

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/20106> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Benner, Marchina Frederika

Title: Cutaneous CD30-positive lymphoproliferations : clinical and molecular aspects and differential diagnosis

Date: 2012-11-07

8

Appendix

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Non-Hodgkin lymfomen vormen een heterogene groep van aandoeningen die bestaan uit kwaadaardige woekeringen van witte bloedcellen. Ze ontstaan meestal in de lymfeklieren (nodaal), maar kunnen zich ook in andere organen presenteren (extranodaal). Primair cutane lymfomen (PCL) zijn non-Hodgkin lymfomen die zich in de huid (cutaan) presenteren, zonder dat er op het moment van diagnose aanwijzingen zijn voor lokalisaties elders in het lichaam. Er zijn twee hoofdcategorieën: 75-80% zijn primair cutane T-cel lymfomen (CTCL) en 20-25% primair cutane B-cel lymfomen (CBCL). Binnen de CTCL kunnen drie subgroepen worden onderscheiden: (1) de groep van klassieke CTCLs, waaronder mycosis fungoides (MF), varianten van MF en het Sézary syndroom (SS); (2) de groep van primair cutane CD30-positieve lymfoproliferatieve aandoeningen (CD30+ LPD); en (3) een groep van zeldzame en vaak agressieve cutane T/NK-cel lymfomen.

Een centraal onderwerp in dit proefschrift is het primair cutaan grootcellig anaplastisch T-cel lymfoom (C-ALCL). Dit lymfoom ziet er bij histopathologisch onderzoek onder de microscoop vaak agressief uit met velden grote ronde tumorcellen waarvan meer dan 75% het CD30 eiwit op zijn celmembraan tot expressie brengt. Patiënten met een C-ALCL presenteren zich meestal met solitaire of regionale huidafwijkingen, die in 20-40% van de gevallen de neiging hebben spontaan te verdwijnen (spontane remissie). Het beloop is doorgaans gunstig. De behandeling van persisterende afwijkingen bestaat meestal uit excisie of lokaal radiotherapie. Hoewel er frequent nieuwe afwijkingen in de huid kunnen ontstaan, vindt er maar zelden uitbreiding naar lokalisaties buiten de huid plaats. De ziektespecifieke 10-jaars overleving is dan ook ruim 90%. Het C-ALCL maakt samen met lymfomatoïde papulose (LyP) deel uit van de primair cutane CD30+ LPD. LyP wordt gekenmerkt door het komen en gaan van huidafwijkingen. Huidbiopsen van beide aandoeningen vertonen bij histopathologisch onderzoek een aantal gemeenschappelijke kenmerken, waaronder expressie van het CD30 eiwit.

Naast primair cutane CD30+ LPD zijn er ook andere aandoeningen, die CD30 tot expressie brengen. Voorbeelden zijn de systemische variant van het ALCL dat zich bij aanvang in de lymfklieren presenteert, maar zich op termijn (ook) kan uitbreiden naar de huid, een bepaald stadium van MF (getransformeerde MF) en verschillende reactieve (goedaardige) huidaandoeningen. Met histopathologisch onderzoek is het onderscheid tussen deze aandoeningen niet altijd goed te maken, terwijl dit wel relevant is, omdat de aandoeningen een ander klinisch beloop en een andere prognose hebben en vaak ook een andere behandeling vereisen.

Ondanks dat in recente classificatie systemen voor cutane lymfomen het C-ALCL redelijk goed gedefinieerd is, bestonden er bij aanvang van dit promotietraject nog een aantal onduidelijkheden, zoals: 1) het nut van een aantal in de literatuur beschreven eiwitmarkers om het onderscheid te maken tussen verschillende soorten cutane CD30+ lymfoproliferaties; 2) het gebrek aan prognostische markers die voorspellend zijn voor het ongunstig beloop dat een klein deel van de patiënten met C-ALCL treft; 3) de uitgebreidheid van stageringsonderzoek, dat nodig is om lokalisaties buiten de huid vast te stellen; 4) de moleculaire mechanismen die verantwoordelijk zijn voor het gunstige klinisch beloop van de meeste patiënten met C-ALCL; en 5) de prognostische betekenis van CD30 expressie bij patiënten met getransformeerde MF.

Diagnostische waarde van bepaalde eiwitmarkers bij cutane CD30+ lymfoproliferaties

Recente studies hebben gesuggereerd dat de eiwitmarkers TRAF1, MUM1 (IRF4) en BCL2 verschillend tot expressie worden gebracht op bepaalde cutane CD30+ lymfoproliferaties, en bij histopathologisch onderzoek van nut kunnen zijn om de verschillende typen te kunnen onderscheiden. Omdat de resultaten van deze studies nog niet bevestigd zijn door andere studies of elkaar tegenspreken, hebben we in **hoofdstuk 3** de diagnostische waarde van deze markers in een grote groep van cutane CD30+ lymfoproliferaties onderzocht, waaronder 28 patiënten met C-ALCL, 39 patiënten met LyP, 11 patiënten met CD30+ getransformeerde MF en 8 patiënten met huidlokalisaties van de systemische variant van het ALCL. De resultaten van deze studie toonden aan dat TRAF1 en IRF4 niet nuttig waren om het onderscheid tussen de verschillende CD30+ lymfoproliferaties te maken omdat ze beide tot expressie werden gebracht in 70-80% van de gevallen van C-ALCL, LyP en CD30+ getransformeerde MF. Expressie van BCL2 in meer dan 50% van de tumorcellen, werd gevonden in 36% van de LyP gevallen en in 22% van de C-ALCL gevallen, wat eveneens pleit tegen het nut ervan als diagnostische marker. Het bleek dat in CD30+ getransformeerde MF 73% van de gevallen BCL2 in meer dan 50% van de tumorcellen tot expressie bracht. Omdat dit eiwit celdood tegengaat, zou de hoge expressie ervan mogelijk een rol kunnen spelen bij de slechtere prognose van patiënten met een getransformeerde MF.

Prognostische factoren in C-ALCL

In **hoofdstuk 2** hebben we in 135 C-ALCL patiënten de prognostische betekenis van een groot aantal factoren onderzocht, waaronder leeftijd, geslacht, uitgebreidheid van de huidafwijkingen, locatie en spontane remissie. Om de uitgebreidheid van de huidafwijkingen te scoren werd gebruik gemaakt van het Tumor, Node, Metastasis (TNM-) systeem, een systeem dat in gemodificeerde vorm al langer bestond voor MF en SS, maar pas recent is ontwikkeld voor andere PCL. Omdat deze patiënten op het moment van diagnose per definitie geen lokalisaties elders in het lichaam hebben, werd alleen het T-stadium gescoord, namelijk als T1 (solitaire huidafwijkingen), T2 (regionale huidafwijkingen) of T3 (gegeneraliseerde huidafwijkingen). Het bleek dat dit TNM-systeem goed toepasbaar was op patiënten met een C-ALCL. De analyse toonde verder aan dat patiënten met lokalisaties op één of beide benen, in tegenstelling tot lokalisaties elders op het lichaam, een significant slechter beloop hadden (ziektespecifieke 5-jaars overleving van 76% versus 96%). Vervolgens werd er in de groep van patiënten met lokalisaties op één of beide benen een trend gezien dat patiënten met een T2 of T3 score een slechter beloop hadden dan patiënten met een T1 score (ziektespecifieke 5-jaarsoverleving voor T1 90%, versus 76% en 67%, respectievelijk voor T2 en T3). Het lijkt daarom verstandig deze patiënten goed te controleren tijdens de follow-up.

Uitgebreidheid van stagering bij patiënten met een ALCL in de huid

De diagnose van een PCL kan pas worden gesteld als lokalisaties buiten de huid zijn uitgesloten met behulp van stageringsonderzoek. Dit bestaat doorgaans uit een grondig lichamelijk onderzoek, bloedonderzoek, beeldvormend onderzoek (CT scan) en een beenmergbipt. Gegevens uit de database van de Werkgroep Cutane Lymfomen lieten echter zien dat bij C-ALCL

patiënten met een solitaire huidafwijking die spontaan verdwenen of volledig geëxcedeerd is, in toenemende mate wordt afgezien van een beenmergbipt. Omdat getallen over het voorkomen van beenmergbetrokkenheid bij patiënten met een ALCL in de huid echter niet bekend zijn, hebben we in **hoofdstuk 4** de resultaten van beenmergonderzoek in 107 patiënten die volledig gestageerd waren, retrospectief geanalyseerd. Deze resultaten werden gecorreleerd met uitkomsten van overige stageringsonderzoeken (laboratorium- en beeldvormend onderzoek) en overlevingsdata. Bij 20 patiënten werden op het moment van diagnose ook lymfoomlokalisaties elders in het lichaam gevonden, echter het beenmerg bleek nooit betrokken. Bovendien ontwikkelde slechts één patiënt beenmergbetrokkenheid gedurende de follow-up. Deze patiënt had behalve beenmergbetrokkenheid ook lokalisaties van het lymfoom in verschillende lymfeklieren, de milt en de neusamandel. Deze studie toont aan dat het beenmergbipt slechts een beperkte waarde heeft bij de staging van patiënten die zich met een ALCL in de huid presenteren en dat een beenmergbipt alleen overwogen hoeft te worden wanneer andere stageringsonderzoeken aanwijzingen geven voor lokalisaties van het lymfoom buiten de huid.

De moleculaire mechanismen verantwoordelijk voor het gunstige beloop van C-ALCL

Illustratief voor het klinisch gunstige beloop van C-ALCL is de neiging tot spontane remissie, dat bij 20-40% van de patiënten optreedt. Wanneer we de mechanismen kennen die hiervoor verantwoordelijk zijn, kunnen deze wellicht gebruikt worden als startpunt voor de ontwikkeling van geneesmiddelen voor patiënten zonder spontane remissie van de huidafwijkingen, zowel bij C-ALCL als andere agressieve CTCL. Recent is meer aandacht gekomen voor de rol van miRNAs bij de ontwikkeling van lymfomen. MiRNAs zijn kleine stukjes niet-coderend RNA die de expressie van genen kunnen reguleren. In **hoofdstuk 5** hebben we daarom de miRNA expressie profielen in biopten van 14 C-ALCL patiënten onderzocht en vergeleken met 12 biopten van goedaardige ontstekingsziekten van de huid (benigne controles). We vonden significante verschillen in expressie van 13 miRNAs tussen C-ALCL en de benigne controles door gebruik te maken van miRNA microarrays, een platform waarmee in één keer heel veel (bekende) miRNAs tegelijkertijd onderzocht kunnen worden. Van deze miRNAs hebben we de verhoogde expressie van miR-155, miR-27b, miR-30c en miR-29b in C-ALCL ten opzichte van de benigne controles bevestigd op een onafhankelijke groep van 7 C-ALCL patiënten en 11 benigne controles met een onafhankelijke techniek: miRNA-Q-PCR. We hebben de miRNA expressie profielen van C-ALCL ook vergeleken met die van 19 patiënten met tumor stadium MF, die uit een eerdere studie reeds bekend waren. Hoewel er tussen beide CTCLs met miRNA microarrays geen significante verschillen werden gevonden, werd er met miRNA-Q-PCR een significant hogere expressie van miR-155, miR-27b, miR-93, miR-29b en miR-92a gevonden in C-ALCL ten opzichte van tumor stadium MF. Dit toont aan dat microarrays goed gebruikt kunnen worden als een screenende techniek, maar voor het identificeren van subtiele verschillen in expressie tussen bepaalde lymfomen tekort kunnen schieten. In het algemeen zouden de verschillen in miRNA expressie tussen C-ALCL en tumor stadium MF op een verschillende rol in de pathogenese van deze CTCLs kunnen wijzen en gebruikt kunnen worden als uitgangspunt voor functionele studies die het gunstige klinische beloop van C-ALCL kunnen verklaren.

De prognostische betekenis van CD30 expressie bij patiënten met getransformeerde MF

Het merendeel van de patiënten met MF heeft een klinisch beloop dat gekenmerkt wordt door de langzame ontwikkeling van oppervlakkige eczemateuze huidafwijkingen (patches) die langzaam steeds dikker worden (plaques). Een klein deel van de patiënten ontwikkelt op termijn ook tumoren en lokalisaties buiten de huid. Er kunnen zich gedurende deze ziekte ook op cellulair niveau veranderingen voordoen zoals blastaire transformatie van de kwaadaardige witte bloedcellen. In de literatuur spreekt men van blastaire transformatie bij MF indien bij histologisch onderzoek het infiltraat meer dan 25% blasten bevat. Blastaire transformatie bij MF is geassocieerd met een agressief klinisch beloop en een slechte prognose. De blastaire tumorcellen kunnen al dan niet CD30 tot expressie brengen. Vanwege de gunstige prognose van C-ALCL, waarbij CD30 expressie het belangrijkste kenmerk is, hebben wij in **hoofdstuk 6** retrospectief de prognostische betekenis van CD30 expressie bij 100 patiënten met getransformeerde MF onderzocht. Daarnaast hebben wij de prognostische waarde van andere factoren onderzocht die in de literatuur gesuggereerd worden, maar vaak niet hard gemaakt konden worden vanwege te kleine patiëntengroepen. Patiënten met getransformeerde MF bleken inderdaad een ongunstig klinisch beloop te hebben met een ziektespecifieke 5-jaars overleving van 38%. In de 75 patiënten met alleen huidafwijkingen op het moment van transformatie bleken CD30 negativiteit, folliculotropie en uitgebreide(re) huidafwijkingen significant gecorreleerd met een slechtere prognose. Voor de volledige studiegroep van 100 patiënten betrof dit dezelfde factoren en tevens lokalisaties met transformatie buiten de huid. Het bleek dat patiënten met 0-1 prognostisch ongunstige factor(en) een significant betere overleving lieten zien dan patiënten met 2 of meer prognostisch ongunstige factoren. Dit gegeven kan gebruikt worden om een prognose van patiënten met getransformeerde MF te bepalen en de meest geschikte behandeling voor deze patiënten te selecteren.

LIST OF PUBLICATIONS

Benner MF and Willemze R. Bone marrow examination has limited value in the staging of patients with an anaplastic large cell lymphoma first presenting in the skin. Retrospective analysis of 107 patients. *British Journal of Dermatology*, 2008; 159(5):1148-1151.

Benner MF, Jansen PM, Meijer CJLM, Willemze R. Diagnostic and prognostic evaluation of phenotypic markers TRAF1, MUM1, BCL2 and CD15 in cutaneous CD30-positive lymphoproliferative disorders. *British Journal of Dermatology*, 2009; 161(1):121-127.

Benner MF and Willemze R. Applicability and prognostic value of the new TNM classification system in 135 patients with primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma. *Archives of Dermatology*, 2009; 145(12):1399-1404.

van Kester MS, Ballabio E, **Benner MF**, Chen XH, Saunders NJ, van der Fits L, van Doorn R, Vermeer MH, Willemze R, Tensen CP, Lawrie CH. MiRNA expression profiling of mycosis fungoides. *Molecular Oncology*, 2011; 5(3):273-280.

Benner MF, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood*, 2012; 119(7):1643-1649.

Benner MF, Ballabio E, van Kester MS, Saunders NJ, Vermeer MH, Willemze R, Lawrie CH, Tensen CP. MiRNA expression profiling of primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma shows differences with tumor stage mycosis fungoides. *Experimental Dermatology*, 2012; 21(8):632-634.

LIST OF ABBREVIATIONS

aCGH	Array-based comparative genomic hybridization
ALCL	Systemic anaplastic large cell lymphoma
ALK	Anaplastic lymphoma kinase
BCL2	B-cell CLL/lymphoma 2
BCL7a	B-cell CLL/lymphoma 7A
BID	Benign inflammatory dermatoses
C-ALCL	Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
CBCL	Primary cutaneous B-cell lymphoma
CD30+ LPD	CD30+ lymphoproliferative disorders
CLA	Cutaneous lymphocyte antigen
CTCL	Primary cutaneous T-cell lymphoma
DCLG	Dutch Cutaneous Lymphoma Group
DSS	Disease-specific survival
EBV	Epstein-Barr virus
EMA	Epithelial membrane antigen
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
FC	Fold-change
FFPE	Formalin fixed paraffin embedded
HIV	Human immunodeficiency virus
HSV	Herpes simplex virus
IFN	Interferon
IRF4	IFN regulatory factor 4
ISCL	International Society for Cutaneous Lymphomas
LCT	Large cell transformation
LyP	Lymphomatoid papulosis
MF	Mycosis fungoides
MF-TR	Transformed mycosis fungoides
miRNA	MicroRNA
MTX	Methotrexate
MUM1	Multiple myeloma antigen 1
NPM	Nucleophosmin
PPAR γ	Peroxisome proliferator-activated receptor γ
PTL-NOS	Peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified
PUVA	Psoralen Ultra-Violet A
RT	Radiotherapy
SS	Sézary syndrome
TGF-beta	Transforming growth factor-beta
TNM	Tumor, Node, Metastasis
TRAF1	Tumor necrosis factor receptor associated factor 1
VZV	Varicella-Zoster virus
WHO	World Health Organization

CURRICULUM VITAE

Gineke Benner is geboren op 10 oktober 1979 te Barendrecht. Na het behalen van het Gymnasium diploma aan de Christelijke Scholengemeenschap Johannes Calvijn te Rotterdam in 1998, begon zij in datzelfde jaar met de studie Rechtsgeleerdheid aan de Universiteit Leiden. In 2000 startte zij met de studie Geneeskunde aan dezelfde universiteit. Gedurende haar wetenschapsstage verrichte zij onderzoek naar fenotypen van dystrofinopathieën in relatie tot duplicaties in het dystrofine-gen (dr. H.B. Ginjaar en dr. A.T.J.M. Helderma-van den Enden). Ook behaalde zij in 2005 het bachelordiploma Rechtsgeleerdheid.

Gedurende haar co-schappen liep zij een extra wetenschapsstage bij de afdeling Dermatologie van het Leids Universitair Medisch Centrum, waar zij na het behalen van haar artsexamen in juni 2008 werd aangesteld als AIOSKO (assistent in opleiding tot specialist en klinisch onderzoeker). Dit leidde tot het in dit proefschrift beschreven onderzoek onder begeleiding van prof. dr. R. Willemze. In november 2010 is zij gestart met de opleiding tot dermatoloog (opleider prof. dr. R. Willemze).

NAWOORD

Dit proefschrift is het resultaat van samenwerking en samenspraak met velen. Enkel en enkele wil ik in het bijzonder bedanken. Allereerst mijn promotor Rein Willemze en co-promotoren Patty Jansen en Kees Tensen. Zeer veel dank dat ik de kans heb gekregen dit onderzoek uit te voeren, en voor de stimulerende wijze waarop jullie dit onderzoek hebben begeleid. Naast onderzoek was ik ook bij de directe patiëntenzorg betrokken, in het kader van de wekelijkse spreekuren Cutane Lymfomen onder leiding van Maarten Vermeer. Ik ben hem veel dank verschuldigd voor de ruimte die ik hierbij kreeg, en voor zijn enthousiaste begeleiding.

Daarnaast wil ik de leden van de Nederlandse Werkgroep Cutane Lymfomen bedanken. Met recht kan gezegd worden dat dit onderzoek niet mogelijk was geweest zonder de beschikbaarheid van goed gedefinieerde patiëntengroepen. De basis hiervoor zijn de vele multidisciplinaire bijeenkomsten van de werkgroep om optimale patiëntenzorg te waarborgen. Dank voor jullie enthousiasme en betrokkenheid!

Wim Zoutman, veel dank voor het geduld waarmee je me wegwijs gemaakt hebt in het lab. Niet alle proeven hebben nog geleid tot een publicatie, maar ze hebben wel allemaal bijgedragen tot mijn ontwikkeling als onderzoeker. In het verlengde hiervan bedank ik ook Marja van der Burg, Karoly Szuhai, Eleonora de Klerk, Yavuz Ariyurek, Brenda Verhaaf en Ton Langerak voor hun bereidwilligheid om mee te denken over onderzoeksvragen én oplossingen, en voor hun hulp bij het uitvoeren van experimenten.

Enno Dreef, dank voor je onmisbare hulp bij de studie beschreven in hoofdstuk 3. Sneller dan dat ik de coupes had geselecteerd, had jij ze alweer gesneden en gekleurd!

Erica Ballabio and Charles Lawrie, thank you for all your help with the experiments described in chapter 6 and for your hospitality in your laboratory in Oxford. I really enjoyed our stay there!

Marloes van Kester, dank voor de prettige samenwerking in het onderzoek, en je vasthoudendheid bij het uitvoeren van de experimenten van hoofdstuk 6. Met veel plezier denk ik terug aan de talloze knoflookbroodjes die we hebben gegeten in Oxford.

Nancy Roset-Senff, veel dank dat je me wegwijs maakte in het onderzoek naar Cutane Lymfomen en de daaraan verbonden patiëntenzorg. Je bent een inspirerend voorbeeld.

Stephanie Boonk, door de enthousiaste wijze waarmee je de zorg voor de cutane lymfoompatiënten hebt overgenomen, werd het stoppen voor mij ietsje makkelijker. Ik kijk uit naar jouw proefschrift!

Alle andere collega's op het lab, de polikliniek, arts-assistenten en stafleden, veel dank voor jullie steun en interesse in mijn onderzoek. Ik hoop ook gedurende mijn opleiding tot dermatoloog en daarna de brug naar het onderzoek(s gebouw) te blijven slaan/begaan.

Pa en ma, de liefdevolle basis die jullie ons gegeven hebben, geeft vertrouwen in de toekomst. Dank voor jullie voortdurende steun! Ook wil ik Rob, Arend en Dorine bedanken. Met jullie voor me, Ronald naast me, pa en ma achter me, en Benthe 'aan mijn rokken', voel ik me veilig en beschermd. Dank dat ik altijd bij jullie terecht kan.

Lieve Ronald, 'samen sterk' of 'samen sterker'? Zonder jou waren veel dingen de afgelopen jaren niet tot stand gekomen. Veel dank voor je geduld, relativiseringsvermogen en positieve instelling; je bent voor mij onmisbaar.

Tot slot. Mijn affiniteit voor het recht maakt dat ik hier graag een disclaimer aan toevoeg. Het resultaat van mijn inspanningen was namelijk van zoveel meer afhankelijk dan hier beschreven. Bijvoorbeeld van een prettige sfeer op de afdeling, goede samenwerking, plezier op onze werkkamers (zowel op het lab als op de poli), de input tijdens de wekelijkse werkbesprekingen, uitdagende discussies, de leerzame en gezellige congressen, en natuurlijk van mijn vrienden en familie. Allen die hieraan hebben bijgedragen, wil ik van harte bedanken!