

玻璃体视网膜淋巴瘤的诊断进展

田莎¹, 陈 锬², 王庆平¹

引用: 田莎, 陈锬, 王庆平. 玻璃体视网膜淋巴瘤的诊断进展. 国际眼科杂志 2022;22(9):1468-1472

作者单位: (200040) 中国上海市, 复旦大学附属华山医院¹ 眼科; ² 检验科

作者简介: 田莎, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 玻璃体视网膜淋巴瘤的诊断与发生机制。

通讯作者: 王庆平, 博士研究生, 主任医师, 教授, 研究方向: 玻璃体视网膜淋巴瘤的诊断与发生机制. wangqingping71@163.com

收稿日期: 2021-12-08 修回日期: 2022-07-29

摘要

玻璃体视网膜淋巴瘤(VRL)是罕见的恶性非霍奇金淋巴瘤,因无特异性临床表现,对其早期、正确地诊断仍面临很大的挑战。病理细胞学诊断是VRL诊断的金标准,但其诊断仍需要结合临床表现、影像学检查、免疫学及分子学检测等。随着诊断技术的进步,更加高效的细胞学检查及辅助诊断技术不断被探索。细胞因子及眼内淋巴瘤诊断的白介素评分(ISOLD)、髓样分化因子88(MYD88)基因突变及二代测序检测技术有良好的诊断效能而逐渐成为重要的辅助诊断手段及研究热点。

关键词: 玻璃体视网膜淋巴瘤; 诊断; 综述

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.9.10

Recent progress in the diagnosis of vitreoretinal lymphoma

Sha Tian¹, Kun Chen², Qing-Ping Wang¹

¹Department of Ophthalmology; ²Department of Clinical Laboratory, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China

Correspondence to: Qing - Ping Wang. Department of Ophthalmology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China. wangqingping71@163.com

Received: 2021-12-08 Accepted: 2022-07-29

Abstract

• Vitreoretinal lymphoma (VRL) is a rare and aggressive non-Hodgkin's lymphoma, and its early and correct diagnosis is still a great challenge because of its non-specific clinical presentation. For VRL diagnosis, pathological cytology is still the gold standard, but its diagnosis needs to combine with clinical manifestations, imaging features, immunological and molecular technology and so on. With the advancement of diagnostic technology, more efficient techniques of cytology and assistant diagnosis have been explored. Cytokines and interleukin score for intraocular lymphoma diagnosis (ISOLD), myeloid differentiation gene 88

(MYD88) mutation and next-generation sequencing have higher diagnostic accuracy, so they have gradually become important auxiliary diagnostic methods and research hotspots.

• KEYWORDS: vitreoretinal lymphoma; diagnosis; review

Citation: Tian S, Chen K, Wang QP. Recent progress in the diagnosis of vitreoretinal lymphoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(9):1468-1472

0 引言

玻璃体视网膜淋巴瘤(vitreoretinal lymphoma, VRL)是原发性中枢神经系统淋巴瘤(primary central nervous system lymphoma, PCNSL)的一种罕见亚型,其主要病理类型为弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large cell B-cell lymphomas, DLBCL),可累及玻璃体、视网膜及视神经^[1]。约60%~90%的VRL最终发展至中枢神经系统(central nervous system, CNS),同时15%~25%的PCNSL患者会出现眼内累及^[2]。

近年来一项涉及7个国家16个研究中心的广泛回顾性研究发现,VRL可以发生在免疫系统功能正常的成年人(24~85岁,中位年龄为63岁)^[3]。VRL的临床表现呈多样性,最常见症状为视物模糊、与眼部炎症程度不符的视力下降和飞蚊症^[4]。其常伪装成各种非特异性慢性和复发性葡萄膜炎,但对抗炎反应差。玻璃体混浊及视网膜下病灶是最为常见的临床体征。其中,较为特异性的体征为:(1)“北极光”:即恶性细胞沿玻璃体胶原纤维排列生长^[5-6];(2)“豹斑”:即恶性细胞聚集并在视网膜下形成色素病变^[7]。

虽然临床表现和体征可以提示该疾病,但VRL的明确诊断仍是需要通过玻璃体液细胞病理学检查,光镜下见到大量形态变异的异常大淋巴细胞样细胞增殖浸润,胞体大,胞质嗜碱性,核大、不规则或呈分叶状,核染色质粗糙,核仁大而明显。这是目前诊断VRL的金标准^[8]。玻璃体液的取样主要是通过玻璃体抽吸和玻璃体切割术进行,而这两种取样方法在技术上都具有极大的挑战性^[9]。具体来说,玻璃体液中的细胞数量低可导致再次重复取样,不仅给患者造成手术痛苦和疾病诊断的困难,还可能导致其眼部并发症的风险随着增加。此外,许多其他混杂因素(污染物、碎屑、坏死细胞和反应性免疫细胞)的存在是导致阳性预测值很低(<30%),假阴性率很高(>70%)的原因^[10-11]。因此,VRL的诊断仍面临很大的挑战,仍需要探索出更高效的细胞学检查方法及更多高效的辅助诊断技术。以下将从影像学诊断和实验室诊断两方面介绍VRL的诊断进展。

1 影像学诊断

1.1 眼底荧光素血管造影和吲哚菁绿造影 VRL的眼底

荧光素血管造影(fundus fluorescein angiographies, FFA)显示早期和晚期的斑驳、颗粒状低荧光病灶,晚期可具有典型的“豹斑外观”^[12-14]。然而,这样的豹纹斑点并不是VRL的独有特征,在非肿瘤性伪装综合征中也可出现类似表现^[13]。但Fardeau等^[13]研究发现VRL病灶在FFA显示的圆形的低荧光团簇病灶与眼底点状白色病变是相对应的,此外,吲哚菁绿造影(indocyanine green angiographies, ICGA)往往只在早期呈现出较FFA相对应但数量更少的圆形簇状低荧光病变。其FFA和ICGA联合诊断的阳性预测值为88.9%,阴性预测值为85%。若临床上高度疑似淋巴瘤时,行FFA及ICGA检查是非常有必要的。

1.2 光学相干断层扫描 VRL在光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)可显示视网膜色素上皮层(retinal pigment epithelium, RPE)损伤、RPE下高反射结节、椭圆体带连接中断、视网膜内层多处高反射性浸润灶和渗出性视网膜脱离^[15]。而黄斑水肿较少见。2019年Deak等^[16]首次在VRL患者的OCT中发现诊断的特异性表现:即二级和三级血管附近区域贯穿视网膜神经上皮全层的垂直高反射柱(vertical hyperreflective lesions, VHRL),这对VRL的诊断有重要提示意义。

1.3 眼底照相 VRL在眼底彩色照相中可观察到视网膜的乳脂样白色病灶,以及因此造成的“豹纹”样眼底,这一眼底表现在FFA中更加明显^[17]。此外,还可在眼底照相中看到视网膜脉络膜炎及血管炎的表现。

1.4 眼部B超 Lai等^[18]提出VRL在超声可见簇状密集点状高回声或偏心团块。B超扫描具有客观性、重复性好、描述性好、随访便捷等优势可用于VRL患者的初步筛查及随访^[18]。但眼部B超的表现不具有特异性,无法准确的区分葡萄膜炎和VRL。

1.5 眼底自发荧光 眼底自发荧光(fundus autofluorescence, FAF)可辅助识别眼内淋巴瘤的微小病灶,特别针对RPE被轻微破坏时^[19-20]。Ishida等^[21]研究者通过观察10例VRL患者18眼发现其中11眼(61%)出现异常荧光表现,其中FAF上的强自体荧光点、FFA上的弱荧光点和OCT的高反射点之间存在对应关系。此外,在淋巴瘤浸润消退的情况下,有可能会留下低自发荧光区域。虽然FAF的异常发现可能提示眼内累及未缓解,若无异常并不能排除VRL的缓解和复发。但因其为无创性检查,在评估患者视网膜下特征与VRL一致时,FAF可作为临床检查结果的补充。若与其他影像学检查联合有着重要提示作用。

1.6 共聚焦显微镜 VRL的临床特征主要局限于后段。仅部分VRL患者会有眼前节表现其中包括前房闪辉、角膜后沉着物(keratic precipitates, KPs)、假性前房积液及虹膜浸润病灶。这些体征往往易与葡萄膜炎混淆。Mahendradas等^[22]通过观察3例VRL患者6眼在共聚焦显微镜(*in vivo* confocal microscopy, IVCM)的眼前节表现结果中发现:所有眼均可见特有的KPs花型。这种花卉样图案是由一个非典型淋巴细胞(细胞大、核质比高、核仁明显)组成的高反射为中心,周围伴有花瓣状结构。根据花瓣状的完整程度可分为不完整和完整两种类型。患者经过眼科局部化疗后IVCM上KPs消失。因此,IVCM上KPs的表现可以认为是VRL中有用的诊断和治疗监测指标^[22]。但该研究样本量小缺乏对照,仍需更大样本量

的研究。且IVCM的应用可能仅限于有前段累及的肿瘤性伪装综合征。

各种影像学特异性表现尤其是多模影像的应用可以高度警示VRL,但VRL的明确诊断仍需病理学诊断的印证。

2 实验室诊断

2.1 细胞学诊断

2.1.1 包埋法 近年来的研究已经证实稀释的玻璃体液和未稀释的玻璃体液的诊断效能类似^[23-24],遂临床医师不需要为取未稀释的玻璃体液承担很大的风险。包埋法主要流程包括制备细胞块(大多数是离心取细胞沉渣),固定(可分为95%乙醇、丙酮、火胶棉)、脱水、包埋、切片,随后进行HE染色,观察染色效果。Zaldivar等^[24]首次将细胞块技术与传统的涂片细胞学检查诊断VRL效能进行比较,证明了细胞块法具有良好的诊断率,其敏感性和特异性分别为93.3%和100%。细胞块技术的主要优点是可用于特殊染色、免疫细胞化学染色和PCR检测^[25],并可具有回溯性研究。但至今缺少统一规范且高效的制备过程。

2.1.2 液基细胞学 液基细胞学因其具有较好的细胞保存率和可以减少固定及暴露空气中产生干燥的伪影和细胞溶解等问题,广泛应用于临床大多数细胞学标本,但在脑脊液及玻璃体液检查中应用较少。最近一项大型研究^[26]对比ThinPrep(液基薄层法)和甩片法在脑脊液中的应用证明两种方法的敏感性、特异性、诊断准确率和阴性预测值的评估相当,但ThinPrep的阳性预测值是100%,甩片法的阳性预测值是95%,ThinPrep的阳性预测值优于甩片法。这也为VRL玻璃体细胞学检查提供新思路。

2.1.3 甩片法(离心涂片法) 近年来许多研究显示,大多数玻璃体液进行细胞学检查使用的是甩片法,且玻片制备采用离心涂片机装置,可以更好地保存细胞形态。根据固定液的不同可分为95%乙醇、丙酮、甲醇、多聚甲醛及福尔马林固定,大多数文献研究中最常用的是95%乙醇,也有研究证明乙醇固定会使淋巴瘤细胞破坏更多^[27]。福尔马林固定的标本在免疫化学染色时需要进行抗原修复,在修复过程中可能出现细胞脱落的情况。华山医院采用丙酮固定后的免疫细胞化学染色进行诊断,但不能进行回溯性研究。

2.1.4 流式细胞学 流式细胞学可以定量分析各种细胞类型的百分比和绝对计数,有助于鉴别眼内淋巴瘤和免疫介导的葡萄膜炎^[11]。但流式细胞学通常受到检测样本中是否有完整的具有活性的细胞以及足够量细胞数的限制,甚至一些标本需要胶原酶处理后才能检测,经过酶处理后的样本可能导致一部分细胞的丢失。玻璃体样本常因其缺乏足够的细胞及出现大量破碎细胞而不能进行流式细胞学检测。一项对疑似VRL的细胞学评估和流式细胞学进行比较的前瞻性研究,其结果发现细胞学评估仍是诊断VRL的金标准,而流式细胞学只能为VRL的诊断提供有力的支持^[24]。

常见的细胞学诊断的方法有以上几种,如何提高细胞学的阳性率一直是临床医生和病理医师共同面对的难题。近年来,很多研究建议在诊断性玻璃体活检前停止使用全身性的皮质类固醇制剂,从淋巴瘤细胞浸润最密集的病灶部分获取肿瘤细胞,在样本处理前使用特殊培养基代替盐水^[28]来提高细胞活性和细胞学的诊断效率。因淋巴瘤细胞脆弱且易破碎^[25],快速处理标本对提高细胞学诊断率

也至关重要^[24,29]。此外,越来越多的研究表明细胞学联合免疫细胞化学染色可提高细胞学诊断阳性率^[25,30]。也有研究证明细胞学检查和流式细胞学检测的联合应用在诊断恶性肿瘤方面往往比单独使用这两种检测方法更敏感^[29]。

2.2 免疫学诊断 白介素-6(IL-6)是一种促炎细胞因子,在炎症条件下分泌,常见于葡萄膜炎^[31]。相比之下,IL-10是一种抗炎细胞因子,可促进B细胞淋巴瘤细胞增殖并抑制细胞凋亡^[32]。由于眼内(特别是玻璃体)样本在取样过程中可能被稀释,因此采用IL-10/IL-6比值对样本间不同稀释程度进行归一化。一些研究已经报道了利用IL-10和IL-10/IL-6比值成功区分淋巴瘤和葡萄膜炎^[5,33]。然而,一些研究也表明,低IL-10水平(目前尚无共识的界限)或IL-10/IL-6比值 <1 并不一定排除淋巴瘤^[34]。Costopoulos等^[35]提出了眼内淋巴瘤诊断的白介素评分(interleukin score for intra ocular lymphoma diagnosis, ISOLD),该模型在一个大型多中心欧洲队列中评估了由IL-6和IL-10水平引起PVRL的概率,具有高敏感性(93%)、特异性(95%)。Kuo等^[36]在其基础上训练和验证了一个新的单中心的逻辑回归模型。此模型较ISOLD模型具有更佳诊断效能,证明通过Logistic回归进行眼内细胞因子分析可能是一种很有前途的辅助细胞病理学的方法

2.3 分子学诊断

2.3.1 免疫球蛋白重链 免疫球蛋白重链(immunoglobulin heavy chain, IgH)重排及免疫球蛋白游离轻链kappa和lambda比率(κ/λ 比值):在正常的B细胞发育中,14号染色体编码两条IgH和两条免疫球蛋白轻链(Ig κ 和Ig λ)的基因片段重排^[37]。免疫球蛋白基因经过复杂的重排过程产生出不同的抗体编码序列,因此基因重排是随机的,细胞表现为多家族和多克隆。然而,VRL癌变B细胞的细胞株起源于单个细胞,遂表现为相同的基因重排^[38]。随着聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术的发展,多项研究已经确立了PCR检测眼内液(包括玻璃体液、房水及视网膜下液)及眼组织切片IgH基因重排作为玻璃体视网膜淋巴瘤的一种有价值的诊断检查^[5,34,38-40]。然而,迄今为止关于这项测试的最大规模的研究是由美国国立卫生研究院团队在2011年发表的,证明了其敏感性为100%,特异性为99%^[41]。此外,VRL通常由带有限制性 κ 或 λ 链的单克隆B细胞群组成。 κ/λ 比值 >3 或 <0.5 是淋巴瘤的高度敏感标记物^[42-44]。

2.3.2 微小核糖核酸 微小核糖核酸(microRNAs, miRNAs)是一种相对较小(长度为18~24个核苷酸)的非编码RNA,通过与靶mRNA结合,具有抑制基因翻译和降解mRNA的功能^[45]。miRNAs参与多种生物学过程,包括细胞增殖、分化、代谢、凋亡和肿瘤发生。miRNAs的失控表达在人类癌症中很常见。miRNAs还可以作为癌基因或肿瘤抑制因子。2014年,Tuo等^[46]将VRL患者和葡萄膜炎的玻璃体液和房水进行了比较,结果仅确定了miR-155的表达具有差异性,即VRL患者的样本中miR-155的水平明显低于葡萄膜炎组。Kakkassery等^[47]首次在PVRL患者的玻璃体标本中观察到miR-21、miR-19b和miR-92表达显著上调,对于区分VRL与葡萄膜炎具有重要意义。由于所需液体体积较小且只需要上清液,目标miRNA有望成为VRL诊断和监测的优选指标。

2.3.3 基因检测

2.3.3.1 单基因检测 髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MYD88)是一种通过Toll/IL-1信号通路激活NF- κ B表达的接合蛋白,据报道,MYD88突变在DLBCL频率较高,包括VRL和原发性中枢神经系统淋巴瘤(primary central nervous system lymphoma, PCNSL)。在这些淋巴瘤中,MYD88基因的第256位亮氨酸(CTG)到脯氨酸(CCG)的非同义点突变MYD88L265P,是最常见的突变,大约占 $>60\%$ ^[48-51]。最近,多项研究发现VRL玻璃体液中MYD88突变频率高达69%~87%^[52-53]。Miserochci等^[51]在VRL房水中发现MYD88的突变频率也高达75%,检测MYD88突变的方式从传统的灵敏度较低的PCR和Sanger测序法,到高分辨率熔体分析(high-resolution melt analysis, HRMA),再到等位基因PCR(allele-specific PCR, AS-PCR),再到近年来的液滴数字PCR(droplet digital PCR, ddPCR)的临床运用。ddPCR对VRL眼内液中MYD88L265p的检测显示了100%的特异性^[54], ddPCR的超灵敏能力不仅为VRL的诊断提供了一个很有前景的工具,而且也显示出了微创性诊断的可能^[55-56]。

2.3.3.2 二代测序 2017年,Cani等^[57]发表了第一个玻璃体视网膜淋巴瘤的二代测序(next-generation sequencing, NGS)研究。在3435个扩增子(126个基因)的偏置候选基因突变筛选中,研究4个玻璃体样本,这些扩增子优先选择体细胞反复改变的致癌基因、肿瘤抑制基因和高拷贝数改变的基因。除了MYD88基因突变外,该研究还发现了两个肿瘤抑制基因CDKN2A和PTEN的拷贝数丢失^[57]。此外,有研究表明,与PCNSL类似,VRL属于DLBCL的MCD/cluster 5亚组,MYD88、CD79B、PIM-1、IGLL5、BTG1/2、TBL1XR1和ETV6的突变频率较高,9p21/CDKN2A缺失也很常见^[58]。

2.3.3.3 单细胞测序 细胞MYD88分析能够揭示单个细胞中与MYD88WT、杂合或纯合MYD88L265P相对应的清晰且分辨率高的测序峰,为帮助VRL诊断提供了有用的遗传工具^[59]。单细胞DNA测序还可以帮助阐明来自中枢神经系统的细胞和眼睛之间的关系。

3 小结

综上所述,为了能更准确地诊断VRL,应该结合VRL的临床表现、影像学检查、细胞学检查加免疫学检测及分子生物学的检测结果综合判断。当临床怀疑VRL时,建议完善眼科多模式影像检查,包括眼底照相、OCT、FAF、FFA、ICGA和眼部B超。头颅增强MRI及全身正电子发射计算机断层扫描显像(positron emission tomography/computed tomography, PET/CT)对全身其它部位累及的排查也是有必要的。诊断性玻璃体切除术仍是诊断VRL的首选检查。最常推荐的细胞学检查法仍是离心涂片法,联合免疫组化可以提高细胞病理学诊断的准确性。眼内液细胞因子是强有力的辅助检查手段,但病毒性视网膜炎、弓形虫病等也会表现为IL-10的异常升高,从而导致VRL诊断的假阳性。目前轻链限制及IgH基因重排有助于临床的综合诊断,然而不是所有的B淋巴细胞淋巴瘤都能保持其形成细胞表面免疫球蛋白的能力。MYD88突变是PCNSL和VRL中的热点突变,高度怀疑VRL而没有找到细胞病理学、轻链限制及IgH基因重排的证据时,可通过检测MyD88突变的来辅助诊断,但不能完全替代细胞病

理学诊断。目前还可以通过高通量测序,甚至无偏倚的全外显子组测序及全基因组测序来诊断 VRL。近年来,测序技术的发展使临床对 VRL 转录组和基因组进行细致全貌分析成为了可能。

参考文献

- 1 Sobolewska B, Chee S, Zaguia F, *et al.* Vitreoretinal lymphoma. *Cancers* 2021;13(16):3921
- 2 Belhouachi N, Xochelli A, Boudjoghra M, *et al.* Primary vitreoretinal lymphomas display a remarkably restricted immunoglobulin gene repertoire. *Blood Adv* 2020;4(7):1357–1366
- 3 Grimm SA, Pulido JS, Jahnke K, *et al.* Primary intraocular lymphoma: an international primary central nervous system lymphoma collaborative group report. *Ann Oncol* 2007;18(11):1851–1855
- 4 Chan CC, Rubenstein JL, Coupland SE, *et al.* Primary vitreoretinal lymphoma: a report from an international primary central nervous system lymphoma collaborative group symposium. *Oncol* 2011; 16(11):1589–1599
- 5 Kimura K, Usui Y, Goto H, *et al.* Clinical features and diagnostic significance of the intraocular fluid of 217 patients with intraocular lymphoma. *Jpn J Ophthalmol* 2012;56(4):383–389
- 6 Marchese A, Miserocchi E, Giuffrè C, *et al.* Aurora borealis and string of pearls in vitreoretinal lymphoma: patterns of vitreous haze. *Br J Ophthalmol* 2019;103(11):1656–1659
- 7 Carbonell D, Mahajan S, Chee SP, *et al.* Consensus recommendations for the diagnosis of vitreoretinal lymphoma. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 29(3):507–520
- 8 Fend F, Ferreri AJM, Coupland SE. How we diagnose and treat vitreoretinal lymphoma. *Br J Haematol* 2016;173(5):680–692
- 9 Venkatesh R, Bavaharan B, Mahendradas P, *et al.* Primary vitreoretinal lymphoma: prevalence, impact, and management challenges. *Clin Ophthalmol* 2019;13:353–364
- 10 Coupland SE, Bechrakis NE, Anastassiou G, *et al.* Evaluation of vitrectomy specimens and chorioretinal biopsies in the diagnosis of primary intraocular lymphoma in patients with Masquerade syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003;241(10):860–870
- 11 Davis JL, Miller DM, Ruiz P. Diagnostic testing of vitrectomy specimens. *Am J Ophthalmol* 2005;140(5):822–829.e2
- 12 Cassoux N, Merle-Béral H, Leblond V, *et al.* Ocular and central nervous system lymphoma: clinical features and diagnosis. *Ocul Immunol Inflamm* 2000;8(4):243–250
- 13 Fardeau C, Lee CP, Merle-Béral H, *et al.* Retinal fluorescein, indocyanine green angiography, and optic coherence tomography in non-Hodgkin primary intraocular lymphoma. *Am J Ophthalmol* 2009;147(5):886–894,894.e1
- 14 Velez G, Chan CC, Csaky KG. Fluorescein angiographic findings in primary intraocular lymphoma. *Retina* 2002;22(1):37–43
- 15 Zhou M, Xu GZ. Recent progress in the diagnosis and treatment of primary vitreoretinal lymphoma. *Taiwan J Ophthalmol* 2016; 6(4):170–176
- 16 Deák GG, Goldstein DA, Zhou M, *et al.* Vertical hyperreflective lesions on optical coherence tomography in vitreoretinal lymphoma. *JAMA Ophthalmol* 2019;137(2):194–198
- 17 Touhami S, Audo I, Terrada C, *et al.* Neoplasia and intraocular inflammation: from masquerade syndromes to immunotherapy-induced uveitis. *Prog Retin Eye Res* 2019;72:100761
- 18 Lai J, Chen K, Shi HM, *et al.* B-scan ultrasound and cytology of the vitreous in primary central nervous system lymphoma with vitreoretinal involvement. *Int J Ophthalmol* 2019;12(6):1001–1007
- 19 Egawa M, Mitamura Y, Hayashi Y, *et al.* Spectral-domain optical coherence tomographic and fundus autofluorescence findings in eyes with primary intraocular lymphoma. *Clin Ophthalmol* 2014;8:335–341

- 20 Casady M, Faia L, Nazemzadeh M, *et al.* Fundus autofluorescence patterns in primary intraocular lymphoma. *Retina* 2014;34(2):366–372
- 21 Ishida T, Ohno-Matsui K, Kaneko Y, *et al.* Fundus autofluorescence patterns in eyes with primary intraocular lymphoma. *Retina* 2010;30(1):23–32
- 22 Mahendradas P, Srinivasan T, Kawali A, *et al.* Floral pattern of keratic precipitates in vitreoretinal lymphoma on *in vivo* confocal microscopy. *Ocul Immunol Inflamm* 2021;29(3):500–506
- 23 Kase S, Namba K, Iwata D, *et al.* Diagnostic efficacy of cell block method for vitreoretinal lymphoma. *Diagn Pathol* 2016;11:29
- 24 Zaldivar RA, Martin DF, Holden JT, *et al.* Primary intraocular lymphoma: clinical, cytologic, and flow cytometric analysis. *Ophthalmology* 2004;111(9):1762–1767
- 25 Intzedy L, Teoh SCB, Hogan A, *et al.* Cytopathological analysis of vitreous in intraocular lymphoma. *Eye* 2008;22(2):289–293
- 26 Straccia P, Fadda G, Pierconti F. Comparison between cytospin and liquid-based cytology in cerebrospinal fluid diagnosis of neoplastic diseases: a single institution experience. *Cytopathology* 2019; 30(2):236–240
- 27 Conlon MR, Craig I, Harris JF, *et al.* Effect of vitrectomy and cytopreparatory techniques on cell survival and preservation. *Can J Ophthalmol* 1992;27(4):168–171
- 28 Whitcup SM, Chan CC, Buggage RR, *et al.* Improving the diagnostic yield of vitrectomy for intraocular lymphoma. *Arch Ophthalmol* 2000;118(3):446
- 29 Margolis R, Brasil OFM, Lowder CY, *et al.* Vitrectomy for the diagnosis and management of uveitis of unknown cause. *Ophthalmology* 2007;114(10):1893–1897
- 30 Farkas T, Harbour JW, Dávila RM. Cytologic diagnosis of intraocular lymphoma in vitreous aspirates. *Acta Cytol* 2004;48(4):487–491
- 31 Murray PI, Hoekzema R, van Haren MA, *et al.* Aqueous humor interleukin-6 levels in uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31(5):917–920
- 32 Gupta M, Han JJ, Stenson M, *et al.* Elevated serum IL-10 levels in diffuse large B-cell lymphoma: a mechanism of aberrant JAK2 activation. *Blood* 2012;119(12):2844–2853
- 33 Wolf LA, Reed GF, Buggage RR, *et al.* Vitreous cytokine levels. *Ophthalmology* 2003;110(8):1671–1672
- 34 Sugita S, Takase H, Sugamoto Y, *et al.* Diagnosis of intraocular lymphoma by polymerase chain reaction analysis and cytokine profiling of the vitreous fluid. *Jpn J Ophthalmol* 2009;53(3):209–214
- 35 Costopoulos M, Touitou V, Golmard JL, *et al.* ISOLD: a new highly sensitive interleukin score for intraocular lymphoma diagnosis. *Ophthalmology* 2016;123(7):1626–1628
- 36 Kuo DE, Wei MM, Knickelbein JE, *et al.* Logistic regression classification of primary vitreoretinal lymphoma versus uveitis by interleukin 6 and interleukin 10 levels. *Ophthalmology* 2020;127(7):956–962
- 37 Dawson AC, Williams KA, Appukuttan B, *et al.* Emerging diagnostic tests for vitreoretinal lymphoma: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 2018;46(8):945–954
- 38 Chan CC. Molecular pathology of primary intraocular lymphoma. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2003;101:275–292
- 39 Baehring JM, Androudi S, Longtine JJ, *et al.* Analysis of clonal immunoglobulin heavy chain rearrangements in ocular lymphoma. *Cancer* 2005;104(3):591–597
- 40 Coupland SE, Hummel M, Müller HH, *et al.* Molecular analysis of immunoglobulin genes in primary intraocular lymphoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(10):3507
- 41 Wang YJ, Shen DF, Wang VM, *et al.* Molecular biomarkers for the diagnosis of primary vitreoretinal lymphoma. *Int J Mol Sci* 2011;12(9):5684–5697

- 42 Kawano-Yamamoto C, Muroi K, Izumi T, *et al.* Two-color flow cytometry with a CD19 gate for the evaluation of bone marrow involvement of B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2002;43(11):2133-2137
- 43 Davis JL. Intraocular lymphoma: a clinical perspective. *Eye* 2013;27(2):153-162
- 44 Nakahara H, Kaburaki T, Tanaka R, *et al.* Monoclonal immunoglobulin heavy chain gene rearrangement in Fuchs' uveitis. *BMC Ophthalmol* 2018;18(1):74
- 45 Liu JD. Control of protein synthesis and mRNA degradation by microRNAs. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20(2):214-221
- 46 Tuo JS, Shen DF, Yang HH, *et al.* Distinct microRNA - 155 expression in the vitreous of patients with primary vitreoretinal lymphoma and uveitis. *Am J Ophthalmol* 2014;157(3):728-734
- 47 Kakkassery V, Schroers R, Coupland SE, *et al.* Vitreous microRNA levels as diagnostic biomarkers for vitreoretinal lymphoma. *Blood* 2017;129(23):3130-3133
- 48 Dubois S, Viailly 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. *Blood* 2016;128(22):4097
- 49 Ngo VN, Young RM, Schmitz R, *et al.* Oncogenically active MYD88 mutations in human lymphoma. *Nature* 2011;470(7332):115-119
- 50 Avbelj M, Wolz OO, Fekonja O, *et al.* Activation of lymphoma-associated MyD88 mutations via allostery - induced TIR - domain oligomerization. *Blood* 2014;124(26):3896-3904
- 51 Miserocchi E, Ferreri AJM, Giuffrè C, *et al.* MYD88 L265P mutation detection in the aqueous humor of patients with vitreoretinal lymphoma. *Retina* 2019;39(4):679-684
- 52 Pulido JS, Salomao DR, Frederick LA, *et al.* MyD - 88 L265P mutations are present in some cases of vitreoretinal lymphoma. *Retina* 2015;35(4):624-627
- 53 Raja H, Salomão DR, Viswanatha DS, *et al.* Prevalence of myd88 L265p mutation in histologically proven, diffuse large b-cell vitreoretinal lymphoma. *Retina* 2016;36(3):624-628
- 54 Hiemcke - Jiwa LS, Ten Dam - van Loon NH, Leguit RJ, *et al.* Potential diagnosis of vitreoretinal lymphoma by detection of MYD88 mutation in aqueous humor with ultrasensitive droplet digital polymerase chain reaction. *JAMA Ophthalmol* 2018;136(10):1098-1104
- 55 Shi HM, Zhou X, Chen BB, *et al.* Clinical relevance of the high prevalence of MYD88 L265P mutated vitreoretinal lymphoma identified by droplet digital polymerase chain reaction. *Ocul Immunol Inflamm* 2021;29(3):448-455
- 56 Hattori K, Sakata - Yanagimoto M, Suehara Y, *et al.* Clinical significance of disease-specific MYD88 mutations in circulating DNA in primary central nervous system lymphoma. *Cancer Sci* 2018;109(1):225-230
- 57 Cani AK, Hovelson DH, Demirci H, *et al.* Next generation sequencing of vitreoretinal lymphomas from small - volume intraocular liquid biopsies: new routes to targeted therapies. *Oncotarget* 2017;8(5):7989-7998
- 58 Bonzheim I, Sander P, Salmerón-Villalobos J, *et al.* The molecular hallmarks of primary and secondary vitreoretinal lymphoma. *Blood Adv* 2022;6(5):1598-1607
- 59 Tan WJ, Wang MM, Ricciardi - Castagnoli P, *et al.* Single - cell MYD88 sequencing of isolated B cells from vitreous biopsies aids vitreoretinal lymphoma diagnosis. *Blood* 2019;134(8):709-712