

NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA EBV LÊN MÔI TRƯỜNG VI THỂ KHỐI U VÀ ĐỘT BIẾN LIÊN QUAN TÍN HIỆU HOẠT HÓA NF- κ B Ở LYMPHOMA HỆ THẦN KINH TRUNG ƯƠNG NGUYÊN PHÁT

Hoàng Thị Mai Thanh^{1,2,4*}, Colm Keane³, Joshua Tobin^{3,4}, Dipti Talaulikar^{5,6}, Sanjiv Jain⁷, Frank Vari⁴, Clare Gould⁴, Santiyagu Francis³, Maher Gandhi^{2,3}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác động của EBV lên môi trường vi thể khối u và mô hình đột biến liên quan đến tín hiệu NF- κ B ở PCNSL. **Phương pháp:** Mẫu mô bệnh học được thu thập từ 39 bệnh nhân PCNSL và 18 EBV+ PCNSL ở bệnh viện Princess Alexandra và Canberra (Úc). Hệ thống đếm phân tử kỹ thuật số NanoString đo mức độ biểu hiện gene của các immune effectors (CD4+, CD8+, CD137, CD56); immune checkpoints (PD-L1, PD-L2, TIM3, LAG3) và Macrophage (CD68 và CD163) để đánh giá TME trên PCNSL. Target Sequencing (Illumina) được thực hiện nhằm phát hiện đột biến liên quan đến các gene tham gia vào tín hiệu NF- κ B. **Kết quả:** EBV+PCNSL thể hiện rõ môi trường ức chế miễn dịch bởi sự tăng cao của PD-L1, PD-L2, TIM3, LAG3 và M2 macrophage (CD163/CD68 ($p < 0.05$)). Điều này khiến các phản ứng miễn dịch ở môi trường có EBV trở nên kém hiệu quả, góp phần thúc đẩy khối u phát triển. 80% bệnh nhân PCNSL xuất hiện đột biến liên quan đến hoạt hóa tín hiệu NF- κ B: MYD88 (64%), CD79A/B (56%), CARD11 (13%) and TBL1XR1 (33%). Trong đó, đột biến gene MYD88 và CD79B/A gây hoạt hóa NF- κ B thường xuất hiện đồng thời. Ngược lại, EBV+PCNSL có tần số xuất hiện đột biến thấp hơn hẳn (22%) ($p < 0.05$) với mô hình đột biến riêng lẻ. **Kết luận:** EBV đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy khối u chủ yếu thông qua việc tạo ra môi trường ức chế miễn dịch hơn tác động đến con đường đột biến.

Từ khóa: EBV+PCNSL, MYD88, CD79A/B, môi trường khối u ức chế miễn dịch

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lymphoma hệ thần kinh trung ương nguyên phát (Primary Central Nervous

System Lymphoma-PCNSL) là một trong những thể bệnh hiếm và rất ác tính của lymphoma non-Hodgkin, thường xảy ra khu trú tại hệ thần kinh trung ương [4]. Tiên lượng sống trên bệnh nhân PCNSL thường rất thấp, đặc biệt là các bệnh nhân có hệ miễn dịch suy yếu với EBV dương tính. Một số mô hình đột biến đặc trưng cho PCNSL đã được tìm thấy như: đột biến điểm dẫn đến việc hoạt hóa tín hiệu NF- κ B (đột biến ở gene MYD88, CD79A/B, CARD11, TBL1XR1, PRDM1 và CREBBP) [10] và sự mất biểu hiện của nhóm gene HLA I và HLA II [3]. Hậu quả của các biến đổi này khiến tế bào ung thư thoát khỏi sự rà soát của hệ miễn dịch và phát triển mạnh [10,11]. Thanh Hoàng và cộng sự (2020) đã chỉ ra PCNSL có sự tăng đáng

¹ Trường Đại Học Y Dược, Huế

² Viện nghiên cứu Mater, Brisbane, Úc

³ Bệnh viện Princess Alexandra, Brisbane, Úc

⁴ Viện Diamantina, Trường Đại học Queensland, Brisbane, Úc

⁵ Khoa huyết học, Bệnh viện Canberra, Úc.

⁶ Trường Đại Học Y, Đại học quốc gia Úc, Canberra, Úc

⁷ Bệnh viện Canberra, Úc

* Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm chính:

Hoàng Thị Mai Thanh

Email: htmthanh@huemed-univ.edu.vn

Ngày tiếp nhận: 20/9/2020

Ngày phản biện: 1/10/2021

Ngày chấp nhận đăng: 25/3/2021

kể của M2 macrophage với sự biểu hiện CD163 cao và CD68 thấp, gây thúc đẩy sự phát triển của khối u và giảm sút tế bào T và NK hoạt hóa hóa (CD137) trên PCNSL hơn so với lymphoma ở ngoại biên. Điều này góp phần thúc đẩy tế bào ung thư trên PCNSL có phần ác tính hơn so với lymphoma ngoại biên [1].

PCNSL có thể xuất hiện ở người có hệ miễn dịch suy yếu như: bệnh nhân cấy ghép tạng hoặc mắc HIV thường kèm theo EBV dương tính. Khác với ở người bình thường, PCNSL ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch có tiên lượng sống xấu hơn nhiều [5]. Do tính hiếm và thiếu mô bệnh học của bệnh lý này, nên cơ chế sinh bệnh học của EBV+ PCNSL còn ít được biết đến. Việc tìm xác định vai trò của EBV lên cơ chế bệnh sinh của PCNSL phần nào giúp giải thích nguyên nhân về sự ác tính của loại ung thư này. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi nhằm vào hai mục tiêu sau:

1) *Đánh giá tác động của EBV lên môi trường vi thể khối u của PCNSL*

2) *Đánh giá ảnh hưởng của EBV lên mô hình đột biến liên quan đến con đường tín hiệu NF- κ B ở PCNSL.*

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Tiêu chuẩn chọn mẫu: Mẫu mô gắn parafin đã cố định formalin (FFPE) được thu thập từ 39 bệnh nhân PCNSL với EBV âm tính và 18 bệnh nhân PCNSL xuất hiện sau cấy ghép tạng với EBV+, từ Bệnh viện Princess Alexandra và Canberra tại Úc. Các mẫu PCNSL chỉ được chọn khi được xác nhận về mô bệnh học là DLBCL khu trú tại hệ thần kinh trung ương và không có dấu hiệu của ung thư ở các hạch ngoại biên.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Các mẫu PCNSL có dấu hiệu ung thư ở các hạch ngoại biên được xác định tại thời điểm chẩn đoán được loại ra khỏi nhóm nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Cắt ngang mô tả

- **Phương pháp nghiên cứu:**

+ RNA/DNA từ các mẫu FFPE được chiết xuất bằng kit Allprep DNA/RNA FFPE (Qiagen). RNA được sử dụng để đo mức độ biểu hiện gene bằng máy NanoString, DNA được sử dụng để xác định đột biến liên quan đến con đường tín hiệu NF- κ B bằng kỹ thuật Next Generation Sequencing (NGS).

+ Hệ thống đếm phân tử kỹ thuật số NanoString phân tích mức độ biểu hiện gene của 2 nhóm tế bào trong môi trường vi thể khối u gồm: nhóm tế bào miễn dịch chống khối u - immune effectors (CD4+, CD8+, CD137, CD56); và nhóm tế bào thúc đẩy sự phát triển của khối u (PD-L1, PD-L2, TIM3 và LAG3), CD68 (M1-đại thực bào) và CD163 (M2-đại thực bào) trên PCNSL.

+ Next Generation Sequencing được thực hiện trên hệ thống Illumina để xác định đột biến của 10 gene tham gia vào con đường tín hiệu NF- κ B: MYD88, CARD11, CD79A, CD79B, TNFAIP3, TBL1XR1, NFKBIE, TMEM30A, HIST1H1C, ITPKB [10]. Kít chuẩn bị thư viện Agilent SureSelectXT được sử dụng để tối ưu hoá giải trình tự đích trên mẫu mô FFPE.

2.3. Phân tích số liệu

- NanoString data được phân tích bằng phần mềm GraphPad Prism 7 và SPSS 17.0. Các chỉ số được so sánh giữa hai nhóm bằng Mann Whitney unpaired t-test.

- NGS: Đột biến điểm được xác định bởi 2 phần mềm: Mutech2 và Lofreq. Chúng tôi chỉ thu thập các đột biến không đồng nghĩa (non-synonymous mutation). Các đột biến được loại nếu (1) có tần số biến thể trên allele dưới 5%, (2) xuất hiện trên ExAC database (<http://exac.broadinstitute.org/>) với tần số dưới 1%, (3) đột biến xuất hiện trên bất kỳ

mẫu nào trên 24 mẫu mô bình thường.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện với sự đồng ý tham gia của bệnh nhân và được sự đồng ý từ hội đồng nghiên cứu y học-Metro South Health, Úc. Các đối tượng tham gia nghiên cứu được giải thích rõ ràng về mục đích và quy trình tiến hành nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

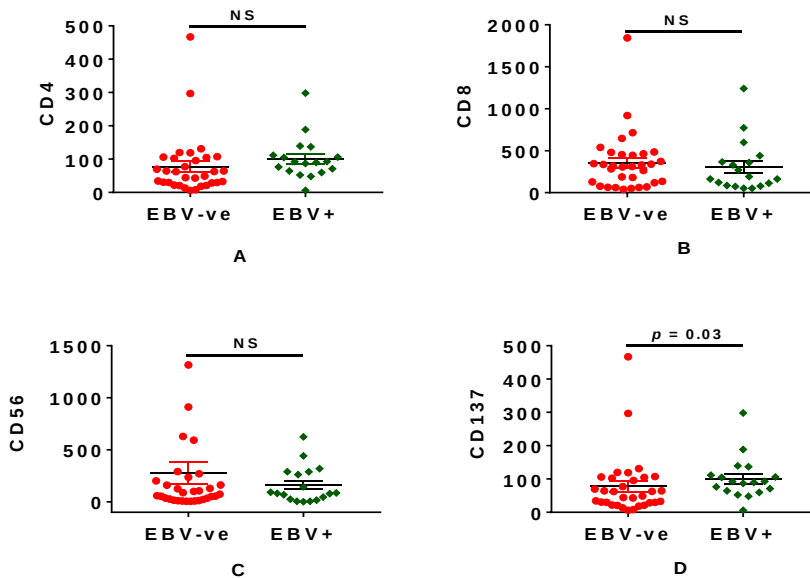
3.1. Tác động của EBV lên thành phần

trong môi trường vi thể khối u của PCNSL

Nhằm đánh giá tác động của EBV lên môi trường vi thể khối u của PCNSL, chúng tôi tiến hành so sánh các immune effector và các immune checkpoint và macrophage trên 39 ca PCNSL và 18 ca EBV+ PCNSL.

* Nhóm tế bào miễn dịch chống khối u

Không có sự khác biệt giữa CD4, CD8 và CD56 giữa hai nhóm bệnh. Nhóm EBV+ PCNSL có CD137 cao hơn so với nhóm EBV âm tính (Biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Mức độ biểu hiện của các immune effector giữa PCNSL và EBV+ PCNSL.

(A): CD4, (B): CD8, (C): CD56 và (D): CD137.

*Mann Witney Unpaired T-Test (2-tailed): Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0.05$; NS: Không có ý nghĩa.

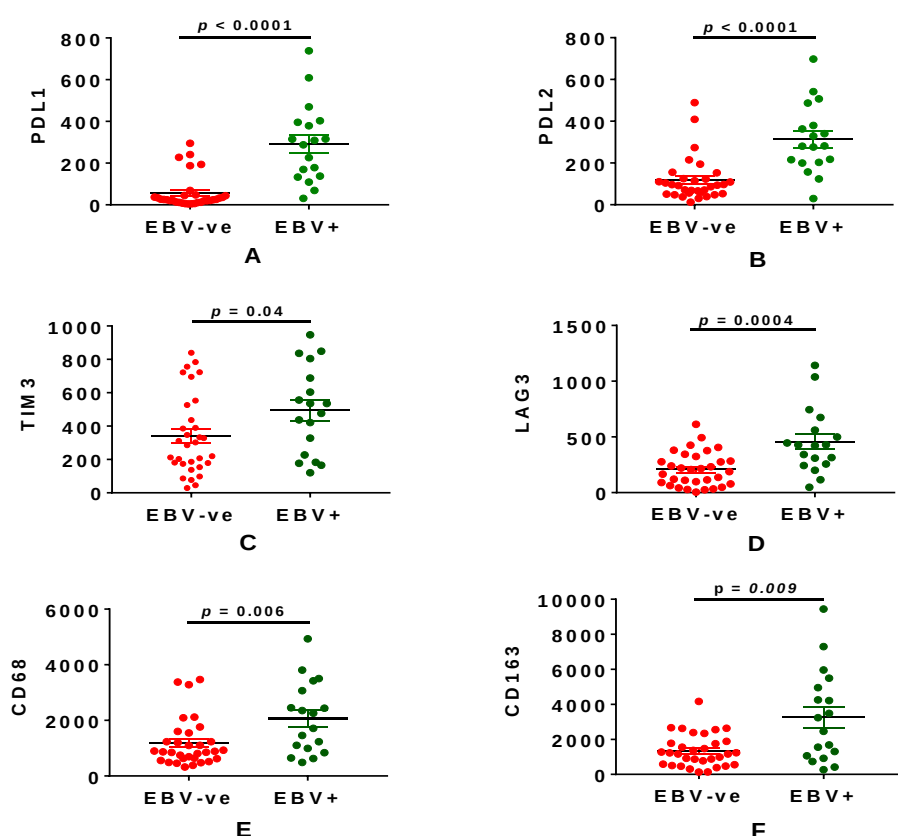
* Nhóm tế bào thúc đẩy khối u

Tất cả các immune checkpoint và macrophage ở EBV+PCNSL đều cao hơn so với nhóm EBV âm tính ($p < 0.05$). Đặc biệt, PD-L1 và PD-L2 lần lượt cao gấp 7,5 và 3 lần ở nhóm EBV+ PCNSL so với EBV-ve PCNSL (Biểu đồ 2).

3.2. Tác động của EBV lên mô hình đột biến liên quan đến con đường tín hiệu NF- κ B của PCNSL

* Mô hình đột biến trên hai nhóm bệnh

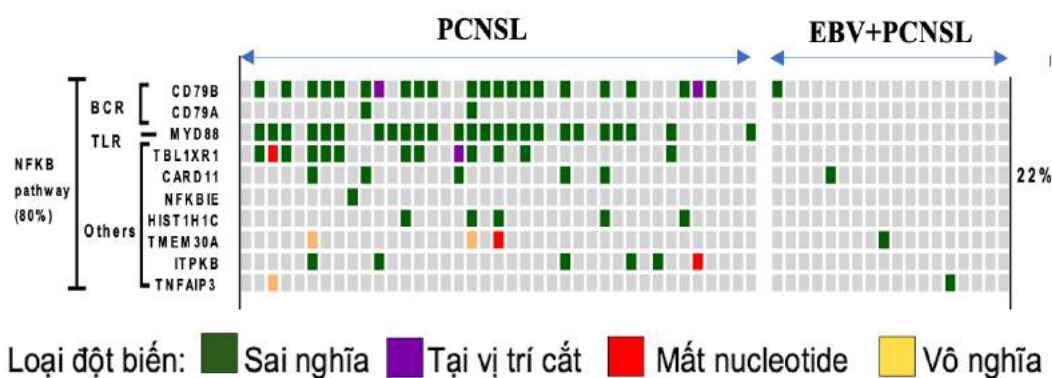
Để đánh giá tác động của EBV lên mô hình đột biến liên quan đến con đường NF- κ B của PCNSL, tần số đột biến xuất hiện trên hai nhóm bệnh được so sánh (Fisher và Chi Square's test- SPSS). Hầu hết PCNSL đều xuất hiện đột biến trên tối thiểu một gene liên quan đến NF- κ B, trong khi đó chỉ 22% EBV+ PCNSL xuất hiện đột biến liên quan ($p < 0.05$).



Biểu đồ 2. Mức độ biểu hiện của các immune checkpoint và macrophage giữa EBV+PCNSL và PCNSL

(A): PD-L1, (B): PD-L2, (C): TIM3; (D): LAG3; (E): CD68 và (D): CD163

*Mann Witney Unpaired T-Test (2-tailed): Sự khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0.05$; NS: Không có ý nghĩa



Biểu đồ 3. Heatmap mô tả mô hình đột biến của các gene liên quan đến con đường tín hiệu NF-κB xuất hiện ở 39 PCNSL và 18 EBV+PCNSL. Các loại đột biến được mã hóa theo màu và chỉ số phần trăm đại diện cho tần số xuất hiện đột biến liên quan đến NF-κB của mỗi nhóm

Các đột biến tiêu biểu xuất hiện trên PCNSL gồm: MYD88 (64%), CD79A/B (56%), TBL1XR1 (33%); các gene còn lại xuất hiện các đột biến thưa thớt hơn như CARD11, HIST1H1C, ITPKB, TMEM30A(<13%).

Đặc biệt, hầu hết các đột biến của MYD88 và CD79B đều lần lượt liên quan đến loại đột biến sai nghĩa (MYD88^{L265P}) trên miền TIR và (CD79B^{Y196}). Các đột biến này đã được xác nhận bằng Sanger Sequencing

*** Đột biến trên các gene MYD88, CD79B và TBL1XR1 xuất hiện đồng thời trên PCNSL**

Đột biến liên quan đến 3 gene: MYD88, CD79B và TBL1XR1 xuất hiện thường xuyên trên bệnh nhân PCNSL. 18/39 ca PCNSL có cùng đột biến của MYD88 và CD79B, 10/39 ca xuất hiện cả 3 loại đột biến trên. Ngược lại, các đột biến trên EBV+PCNSL lại rải rác và không xuất hiện đồng thời.

4. BÀN LUẬN

PCNSL xuất hiện trên bệnh nhân sau ghép tạng thường có tiên lượng nặng hơn và kèm theo sự xuất hiện của virus EBV [5]. Điều này gợi ý rằng EBV có thể đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển ác tính của PCNSL và thúc đẩy chúng tiến hành nghiên cứu về tác động của nó đến PCNSL.

4.1. Tác động của EBV lên môi trường vi thể khối u của PCNSL

Khi so sánh các thành phần trong môi trường vi thể khối u ở hai nhóm: PCNSL và EBV+PCNSL, chúng tôi thấy rằng những ca EBV dương tính có mức độ biểu hiện gene ở nhóm thúc đẩy khối u: Macrophage (CD68, CD163), immune checkpoints (PD-L1, PD-L2, TIM3 và LAG4) cao hơn hẳn so với những ca EBV âm tính. Ngược lại, các mức độ biểu hiện của các gene liên quan đến nhóm ức chế khối u lại không có sự khác biệt đáng kể

giữa 2 nhóm. Các nghiên cứu gần đây đã chỉ ra ảnh hưởng của EBV lên Hodgkin Lymphoma và DLBCL thể hệ thống, tuy nhiên dữ liệu về PCNSL còn rất hạn chế.

Sự kết hợp giữa PD-1 (xuất hiện trên tế bào T hoạt hóa) với phối tử của nó là PD-L1 và PD-L2 sẽ gây ra hiện tượng tế bào T bất hoạt (exhausted T cell) [9]. Nhiều nghiên cứu gần đây đã cho thấy sự tăng mức độ biểu hiện của các phối tử này trên tế bào ung thư liên quan đến tiên lượng xấu trên các bệnh nhân lymphoma Hodgkin, DLBCL và gần đây nhất là PCNSL [9], [12]. Nghiên cứu của Green và cộng sự (2012) cho thấy sự tăng mức độ biểu hiện của PD-L1 và PD-L2 liên quan đến sự tăng số lượng bản sao đoạn gene vị trí 9p24.1 ở bệnh nhân Hodgkin Lymphoma [6]. Ngược lại, EBV lại có khả năng gây tăng mức độ biểu hiện của PD-L1 Hodgkin Lymphoma không thông qua sự biến đổi số lượng bản sao ở vị trí 9p24.1. Nhóm nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc EBV có thể gây tăng cường biểu hiện của PD-L1 thông qua việc tác động lên gene LMP1, từ đó tác động lên vùng tăng cường và khởi động của PD-L1 và gây tăng mức độ biểu hiện của gene này [7]. Đồng quan điểm với nghiên cứu trên, nhóm tác giả Brown và cộng sự (2017) cũng tìm thấy kết quả tương tự trên EBV+DLCL [3]. Nghiên cứu của chúng tôi đã cho thấy EBV không chỉ có khả năng tăng cường biểu hiện PD-L1 mà còn có khả năng gây tăng biểu hiện của các immune checkpoint còn lại: PD-L2, TIM3, LAG3 và CD68, CD163 (M2 macrophage) trên PCNSL. Sự tăng đồng loạt các immune checkpoint và M2 macrophage bởi EBV gây ức chế hoạt động phát hiện và tiêu diệt tế bào ung thư của tế bào T. Kết quả này khẳng định thêm vai trò quan trọng của EBV trong việc tạo ra môi trường ức chế miễn dịch trong khối u ở PCNSL.

4.2. Tác động của EBV lên đột biến liên quan đến NF-κB trên PCNSL

Bên cạnh việc đánh giá ảnh hưởng của EBV lên môi trường vi thể khối u của PCNSL, mô hình đột biến NF- κ B cũng được đánh giá trong nghiên cứu này. Lý do chúng tôi chọn con đường tín hiệu NF- κ B vì các nghiên cứu gần đây đã khẳng định sự kích hoạt tín hiệu này thông qua đột biến một số gene thành phần có vai trò bệnh sinh quan trọng trong PCNSL [10], tuy nhiên EBV+PCNSL thì vẫn còn là ẩn số. Nghiên cứu của Nakamura và cộng sự, tại Nhật (2016), đã chỉ ra hầu hết PCNSL đều có sự kích hoạt tín hiệu NF- κ B thông qua đột biến tại gene MYD88 và CD79B [10]. Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự với 80% PCNSL bị ảnh hưởng bởi đột biến liên quan đến tín hiệu này, trong đó phổ biến nhất là MYD88 (64%), CD79A/B (56%). MYD88 là adaptor protein có vai trò khởi động tín hiệu NF- κ B thông qua thụ thể TIR. Hầu hết các đột biến của MYD88 được tìm thấy tại miền TIR gây ra sự thay thế Leucine thành Proline (22/25 ca có đột biến MD88), có vai trò khởi động tín hiệu NF- κ B giúp tế bào lymphoma sống sót tốt hơn [2]. CD79B cũng có "Hot-spot mutation" làm thay thế tyrosin196 trên miền ITAM. Hơn thế nữa, chúng tôi phát hiện thấy sự đồng thời xuất hiện của MYD88 và CD79B trên phần lớn các bệnh nhân có đột biến này. 81% bệnh nhân có đột biến CD79B thì có kèm theo đột biến MYD88. Điều này cho thấy sự phối hợp hoạt động của hai gene này trong cơ chế bệnh sinh của PCNSL. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy việc cắt đứt con đường tín hiệu NF- κ B (thuốc Ibrutinib) cho hiệu quả lâm sàng khả quan trên bệnh nhân PCNSL. Thử nghiệm thuốc Ibrutinib pha 1 đã cho thấy 70% bệnh nhân PCNSL tái phát có đột biến CD79 có phản ứng tốt với Ibrutinib [8]. Kết quả nghiên cứu trên đã chỉ ra tác dụng tiềm năng của Ibrutinib và vai trò của đột biến liên quan đến NF- κ B trên PCNSL.

Ngược lại, nghiên cứu của chúng tôi

cho thấy hầu hết các ca EBV+PCNSL lại có sự vắng bóng các đột biến liên quan đến con đường tín hiệu NF- κ B. Chỉ 4/18 ca xuất hiện các đột biến riêng lẻ và rời rạc, các đột biến liên quan đến MYD88 và CD79B hiếm xuất hiện. Nghiên cứu đã góp phần bước đầu chỉ ra mô hình đột biến thường xuất hiện trên PCNSL (NF- κ B) không xuất hiện khi có sự có mặt của EBV. Điều này chứng tỏ vai trò quan trọng của EBV lên mô hình đột biến NF- κ B ở PCNSL. Kết quả trên tạo tiền đề cho các nghiên cứu về sau đánh giá để làm rõ tác động của EBV cơ chế bệnh sinh ở PCNSL.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra sự khác biệt về môi trường vi thể khối u và mô hình đột biến liên quan đến NF- κ B giữa PCNSL và EBV+PCNSL. EBV đóng vai trò quan trọng trong việc thúc đẩy khối u thông qua việc tạo ra môi trường khối u bị ức chế với sự tăng cao biểu hiện của PD-L1, PD-L2, TIM3, LAG3, CD68 và CD163, hơn là tác động đến con đường đột biến NF- κ B ở bệnh nhân. Những phát hiện trên có ý nghĩa quan trọng cho việc thiết kế chiến lược trị liệu miễn dịch trên EBV+ PCNSL.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn ban lãnh đạo viện TRI, bệnh viện Princess Alexandra, bệnh viện Canberra (Úc), trường đại học Queensland và trường đại học Y Dược, Huế đã giúp đỡ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Thị Mai Thanh, Colm K, Joshua T, Dipti T, Sanjiv J, Frank V, Clare G, Santiyagu F, Hoàng Khánh Hằng, Gandhi MK (2019), Primary central nervous system lymphoma have a distinctive tumour microenvironment, that is potential for immune therapy, Tạp chí Y Dược

- Học Cần Thơ, tr. 22-25.
2. **Avbelj M, Wolz OO, Fekonja O, Bencina M, Repič M, Mavri J et al (2014)**, Activation of lymphoma-associated MyD88 mutations via allostery-induced TIR-domain oligomerization, *Blood*, 124(26):3896-904.
 3. **Brown AF, Salama ME, LPatel J, Paxton CN, Xu X, Perkins SL et al (2017)**, PD-L1 protein expression in most EBV-driven lymphoproliferative disorders is not associated with 9p24.1 amplification, *Hematopath*, 2(1):58-68.
 4. **Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES (2011)**, The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications, *Blood*, 117(19):5019-32.
 5. **Fink SEK, Gandhi MK, Nourse JP, Keane C, Jones K, Crooks P et al (2014)**, A Comprehensive Analysis of the Cellular and EBV-Specific MicroRNAome in Primary CNS PTLID Identifies Different Patterns Among EBV-Associated Tumors, *American Journal of Transplantation*, 14(11): 2577-87.
 6. **Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T et al (2010)**, 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*, 116(17):3268–3277.
 7. **Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P et al (2012)**, Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy, *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 18(6):1611–1618.
 8. **Grommes C, Pastore A, Palaskas N, Tang SS, Campos C, Schartz D et al (2017)**, Ibrutinib Unmasks Critical Role of Bruton Tyrosine Kinase in Primary CNS Lymphoma *Cancer Discovery*, 7(9):1018-29.
 9. **Menguy S, Prochazkova-Carlotti M, Beylot-Barry M, Saltel F, Vergier B, Merlio JP et al (2018)**, PD-L1 and PD-L2 Are Differentially Expressed by Macrophages or Tumor Cells in Primary Cutaneous Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Leg Type, *The American Journal of Surgical Pathology*, 42(3):326-34.
 10. **Nakamura T, Tateishi K, Niwa T, Matsushita Y, Tamura K et al (2016)**, Recurrent mutations of CD79B and MYD88 are the hallmark of primary central nervous system lymphomas, *Neuropathology and applied neurobiology*, 42(3):279–290.
 11. **Riemersma SA, Jordanova ES, Schop RF, Philippo K, Looijenga L H et al (2000)**, Extensive genetic alterations of the HLA region, including homozygous deletions of HLA class II genes in B-cell lymphomas arising in immune-privileged sites, *Blood*, 96(10):3569–3577.
 12. **Roemer MG, Advani RH, Ligon AH, Natkunam Y, Redd RA, Homer H et al (2016)**, PD-L1 and PD-L2 Genetic Alterations Define Classical Hodgkin Lymphoma and Predict Outcome, *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 34(23):2690–2697.

SUMMARY

IMPACT OF EBV ON TUMOUR MICROENVIRONMENT AND MUTATIONS INVOLVED IN NF- κ B PATHWAY IN PRIMARY CENTRAL NERVOUS SYSTEM LYMPHOMA

Hoang Thi Mai Thanh^{1,2,4*}, Colm Keane³, Joshua Tobin^{3,4}, Dipti Talaulikar^{5,6}, Sanjiv Jain⁷, Frank Vari⁴, Clare Gould⁴, Santiyagu Francis³, Maher Gandhi^{2,3}

¹ Hue University Of Medicine and Pharmacy

² Mater Research Institute, Brisbane, QLD, Australia

³ Princess Alexandra Hospital, Brisbane, Australia

⁴ University of Queensland Diamantina Institute, Brisbane, Australia

⁵ Haematology Department, The Canberra Hospital, Canberra, Australia

⁶ Medical School, The Australian National University, Canberra, Australia

⁷ The Canberra Hospital, Canberra, Australia

Objectives: 1) To determine the impact of EBV on TME and mutation pattern of NF κ B in PCNSL. **Methods:** FFPE tissue samples of 39 PCNSL patients were collected from PA hospital and Canberra hospital. NanoString was used to measure gene expression of effectors (CD4, CD8, CD137 and CD56); checkpoints (PD-L1, PD-L2, TIM3 and LAG3) and Macrophage (CD68, CD163). Target Sequencing was performed to identify mutations in NF- κ B pathway. **Results:** EBV+PCNSL exhibits immunosuppressive TME with the elevated level of all immune checkpoints (PD-L1, PD-L2, TIM3, LAG3) và M2 macrophage (CD163/CD68) compared with PCNSL ($p < 0.05$). This leads to the ineffective immune response in TME which contributes to the tumour growth in EBV+PCNSL. 80% PCNSL had mutations involved in NF- κ B: MYD88 (64%), CD79A/B (56%), CARD11 (13%) and TBL1XR1 (33%) with the common co-occurrence of MYD88 and CD79B/A mutations. In contrast, only 22% of EBV+PCNSL had mutations in NF- κ B ($p < 0.05$) and these mutations are spares. **Conclusion:** EBV plays an important role in promoting the tumour growth via immunosuppressive TME, rather than via genetic alterations involved in NF- κ B.

Keywords: EBV+PCNSL, MYD88, CD79A/B, immunosuppressive TME.