

CD20+ angiocentrikus T-sejtes lymphoma

Esetismertetés

Péter Ilona, Szentirmay Zoltán, Schneider Tamás, Radó Judit, Tóth József

Országos Onkológiai Intézet, Budapest

Összefoglalás: Az angiocentrikus perifériás T-sejtes lymphoma CD20+ variánsa ritkán előforduló daganat. A tanulmány célja egy az Intézetünkben diagnosztizált és kezelt CD20+ angiocentrikus T-sejtes lymphoma esetünk ismertetése. **Beteganyag és módszerek:** a klinikai, szövettani, immunhisztokémiai és egy-sejtes DNS-citofotometriai vizsgálatok eredményeit analizáltuk. Emellett az EBV in situ hibridizációját végeztük el. **Eredmények:** A 24 éves nőbeteg hasi panaszok, fogyás miatt jelentkezett orvosnál. Biopszia történt a nyaki nyirokcsomó-konglomerátumból. A szövettani diagnózis: angiocentrikus T-sejtes lymphoma, CD20+ variáns. A T-sejt-markerek közül a CD3, CD43, CD45RA és CD45R0 antigén az erek körül és az erek falát infiltráló atípusos lymphoid sejtekben volt kimutatható. Az L26 ellenanyaggal kimutatható CD20 antigén is pozitív reakciót adott. A daganat DNS-indexe 0,8589, hipodiploid volt. G1 fázisú sejt 47%, S fázisú sejt 45,4% és G2 fázisú sejt 7,6% arányban fordult elő. Kombinált kemoterápia alkalmazására került sor a IV/B klinikai stádiumú lymphoma miatt (5 CHOP-Bleo, CEPP, CEP, CMVE kezelés). Az alapbetegség fokozatosan progrediált és a beteg 14 hónappal az első tünetek megjelenése után exitált. Boncoláskor kiterjedt daganatátét volt a szervekben és a nyirokcsomókban. **Következtetések:** Intézetünkben az utolsó 13 évben 5 angiocentrikus lymphomát diagnosztizáltunk. CD20 variánsát a ritka előfordulás, szokatlan klinikai tünetek, a kedvezőtlen prognózis miatt mutatjuk be és az újabban elérhető immunterápia (CD20 antigén elleni monoklonális ellenanyag) lehetőségére hívjuk fel a figyelmet. *Magyar Onkológia 44:155–159, 2000.*

Summary: The CD20+ variant of angiocentric T-cell lymphoma is an unusual type of T-cell lymphomas that present cystic changes in organs because of ischaemic necroses. The purpose of this study was to describe a case of CD20+ angiocentric T-cell lymphoma, discussing its clinical, histopathological and immunohistochemical features, to analyze its proliferation kinetics and to consider its possible relationship to the Epstein-Barr virus (EBV) to understand better the pathobiological nature of the disease. **Methods:** the clinical, histopathological, immunohistochemical and single-cell DNA cytophotometric features of the case were analyzed. In addition in situ hybridization was performed to detect EBV. **Results:** The 24 years old woman was admitted to our Institute because of pain in the abdominal region and weight loss. There were enlarged lymph nodes on the neck, and biopsy was done. Histological diagnosis: angiocentric T-cell lymphoma, CD20+ variant. CD3, CD43, CD45RA and CD45R0 antigens were positive in the atypic lymphoid cells of the tumour and in cells infiltrating the vascular wall. DNA index was 0.8589 (hypodiploid). Tumour cells in G1 phase: 47%, S phase: 45.4%, G2 phase: 7.6%. Combined chemotherapy was administered because of clinical stadium IV/B of malignant lymphoma (5 CHOP-Bleo, CEPP, CEP, CMVE treatment). The disease showed gradual progression and the patient died 14 months after the first symptoms had appeared. **Conclusions:** In the last 13 years there were 5 cases of angiocentric T-cell lymphoma at our Institute. The CD20+ variant is rare, its clinical symptoms are special, the prognosis is unfavourable. The cause why we demonstrate this case is to call attention to a new treatment for these patients by immunotherapy using monoclonal antibodies against CD20 antigen. *Péter I, Szentirmay Z, Schneider T, Radó J, Tóth J. Angiocentric T-cell lymphoma. Case report Hungarian Oncology 44:155–159, 2000.*



Közlésre érkezett: 1999. december 8.

Elfogadva: 2000. január 25.

Levelezési cím: Dr. Péter Ilona,

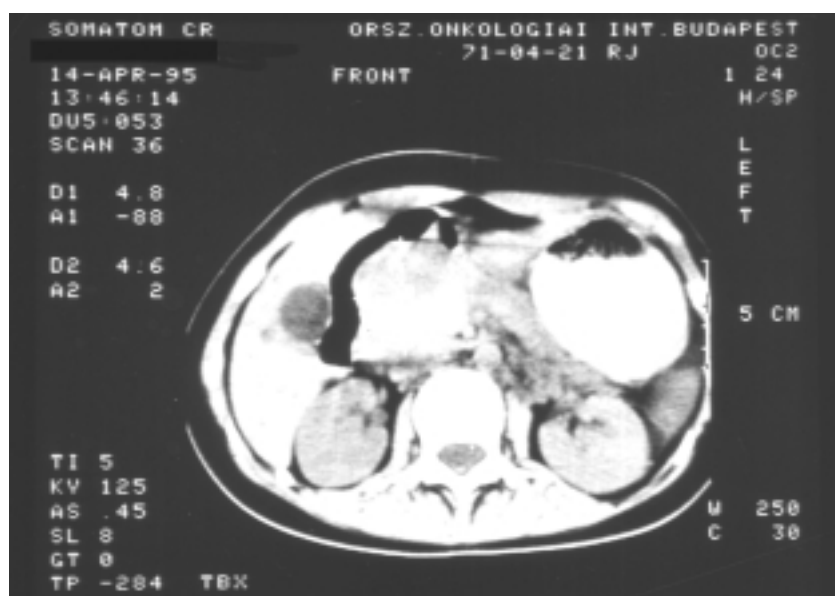
Országos Onkológiai Intézet, 1122. Budapest, Ráth György u. 7-9.; Fax: 224-8620 E-mail: helena@oncol.hu

Bevezetés

Az utóbbi években a malignus lymphomák sejtvonal-specifitását a szöveti kép és a T/B-sejtmarkerek monoklonális ellenanyagokkal történő kimutatása útján határozzuk meg, ami egyben a szövettani klasszifikálás alapját képezi (4,6).

A T-sejtes malignus lymphomák egy része nehezen sorolható be. Ennek részben az lehet az oka, hogy a T- és B-sejtekben mind az ép, mind az atípusos alakokban, differenciálódásuk illetve aktiválódásuk során a sejtmembrán felszínén azonos felépítésű receptorok, antigének jelenhetnek meg. Egyik ilyen antigén a CD20, egy 35 kD súlyú fehérje, ami korán, a B-sejt ontogenezisekor, feltehetőleg a citoplazmatikus μ lánc megjelenése előtt expresszálódik és a terminális B-sejt plazmasejtje alakulásakor el is tűnik a sejt felszínéről. Hosszú ideig B-sejt-specifikus markerként volt ismert.

1. ábra. A hasüreg CT-vizsgálata. A hasnyálmirigy fejének területén + -tel jelölt térfoglaló elváltozás van a gyógy-szeres kezelés előtt.



2. ábra. A hasüreg CT-vizsgálata. A kontroll felvételen a hasnyálmirigy fejének területén nagyfokú regresszió látható.



Újabban a humán T-limfociták között sikerült elkülöníteni egy különálló szubpopulációt, amire a T-sejtmarkerek mellett a sejtfelszíni CD20 antigén megjelenése is jellemző (15). A CD20+ T-sejt-lymphomáknak az aktivált sejtekre jellemző markerekei vannak és a nehezen besorolható daganatok közé tartoznak.

Esetünk angiocentrikus perifériás T-sejt lymphoma, egy szokatlan szöveti szerkezetű, várhatóan rossz prognózisú CD20+ daganat. A következőkben ismertetjük a daganat szövettani, immunhisztokémiai, proliferációs kinetikai jellegzetességeit, prediktív faktorokat, amelyek segítségével a daganat várható biológiai viselkedése megítélhető.

Esetismertetés

A 24 éves nő kórelőzményében lényeges megbetegedés, műtét nem szerepelt. Hasi panaszok, fogyás miatt jelentkezett orvosnál. A nyak jobb oldalán kialakult ún. „bulky” nyirokcsomó-konglomerátumból biopszia történt Intézetünk Sebészeti osztályán. Kórszövettani diagnózis: angiocentrikus T-sejtes non-Hodgkin lymphoma (NHL). A Hematológiai osztályon a röntgenfelvételek és a computer tomográf- (CT) felvételek alapján IV/B klinikai stádiumú NHL-t állapítottak meg, pulmonális, perikardiális, a gyomorra és a hasnyálmirigyre terjedő daganatok alapján. Ez utóbbi vizsgálatokat i.v. kontrasztanyag beadása után Siemens Somatom CR készülékkel végezték (1. és 2. ábra).

Gyógyszeres kezelésre alapbetegsége gyógyszerrezisztensnek bizonyult. Az 5 CHOP-Bleo, CEPP, CEP, CMVE kúrával átmeneti remissziót tudtak elérni, a lymphoma fokozatosan progressziált. A kialakult cytopenia, illetve általános elesett állapota miatt terminálisan csak tüneti kezelésben részesült.

Az utolsó időben nagyfokú progresszió, stridoros légzés, fulladás, gyengeség jött létre, kakektizálódás alakult ki. Tüneti kezelés mellett állapota fokozatosan romlott és 14 hónappal az első tünetek megjelenése után kétoldali tüdőgyulladás tüneteinek között exitált.

Boncoláskor a nyak bal oldalán a pajzsmirigyben és a nyirokcsomókban, a mediasztinális nyirokcsomókban, a tüdők felső lebenyében, a hasi szervek közül a vesében és a hasnyálmirigy fejében, a patkóbél falát is áttörő daganatszövetet találtunk. Egy kis eret usurálva a vékonybelek felé kistokú vérzés jelentkezett. A Vater papilla körül, valamint a májban több gócban megjelenő és az aorta menti nyirokcsomókban szürkés-sárga széteső daganatszövet volt látható. A ductus choledochust összenyomva epepangás alakult ki, ami sárgasághoz vezetett. Egyéb szervei a kornak megfelelőek voltak.

Módszerek

Szövettani vizsgálatot végeztünk a nyak jobb oldalán a supraclavicularis régióból 3,5x2,5x1,5 cm átmérőjű, hártvás tokkal határolt, szürkés-fehér, rugalmasan tömött nyirokcsomóból. A képlet

metszlapja szürkésfehér, egynemű volt. A boncolás során feldolgozott szervekből és nyirokcsomókból hasonlóan rutin szövettani feldolgozás történt.

Immunhisztokémiai vizsgálat:

A paraffinba ágyazott blokkokból készített metszeteken a szöveti antigének kimutatásakor Streptavidin-Biotin-Complex-peroxidáz indirekt immunhisztokémiai reakciót alkalmaztunk, amihez LSAB 2 kit (DAKO a/s, Koppenhága, Dánia) reagenseket használtunk. A szöveti antigének kimutatására szolgáló reagensek, az aktuális hígítások és a beszerzési hely az 1. táblázatban található.

Egy-sejtes Feulgen DNS-citofotometria

Rutin szövettani blokkokból enzimemézzéssel nyertük a sejtmagokat. A paraffinba ágyazott szövetekből 40-50 µm vastag metszeteket készítettünk, amelyeket deparaffinálás után 0,25%-os HCl-ben oldott 0,5%-os pepszinoldatban 37°C-on állandó enyhe rázás mellett inkubáltunk. Inkubálás során a szövetből ép sejtmagok váltak ki, amelyeket tárgylemezre kicseppentve Feulgen-reakcióval festettünk meg. A feldolgozás TV-képanalízis segítségével történt.

In situ hibridizáció:

Az Epstein-Barr vírus (EBV) kimutatása céljából EBER oligonucleotidákat (Novocastra kit, Egyesült Királyság) használtunk.

Eredmények

Mikroszkópos vizsgálat

A nyaki műtéti preparátumból készített metszeteken nyirokcsomó nem ismerhető fel, helyét sejtűs daganatszövet foglalja el. A daganatsejtek többsége atipusos lymphoid sejt, polymorphia, citológiai atipia jeleit mutatja. A sejtmagok alakja és nagyságbeli egyenlensége tűnik szembe. A sejtmagmembrán durva behúzódnásokkal tagolt, benne egy-két prominens, vagy több apró nucleolus foglal helyet. A citoplazma halvány eozinofil festődésű, részben vakuolizált (3. ábra). A daganatsejtek lazán egymás mellett elrendeződve solid mezőket képeznek, amelyeken belül kiterjedt göccs elhalások és bevérzések jelei láthatók (4. ábra).

Az ereket övező lymphoid szövet körül ischaemiás elhalt területek tarkítják a képet. Ereket körül és az érfalat infiltráló daganatsejtek között osztódó alakok fordulnak elő (5. ábra). Tíz nagy nagyítású látótérben 24 osztódó alak fordult elő.

A boncolás során feldolgozott szervekből (tüdő, pajzsmirigy, vese, máj, hasnyálmirigy) és a nyirokcsomókból készített metszeteken a fentiekben leírtakkal megegyező szöveti képet mutató daganatszövet volt látható.

Immunhisztokémia

Az indirekt immunhisztokémiai vizsgálatok során a leukocita common antigén (LCA) mind az atipusos lymphoid sejtekben, mind az érett, reaktive felszaporodott limfocitákban intenzív pozitív reakciót adott. A daganatsejtekben a

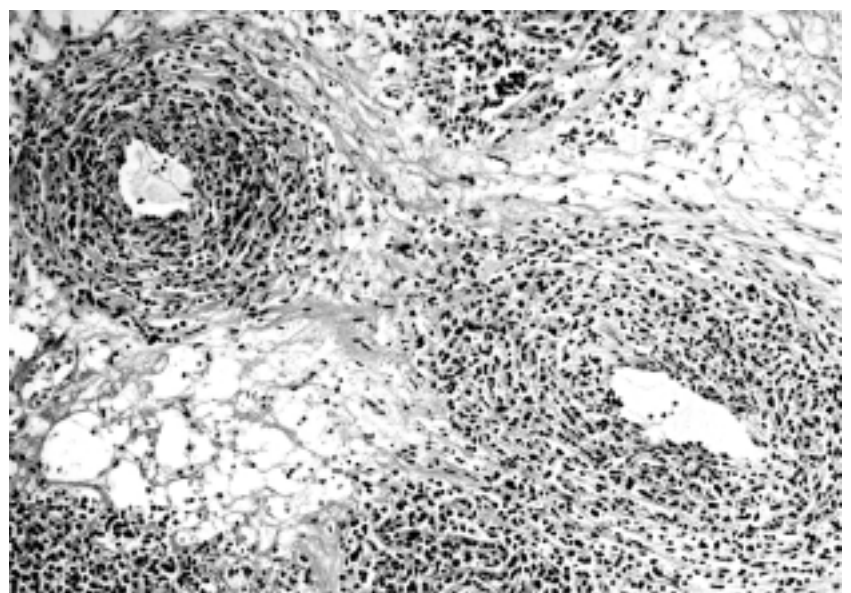
T-sejt-markerek közül a CD3, CD43, CD45RA és CD45R0 antigén a sejtmembránban intenzív pozitív festődést mutatott. A B-sejt-markerek közül az L26 monoklonális ellenanyaggal kimutatható CD20 mind a normál B-limfocitákban, mind az atipusos daganatsejtek membránjában intenzív pozitív reakciót adott (6. ábra). A többi B-sejt-antigén úm. az MB1 és MB2, a CDw75 és a CD74 az érett limfocitákban pozitívan festődött.

A CD56 NK-sejt és a Natural Killer Cell-like antigén a daganatsejtekben nem volt kimutatható. A vimentin az erek falát alkotó sejtekben

1. táblázat. Angiocentrikus T-sejtes lymphoma immunhisztokémiai fenotipizálásához alkalmazott antitestek

Szöveti antigén	Származás	Klón	Ajánlott hígítás	Gyártó/ Forgalmazó cég
CD3 (T-sejt)	Nyúl		1:1	DAKO a/s, Glostrup, Dánia
CD20 (B-sejt)	Egér	L26	1:40	BioGenex, San Ramon, CA, USA
CD43 (T-sejt)	Egér	MT1	1:40	BioGenex
CD45RA (T-sejt)	Egér	MT2	1:40	BioGenex
CD45R0 (T-sejt)	Egér	UCHL-1	1:20	BioGenex
CD45RA (B-sejt)	Egér	MB1	1:40	BioGenex
B-sejt	Egér	MB2	1:40	BioGenex
CD45 (LCA)	Egér	2B11 PD7/26/16	1:80	BioGenex
CD56 (NK-sejt)	Egér	T199	1:50	DAKO a/s
CD68 (makrofág)	Egér	KP1	1:50	DAKO a/s
CDw75 (B-sejt)	Egér	LN1	1:20	BioGenex
CD74 (B-sejt)	Egér	LN2	1:20	BioGenex
Natural Killer Cell-like	Egér	NK1	1:50	DAKO a/s

3. ábra. Angiocentrikus T-sejtes lymphoma nyirokcsomóban. Ischaemiás nekrosis alakult ki az ereket övező lymphoid szövet körül (hematoxilin-eozin, x250).



volt pozitív. Az S100 protein, az alacsony molekulásúlyú- és pan-cytokeratin, az epitheliális membrán antigén (EMA), a neuronspecifikus enoláz (NSE) és a makrofágspecifikus antigén negatív eredményt adott.

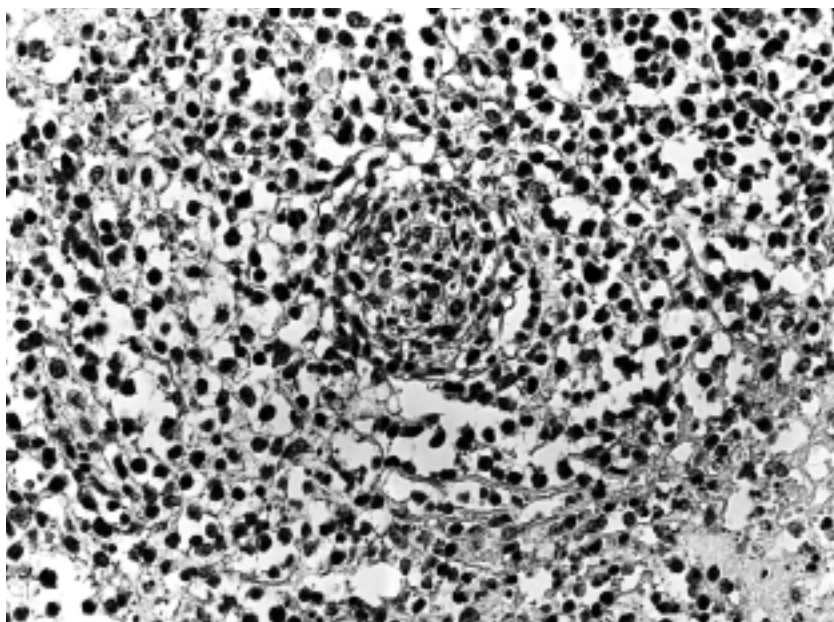
Feulgen DNS-citofotometria

A supraclavicularis nyirokcsomóból készített keteből 900 daganatsejt DNS-tartalmát mértük meg. A DNS-index 0,8589 volt, hypodiploid, az igen gyorsan proliferáló daganatra jellemző érték. A sejtek 45%-a S-fázisban volt, ami kifejezi a daganat agresszivitását.

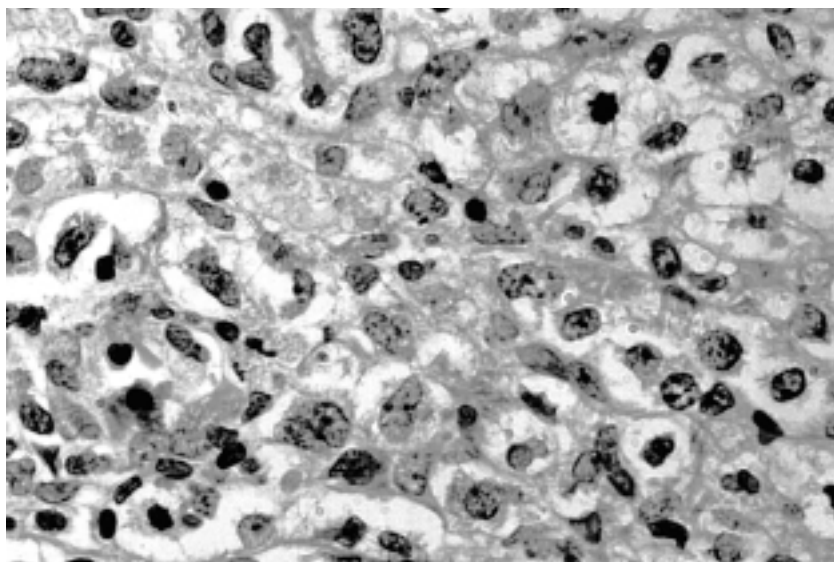
In situ hibridizáció

Az EBER oligonucleotidákat használva az atipusos lymphoid sejtek jelentős részében a sejtmagban 1-3 fókuszban EBV-RNS-pozitív reakciót találtunk.

4. ábra. Angiocentrikus T-sejtes lymphoma nyirokcsomóban. Az atipusos lymphoid sejtek ér körül lazán rendeződnek el (hematoxilin-eozin, x350).



5. ábra. Angiocentrikus T-sejtes lymphoma. A daganatsejtek polymorphak. A sejtmagmembrán durva behűződásokkal tagolt. A citoplazma változatosan széles, nagyrészt vakuolizált (hematoxilin-eozin, x500).



Megbeszélés

Az angiocentrikus T-sejtes lymphoma ritka esetét írtuk le, amelyben a T-sejthez társuló antigének és a CD20 B-sejt-antigén egyaránt expresszálódott, míg a többi ismert B-sejt-antigén negatív eredményt adott.

Az angiocentrikus T-sejtes lymphoma, mint önálló kórkép, a Revideált Európai-Amerikai lymphoma osztályozásban szerepel (4). Ezt sajátos szöveti képe, immunfenotípusos jellegzetessége és a kedvezőtlen, viszonylag rapid kórlefo-lyás indokolja.

Számos szinonimája ismert. Ezek közül a leggyakoribb a kevert limfociták/hisztociták lymphoma (Rappaport-beosztás). A Lukes-Collins-osztályozásban nem fordul elő. A Kiel-i klasszifikációban T-sejtes pleomorph kis-, közép- és nagy sejtes lymphoma csoportba sorolják. A Working Formulationban diffúz, kis hasadt sejtes, kevert kis- és nagy sejtes lymphomaként, vagy nagy sejtes immunoblastomaként találjuk meg. Továbbá szerepel még mint angiocentrikus immunproliferáció, polymorph reticuloma, lethal midline granuloma, midline malignant reticulosis. A nasalis T-sejtes lymphomát is ebbe a csoportba sorolják. Esetenként felmerül a gyanú, hogy a tüdőben kialakuló lymphomatoid granulomatosis is ebbe a csoportba tartozik (4,6,7,8,10).

A klinikai gyakorlatban bármely életkorban és mindkét nemben előfordul. A betegség csaknem minden esetben extranodálisan is kialakul. Esetünkben a nyirokcsomók daganatos elváltozása mellett kiterjedt szervi manifestációt találtunk. Más esetekben főleg az orrüregben („lethal midline granuloma”, „polymorph reticulosis”) indul ki a daganat. A felső- és alsó légutakban vagy a bőrben, emésztőrendszerben is jelentkezhet először az elváltozás (2,7,8,9,11).

A kórlefo-lyás a daganatban lévő nagy sejtek számától függően lehet enyhe, vagy agresszív. Esetünkben a kis és nagy sejtek vegyesen fordultak elő, a 14 hónapos túlélés alapján magas malignitású, kifejezetten rossz prognózisú esetnek tekinthető.

A T/NK-sejtes lymphomák egy részében hasonló kedvezőtlen kórlefo-lyásra lehet számítani (1,3,7,13).

A szöveti képben a daganat angioinvaszív terjedése a jellemző, ami szövettelhalást eredményez a daganatban és a környező ép szövetekben. Az erek elzáródása miatt rendszerint cisztikus fellazulás jelentkezik, ami diagnosztikai nehézséget jelenthet adott esetben. A sejttösztevők keverten fordulnak elő, kis limfociták, atipusos lymphoid sejtek, immunoblastok, hisztociták, eozinofil granulociták, plazmasejtek és egyéb gyulladásos elemek lehetnek jelen.

Az immunfenotípusos jellemzők közül a pan-T-sejt antigének (CD2, CD3, CD56, CD4, CD8, TdT) vizsgálata segít a T-sejt eredet meghatározásában.

Az utóbbi időben T-sejtes lymphomákon belül kis számban előforduló CD20+ esetekről számoltak be (5,14,15).

Esetünkben is a nagy atípusos lymphoid sejtek membránjában intenzív pozitív reakciót adó CD20 antigén volt kimutatható.

Quintanilla-Martinez és munkatársai a CD20+ angiocentrikus lymphomának megfelelő normális, a perifériás vérben keringő limfocitákat izoláltak és azonosítottak a sejtek felszínén egyidőben megjelenő CD3 T-sejt-marker és a CD20 B-sejt-marker alapján, amihez hármass jelölésű immunfluoreszcens módszert alkalmaztak. Ez a sejtcsoport a T-sejtek között az aktivált limfociták csoportjába tartozik (15).

A sejtproliferáció mértéke jelezheti a daganat növekedési tendenciáját, egyben prognosztikai faktor is. A mitotikus index (10 nagy nagyítású látóterre (NNL) eső osztódó sejtek száma), a Ki67 proliferációs antigén expressziójának mértéke, vagy a daganat DNS-tartalma és a sejtciklusban résztvevő sejtek aránya jelezheti a prognózist. Esetünkben a hypodiploid DNS-tartalom és mellette a 45,4%-ban jelenlévő S fázisú sejtek aránya egyértelműen a gyors proliferációt, agresszív növekedést példázza.

A genotípus jellemzője a germline T-sejt-receptor (TCR) és az immunoglobulin gének átrendeződése. Angiocentrikus T-sejtes lymphomában gyakori az Epstein-Barr vírus társulás. Esetünkben TCR génátrendeződés vizsgálatot nem végeztünk, EBV kópiákat sikerült kimutatni a daganatsejtek egy részében, ami az irodalomból ismert adatokkal megegyezik (1,9).

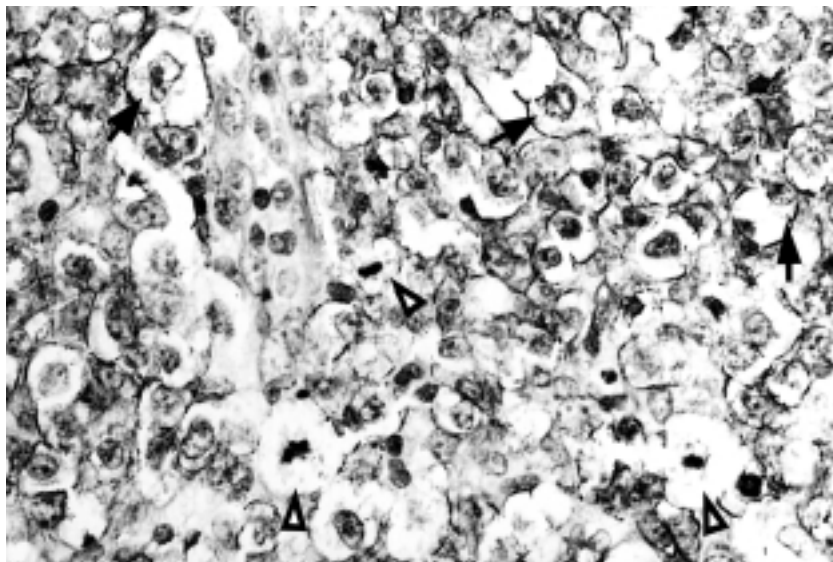
Anti-CD20 monoklonális ellenanyag terápia a B-sejtes non-Hodgkin lymphomákban már klinikai alkalmazás alatt áll, főleg a relapszusba kerülő daganatos betegeken vizsgálják hatását. Jelenleg a gyógyszeres- és az antitestkezelés kombinációinak a leghatásosabb gyógyító és kevésbé toxikus protokollját próbálják összeállítani (12).

CD20+ angiocentrikus T-sejt-lymphoma diagnózis felállításakor várható, hogy a kombinált kemoterápia mellett az anti-CD20 monoklonális ellenanyaggal történő kezelés javíthat a beteg gyógyulási esélyein.

Irodalom

1. Chan ACL, Ho JWY, Chiang AKS, et al. Phenotypic and cytotoxic characteristics of peripheral T-cell and NK-cell lymphomas in relation to Epstein-Barr virus association. *Histopathology* 34:16-24, 1999
2. Csanaky Gy, deBruin P, Hegedűs G és mtsai. A tüdő angiocentrikus T-sejtes lymphomája. *Orv Hetil* 137:473-476, 1996
3. Elek G, Tóth J, Wölfl J, és mtsa. Enteropathiával társult T-sejtes lymphomáról (EATCL) egy eset kapcsán (esetismertetés). *Magyar Onkológia* 42:234-237, 1998
4. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 84:1361-1392, 1994

6. ábra. Angiocentrikus T-sejtes lymphoma. A daganatsejtek membránjában a CD20 antigén pozitív festődését élesen kirajzolódó fekete reakciótermék jelzi (nyíl). A sejtek között három osztódó alak fordul elő (nyílfeje). (Str-ABC-peroxidáz immunhisztokémiai reakció, hematoxilin magfestés, x500).



5. Hamilton-Dutoit SJ, Pallesen G. B cell associated monoclonal antibody L26 may occasionally label T cell lymphomas. *APMIS* 97:1033-1036, 1989
6. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of haematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997. *Histopathology* 36:69-87, 2000
7. Jaffe ES, Krenács L, Kumar S, et al. Extranodal peripheral T-cell and NK-cell neoplasms. *Am J Clin Pathol* 111: S46-55, 1999
8. Kim GE, Cho JH, Yang WI, et al. Angiocentric lymphoma of the head and neck: Patterns of systemic failure after radiation treatment. *J Clin Oncol* 18:54-63, 2000
9. Kobashi Y, Nakamura S, Sasajima Y. Inconsistent association of Epstein-Barr virus with CD56 (NCAM)-positive angiocentric lymphoma occurring in sites other than the upper and lower respiratory tract. *Histopathology* 28:111-120, 1996
10. Lee SS, Cho KJ, Kim CW, et al. Clinicopathological analysis of 501 non-Hodgkin's lymphomas in Korea according to the Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms. *Histopathology* 35:345-354, 1999
11. Magana M, Sangüeza P, Gil-Beristain J, et al. Angiocentric cutaneous T-cell lymphoma of childhood (hydroa-like lymphoma): A distinctive type of cutaneous T-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 38:574-579, 1998
12. Maloney DG, Grillo-López AJ, Bodkin DJ, et al. IDEC-C2B8: results of a phase I multiple-dose trial in patients with relapsed non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 15:3266-3274, 1997
13. Nakamura S, Suchi T, Koshikawa T. Clinicopathologic study of CD56 (NCAM)-positive angiocentric lymphoma occurring in sites other than the upper and lower respiratory tract. *Am J Surg Pathol* 19:284-296, 1995
14. Norton AJ, Isaacson PG. Monoclonal antibody L26: an antibody that is reactive with normal and neoplastic B lymphocytes in routinely fixed and paraffin wax embedded tissues. *J Clin Pathol* 40:1405-1412, 1987
15. Quintanilla-Martinez L, Preffer F, Rubin D, et al. CD20+ T-cell lymphoma. Neoplastic transformation of a normal T-cell subset. *Am J Clin Pathol* 102:483-489, 1994