

De consequenties van de genetische variatie van het diffuus grootcellig B-cellymfoom voor het klinische beleid

The consequences of the genetic variation of diffuse large B-cell lymphoma for clinical management

dr. M.E.D. Chamuleau¹, prof. dr. D. de Jong², prof. dr. P.M. Kluijn³, dr. P.J. Lugtenburg⁴, dr. M.J. Kersten⁵,
prof. dr. H. Veelken⁶ en dr. G.W. van Imhoff⁷

Samenvatting

Het diffuus grootcellig B-cellymfoom (DLBCL) is een heterogene ziekte. Er zijn onderliggende genetische variaties bekend die gecorreleerd zijn met verschillende genezingspercentages op standaard eerstelijns therapie met R-CHOP. Twee belangrijke genetische variaties worden in dit artikel besproken. Eerst wordt het 'cell of origin'-concept toegelicht. Dit is het concept waarbij DLBCL wordt onderverdeeld op basis van het celtyp waaruit het lymfoom ontstaat of waaraan het is gerelateerd (ABC- of GCB-subtype). Patiënten met een GCB-subtype DLBCL hebben na eerstelijns therapie met R-CHOP een betere prognose dan patiënten met een ABC-subtype DLBCL. Daarnaast is de aanwezigheid van een *MYC*-translocatie een belangrijke negatieve prognostische factor. De bepaling van deze genetische verschillen zal binnenkort de behandeling van patiënten met een nieuw gediagnosticeerd DLBCL gaan beïnvloeden.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2014;11:347-53)

Summary

Diffuse large B cell lymphoma is a heterogeneous disease. Underlying genetic variations correlated to different responses on first line therapy with R-CHOP have been recognized. Two of them will be discussed in this article. First, the 'cell of origin' concept will be explained. This concept is based on the cell of origin, the type of cell the DLBCL cell is most related to: ABC subtype or GCB subtype. Patients with GCB subtype have a better response on R-CHOP than patients with ABC subtype. Furthermore, the presence of a translocation of the *MYC* gene is correlated with a worse prognosis on R-CHOP. Knowledge of these genetic variations will influence the therapeutic strategy for newly diagnosed DLBCL patients in the near future.

Inleiding

Het diffuus grootcellig B-cellymfoom (DLBCL) is een heterogene ziekte, zowel biologisch als klinisch. Voor het bepalen van de individuele prognose van een patiënt met DLBCL heeft de, op simpele klinische parameters

gebaseerde 'International Prognostic Index' (IPI), ook in het rituximab-tijdperk nog steeds waarde.¹ Binnen de 4 IPI-risicogroepen bestaan echter aanzienlijke verschillen in overleving. Deze verschillen worden grotendeels verklaard door biologische eigenschappen van de tumor

¹internist-hematoloog, afdeling Hematologie, VU medisch centrum, ²patholoog, afdeling Pathologie, VU medisch centrum, ³patholoog, afdeling Pathologie, UMC Groningen, ⁴internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde, Erasmus MC Kanker Instituut, ⁵internist-hematoloog, Academisch Medisch Centrum, ⁶internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde, Leids Universitair Medisch Centrum, ⁷internist-hematoloog, afdeling Interne Geneeskunde, UMC Groningen. Correspondentie graag richten aan mw. dr. M. Chamuleau, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, VU medisch centrum, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam, tel.: 020 444 26 04, e-mailadres: m.chamuleau@vumc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: ABC-subtype, diffuus grootcellig B-cellymfoom, DLBCL, GCB-subtype, *MYC*

Keywords: ABC subtype, diffuse large B cell lymphoma, DLBCL, GCB subtype, *MYC*

Tabel 1. Definities.

MYC ^{TRANSLOCATIE} -DLBCL	DLBCL met een translocatie waarbij het MYC-gen betrokken is
MYC ^{EIWIT} -DLBCL	DLBCL met hoge MYC-eiwitexpressie
'Double hit' (DH) DLBCL	DLBCL met zowel een MYC- als een BCL2- (of BCL6-)translocatie
'Triple hit' (TH) DLBCL	DLBCL met MYC-, BCL2- en BCL6-translocatie
DUBBELEIWIT ⁺ -DLBCL	DLBCL met zowel hoge MYC-eiwitexpressie als hoge BCL2-eiwitexpressie

(en/of zijn omgeving) en worden kennelijk niet in klinische parameters van de IPI-score gereflecteerd. Identificatie van deze eigenschappen is van groot belang: uiteindelijk zullen deze biologische verschillen tussen lymfomen de aanknopingspunten vormen voor de ontwikkeling van 'targeted' en 'personalized' therapie. In dit overzichtsartikel wordt de huidige kennis over de verschillende biologische eigenschappen van DLBCL besproken. De factoren die op korte termijn het therapeutisch handelen gaan beïnvloeden komen ook aan bod.

Biologische eigenschappen van het DLBCL

'Cell of origin'-concept

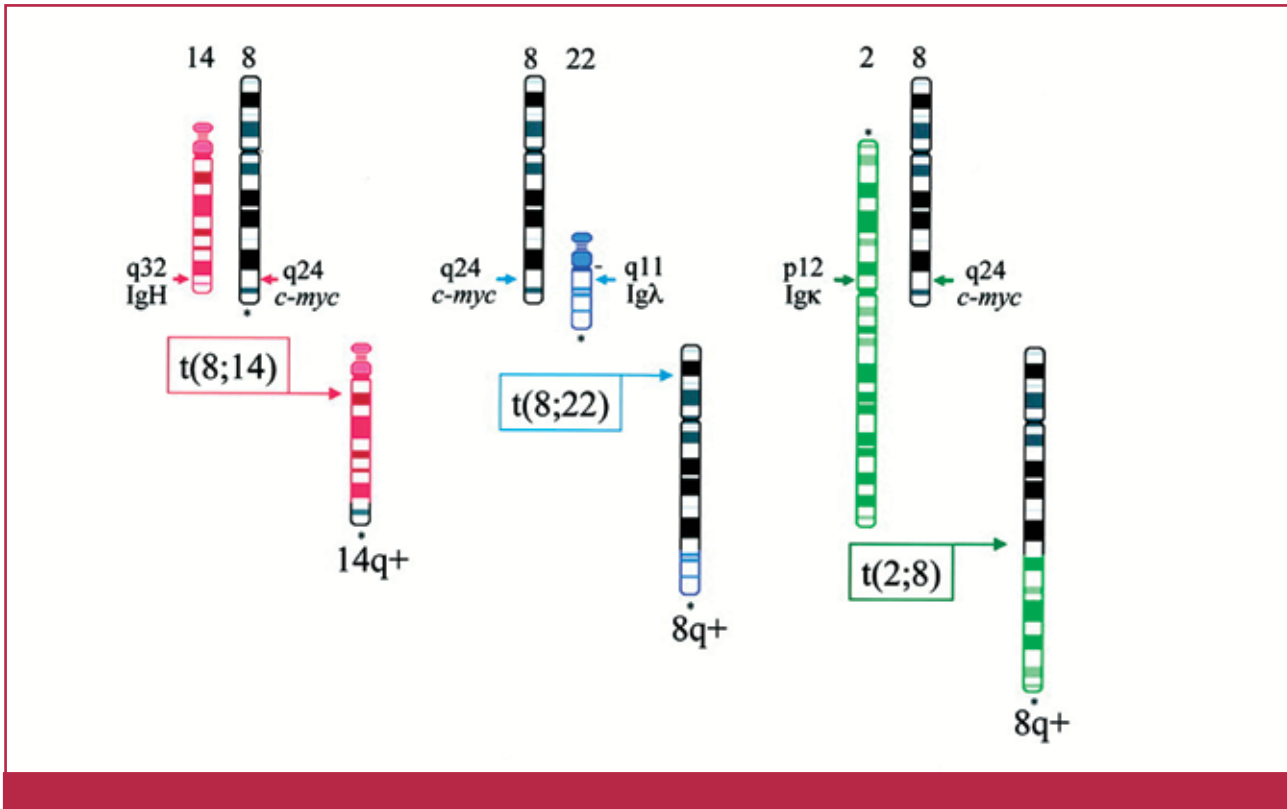
De eerst beschreven biologische eigenschap van het DLBCL die gecorreleerd bleek met de respons op (R)-CHOP, is gebaseerd op het 'cell of origin' (COO)-concept; het celtypen waaruit het lymfoom ontstaat of waaraan het gerelateerd is. Het COO-concept is de basis van de oorspronkelijke Kiel-classificatie en speelt nog steeds een zeer belangrijke rol in de huidige WHO-classificatie. In 2000 beschreef de groep van Louis Staudt dat, op basis van genexpressieprofielen, het DLBCL uiteenvalt in 2 grote subklassen. Er is een moleculair subtype van het DLBCL dat karakteristiek heeft van de 'germinal centre B cell' (GCB-subtype). Dit subtype kan duidelijk worden onderscheiden van het DLBCL dat karakteristiek heeft van de 'activated B cell' (ABC-subtype).² Genen die bij het ABC-subtype hoog tot expressie komen zijn vooral genen die betrokken zijn bij de activatie van de NFκB-sigtaaltransductieroute, onder andere door signalering via de B-celreceptor. Bij het GCB-subtype is niet duidelijk een bepaalde sigtaaltransductieroute betrokken, maar komen genen tot expressie die betrokken zijn bij bescherming tegen apoptose. In totaal zijn nu zo'n 180 genen beschreven die betrokken zijn bij de classificering van GCB- en ABC-subtype lymfomen.

Versillen in expressieniveaus van genen kunnen onder andere worden veroorzaakt door mutaties en ook deze komen in verschillende frequenties voor bij het ABC-

en GCB-subtype. In het ABC-subtype worden typisch genmutaties gevonden die leiden tot constitutieve NFκB-activatie. Dit kan via verschillende sigtaaltransductieroutes zoals via B-celreceptoractivatie en 'Toll-like'-receptoren. Voorbeelden hiervan zijn mutaties in de genen die coderen voor CD79A, CD79B, MYD88 en CARD11. In het GCB-subtype komen typisch mutaties voor in histonmodificerende genen zoals het EZH2- en het MLL2-gen.³ Daarnaast komen bepaalde chromosomale translocaties ook bij voorkeur in een van de 2 subtypes voor. Zo komt de translocatie t(14;18) die het anti-apoptotisch BCL2 activeert, uitsluitend in het GCB-type voor.⁴

'Cell of origin': klinische consequenties en diagnostiek

Patiënten met een GCB-subtype DLBCL hebben na eerstelijns therapie met R-CHOP een betere prognose dan patiënten met een ABC-subtype DLBCL (totale overleving 2 jaar 80% vs. 40%).^{4,5} Tot voor kort heeft deze kennis van subtypen nog niet tot verandering van beleid geleid. Dat komt onder andere omdat het doen van genexpressieprofielen in de klinische praktijk lastig bleek; het was duur, kostte veel tijd en er was vers ingevroren materiaal voor nodig. Er is geprobeerd met surrogaatmarkers sneller een uitspraak te kunnen doen over ABC versus GCB. Hans et al. beschreven een algoritme op basis van immunohistochemische kleuring van formaline-gefixeerde biopten, gebruikmakend van CD10, BCL6 en MUM1.⁶ Aan deze methode kleven aanzienlijke bezwaren: de correlatie van immunohistochemie met uitkomsten van genexpressieprofielen is suboptimaal (70-80%), de reproduceerbaarheid laat zeer te wensen over en de correlatie met de klinische respons op R-CHOP verkregen met immunohistochemie is ook minder goed dan wanneer genexpressieprofielen worden gebruikt. Recentelijk is het bepalen van genexpressie ook uitvoerbaar geworden op formaline-gefixeerd paraffinemateriaal. Het is mogelijk dat dit voorlopig de meer betrouwbare standaard wordt (DASL, Nanostring).^{7,8} Het nadeel van deze methode is echter wel dat deze maar in een zeer beperkt aantal centra



Figuur 1. MYC-translocaties.

beschikbaar is, in tegenstelling tot immuunhistochemie. De eerste internationale studies die gebruikmaken van ‘upfront’-stratificatie op basis van ABC- of GCB-subtype zijn gestart en zullen ook binnenkort in Nederland gaan lopen (zie onder).

MYC-expressie

Naast de onderverdeling van het DLBCL naar COO is de laatste jaren duidelijk geworden dat de aanwezigheid van een MYC-translocatie en/of hoge expressie van het MYC-eiwit een zeer belangrijke negatieve invloed heeft op de prognose van patiënten met DLBCL.⁹⁻¹⁸

MYC-functie

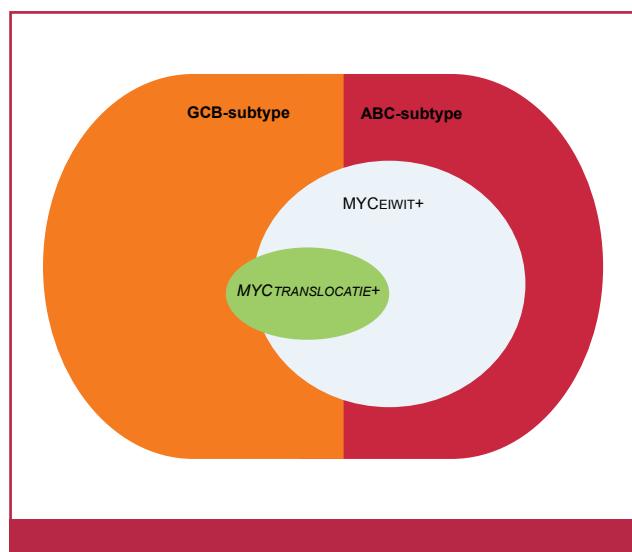
Onder normale omstandigheden is het MYC-gen een zogenoemd ‘early response gene’, wat betekent dat het direct ‘downstream’ functioneert van vele membraanreceptor-complexen. Het vervolgens afgelezen MYC-eiwit vormt een heterodimeer met MAX, bindt aan de promoterregio van zijn ‘target’-genen en functioneert zo als een belangrijke transcriptiefactor. Het transcriptieprogramma van zeker 10-15% van al onze genen wordt gereguleerd door MYC. Dit betreft onder andere genen die betrokken zijn bij celproliferatie, groei, DNA-replicatie en eiwitsynthese, maar ook bij apoptose en bij de regulatie van

een aantal micro-RNA’s die zijn betrokken bij tumor-suppressie.^{19,20} MYC bindt niet aan de promotors van ‘silent’ genen, dus MYC werkt alleen als activator van al lopende transcriptieprogramma’s. Op deze manier kan MYC-overexpressie in verschillende celtypen en ook in verschillende rijpingsfasen van 1 celtype (zoals in rijpe B-cellen en uitgerijpte plasmacellen) zeer uiteenlopende gevolgen hebben.

MYC-translocaties en eiwitexpressie

Het is van belang duidelijk te vermelden wat precies wordt bedoeld met MYC-expressie bij het DLBCL; hiermee worden meerdere omstandigheden beschreven (zie Tabel 1).

Het MYC-gen, gelegen op chromosoom 8q24, kan betrokken zijn bij een translocatie. Bij de bekende translocaties (t(8;14), t(2;8) en t(8;22)) ontstaat er een breuk in chromosoom 8 en wordt het MYC-gen gekoppeld aan de transcriptioneel actieve promotoren van immunoglobulinegenen (respectievelijk zware keten, kappa of lambda; zie Figuur 1). MYC kan ook aan andere genen worden gekoppeld. Deze translocaties kunnen met behulp van onder andere de fluorescente in-situ-hybridisatie (FISH)-techniek worden aangetoond. Indien een MYC-translocatie aanwezig is (een MYC^{TRANSLOCATIE+}-



Figuur 2. Correlatie tussen COO- en MYC-expressie. Bepaling van ‘cell of origin’ (COO) met behulp van genexpressieprofielen laat zien dat ongeveer 60% van de de-novo-DLBCL GCB-subtype betreft, de overige 40% is ABC-subtype.⁴ De meeste DLBCL met een MYC-translocatie zijn van het GCB-subtype (90% GCB vs. 10% ABC). Daarentegen zijn DLBCL met een hoge MYC-eiwitexpressie vooral van het ABC-subtype (66% ABC vs. 34% GCB).¹⁶

lymfoom), is er ook bijna altijd (bij 97-100%) een verhoogde expressie van het MYC-eiwit aantoonbaar met immunohistochemische kleuring; dit noemen we een MYCEIWIT⁺-lymfoom.

DLBCL en andere lymfomen met een MYC-translocatie

In de WHO-classificatie 2008 is een aantal entiteiten beschreven waarbij een MYC-translocatie een grote rol speelt. Omdat de behandeling van deze entiteiten verschilt, is het belangrijk de juiste diagnose te stellen.

- Het burkitt-lymfoom is een zeer nauw omschreven entiteit waarbij in >95% van de gevallen een MYC-translocatie wordt gevonden. Altijd betreft het een translocatie waarbij het MYC-gen en een immunoglobulinegen is betrokken, zonder (of met maximaal 1-2) andere genetische afwijkingen (MYC-‘single hit’ (SH) of ‘MYC simple’).
- Bij DLBCL worden MYC-translocaties gevonden bij 5-15% van alle de-novo-patiënten.⁹ Vrijwel altijd betreft het hier cytogenetisch complexe afwijkingen waarbij naast de MYC-translocatie in ongeveer 75% van de gevallen ook andere translocaties worden gevonden. Deze lymfomen met een MYC-translocatie worden wel ‘MYC complex’, en in geval van meerdere

translocaties ‘dubbel hit’ (DH) of ‘triple hit’ (TH)-lymfoom genoemd.

- In 2008 is in de WHO-classificatie een nieuwe categorie opgenomen; BCLU (‘B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma’). Dit is een vergaarbak voor lymfomen die om morfologische, immunohistochemische of genetische redenen of een combinatie daarvan niet goed te classificeren zijn als DLBCL of burkitt-lymfoom. In deze groep wordt in 35-58% van de gevallen een MYC-translocatie gevonden, waarvan in dat geval de meerderheid een DH- of TH-genotype is.²¹
- Daarnaast heeft ongeveer de helft van de zogenoemde plasmablastaire lymfomen een MYC-translocatie en krijgen ook vele multipel myelomen tijdens het ziektebeloop een afwijking waarbij het MYC-gen betrokken is.

Kliniek en prognose van patiënten met MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL

Terwijl de prognose van patiënten met burkitt-lymfoom (met een ‘single’ MYC-translocatie) goed is, mits behandeld met intensieve chemo-immunotherapie (totale overleving 72-95%), is de prognose van patiënten met MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL behandeld met R-CHOP juist relatief slecht (totale overleving na 2 jaar 35% versus 61% voor patiënten zonder MYC-translocatie).^{10,11,22,23} Ook in de recidiefsetting hebben patiënten met MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL na re-inductietherapie en autologe stamceltransplantatie een significant slechtere prognose dan patiënten met DLBCL zonder MYC-translocatie.²⁴ Op klinische gronden is het moeilijk de-novo-patiënten met een MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL te herkennen. Sommige studies laten zien dat patiënten met een MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL vaker een hogere IPI-score hebben dan MYCTRANSLOCATIE⁻-DLBCL-lymfomen; anderen vinden echter geen verschil.^{11,25} Ook morfologisch is er op basis van bijvoorbeeld *Ki67*- of *MUM1*-expressie geen goed onderscheid te maken. Patiënten met een MYCTRANSLOCATIE⁺-DLBCL zijn wel vaker primair refractair en hebben vaker een vroeg recidief: van deze patiënten blijkt ongeveer 50% een MYC-translocatie te hebben. Er lijkt geen verschil te zijn in prognose tussen DLBCL-patiënten met een SH en DH/TH.²⁶ Er lijkt ook geen biologisch verschil te zijn tussen DLBCL-SH en DH- of TH-lymfomen.²⁷

Kliniek en prognose patiënten met MYCEIWIT⁺-DLBCL

Zoals hierboven al beschreven, kan verhoogde expressie van het MYC-eiwit (MYCEIWIT⁺-DLBCL) ook voorkomen

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Patiënten met een ABC/non-GCB-subtype diffuus grootcellig B-cellymfoom (DLBCL) hebben een slechtere prognose dan patiënten met een GCB-subtype DLBCL.
2. Patiënten met een *MYC*-translocatie en patiënten met een hoge *MYC*- en *BCL2*-eiwitexpressie hebben een slechtere prognose dan patiënten zonder deze translocatie/hoge eiwitexpressie.
3. Nieuwe middelen zoals ibrutinib en lenalidomide blijken juist vooral werkzaam bij ABC/non-GCB-type DLBCL.
4. Binnenkort starten in Nederland 2 industrie-gesponsorde studies waarin patiënten met een ABC/non-GCB-subtype DLBCL worden gerandomiseerd tussen R-CHOP of R-CHOP plus ibrutinib of lenalidomide.
5. Binnen de groep patiënten met GCB-subtype DLBCL bevinden zich waarschijnlijk de meeste patiënten met een *MYC*-translocatie. Voor deze groep patiënten start binnenkort de HOVON 130-studie; in deze studie wordt ook lenalidomide toegevoegd aan R-CHOP.
6. De bepaling van ABC- en GCB-subtype met behulp van genexpressieprofielen zal voorlopig alleen in studieverband plaatsvinden.
7. De bepaling van de aanwezigheid van een *MYC*-translocatie met behulp van FISH wordt geadviseerd indien er therapeutische consequenties aan worden verbonden; om deze reden wordt nu in het kader van de HOVON 130-studie een landelijke screening naar de aanwezigheid van een *MYC*-translocatie bij DLBCL-patiënten opgezet.

zonder aantoonbaarheid van de bekende translocaties, bijvoorbeeld als gevolg van amplificaties, mutaties, micro-RNA-afhankelijke mechanismen of posttranscriptionele factoren. Er is (nog) veel discussie over de optimale afkapwaarde van de *MYC*-eiwitexpressie van tumorcellen in immunohistochemie; over het algemeen wordt nu een afkapwaarde van 40% of 50% positieve cellen gebruikt. Dus indien meer dan 40% of 50% van de maligne cellen aankeurt voor het *MYC*-eiwit, spreekt men van een *MYC*^{EIWIT+}-DLBCL. Met die afkapwaarde wordt *MYC*-eiwitexpressie bij ongeveer 30% van alle de-novo-DLBCL-patiënten gevonden.^{11,12,15}

Uit recentelijk gepubliceerde retrospectieve studies is duidelijk gebleken dat patiënten met *MYC*-eiwit⁺-DLBCL na behandeling met R-CHOP een slechte prognose hebben (totale overleving na 2 jaar 55-60% voor patiënten met *MYC*^{EIWIT+}-DLBCL versus 75-80% voor patiënten zonder hoge *MYC*-eiwitexpressie).¹²⁻¹⁶ Dit geldt vooral indien er naast een hoge expressie van het *MYC*-eiwit ook een hoge expressie van het anti-apoptotische *BCL2*-eiwit in de lymfoomcellen aanwezig is (DUBBELEIWIT⁺-DLBCL genaamd; zie *Tabel 1*, pagina 348). De totale overleving na 2 jaar is 40-45% voor patiënten met DUBBEL-

EIWIT⁺-DLBCL versus 70-80% voor patiënten zonder hoge *MYC*- en *BCL2*-eiwitexpressie.^{13,6}

Samenvattend: indien bij DLBCL wordt gekeken naar translocaties, is de aanwezigheid van uitsluitend een *MYC*-translocatie (ongeveer 10% van de-novo-patiënten) al voorspellend voor een slechte prognose op R-CHOP. Indien echter op eiwitniveau wordt gekeken, is vooral de combinatie van hoog *MYC*- en *BCL2*-eiwit (ongeveer 30% van de-novo-patiënten) voorspellend voor een slechte respons op R-CHOP.

MYC-expressie in relatie tot COO

De meeste DLBCL met een *MYC*-translocatie zijn van het GCB-subtype (90% GCB versus 10% ABC). Daarentegen zijn de DLBCL met een hoge *MYC*-eiwitexpressie vooral ABC-subtype (66% ABC versus 34% GCB; zie *Figuur 2*).^{12,16} In een recente studie is beschreven dat de aanwezigheid van hoge *MYC*- en *BCL2*-eiwitexpressie in alle gevallen een groep met een heel slechte prognose karakteriseert en dat ABC- of GCB-subtype hierin geen verder onderscheid meer maakt.¹⁶ Met andere woorden, in aanwezigheid van *MYC*- en *BCL2*-eiwitexpressie lijkt ABC- of GCB-subtype niet meer relevant te zijn.

Therapeutische consequenties voor de behandeling van het DLBCL in studieverband

Op dit moment zijn internationaal een aantal studies (bijna) lopend waarin zal worden gestratificeerd op COO. Patiënten met een ABC-subtype zullen dan aan R-CHOP iets toegevoegd krijgen, gericht op het attaqueren van de bij het ABC-subtype geactiveerde NF κ B-sigtaaltransductieroute (zoals bortezomib, ibrutinib of lenalidomide). Daarmee zullen patiënten met MYC^{EIWIT}⁺-DLBCL, die zoals boven beschreven meestal van het ABC-subtype zijn, een intensievere behandeling krijgen. Patiënten met een MYC^{TRANSLOCATIE}⁺-DLBCL, die vooral van het GCB-subtype zijn (en binnen de GCB-subtypegroep de slechtste prognose hebben) zullen hier dus echter buiten vallen. Dit betreft ongeveer een derde van de MYC^{EIWIT}⁺-DLBCL-patiënten (zie *Figuur 2*).

Het lijkt logisch om voor alle lymfomen waarin hoge MYC- en BCL2-eiwitexpressie een rol speelt (dus zowel degenen met MYC-translocaties als degenen die een hoge MYC- en BCL2-eiwitexpressie hebben) een therapie te ontwikkelen die ‘personalized’ is. Het MYC-eiwit zelf lijkt tot nu toe moeilijk als doelwit te gebruiken, maar voor BCL2 zijn er al wel mogelijkheden. Een orale BCL2-remmer is reeds in fase 3-studies bij CLL getest. Middelen die in vitro apoptose van MYC⁺-cellen induceren zijn lenalidomide, PI3 κ -remmers, mTOR-remmers en BET-bromodomainremmers.²⁸⁻³⁰ De haalbaarheid van combinatie van deze middelen met immuunchemotherapie wordt op dit moment onderzocht.

De belangrijkste stap die nu als eerste gezet zal moeten worden is dat alle patiënten in Nederland met DLBCL en BCLL worden gescreend op de aanwezigheid van een MYC-translocatie door middel van FISH en op een hoge MYC-eiwitexpressie met behulp van immunohistochemie. Hieraan wordt op dit moment binnen de HOVON-lymfoomwerkgroep hard gewerkt door hematologen en hemato-pathologen. Binnenkort zal de eerste studie starten (HOVON 130) waarin patiënten met een bewezen MYC-translocatie R-CHOP met lenalidomide zullen krijgen. Daarnaast heeft KWF/Alpe d’HuZes een subsidie toegekend voor de verdere ontwikkeling van een volgend behandelprotocol waarbij de screening van DLBCL-patiënten op MYC-translocaties en MYC-eiwitexpressie verder kan worden uitgebreid. In de zeer nabije toekomst wordt het daarmee mogelijk in Nederland deze subgroep van DLBCL-patiënten met hun verminderde prognose op R-CHOP al in de eerste lijn een betere behandeling aan te bieden.

Referenties

1. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, et al. Standard international prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010;28(14):2373-80.
2. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403(6769):503-11.
3. Bohers E, Mareschal S, Bouzeflen A, et al. Targetable activating mutations are very frequent in GCB and ABC diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2014;53(2):144-53.
4. 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(25):1937-47.
5. Lenz G, Wright GW, Emre NC, et al. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(36):13520-5.
6. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103(1):275-82.
7. Masque-Soler N, Szczepanowski M, Kohler CW, et al. Molecular classification of mature aggressive B-cell lymphoma using digital multiplexed gene expression on formalin-fixed paraffin-embedded biopsy specimens. *Blood* 2013;122(11):1985-6.
8. Scott DW, Wright GW, Williams PM, et al. Determining cell-of-origin subtypes of diffuse large B-cell lymphoma using gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue. *Blood* 2014;123(8):1214-7.
9. Aukema SM, Siebert R, Schuurings E, et al. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2011;117(8):2319-31.
10. Barrans S, Crouch S, Smith A, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol* 2010;28(20):3360-5.
11. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009;114(17):3533-7.
12. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012;30(28):3452-9.
13. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012;30(28):3460-7.
14. Kluk MJ, Chapuy B, Sinha P, et al. Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One* 2012;7(4):e33813.
15. Horn H, Ziepert M, Becher C, et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2013;121(12):2253-63.
16. Hu S, Xu-Monette ZY, Tzankov A, et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 2013;121(20):4021-31.

17. Tzankov A, Xu-Monette ZY, Gerhard M, et al. Rearrangements of MYC gene facilitate risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab-CHOP. *Mod Pathol* 2014;27(7):958-71.
18. Pery AM, Alvarado-Bernal Y, Laurini JA, et al. MYC and BCL2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Br J Haematol* 2014;165(3):382-91.
19. Dang CV. MYC on the path to cancer. *Cell* 2012;149(1):22-35.
20. Miller DM, Thomas SD, Islam A, et al. c-Myc and cancer metabolism. *Clin Cancer Res* 2012;18(20):5546-53.
21. Lin P, Dickason TJ, Fayad LE, et al. Prognostic value of MYC rearrangement in cases of B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. *Cancer* 2012;118(6):1566-73.
22. Linch DC. Burkitt lymphoma in adults. *Br J Haematol* 2012;156(6):693-703.
23. Dunleavy K, Pittaluga S, Shovlin M, et al. Low-intensity therapy in adults with Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2013;369(20):1915-25.
24. Cuccuini W, Briere J, Mounier N, et al. MYC+ diffuse large B-cell lymphoma is not salvaged by classical R-ICE or R-DHAP followed by BEAM plus autologous stem cell transplantation. *Blood* 2012;119(20):4619-24.
25. Niitsu N, Okamoto M, Miura I, et al. Clinical features and prognosis of de novo diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC translocations. *Leukemia* 2009;23(4):777-83.
26. Xuan J, Wang M, Nishitha M, et al. MYC gene single hit diffuse large B cell lymphoma behaves similarly to MYC/BCL2 double hit lymphoma and needs similar aggressive treatment. *ASH 2013*, abstract 4313.
27. Aukema SM, Kreuz M, Kohler CW, et al. Biologic characterization of adult MYC-translocation positive mature B-cell lymphomas other than molecular Burkitt lymphoma. *Haematologica* 2014;99(4):726-35.
28. Lopez-Girona A, Heintel D, Zhang LH, et al. Lenalidomide downregulates the cell survival factor, interferon regulatory factor-4, providing a potential mechanistic link for predicting response. *Br J Haematol* 2011;154(3):325-36.
29. Sander S, Calado DP, Srinivasan L, et al. Synergy between PI3K signaling and MYC in Burkitt lymphomagenesis. *Cancer Cell* 2012;22(2):167-79.
30. Delmore JE, Issa GC, Lemieux ME, et al. BET bromodomain inhibition as a therapeutic strategy to target c-Myc. *Cell* 2011;146(6):904-17.

Ontvangen 21 mei 2014, geaccepteerd 28 oktober 2014.