiency-associated Lymphoproliferative Disorder. *Am J Surg Pathol*. 2018 Jan;42(1):116-129.
132. Knowles DM, Cesarman E, Chadburn A, Frizzera G, Chen J, Rose EA, Michler RE. Correlative morphologic and molecular genetic analysis demonstrates three distinct categories of posttransplantation lymphoproliferative disorders. *Blood*. 1995 Jan 15;85(2):552-65.
133. Capello D, Rossi D, Gaidano G. Post-transplant lymphoproliferative disorders: molecular basis of disease histogenesis and pathogenesis. *Hematol Oncol*. 2005 Jun;23(2):61-7.
134. Kurita D, Miyoshi Buxton J, Leen C, Goodlad JR. Polymorphic lymphoid proliferations occurring in HIV-positive patients: report of a case responding to HAART. *Virchows Arch*. 2012 Jul;461(1):93-8.
135. Nador RG, Chadburn A, Gundappa G, Cesarman E, Said JW, Knowles DM. Human immunodeficiency virus (HIV)-associated polymorphic lymphoproliferative disorders. *Am J Surg Pathol*. 2003 Mar;27(3):293-302.

136. Münz C. Latency and lytic replication in Epstein-Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2019 Nov;17(11):691-700. doi: 10.1038/s41579-019-0249-7..
137. Poirel HA, Bernheim A, Schneider A, Meddeb M, Choquet S, Leblond V, Charlotte F, Davi F, Canioni D, Macintyre E, Mamzer-Bruneel MF, Hirsch I, Hermine O, Martin A, Cornillet-Lefebvre P, Patey M, Toupance O, Kémény JL, Deteix P, Raphaël M. Characteristic pattern of chromosomal imbalances in posttransplantation lymphoproliferative disorders: correlation with histopathological subcategories and EBV status. *Transplantation.* 2005 Jul 27;80(2):176-84.
138. Wolfe F, Michaud K. The effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy on the risk of lymphoma in rheumatoid arthritis in 19,562 patients during 89,710 person-years of observation. *Arthritis Rheum.* 2007 May;56(5):1433-9.
139. Vakiani E, Nandula SV, Subramaniam S, Keller CE, Alobeid B, Murty VV, Bhagat G. Cytogenetic analysis of B-cell posttransplant lymphoproliferations validates the World Health Organization classification and suggests inclusion of florid follicular hyperplasia as a precursor lesion. *Hum Pathol.* 2007 Feb;38(2):315-25.
140. Chadburn A, Cesarman E, Liu YF, Addonizio L, Hsu D, Michler RE, Knowles DM. Molecular genetic analysis demonstrates that multiple posttransplantation lymphoproliferative disorders occurring in one anatomic site in a single patient represent distinct primary lymphoid neoplasms. *Cancer.* 1995 Jun 1;75(11):2747-56.
141. Ichikawa A, Arakawa F, Kiyasu J, Sato K, Miyoshi H, Niino D, Kimura Y, Takeuchi M, Yoshida M, Ishibashi Y, Nakashima S, Sugita Y, Miura O, Ohshima K. Methotrexate/iatrogenic lymphoproliferative disorders in rheumatoid arthritis: histology, Epstein-Barr virus, and clonality are important predictors of disease progression and regression. *Eur J Haematol.* 2013 Jul;91(1):20-8
142. Swerdlow SH, Weber SA, Chadburn A, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorders. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. ,eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.* 4th ed Lyon, France: IARC; 2008:343-349.
143. Aguilera N, Auerbach A. Epstein-Barr Virus (EBV) associated reactive and indeterminate lymphoid proliferations in the lymph node. *Seminars in Diagnostic Pathology.* 2018;35(1):54-60. doi:10.1053/j.semmp.2017.11.005
144. Carbone A, Gloghini A, Dotti G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment. *Oncologist.* 2008 May;13(5):577-85. doi: 10.1634/theoncologist.2008-0036. PMID: 18515742.
145. Arai A. Advances in the Study of Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection: Clinical Features Under the 2016 WHO Classification and Mechanisms of Development. *Front Pediatr.* 2019 Feb 5;7:14.
146. Bourbon E, Maucort-Boulch D, Fontaine J, Mauduit C, Sesques P, Safar V, Ferrant E, Golfier C, Ghergus D, Karlin L, Lazareth A, Bouafia F, Pica GM, Orsini-Piocelle F, Rocher C, Gros FX, Parrens M, Dony A, Rossi C, Ghesquières H, Bachy E, Traverse-Glehen A, Sarkozy C. Clinicopathological features and survival in EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma not otherwise specified. *Blood Adv.* 2021 Aug 24;5(16):3227-3239.
147. Gebauer N, Künstner A, Ketzler J, Witte HM, Rausch T, Benes V, Zimmermann J, Gebauer J, Merz H, Bernard V, Harder L, Ratjen K, Gesk S, Peter W, Busch Y, Trojok P, von Bubnoff N, Biersack H, Busch H, Feller AC. Genomic insights into the pathogenesis of Epstein-Barr virus-associated diffuse large B-cell lymphoma by whole-genome and targeted amplicon sequencing. *Blood Cancer J.* 2021 May 26;11(5):102.
148. Vermaat JS, Somers SF, de Wreede LC, Kraan W, de Groen RAL, Schrader AMR, Kerver ED, Scheepstra CG, Berenschot H, Deenik W, Wegman J, Broers R, de Boer JD, Nijland M, van Wezel T, Veelken H, Spaargaren M, Cleven AH, Kersten MJ, Pals

ST. *MYD88* mutations identify a molecular subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with an unfavorable prognosis. *Haematologica*. 2020 Jan 31;105(2):424-434.

149. Zhou Y, Xu Z, Lin W, Duan Y, Lu C, Liu W, Su W, Yan Y, Liu H, Liu L, Zhong M, Zhou J, Zhu H. Comprehensive Genomic Profiling of EBV-Positive Diffuse Large B-cell Lymphoma and the Expression and Clinicopathological Correlations of Some Related Genes. *Front Oncol*. 2019 Jul 25;9:683.

150. Montes-Moreno S, Odqvist L, Diaz-Perez JA, Lopez AB, de Villambrosía SG, Mazorra F, Castillo ME, Lopez M, Pajares R, García JF, Mollejo M, Camacho FI, Ruiz-Marcellán C, Adrados M, Ortiz N, Franco R, Ortiz-Hidalgo C, Suarez-Gauthier A, Young KH, Piris MA. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly is an aggressive post-germinal center B-cell neoplasm characterized by prominent nuclear factor- $\kappa$ B activation. *Mod Pathol*. 2012 Jul;25(7):968-82.

151. Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P, O'Donnell E, Neuberg D, Shipp MA. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy. *Clin Cancer Res*. 2012 Mar 15;18(6):1611-8.

152. Kataoka K, Miyoshi H, Sakata S, Dobashi A, Couronné L, Kogure Y, Sato Y, Nishida K, Gion Y, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Watatani Y, Kakiuchi N, Shiozawa Y, Yoshizato T, Yoshida K, Makishima H, Sanada M, Onozawa M, Teshima T, Yoshiki Y, Ishida T, Suzuki K, Shimada K, Tomita A, Kato M, Ota Y, Izutsu K, Demachi-Okamura A, Akatsuka Y, Miyano S, Yoshino T, Gaulard P, Hermine O, Takeuchi K, Ohshima K, Ogawa S. Frequent structural variations involving programmed death ligands in Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Leukemia*. 2019 Jul;33(7):1687-1699.

153. Takahara T, Satou A, Ishikawa E, Kohno K, Kato S, Suzuki Y, Takahashi E, Ohashi A, Asano N, Tsuzuki T, Nakamura S. Clinicopathological analysis of neoplastic PD-L1-positive EBV<sup>+</sup> diffuse large B cell lymphoma, not otherwise specified, in a Japanese cohort. *Virchows Arch*. 2021 Mar;478(3):541-552.

154. Nicolae A, Pittaluga S, Abdullah S, Steinberg SM, Pham TA, Davies-Hill T, Xi L, Raffeld M, Jaffe ES. EBV-positive large B-cell lymphomas in young patients: a nodal lymphoma with evidence for a tolerogenic immune environment. *Blood*. 2015 Aug 13;126(7):863-72.

155. Oyama T, Yamamoto K, Asano N, Oshiro A, Suzuki R, Kagami Y, Morishima Y, Takeuchi K, Izumo T, Mori S, Ohshima K, Suzumiya J, Nakamura N, Abe M, Ichimura K, Sato Y, Yoshino T, Naoe T, Shimoyama Y, Kamiya Y, Kinoshita T, Nakamura S. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients. *Clin Cancer Res*. 2007 Sep 1;13(17):5124-32.

156. Asano N, Yamamoto K, Tamaru J, Oyama T, Ishida F, Ohshima K, Yoshino T, Nakamura N, Mori S, Yoshie O, Shimoyama Y, Morishima Y, Kinoshita T, Nakamura S. Age-related Epstein-Barr virus (EBV)-associated B-cell lymphoproliferative disorders: comparison with EBV-positive classic Hodgkin lymphoma in elderly patients. *Blood*. 2009 Mar 19;113(12):2629-36.

157. Dojcinov SD, Venkataraman G, Pittaluga S, Wlodarska I, Schrager JA, Raffeld M, Hills RK, Jaffe ES. Age-related EBV-associated lymphoproliferative disorders in the Western population: a spectrum of reactive lymphoid hyperplasia and lymphoma. *Blood*. 2011 May 5;117(18):4726-35.

158. Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, Sun HH, Roemer MG, Xu ML, Yu H, Fletcher CD, Freeman GJ, Shipp MA, Rodig SJ. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. *Clin Cancer Res*. 2013 Jul 1;19(13):3462-73. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0855.

159. Campo E, Jaffe ES, Cook JR, Quintanilla-Martinez L, Swerdlow SH, Anderson KC, Brousset P, Cerroni L, de Leval L, Dirnhofer S, Dogan A, Feldman AL, Fend F, Friedberg JW, Gaulard P, Ghia P, Horwitz SM, King RL, Salles G, San-Miguel J, Seymour JF, Treon SP, Vose JM, Zucca E, Advani R, Ansell S, Au WY, Barrionuevo C, Bergsagel L, Chan WC, Cohen JI, d'Amore F, Davies A, Falini B, Ghobrial IM, Goodlad JR, Gribben JG, Hsi ED, Kahl BS, Kim WS, Kumar S, LaCasce AS, Laurent C, Lenz G, Leonard JP, Link MP, Lopez-Guillermo A, Mateos MV, Macintyre E, Melnick AM, Morschhauser F, Nakamura S, Narbaitz M, Pavlovsky A, Pileri SA, Piris M, Pro B, Rajkumar V, Rosen ST, Sander B, Sehn L, Shipp MA, Smith SM, Staudt LM, Thieblemont C, Tousseyn T, Wilson WH, Yoshino T, Zinzani PL, Dreyling M, Scott DW, Winter JN, Zelenetz AD. The International Consensus Classification of Mature Lymphoid Neoplasms: a report from the Clinical Advisory Committee. *Blood*. 2022 Sep 15;140(11):1229-1253
160. Park S, Lee J, Ko YH, et al. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2007;110(3):972-978.
161. Stuhlmann-Laeisz C, Borchert A, Quintanilla-Martinez L, et al. In Europe expression of EBNA2 is associated with poor survival in EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(1):39-44.
162. Yu Y, Dong X, Tu M, Wang H. Primary mediastinal large B cell lymphoma. *Thorac Cancer*. 2021 Nov;12(21):2831-2837.
163. Liu PP, Wang KF, Xia Y, Bi XW, Sun P, Wang Y, Li ZM, Jiang WQ. Racial patterns of patients with primary mediastinal large B-cell lymphoma: SEER analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Jul;95(27):e4054.
164. Feuerhake F, Kutok JL, Monti S, Chen W, LaCasce AS, Cattoretti G, Kurtin P, Pinkus GS, de Leval L, Harris NL, Savage KJ, Neuberg D, Habermann TM, Dalla-Favera R, Golub TR, Aster JC, Shipp MA. NFkappaB activity, function, and target-gene signatures in primary mediastinal large B-cell lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma subtypes. *Blood*. 2005 Aug 15;106(4):1392-9.
165. C, Boulland ML, Le Gouvello S, Gaulard P, Leroy K, Castellano F. Constitutive STAT6 activation in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2004 Jul 15;104(2):543-9.
166. Mottok A, Woolcock B, Chan FC, Tong KM, Chong L, Farinha P, Telenius A, Chavez E, Ramchandani S, Drake M, Boyle M, Ben-Neriah S, Scott DW, Rimsza LM, Siebert R, Gascoyne RD, Steidl C. Genomic Alterations in CIITA Are Frequent in Primary Mediastinal Large B Cell Lymphoma and Are Associated with Diminished MHC Class II Expression. *Cell Rep*. 2015 Nov 17;13(7):1418-1431.
167. Mottok A, Hung SS, Chavez EA, Woolcock B, Telenius A, Chong LC, Meissner B, Nakamura H, Rushton C, Viganò E, Sarkozy C, Gascoyne RD, Connors JM, Ben-Neriah S, Mungall A, Marra MA, Siebert R, Scott DW, Savage KJ, Steidl C. Integrative genomic analysis identifies key pathogenic mechanisms in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2019 Sep 5;134(10):802-813.
168. Weniger MA, Gesk S, Ehrlich S, Martin-Subero JI, Dyer MJ, Siebert R, Möller P, Barth TF. Gains of REL in primary mediastinal B-cell lymphoma coincide with nuclear accumulation of REL protein. *Genes Chromosomes Cancer*. 2007 Apr;46(4):406-15.
169. Mareschal S, Dubois S, Viailly PJ, Bertrand P, Bohers E, Maingonnat C, Jaïs JP, Tesson B, Ruminy P, Peyrouze P, Copie-Bergman C, Fest T, Jo Molina T, Haïoun C, Salles G, Tilly H, Lécroq T, Leroy K, Jardin F. Whole exome sequencing of relapsed/refractory patients expands the repertoire of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2016 Mar;55(3):251-67.
170. Twa DD, Chan FC, Ben-Neriah S, Woolcock BW, Mottok A, Tan KL, Slack GW, Gunawardana J, Lim RS, McPherson AW, Kridel R, Telenius A, Scott DW, Savage KJ, Shah

- SP, Gascoyne RD, Steidl C. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2014 Mar 27;123(13):2062-5.
171. Popov SW, Moldenhauer G, Wotschke B, Brüderlein S, Barth TF, Dorsch K, Ritz O, Möller P, Leithäuser F. Target sequence accessibility limits activation-induced cytidine deaminase activity in primary mediastinal B-cell lymphoma. *Cancer Res*. 2007 Jul 15;67(14):6555-64.
172. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Wienand K, Kamburov A, Griffin GK, Chen PH, Lako A, Redd RA, Cote CM, Ducar MD, Thorner AR, Rodig SJ, Getz G, Shipp MA. Genomic analyses of PMBL reveal new drivers and mechanisms of sensitivity to PD-1 blockade. *Blood*. 2019 Dec 26;134(26):2369-2382.
173. Leithäuser F, Bäuerle M, Huynh MQ, Möller P. Isotype-switched immunoglobulin genes with a high load of somatic hypermutation and lack of ongoing mutational activity are prevalent in mediastinal B-cell lymphoma. *Blood*. 2001 Nov 1;98(9):2762-70.
174. Rigaud G, Moore PS, Taruscio D, Scardoni M, Montresor M, Menestrina F, Scarpa A. Alteration of chromosome arm 6p is characteristic of primary mediastinal B-cell lymphoma, as identified by genome-wide allelotyping. *Genes Chromosomes Cancer*. 2001 Jun;31(2):191-5. doi: 10.1002/gcc.1133. PMID: 11319807.
175. Roberts RA, Wright G, Rosenwald AR, Jaramillo MA, Grogan TM, Miller TP, Frutiger Y, Chan WC, Gascoyne RD, Ott G, Muller-Hermelink HK, Staudt LM, Rimsza LM. Loss of major histocompatibility class II gene and protein expression in primary mediastinal large B-cell lymphoma is highly coordinated and related to poor patient survival. *Blood*. 2006 Jul 1;108(1):311-8.
176. Yousem SA, Weiss LM, Warnke RA. Primary mediastinal non-Hodgkin's lymphomas: a morphologic and immunologic study of 19 cases. *Am J Clin Pathol*. 1985 Jun;83(6):676-80.
177. Möller P, Lämmle B, Herrmann B, Otto HF, Moldenhauer G, Momburg F. The primary mediastinal clear cell lymphoma of B-cell type has variable defects in MHC antigen expression. *Immunology*. 1986 Nov;59(3):411-7.
178. Paulli M, Sträter J, Gianelli U, Rousset MT, Gambacorta M, Orlandi E, Klersy C, Lavabre-Bertrand T, Morra E, Manegold C, Lazzarino M, Magrini U, Möller P. Mediastinal B-cell lymphoma: a study of its histomorphologic spectrum based on 109 cases. *Hum Pathol*. 1999 Feb;30(2):178-87.
179. Kanavaros P, Gaulard P, Charlotte F, Martin N, Ducos C, Lebezu M, Mason DY. Discordant expression of immunoglobulin and its associated molecule mb-1/CD79a is frequently found in mediastinal large B cell lymphomas. *Am J Pathol*. 1995 Mar;146(3):735-41
180. Pileri SA, Gaidano G, Zinzani PL, Falini B, Gaulard P, Zucca E, Pieri F, Berra E, Sabbatini E, Ascani S, Piccioli M, Johnson PW, Giardini R, Pescarmona E, Novero D, Piccaluga PP, Marafioti T, Alonso MA, Cavalli F. Primary mediastinal B-cell lymphoma: high frequency of BCL-6 mutations and consistent expression of the transcription factors OCT-2, BOB.1, and PU.1 in the absence of immunoglobulins. *Am J Pathol*. 2003 Jan;162(1):243-53.
181. Higgins JP, Warnke RA. CD30 expression is common in mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1999 Aug;112(2):241-7.
182. de Leval L, Ferry JA, Falini B, Shipp M, Harris NL. Expression of bcl-6 and CD10 in primary mediastinal large B-cell lymphoma: evidence for derivation from germinal center B cells? *Am J Surg Pathol*. 2001 Oct;25(10):1277-82.
183. Calaminici M, Piper K, Lee AM, Norton AJ. CD23 expression in mediastinal large B-cell lymphomas. *Histopathology*. 2004 Dec;45(6):619-24.
184. Bledsoe JR, Redd RA, Hasserrjian RP, Soumerai JD, Nishino HT, Boyer DF, Ferry JA, Zukerberg LR, Harris NL, Abramson JS, Sohani AR. The immunophenotypic spectrum of

primary mediastinal large B-cell lymphoma reveals prognostic biomarkers associated with outcome. *Am J Hematol*. 2016 Oct;91(10):E436-41.

185. Copie-Bergman C, Gaulard P, Maouche-Chrétien L, Brière J, Haioun C, Alonso MA, Roméo PH, Leroy K. The MAL gene is expressed in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 1999 Nov 15;94(10):3567-75.

186. Dorfman DM, Shahsafaei A, Alonso MA. Utility of CD200 immunostaining in the diagnosis of primary mediastinal large B cell lymphoma: comparison with MAL, CD23, and other markers. *Mod Pathol*. 2012 Dec;25(12):1637-43.

187. Shi M, Roemer MG, Chapuy B, Liao X, Sun H, Pinkus GS, Shipp MA, Freeman GJ, Rodig SJ. 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 Dec;38(12):1715-23.

188. Gentry M, Bodo J, Durkin L, Hsi ED. Performance of a Commercially Available MAL Antibody in the Diagnosis of Primary Mediastinal Large B-Cell Lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2017 Feb;41(2):189-194.

189. Rodig SJ, Savage KJ, LaCasce AS, Weng AP, Harris NL, Shipp MA, Hsi ED, Gascoyne RD, Kutok JL. 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 Jan;31(1):106-12.

190. Kondratiev S, Duraisamy S, Unitt CL, Green MR, Pinkus GS, Shipp MA, Kutok JL, Drapkin RI, Rodig SJ. Aberrant expression of the dendritic cell marker TNFAIP2 by the malignant cells of Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma distinguishes these tumor types from morphologically and phenotypically similar lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2011 Oct;35(10):1531-9.

191. Möller P, Moldenhauer G, Momburg F, Lämmler B, Eberlein-Gonska M, Kiesel S, Dörken B. Mediastinal lymphoma of clear cell type is a tumor corresponding to terminal steps of B cell differentiation. *Blood*. 1987 Apr;69(4):1087-95.

192. Bledsoe JR, Redd RA, Hasserjian RP, Soumerai JD, Nishino HT, Boyer DF, Ferry JA, Zukerberg LR, Harris NL, Abramson JS, Sohani AR. The immunophenotypic spectrum of primary mediastinal large B-cell lymphoma reveals prognostic biomarkers associated with outcome. *J Immunol*. 2021 Sep 1;207(5):1298-1309.

193. Nguyen LN, Ha CS, Hess M, Romaguera JE, Manning JT, Cabanillas F, Cox JD. The outcome of combined-modality treatments for stage I and II primary large B-cell lymphoma of the mediastinum. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000 Jul 15;47(5):1281-5.

194. Jacobson JO, Aisenberg AC, Lamarre L, Willett CG, Linggood RM, Miketic LM, Harris NL. Mediastinal large cell lymphoma. An uncommon subset of adult lymphoma curable with combined modality therapy. *Cancer*. 1988 Nov 1;62(9):1893-8.

195. Lazzarino M, Orlandi E, Paulli M, Sträter J, Klersy C, Gianelli U, Gargantini L, Rousset MT, Gambacorta M, Marra E, Lavabre-Bertrand T, Magrini U, Manegold C, Bernasconi C, Möller P. Treatment outcome and prognostic factors for primary mediastinal (thymic) B-cell lymphoma: a multicenter study of 106 patients. *J Clin Oncol*. 1997 Apr;15(4):1646-53.

196. Rüdiger T, Jaffe ES, Delsol G, deWolf-Peeters C, Gascoyne RD, Georgii A, Harris NL, Kadin ME, MacLennan KA, Poppema S, Stein H, Weiss LE, Müller-Hermelink HK. Workshop report on Hodgkin's disease and related diseases ('grey zone' lymphoma). *Ann Oncol*. 1998;9 Suppl 5:S31-8.

197. Pilichowska M, Pittaluga S, Ferry JA, Hemminger J, Chang H, Kanakry JA, Sehn LH, Feldman T, Abramson JS, Kritharis A, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Lossos IS, Press OW, Fenske TS, Friedberg JW, Vose JM, Blum KA, Jagadeesh D, Woda B, Gupta GK, Gascoyne RD, Jaffe

- ES, Evens AM. Clinicopathologic consensus study of gray zone lymphoma with features intermediate between DLBCL and classical HL. *Blood Adv.* 2017 Dec 11;1(26):2600-2609.
198. Pittaluga S, Nicolae A, Wright GW, Melani C, Roschewski M, Steinberg S, Huang D, Staudt LM, Jaffe ES, Wilson WH. Gene Expression Profiling of Mediastinal Gray Zone Lymphoma and Its Relationship to Primary Mediastinal B-cell Lymphoma and Classical Hodgkin Lymphoma. *Blood Cancer Discov.* 2020 Sep 1;1(2):155-161.
199. Sarkozy C, Hung SS, Chavez EA, Duns G, Takata K, Chong LC, Aoki T, Jiang A, Miyata-Takata T, Telenius A, Slack GW, Molina TJ, Ben-Neriah S, Farinha P, Dartigues P, Damotte D, Mottok A, Salles GA, Casasnovas RO, Savage KJ, Laurent C, Scott DW, Traverse-Glehen A, Steidl C. Mutational landscape of gray zone lymphoma. *Blood.* 2021 Apr 1;137(13):1765-1776. doi: 10.1182/blood.2020007507. PMID: 32961552.
200. Sarkozy C, Chong L, Takata K, Chavez EA, Miyata-Takata T, Duns G, Telenius A, Boyle M, Slack GW, Laurent C, Farinha P, Molina TJ, Copie-Bergman C, Damotte D, Salles GA, Mottok A, Savage KJ, Scott DW, Traverse-Glehen A, Steidl C. Gene expression profiling of gray zone lymphoma. *Blood Adv.* 2020 Jun 9;4(11):2523-2535.
201. Sarkozy C, Copie-Bergman C, Damotte D, Ben-Neriah S, Burroni B, Cornillon J, Lemal R, Golfier C, Fabiani B, Chassagne-Clément C, Parrens M, Herbaux C, Xerri L, Bossard C, Laurent C, Cheminant M, Cartron G, Cabecadas J, Molina T, Salles G, Steidl C, Ghesquières H, Mottok A, Traverse-Glehen A. Gray-zone Lymphoma Between cHL and Large B-Cell Lymphoma: A Histopathologic Series From the LYSA. *Am J Surg Pathol.* 2019 Mar;43(3):341-351.
202. Wilson WH, Pittaluga S, Nicolae A, Camphausen K, Shovlin M, Steinberg SM, Roschewski M, Staudt LM, Jaffe ES, Dunleavy K. A prospective study of mediastinal gray-zone lymphoma. *Blood.* 2014 Sep 4;124(10):1563-9.
203. Sarkozy C, Molina T, Ghesquières H, Michallet AS, Dupuis J, Damotte D, Morsschauser F, Parrens M, Martin L, Dartigues P, Stamatoullas A, Hirsch P, Fabiani B, Bouabdallah K, da Silva MG, Maerevoet M, Laurent C, Coiffier B, Salles G, Traverse-Glehen A. Mediastinal gray zone lymphoma: clinico-pathological characteristics and outcomes of 99 patients from the Lymphoma Study Association. *Haematologica.* 2017 Jan;102(1):150-159.
204. Tamura T, Yanai H, Savitsky D, Taniguchi T. The IRF family transcription factors in immunity and oncogenesis. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:535-84.
205. Harada H, Fujita T, Miyamoto M, Kimura Y, Maruyama M, Furia A, Miyata T, Taniguchi T. Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes. *Cell.* 1989 Aug 25;58(4):729-39.
206. Ikushima H, Negishi H, Taniguchi T. The IRF family transcription factors at the interface of innate and adaptive immune responses. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2013;78:105-16.
207. Driggers PH, Ennist DL, Gleason SL, Mak WH, Marks MS, Levi BZ, Flanagan JR, Appella E, Ozato K. An interferon gamma-regulated protein that binds the interferon-inducible enhancer element of major histocompatibility complex class I genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990 May;87(10):3743-7.
208. Taylor P, Tamura T, Morse HC 3rd, Ozato K. The BXH2 mutation in IRF8 differentially impairs dendritic cell subset development in the mouse. *Blood.* 2008 Feb 15;111(4):1942-5.
209. Sichien D, Scott CL, Martens L, Vanderkerken M, Van Gassen S, Plantinga M, Joeris T, De Prijck S, Vanhoutte L, Vanheerswynghels M, Van Isterdael G, Toussaint W, Madeira FB, Vergote K, Agace WW, Clausen BE, Hammad H, Dalod M, Saey Y, Lambrecht BN, Guilliams M. IRF8 Transcription Factor Controls Survival and Function of Terminally Differentiated Conventional and Plasmacytoid Dendritic Cells, Respectively. *Immunity.* 2016 Sep 20;45(3):626-640.

210. Schönheit J, Kuhl C, Gebhardt ML, Klett FF, Riemke P, Scheller M, Huang G, Naumann R, Leutz A, Stocking C, Priller J, Andrade-Navarro MA, Rosenbauer F. PU.1 level-directed chromatin structure remodeling at the *Irf8* gene drives dendritic cell commitment. *Cell Rep*. 2013 May 30;3(5):1617-28.
211. Kurotaki D, Kawase W, Sasaki H, Nakabayashi J, Nishiyama A, Morse HC 3rd, Ozato K, Suzuki Y, Tamura T. Epigenetic control of early dendritic cell lineage specification by the transcription factor IRF8 in mice. *Blood*. 2019 Apr 25;133(17):1803-1813.
212. Tamura T, Nagamura-Inoue T, Shmeltzer Z, Kuwata T, Ozato K. ICSBP directs bipotential myeloid progenitor cells to differentiate into mature macrophages. *Immunity*. 2000 Aug;13(2):155-65.
213. Li L, Jin H, Xu J, Shi Y, Wen Z. *Irf8* regulates macrophage versus neutrophil fate during zebrafish primitive myelopoiesis. *Blood*. 2011 Jan 27;117(4):1359-69.
214. Gao X, Ge J, Zhou W, Xu L, Geng D. IL-10 inhibits osteoclast differentiation and osteolysis through MEG3/IRF8 pathway. *Cell Signal*. 2022 Jul;95:110353.
215. Scharton-Kersten T, Contursi C, Masumi A, Sher A, Ozato K. Interferon consensus sequence binding protein-deficient mice display impaired resistance to intracellular infection due to a primary defect in interleukin 12 p40 induction. *J Exp Med*. 1997 Nov 3;186(9):1523-34.
216. Gupta M, Shin DM, Ramakrishna L, Goussetis DJ, Plataniias LC, Xiong H, Morse HC 3rd, Ozato K. IRF8 directs stress-induced autophagy in macrophages and promotes clearance of *Listeria monocytogenes*. *Nat Commun*. 2015 Mar 16;6:6379.
217. Moorman HR, Reategui Y, Poschel DB, Liu K. IRF8: Mechanism of Action and Health Implications. *Cells*. 2022 Aug 24;11(17):2630.
218. Kurotaki D, Yamamoto M, Nishiyama A, Uno K, Ban T, Ichino M, Sasaki H, Matsunaga S, Yoshinari M, Ryo A, Nakazawa M, Ozato K, Tamura T. IRF8 inhibits C/EBP $\alpha$  activity to restrain mononuclear phagocyte progenitors from differentiating into neutrophils. *Nat Commun*. 2014 Sep 19;5:4978.
219. Dimberg A, Kårehed K, Nilsson K, Oberg F. Inhibition of monocytic differentiation by phosphorylation-deficient Stat1 is associated with impaired expression of Stat2, ICSBP/IRF8 and C/EBP $\epsilon$ . *Scand J Immunol*. 2006 Sep;64(3):271-9.
220. Zhao Y, Shen X, Na N, Chu Z, Su H, Chao S, Shi L, Xu Y, Zhang L, Shi B, Zhao Y. mTOR masters monocyte development in bone marrow by decreasing the inhibition of STAT5 on IRF8. *Blood*. 2018 Apr 5;131(14):1587-1599.
221. Watanabe T, Hotta C, Koizumi S, Miyashita K, Nakabayashi J, Kurotaki D, Sato GR, Yamamoto M, Nakazawa M, Fujita H, Sakai R, Fujisawa S, Nishiyama A, Ikezawa Z, Aihara M, Ishigatsubo Y, Tamura T. The transcription factor IRF8 counteracts BCR-ABL to rescue dendritic cell development in chronic myelogenous leukemia. *Cancer Res*. 2013 Nov 15;73(22):6642-53.
222. Clément M, Haddad Y, Raffort J, Lareyre F, Newland SA, Master L, Harrison J, Ozsvar-Kozma M, Bruneval P, Binder CJ, Taleb S, Mallat Z. Deletion of IRF8 (Interferon Regulatory Factor 8)-Dependent Dendritic Cells Abrogates Proatherogenic Adaptive Immunity. *Circ Res*. 2018 Mar 16;122(6):813-820.
223. Meyer MA, Baer JM, Knolhoff BL, Nywening TM, Panni RZ, Su X, Weilbaecher KN, Hawkins WG, Ma C, Fields RC, Linehan DC, Challen GA, Faccio R, Aft RL, DeNardo DG. Breast and pancreatic cancer interrupt IRF8-dependent dendritic cell development to overcome immune surveillance. *Nat Commun*. 2018 Mar 28;9(1):1250.
224. Hambleton S, Salem S, Bustamante J, Bigley V, Boisson-Dupuis S, Azevedo J, Fortin A, Haniffa M, Ceron-Gutierrez L, Bacon CM, Menon G, Trouillet C, McDonald D, Carey P, Ginhoux F, Alsina L, Zumwalt TJ, Kong XF, Kumararatne D, Butler K, Hubeau M, Feinberg

- J, Al-Muhsen S, Cant A, Abel L, Chaussabel D, Doffinger R, Talesnik E, Grumach A, Duarte A, Abarca K, Moraes-Vasconcelos D, Burk D, Berghuis A, Geissmann F, Collin M, Casanova JL, Gros P. IRF8 mutations and human dendritic-cell immunodeficiency. *N Engl J Med*. 2011 Jul 14;365(2):127-38.
225. Ma T, Renz BW, Ilmer M, Koch D, Yang Y, Werner J, Bazhin AV. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Solid Tumors. *Cells*. 2022 Jan 17;11(2):310.
226. Condamine T, Mastio J, Gabrilovich DI. Transcriptional regulation of myeloid-derived suppressor cells. *J Leukoc Biol*. 2015 Dec;98(6):913-22.
227. Waight JD, Netherby C, Hensen ML, Miller A, Hu Q, Liu S, Bogner PN, Farren MR, Lee KP, Liu K, Abrams SI. Myeloid-derived suppressor cell development is regulated by a STAT/IRF-8 axis. *J Clin Invest*. 2013 Oct;123(10):4464-78.
228. Ibrahim ML, Klement JD, Lu C, Redd PS, Xiao W, Yang D, Browning DD, Savage NM, Buckhaults PJ, Morse HC 3rd, Liu K. Myeloid-Derived Suppressor Cells Produce IL-10 to Elicit DNMT3b-Dependent IRF8 Silencing to Promote Colitis-Associated Colon Tumorigenesis. *Cell Rep*. 2018 Dec 11;25(11):3036-3046.e6.
229. Hu X, Bardhan K, Paschall AV, Yang D, Waller JL, Park MA, Nayak-Kapoor A, Samuel TA, Abrams SI, Liu K. Deregulation of apoptotic factors Bcl-xL and Bax confers apoptotic resistance to myeloid-derived suppressor cells and contributes to their persistence in cancer. *J Biol Chem*. 2013 Jun 28;288(26):19103-15.
230. Nelson N, Kanno Y, Hong C, Contursi C, Fujita T, Fowlkes BJ, O'Connell E, Hu-Li J, Paul WE, Jankovic D, Sher AF, Coligan JE, Thornton A, Appella E, Yang Y, Ozato K. Expression of IFN regulatory factor family proteins in lymphocytes. Induction of Stat-1 and IFN consensus sequence binding protein expression by T cell activation. *J Immunol*. 1996 May 15;156(10):3711-20.
231. Carotta S, Willis SN, Hasbold J, Inouye M, Pang SH, Emslie D, Light A, Chopin M, Shi W, Wang H, Morse HC 3rd, Tarlinton DM, Corcoran LM, Hodgkin PD, Nutt SL. The transcription factors IRF8 and PU.1 negatively regulate plasma cell differentiation. *J Exp Med*. 2014 Oct 20;211(11):2169-81.
232. Zhong W, Xu X, Zhu Z, Du Q, Du H, Yang L, Ling Y, Xiong H, Li Q. Increased expression of IRF8 in tumor cells inhibits the generation of Th17 cells and predicts unfavorable survival of diffuse large B cell lymphoma patients. *Oncotarget*. 2017 Jul 25;8(30):49757-49772. doi: 10.18632/oncotarget.17693. PMID: 28537908; PMCID: PMC5564805
233. Newman DM, Leung PS, Putoczki TL, Nutt SL, Cretney E. Th17 cell differentiation proceeds independently of IRF8. *Immunol Cell Biol*. 2016 Sep;94(8):796-801.
234. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, Cua DJ, Littman DR. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell*. 2006 Sep 22;126(6):1121-33.
235. Lehtonen A, Lund R, Lahesmaa R, Julkunen I, Sareneva T, Matikainen S. IFN- $\alpha$  and IL-12 activate IFN regulatory factor 1 (IRF-1), IRF-4, and IRF-8 gene expression in human NK and T cells. *Cytokine*. 2003 Nov 7;24(3):81-90.
236. Végran F, Berger H, Boidot R, Mignot G, Bruchard M, Dosset M, Chalmin F, Rébé C, Dérangère V, Ryffel B, Kato M, Prévost-Blondel A, Ghiringhelli F, Apetoh L. The transcription factor IRF1 dictates the IL-21-dependent anticancer functions of TH9 cells. *Nat Immunol*. 2014 Aug;15(8):758-66.
237. Purwar R, Schlapbach C, Xiao S, Kang HS, Elyaman W, Jiang X, Jetten AM, Khoury SJ, Fuhlbrigge RC, Kuchroo VK, Clark RA, Kupper TS. Robust tumor immunity to melanoma mediated by interleukin-9-producing T cells. *Nat Med*. 2012 Aug;18(8):1248-53.
238. Humblin E, Thibaudin M, Chalmin F, Dérangère V, Limagne E, Richard C, Flavell RA, Chevrier S, Ladoire S, Berger H, Boidot R, Apetoh L, Végran F, Ghiringhelli F. IRF8-

- dependent molecular complexes control the Th9 transcriptional program. *Nat Commun.* 2017 Dec 12;8(1):2085.
239. Sun L, St Leger AJ, Yu CR, He C, Mahdi RM, Chan CC, Wang H, Morse HC 3rd, Egwuagu CE. Interferon Regulator Factor 8 (IRF8) Limits Ocular Pathology during HSV-1 Infection by Restraining the Activation and Expansion of CD8<sup>+</sup> T Cells. *PLoS One.* 2016 May 12;11(5):e0155420.
240. Miyagawa F, Zhang H, Terunuma A, Ozato K, Tagaya Y, Katz SI. Interferon regulatory factor 8 integrates T-cell receptor and cytokine-signaling pathways and drives effector differentiation of CD8 T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Jul 24;109(30):12123-8.
241. Ouyang X, Zhang R, Yang J, Li Q, Qin L, Zhu C, Liu J, Ning H, Shin MS, Gupta M, Qi CF, He JC, Lira SA, Morse HC 3rd, Ozato K, Mayer L, Xiong H. Transcription factor IRF8 directs a silencing programme for TH17 cell differentiation. *Nat Commun.* 2011;2:314.
242. Kim SH, Burton J, Yu CR, Sun L, He C, Wang H, Morse HC 3rd, Egwuagu CE. Dual Function of the IRF8 Transcription Factor in Autoimmune Uveitis: Loss of IRF8 in T Cells Exacerbates Uveitis, Whereas Irf8 Deletion in the Retina Confers Protection. *J Immunol.* 2015 Aug 15;195(4):1480-8.
243. Li D, Zhang Y, Qiu Q, Wang J, Zhao X, Jiao B, Zhang X, Yu S, Xu P, Dan Y, Xiao X, Wang P, Liu M, Xia Z, Huang Z, Zhang R, Li J, Xie X, Zhang Y, Liu C, Liu P, Ren R. IRF8 Impacts Self-Renewal of Hematopoietic Stem Cells by Regulating TLR9 Signaling Pathway of Innate Immune Cells. *Adv Sci (Weinh).* 2021 Oct;8(19):e2101031.
244. Mace EM, Bigley V, Gunesch JT, Chinn IK, Angelo LS, Care MA, Maisuria S, Keller MD, Togi S, Watkin LB, LaRosa DF, Jhangiani SN, Muzny DM, Stray-Pedersen A, Coban Akdemir Z, Smith JB, Hernández-Sanabria M, Le DT, Hogg GD, Cao TN, Freud AG, Szymanski EP, Savic S, Collin M, Cant AJ, Gibbs RA, Holland SM, Caligiuri MA, Ozato K, Paust S, Doody GM, Lupski JR, Orange JS. Biallelic mutations in IRF8 impair human NK cell maturation and function. *J Clin Invest.* 2017 Jan 3;127(1):306-320.
245. Adams NM, Lau CM, Fan X, Rapp M, Geary CD, Weizman OE, Diaz-Salazar C, Sun JC. Transcription Factor IRF8 Orchestrates the Adaptive Natural Killer Cell Response. *Immunity.* 2018 Jun 19;48(6):1172-1182.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2018.04.018.
246. Yang D, Thangaraju M, Greenelch K, Browning DD, Schoenlein PV, Tamura T, Ozato K, Ganapathy V, Abrams SI, Liu K. Repression of IFN regulatory factor 8 by DNA methylation is a molecular determinant of apoptotic resistance and metastatic phenotype in metastatic tumor cells. *Cancer Res.* 2007 Apr 1;67(7):3301-9.
247. Sung JY, Park SY, Kim JH, Kang HG, Yoon JH, Na YS, Kim YN, Park BK. Interferon consensus sequence-binding protein (ICSBP) promotes epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-like phenomena, cell-motility, and invasion via TGF- $\beta$  signaling in U2OS cells. *Cell Death Dis.* 2014 May 15;5(5):e1224.
248. Egwuagu CE, Li W, Yu CR, Che Mei Lin M, Chan CC, Nakamura T, Chepelinsky AB. Interferon-gamma induces regression of epithelial cell carcinoma: critical roles of IRF-1 and ICSBP transcription factors. *Oncogene.* 2006 Jun 22;25(26):3670-9.
249. Liang J, Lu F, Li B, Liu L, Zeng G, Zhou Q, Chen L. IRF8 induces senescence of lung cancer cells to exert its tumor suppressive function. *Cell Cycle.* 2019 Dec;18(23):3300-3312.
250. Yang D, Wang S, Brooks C, Dong Z, Schoenlein PV, Kumar V, Ouyang X, Xiong H, Lahat G, Hayes-Jordan A, Lazar A, Pollock R, Lev D, Liu K. IFN regulatory factor 8 sensitizes soft tissue sarcoma cells to death receptor-initiated apoptosis via repression of FLICE-like protein expression. *Cancer Res.* 2009 Feb 1;69(3):1080-8.
251. Yang D, Thangaraju M, Browning DD, Dong Z, Korchin B, Lev DC, Ganapathy V, Liu K. IFN regulatory factor 8 mediates apoptosis in nonhemopoietic tumor cells via regulation of Fas expression. *J Immunol.* 2007 Oct 1;179(7):4775-82.

252. Mattei F, Schiavoni G, Sestili P, Spadaro F, Fragale A, Sistigu A, Lucarini V, Spada M, Sanchez M, Scala S, Battistini A, Belardelli F, Gabriele L. IRF-8 controls melanoma progression by regulating the cross talk between cancer and immune cells within the tumor microenvironment. *Neoplasia*. 2012 Dec;14(12):1223-35.
253. McQuaid DC, Katz SG, Xu ML. IRF8 as a Novel Marker to Differentiate Between CD30-Positive Large Cell Lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2022 Aug 4;158(2):173-176. doi: 10.1093/ajcp/aqac044. Erratum in: *Am J Clin Pathol*. 2024 Jan 4;161(1):107.
254. Huang H, Zheng Y, Li L, Shi W, Zhang R, Liu H, Chen Z, Wu L. The roles of post-translational modifications and coactivators of STAT6 signaling in tumor growth and progression. *Future Med Chem*. 2020 Nov;12(21):1945-1960
255. Goenka S, Kaplan MH. Transcriptional regulation by STAT6. *Immunol Res*. 2011 May;50(1):87-96.
256. Hebenstreit D, Wirnsberger G, Horejs-Hoeck J, Duschl A. Signaling mechanisms, interaction partners, and target genes of STAT6. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006 Jun;17(3):173-88.
257. Krishnamurthy P, Kaplan MH. STAT6 and PARP Family Members in the Development of T Cell-dependent Allergic Inflammation. *Immune Netw*. 2016 Aug;16(4):201-10.
258. Pignarre A, Chatonnet F, Caron G, Haas M, Desmots F, Fest T. Plasmablasts derive from CD23- activated B cells after the extinction of IL-4/STAT6 signaling and IRF4 induction. *Blood*. 2021 Mar 4;137(9):1166-1180.
259. Daniel B, Czimmerer Z, Halasz L, Boto P, Kolostyak Z, Poliska S, Berger WK, Tzerpos P, Nagy G, Horvath A, Hajas G, Cseh T, Nagy A, Sauer S, Francois-Deleuze J, Szatmari I, Bacsi A, Nagy L. The transcription factor EGR2 is the molecular linchpin connecting STAT6 activation to the late, stable epigenomic program of alternative macrophage polarization. *Genes Dev*. 2020 Nov 1;34(21-22):1474-1492.
260. Zhou C, Lu C, Pu H, Li D, Zhang L. TRAF6 promotes IL-4-induced M2 macrophage activation by stabilizing STAT6. *Mol Immunol*. 2020 Nov;127:223-229. doi: 10.1016/j.molimm.2020.09.001. Epub 2020 Oct 2.
261. Lee S, Shan J, Aldossary H, Gaudreault V, Bazett M, Fixman ED. STAT6 inhibitory peptide reduces dendritic cell migration to the lymph nodes to control Th2 adaptive immunity in the mouse lung. *Eur J Immunol*. 2019 Jan;49(1):157-169.
262. Metwali A, Winckler S, Urban JF Jr, Kaplan MH, Ince MN, Elliott DE. Helminth-induced regulation of T-cell transfer colitis requires intact and regulated T cell Stat6 signaling in mice. *Eur J Immunol*. 2021 Feb;51(2):433-444.
263. Gupta S, Jain A, Syed SN, Snodgrass RG, Pflüger-Müller B, Leisegang MS, Weigert A, Brandes RP, Ebersberger I, Brüne B, Namgaladze D. IL-6 augments IL-4-induced polarization of primary human macrophages through synergy of STAT3, STAT6 and BATF transcription factors. *Oncoimmunology*. 2018 Jul 30;7(10):e1494110.
264. Lee CC, Lin JC, Hwang WL, Kuo YJ, Chen HK, Tai SK, Lin CC, Yang MH. Macrophage-secreted interleukin-35 regulates cancer cell plasticity to facilitate metastatic colonization. *Nat Commun*. 2018 Sep 14;9(1):3763.
265. Rahal OM, Wolfe AR, Mandal PK, Larson R, Tin S, Jimenez C, Zhang D, Horton J, Reuben JM, McMurray JS, Woodward WA. Blocking Interleukin (IL)4- and IL13-Mediated Phosphorylation of STAT6 (Tyr641) Decreases M2 Polarization of Macrophages and Protects Against Macrophage-Mediated Radioresistance of Inflammatory Breast Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018 Mar 15;100(4):1034-1043.
266. Yan D, Wang HW, Bowman RL, Joyce JA. STAT3 and STAT6 Signaling Pathways Synergize to Promote Cathepsin Secretion from Macrophages via IRE1 $\alpha$  Activation. *Cell Rep*. 2016 Sep 13;16(11):2914-2927.

267. Bai Y, Yin K, Su T, Ji F, Zhang S. CTHRC1 in Ovarian Cancer Promotes M2-Like Polarization of Tumor-Associated Macrophages via Regulation of the STAT6 Signaling Pathway. *Onco Targets Ther.* 2020 Jun 17;13:5743-5753.
268. Pangault C, Amé-Thomas P, Ruminy P, Rossille D, Caron G, Baia M, De Vos J, Roussel M, Monvoisin C, Lamy T, Tilly H, Gaulard P, Tarte K, Fest T. Follicular lymphoma cell niche: identification of a preeminent IL-4-dependent T(FH)-B cell axis. *Leukemia.* 2010 Dec;24(12):2080-9.
269. Zhang J, Cao D, Yu S, Chen L, Wei D, Shen C, Zhuang L, Wang Q, Xu X, Tong Y. Amphotericin B suppresses M2 phenotypes and B7-H1 expression in macrophages to prevent Raji cell proliferation. *BMC Cancer.* 2018 Apr 26;18(1):467.
270. Wang L, Yu S, Yin Y, Hao Y. STAT6 correlates with response to immune checkpoint blockade therapy and predicts worse survival in thyroid cancer. *Biomark Med.* 2020 Jul;14(11):955-967.
271. Sulaieva O, Chernenko O, Selesnov O, Nechay O, Maievskiy O, Falalyeyeva T, Kobyljak N, Tsyryuk O, Penchuk Y, Shapochka D. Mechanisms of the Impact of Hashimoto Thyroiditis on Papillary Thyroid Carcinoma Progression: Relationship with the Tumor Immune Microenvironment. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2020 Jun;35(2):443-455.
272. Mendoza-Rodríguez MG, Sánchez-Barrera CÁ, Callejas BE, García-Castillo V, Beristain-Terrazas DL, Delgado-Buenrostro NL, Chirino YI, León-Cabrera SA, Rodríguez-Sosa M, Gutierrez-Cirlos EB, Pérez-Plasencia C, Vaca-Paniagua F, Meraz-Ríos MA, Terrazas LI. Use of STAT6 Phosphorylation Inhibitor and Trimethylglycine as New Adjuvant Therapies for 5-Fluorouracil in Colitis-Associated Tumorigenesis. *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 20;21(6):2130.
273. Chen W, Xu Y, Zhong J, Wang H, Weng M, Cheng Q, Wu Q, Sun Z, Jiang H, Zhu M, Ren Y, Xu P, Chen J, Miao C. MFHAS1 promotes colorectal cancer progress by regulating polarization of tumor-associated macrophages via STAT6 signaling pathway. *Oncotarget.* 2016 Nov 29;7(48):78726-78735.
274. Dey P, Li J, Zhang J, Chaurasiya S, Strom A, Wang H, Liao WT, Cavallaro F, Denz P, Bernard V, Yen EY, Genovese G, Gulhati P, Liu J, Chakravarti D, Deng P, Zhang T, Carbone F, Chang Q, Ying H, Shang X, Spring DJ, Ghosh B, Putluri N, Maitra A, Wang YA, DePinho RA. Oncogenic KRAS-Driven Metabolic Reprogramming in Pancreatic Cancer Cells Utilizes Cytokines from the Tumor Microenvironment. *Cancer Discov.* 2020 Apr;10(4):608-625.
275. Fu C, Jiang L, Hao S, Liu Z, Ding S, Zhang W, Yang X, Li S. Activation of the IL-4/STAT6 Signaling Pathway Promotes Lung Cancer Progression by Increasing M2 Myeloid Cells. *Front Immunol.* 2019 Nov 13;10:2638.
276. Binnemars-Postma K, Bansal R, Storm G, Prakash J. Targeting the Stat6 pathway in tumor-associated macrophages reduces tumor growth and metastatic niche formation in breast cancer. *FASEB J.* 2018 Feb;32(2):969-978. doi: 10.1096/fj.201700629R. Epub 2018 Jan 3. PMID: 29066614.
277. Kim HM, Koo JS. Clinicopathologic Characteristics of Breast Cancer According to the Infiltrating Immune Cell Subtypes. *Int J Mol Sci.* 2020 Jun 22;21(12):4438.
278. Park SJ, Kim H, Kim SH, Joe EH, Jou I. Epigenetic downregulation of STAT6 increases HIF-1 $\alpha$  expression via mTOR/S6K/S6, leading to enhanced hypoxic viability of glioma cells. *Acta Neuropathol Commun.* 2019 Sep 17;7(1):149.
279. Schmitz R, Stanelle J, Hansmann ML, Küppers R. Pathogenesis of classical and lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma. *Annu Rev Pathol.* 2009;4:151-74. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092209. PMID: 19400691.
280. von Hoff L, Kärger E, Franke V, McShane E, Schulz-Beiss KW, Patone G, Schleussner N, Kolesnichenko M, Hübner N, Daumke O, Selbach M, Akalin A, Mathas S, Scheidereit C.

Autocrine LTA signaling drives NF- $\kappa$ B and JAK-STAT activity and myeloid gene expression in Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2019 Mar 28;133(13):1489-1494.

281. Skinnider BF, Elia AJ, Gascoyne RD, Patterson B, Trumper L, Kapp U, Mak TW. Signal transducer and activator of transcription 6 is frequently activated in Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2002 Jan 15;99(2):618-26.

282. Karpathiou G, Ferrand E, Papoudou-Bai A, Camy F, Honeyman F, Dumollard JM, Peoc'h M. STAT6 and phosphorylated STAT6 are differentially expressed in lymphomas. *Pathol Res Pract*. 2022 Jan;229:153697.

283. Satou A, Takahara T, Yamashita D, Seki M, Kato S, Tanioka F, Tsuyuki T, Wada E, Sakurai K, Karube K, Tsuzuki T, Nakamura S. Diagnostic Utility of STAT6 and pSTAT6 Immunohistochemistry for Distinguishing Classic Hodgkin Lymphoma and Peripheral T-Cell Lymphoma With Hodgkin and Reed-Sternberg-like Cells. *Am J Surg Pathol*. 2023 Aug 1;47(8):897-906

284. Yang LQ, Wang L, Zuo LK, Ma ZP, Yan SF, Yang MH, Liu B, Li XX. Expression and prognostic analysis of STAT6(YE361) in Hodgkin lymphoma. *Pathol Res Pract*. 2022 Mar;231:153781.

285. Siddiqi IN, Friedman J, Barry-Holson KQ, Ma C, Thodima V, Kang I, Padmanabhan R, Dias LM, Kelly KR, Brynes RK, Kamalakaran S, Houldsworth J. Characterization of a variant of t(14;18) negative nodal diffuse follicular lymphoma with CD23 expression, 1p36/TNFRSF14 abnormalities, and STAT6 mutations. *Mod Pathol*. 2016 Jun;29(6):570-81.

286. Yildiz M, Li H, Bernard D, Amin NA, Ouillette P, Jones S, Saiya-Cork K, Parkin B, Jacobi K, Shedden K, Wang S, Chang AE, Kaminski MS, Malek SN. Activating STAT6 mutations in follicular lymphoma. *Blood*. 2015 Jan 22;125(4):668-79.

287. Ritz O, Guiter C, Dorsch K, Dusanter-Fourt I, Wegener S, Jouault H, Gaulard P, Castellano F, Möller P, Leroy K. STAT6 activity is regulated by SOCS-1 and modulates BCL-XL expression in primary mediastinal B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2008 Nov;22(11):2106-10.

288. Guiter C, Dusanter-Fourt I, Copie-Bergman C, Boulland ML, Le Gouvello S, Gaulard P, Leroy K, Castellano F. Constitutive STAT6 activation in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2004 Jul 15;104(2):543-9.

289. Geskin LJ, Viragova S, Stolz DB, Fuschiotti P. Interleukin-13 is overexpressed in cutaneous T-cell lymphoma cells and regulates their proliferation. *Blood*. 2015 Apr 30;125(18):2798-805.

290. Gaydosik AM, Queen DS, Trager MH, Akilov OE, Geskin LJ, Fuschiotti P. Genome-wide transcriptome analysis of the STAT6-regulated genes in advanced-stage cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2020 Oct 8;136(15):1748-1759.

291. Mondello P, Cuzzocrea S, Arrigo C, Pitini V, Mian M, Bertoni F. STAT6 activation correlates with cerebrospinal fluid IL-4 and IL-10 and poor prognosis in primary central nervous system lymphoma. *Hematol Oncol*. 2020 Feb;38(1):106-110. doi: 10.1002/hon.2679. Epub 2019 Nov 29. PMID: 31524297.

292. Rubenstein JL, Fridlyand J, Shen A, Aldape K, Ginzinger D, Batchelor T, Treseler P, Berger M, McDermott M, Prados M, Karch J, Okada C, Hyun W, Parikh S, Haqq C, Shuman M. Gene expression and angiotropism in primary CNS lymphoma. *Blood*. 2006 May 1;107(9):3716-23.

293. Vali Betts E, Dwyre DM, Wang HY, Rashidi HH. PAX5-Negative Classical Hodgkin Lymphoma: A Case Report of a Rare Entity and Review of the Literature. *Case Rep Hematol*. 2017;2017:7531729.

294. Arun I, Roy P, Arora N, Bhave SJ, Nair R, Chandy M. PAX-5 Positivity in Anaplastic Lymphoma Kinase-Negative Anaplastic Large Cell Lymphoma: A Case Report and Review of Literature. *Int J Surg Pathol*. 2017 Jun;25(4):333-338.

295. Liang K, Wang J, Wang Y, Zhou Z, Ge S, Mei S, Li H, Jing X, Zhang C. The histologic, immunohistochemical, and genetic features of classical Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma with aberrant T-cell/B-cell antigen expression.
296. Wang H, Lee CH, Qi C, Taylor P, Feng J, Abbasi S, Atsumi T, Morse HC 3rd. IRF8 regulates B-cell lineage specification, commitment, and differentiation. *Blood*. 2008 Nov 15;112(10):4028-38.
297. Lv DW, Zhang K, Li R. Interferon regulatory factor 8 regulates caspase-1 expression to facilitate Epstein-Barr virus reactivation in response to B cell receptor stimulation and chemical induction. *PLoS Pathog*. 2018 Jan 22;14(1):e1006868.
298. Zhang K, Lv DW, Li R. Protein inhibitor of activated STAT1 (PIAS1) inhibits IRF8 activation of Epstein-Barr virus lytic gene expression. *Virology*. 2020 Jan 15;540:75-87. doi: 10.1016/j.virol.2019.11.011.
299. Kis LL, Gerasimcik N, Salamon D, Persson EK, Nagy N, Klein G, Severinson E, Klein E. STAT6 signaling pathway activated by the cytokines IL-4 and IL-13 induces expression of the Epstein-Barr virus-encoded protein LMP-1 in absence of EBNA-2: implications for the type II EBV latent gene expression in Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2011 Jan 6;117(1):165-74.
300. Poritz LS, Zhang WJ, Thompson J, Boyer M, Clark C, Koltun WA. Impaired IL-4 phosphorylation of STAT6 in EBV transformed B-cells. *J Surg Res*. 2010 Aug;162(2):290-8.
301. Nawandar DM, Ohashi M, Djavadian R, Barlow E, Makielski K, Ali A, Lee D, Lambert PF, Johannsen E, Kenney SC. Differentiation-Dependent LMP1 Expression Is Required for Efficient Lytic Epstein-Barr Virus Reactivation in Epithelial Cells. *J Virol*. 2017 Mar 29;91(8):e02438-16.