

# De genetische basis voor immuun- 'checkpoint'-blokkade bij maligne lymfoom

The genetic basis for immune checkpoint blockade in malignant lymphoma

dr. M.G.M. Roemer

## SAMENVATTING

Op 20 november 2017 promoveerde M.G.M. Roemer aan de Vrije Universiteit van Amsterdam op haar promotieonderzoek getiteld 'Targetable genetic signatures of immune evasion in lymphoma', onder begeleiding van promotoren prof. dr. D. de Jong en prof. M.A. Shipp, en copromotoren dr. B. Chapuy en prof. dr. B. Ylstra. In deze proefschriftbespreking worden de belangrijkste bevindingen van het onderzoek beschreven.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2018;15:192-6)

## SUMMARY

On November 20<sup>th</sup>, 2017, M.G.M. Roemer received her doctoral degree at the VU University Medical Center Amsterdam, on her PhD thesis entitled 'Targetable genetic signatures of immune evasion in lymphoma', under supervision of prof. D. de Jong, MD, PhD, and prof. M.A. Shipp, MD, and co-supervision of B. Chapuy, MD, PhD, and prof. B. Ylstra, MD, PhD. The main findings of the research are described in this article.

## INLEIDING

Om de overleving van patiënten met maligne lymfoom te verbeteren, de behandeling effectiever te maken en bijwerkingen te verminderen, willen we graag veel gerichtere behandelingen ontwikkelen. Wij onderzochten specifieke vormen van maligne lymfoom, die gebruikmaken van mechanismen om zichzelf onzichtbaar te maken voor het immuunsysteem en bestudeerden hoe we dit kenmerk kunnen gebruiken voor het ontwikkelen van effectievere behandelingen.

Maligne lymfomen, non-hodgkinlymfoom en hodgkinlymfoom zijn een heel heterogene groep ziekten, die worden geclassificeerd op basis van morfologische kenmerken, immuunfenotype, klinisch gedrag en specifieke lokalisatie.<sup>1,2</sup> Diffuus grootcellig B-cellymfoom (DLBCL) is de meest voorkomende vorm van non-hodgkinlymfoom. Om subgroepen te bepalen in deze heterogene groep van DLBCL's kan onder

andere met behulp van genexpressiegegevens onderscheid worden gemaakt tussen het geactiveerde B-celtype (ABC) en kiemcentrumtype (GCB).<sup>3-6</sup> Deze twee subgroepen kenmerken zich door deregulatie van verschillende signalerings-'pathways' en door een andere oncogenese.

In dit proefschrift toonden we aan dat er specifieke typen grootcellig B-cellymfoom zijn die niet per definitie kunnen worden onderverdeeld in deze subgroepen, maar daarentegen een andere oncogenese hebben, waaronder een heel specifieke gedeelde genetische basis om een tumorgerichte immuunrespons te onderdrukken.

## PRIMAIR CNS-LYMFOOM EN PRIMAIR TESTISLYMFOOM

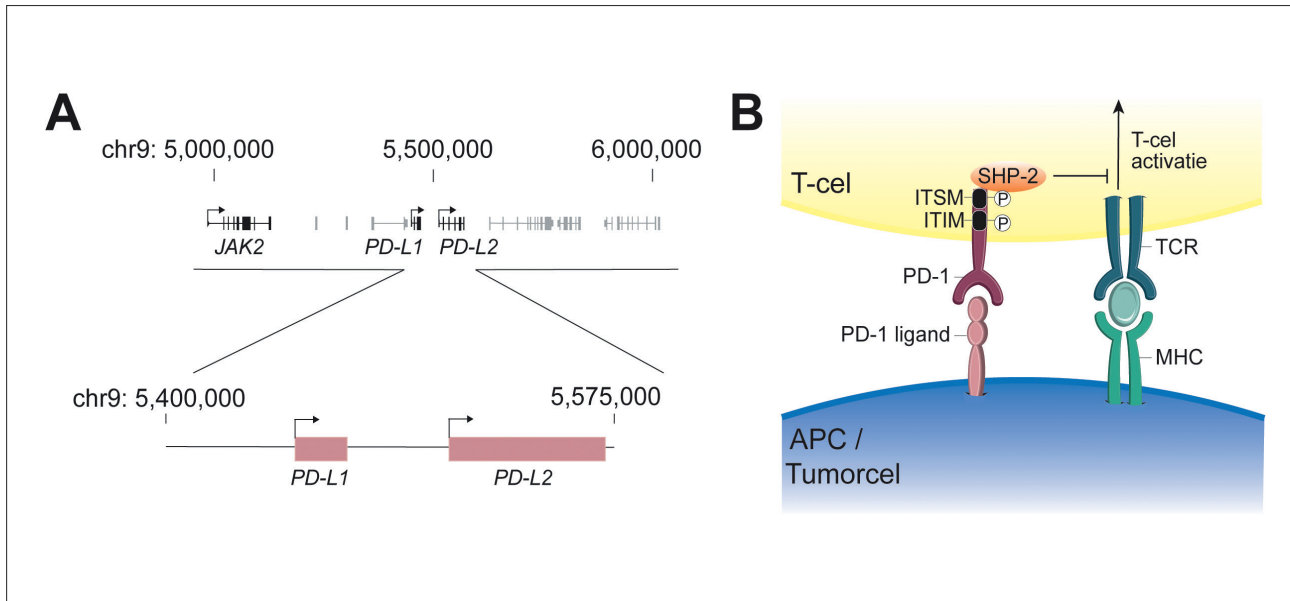
Primair CNS-lymfoom (PCNSL) en primair testislymfoom (PTL) worden beide gekenmerkt door een specifieke loka-

Correspondentie graag richten aan mw. dr. M.G.M. Roemer, VU medisch centrum, kamer CCA-1.24, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam, tel.: 020 444 24 33, e-mailadres: m.roemer@vumc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** hodgkinlymfoom, immuun-'checkpoint'-blokkade, immuunevasie, maligne lymfoom, PCNSL, PD-1, PD-1-liganden, PTL

**Keywords:** Hodgkin lymphoma, immune checkpoint blockade, immune evasion, malignant lymphoma, PCNSL, PD-1, PD-1 ligands, PTL



**FIGUUR 1.** Chromosoomlocus 9p24.1 en PD-1/PD-L-interactie. **A.** Op positie p24.1 op chromosoom (chr) 9 bevinden zich de PD-1-liganden *PD-L1* en *PD-L2*. **B.** PD-1 op T-cellen bindt aan PD-1-liganden op antigeen-presenterende cellen (APC) of tumorcellen; deze interactie zorgt voor fosforylatie van het cytoplasmatische domein van PD-1. SHP-2 wordt vervolgens aangetrokken en T-celactivatie wordt geremd. Aangepast van proefschrift, ©M.G.M. Roemer.

lisatie en klinisch gedrag. Deze agressieve B-cellymfomen hebben vaak een slechte respons op huidige therapieën en een slechte prognose. Daarom hebben we ons gericht op het onderzoeken van genetische veranderingen in deze lymfooms-subtypen, die kunnen helpen om meer gerichte behandelingen te ontwikkelen.<sup>7</sup>

Een eerste karakteristieke eigenschap van PCNSL en PTL is het verlies van chromosoomgebied 9p21.3, waar het *CDK2NA*-gen zich bevindt. Dit leidt tot deregulatie van de celcyclus en gaat gepaard met een complex patroon van copynummervananderingen in deze lymfomen. Naast frequente *CDK2NA*-veranderingen zagen we een uniforme afhankelijkheid voor 'toll-like receptor'/NF-kappa B en B-celreceptor-signalering. De meest voorkomende mutatie in PCNSL en PTL is de *MYD88*<sup>L265P</sup>-mutatie, maar daarnaast constateerden we ook frequente vermeerdering van chromosoomregio 3q12.3, met daarop het *NFKB1Z*-gen. Deze genetische veranderingen blijken complementaire mechanismen om NF-kappa B-activiteit te verhogen. Een andere belangrijke en veel voorkomende mutatie werd in het *CD79B*-gen gevonden. Deze mutatie treedt in 90% van de gevallen op bij patiënten die ook een *MYD88*-mutatie hebben<sup>7</sup>. Co-mutatie van *CD79B* en *MYD88* wordt ook wel gezien in het ABC-subtype DLBCL, maar slechts in 43% van de gevallen.<sup>8,9</sup> In het GCB-subtype DLBCL komt deze co-mutatie nauwelijks voor.

Een andere kenmerkende eigenschap van PCNSL en PTL zijn veranderingen van chromosoomlocus 9p24.1.<sup>7</sup> Op deze

chromosoomlocus bevinden zich de PD-1-liganden *PD-L1* en *PD-L2* (zie *Figuur 1A*). In meer dan 50% van de gevallen zagen we vermeerdering van deze chromosoomlocus en ook werden er translocaties gevonden met *PD-L1* of *PD-L2* als translocatiepartner. Als gevolg van deze genetische veranderingen is er hoge expressie van de PD-1-liganden in deze lymfooms-subtypen. Deze PD-1-liganden kunnen binden aan de PD-1-receptor op het oppervlak van de T-cellen, waarna de normale immuunrespons wordt geremd (zie *Figuur 1B*).<sup>10,11</sup> Tumorcellen maken dankbaar gebruik van dit systeem om een lymfoomgerichte immuunrespons te remmen. Dit mechanisme komt niet of nauwelijks voor in ABC- en GCB-subtype DLBCL, maar is echter wel een verandering die naast PCNSL en PTL ook wordt gezien in andere specifieke lymfoomtypen: primair mediastinaal lymfoom en hodgkinlymfoom.<sup>12-15</sup>

## GERICHTE BEHANDELING VAN PATIËNTEN MET PCNSL EN PTL

Karakteristieke genetische veranderingen in PCNSL en PTL geven aanknopingspunten voor het geven van gerichte behandeling. De 9p24.1 genetische veranderingen met gerelateerde overexpressie van de PD-1-liganden in PCNSL en PTL suggereren dat PD-1-blokkade met behulp van nivolumab of pembrolizumab wellicht effectief is in deze patiëntengroep. In een pilotstudie van vier patiënten met recidief/refractair PCNSL en één patiënt met CNS-recidief van PTL werden vier complete responsen gezien en één partiële respons

na behandeling met nivolumab.<sup>16</sup> Dit heeft geleid tot de fase 2-studie CheckMate 647, waarin 65 recidief/refractaire PCNSL- en PTL-patiënten worden behandeld met nivolumab ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), NCT02857426).

Bij DLBCL is aangetoond dat patiënten met het ABC-subtype een betere respons vertoonden op behandeling met ibrutinib (BTK-remming).<sup>17</sup> Met name bij DLBCL-patiënten met co-mutaties van *CD79B* en *MYD88* werden erg goede responsen gezien. Gezien de frequente co-mutaties van *CD79B* en *MYD88* in PCNSL en PTL, is dit ook een aantrekkelijke behandelingsmogelijkheid bij deze lymfomen. Ibrutinib speelt daarnaast een rol bij het beïnvloeden van de Th1/Th2-balans, door het effect op ITK en daarmee kan ibrutinib dus ook een immuunmodulator effect hebben.<sup>18</sup> Bij muizen is een synergistisch effect gezien tussen ibrutinib en PD-1-blokkade en combinatie van deze twee gericht aanpakken kan dus aantrekkelijk zijn. Ibrutinib-monotherapie en combinatietherapie met chemotherapie en rituximab is getest bij patiënten met CNS-lymfoom. Deze behandeling was weliswaar zeer effectief, met responsen van 86% bij combinatietherapie tot 94% bij monotherapie, maar er werden ernstige Aspergillus-infecties gezien bij 39% van de patiënten.<sup>19</sup> Vervolgstudies moeten zich dus richten op veiligheid van op ibrutinib gebaseerde therapieën bij deze lymfoomsotypen.

### PD-1-DEREGULATIE BIJ SPECIFIEKE LYMFOOMSUBTYPEN

De genetische veranderingen van chromosoomlocus 9p24.1 en de mogelijkheid om hier specifieke behandeling voor te geven waren aanleiding tot een breder onderzoek naar PD-1-ligandveranderingen in verschillende lymfoomsotypen. Naast PCNSL, PTL en primair mediastinaal lymfoom toonden wij aan dat ook T-cel/histiocytisch B-cellymfoom, een specifiek morfologisch subtype van DLBCL, vaak genetische veranderingen laat zien van chromosoomlocus 9p24.1.<sup>7,20</sup> In een pilotstudie bleken ook immuundeficiëntie-gerelateerde lymfomen bij alle oorzaken van immuundeficiëntie 9p24.1/*PD-L1*/*PD-L2* genetische veranderingen en overexpressie van PD-L1 te hebben.<sup>21</sup> Vervolgstudies moeten zich richten op het valideren van deze bevindingen, maar onze resultaten laten zien dat ook deze specifieke lymfoomsotypen deze gedeelde genetische basis hebben voor verminderde immuunresponsen en wellicht gevoelig zijn voor behandeling met PD-1-blokkade.

### PD-1-DEREGULATIE BIJ HODGKINLYMFOOM

Veranderingen van chromosoomlocus 9p24.1 zijn eerder beschreven bij hodgkinlymfoom.<sup>14</sup> Een kenmerkende eigen-

schap van hodgkinlymfoom is dat er slechts een klein aantal maligne hodgkin-reed-sternberg-cellen in de tumormassa zit. Deze maligne cellen worden omringd door immuuncellen die, ondanks hun aanwezigheid, de tumorcellen niet aanvallen.<sup>22</sup> Deze unieke cellulaire samenstelling van hodgkinlymfoom maakt het lastig om genetische studies te doen bij deze ziekte. Daarom waren de incidentie, het type en de prognostische waarde van 9p24.1/*PD-L1*/*PD-L2* genetische veranderingen nog onbekend. In een groep uniform behandelde hodgkinlymfoompatiënten hebben wij met behulp van fluorescentie-in-situ-hybridisatie (FISH) aangetoond dat 9p24.1 genetische veranderingen een karakteristieke eigenschap zijn van hodgkinlymfoom en wordt gevonden bij 97% van de primaire hodgkinlymfoompatiënten.<sup>23</sup> Er bleek een spectrum van 9p24.1 genetische veranderingen, van extra kopieën van het hele chromosoom 9 – polysomie (5%) – tot specifieke vermeerdering van de 9p24.1-chromosoomlocus – ‘copy gain’ (56%) en amplificatie (36%). Daarnaast lieten we zien dat patiënten die de hoogste genetische verandering hebben – amplificatie – een slechtere prognose hebben, en dat 9p24.1-amplificatie significant vaker voorkomt bij patiënten met hoog stadium hodgkinlymfoom.<sup>23</sup>

### ALTERNATIEVE IMMUN-EVASIE-MECHANISMEN BIJ HODGKINLYMFOOM

Naast een verminderde antitumor-immuunreactie door de overexpressie van PD-1-liganden, kunnen tumorcellen ook een verminderde immuunreactie veroorzaken door middel van verlaagde expressie van major histocompatibiliteitscomplex (MHC)-moleculen op het oppervlak van de tumorcel.<sup>24,25</sup> Deze MHC-moleculen presenteren antigenen aan T-cellen, wat zorgt voor activatie en proliferatie van de T-cellen. MHC-klasse I veroorzaakt activatie van CD8<sup>+</sup> cytotoxische T-cellen, terwijl MHC-klasse II zorgt voor activatie van CD4<sup>+</sup> T-cellen.<sup>25</sup> In dezelfde serie uniform behandelde patiënten met hodgkinlymfoom als boven beschreven, bleek het grootste deel van de patiënten (>80%) geen of verminderde expressie te hebben van  $\beta$ 2M en MHC-klasse I op het oppervlak van de tumorcel.<sup>26</sup> De associatie tussen expressie van  $\beta$ 2M en MHC-klasse I is significant, wat aangeeft dat *B2M* genetische veranderingen waarschijnlijk voor het grootste deel verantwoordelijk zijn voor verlies van MHC-klasse I-expressie in hodgkinlymfoom. Bovendien toonden we aan dat patiënten met geen of verlaagde expressie van  $\beta$ 2M/MHC-klasse I een significant kortere progressievrije overleving hebben, onafhankelijk van het stadium van de ziekte of de aanwezigheid van 9p24.1/*PD-L1*/*PD-L2*-amplificatie. Er was ook verlies van MHC-klasse II-expressie bij een deel van de hodgkinlymfoompatiënten, maar dit was niet geassocieerd met een significant overlevingsverschil.<sup>26</sup> Samen-

vattend laten deze studies zien dat activatie van T-cellen een belangrijke component is voor een optimale klinische respons op de standaardinductietherapie voor hodgkinlymfoompatiënten.

### PD-1-BLOKKADE BIJ HODGKINLYMFOOM

De resultaten van behandeling met PD-1-blokkade bij hodgkinlymfoom zijn indrukwekkend. In fase 1-studies van PD-1-blokkade bij recidief/refractaire hodgkinlymfoompatiënten werden responsen gezien van 65%-87%.<sup>27,28</sup> Op deze succesvolle fase 1-studies volgden fase 2-registratiestudies, waarin eveneens erg hoge responsen werden gezien.<sup>29,30</sup> De karakteristieke 9p24.1/PD-L1/PD-L2 genetische veranderingen in hodgkinlymfoom suggereren dat dit wellicht de buitengewoon goede responsen op PD-1-blokkade verklaart. Bij recidief/refractaire hodgkinlymfoompatiënten die zijn behandeld met nivolumab in de klinische fase 2-studie CheckMate 205 ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), NCT02181738) toonden we aan dat alle patiënten 9p24.1/PD-L1/PD-L2 genetische veranderingen hebben en copynummerafhankelijke expressie van PD-L1. In deze studie zijn hogere genetische veranderingen en hogere PD-L1-expressie geassocieerd met betere responsen en een langere progressievrije overleving na behandeling met PD-1-blokkade.<sup>31</sup>

In muismodellen en solide tumoren is de effectiviteit van PD-1-blokkade geassocieerd met activatie van CD8<sup>+</sup> cytotoxische T-cellen. Zoals echter hierboven beschreven, hebben hodgkin-reed-sternberg-cellen vaak verminderde expressie van MHC-klasse I, het complex dat nodig is om CD8<sup>+</sup> cytotoxische T-cellen te activeren. Ook zien we verlies van MHC-klasse II op hodgkin-reed-sternberg-cellen, en dus verminderde antigeenpresentatie aan CD4<sup>+</sup> T-cellen.<sup>26,32</sup> Vanwege de belangrijke rol van effectieve antigeenpresentatie voor T-celresponsen, hebben wij de expressie van  $\beta$ 2M, MHC-klasse I en MHC-klasse II onderzocht bij de patiënten die zijn behandeld in de CheckMate 205-studie.<sup>31</sup> In totaal hebben 93% van deze patiënten geen of verminderde expressie van  $\beta$ 2M en MHC-klasse I en opvallend genoeg hebben 11 van de 12 patiënten met complete remissies geen expressie van  $\beta$ 2M/MHC-klasse I. Ook progressievrije overleving is onafhankelijk van expressie van  $\beta$ 2M of MHC-klasse I. Dit impliceert dat PD-1-blokkade onafhankelijk is van CD8<sup>+</sup> cytotoxische T-celresponsen in hodgkinlymfoom. Daarnaast zien we geen (29%) of verminderde (32%) MHC-klasse II-expressie, maar bij 39% van de patiënten is MHC-klasse II-expressie volledig intact. In tegenstelling tot MHC-klasse I, heeft 92% van de patiënten met complete remissies expressie van MHC-klasse II op het oppervlak van de hodgkin-reed-sternberg-cellen. Bovendien bleek bij patiënten met een volledig hersteld immuunsysteem (>12 maanden

na stamceltransplantatie), positieve MHC-klasse II-expressie geassocieerd met een langere progressievrije overleving. Deze studie suggereert dus dat het werkingsmechanisme van PD-1-blokkade bij hodgkinlymfoom, en wellicht ook bij andere typen tumoren, anders is dan tot nu toe beschreven bij solide tumoren, met een belangrijke rol voor CD4<sup>+</sup> T-cellen.<sup>31</sup>

### CONCLUSIE

In dit proefschrift laten wij zien dat een heel specifieke groep B-cel-non-hodgkin- en hodgkinlymfoom, een gedeelde, heel specifieke genetische basis hebben om immuunresponsen te onderdrukken. Juist in deze groep lymfomen is chromosoomlocus 9p24.1 vermeerderd aanwezig. Daardoor zien we heel veel PD-L1- en PD-L2-eiwit op de tumorcellen en dit leidt tot remming van T-celresponsen. Een gerichte behandeling zou kunnen bestaan uit het reactiveren van de T-cellen. Behandeling met een PD-1-antilichaam heeft in verschillende klinische studies erg goede responsen laten zien bij hodgkinlymfoom, één van de lymfoomsotypen met karakteristieke 9p24.1/PD-L1/PD-L2 genetische veranderingen. Nu we ook de 9p24.1/PD-L1/PD-L2 genetische veranderingen en gerelateerde veranderingen in andere typen lymfomen hebben gevonden, suggereert dit dat deze wellicht ook gevoelig zijn voor behandeling met deze PD-1-blokkade. Deze nieuwe kennis opent de mogelijkheid om gerichte behandeling toe te passen bij een specifieke groep maligne lymfoom, die nu vaak een slechte prognose heeft.

### REFERENTIES

1. Lenz G, Staudt LM. Aggressive lymphomas. *N Engl J Med* 2010;362:1417-29.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press, 2008.
3. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
4. Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, et al. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001;194:1861-74.
5. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:1937-47.
6. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:9991-6.
7. Chapuy B, Roemer MG, Stewart C, et al. Targetable genetic features of primary testicular and primary central nervous system lymphomas. *Blood* 2016;127:869-81.
8. Davis RE, Ngo VN, Lenz G, et al. Chronic active B-cell-receptor signalling in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2010;463:88-92.
9. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, et al. Oncogenically active MYD88 mutations

- in human lymphoma. *Nature* 2011;470:115-9.
10. Freeman GJ. Structures of PD-1 with its ligands: sideways and dancing cheek to cheek. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:10275-6.
  11. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008;26:677-704.
  12. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2015;126:2193-201.
  13. Monti S, Chapuy B, Takeyama K, et al. Integrative analysis reveals an outcome-associated and targetable pattern of p53 and cell cycle deregulation in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2012;22:359-72.
  14. Green MR, Monti S, Rodig SJ, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2010;116:3268-77.
  15. Joos S, Otano-Joos MI, Ziegler S, et al. Primary mediastinal (thymic) B-cell lymphoma is characterized by gains of chromosomal material including 9p and amplification of the REL gene. *Blood* 1996;87:1571-8.
  16. Nayak L, Iwamoto FM, LaCasce A, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma. *Blood* 2017;129:3071-3.
  17. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med* 2015;21:922-6.
  18. Sagiv-Barfi I, Kohrt HE, Czerwinski DK, et al. Therapeutic antitumor immunity by checkpoint blockade is enhanced by ibrutinib, an inhibitor of both BTK and ITK. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112:E966-72.
  19. Lionakis MS, Dunleavy K, Roschewski M, et al. Inhibition of B cell receptor signaling by ibrutinib in primary CNS lymphoma. *Cancer Cell* 2017;31:833-43 e5.
  20. Shi M, Roemer MG, Chapuy B, et al. Expression of programmed cell death 1 ligand 2 (PD-L2) is a distinguishing feature of primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma and associated with PDCD1LG2 copy gain. *Am J Surg Pathol* 2014;38:1715-23.
  21. De Jong D, Roemer MG, Chan JK, et al. B-cell and classical Hodgkin lymphomas associated with immunodeficiency: 2015 SH/EAHP workshop report-part 2. *Am J Clin Pathol* 2017;147:153-70.
  22. Kuppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer* 2009;9:15-27.
  23. Roemer MG, Advani RH, Ligon AH, et al. PD-L1 and PD-L2 genetic alterations define classical Hodgkin lymphoma and predict outcome. *J Clin Oncol* 2016;34:2690-7.
  24. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 2004;22:329-60.
  25. Neefjes J, Jongstra ML, Paul P, et al. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol* 2011;11:823-36.
  26. Roemer MG, Advani RH, Redd RA, et al. Classical Hodgkin lymphoma with reduced beta2M/MHC class I expression is associated with inferior outcome independent of 9p24.1 status. *Cancer Immunol Res* 2016;4:910-6.
  27. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015;372:311-9.
  28. Armand P, Shipp MA, Ribrag V, et al. Programmed death-1 blockade with pembrolizumab in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure. *J Clin Oncol* 2016;34:3733-9.
  29. Chen R, Zinzani PL, Fanale MA, et al. Phase II study of the efficacy and safety of pembrolizumab for relapsed/refractory classic Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2017;35:2125-32.
  30. Younes A, Santoro A, Shipp M, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:1283-94.
  31. Roemer MG, Redd RA, Cader FZ, et al. Major histocompatibility complex class II and programmed death ligand 1 expression predict outcome after programmed death 1 blockade in classic Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2018;36(10):942-50.
  32. Diepstra A, Van Imhoff GW, Karim-Kos HE, et al. HLA class II expression by Hodgkin Reed-Sternberg cells is an independent prognostic factor in classical Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:3101-8.
- ONTVANGEN 20 FEBRUARI 2018, GEACCEPTEERD 14 MAART 2018.