

Megyei Kórház Bőrgyógyászata, Kecskemét<sup>1</sup> és Daganatpatológiai és molekuláris diagnosztikai laboratórium Bay Zoltán Alkalmazott Kutatási Közalapítvány, Szeged<sup>2</sup>

## A parapsoriasis és mycosis fungoides kapcsolata: Az immunmorphológiai és molekuláris biológia vizsgálatok jelentősége

### The relationship between parapsoriasis and mycosis fungoides: The importance of immunohistochemical and molecularbiological examinations

TÖRÖK LÁSZLÓ DR.<sup>1</sup>, KRENÁCS LÁSZLÓ DR.<sup>2</sup>, KOCSIS LAJOS DR.<sup>1</sup>, NÉMETH SZILVIA DR.<sup>1</sup>,  
BAGDI ENIKŐ DR.<sup>2</sup>

#### ÖSSZEFOGLALÁS

Míg a nagy plakkos parapsoriasist a mycosis fungoides manifesztációjának lehet tartani, addig a kis plakkos parapsoriasis dignitása vitatott. A szerzők szövettani, immunhisztokémiai és PCR technika segítségével tanulmányozták a kis plakkos parapsoriasist abból a célból, hogy megállapítsák a mycosis fungoideshez való viszonyát. A vizsgált 18 kis plakkos parapsoriasisból a fenti vizsgálatok segítségével 8 esetben tudtak már mycosis fungoidest diagnosztizálni. Az irodalmi és a saját adataik alapján rámutatnak fenti módszerek jelentőségére a korai diagnosztikában és a kis plakkos parapsoriasis megítélésében végbemenő változásra.

#### Kulcsszavak:

kis plakkos parapsoriasis - mycosis fungoides - hisztológiai, immunhisztokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatok

#### SUMMARY

While the large plaque parapsoriasis can be considered to be the manifestation of mycosis fungoides, the dignity of small plaque parapsoriasis is controversial. The authors studied the small plaque parapsoriasis with the help of histological, immunohistochemical and PCR technology to find how it is related to mycosis fungoides. They could diagnose mycosis fungoides in 8 cases out of 18 small plaque parapsoriasis with the help of the above mentioned examinations. On the basis of the literature and their own findings they highlight the importance of these methods both in early diagnostics and in the changes of our opinion on small plaque parapsoriasis.

#### Key words:

small plaque parapsoriasis - mycosis fungoides - histological, immunohistochemical, molecularbiological examinations

A mycosis fungoides a leggyakoribb cutan T-sejtes lymphoma, amely az érett T-helper sejtek daganata. Klinikailag erythemás, hámló foltok, illetve plakkok, szövettanilag a kis és közepes nagyságú cerebriform magvú T-sejtek epidermotrop infiltrációja, immunhisztokémiai CD2, CD3, CD4 fenotípusú sejtek és molekuláris biológiailag a PCR teszttel kimutatott T-sejt klonalitás jellemzi (11).

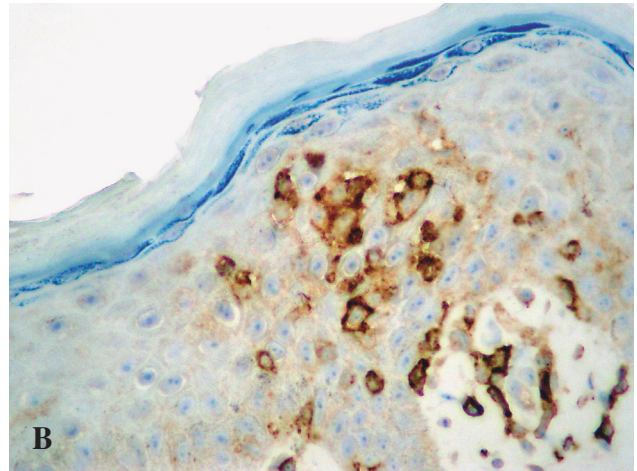
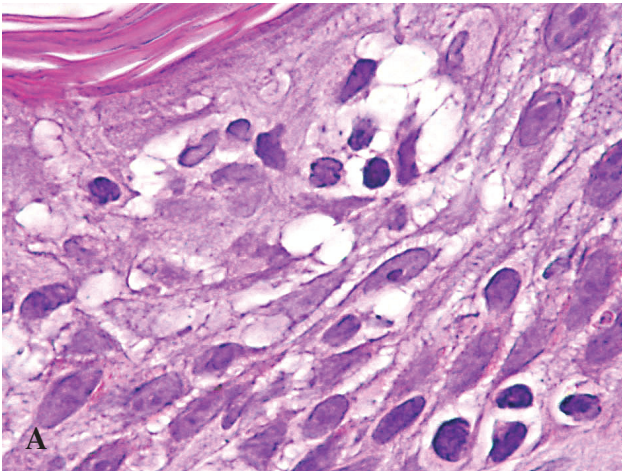
A dermatosis korai kórismézése, amelynek fontos terápiás és prognosztikai következményei vannak, gyakran nehéz, mivel számos benignus dermatosissal mutat hasonlóságot, illetve átfedést. A korai diagnosztika és differenciál diagnosztika szempontjából különösen fontos a pa-

ropsoriasisshoz való viszonyának tisztázása. Míg a nagyelemű (nagy foltos) parapsoriasist ma a legtöbb szerző a mycosis fungoides manifesztációjának tekinti, addig a kis elemű (kis foltos) parapsoriasis és a mycosis fungoides kapcsolata vitatott. Ugyanis a kis foltos parapsoriasist nehéz a mycosis fungoides folt stádiumától elhatárolni. (A plaque a francia nyelvben nem azonos az angol használattal, helyes értelmezése: a „folt, vagy az „elem”). Ebben a munkában azt kívántuk tanulmányozni, hogy az újabb szövettani kritériumok és főleg az immunhisztokémiai, illetve molekuláris biológiai módszerek mennyiben segítenek ebben.

#### Betegek és módszerek

18 beteg került vizsgálatra, 12 férfi és 6 nő. A betegek átlagos életkora 56 (35-72) év volt. Kis foltos parapsoriasisnak véleményeztük

\* Dr. Simon Miklós emeritus professzor 90. születésnapjára írt közlemény



1 ábra

Mycosis fungoides folt stádiumának megfelelő infiltrátum. (A) Az epidermisben atípusos - hiperkróm, cerebriform magvú - lymphocyták jelentek meg egyesével, illetve kisebb csoportot alkotva (HE, x600). (B) Az intraepidermalis lymphocyták többsége CD4 pozitivitást mutat (Envision-peroxidáz, x400)

a nem viszkető, több mint 2 éve fennálló, 5 cm-nél kisebb, kerek vagy ovális, vöröses, vagy barnászvörös színű hámló foltokat, vagy minimálisan infiltrált léziókat, A tünetek a törzsön vagy a végtagok hajlító felszínén foglaltak helyet és az arcot szabadon hagyták.

Szövetani kritériumul a kompakt stratum korneummal fedett, közepes fokú akantotikus hám, fokális spongiosis, és lymphocytá exocytosis, enyhén ödemás papilláris dermis, kisméretű lymphohistiocytar infiltrátum szolgált. A mycosis fungoides (MF) diagnózisát a stanford kritériumok alapján állítottuk fel a következő kategóriákban: MF-re diagnosztikus, MF-nek megfelelő és MF-re gyanús elváltozások (16).

Immunhisztokémiai vizsgálat. A formalinban fixált, paraffinba ágyazott bőrbioptiás minták immunhisztokémiai feldolgozása során a CD3, CD5, CD4, CD7, CD8 és CD30 antigéneket mutattuk ki, magas hővel végzett antigén feltárást követően, Envision-HRP (DakoVision) detektáló rendszert alkalmazva.

PCR vizsgálat. A T-sejt klonalitást a standard módszerrel határoztuk meg, a T-sejt receptor gamma gén átrendeződésének vizsgálatával, McCarthy és mtsai. módszerének (9) alkalmazásával, a következő módosításokkal. A formalin-fixált, paraffinba ágyazott bőrbioptiás mintákból 4 db 10 mikrométer vastagságú metszetet steril Eppendorf csőbe helyeztünk, xilol és alkohol segítségével deparaffináltuk, proteináz K-val emésztettük, és forralás után a felülúszót használtuk templátként. Minden mintából 2 PCR vizsgálat készült párhuzamosan, 10x-es és 100x-os templáthígítással. A PCR amplifikációhoz a V $\gamma$ 1-8 (Fw): 5'-TCTGGRGTCTATTACTGTGC-3' és J $\gamma$ 1-2 (Re): 5'-CAAGTGTGTGTTCCACTGCC-3' primereket használtuk. A monoklonalitást, polakarilamid gélelektroforézis után a várt tartományban (80-120 bázis) jelentkező domináns, reprodukálható termék jelenléte esetén állapítottuk meg, megfelelő pozitív és negatív kontrok alkalmazása mellett.

## Eredmények

18 eset közül a szövetani kritériumok alapján egy betegnél láttunk MF-re diagnosztikus, 7 betegnél MF-nek megfelelő, 3 esetben gyanút keltő elváltozásokat, míg 7 esetben nem specifikus, superficialis perivascularis dermatist diagnosztizáltunk.

A 8 szövetanilag diagnosztikus és a szövetanilag MF-nek megfelelő esetekben, az intraepidermalisan megjelenő lymphocytákat figyelembe véve, immunhisztológialag 6 betegnél kifejezett CD3/CD4 dominanciát láttunk (CD3/CD4 >CD3/CD8), míg kettő MF-nek megfelelő esetben a CD3/CD4 és a CD3/CD8 sejt arány egyforma

volt.. A gyanút keltő esetekben csak néhány CD5/CD4 pozitív sejtet láttunk. A superficialis perivascularis dermatiseknél nem, vagy csak minimális fokú exocytosiszt észleltünk (1, 2 ábra).

A T- sejt receptor gamma génátrendeződés vizsgálatával monoklonalitást 8, oligoklonalitást 2, míg poliklonalitást 8 esetben találtunk. A szövetanilag MF-re diagnosztikus infiltrátumok mind monoklonalitást mutattak, míg az MF-nek megfelelő esetekből hatban monoklonalitást, egyben oligoklonalitást észleltünk (3. ábra). Az MF-re gyanút keltő 3 esetből 1-1 oligoklonalitás, monoklonalitás (gyenge) és poliklonalitás fordult elő. A 7 superficialis perivascularis dermatitis mindegyike poliklonalitást mutatott.

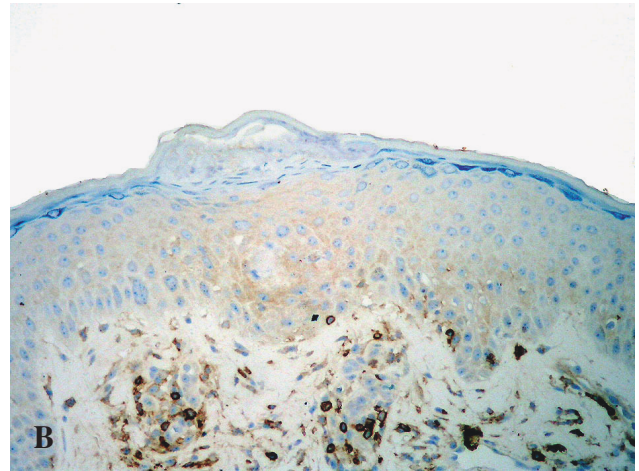
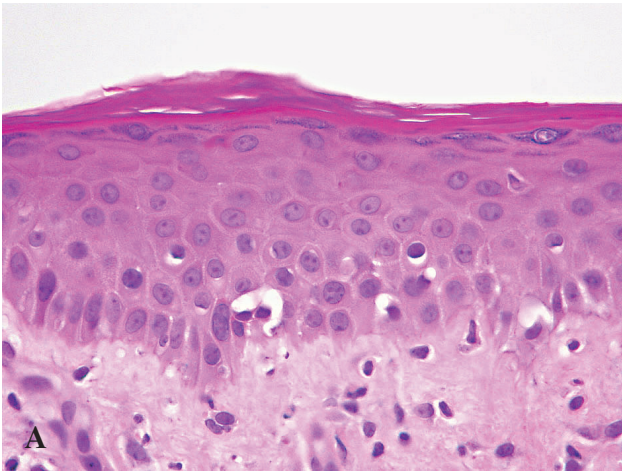
## Megbeszélés

A parapsoriasis fogalmat először 1902-ben Brocq használta az ismeretlen etiológiájú, krónikus, nem viszkető, terápia rezisztens dermatosisok elkülönítésére. A fenti betegségekre, klinikailag a perzisztálás, a gyulladás és a hámlás volt a jellemző. Ma a parapsoriasisokat a következőképpen osztályozzuk: 1. nagy plakkos (különleges formái: poikilodermatosus, retiform), 2. kis plakkos (különleges formája: digitiform dermatosis), 3. pityriasis lichenoides (formái: pityriasis lichenoides et varioliformis acuta, pityriasis lichenoides chronica).

A parapsoriasisokat a többi gyulladáso dermatosistól két tulajdonságuk különbözteti meg, viszonyuk a malignus lymphoproliferatív betegségekhez és koegzisztencia és/vagy átfedés az egyes csoportok között.

A kis plakkos parapsoriasis elsősorban a törzs felső részén valamint a végtagok proximális hajlító felszínén fordul elő. A göcök kisebbek, mint 6 cm, habár néhányszor az úgynevezett digitat léziók akár 10-20 cm hosszúak is lehetnek, gyakran a bőr hasadási vonalaiban helyezkednek el. Az atrophia és a poikiloderma a legújabb definíció szerint nem része a tüneteknek, sőt az MF felé tereli a





2 ábra

Superficialis dermatitis szöveti képét mutató kis elemű parapsoriasis. (A) Minimális fokú lymphocytá szaporulat az epidermisben némi spongiosissal kísérvé (HE, x400). (B) A dermalis perivascularis lymphocyták és elvétve 1-1 lymphocytá a junctionak megfelelően CD4 expressziót mutat (Envision-peroxidáz, x400)

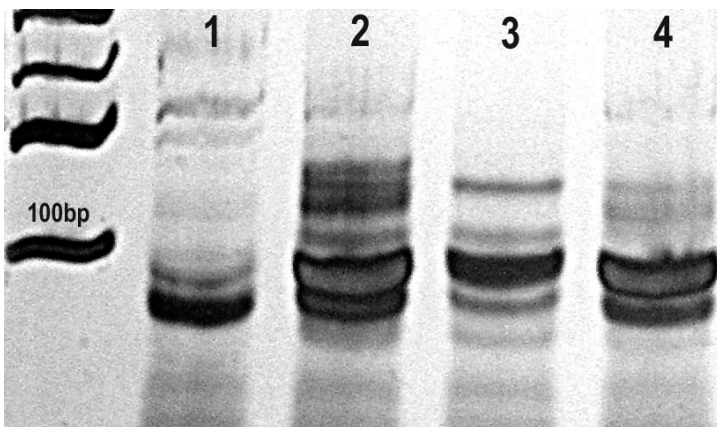
gyanút (11). Szövettanilag nem specifikusak, fokális spongiotikus és/vagy psoriasiform és/vagy lichenoid dermatitist látunk a kis lymphocyták enyhe-mérsékelt fokú exocytosisával.

A kilencvenes évek végén ismét előtérbe került a kis plakkos parapsoriasis és a mycosis fungoides kapcsolata. Ackerman és munkatársai a kis plakkos és nagy plakkos parapsoriasist is a mycosis fungoides manifesztációjának tartják, még ha azok „abortív” lefolyásúak is (1). Ezzel szemben Burg és munkatársai a kis plakkos formát benignus folyamatként értékelik, ahol az iniciális DNS defektus olyan „skin homing” T-sejt klón kialakulását eredményezi, amelyek már nem mennek át újabb, az igazi cutan T-sejtes lymphoma kialakulásához szükséges mutáció (abortív cutan T-sejtes lymphomának). Szerintük csak a klinikai lefolyás tesz különbséget a kisfoltos parapsoriasis

és a mycosis fungoidest szimuláló kis foltos parapsoriasis között (3).

Az újabb vizsgálatok arra utalnak, hogy a kis foltos parapsoriasis nem kis százalékban átmehet mycosis fungoidesbe vagy az már eleve mycosis fungoidesnek felel meg. Finn szerzők szerint 26 éven keresztül követett parapsoriasisos betegcsoportban a nagy plakkos esetekben 35%-ban, a kis plakkos esetekben 10%-ban észleltek átmenetet mycosis fungoidesbe 6-10 éves időszak alatt (15). Érdekes, hogy a fototerápiának nem volt jelentősége az átmenet megakadályozásában. A transzformálódott esetek felében később spontán remisszió következett be. A reaktív immunválasz jelentőségét húzza alá továbbá Stachowitz és mtsai. vizsgálatai is. Az 1 - 23 éven keresztül követett 30 plakkos parapsoriasisos esetből jóllehet egy betegnél sem észleltek terminálisan mycosis fungoidest, de a betegek előzményeiben, több mint 30%-ban, legalább egyszer a szövettani vizsgálat mycosis fungoidest mutatott (14).

Érdekesekek azok az újabb megfigyelések is, amelyek szerint kiselemű parapsoriasisnál a betegek nagy részében klonális T-sejtek a perifériás vérben már hamarabb kimutathatók, mint a bőrben (10). Ezt jellegzetesnek is tartják kis elemű parapsoriasisra. A fenti adatok a kis foltos parapsoriasis szisztémás karakterére világítanak rá (extracutan eredet?) és a mycosis fungoidessel való szorosabb kapcsolatára utalnak. A klonalitás meghatározása alapvető, jóllehet nem kizárólagos kritérium a bőr lymphohistocyter beszűrődésének benignus vagy malignus voltának eldöntésében (2, 4, 12). Kis plakkos parapsoriasisban Klemke és mtsai. valamint Simon és mtsai 50%-ban tudtak klonalitást kimutatni a bőrben (8, 13). Erős és mtsai. szövettani és immunhisztokémiai módszerrel 7 kis plakkos parapsoriasisból a mycosis fungoides gyanúját 3 esetben, míg egy újabb sorozatukban már 37 betegből 8-nál egyértelmű mycosis fungoidest, 4-nél



3. ábra

Monoklonális T-sejt receptor gamma génátrendeződés PCR-es kimutatása. Az 1. sáv ismert monoklonális kontroll, míg a 2-4. sáv parapsoriasisos mintáknak felel meg monoklonális génátrendeződéssel. A monoklonalitást a 80-100 bázispárnyi sávban, a háttérből egyöntetűen kiemelkedő, éles szélű, domináns PCR termék jelenléte bizonyítja (poliakrilamid gélelektroforézis ezüstözés után)

pedig a mycosis fungoides gyanúját igazolták a T-sejt receptor gamma gén átrendeződésének vizsgálatával (5, 6). Haefner és mtsai. eseteik kétharmadában észleltek klonalitást kis foltos parapsoriasisban (7).

Saját vizsgálatainkban a 18 kis foltos parapsoriasis közül szövettanilag egy esetben mycosis fungoidesre diagnosztikus, míg a többi esetben korai MF-nek megfelelő eltéréseket láttunk. Változó fokú exocytosis mindig jelen van ezekben az esetekben, és az intraepidermalis lymphocyták immunhisztológiailag tapasztalható CD4 dominanciája is az MF irányába mutató jel. A szövettanilag superficialis perivascularis dermatitisnek minősített esetekben a PCR vizsgálattal mindig poliklonalitást mutatott.

Összefoglalva a korszerű szövettani, immunhisztokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével a klinikailag kis foltos parapsoriasisnak mutatkozó esetek mintegy 30-50%-ában MF folt stádiumát („korai”, vagy „pre-mycoticus” MF) lehet diagnosztizálni. A PCR vizsgálat fontos kiegészítő vizsgálat ezekben a korai esetekben, és megfelelő kritikával alkalmazva a diagnózist megerősítő független tesztként értékelhetőek. Az ilyen, korán diagnosztizált MF esetek további sorsának alakulásában fontos szerep tulajdonítható a szervezet daganatellenes immunológiai reakcióinak. A korán elkezdett terápia jelentősége még vitatott, bár egyesek szerint megelőzheti a később akár az életet is veszélyeztető klinikai és biológiai progressziót.

#### IRODALOM

1. Ackerman B. A.: If Small Plaque (Digitate) Parapsoriasis Is a Cutaneous T-Cell Lymphoma, Even an 'Abortive One, It Must Be Mycosis Fungoides! Arch. Dermatol. (1996) 132, 562-566.
2. Alessi E., A. Coggi, L. Venegoni és mtsai.: The usefulness of clonality for the detection of cases clinically and/or histopathologically not recognized as cutaneous T-cell lymphoma. Brit. J. Dermatol. (2005) 153, 368-371.
3. Burg G, R. Dummer, Frankj O. Nestle és mtsai.: Cutaneous Lymphomas Consist of a Spectrum of Nosologically Different Entities Including Mycosis Fungoides and Small Plaque Parapsoriasis. Arch. Dermatol. (1996) 132, 567- 571.
4. Costa, C., F. Gallardo, B. Bellosillo és mtsai.: Analysis of T-Cell Receptor g Gene Rearrangements by PCR-Genescan and PCR-Polyacrylamide Gel Electrophoresis in Early-Stage Mycosis fungoides/Large-Plaque Parapsoriasis. Dermatology (2003) 207, 418-19.
5. Erős N. Károlyi Zs., Matolcsy A.: Cutan T-sejtes lymphoproliferatív betegségek komplex szövettani, immunhisztokémiai és molekuláris biológiai vizsgálata. Orv. Hetil. (2004) 145, 75-80.:
6. Erős-N, Károlyi-Z, Kárpáti-S és mtsai.: Small plaque parapsoriasis as a precursor of mycosis fungoides, EORTC Cutaneous Lymphoma Task Force, Clinical Meeting, 2005, Lugano (Absztrakt)
7. Haeffner A, C, B. R Smoller, K. Zepter és mtsai.: Differentiation and clonality of lesional lymphocytes in small plaque parapsoriasis. Arch. Dermatol. (1995) 131, 321.
8. Klemke C. D., E. Dippel, A. Dembinski és mtsai.: Clonal T-cell receptor gamma –chain gene rearrangement by PCR-based GeneScan analysis in the skin and blood of patients with parapsoriasis and early-stage mycosis fungoides. J. Cutan. Pathol. (2002) 197, 348-54.
9. McCarthy K. P., Sloane J. P., Kabarowski és mtsai.: A simplified method of detection of clonal rearrangements of the T-cell receptor- $\alpha$  chain gene. Diagn. Mol. Pathol. (1992) 1, 173-9
10. Muche M., A. Lukowisky, J. Heim és mtsai.: Demonstration of Frequent Occurrence of Clonal T Cells in the Peripheral Blood But Not in the Skin of Patients With Small Plaque Parapsoriasis. Blood (1999) 94, 14409-17.
11. Pimpinelli N, El. A. Olsen, M. Santucci és mtsai.: Defining early mycosis fungoides. J. Am. Acad. Dermatol. (2005) 53, 1053-63.
12. Ponti R., P. Quaglino, M. Novelli és mtsai.: T-cell receptor gamma gene rearrangement by multiplex polymerase chain reaction/heteroduplex analysis in patients with cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides/Sézary syndrome) and benign inflammatory disease: correlation with clinical, histological and immunphenotypical findings. Brit.J.Dermatol. (2005) 153, 565-73.
13. Simon M, M. J. Flaig, P Kinds és mtsai.: Large plaque parapsoriasis: clinical and genotypic correlation. J. Cutan. Pathol. (2000) 27, 57.
14. Stachowitz S, M. Mempel, C. Schmöckel és mtsai.: Variable course of patients with plaque parapsoriasis: lack transformation into tumorous mycosis fungoides. Blood (2000) 95, 3635-36.
15. Vakeva L., S. Sarna, A. Vaalasti és mtsai.: A Retrospective Study of the Probability of the Evolution of Parapsoriasis en Plaques into Mycosis Fungoides Acta Derm. Venereol. (2005) 85, 318-23.
16. Wood G. S.: The benign and malignant cutaneous lymphoproliferative disorders including mycosis fungoides. In: Neoplastic Hematopathology 2d ed. Edited by DM Knowles. Baltimore. Williams and Wilkins 2001 p 1183.