

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/39089> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Cetinozman, F.

Title: PD-1 Expression in primary cutaneous lymphoma

Issue Date: 2016-04-20

8

APPENDIX

- SUMMARY IN DUTCH •
(NEDERLANDSE SAMENVATTING)
- LIST OF ABBREVIATIONS •
- LIST OF PUBLICATIONS •
- CURRICULUM VITAE •
- ACKNOWLEDGEMENTS •

SUMMARY IN DUTCH

(Nederlandse samenvatting)

Cutane lymfomen, oftewel huidlymfomen, zijn non-Hodgkin lymfomen die primair in de huid beginnen. Op het moment dat zij ontdekt worden, zijn er geen aanwijzingen dat het lymfoom elders in het lichaam voorkomt. Het is van groot belang om primaire cutane lymfomen te onderscheiden van lymfomen die in lymfeklieren zijn ontstaan en zich secundair manifesteren in de huid, omdat er tussen beide groepen grote verschillen bestaan in klinisch gedrag, prognose, therapie en reactie op behandeling. Cutane lymfomen zijn relatief zeldzaam. De geschatte jaarincidentie is 1:100.000 wat neer komt op circa 170 nieuwe patiënten per jaar in Nederland. Er bestaan diverse typen cutane lymfomen met een behoorlijk uiteenlopende relatieve frequentie (variërend van < 1% tot 45%) en ziektegerelateerde 5-jaarsoverleving (variërend van 0% tot 100%).

In de praktijk blijkt de diagnostiek van cutane lymfomen vaak lastig. Verschillende typen cutane lymfomen met een verschillend klinisch beloop en overlevingsverwachting kunnen eenzelfde histologisch beeld geven. Dit impliceert dat het voor een patholoog in veel gevallen onmogelijk is om alleen op basis van het histologisch beeld een definitieve diagnose te stellen. Combinatie van de klinische observatie en de histopathologie is essentieel om te komen tot een correcte diagnose. Het stellen van een goede diagnose is van belang om de patiënt de meest geschikte therapie te kunnen geven en te voorkomen dat onnodig agressief behandeld wordt. Een correcte diagnose maakt het ook mogelijk om relevante informatie en een reële prognose te kunnen geven aan de patiënt. Hoewel in de praktijk de meeste cutane lymfomen geassocieerd kunnen worden volgens de classificatie van de World Health Organization – European Organization for Research and Treatment of Cancer (WHO-EORTC), blijkt het in sommige gevallen zeer lastig om tot een definitieve diagnose te komen. Het is daarom van grote betekenis om te kunnen beschikken over aanvullende diagnostische biomarkers waarmee een duidelijk onderscheid kan worden gemaakt tussen de verschillende soorten cutane lymfomen.

Het molecuul programmed death-1 (PD-1) heeft de afgelopen jaren veel aandacht gekregen van onderzoekers op het gebied van de tumorimmunologie. PD-1 vervult een belangrijke rol in de negatieve regulatie van de cellulaire immuunrespons. Opmerkelijk is dat de expressie van PD-1 een belangrijke biomarker blijkt te zijn voor het onderscheid tussen verschillende typen non-Hodgkin T-cellymfomen met extracutane lokalisaties. In de studies beschreven in dit proefschrift is onderzocht of PD-1 ook een bruikbare diagnostische marker zou kunnen zijn voor cutane lymfomen.

Het eerste deel van **Hoofdstuk 1** geeft een gedetailleerd overzicht over het eiwit PD-1 dat centraal staat in dit proefschrift. Gestart wordt met een uitvoerige beschrijving van de kenmerken van het molecuul PD-1 en de liganden PD-L1 en PD-L2 die aan PD-1 kunnen binden. Ook wordt aangegeven welke cellen deze membraaneiwhitten tot expressie brengen. Zo blijkt bijvoorbeeld dat conventionele T cellen pas na activatie PD-1 tot expressie brengen op de celmembraan, terwijl zogenaamde folliculaire helper T cellen dit eiwit constitutief tot expressie brengen. In detail wordt het mechanisme beschreven hoe de functie van geactiveerde conventionele T cellen geremd wordt na interactie van PD-1 met ligand PD-L1 of PD-L2. Als gevolg van deze interactie vermindert de proliferatie van de T cellen, neemt de cytokine productie (onder andere IL-2, IFN- γ en TNF- α) af en wordt geprogrammeerde celdood (apoptosis) gestimuleerd. Geactiveerde T cellen, met name CD8-positieve cytotoxische T cellen, zijn essentieel voor het elimineren van tumorcellen. Als tumorcellen het ligand voor PD-1 tot expressie brengen zijn ze in staat om geactiveerde T cellen functioneel te remmen via interactie met PD-1, en op deze wijze zich te verweren tegen aanvallen van PD-1-positieve tumorinfiltrerende T cellen die de tumor proberen te killen. Inmiddels is aangetoond dat blokkade van deze PD-1/PD-L1 interactie een veelbelovende behandeling is voor verschillende soorten kanker.

Het tweede deel van **Hoofdstuk 1** beschrijft de expressie van PD-1 in nodale non-Hodgkin lymfomen en het belang van dit molecuul bij de diagnose. Tenslotte worden de klinische en histopathologische kenmerken van verschillende typen primaire cutane lymfomen uitvoerig beschreven. De heterogene groep van cutane lymfomen kan onderverdeeld worden in twee hoofdgroepen: circa 75–80% wordt gevormd door cutane T-cellymfomen (CTCL) en 20–25% door cutane B-cellymfomen (CBCL). Beide groepen kunnen weer verder onderverdeeld worden in verschillende typen CTCL en CBCL. Het blijkt dat kennis over PD-1 expressie bij de verschillende typen cutane lymfomen gering of afwezig is.

In de in **Hoofdstuk 2** beschreven studie is onderzocht of PD-1 een bruikbare diagnostische marker is waarmee verschillende typen CTCL van elkaar onderscheiden kunnen worden. Het is belangrijk dat het primair cutaan CD4⁺ klein/middelgrootcellig pleomorf T-cellymfoom (PCSM-TCL), dat een uitstekende prognose heeft, onderscheiden wordt van andere typen CTCL, in het bijzonder het primair cutaan perifeer T-cellymfoom, not otherwise specified (PTCL–NOS) en tumorstadium mycosis fungoides (MF), omdat ze naast een compleet verschillende prognose ook sterk verschillen in geschikte behandelingsmethoden. Naast PD-1 is ook de expressie van BCL6, CXCL13 en CD10 bepaald om een mogelijke relatie met folliculaire helper T cellen te bepalen, welke co-expressie van genoemde 4 markers hebben. We vonden bij alle 26 patiënten met PCSM-TCL of met een cutaan pseudo-T-cellymfoom, dat de atypische T cellen zowel PD-1 als BCL6 en

CXCL13 tot expressie brachten, maar geen CD10. Expressie van PD-1 werd slechts bij 2 van de 21 patiënten met MF en bij 2 van de 16 patiënten met een PTCL-NOS gevonden. Samenvattend kan worden gesteld dat PD-1 expressie door atypische cellen kenmerkend is voor PCSM-TCL en cutane pseudo-T-cellymfoom en dat PD-1 niet of nauwelijks tot expressie wordt gebracht bij andere typen CTCL. Deze studie toont aan dat PD-1 een bruikbare aanvullende marker is bij de diagnostiek van PCSM-TCL, en tevens dat de atypische T cellen in PCSM-TCL en cutane pseudo-T-cellymfoom fenotypisch lijken op folliculaire helper T cellen. Verder ondersteunt onze studie de visie dat PCSM-TCL en cutane pseudo-T-cellymfomen, die zich met een solitaire laesie presenteren niet apart geclassificeerd moeten worden maar samen één entiteit vormen.

De studie beschreven in hoofdstuk 2 liet zien dat in slechts 2 van de 21 MF patiënten PD-1 expressie kon worden gedetecteerd in de huidbiopsieën op neoplastische cellen. Dit resultaat verschilt van gepubliceerde studies van andere onderzoeksgroepen, die rapporteerden dat PD-1 expressie gewoonlijk kan worden waargenomen in het merendeel van de MF patiënten en ook in patiënten met Sézary syndroom (SS). Sommigen beschouwen SS als een leukemische fase van MF vanwege overlap in een aantal kenmerken, maar hierover bestaat geen consensus. Naar aanleiding van de tegenstrijdige waarnemingen omtrent PD-1 expressie bij MF patiënten hebben we een studie uitgevoerd met een groot cohort MF patiënten en includeerden ook patiënten met erythrodermatisch MF en SS. Deze studie is beschreven in **Hoofdstuk 3**. We vonden dat PD-1 tot expressie werd gebracht door meer dan 50% van de neoplastische T cellen bij 8 van de 60 MF patiënten (13%). Bij erythrodermatisch MF werd PD-1 expressie in slechts 1 van de 8 patiënten (12%) aangetoond. In tegenstelling tot de situatie bij (erythrodermatische) MF, vonden we een sterke PD-1 expressie door meer dan 50% van de neoplastische T cellen bij 24 van de 27 SS patiënten (89%). Deze studie bevestigt onze eerdere bevindingen (hoofdstuk 2) dat PD-1 positiviteit slechts bij een laag percentage MF kan worden aangetoond. Een waarschijnlijke verklaring voor de tegengestelde waarnemingen van andere onderzoeksgroepen is dat zij een ander drempelwaarde voor PD-1 positiviteit gehanteerd hebben. Volgens onze definitie was er pas sprake van positiviteit als meer dan 50% van de neoplastische T cellen PD-1 kleuring liet zien, terwijl andere onderzoeksgroepen hun samples al positief beschouwden als 25% van de neoplastische T cellen PD-1 positief waren. In sommige studies was de drempelwaarde niet gedefinieerd. Onze studie toont aan dat MF en SS differentiële PD-1 expressie hebben en deze bevinding ondersteunt de visie dat MF en SS verschillende entiteiten zijn.

Het is bekend dat het histopathologisch onderscheid tussen SS en een erythrodermie op basis van een goedaardige aandoening extreem moeilijk kan zijn. Wij hebben aangetoond dat PD-1 sterk tot expressie komt in huidbiopten van

SS patiënten, maar informatie over PD-1 expressie in goedaardige vormen van erythrodermie ontbrak. In de studie beschreven in **Hoofdstuk 4** is de expressie van PD-1 onderzocht in huidbipten van 30 patiënten met verschillende typen erythrodermatische dermatitis (12 gevallen met een idiopatische erythrodermie, 10 met een atopische erythrodermie, 6 met een psoriatische erythrodermie en 2 met een paraneoplastische erythrodermie) en vergeleken met de expressie in huidbiopsieën van 25 SS patiënten uit een eerdere studie. We vonden dat PD-1 tot expressie werd gebracht door meer dan 50% van het T-cel infiltraat bij 23 van de 25 SS patiënten (92%), terwijl dit bij slechts 4 van de 30 patiënten met een erythrodermatische dermatitis het geval was (13%). Opvallend was dat PD-1 expressie aanwezig was op CD4⁺ neoplastische T cellen bij SS, maar voornamelijk op dermale en epidermale CD8⁺ T cellen bij erythrodermatische dermatitis. Expressie van CD7 door $\leq 20\%$ van het T-cel infiltraat werd alleen gevonden in SS huidcoupes en in geen enkel preparaat van de 30 patiënten met een goedaardige vorm van erythrodermie. Onze studie toont aan dat PD-1 een bruikbare marker is bij de diagnostiek van een patient met een erythrodermie: indien in een huidbiopsie van een patiënt met een erythrodermie aangetoond wordt dat PD-1 tot expressie komt bij meer dan 50% van de CD4⁺ T cellen en/of CD7 bij $\leq 20\%$ van het T-cel infiltraat, dan is dit een sterke aanwijzing voor de diagnose SS.

In de studie in **Hoofdstuk 5** maakten we gebruik van een deel van dezelfde patiëntcohorten die ook werden gebruikt in het voorafgaande hoofdstuk. Het doel van deze studie was om te onderzoeken of de markers thymocyte selection-associated high mobility group box protein (TOX, een chromatine-geassocieerd eiwit) en transcriptiefactor C-MYC bruikbaar zijn als aanvullende diagnostische markers om SS te onderscheiden van goedaardige vormen van erythrodermie. Het was al bekend dat beide markers tot expressie komen in MF en SS, maar het was nog onbekend in hoeverre deze markers tot expressie komen bij een erythrodermatische dermatitis. We vonden dat TOX sterk in de kern tot expressie werd gebracht door meer dan 50% van de T cellen bij 13 van de 15 SS patiënten (87%), terwijl TOX zwak tot expressie werd gebracht bij minder dan 50% (mediaan 25%) van het T-cel infiltraat bij de erythrodermatische dermatitis patiënten. De cohorten SS en goedaardige erythroderma lieten geen verschil zien in C-MYC expressie. In beide groepen was de expressie C-MYC laag en varieerde tussen $< 10\%$ en 25%. Onze studie toont aan dat TOX expressie door meer dan 50% van het T-cel infiltraat een bruikbaar hulpmiddel is bij het onderscheid tussen SS en een goedaardige vorm van erythrodermie, terwijl C-MYC onbruikbaar is voor dit onderscheid.

Er zijn diverse publicaties over PD-1 expressie in nodale B-cel non-Hodgkin lymfomen. In het algemeen werd gevonden dat PD-1 niet aanwezig is op de neoplastische B cellen, maar wel (in wisselende hoeveelheden), op tumorinfiltrerende T cellen. In sommige publicaties werd zelfs gesuggereerd dat de aanwezigheid van

verhoogde aantallen PD-1⁺ T cellen geassocieerd is met een betere overleving. Informatie over PD-1 expressie in de verschillende typen CBCL was nagenoeg afwezig. In de studie beschreven in **Hoofdstuk 6** hebben we daarom de expressie en distributie van PD-1 op neoplastische B cellen en reactieve T cellen in primaire CBCL onderzocht: 10 patiënten met primair cutaan marginale zone lymfoom (PCMZL), 18 met primair cutaan follikelcentrumcellymfoom (PCFCL) en 12 met primair cutaan diffuus grootcellig B-cellymfoom, beentype (PCDLBCL-LT). We vonden dat neoplastische B cellen negatief waren voor PD-1 behalve 2 gevallen met PCDLBCL-LT. De frequentie PD-1⁺ T cellen in huidcoupes van PCFCL, PCMZL en PCDLBCL-LT patiënten was respectievelijk 20%, 10% en 3% van het totale aantal infiltraatcellen en respectievelijk 60%, 20% en 15% van het totaal aantal infiltraat T cellen. De frequentie PD-1⁺ T cellen in huidcoupes van PCFCL patiënten was significant hoger dan in PCMZL en PCDLBCL-LT. Onze studie toont aan dat PD-1 zelden tot expressie komt op neoplastische cellen in CBCL. Tevens suggereert onze studie dat aanwezigheid van hoge percentages PD-1⁺ T cellen, in het bijzonder wanneer deze gelokaliseerd zijn buiten het kiemcentrum, een ondersteuning is voor de diagnose PCFCL. We hebben geen aanwijzing gevonden dat het aantal PD-1⁺ T cellen in huidcoupes van CBCL een prognostische waarde heeft.

