

基因重排检测技术联合玻璃体液中 IL-10 和 IL-6 检测对 PIOL 的诊断价值

吕永川¹, 彭金萍², 管英朝³, 张阳¹, 张淑清¹, 树玲博¹, 陶勇⁴

引用: 吕永川, 彭金萍, 管英朝, 等. 基因重排检测技术联合玻璃体液中 IL-10 和 IL-6 检测对 PIOL 的诊断价值. 国际眼科杂志 2021;21(7):1162-1165

作者单位:¹(053000) 中国河北省衡水市第四人民医院眼科;
²(053000) 中国河北省衡水市妇幼保健院眼科;³(053000) 中国河北省衡水市第二人民医院眼科;⁴(100027) 中国北京市, 首都医科大学附属北京朝阳医院眼科

作者简介: 吕永川, 本科, 副主任医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 吕永川. Lvyongchuan1977@163.com

收稿日期: 2020-09-06 修回日期: 2021-06-09

摘要

目的: 研究基因重排检测技术联合玻璃体液中白介素-10 (IL-10)、白介素-6 (IL-6) 细胞因子检测对原发性眼内淋巴瘤 (PIOL) 的诊断价值。

方法: 研究对象为本院 2015-01/2019-12 收治的拟诊断为 PIOL 患者 27 例的临床资料, 经诊断性玻璃体切割术病理检查确诊 PIOL 患者 21 例, 葡萄膜炎 6 例; 回顾性分析其基因重排检测结果及玻璃体液中 IL-10、IL-6 水平, 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析基因重排检测技术、玻璃体液中 IL-10、IL-6 水平及两者联合对 PIOL 的诊断价值。

结果: 纳入的 21 例 PIOL 患者中, 15 例 I_hH FR2 单克隆性重排序列, 阳性率为 71% (15/21); 4 例检出 TCRG 克隆性基因重排序列; 经 ROC 曲线分析显示基因重排检测技术诊断 PIOL 的曲线下面积值 (AUC) 为 0.857, 敏感性、特异性分别为 71.43%、100.00%; PIOL 患者玻璃体液中 IL-10 及 IL-10/IL-6 水平均显著高于葡萄膜炎患者, 但两种病变患者 IL-6 水平无差异 ($P>0.05$); 经 ROC 曲线分析显示 IL-10 诊断 PIOL 的 AUC 值最高, 以 170.90pg/mL 为 IL-10 的 cut-off, 其诊断 PIOL 的敏感性、特异性分别为 66.67%、100.00%; 而以 1.95 为 IL-10/IL-6 比值的 cut-off, 其诊断 PIOL 的敏感性为 52.40%、特异性为 100.00%; 基因重排检测技术联合玻璃体液中 IL-10、IL-10/IL-6 水平检测诊断 PIOL 的 AUC 为 0.893, 敏感性、特异性分别为 95.24%、83.33%。

结论: 单一基因重排检测技术诊断 PIOL 敏感性欠佳, 联合玻璃体液中 IL-10、IL-6 水平检测可获得更佳诊断敏感性, 且特异性良好。

关键词: 原发性眼内淋巴瘤; 基因重排检测技术; 细胞因子; 白介素-10; 白介素-6

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.7.05

Analysis of the diagnostic value of gene rearrangement detection combined with vitreous fluid IL-10 and IL-6 cytokine detection for primary intraocular lymphoma

Yong-Chuan Lyu¹, Jin-Ping Peng², Ying-Chao Guan³, Yang Zhang¹, Shu-Qing Zhang¹, Ling-Bo Shu¹, Yong Tao⁴

¹Department of Ophthalmology, the Fourth People's Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, Hebei Province, China;

²Department of Ophthalmology, Maternal and Child Health Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, Hebei Province, China;

³Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, Hebei Province, China;

⁴Department of Ophthalmology, Beijing Chao-Yang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100027, China

Correspondence to: Yong-Chuan Lyu. Department of Ophthalmology, the Fourth People's Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, Hebei Province, China. Lvyongchuan1977@163.com

Received:2020-09-06 Accepted:2021-06-09

Abstract

• **AIM:** To study the diagnostic value of gene rearrangement detection combined with vitreous fluid interleukin-10 (IL-10) and interleukin-6 (IL-6) cytokine detection for primary intraocular lymphoma (PIOL).

• **METHODS:** A total of 27 patients with suspected PIOL who were admitted to the hospital between January 2015 and December 2019 were enrolled in this study according to the inclusion and exclusion criteria. Totally 21 cases of PIOL and 6 cases of uveitis were diagnosed by pathological examination of diagnostic vitrectomy. Results of gene rearrangement and cytokine levels were retrospectively analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to analyze the diagnostic value of gene rearrangement, cytokines detection and the combination of the two in PIOL.

• **RESULTS:** Of the 21 patients with PIOL, 15 had I_hH FR2 monoclonal rearrangement, with a positive rate of 71% (15/21), and 4 were detected with TCRG clonal gene rearrangement. ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of gene rearrangement for diagnosis of PIOL was 0.857. Its sensitivity and specificity

were 71.43% and 100.00%. Patients with PIOL had significantly higher vitreous humor IL-10 and IL-10/IL-6 levels than those with uveitis, but no statistically significant difference was found in the IL-6 level between the two groups ($P>0.05$). ROC curve analysis showed that the AUC of IL-10 was the highest for diagnosis of PIOL. With 170.90pg/mL as the cut-off value, its sensitivity and specificity of IL-10 in diagnosing PIOL were 66.67% and 100.00%, respectively. With 1.95 as the cut-off value, the sensitivity and specificity of IL-10/IL-6 ratio in diagnosing PIOL were 52.40% and 100.00%. The AUC, sensitivity and specificity of gene rearrangement combined with cytokines detection in diagnosing PIOL were 0.893, 95.24% and 83.33%, respectively.

• **CONCLUSION:** The sensitivity of gene rearrangement alone is poor in diagnosing PIOL. Combined use of cytokines detection can improve the diagnostic sensitivity and specificity.

• **KEYWORDS:** primary intraocular lymphoma; gene rearrangement; cytokine; interleukin-10; interleukin-6

Citation: Lyu YC, Peng JP, Guan YC, *et al.* Analysis of the diagnostic value of gene rearrangement detection combined with vitreous fluid IL-10 and IL-6 cytokine detection for primary intraocular lymphoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(7):1162-1165

0 引言

原发性眼内淋巴瘤 (primary intraocular lymphoma, PIOL) 是发生于眼内组织的淋巴瘤, 属原发性中枢神经系统淋巴瘤亚型, 本病多见于老年人, 以视物模糊、眼前黑影漂浮感为主要临床表现^[1]。PIOL 病因复杂, 临床表现多样, 且无标准治疗方案, 数据报道约 80% 的患者随着病情发展可累及中枢神经系统而致死, 预后较差, 及时诊断并开展放射治疗、化学治疗等方式是取得生存获益的关键^[2-3]。但 PIOL 可获取的标本量相对较少, 临床诊断及病理诊断均存在困难。探索有效的 PIOL 诊断方式至关重要。淋巴细胞抗原受体基因重排是淋巴瘤的重要辅助诊断方式之一, 但检测过程复杂、影响因素繁杂, 并在一定程度上影响检测灵敏度^[4]。玻璃体液及房水中细胞因子检测也是 PIOL 的重要辅助诊断方式, 有研究指出检测眼内白介素-10 (interleukin-6, IL-10) 及 IL-10/白细胞-6 (interleukin-6, IL-6) 比值可辅助诊断 B 细胞淋巴瘤^[5-6]。鉴于此, 本研究拟将基因重排检测技术结合检测玻璃体液 IL-10、IL-6 水平用于 PIOL 的诊断, 分析其诊断价值, 以期 PIOL 的临床诊断提供试验依据。

1 对象和方法

1.1 对象 回顾性分析。研究对象为 2015-01/2019-12 在本院收治的拟诊 PIOL 患者 27 例, 其中经诊断学玻璃体切割手术检查确诊 PIOL 21 例 21 眼, 葡萄膜炎患者 6 例 6 眼。PIOL 组中男 11 例, 女 10 例, 年龄 31~75 (中位数 53) 岁, 均为弥漫大 B 细胞淋巴瘤。葡萄膜炎组中男 4 例, 女 2 例, 年龄 25~69 (中位数 51) 岁, 前葡萄膜炎 4 例, 全葡萄膜炎 2 例, 急性期 3 例, 慢性期 3 例。纳入标准: (1) 经诊断性玻璃体切割术病理检查确诊; (2) 接受过基因重排检

测及玻璃体液中 IL-10、IL-6 水平, 且检测前未接受过药物、手术等治疗方式干预; (3) 病历资料完整。排除标准: (1) 病理检查确诊为中枢神经系统淋巴瘤眼内转移瘤; (2) 双眼病变; (3) 全身其他系统性淋巴瘤病变。本研究符合《赫尔辛基宣言》相关要求。所有患者知情同意, 经过医院伦理委员会审批通过。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂盒 基因组 DNA 提取试剂盒购自根生化科技 (北京) 有限公司; 基因测序平台为 Life Techploxy 技术平台; Lympho Track Dx IGH FR2 Assay 基因重排检测验证试剂盒、Lympho Track Dx TCRG Assay 基因重排检测验证试剂、IgH、TCRG 基因重排检测试剂盒均购自美国 Invivo Scribe 公司; 酶联免疫吸附法试剂盒购自尚柏生物医学技术 (北京) 有限公司; Spectra Max i3x 多功能酶标仪购自美谷分子仪器 (上海) 有限公司。

1.2.2 基因重排检测 所有患者均接受玻璃体切割手术, 未灌注时切除并收集核心玻璃体 1.5~2.0mL, 指压方式维持相对稳定压力, 获取标本后灌注平衡液维持眼内压, 切除剩余玻璃体。取玻璃体标本至 Eppendorf 管, 基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 安捷伦 4200 评价所提取 DNA 质量, 进行 PCR 扩增。扩增反应体: Master Mix 45 μ L, AmpliTaq Gold Taq 0.2 μ L, DNA 5 μ L, 总体积 50 μ L; 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 7min、95 $^{\circ}$ C 45s、60 $^{\circ}$ C 45s、72 $^{\circ}$ C 90s, 循环数 29 个; 72 $^{\circ}$ C 10min。而后采用 AMPure XP 方法纯化 PCR 产物, 安捷伦 4200 对 DNA 进行定量。NEXT-flex DNA Barcords 及 NEXTflex PCR free DNA 测序试剂盒构建 DNA 文库, 乳液 PCR 制备模板, 将文库上载 Ion 316 芯片, 上 Ion PGM 机测序, 测序结束后将导出的 FASTQ 文件直接导入 Lympho Track Dx PGM Software Dx 软件完成数据分析, 将最终结果导入 EXCEL 表格; 参照文献^[7]对结果进行克隆判定。

1.2.3 细胞因子检测 取 0.7~1.0mL 玻璃体液至 Eppendorf 管, 15 000r/min 条件下离心 10min, 酶联免疫吸附法测定玻璃体液中细胞因子 IL-10 (正常范围 0~50.0pg/mL)、IL-6 (1.0~50.0pg/mL) 水平; Spectra Max M45 酶标仪测定各孔吸光度, 波长 450nm, 以标准品浓度为横坐标, 吸光度值为纵坐标绘制标准曲线, 计算玻璃体液中 IL-10、IL-6 含量。

统计学分析: 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 不符合正态分布数据采用 P_{50} (P_{25} , P_{75}) 描述, 两组间比较采用非参数检验; 计数资料采用例或百分比 (%) 描述; 诊断价值采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析, ROC 曲线下面积比较采用 Z 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 上机测序及测序结果分析 纳入 PIOL 患者 21 例中, 15 例 IGH FR2 单克隆性重排序列, 阳性率 71% (15/21), 均可获得基因重排的基因序列; 4 例检出 TCRG 克隆性基因重排序列; 其余 6 例标本未能检出 IgH FR2 单克隆序列。而 6 例确诊为葡萄膜炎的标本中均未见 IGH FR2、TCRG 单克隆性重排序列, FR2、TCRG 均为多克隆性, DNA 电泳图见图 1。经 ROC 曲线分析显示基因重排检测 PIOL 的 AUC 为 0.857 (0.669~0.961), $Z=7.071$, $P<0.001$; 约登指数 0.714, 敏感性、特异性分别为 71.43%、100.00%, 见图 2。

表1 两组患者细胞因子水平检测结果

分组	例数	IL-10 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IL-10/IL-6
PIOL 组	21	254.78(159.58,354.71)	155.49(132.39,165.93)	2.15(0.70,3.92)
葡萄膜炎组	6	162.46(149.61,165.29)	143.52(120.40,159.81)	0.78(0.40,1.11)
Z		2.654	0.991	1.969
P		0.036	0.321	0.049

$P_{50}(P_{25}, P_{75})$

表2 细胞因子水平诊断 PIOL 的 ROC 曲线分析结果

细胞因子	AUC	95%CI	Z	P	约登指数	Cut-off	敏感性(%)	特异性(%)
IL-10	0.762	0.560~0.903	2.916	0.003	0.666	170.90pg/mL	66.67	100.00
IL-6	0.635	0.429~0.910	1.049	0.294	0.309	155.54pg/mL	47.62	83.33
IL-10/IL-6	0.698	0.493~0.859	2.005	0.045	0.523	1.95	52.40	100.00

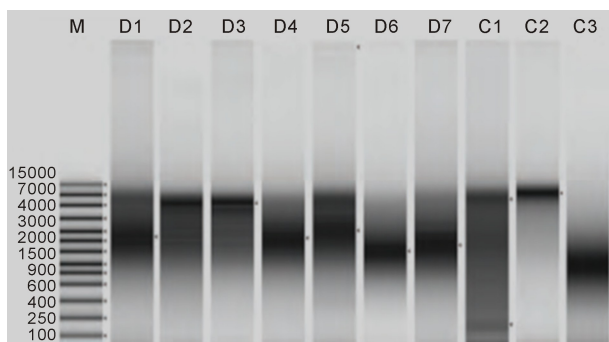


图1 组织 DNA 电泳图 M: Marker; D1~D7: PIOL 组; C1~C3: 葡萄膜炎组。

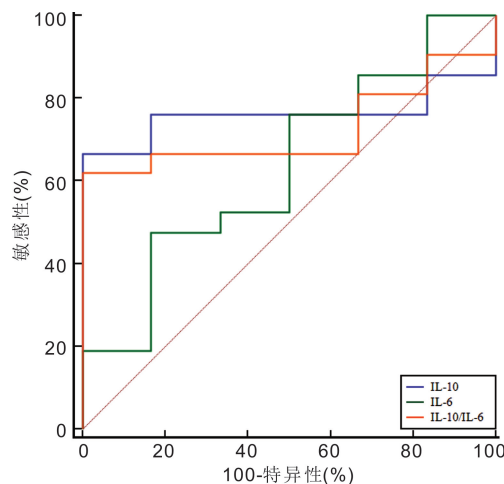


图3 细胞因子水平诊断 PIOL 的 ROC 曲线分析。

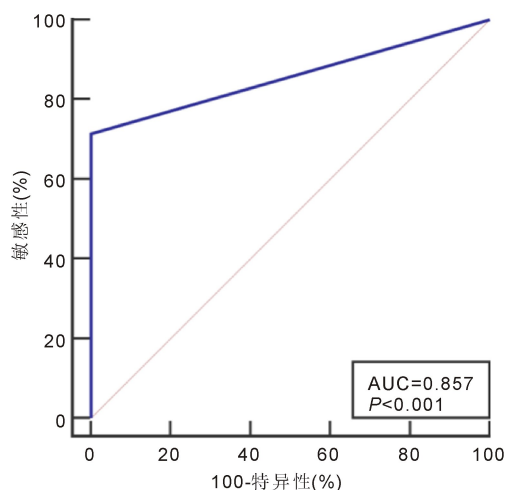


图2 基因重排检测 PIOL 诊断 PIOL 的 ROC 曲线分析。

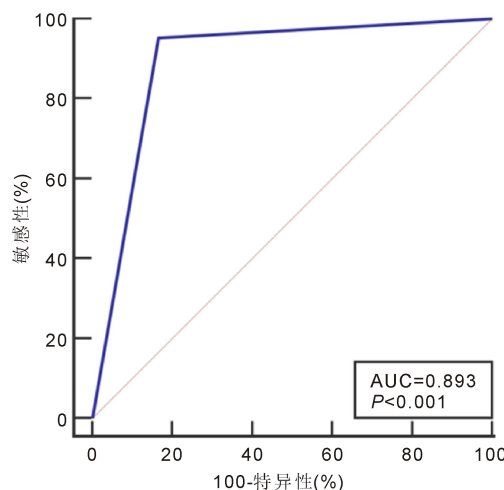


图4 基因重排检测联合细胞因子水平诊断 PIOL 的 ROC 曲线分析。

2.2 细胞因子水平检测结果 PIOL 患者玻璃体液 IL-10 及 IL-10/IL-6 水平均显著高于葡萄膜炎患者,差异有统计学意义($P<0.05$),但两组患者 IL-6 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$);ROC 曲线分析显示 IL-6 诊断 PIOL 效能不佳,IL-10 诊断 PIOL 的 AUC 值最高,以 170.90pg/mL 为 IL-10 的 cut-off,其诊断 PIOL 的敏感性、特异性分别为 66.67%、100.00%;以 1.95 为 IL-10/IL-6 比值的 cut-off,其诊断 PIOL 的敏感性为 52.40%、特异性为 100.00%,见表 1~2,图 3。

2.3 基因重排检测联合细胞因子水平诊断 PIOL 的 ROC 曲线分析 基因重排检测阳性、IL-10 > 170.90pg/mL、IL-10/IL-6 比值 > 1.95 中满足任意条件即判定为 PIOL,经 ROC 曲线分析显示基因重排检测联合细胞因子诊断 PIOL 的 AUC 为 0.893(0.713~0.978), $Z=4.553$, $P<0.001$,

约登指数 0.785,敏感性、特异性分别为 95.24%、83.33%,见图 4。

3 讨论

PIOL 属非霍奇金淋巴瘤,且多数 PIOL 为 B 细胞来源,约占眼内及眼眶肿瘤的 0.8/100000^[8]。当前国内并无 PIOL 的流行病学调查研究,但近年来受诊断技术提升、免疫缺陷患者增加等多因素影响,PIOL 发病率有上升趋势^[9]。本病临床表现缺乏特异性,被称为伪装综合征的典型代表,临床极易将其误诊为葡萄膜炎、巩膜炎,诊断难度较大^[10]。当前临床对拟诊 PIOL 的诊断流程也十分繁杂,

一般先行 MRI 检查,而后接受腰椎穿刺并行脑脊液检查,若检查结果为阴性则需完善诊断性玻璃体切割术获得组织标本,若为阳性则诊断为 PIOL;若为阴性则需进一步接受视网膜下或视网膜病变活检。同时,在眼部活检证实诊断后还需完善神经系统影像学检查及脑脊液分析,一般 PIOL 患者的诊断可延迟 8~21mo,且研究报道一般 PIOL 患者并病理学检查确诊后一般生存率仅为 3~5a^[11]。眼底自发荧光检查、光学相干断层成像等影像学辅助方式虽能有效评价疾病进程及预后,但诊断特异性不佳^[12]。

研究报道,多数淋巴细胞增生性疾病通过组织形态学、免疫表型便可获得确诊,但仍有少部分淋巴瘤在经大量免疫标志检测后依然难以鉴别良恶性。基于淋巴瘤的病理特征,其是因淋巴细胞成熟阻滞于某个阶段发生克隆性增生,所有细胞具有相同的重排方式,即克隆性重排,这也是克隆性增生和谱系来源的标志,且自然杀伤细胞(natural killer cells,NK)/T 细胞淋巴瘤中免疫球蛋白及 T 细胞受体(T cell receptor,TCR)基因多数呈胚系构型,无克隆基因重排,这也是免疫球蛋白及 TCR 基因克隆性重排则可作为淋巴瘤的重要辅助诊断方式的重要原因^[13-14]。本研究中,15 例 IGH FR2 单克隆性重排序列,阳性率 71%(15/21),均可获得基因重排的基因序列;4 例检出 TCRG 克隆性基因重排序列;其余 6 例标本未能检出 IGH FR2 单克隆序列。6 例确诊为葡萄膜炎的标本中均未见 IGH FR2、TCRG 单克隆性重排序列,FR2、TCRG 均为多克隆性。经 ROC 曲线分析显示基因重排检测技术诊断 PIOL 的 AUC 为 0.857,特异性高达 100.00%,但敏感性欠佳,仅为 71.43%。往期研究也报道^[15],IGH FR2 单克隆性重排序列也并不意味着恶性,CD 阳性 T 淋巴细胞增生等疾病也可出现淋巴细胞克隆性增生,也因 PCR 的高度敏感性,也可发生假克隆或寡克隆现象。因此,单纯基因重排检测技术诊断 PIOL 存在局限性。

IL-10、IL-6 均是重要的免疫调节细胞因子。前者作为重要的多效免疫调节细胞因子,可通过抑制 Th1 细胞、INF- γ 、IL-2 来损害肿瘤免疫监视;不仅如此,IL-10 还可刺激 B 淋巴细胞增殖分化,在淋巴瘤恶性发展中也扮演重要角色^[16]。而 IL-6 则具多重性及复杂性,良恶性 B 淋巴细胞、良恶性 T 淋巴细胞均可产生 IL-6,其参与机体生理性免疫调节及炎症反应,当前研究已证实 IL-6 与淋巴细胞增生异常具紧密关联,可作为淋巴细胞生长因子参与非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma,NHL)发生及发展^[17]。本研究显示,PIOL 患者玻璃体液中 IL-10 及 IL-10/IL-6 水平均显著高于葡萄膜炎患者,但两种病变患者 IL-6 水平差异无统计学意义,ROC 曲线分析也显示 IL-6 对 PIOL 无显著诊断效能,可能与肿瘤细胞、炎症均可增加 IL-6 分泌有关^[18-19]。ROC 曲线分析还显示,IL-10 诊断 PIOL 的 AUC 最高,特异性虽为 100.00%,敏感性则仅为 66.67%;IL-10/IL-6 诊断的 AUC 略低于 IL-10,特异性与 IL-10 相当,敏感性仅为 52.40%。由此也可见,单一 IL-10、IL-6 等细胞因子检测作为 PIOL 的诊断性生物标志物存在局限性。进一步应用基因重排检测技术联合细胞因子检测诊断时,AUC 高达 0.893,敏感性、特异性分别为 95.24%、83.33%。提示基因重排检测技术联合 IL-10、IL-6 等细胞因子检测诊断 PIOL 可显著提升诊断

敏感性,且特异性良好。

综上所述,玻璃体液 IL-10、IL-10/IL-6 可用于 PIOL 辅助诊断,但诊断敏感性欠佳现象,联合应用基因重排检测技术可明显提升诊断敏感性,并获得良好的特异性。考虑 PIOL 的大样本研究罕见,本研究样本量也仅为 21 例,基因重排检测技术,尤其是细胞因子检测在 PIOL 诊断中的应用仍有极大深入探究空间,以期在下阶段采集充足样本量后持续补充及完善。

参考文献

- 1 莫春艳,张学东.原发性眼内淋巴瘤的诊断及治疗.眼科新进展 2017;37(6):597-600
- 2 周楠,魏文斌.原发性眼内淋巴瘤的诊断与治疗.中国实用眼科杂志 2017;35(5):447-452
- 3 Bohn JP, Willenbacher W, Haas G, et al. Pomalidomide in primary intraocular lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2019;60(6):1584-1586
- 4 Bo J, Sun L, Wang WQ, et al. Novel diagnostic biomarker for patients with Non-Hodgkin's Lymphoma by IgH gene rearrangement. *J Cancer Res Ther* 2016;12(2):903-908
- 5 白杰.诊断性前房穿刺和玻璃体针吸/切割术及眼内液检测在不明原因葡萄膜炎临床诊治中的意义研究.河北医科大学 2017
- 6 陈锟,樊妮,关明.脑脊液细胞因子 IL-6 和 IL-10 表达水平在原发中枢神经系统淋巴瘤中的诊断价值.中华检验医学杂志 2016;39(8):585-588
- 7 齐宗利,郭华,李明峰,等.下一代测序技术在弥漫大 B 细胞淋巴瘤基因重排检测中的应用.临床与实验病理学杂志 2019;35(12):1422-1426
- 8 Romanowska DB, Karska BI, Kubicka-Trzaska A. Primary intraocular lymphoma and flow cytometry analysis of the vitreous - a case report. *Acta Ophthalmol* 2016;94(S256):1755-1768
- 9 Kim MM, Dabaja BS, Medeiros J, et al. Survival outcomes of primary intraocular lymphoma. *Am J Clin Oncol* 2016;39(2):109-113
- 10 Milgrom SA, Cheah CY, Pinnix CC, et al. Acute and late toxicity of bilateral orbital irradiation in the management of primary intraocular lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2016;57(11):2612-2618
- 11 周旻,江睿,张艳琼,等.原发性眼内淋巴瘤 13 例.中华眼底病杂志 2012;28(3):245-248
- 12 薛亚璇,程方.光学相干断层扫描血管成像在眼科临床中的应用.国际眼科杂志 2020;20(4):651-655
- 13 许洁,崔倩,张科平,等.免疫球蛋白基因重排在滤泡性淋巴瘤中的应用.临床与实验病理学杂志 2020;36(4):447-448
- 14 林珍珍,黄菲,马晓梅,等. BCL-2、BCL-6、C-MYC 基因重排的高级别 B 细胞淋巴瘤临床病理分析.临床与实验病理学杂志 2019;35(8):906-910
- 15 许洁,张科平,葛岩,等.免疫球蛋白和 T 细胞受体基因克隆性重排两种临床检测方法的比较.中华病理学杂志 2017;46(5):342-344
- 16 Kuiper J, Ten DVLN, Domanian A, et al. Correlation between measurement of IL-10 and IL-6 in paired aqueous humour and vitreous fluid in primary vitreoretinal lymphoma. *Acta Ophthalmol* 2015;93(8):e680-e681
- 17 Higuchi Y, Yasunaga JI, Mitagami Y, et al. HTLV-1 dysregulates IL-6 and IL-10-JAK/STAT signaling and induces leukemia/lymphoma of mature CD4+ T cells with regulatory T-cell-like signatures. *Blood* 2019;134(Supplement_1):1516
- 18 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
- 19 Cassoux N, Giron A, Bodaghi B, et al. IL-10 measurement in aqueous humor for screening patients with suspicion of primary intraocular lymphoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(7):3253-3259