

A KÜLÖNBÖZŐ ANTITESTEK REAKTIVITÁSA BENIGNUS ÉS MALIGNUS MELANOCITÁS DAGANATOKBAN

Plótár Vanda¹, Szentirmay Zoltán², Orosz Zsolt¹

Országos Onkológiai Intézet, ¹Daganatpatológiai, ²Molekuláris Patológiai Osztály, Budapest

Az egyre növekvő számú pigmentált melanocitás bőrdaganat kórszövettani diagnózisa során gyakrabban szorulunk a különböző immunhisztokémiai módszerek felhasználására. Ma már számos antitest áll rendelkezésünkre, amelyek formalinban fixált, paraffinba ágyazott anyagból készült metszeteken megbízhatóan működnek. Munkánkban öt antitestet (S-100, HMB-45, Melan-A, MITF, PNL-2) vizsgáltunk 34 benignus és 34 malignus melanocitás daganatban. A tumorok hám- és dermális komponensében a reakciók specifitását és szenzitivitását külön értékeltük, különös tekintettel a speciális megjelenésű tumorokra és az értékelést zavaró olyan szövettani jelenségekre, mint a regresszió vagy a halo-jelenség. Megállapítottuk, hogy a melanocitás daganatok diagnózisa elsősorban a hematoxilín-eozinnal festett metszetek részletes vizsgálatán alapul, az immunhisztokémiai módszerek csupán véleményünket erősítik vagy gyengítik. Magyar Onkológia 52: 363–373, 2008

Kulcsszavak: melanoma malignum, dysplasticus naevus, Spitz-naevus, PNL-2, MITF, Melan-A

At the histological examination of an increasing number of melanocytic tumors there is a need to use various immunohistochemical methods. Nowadays we are supplied by several antibodies working well on formalin-fixed, paraffin-embedded samples. We have tested five antibodies (S-100, HMB-45, Melan-A, MITF, PNL-2) on 34 benign and 34 malignant melanocytic tumors. We examined the specificity and sensitivity in the junctional and dermal component separately, with special consideration to features disturbing the evaluation (regression, halo-like inflammation, etc.). We have concluded that the histological diagnosis of melanocytic tumors is based on the detailed examination of traditional HE slides and the immunohistochemical methods only confirm or weaken our opinion. Plótár V, Szentirmay Z, Orosz Z. Reactivity of five different antibodies with benign and malignant melanocytic lesions. Hungarian Oncology 52: 363–373, 2008

Keywords: malignant melanoma, dysplastic nevus, Spitz nevus, PNL-2, MITF, Melan-A

Közlésre érkezett:
2008. szeptember 30.

Elfogadva:
2008. november 3.

Levelezési cím:
Dr. Plótár Vanda
Országos
Onkológiai Intézet
Daganatpatológiai
Osztály
1122 Budapest
Ráth Gy. u. 7-9.
Telefon:
(06-1) 224-8600/1433
Fax: (06-1) 224-8620
E-mail:
plotar.vanda@oncol.hu

BEVEZETÉS

A pigmentált daganatok kórszövettani diagnosztikája alapvetően a hematoxilín-eozinnal (HE) festett metszetek vizsgálatán nyugszik. A melanocitás bőrtumorok növekvő száma illetve a felvilágosítás és a szűrővizsgálatok eredményeként egyre gyakrabban távolítanak el és küldenek szövettani vizsgálatra pigmentált elváltozásokat. A kisméretű, illetve mechanikailag vagy UV-sugárzás miatt sérült melanocitás elváltozások nem szokványos megjelenése miatt gyakrabban veszünk igénybe a diagnosztikus munka során immunhisztokémiai reakciókat. Ezek használhatóságát korábban több hazai szerző is ismertette (11, 12). A melanocitás tumorok értékelésénél az immunhisztokémiai vizsgálatok a hagyományos módon, hematoxilín-eozinnal festett metszetek alapján felállított diagnózis alátámasztását szolgálják, azaz a jó-

vagy rosszindulatúság meghatározása kizárólag az immunreakciók eredményére alapozva nem lehetséges.

Munkánkban 34 benignus és 34 malignus melanocitás daganatot vizsgáltunk különböző melanocita-markerekkel, azzal a céllal, hogy megállapítsuk, milyen az egyes antitestek szenzitivitása és specifitása, és milyen mértékben vehetjük figyelembe a kapott reakciók eredményét a végleges vélemény felállításakor. Továbbá új markerként a PNL-2 és a kevésbé használt MITF (mikroftalmia transzkripció faktor) reaktivitását is teszteltük.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Intézetünk anyagából kiválasztott 68 melanocitás daganat formalinban fixált, paraffinba ágyazott, hagyományos hematoxilín-eozinnal festett metszeteit vizsgáltuk.

A felhasznált antitestek reaktivitásának vizsgálatához a paraffinos anyag 4 µm vastagságú metszeteit használtuk, amelyeken pH 6-os citrátpufferben való, általánosan 10 perces, Melan-A esetében 35 perces antigénfeltárást végeztünk (Target Retrieval Solution, Dako, Dánia). A vizualizálás EnVision Kit-tel (Dako), az előhívás AEC-vel történt.

Az alkalmazott ellenanyagok és hígításaik a következők voltak: poliklonális nyúl anti-S-100 (Dako; 1:800), egér monoklonális anti-human melanoszóma (HMB-45, Dako; 1:50), egér monoklonális anti-Melan-A (A103, Novocastra, Anglia; 1:15), egér monoklonális anti-human melanoma (PNL-2, Dako; 1:25–1:50), egér monoklonális anti-MITF (D5, Dako; 1:100).

Vizsgálatunkban a daganatok szöveti altípusba sorolása után azok junctionális és dermális komponensén a reakciót külön értékeltük. A reakció intenzitását négyfokozatú skálán osztályoztuk (negatív: -, gyenge +; közepes: ++; erős: +++), figyelembe véve az esetleges háttérfestődést, valamint az értékelést zavaró egyéb jelenségeket (pl. regresszió, halo-jelenség, kifejezett pigmentáció).

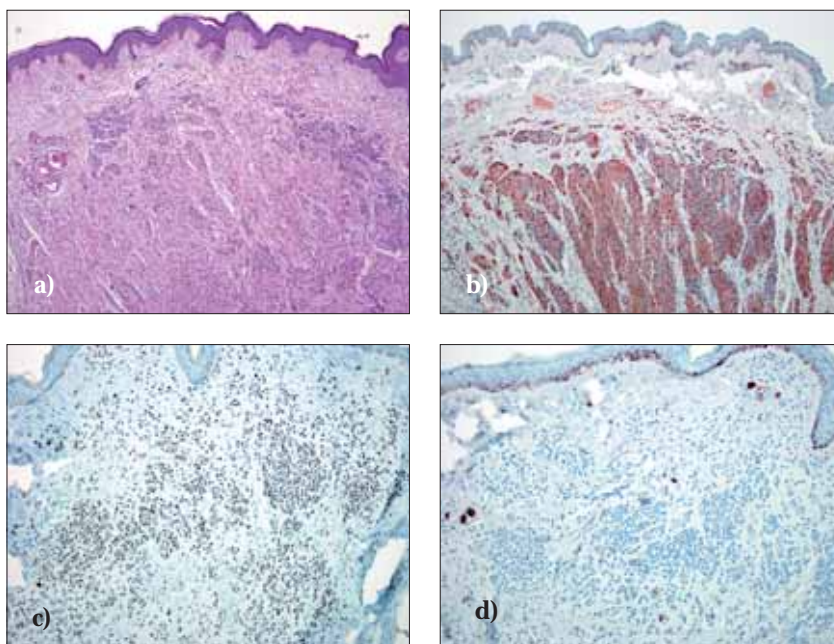
A 34 benignus melanocitás daganat megoszlása a következő volt: 10 intradermalis naevus, 5–5 kék naevus és dysplastikus naevus, 4–4 junctionális és compound naevus, 3 Spitz-naevus, 1 desmoplastikus Spitz-naevus és 2 Reed-naevus.

A 34 malignus daganat között 10 szuperficialisan terjedő melanoma (SSM), 6 noduláris melanoma (NM), 8 orsósejtes melanoma, 4–4 kissejtes valamint desmoplastikus melanoma és 2 polypoid naevoid melanoma szerepelt.

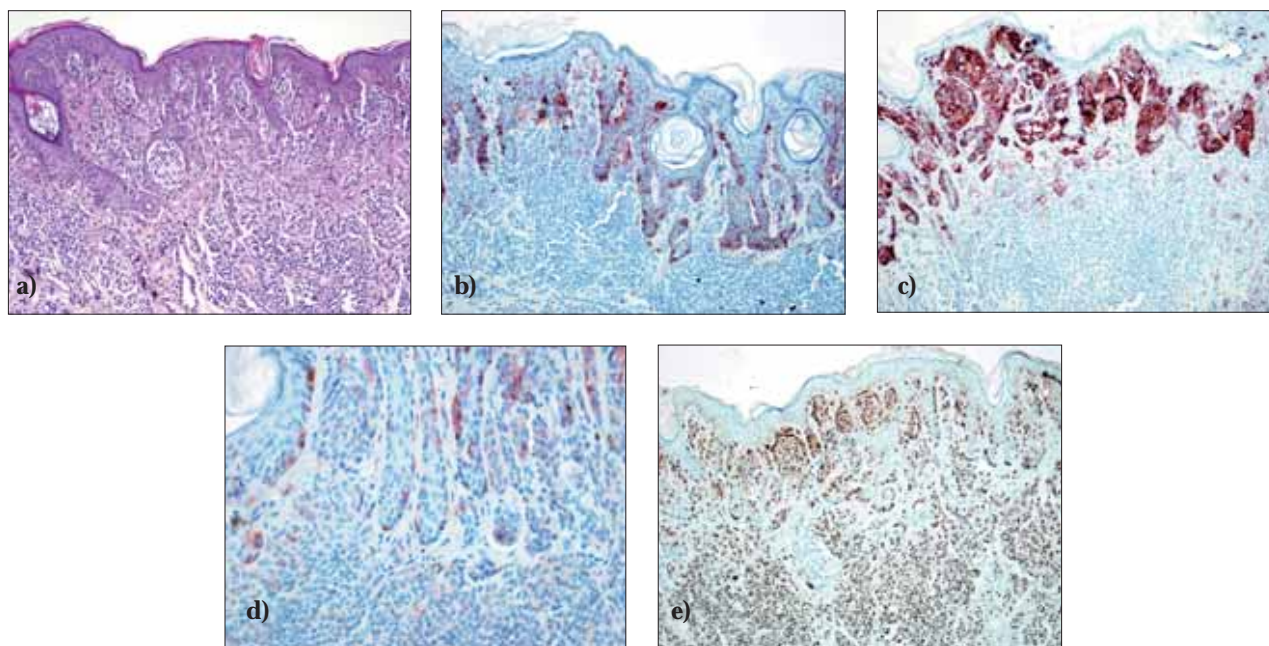
EREDMÉNYEK

A vizsgált 34 benignus daganat közül az intradermalis naevusok (1.a ábra), neuronaevusok (10/10) S-100 elleni antitesttel (1.b ábra) egyenletes, erős mag- és citoplazmatikus pozitivitást, anti-MITF ellenanyaggal (1.c ábra) szintén erős és konzisztens, de a magra lokalizálódó reakciót mutattak teljes vastagságukban, azaz zonáció nélkül. HMB-45-tel, Melan A elleni antitesttel és PNL-2-vel a dermis felső részén helyet foglaló, A-típusú naevussejtekből felépülő fészkekben fokális, erős, közepesen erős vagy gyenge reakciót láttunk, amelynek intenzitása a daganat alsó része felé haladva csökkent, majd el-

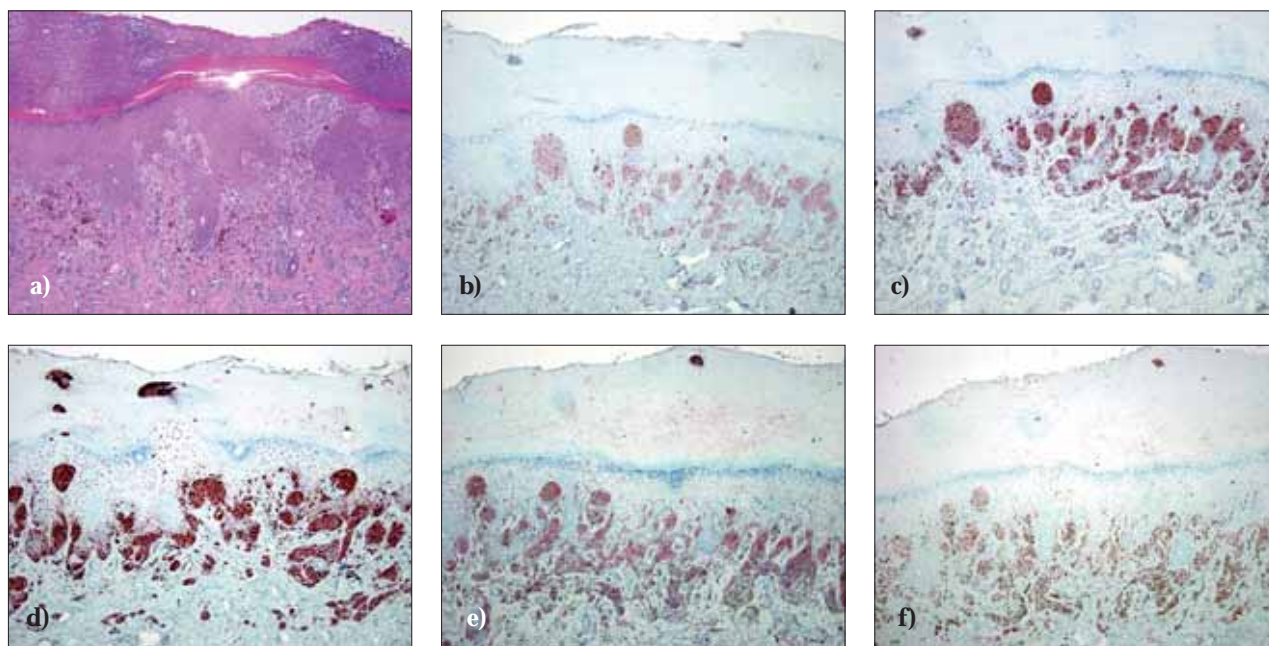
tűnt (1.d ábra). Junctionális (4 eset) és compound (4 eset) típusokban a hámban lévő sejtfészkek erős, egyenletes pozitivitását figyeltük meg mindegyik markernél (2.a-d ábra). Magreakciót S-100 és MITF (2.e ábra) esetén kaptunk. Compound elváltozásokban a dermis kötőszövetében lévő komponens az intradermalis naevusokban látottakkal egyező eredményt adott. Junctionális és compound Spitz-naevus (3.a ábra) esetén (3 eset) a hámban komponens sejteinek intenzív és konzisztens reakciója volt látható az összes marker tekintetében (3.b-e ábra), HMB-45-tel, Melan A-vel és PNL-2-vel a pigmentált daganat középső részét érintő pagetoid sejtek vizualizálása a HE-nal festett metszetekben látottakhoz képest igen eredményesnek bizonyult (3.a,d,e ábra). HMB-45-tel a melanociták mellett a hámsejtek gyengébb reakciója volt megfigyelhető. Amennyiben dermális komponens is jelen volt, S-100-ra és MITF-re zonáció nélküli egyenletesen erős reakciót kaptunk, a többi marker esetén lefelé haladva csökkenő, majd eltűnő pozitivitást láttunk. Intradermalis Spitz-naevus (4.a,b ábra) (desmoplastikus naevus, 1 eset) területében kizárólag S-100-ra figyeltünk meg erős és diffúz reakciót (4.c ábra). A többi marker, így MITF elleni antitesttel sem volt festődés detektálható (4.d ábra). Reed-naevusokban (2 eset) (5.a ábra) a junctionális orsósejtes fészkek mind az öt ellenanyaggal jól reagáltak (5.b-f ábra), a kötőszövetben lévő fészkek Melan-A-ra közepesen erős diffúz reakciót, HMB-45-tel negativitást mutattak. Kék naevusban (5 eset) az S-100 erős, diffúz reakciót, a HMB-45 és a Melan-A közepesen erős és gyenge, a PNL-2 erős diffúz festődést mutatott, amely celluláris szöveti altípusokban (6.a,b ábra) a daganat bázisát is érintette (6.c-g ábra). Sejtdús, bifázisos kék naevus vizsgálatokor az erős pigmentáció a reakció értékelhetőségét nagymértékben csökkentette, ezért ilyen esetekben előzetes kilúgozás javasolható. Dysplastikus naevusokban (5 eset) (7.a ábra) a hámban komponens a fenti markerekkel diffúz, közepes és erős pozitivitást adott,



1. ábra. Intradermalis naevus: a) neuroid differenciálódás (HE, 4×); b) diffúz S-100-pozitivitás (4×); c) diffúz magpozitivitás MITF-re (4×); d) fokális pozitívitás PNL-2-vel a hám alatti sejtfészkekben; az epidermisz normális melanocitapopulációja pozitív belsejéig (4×)



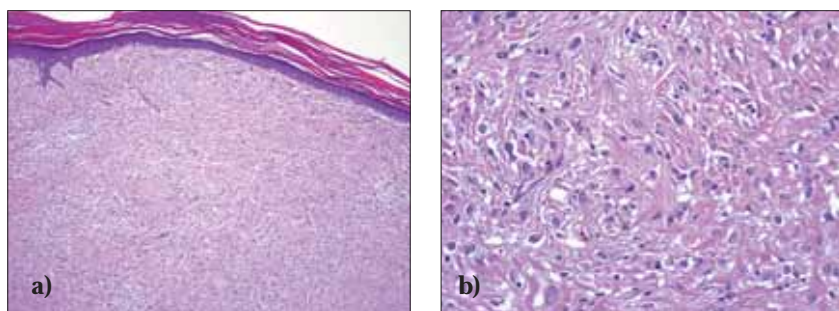
2. ábra. Compound naevus: a) HE-festés (4×); b) a hámkomponens közepesen erős HMB-45-pozitivitása; a dermális, funkcionálisan inaktív sejtpopuláció negatív (4×); c) PNL-2-vel a junkcionális komponensnek a HMB-45-höz képest erősebb, diffúzabb reakciója látható. A dermiszben az A-típusú naevussejtfészkek pozitivitása mellett érés jeleként a bázis felé haladva a reakció intenzitása csökken (4×); d) Gyenge és fokális Melan-A-pozitivitás a háms- és dermális területen (10×); e) diffúz magreakció MITF-re a junkcionális és dermális területen (4×)



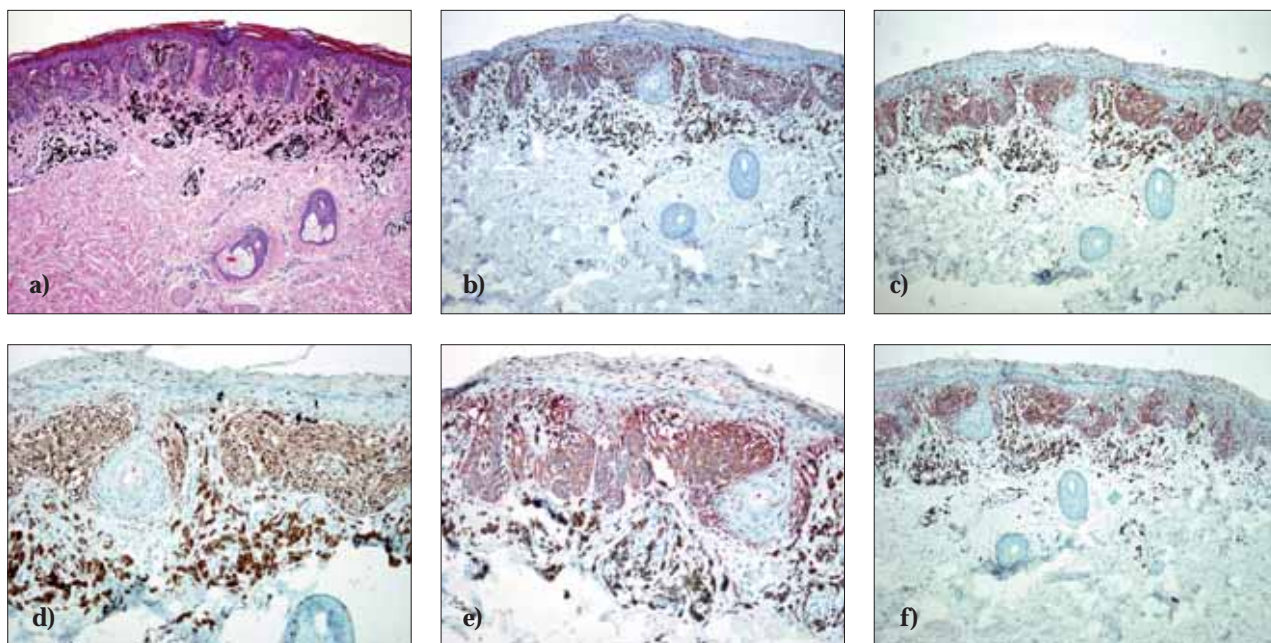
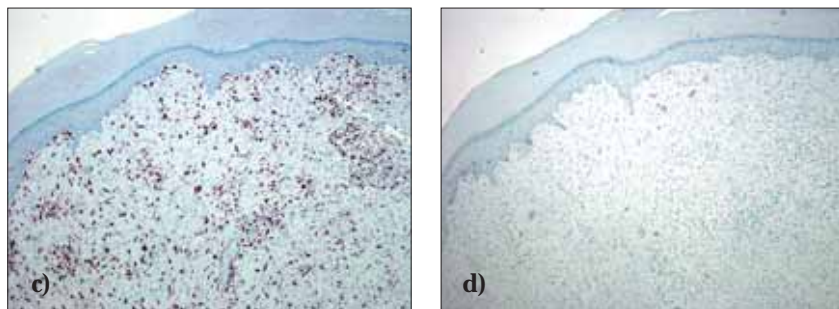
3. ábra. Spitz-naevus: a) HE-festés (10×); b) a hám és a dermisz melanocitái is Melan-A-pozitívok (4×); c) Intraepidermálisan jól látható a fészkelelimináció és a dermális melanociták eloszlása a kollagénrostok között HMB-45-tel (4×); d) PNL-2-vel a dermális komponens erősebb pozitivitása látható, mint HMB-45 esetén (4×); e) S-100-ra a hám és a dermisz melanocitái egyaránt erősen pozitívok, de a strukturális érés jól látható (4×); f) A MITF-reakció kevés információt nyújt a diffúz magpozitivitás miatt (4×)

míg a dermális területen diffúz vagy fokális, de lefelé haladva intenzitását veszítő festődés volt megfigyelhető (7.b,c ábra). Halo-naevusban (8.a ábra) az S-100 és MITF értékelését a lobos beszűrődésben látható pozitivitás nehezítette (8.b,c ábra), azonban a többi markerrel a lob által szétolt, hám felé nyomott naevussejtfészkek az intenzív kereksejtes beszűrődés ellenére jól láthatóvá váltak (8.d-f ábra). Clonalis naevus (invertált A-típusú

naevus) (9.a,b ábra) esetében a dermális komponens középső részében az A-típusú naevussejtekből felépülő kis góc a környezetét képező B- és C-típusú sejtek csökkenő reaktivitásához képest erős reakciót mutatott HMB-45-tel, Melan-A-val és PNL-2-vel (9.c-e ábra). A fenti markerek mindegyike nagy segítséget nyújtott előzetesen inkomplett módon operált, későbbiekben rekurráló naevus (pseudomelanoma) esetén (10.a ábra),



4. ábra. a) Intradermalis Spitz-naevus (desmoplasticus naevus) (HE, 4×); b) Intradermalis Spitz-naevus (HE, 20×); c) S-100-ra láttunk csak pozitív reakciót diffúz jelleggel (4×); d) Az irodalmi adatokkal ellentétben a MITF negatívnak bizonyult (4×)

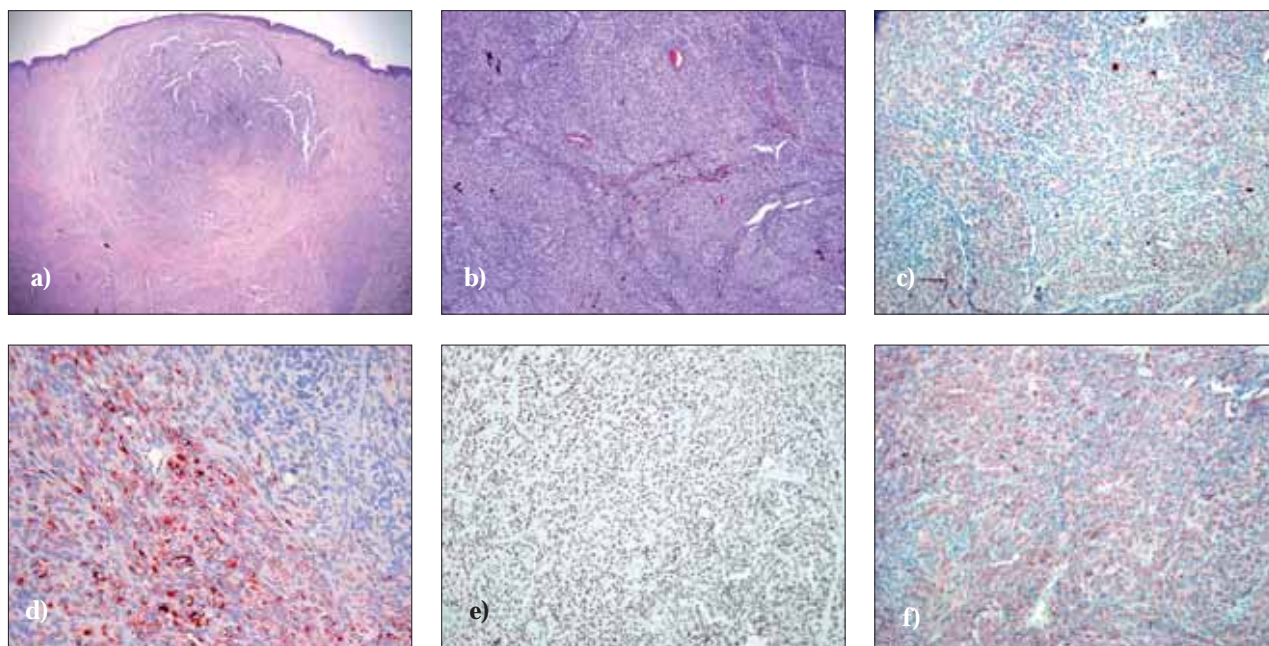


5. ábra. Reed-naevus (pigmentált orsósejtes naevus): a) HE-festés (4×); b,c,e) Az aktív junkcionális komponens HMB-45-tel, Melan-A-val és PNL-2-vel is jól látható a centrális pagetoid terjedés mellett (4×, 4×, 10×); d) A MITF-re kapott magreakciót zavarja a nagy pigmenttartalom, illetve citoplazmatikus háttérfestődés látható (10×); f) Az S-100 magreakción kívül citoplazmatikus pozitívítást mutat, amely jó támpont a fészekorientáció megítéléséhez (4×)

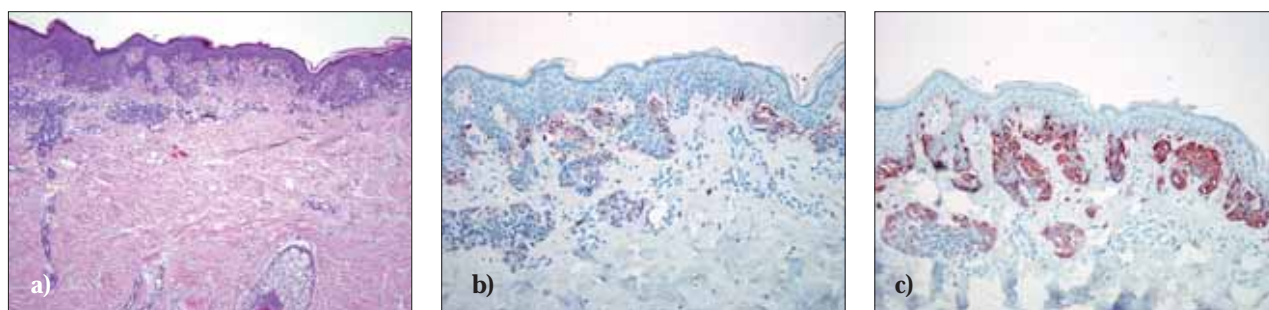
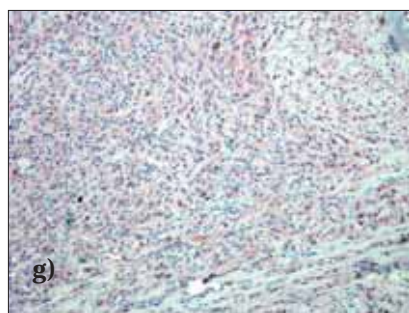
hiszen a hámkomponens csupán a hegyszövet feletti területen volt detektálható, oldalirányú terjedést a hegen túl a reakciók nem jeleztek (10. b-d ábra).

Melanomák értékelésekor a szuperficiálisan terjedő szöveti altípus (SSM, 10 eset) és noduláris (NM) melanomák (6 eset) (11.a ábra) esetén erős és közepes, többnyire diffúz reakciót láttunk mindegyik markerre a hámkomponensben (11.b-f ábra), a dermális daganatsejtekben S-100-ra diffúz és erős, a többi markerre a konzisztens pozitívítás erős vagy közepes intenzitású volt (12.a-c ábra), fokális reakciót csak Melan-A esetén (12.d ábra) láttunk. Olyan melanomákban, amelyekhez

előzetesen fennálló intradermalis naevus is társult, az S-100 és a MITF (12.c ábra) nem differenciált a kötőszövetben lévő naevussejtfészkek és a daganatos sejtcsoportok tekintetében, azonban a többi marker hasznosnak bizonyult a két, eltérő dignitású terület elkülönítésében. Regresszió (6) esetén S-100-ra és MITF-re a lobsejtek pozitivitása a reakció értékelhetőségét nehezítette. Késői regressziót mutató tumorokban a bázison lévő, hegyszövetbe bezáródott reziduális naevussejtcsoportok, amelyek HE-metszetekben is az invazív komponenstől morfológiailag jól elkülöníthetőek voltak, HMB-45-tel, Melan-A-val és PNL-2-vel



6. ábra. Sejtdús kék naevus: a) HE-festés (átnézeti kép); b) HE-festés (10×); c) gyenge és diffúz Melan-A-pozitivitás (10×); d) zonális, de erős HMB-45-reakció (10×); e) nukleáris MITF-reakció a pigmentet nem tartalmazó területeken (10×); f) erős és diffúz PNL-2-reakció (10×); g) diffúz, de gyengébb S-100-reakció (10×)

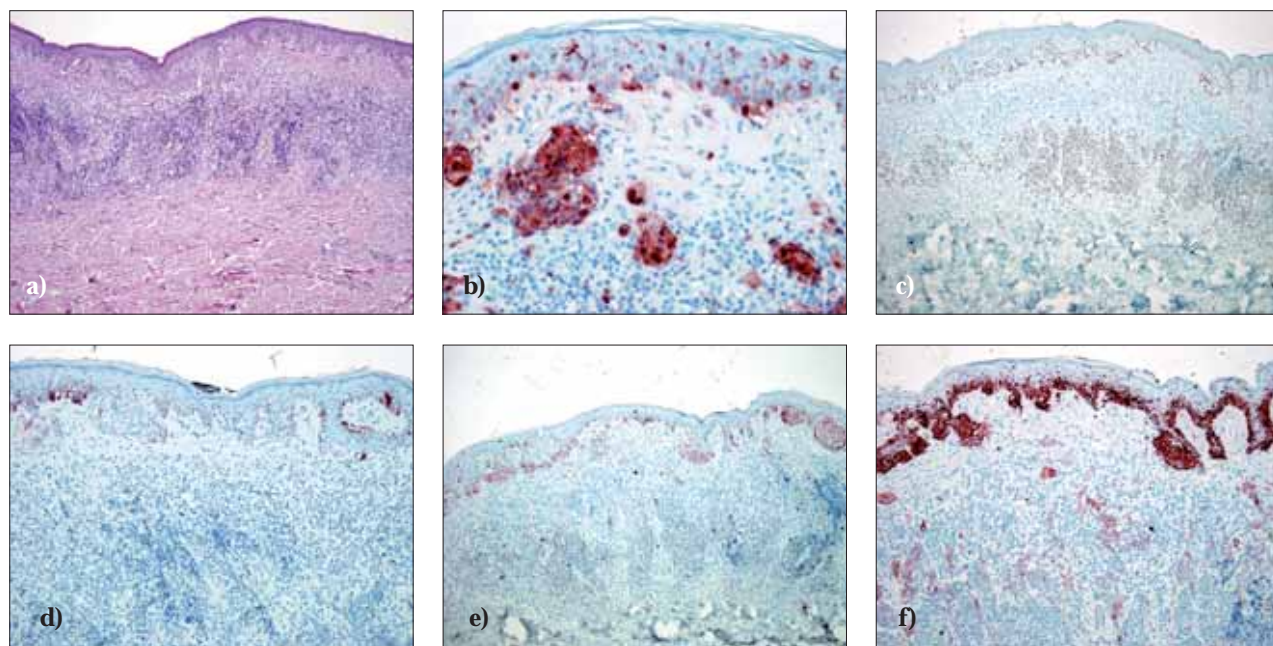


7. ábra. Dysplastikus naevus vállképződéssel: a) HE-festődés (4×); b) HMB-45-tel csupán a híd képződést mutató junctionális sejt fészkek pozitívok (10×); c) PNL-2-vel nem csak a hámkomponensben látunk pozitívítást, hanem a dermisz felső részében levő A-típusú naevussejtek reakciója is látható (10×)

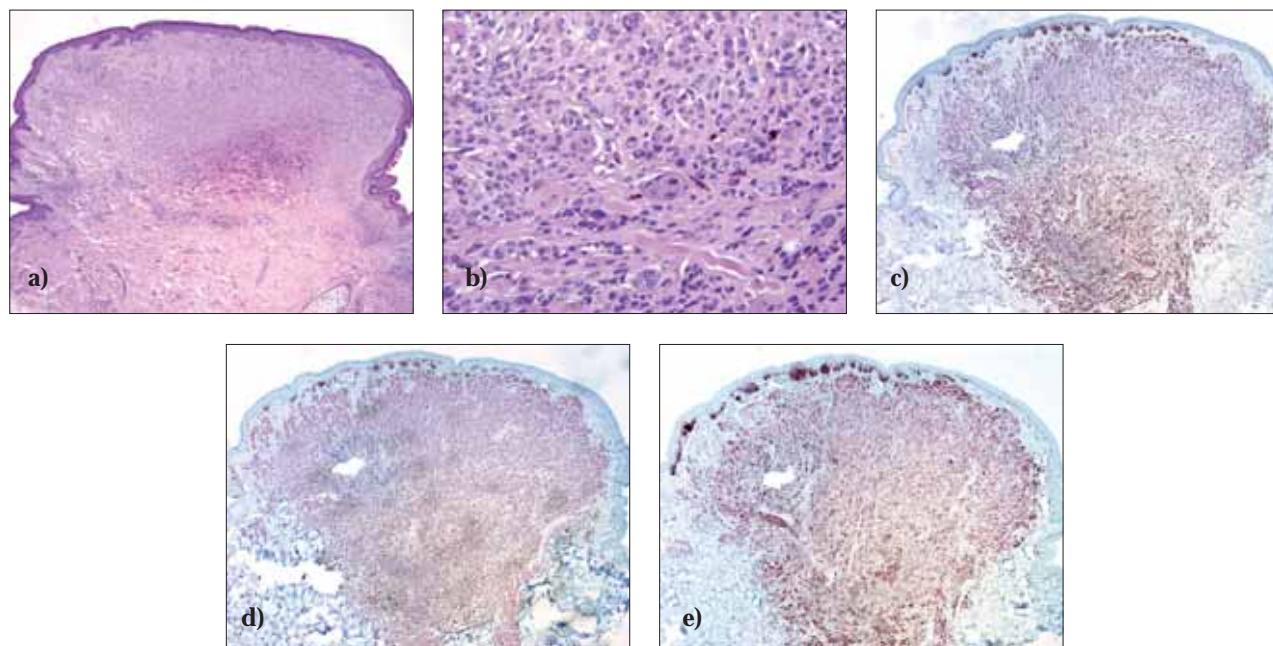
gyengébb, de pozitív reakciót adtak. Kissejtes invazív melanomáknál (4 eset) hasonló festődést láttunk. Orsósejtes melanomákban (8 eset) a dermális komponens a fenti markerekre jól értékelhető reakciót adott, desmoplastikus tumoroknál (4 eset) (13.a,b ábra) az atípusos hámkomponens ugyanezen markerekre pozitív volt, a dermális tumortömeg azonban kizárólag S-100-pozitivitást mutatott (13.d ábra), egyéb markerek esetén reakció nem volt látható (13.c,e,f,g ábra). Polypoid naevoid melanomákban (2 eset) a polypoid naevusszal ellentétben a reakció lefelé csökkenő intenzitása nem volt megfigyelhető.

Melanomás és emlőrákos betegek sentinel nyirokcsomójának eltávolítása esetén a marginális- és velősinusok menti kötőszövetben ritkán nodális naevust figyelhetünk meg (14.a ábra). A naevussejt-inklúziók S-100-ra intenzív, Melan-A-ra közepesen intenzív (14.b ábra), HMB-45-tel és PNL-2-vel gyenge pozitívítást mutattak (14.c,d ábra). A melanomaáttétől való elkülönítésükben a naevussejtcsoport nyirokcsomón belüli lokalizációja, benignus citológiai jellemzői és a mitotikus aktivitás hiánya adhat támpontot.

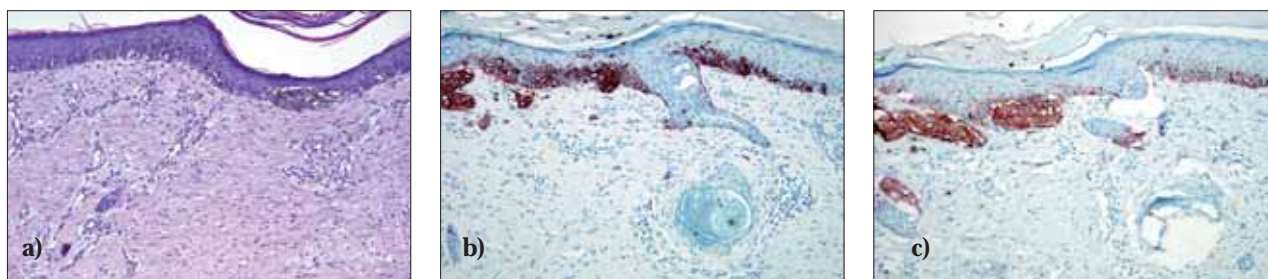
A vizsgált ellenanyagok reaktivitását a különböző da-ganattípusok esetében az 1. táblázatban foglaltuk össze.



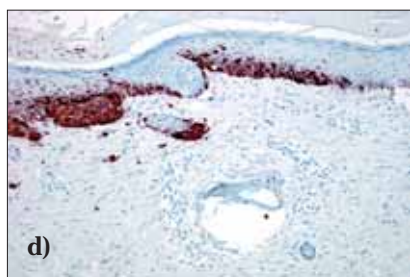
8. ábra. Halo-naevus (Sutton-naevus): a) HE-festődés (4×); b) S-100-ra a lob által szétolt intradermalis naevussejtfészkekben és a hám dendritikus Langerhans-sejtjeiben is pozitívítás látható (20×); c) Halo-jelenség esetén a lobsejtek zavarják a MIF-reakció értékelhetőségét (4×); d, e) HMB-45-tel és Melan-A-val elsősorban a hámkomponens pozitív (4×); f) PNL-2-vel a szétolt, dermiszben helyet foglaló naevussejtcsoportok jól láthatóak (4×)



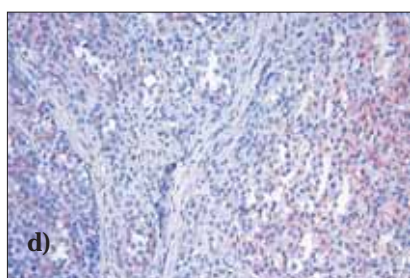
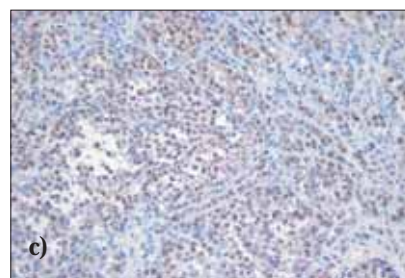
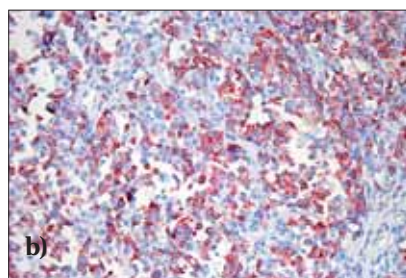
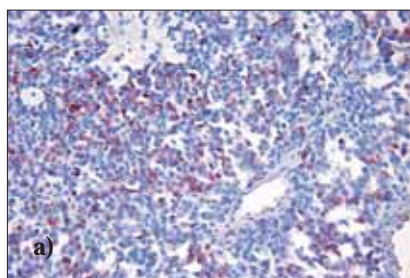
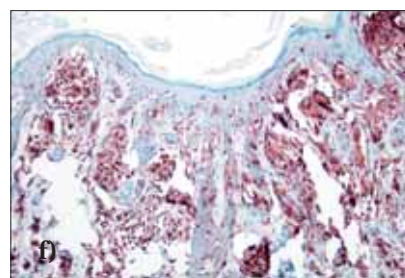
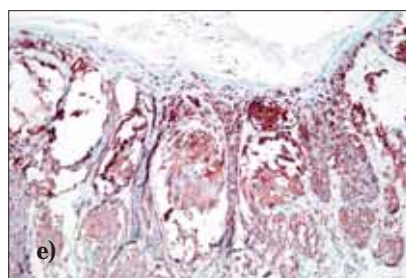
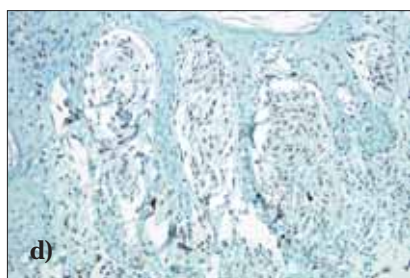
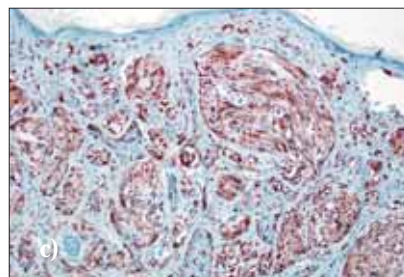
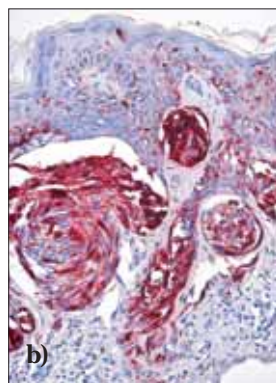
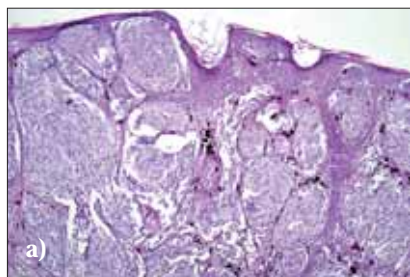
9. ábra. Invertált érést mutató naevus: a) HE-festés (átnézeti kép); b) A-típusú klón a naevus alsó részén (HE, 20×); c) erősen HMB-45-pozitív terület a naevus bázisán (4×); d) diffúz Melan-A-reakció (4×); e) a hámkomponenshez hasonló kifejezett PNL-2-pozitívítás a dermalis naevussejtcsoportok bázisához közeli klónokban (4×)



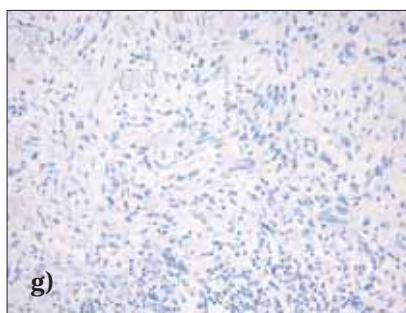
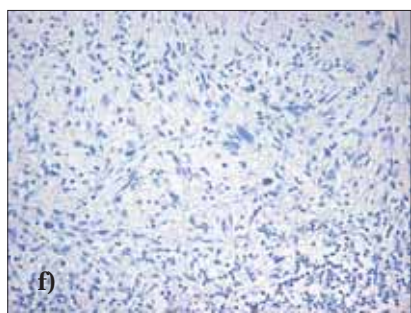
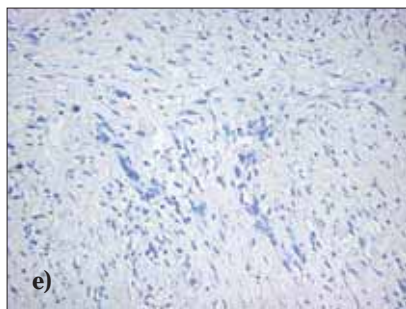
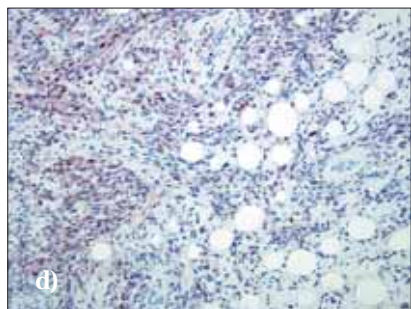
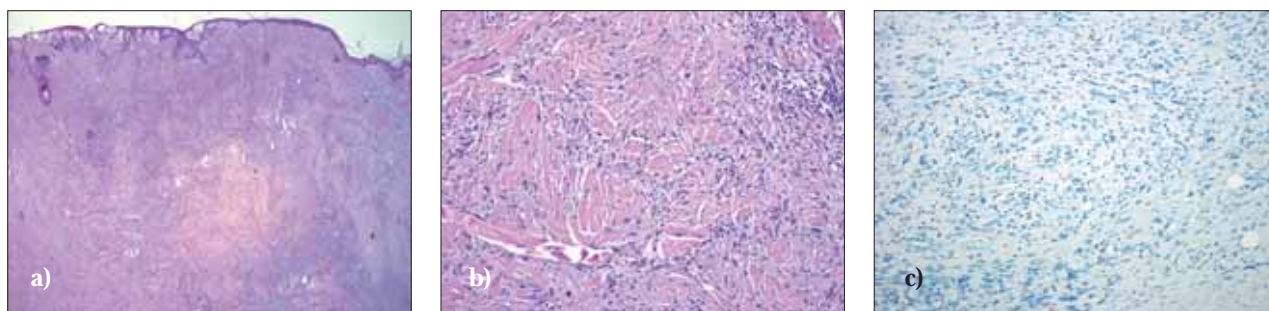
10. ábra. Rekurráló naevus (pseudomelanoma): a) HE-festés (4×); b,c,d) az epidermiszben elhelyezkedő, hegszövet felett elfekvő melanocitás sejtfészkek és a kisméretű, dermális naevusziduum változó intenzitású HMB-45-, Melan-A- és PNL-2-pozitivitása (4×)



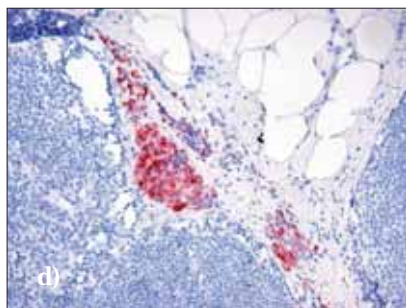
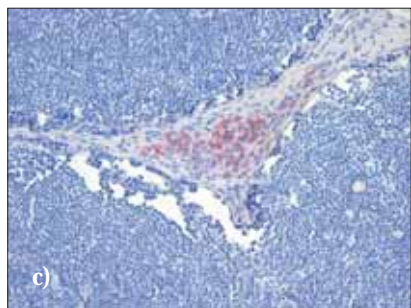
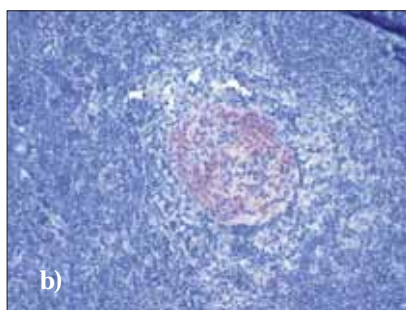
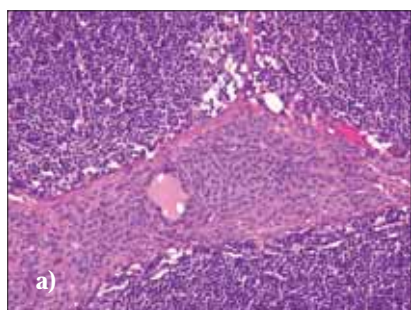
11. ábra. Noduláris, orsósejtes melanoma: a) HE-festés (4×); b) A HMB-45-tel erősen pozitív junkcionális daganatsejtfészkek körül nehezen ítéltető meg az esetleges invázió jelenléte ezen a területen, hiszen ennél az antitestnél előfordulhat a környező hámszövetek gyenge pozitívítása (ez a jelenség Spitz-naevus esetén is megfigyelhető) (10×); c,e,f) Melan-A-, PNL-2- és S-100-reakció (4×); d) A MITF magfestődése nem segít az architekturális jellemzők vizsgálatában (4×)



12. ábra. Kissejtes melanoma: a) jól értékelhető a HMB-45-reakció (10×); b) PNL-2-vel a keskeny citoplazmaszegéllyel rendelkező tumorsejtekben még intenzívebb a festődés (10×); c) Kissejtes melanoma és a naevusmaradvány elkülönítésére a MITF nem alkalmas (10×); d) Gyenge és fókális Melan-A-reakció (10×)



13. ábra. Desmoplastic melanoma: a) átnézeti kép (HE); b) Desmoplasticus melanoma infiltrátuma limfoid halmazsal (HE, 10×); c,e,f,g) negatív HMB-45-, Melan-A-, MITF- és PNL-2-reakció (10×); d) Desmoplasticus melanoma diagnosztikájában a vizsgált markerek közül csak az S-100 pozitívítására támaszkodhatunk (10×)



14. ábra. a) Naevussejt-inklúzió a nyirokcsomó fibrotizált szinuszában (HE, 10×); b,c,d) A nodális naevus változó intenzitású Melan-A-, HMB-45- és PNL-2-pozitivitása (10×)

1. táblázat. Különböző antitestek reakcióinak értékelése benignus és malignus melanocitás daganatokban

| | S-100 | | HMB-45 | | Melan-A | | MITF | | PNL-2 | |
|---|------------------------|----------------------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------|--------------------------------------|------------------------|---------------------------------|------------------------|--|
| | junkcionális komponens | dermális komponens | junkcionális komponens | dermális komponens | junkcionális komponens | dermális komponens | junkcionális komponens | dermális komponens | junkcionális komponens | dermális komponens |
| Junctionalis / lentiginosus (4) | +++ | | +++ | | ++/+++ | | ++/+++ | | +++ | |
| Compound naevus (4) | +++ | +++ | +++ | +/- | +/+ | +/- fokális | ++/+++ | ++/+++ lob zavaró | +++ | ++/+++ diffúz v. fokális ++/+++ |
| Intradermalis naevus (10) | +++ | +++ | +++ | +/- | | +/- fokális | | ++/+++ | ++/+++ | ++/+++ |
| Spitz-naevus (3) | +++ | ++/+++ | +++ | +/- fokális | ++/+++ | +/+ fokális | ++/+++ | -/+/+++ | ++/+++ | ++/+++ |
| Desmoplasticus Spitz-naevus (1) | +++ | ++ diffúz | ++ | - | +++ | - | ++/+++ | - | +++ | - |
| Reed-naevus (2) | +++ | +++ | ++ | - | +++ | ++ | ++/+++ | ++/+++ | +++ | +++ diffúz |
| Kék naevus (5) | ++/+++ diffúz | ++/+++ diffúz | ++/+++ | +/+ diffúz | ++ | +/+ fokális | ++/+++ | ++/+++ pigment elfedi | +++ diffúz | +++ diffúz |
| Dysplasticus / atipusos naevus (5) | +++ | +++ | +++ | -/+/+ fokális | ++/+++ | -/+/+ | ++/+++ | +/+ | +++ | +++ diffúz |
| Polypoid naevoid melanoma (2) | +++ | +++ | ++/+++ | | ++ | +/+ | ++ | ++ | +++ | ++ |
| Orsósejtes melanoma (8) | +++ | +++ diffúz | +++ | ++/+++ | ++ | ++ | ++ | +/+ fokális | ++/+++ | +++ diffúz |
| Desmoplasticus melanoma (4) | ++ | ++/+++ | +++ | - | ++ | - | ++ | - | ++/+++ | - |
| Noduláris melanoma (6) | +++ | +++ | ++ | ++/+++ diffúz | ++ | ++/+++ | ++ | ++ fokális | ++ | ++ diffúz |
| Felszínesen terjedő melanoma (SSM) (10) | +++ | +++ naevus- maradvány + | ++ | +++ naevus- maradvány | ++ | fokális naevus- maradvány | ++ | ++ naevus- maradvány + | ++ | ++ naevus- maradvány |
| Kissejtes / világossejtes melanoma (4) | ++ | ++ naevus- maradvány + | ++ | +/+ naevus- maradvány | ++ | fokális naevus- maradvány + | ++ | ++ naevus- maradvány + | ++ | ++ naevus -/+ |

-: negatív reakció; +, ++, +++: gyenge, közepes, erősen pozitív reakció

MEGBESZÉLÉS

A különböző, ún. „melanocita-markerként” alkalmazott ellenanyagok (2. táblázat) közül az S-100 protein elleni antitest jól értékelhető, alapvetően a melanocitákhoz kötődő pozitívítása kifejezetten szenzitív (több mint 95%), azonban specifitása alacsony, mivel a benignus és malignus melanocita tumorokban egyaránt pozitívítást mutat (1). Az S-100 protein a kalciumkötő fehérjék családjába tartozik (8). Az ellene kialakított antitest magas szenzitivitással, velőléc-eredetű alátámasztó marker, amely mag- és citoplazmafestődést mutat. Poliklonális, valamint az alfa- és béta alegység elleni monoklonális antitest formájában szerezhető be (12). A melanocita tumorokon kívül Schwann-sejtekben, zsírszövetekben, porcsejtekben, myoepithelben és Langerhans-sejtekben is pozitív (9).

2. táblázat. A melanocita daganatok diagnosztikájában használt antitestek szenzitivitása és specifitása

| Antitest | Antigén | Szenzitivitás (%) | Specifitás |
|---------------|-----------------------------|-------------------|------------|
| Anti-S-100 | S-100 protein | >95 | Alacsony |
| A103/ M2-7C10 | Melan-A/ MART-1 | 70–85 | Magas |
| HMB-45 | gp100 | 60–80 | Magas |
| D5/C5 | MITF | 60–80 | Közepes |
| PNL-2 | Melanoma-asszociált antigén | >80 | Magas |

Az S-100-reakció leginkább a melanocita és egyéb, nem velőléc-eredetű tumorok elkülönítésében használható. A reakció értékét csökkenti, hogy az epidermisz Langerhans-sejtjei, valamint a regresszió részjelenségét képező lobsejtek, a tumort infiltráló limfoid elemek között jelenlévő, vagy a halo-szerű lobbán megjelenő dendritikus sejtek szintén S-100-pozitívak. Desmoplasticus melanoma és desmoplasticus naevus (intradermalis Spitz-naevus) gyanúja esetén azonban továbbra is ez az egyetlen diagnosztikus marker, mivel a többi melanocita-marker ezekben az elváltozásokban gyakorlatilag mindig negatív (3). S-100 elleni antitesttel a bizonytalan dignitású melanocita daganatok esetén a strukturális érés jól demonstrálható, a citológiai érésre vonatkozó információval nem szolgál.

A humán melanomasejtek ellen kifejlesztett monoklonális HMB-45 (4, 11) egy premelanoszómális glikoproteinhez kötődik (gp100). Festődése citoplazmatikus, gyakran heterogén. A melanocita daganatokon kívül HMB-45-pozitívítást láthatunk a PEComa-csoport, angiomyolipomák, lymphangioleiomyomatosis és pheochromocytoma esetén.

A membranózus és citoplazmatikus reakciót adó Melan-A/MART-1 szenzitívebb melanocita marker, mint a gp100 (2, 3). A PEComa család tagjaival és adrenokortikális tumorokban szintén pozitívítás látható.

A legújabb antitestként ismert PNL-2, a formalin-rezisztens melanoma-asszociált antigén ellen egérben

termeltetett monoklonális antitest paraffinos anyagon használható, a festődést a lúgozás vagy a dekalcinálás nem befolyásolja (10). A reakció sajátosságai hasonlóak a HMB-45 esetén észleltekhöz, tehát citoplazmatikus, néha membranózus reakciót látunk. PNL-2-vel azonban a reakció erősebb, egyenletesebb. Reaktivitása nem csak a melanocitákra korlátozódik ép szövetben, a neutrofil granulociták pozitív belső kontrollként használhatóak. Melanocita daganatokban jól működik, azonban desmoplasticus melanomákban negatív. Ezen kívül pozitív reakció várható melanotikus schwannomában, világossejtes sarcomában, angiomyolipomában, lymphangioleiomyomatosisban.

Melan-A-val, HMB-45-tel, valamint az utóbbihoz hasonló festődési tulajdonságokkal rendelkező új markerrel, a PNL-2-vel való reakciókat vizsgálva magas specifitást találtunk, hiszen az esetek többségében a benignus naevusejteket a daganatos melanocitáktól jól elkülönítették, a daganatokon belüli zonáció és citológiai érés jelenléte vagy hiánya egyértelműen követhető volt.

Melan-A-val 70–85%-os, HMB-45-tel 60–80%-os szenzitivitás volt megfigyelhető. A HMB-45-höz hasonló PNL-2-vel az előbb említett antitesthez képest magasabb, több mint 80%-os szenzitivitást láttunk, a festődés sokkal erősebbnek és konzisztensebbnek bizonyult. Desmoplasticus melanomában negativitást találtunk mindhárom markerrel. Az irodalmi adatokkal (7) ellentétben az általunk vizsgált egyetlen intradermalis Spitz-naevusban reakciót nem kaptunk. Fontos kiemelni, hogy a fenti három antitest sem specifikus dignitás szempontjából, ezek pozitívítása nem jelez feltétlenül malignus átalakulást. Az inaktív naevusejtcsoportok a nyugvó állapot után külső vagy belső környezetváltozásra (UV-sugárzás, sérülés, hegesezés, dermális tumorok) újból pigmentszintetizáló sejtekké válhatnak, így HMB-45-tel, Melan-A-val és PNL-2-vel pozitívítást mutatnak.

A MITF-re adott reakciót közepes specifitás és 60–80%-os szenzitivitás jellemezte. A specifikus reakció nukleáris jellegű. A MITF ellen egérben termeltetett monoklonális antitest nemcsak paraffinos, hanem fagyasztott anyagon és citológiai keneten is jól működik (5). A MITF génje a melanocita fejlődését, túlélését szabályozza, összefüggésben a tirozin transzkripciójával. C-kit-aktiváció során fokozott expressziót mutat. A gén mutációja von Waardenburg-szindrómát okoz (sükettség, pigment-rendellenesség). A melanocitákon kívül reakciót ad a hisztiocitákkal, oszteoklasztokkal, hízósejtekkel, valamint az endometriális stromasejtekkel. A melanocita daganatok mellett pozitív egyes fibrohisztiocita- és simaizom-tumorokban, perifériás ideghüvely-tumorokban, osteosarcomákban.

Az irodalmi adatokkal (5) ellentétben tapasztalunk szerint a nukleáris reakciót a pigmentáció elfedte, magas koncentráció esetén azonban kissé hátrésszerű festődést kaptunk. A halo-jelenség, a regresszió, stb. esetén korlátozottan értékelhető. Jelentősége inkább differenciáldiagnosztikai értékű a melanocita és nem melanocita daganatok elkülönítésében.

KÖVETKEZTETÉSEK

A pigmentált melanocitás daganatok diagnózisa alapvetően a HE-festett metszetek alapos vizsgálatán nyugszik. Az immunhisztokémiai módszerek a diagnózis alátámasztását szolgálják. Csupán immunhisztokémiai reakcióra támaszkodni a dignitás eldöntésében nem lehet.

Vizsgálataink alapján az antitestek közül továbbra is az S-100 protein elleni antitest bír diagnosztikus jelentőséggel desmoplasticus melanoma és amelanotikus tumorok esetében. Az új markerként vizsgált PNL-2 a HMB-45-höz hasonló festődési sajátosságokkal rendelkezik, de az erősebb, konzisztensebb reakció miatt mindenképpen előtérbe helyezendő. Az irodalmi adatokkal (3) ellentétben vizsgálataink alapján intradermalis Spitz-naevusban nem láttunk reakciót PNL-2-vel. A MITF-reakció beállítása idő- és eszközigényesnek bizonyult. A festődés több esetben egyetlen volt, alacsonyabb koncentráció esetén a magreakciót a pigmenttartalom elfedte, magas koncentrációnál erős háttérfestődést észleltünk. A halo-jelenség és a regresszió az értékelést nehezítette. Inkább differenciáldiagnosztikai szerepe van a melanocitás és nem melanocitás daganatok elkülönítésében.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozunk a Péter Ilona főorvos által irányított immunhisztokémiai laboratórium munkatársainak, Varga Katalinnak és Budai Zsuzsának, valamint Kónya Miklósnak a munka elkészítésében nyújtott segítségükért, továbbá intézetünk Onkodermatológiai Osztálya szakorvosainak, akik munkánkat támogatták.

IRODALOM

1. Bánfalvi T, Udvarhelyi N, Orosz Z, et al. Heterogenous S-100 B protein expression patterns in malignant melanoma in association with serum protein levels. *Oncology* 64:374–379, 2003
2. Busam K, Rosai J, Barnhill R. Expression of Melan-A (MART1) in benign melanocytic nevi and primary cutaneous melanoma. *Am J Surg Path* 22:976–982, 1998
3. Busam KJ, Kucukgol D, Sato E, et al. Immunohistochemical analysis of novel monoclonal antibody PNL-2 and comparison with other melanocyte differentiation markers. *Am J Surg Path* 29:400–406, 2005
4. Gown A, Vogel A, Hoak D, et al. Monoclonal antibodies specific for melanocytic tumors distinguish subpopulation of melanocytes. *Am J Pathol* 123:195–203, 1986
5. King R, Googe P, Mihm MC. Microphthalmia transcription factor expression in cutaneous benign, malignant melanocytic and non-melanocytic tumors. *Am J Surg Path* 25:51–57, 2001
6. Liskay G, Orosz Z, Péley G, et al. Relationship between sentinel lymph node status and regression of primary malignant melanoma. *Melanoma Res* 15:509–513, 2005
7. Mangini J, Li N, Bhawan J. Immunohistochemical markers of melanocytic lesions. *Am J Dermatopathol* 24:270–281, 2002
8. McNutt NS. The S-100 family of multipurpose calcium binding proteins. *J Cutan Pathol* 25:521–529, 1998
9. Orosz Z. Melan-A/Mart-1 expression in various melanocytic lesions and in non-melanocytic soft tissue tumours. *Histopathology* 34:517–525, 1999
10. Rochoix P, Lacroix M. PNL-2, a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant melanocyte antigen. *Mod Pathol* 16:481–490, 2003
11. Szekeres G, Battyáni Z. A malignus melanoma immundiagnosztikája. *Magyar Onkológia* 47:45–50, 2003
12. Tímár J, Udvarhelyi N, Bánfalvi T, et al. Accuracy of the determination of S100B protein expression in malignant melanoma using polyclonal or monoclonal antibodies. *Histopathology* 44:180–184, 2004