

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.033

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.033>

淋巴瘤二代测序技术研究进展

李玲¹ 综述 李文生² 审校

(1. 西安医学院, 西安 710068; 2. 陕西省人民医院病理科, 西安 710068)

[摘要] 下一代测序技术(next-generation sequencing, NGS)又称为高通量测序,能够在一次测试中对大量基因(数百至数千)进行测序,具有高通量、灵敏度高等优势。近年来,NGS在肿瘤基因突变检测、靶向治疗以及预后疗效判断等方面发挥重要作用,也逐渐被应用于探索淋巴造血肿瘤的分子发病机制以及指导临床诊疗,为多种淋巴瘤(经典型霍奇金淋巴瘤、Burkitt淋巴瘤、弥漫大B细胞淋巴瘤、NK/T细胞淋巴瘤等)的靶点检测、预后判断、发病机制研究、未知基因的检测等提供了准确有效的线索,在淋巴造血肿瘤的分子机制研究以及临床个性化精准治疗方面发挥重要作用。

[关键词] 下一代测序; 淋巴瘤; 基因突变

Advances in lymphoma next-generation sequencing technology

LI Ling¹, LI Wensheng²

(1. Xi'an Medical University, Xi'an 710068; 2. Department of Pathology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract The next generation sequencing (NGS) technology also known as high throughput sequencing, can sequence a large number of genes (hundreds to thousands) in one test, which has the advantages of high throughput and high sensitivity. In recent years, NGS has played an important role in detection of gene mutations, targeted therapy and judgment of the prognostic effect in tumor. It has also been gradually applied to explore the molecular pathogenesis of lymphoid and hematopoietic neoplasm and to guide clinical diagnosis and treatment. It provides accurate and effective clues for target detection, prognosis judgment, pathogenesis study, and detection of unknown genes of various types of lymphoma (classical Hodgkin's lymphoma, Burkitt lymphoma, diffuse large B-cell lymphoma, NK/T-cell lymphoma, etc.), and plays an important role in the study of molecular pathogenesis and clinical individualized and accurate treatment of lymphoid and hematopoietic neoplasm.

Keywords next-generation sequencing; lymphoma; gene mutation

收稿日期 (Date of reception): 2019-05-28

通信作者 (Corresponding author): 李文生, Email: liwensheng263@sohu.com

基金项目 (Foundation item): 陕西省重点研发计划项目 (2019SF-089)。This work was supported by Shaanxi Provincial Key Research and Development Foundation, China (2019SF-089).

DNA测序(DNA sequencing)作为一种重要的实验技术, 在生物学研究领域中被广泛应用。自1977年Sanger发明了具有里程碑意义的末端终止测序法以来, DNA测序技术至今广泛应用于基因病的基因诊断, 随着医学科学的不断进展, 传统的Sanger测序不能完全满足研究的需求, 因此通量更高、灵敏度更高、速度更快为优势的下一代测序技术(next-generation sequencing, NGS)逐渐取代了一代测序技术。近年来NGS也逐渐应用于淋巴瘤的精准诊断、基因突变及发病机制研究、预后监测等方面, 比如在经典型霍奇金淋巴瘤(classical Hodgkin lymphoma, CHL)、Burkitt淋巴瘤、弥漫大B细胞淋巴瘤、NK/T细胞淋巴瘤等的精准诊治以及分子机制研究方面都取得了一定进展, 本文对NGS应用于淋巴瘤诊断及研究中的进展作一综述。

1 非霍奇金淋巴瘤

1.1 Burkitt 淋巴瘤

WHO对Burkitt淋巴瘤(Burkitt lymphoma, BL)进行分类: 地方性(Endemic Burkitt lymphoma, EBL)、散发性(Sporadic Burkitt lymphoma, SBL)、免疫缺陷型, 不同的BL亚型具有其独特的流行病学和临床特征^[1]。Amato等^[1]通过RNAseq技术检测TCF3/ID3的突变情况及结合对免疫球蛋白(immunoglobulin, IGS)基因进行NGS分析来评估B细胞受体(B cell receptor, BCR)状态, 在约30%EBL病例中检测到TCF3/ID3突变, 这一比例明显低于SBL(64%), 提示对EBL而言, TCF3/ID3突变可能不是最主要的发病机制, 结合IGS的NGS分析显示EBL与SBL相比存在一个活跃的靶体细胞突变过程, 进一步提示驱动EBL与SBL发生、发展的因素存在不同, 即两者的BCR激活途径不一致, 且更多属于Wnt/ β -catenin/TCF3/ID3通路的基因可能也参与了EBL的发病过程, 进一步分析提示EBL的SHM(体细胞高突变状态)过程与SBL相比更具靶向性, 其中在EBL中存在多个具有相同VDJ和CD3的簇, 这些簇携带的EBL存在独特的体细胞突变, 表明这些不同的亚克隆在抗原选择性压力下进行扩增从而微调它们之间的BCR关系。EB病毒(Epstein-Barr Virus, EBV)中的EBV颗粒首次在BL培养的淋巴瘤细胞中被发现后, EBV及其编码分子也在其他疾病及肿瘤中检测到^[2]。Lei等^[3]研究发现: 利用NGS技术和便捷的计算工具CLC基因组工作平台, 即可在普通生物学实验室于基因组

水平上对培养中受支原体感染的人自发性永生体外周血B淋巴细胞进行快速识别、提取和鉴定其中的EBV基因组, 在一定程度加快诊断的速度和提高诊断的正确率。Forero-Castro等^[4]通过NGS结合比较基因组杂交技术对接受剂量密集型化疗后的BL患者进行TP53, TCF3(E2A), ID3和GNA13突变的评估, 发现11q, 13q, 15q或17p的缺失与利妥昔单抗(Burkimab)治疗的不良反应、无进展生存期(progression-free survival, PFS)和总生存期(overall survival, OS)较短有关, 其中TP53突变与较短的PFS相关, 而TCF3突变与较短的OS相关, 提示NGS技术可用于对接受Burkimab方案治疗的BL患者进行风险分层及预后评估。以往对Burkitt淋巴瘤进行全基因组和全外显子测序的研究^[5]显示: ID3突变和IG-MYC易位是Burkitt淋巴瘤发生的标志性分子事件, 但Momose等^[6]通过结合NGS和Sanger验证的方式进行实验, 发现在一些携带MYC易位的中心B细胞样弥漫大B细胞淋巴瘤病例中也可以检测到ID3突变, 甚至在BCL-U亚组(B细胞淋巴瘤, 无法分类, 特征介于BL和DLBCL之间)中, ID3突变频率高达67%, 与BL突变率(65%)相似, 说明ID3变异并非只发生在BL病例中。

1.2 弥漫大 B 细胞淋巴瘤

根据基因表达谱, 弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)亚型分2种亚型: 生发中心B细胞样(germinal centre B-like DLBCL, GCB)、活化B细胞样(activated B-cell like, ABC)^[7]。

ABC亚型的特点是BCR/NF- κ B通路的激活突变, 其中MYD88, CD79A/B和CARD11的频繁突变可由NGS测得^[8-10]。Dubois等^[8]结合NGS, 拷贝数变异分析和基因表达数据发现MYD88突变率为43%, 而Ngo等^[11]应用RNA测序等技术测得其突变率为29%。Choi等^[12]发现MYD88的过度表达与老龄和肿瘤复发有关, 且MYD88表达与DLBCL和非生发中心B细胞DLBCL无病生存期(disease-free survival, DFS)缩短相关。Dubois等^[8]研究发现: 存在CD79B突变的ABC DLBCL患者生存率显著提高, 同时还发现CD79B合并MYD88 L265P突变对于NF- κ B通路的激活有协同作用, 这个观点在Wilson等^[13]的研究中也得到了证实, 即ABC型中存在MYD88/CD79B双突变患者对ibrutinib(针对BCR/NF- κ B通路突变的抑制剂)的应答明显较好, 而单是MYD88或CD79B突变并不影响患者对ibrutinib的敏感性, NGS技术为BCR/NF- κ B通路突变的抑制剂使用提供了依据, 更好地实现了个

性化的治疗。有研究者^[14]发现CARD11突变可增强NF- κ B通路的激活突变, 且CARD11突变会降低BTK抑制剂(针对BCR/NF- κ B通路突变的抑制剂, 如ibrutinib)的抑制作用, 从而使肿瘤细胞产生耐药性, 即NGS为开发治疗DLBCL的CARD11药物抑制剂提供了线索^[15]。

GCB亚型的特点是BCL-2突变频繁, 其中EZH2, KMT2D(又称MII2, MII4)的频繁突变可由NGS测得^[10,16]。Morin等^[16]实验显示: EZH2突变发生在21.7%的GCB DLBCL和7.2%的滤泡性淋巴瘤中, 且不存在于ABC DLBCL中^[16], 但Pasqualucci等^[10]却发现在ABC患者中确实存在EZH2突变, 但是非常罕见。Lee等^[17]统计发现: EZH2的表达与生存具有很高的相关性, 在DLBCL中, EZH2高水平表达与低水平表达相比, OS较高, 且伴有EZH2高表达的ABC亚型总体存活率最高。目前KMT2D突变对淋巴瘤进展的生物学意义尚不清楚, Ortega-Molina等^[18]实验发现: KMT2D是一种肿瘤抑制因子, 其基因消融术可促进小鼠淋巴瘤的发展, 且KMT2D的缺陷还延缓了生发中心的退化, 阻碍了B细胞的分化和种类转换重组, 因此推测KMT2D突变后通过干扰控制B细胞激活途径的肿瘤抑制基因的表达来促进恶性肿瘤的生长。

1.3 血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤

血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤(angioimmunoblastic T-cell lymphoma, AITL)是一种特殊类型的外周T细胞淋巴瘤(peripheral T-cell lymphoma, PTCL)。在20%~30%的AITL患者中存在IDH2R172残基的各种非同义突变, 这些突变具有潜在的靶向性, 因此鉴定它们具有临床意义, 以往研究显示在日常实践中检测IDH2突变可能具有一定的难度, 但Dupuy等^[19]发现免疫组织化学和As-PCR或NGS相结合的方法是鉴定AITL中IDH2突变的有效分子检测方法。体细胞RHOA突变是AITL的一个遗传标志, 最常见c.50G>Tp.Gly17Val(G17VRHOA突变), 即检测G17VRHOA突变有助于AITL诊断, 联合应用NGS、微滴状数字PCR和肽核酸锁定核酸钳夹法能起到较好辅助诊断AITL作用^[20]。有研究者^[21]通过NGS方法于AITL患者中测得存在RHOA, TET2, IDH2, PLCG1和DNMT3A突变, 而其中的TET2, IDH2和DNMT3A的突变通常同时存在。TET2基因突变率最高, 其次是RHOA; 此外, 在AITL病例中, TET2和DNMT3A突变的变异等位基因频率高于RHOA突变, 实验还发现TET2和DNMT3A基因突

变之间没有关系。当然, 因肿瘤细胞含量, 序列覆盖率的不同可能导致各个研究报道之间差异较大, 其中除RHOA和IDH基因外, 其他基因, 尤其是TET2和DNMT3A的突变数量和功能都是可变的。

1.4 结外 NK/T 细胞淋巴瘤

近年来对NK/T细胞淋巴瘤(NK/T cell lymphoma, NK/TCL)的研究较多。在NK/TCL中, 利用NGS对其进行检测, 发现RNA解螺旋基因DDX3X、肿瘤抑制因子(TP53和MGA)、JAK-STAT-途径分子(STAT3和STAT5B)和表观遗传修饰剂(MII2, ARID1A, EP300和ASXL3)反复突变的频率最高, 但使用不同的检测方法可发现不同突变的频率差异很大, 如TP53在中国人群中, 传统的Sanger测序技术显示很高的突变频率, 为40%突变(20例中有8例突变)^[22], 而NGS检测突变中频率为13.3%(105例中的14例发生突变)^[23]。最近研究^[24]提供了证据表明DDX3X是TP53的靶点, 两者可以协同发挥抑制肿瘤作用, 推测DDX3X可能是NK/TCL增殖的负调节因子, 对NF- κ B和MAPK通路进行精细调控。Jiang等^[23]发现存在DDX3X和TP53基因突变的个体比没有这2种基因突变的个体预后差。最大二聚蛋白(MGA)是一种双特异性转录因子, 在最近的报道中, 对NK/TCL进行NGS检测发现了MGA突变, 在日本报告^[25]的25例病例中发现有2例(突变率8%), 而中国105例中有9例突变(突变率8.6%)^[23], 然而关于MGA突变率在NK/TCL中的潜在意义到目前为止还不清楚。由于在NK/TCL中JAK-STAT通路的改变是可变的, 所以JAK-STAT通路抑制的效果一直没有得到很好的评价, 但最近在JAK3A572V和JAK3A573V是NK/TCL的热点突变的基础上又发现了2个新的激活变异体(JAK3H583Y和JAK3G589D), 新的JAK3突变(JAK3H583Y和JAK3G589D)介导的Ba/F3细胞增殖不依赖于IL-3, 且受JAK3抑制剂tofacitinib的抑制, 新的JAK3突变在NK/TCL中具有致肿瘤性和药物依赖性, 通路抑制可能是JAK3或STAT3突变NKTCL患者的治疗选择^[26]。MII2基因具有抑制肿瘤生长作用。最近研究^[27]报道: KMT2D(又称MII2, MII4)是NK/TCL的一种新的驱动基因, 基于对NK/TCL中NGS的MII2改变, 发现了其无意义的突变和错义突变, 但对它们的功能作用知之甚少, 推测MII2可能在NK/TCL的发病或进展中起关键作用, 该突变可能在未来会成为NK/TCL的潜在生物标志物。

1.5 原发性中枢神经系统淋巴瘤

原发性中枢神经系统淋巴瘤(primary central nervous system lymphoma, PCNSL)是一种罕见且特殊的非霍奇金淋巴瘤,通过采用手术、放疗、化疗相结合综合治疗,其侵袭性高,复发率高,预后差^[28]。Fontanilles等^[29]研究表明:可通过NGS对PCNSL释放的循环游离DNA(cfDNA)进行靶向测序,可识别PCNSL患者的cfDNA中的体细胞突变,进而为其无创检测提供更多可能。Zhou等^[28]采用NGS检测PCNSL时发现突变频率最高的是PIM1,其次是MYD88, CD79B, KMT2D。而Zorofchian等^[30]研究显示:突变率最高的是MYD88,其次是CDKN2A/B和TP53,其中PIM1和MYD88的表达与生存不良有关,MYD88的过表达可能是一个独立的预后较差的OS时间预测因子,CD79B基因突变与短的PFS有关,GNA13基因突变与PCNSL患者的短的PFS和短的OS相关;同时该研究还发现在PCNSL中NF- κ B信号通路的突变占主导地位,在其通路中,PIM1和MYD88是最常见的突变,其次是BCR、表观相关和凋亡信号通路。与全身性ABC-DLBCL相比,CD79B和MYD88的突变率更高,提示针对BCR和MYD88信号的策略可能是治疗PCNSL的有希望的方法^[28]。突变PIM1显示稳定的蛋白表达和增强的NF- κ B信号转导。对体外ABC-DLBCL实验发现PIM1突变与内源性ibrutinib(BTK抑制剂)耐药有关,且PAN-PIM抑制剂联合ibrutinib治疗效果优于ibrutinib单药治疗,加之对于PCNSL的治疗很大程度上依赖于跨越血脑屏障的药物以及全脑辐射,且其效果明显低于全身性DLBCL的情况,提示对于PCNSL患者而言,筛选合适的PIM抑制剂候选药物,避免耐药性,可能会提高患者的治疗效果^[31]。

2 经典型霍奇金淋巴瘤

CHL由一种克隆性增生的HRS细胞(Hodgkin and Reed-Sternberg, HRS)构成,虽然HRS细胞来源于成熟的B细胞,但它们基本上失去了B细胞表型,无法表达免疫球蛋白/BCR和其他B细胞表面标志。在最近的关于HRS细胞的NGS分析^[32]中,许多变异体被发现,包括ABL1, B2M, CARD11, CSF2RB, MYB, NFKB2, NFKBIA和STAT6等。Mata等^[33]通过NGS观察到许多影响BCR通路的基因变体,如BTK, CARD11和BCL10,结合之前研究报告,如在CHL患者中大约20%存在BTK的表达^[34]。这些发现提示:即使BCR不被HRS

细胞表达,也可能需要通过激活BCR信号来确保CHL肿瘤细胞的存活,如BTK抑制剂体外抑制培养细胞的增殖导致细胞死亡为此提供了证据^[33]。当然我们也必须认识到BCR信号与典型NF- κ B通路之间的潜在重叠。此外,在不同的细胞模型中,也不能排除这些抑制剂的一些与BTK无关的效应,这使得我们很难得出明确的结论。NGS可能会为新的治疗方案提供可能思路,如ibrutinib作为一种不可逆的BTK抑制剂在CHL治疗中的临床价值得到部分证实^[35]。

3 结语

在精准医学时代,肿瘤的精准治疗有赖于精准诊断,精准诊断的核心就是肿瘤细胞高通量NGS,从而促进个体化精准治疗。近年新出现的NGS,建立于传统Sanger法上,以其高通量和较高的敏感性为特点,能够检测到未知新的突变,其中包括罕见突变。NGS技术为淋巴瘤的致病机制和新的诊疗方式带来了新的突破,提供了新的方法和思路。NGS技术为淋巴瘤的诊断、分类、靶向治疗及预后检测提供强有力的支持^[28]。目前NGS临床检测费用较高,但其实现自动化检测方面已经取得了较大进展,因此后续更多NGS应用的迅速扩张将降低成本费用,也会更加广泛应用于淋巴瘤的研究和临床治疗,为淋巴瘤患者提供更加精准的个体化治疗方案^[36]。

参考文献

1. Amato T, Abate F, Piccaluga P, et al. Clonality analysis of immunoglobulin gene rearrangement by next-generation sequencing in endemic Burkitt lymphoma suggests antigen drive activation of BCR as opposed to sporadic Burkitt lymphoma[J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 145(1): 116-127.
2. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma[J]. *Lancet*, 1964, 1(7335): 702-703.
3. Lei H, Li T, Hung GC, et al. Identification and characterization of EBV genomes in spontaneously immortalized human peripheral blood B lymphocytes by NGS technology[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 804.
4. Forero-Castro M, Robledo C, Lumbrales E, et al. The presence of genomic imbalances is associated with poor outcome in patients with Burkitt lymphoma treated with dose-intensive chemotherapy including rituximab[J]. *Br J Haematol*, 2016, 172(3): 428-438.

5. Richter J, Schlesner M, Hoffmann S, et al. Recurrent mutation of the ID3 gene in Burkitt lymphoma identified by integrated genome, exome and transcriptome sequencing[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(12): 1316-1320.
6. Momose S, Weißbach S, Pischmarov J, et al. The diagnostic gray zone between Burkitt lymphoma and diffuse large B-cell lymphoma is also a gray zone of the mutational spectrum[J]. *Leukemia*, 2015, 29(8): 1789-1791.
7. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling[J]. *Nature*, 2000, 403(6769): 503-511.
8. Dubois S, Vially PJ, Bohers E, et al. Biological and clinical relevance of associated genomic alterations in MYD88 L265P and non-L265P-mutated diffuse large b-cell lymphoma: analysis of 361 cases[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2232-2244.
9. Dubois S, Vially PJ, Mareschal S, et al. Next-generation sequencing in diffuse large B-Cell lymphoma highlights molecular divergence and therapeutic opportunities: a LYSA study[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(12): 2919-2928.
10. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(9): 830-837.
11. Ngo VN, Young RM, Schmitz R, et al. Ontogenically active MYD88 mutations in human lymphoma[J]. *Nature*, 2011, 470(7332): 115-119.
12. Choi JW, Kim Y, Lee JH, et al. MYD88 expression and L265P mutation in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Hum Pathol*, 2013, 44(7): 1375-1381.
13. Wilson WH, Young RM, Schmitz R, et al. Targeting B cell receptor signaling with ibrutinib in diffuse large B cell lymphoma[J]. *Nat Med*, 2015, 21(8): 922-926.
14. Lenz G, Davis RE, Ngo VN, et al. Oncogenic CARD11 mutations in human diffuse large B cell lymphoma[J]. *Science*, 2008, 319(5870): 1676-1679.
15. Nagel D, Bognar M, Eitelhuber AC, et al. Combinatorial BTK and MALT1 inhibition augments killing of CD79 mutant diffuse large B cell lymphoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(39): 42232-42242.
16. Morin RD, Johnson NA, Severson TM, et al. Somatic mutations altering EZH2 (Tyr641) in follicular and diffuse large B-cell lymphomas of germinal-center origin[J]. *Nat Genet*, 2010, 42(2): 181-185.
17. Lee HJ, Shin DH, Kim KB, et al. Polycomb protein EZH2 expression in diffuse large B-cell lymphoma is associated with better prognosis in patients treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone[J]. *Leuk Lymphoma*, 2014, 55(9): 2056-2063.
18. Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development[J]. *Nat Med*, 2015, 21(10): 1199-1208.
19. Dupuy A, Lemonnier F, Fataccioli V, et al. Multiple ways to detect IDH2 mutations in angioimmunoblastic T-Cell lymphoma from immunohistochemistry to next-generation sequencing[J]. *J Mol Diagn*, 2018, 20(5): 677-685.
20. Tanzima Nuhath S, Sakata-Yanagimoto M, Komori D, et al. Droplet digital polymerase chain reaction assay and peptide nucleic acid-locked nucleic acid clamp method for RHOA mutation detection in angioimmunoblastic T-cell lymphoma[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(5): 1682-1689.
21. Manso R, González-Rincón J, Rodríguez-Justo M, et al. Overlap at the molecular and immunohistochemical levels between angioimmunoblastic T-cell lymphoma and a subgroup of peripheral T-cell lymphomas without specific morphological features[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(22): 16124-16133.
22. Hoshida Y, Hongyo T, Jia X, et al. Analysis of p53, K-ras, c-kit, and beta-catenin gene mutations in sinonasal NK/T cell lymphoma in northeast district of China[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(3): 297-301.
23. Jiang L, Gu ZH, Yan ZX, et al. Exome sequencing identifies somatic mutations of DDX3X in natural killer/T-cell lymphoma[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(9): 1061-1066.
24. Wu DW, Lee MC, Wang J, et al. DDX3 loss by p53 inactivation promotes tumor malignancy via the MDM2/Slug/E-cadherin pathway and poor patient outcome in non-small-cell lung cancer[J]. *Oncogene*, 2014, 33(12): 1515-1526.
25. Dobashi A, Tsuyama N, Asaka R, et al. Frequent BCOR aberrations in extranodal NK/T-Cell lymphoma, nasal type[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2016, 55(5): 460-471.
26. Sim SH, Kim S, Kim TM, et al. Novel JAK3-activating mutations in extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(5): 980-986.
27. Choi S, Go JH, Kim EK, et al. Mutational analysis of extranodal NK/T-Cell lymphoma using targeted sequencing with a comprehensive cancer panel[J]. *Genomics Inform*, 2016, 14(3): 78-84.
28. Zhou Y, Liu W, Xu Z, et al. Analysis of genomic alteration in primary central nervous system lymphoma and the expression of some related genes[J]. *Neoplasia*, 2018, 20(10): 1059-1069.
29. Fontanilles M, Marguet F, Bohers É, et al. Non-invasive detection of somatic mutations using next-generation sequencing in primary central nervous system lymphoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(29): 48157-48168.
30. Zorofchian S, El-Achi H, Yan Y, et al. Characterization of genomic alterations in primary central nervous system lymphomas[J]. *J Neurooncol*, 2018, 140(3): 509-517.
31. Kuo HP, Ezell SA, Hsieh S, et al. The role of PIM1 in the ibrutinib-resistant ABC subtype of diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(11): 2489-2501.

32. Reichel J, Chadburn A, Rubinstein PG, et al. Flow sorting and exome sequencing reveal the oncogenome of primary Hodgkin and Reed-Sternberg cells[J]. *Blood*, 2015, 125(7): 1061-1072.
33. Mata E, Díaz-López A, Martín-Moreno AM, et al. Analysis of the mutational landscape of classic Hodgkin lymphoma identifies disease heterogeneity and potential therapeutic targets[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(67): 111386-111395.
34. Fernández-Vega I, Quirós LM, Santos-Juanes J, et al. Bruton's tyrosine kinase (Btk) is a useful marker for Hodgkin and B cell non-Hodgkin lymphoma[J]. *Virchows Arch*, 2015, 466(2): 229-235.
35. Hamadani M, Balasubramanian S, Hari PN. Ibrutinib in refractory classic Hodgkin's lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(14): 1381-1382.
36. Dubois S, Jardin F. The role of next-generation sequencing in understanding the genomic basis of diffuse large B cell lymphoma and advancing targeted therapies[J]. *Expert Rev Hematol*, 2016, 9(3): 255-269.

本文引用：李玲, 李文生. 淋巴瘤二代测序技术研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(10): 2309-2314. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.033

Cite this article as: LI Ling, LI Wensheng. Advances in lymphoma next-generation sequencing technology[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2019, 39(10): 2309-2314. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.10.033